

LITHUANIAN UNIVERSITY OF HEALTH SCIENCES  
VETERINARY ACADEMY

**Zoja Miknienė**

**BLOOD HEMATOLOGICAL AND  
SERUM BIOCHEMICAL PARAMETERS  
VARIABILITY DEPENDING ON AGE,  
GENDER AND THE PHYSICAL  
CONDITION IN ŽEMAITUKAI HORSE**

Summary of Doctoral Dissertation  
Agricultural Sciences, Veterinary (02A)

Kaunas 2015

The doctoral dissertation was prepared in 2009–2014 at Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy.

**Research supervisor** – Prof. Dr. Audrius KUČINSKAS (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – 02 A).

**Veterinary Science Council:**

**Chairperson** – Prof. Dr. Rasa ŽELVYTĖ (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – 02A).

**Members:**

Dr. Mykolas MAURICAS (National Institute of Scientific Research, Centre of Innovative Medicine, Sciences of Biomedicine, Biology – 01B);

Dr. Raimundas MOCKELIŪNAS (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – 02A);

Assoc. Prof. Dr. Antanas ŠARKINAS (Food Institute of Kaunas University of Technology, Technological Sciences, Chemical Engineering – 05T);

Prof. Dr. Vytuolis ŽILAITIS (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – 02A).

**Opponents:**

Prof. Dr. Albina ANIULIENĖ (Lithuanian University of Health Sciences, Agricultural Sciences, Veterinary – 02A);

Prof. Habil. Dr. Aniolas SRUOGA (Vytautas Magnus University, Science of Biomedicine, Biology – 01B).

The public defence of doctoral dissertation in Veterinary Science council will take place at the Lithuanian University of Health Sciences, Veterinary Academy Dr. S. Jankauskas Auditorium at 1:00 P. M. on 30<sup>th</sup> June, 2015.

Address: Tilžės 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania.

The summary of doctoral dissertation was sent on 29 of May, 2015 according to the confirmed address list.

The doctoral dissertation is available at the library of Veterinary Academy, Lithuanian University of Health Sciences.

Address: Tilžės 18, LT-47181 Kaunas, Lithuania.

LIETUVOS SVEIKATOS MOKSLŲ UNIVERSITETAS  
VETERINARIJOS AKADEMIJA

**Zoja Miknienė**

**ŽEMAITUKŲ VEISLĖS ARKLIŲ  
KRAUJO MORFOLOGINIŲ IR  
BIOCHEMINIŲ RODIKLIŲ KITIMAS,  
ATSIŽVELGIANT Į ARKLIŲ AMŽIŲ,  
LYTĮ IR FIZINĮ KRŪVĮ**

Daktaro disertacijos santrauka  
Žemės ūkio mokslai, veterinarija (02A)

Kaunas 2015

Disertacija rengta 2009–2014 metais LSMU Veterinarijos akademijos Neužkrečiamųjų ligų katedroje; Stambiųjų gyvulių klinikos Klinikinių tyrimų laboratorijoje; Neužkrečiamųjų ligų katedros Gyvulių reprodukcijos laboratorijoje.

**Mokslinis vadovas** – prof. Dr. Audrius KUČINSKAS (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – 02A).

**Veterinarijos mokslo krypties taryba:**

**Pirmininkė** – prof. dr. Rasa ŽELVYTĖ (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – 02A).

**Nariai:**

dr. Mykolas MAURICAS (Valstybinis mokslinių tyrimų institutas, Inovatyvios medicinos centras, biomedicinos mokslai, biologija – 01B);

dr. Raimundas MOCKELIŪNAS (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – 02A);

doc. dr. Antanas ŠARKINAS (Kauno technologijos universitetas, Maisto institutas, technologijos mokslai, chemijos inžinerija – 05T);

prof. dr. Vytuolis ŽILAITIS (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – 02A).

**Oponentai:**

prof. dr. Albina ANIULIENĖ (Lietuvos sveikatos mokslų universitetas, žemės ūkio mokslai, veterinarija – 02A);

prof. habil. dr. Aniolas SRUOGA (Vytauto Didžiojo universitetas, biomedicinos mokslai, biologija – 01B).

Disertacija bus ginama viešame Veterinarijos mokslo krypties tarybos posėdyje 2015 m. birželio 30 d. 13 val. Dr. S. Jankausko auditorijoje.

Adresas: Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas, Lietuva.

Disertacijos santrauka išsiųsta 2015 m. gegužės 29 d. pagal patvirtintą adresų sąrašą.

Disertaciją galima peržiūrėti LSMU Veterinarijos akademijos bibliotekoje.

Adresas: Tilžės g. 18, LT-47181 Kaunas, Lietuva.

## INTRODUCTION

Currently, horses have lost their role as a workhorse and become increasingly important in human leisure and free time. There are many private stud farms. However, the intensive usage of horses as means of human free time is not always compatible with the state of the horse health.

Since the beginning of previous century, various blood morphological and biochemical tests have been used for the assessment of their health state. Blood biochemical parameters variations of sportsmen are deeply analyzed in human medicine: their norms are set; scientists often compare blood parameters in their studies.

Currently, various methodologies allowing identifying the degree of horse organism preparation for sports are applied. They help to decide whether the horse is able to participate in endurance, dressage, and show jumping competitions requiring especially good coordination of the animal. Training control cannot be based on some functional parameters and their variations (breath and cardiovascular disorders, limping) only. Horse trainers should focus on the entire horse organism as the natural system of various physiological functions and the interrelations in it [64].

Physical activity, other environmental factors, pathological metabolic changes, or the use of pharmacological preparations affect the values of certain blood parameters. Thus, blood sample tests can help to decide if the state of horse health meets requirements and physiological norms sets and the expectations applied towards their physical preparation and physical capacity.

Blood test is one of the most informative and most popular examinations performed aiming to evaluate the health state in horses. For diagnosing horse diseases, it is important to know what physiological blood value limits shall be applied to certain breeds [4; 85; 89; 90].

Based on blood morphological and biochemical parameters, all horse breeds are divided into hot-blood (HB), or thoroughbred, also called full-blood (Arabian or the Thoroughbred horses), and cold-blood (CB), or heavy horses, which belong to the heavy breeds suitable for hard work, also some ponies. The last, the largest, group is warm-blood (WB), or crossbreed, horses, obtained crossing HB and CB breeds, most often bred for particular purposes [45; 84; 124; 138; 148; 150]. Horse breed categorization based on its blood type enables to better use horses in certain sports. The due use of horse breeds allows achieving better results,

confirming the uniqueness of the breed, duly selecting medicines and therapeutic doses.

The subject of this study is one of the oldest horse breeds in Europe – Žemaitukai breed. It is national Lithuanian breed. Žemaitukai are resistant to diseases, indifferent to feed, long-living, strong, vigorous, and obedient. They are all-purpose horses, suitable for farming works, carriage, riding. Žemaitukai is genetically mostly examined breed in Lithuania. The examinations confirm the uniqueness of the breed due to rear T alleles identified in them. However, aiming to maintain the breed, Žemaitukai shall be adapted to modern environment in order to be bred and raised in the future. It is claimed that these horses as endure as Arabian, while their adaptability, resistance, retrieval of organism functions, strength of will is not matched all over the world. Blood hematology and serum biochemistry of the European and American horses breeds is well established and described by many scientists and details can be found in various articles and text books.

Žemaitukai horses' blood morphological and biochemical values and their variation limits that depend on gender and age were never examined and evaluated in Lithuania. As of the external factors, Žemaitukai are attributed to ponies, however their blood type is not known yet.

The **aim of this study** was to identify and deliver 25 physiological limits of blood morphological and biochemical parameters of the old type Žemaitukai breed depending on age and gender, and, based on them, attribute Žemaitukai to certain blood type. Analyze blood morphological and biochemical parameter variations in horse organism depending on age, gender, and physical activity, taking into account functional state of the horse.

### **The objectives of the study:**

1. Identify and presented the blood hematological and serum biochemical parameters values in healthy old type Žemaitukai horses.

2. Evaluate changes of blood serum biochemical and hematological parameter depending on age and gender, and present the obtained values as physiological blood parameters references of old type Žemaitukai horses.

3. Compare obtained values with a reference of other horse breeds and assign Žemaitukai horses to specific horse blood type.

4. Evaluate changes of blood hematological and serum biochemical parameters variability for horses after physical activity: after 32 km endurance race and after 1500 km long distance ride.

### **Novelty**

Knowing the existence of genetic differences between horse breeds, the study delivers blood morphological and biochemical values and their limits depending on gender and age of healthy old type Žemaitukai horses. For the first time in Europe, the study attributes Žemaitukai horses to the certain blood type what will enable purposeful evaluation of horse health, due horse usage in sports, diagnosing of diseases, selection and dosing of veterinary preparations. The study has analyzed and evaluated blood morphological and biochemical parameters variations after physical activity and in long endurance race running of old type Žemaitukai horses.

### **Theoretical and practical value**

The research performed addresses the important theoretical and practical issues – the evaluation of sports horses taking into account blood parameter variations and functional state of horses. Blood morphological and biochemical parameters limits sets may be applied to the old type Žemaitukai horses only. They may be used performing health control, diagnosing diseases, training, purposefully selecting physical activity, participating in endurance and other competitions.

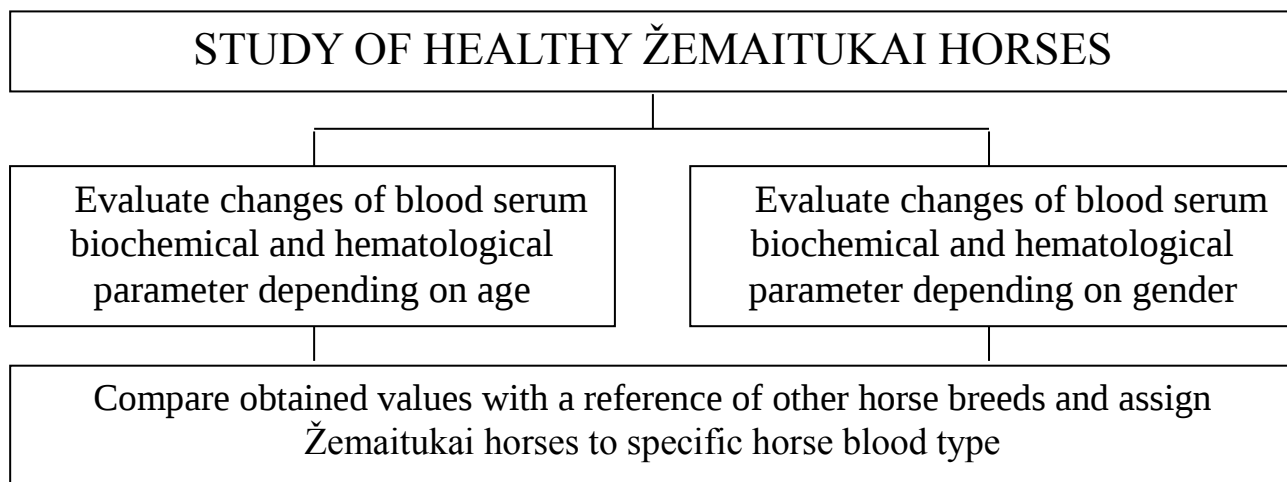
## **STUDY MATERIAL AND METHODS**

The study was performed in 2010–2011 in the Department of Non-Infections Diseases and in the Large Animal Clinic, in the Department of Animal Reproduction Laboratory of the Veterinary Academy (VA) of the Lithuanian University of Health Sciences (LUHS). Žemaitukai horses were included in the study from seven stud farms of Lithuania. All data presented in the work was carried out investigations.

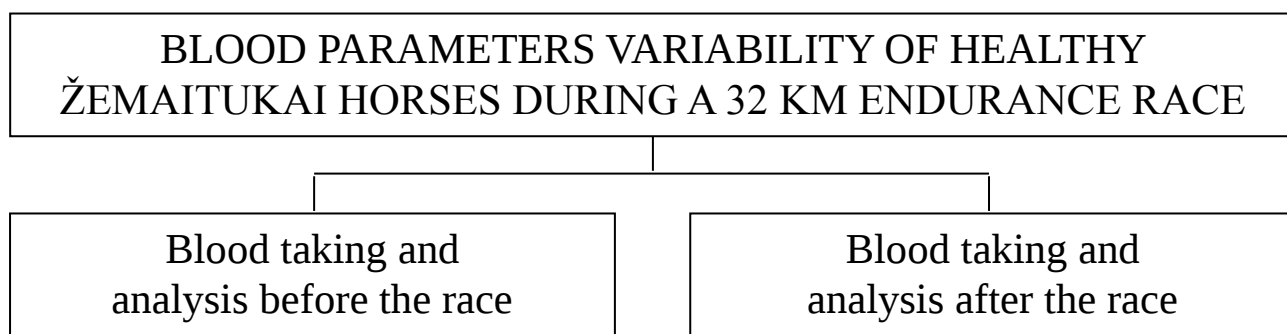
The study was carried out in three stages.

**Stage I.** Determine blood hematological and serum biochemical parameter values variation depending on age and gender in Žemaitukai horses.

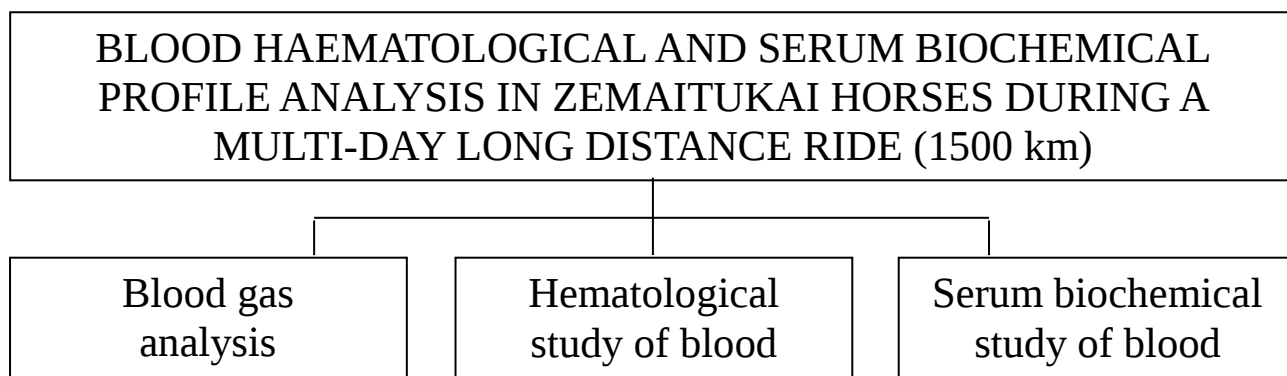
## STAGE I



## STAGE II



## STAGE III



### Investigation scheme

The research involved 173 clinically healthy (92 mares and 81 stallions) licensed Žemaitukai horses. All horses involved in the research were bred, kept, and raised in 7 stud farms of Lithuania. Blood samples were taken from horses ( $n = 173$ ) through one time, in March–May 2010 with a minimum stress on a horse. One day before the blood sampling, all horses

passed general clinical examination – the evaluation of health

All sampled horses were healthy, timely vaccinated, preventively treated against helminthosis 1 month before the research and further medically untreated during the entire month, the older adult mares were not pregnant. The horses got dry hay three times a day (08.00 am, 12.00 am, and 8.00 pm), oats one time a day, and water *ad libitum*; the diet did not involve supplements, vitamins, or additional minerals.

All blood samples were taken before morning feeding, aiming to reduce the influence of the circadian rhythm on blood parameters. Žemaitukai breed horses were grouped on a basis of gender: stallions (n = 81) and mares (n = 92); and divided into six groups according to age, taking into account nutrition particularities and physiological functions' appearance in the organism. The first group (group A) consisted of foals from birth to 1 year old (11 months) (n = 12), the second (Group B) –the youngster horses over 1 year (12 months) to 3 years (35 months) (n = 19), the third (Group C) – young stock horses over 3 years (36 months) to 6 years (71 months) (n = 48), the fourth (group D) – adult horses aged 6 years (72 months) to 10 years (119 months) (n = 48), the fifth group (Group E) – older adults horses aged 10 years (120 months) to 14 years (167 months) (n = 35), and the sixth group (group F) geriatric horses – aged 14 years (168 months) and older (n = 11).

**Stage I.** Aiming to reach the objective of Stage I, i.e. compare the results obtained with the other breeds and, based on the results obtained, attribute old type Žemaitukai horses to certain blood type. The results obtained were compared with the HB, CB, and WB horse breeds.

Aiming to reach the objective of **Stage II**, the researchers have chosen endurance competition, since a horse experiences high physiological stress, wastes high amount of energy and organism resources, resulting in blood biochemical and physiological functions changes during them. The organism of horses should rapidly retrieve force up to physiological limits. Blood samples of 40 clinically healthy old type Žemaitukai horses were examined and evaluated during the endurance competition (Kurtuvėnai and Tytuvėnai) on May–August 2011. The horses were specifically trained according to the endurance programme based on the international horse sports federation FEI (*Federation Equestre Internationale*) rules. In CEI endurance competition, the horses rode 32 km. Blood samples for morphological and biochemical tests (n = 40) were taken from clinically healthy Žemaitukai horses, having them minimally stressed, before the

competition (V0) and after the competition following veterinary examination (V1).

**Stage III.** 15 old type Žemaitukai horses (mares, n = 3; geldings, n = 11; stallions, n = 1) were researched. All of them rode 1500 km in a 2000 km cultural-historical trip through the territory of the Great Duchy of Lithuania, till the Black Sea, in September–October 2010. The trip lasted 40 days. All horses were clinically healthy, physically mature, trained following the endurance programme, and passed veterinary examination before the trip.

Blood samples for morphological, biochemical, and gas values were taken from all horses after veterinary examination: one day before the trip (T<sub>0</sub>), every 300 km (T<sub>1</sub>, T<sub>2</sub>, T<sub>3</sub>, T<sub>4</sub>, T<sub>5</sub>), and 2 weeks after the trip (T<sub>6</sub>).

### **Blood sample analysis**

**Stage I and II.** Blood samples were taken from *jugular vein*, using 21G size needle inserted at 45° angle, into vacuum 5 ml blood test tubes (BD Vacutainer, United Kingdom). Each time, the blood samples were taken into two test tubes: one containing ethylenediaminetetraacetic acid (EDTA) and one pre-treated with coagulation activator. Test tubes with EDTA were used for blood morphological tests, while test tubes with coagulation activator were used for biochemical tests. After taking, blood samples were coded, placed into transport refrigerator (0–4 °C), and brought to the examination center of Veterinary Academy, Lithuanian University of Health Sciences.

In the laboratory, blood samples with EDTA were repeatedly rotated with the automatic rotator ELMI RM-2 S (Elmi, Latvia). Blood morphologic parameters were assessed by automatic morphologic analyzer Abacus Junior Vet (Diatron Messtechnik GmbH, Austria, 2006) (Figure 2.2.1.2). Erythrocytes (RBC), leucocytes (WBC), lymphocytes (LYM), and thrombocytes (PLT), hemoglobin (Hb) concentration, hematocrit (HCT), and other parameters, such as mean corpuscular volume (MCV), mean hemoglobin volume (MCH), and mean corpuscular hemoglobin concentration (MCHC), were counted.

Separated blood serum was repeatedly centrifuged (Eppendorf Centrifuge 5810R, Germany) 5 min. 3000 rpm. Each 1 ml of blood serum, centrifuged from blood samples, was suctioned with Pasteur pipette (Einweg-Pasteurpipetten, Carl Roth GmbH, Germany) into two 2 ml test tubes of Eppendorf type with covers – for biochemical tests.

**Stage I** test tubes filled with blood serum were tested immediately.

**Stage II** test tubes were frozen and kept in -20 °C till the beginning of testing. The test tubes were unfrozen and biologically tested after 3 days.

**Stage III.** Blood samples were taken from *jugular vein* into two vacuum blood test tubes containing lithium heparin and a test tube pre-treated with coagulation activator (5 ml; BD Vacutainer, United Kingdom) at the following frequency: before the trip ( $T_0$ ), each 300 km (300 km ( $T_1$ ), 600 km ( $T_2$ ), 900 km ( $T_3$ ), 1200 km ( $T_4$ ), 1500 km ( $T_5$ )), and 2 weeks after the trip ( $T_6$ ).

After 900 km of ride, the owner of two horses refused to proceed the trip and withdrew; the blood samples of such two horses were not tested further. 2 weeks after the trip, the blood samples were taken from 9 horses only, due to technical problems. Test tubes with lithium heparin were used for blood gas (pH,  $pCO_2$ ,  $pO_2$ ), electrolytes ( $K^+$ ,  $Na^+$ ,  $Ca^{++}$ ), hematocrit (HCT), lactates (Lac), and glucose (Glu) values, while test tubes with coagulation activator were used for biochemical values and hemoglobin concentration.

During the trip, blood plasma was tested immediately with a portable blood gas analyzer EPOC (EPOC, Canada), using analyzer-specific disposable cassettes containing liquid reagent (EPOC, Canada).

Hb concentration was also tested locally during the trip, using portable photo metric analyzer HemoCue HB 201+ (HemoCue, Sweden). During the trip, the performance of a biochemical test was not possible, thus the separated blood serum was suctioned with Pasteur pipette (Einweg-Pasteurpipetten, Carl Roth GmbH, Germany) into two 2 ml test tubes of Eppendorf type with covers. The test tubes filled with test serum were frozen and stored in liquid nitrogen at -196 °C till the beginning of testing.

In all stages (**I, II, and III**), biochemical blood tests were performed using automatic computer-based analyzer SELECTRA Junior (Netherlands, 2006) (Figure 2.7) and reagents Spinreact (Spain). Total protein (TP), albumin (Alb), calcium ( $Ca^{++}$ ), phosphorus (P), magnesium (Mg), potassium (K), sodium (Na), urea (*Urea*), glucose (Glu), creatinine (Crea) concentrations; cardiac (CK-MB) and total creatine kinase (CK-NAC), alanine aminotransferase (ALT), aspartate aminotransferase (AST), alkaline phosphatase (ALP), and gama glutamiltransferase (GGT) activities were set.

### **Statistical analysis**

The research data were processed by statistical package SPSS (SPSS for Windows 15.0, SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA, 2006) and Microsoft Office Excel (2007). Blood morphological and serum biochemical parameters were compared using ANOVA pattern: Stage I – having set gender (mares and stallions) and age (6 groups) factors; Stage II – having set the factors before and after the competitions; Stage III – having set the factors of stages (7 groups).

In order to define significant differences between the test groups LSD test (Fisher's Least Significant Difference) ( $\alpha = 5$  proc.) was used. Parameter analysis data were considered statistically significant, when  $P < 0.05$  (Stage I and III). In Stage II, the dispersion analysis (F – criterion, p – value) was used in order to define significant differences between the test groups. Parameter analysis data were considered statistically significant, when  $P < 0.05$ ,  $P < 0.01$  and  $P < 0.001$ . Blood parameter average norms were delivered with the standard deviation ( $\pm$  SD).

## **RESULTS**

### **Blood morphological and biochemical parameter physiological limits variation depending on age and gender**

Morphological and biochemical test results of Žemaitukai horses are presented in Tables 3.1–3.2.

Blood tests of clinically healthy old type Žemaitukai horses showed that RBC, WBC, and LYM values statistically significantly decrease, while MCV and MCH concentrations statistically significantly increase ( $P < 0.05$ ) with the age of horses. The average value of MCHC was  $430.09 \pm 39.94$  g/l in youngster horses, and MCHC increase ( $P < 0.05$ ) with age in Žemaitukai horse. WBC and LYM values decreased from one year of age, while RBC from 0.5 year of age. It was identified, that MCHC is statistically significantly higher in blood of youngster than older adult. With the age, the MCH value gradually statistically significantly increased ( $P < 0.05$ ) and the average value of MCH was  $18.95 \pm 1.03$  pg.

RBC, HCT, and Hb values are statistically significantly ( $P < 0.001$ ,  $P < 0.01$ , and  $P < 0.05$ ) higher, while MCH and MCHC are statistically significantly ( $P < 0.05$ ) lower in mares than stallions of all age groups. Also, WBC, LYM, and PLT values were statistically insignificantly lower in mares than stallions.

**Table 3.1** Blood morphological test result of Žemaitukai horses (mean with  $\pm$ SD)

| Parameters                 | Group A                  | Group B               | Group C                 |
|----------------------------|--------------------------|-----------------------|-------------------------|
| N                          | 12                       | 19                    | 48                      |
| RBC, x 10 <sup>12</sup> /l | 9.80 $\pm$ 1.18 ab       | 8.69 $\pm$ 1.11 bc    | 8.39 $\pm$ 1.08 c       |
| WBC, x 10 <sup>9</sup> /l  | 10.48 $\pm$ 2.70 abc     | 11.08 $\pm$ 3.57 b    | 9.79 $\pm$ 1.89 cf      |
| LYM, x 10 <sup>9</sup> /l  | 3.46 $\pm$ 1.26 abc      | 3.98 $\pm$ 1.57 b     | 2.83 $\pm$ 1.27 c       |
| Hb, g/l                    | 139.00 $\pm$ 19.64       | 140.74 $\pm$ 17.98    | 142.25 $\pm$ 21.33 a    |
| HCT, %                     | 30.62 $\pm$ 4.37 abef    | 30.39 $\pm$ 3.51 bef  | 33.36 $\pm$ 4.36 cd     |
| MCV, fl                    | 31.25 $\pm$ 2.49 a       | 35.16 $\pm$ 3.00 b    | 39.94 $\pm$ 2.57 c      |
| MCH, pg                    | 14.20 $\pm$ 1.25 a       | 16.23 $\pm$ 0.98 bc   | 16.99 $\pm$ 1.46 c      |
| MCHC, g/l                  | 454.67 $\pm$ 28.16 abdef | 463.00 $\pm$ 20.18 bf | 417.42 $\pm$ 77.46 cdef |
| PLT, x 10 <sup>9</sup> /l  | 186.75 $\pm$ 77.06 a     | 144.16 $\pm$ 49.73    | 135.53 $\pm$ 58.34 bc   |
|                            |                          |                       |                         |
| Parameters                 | Group D                  | Group E               | Group F                 |
| N                          | 48                       | 35                    | 11                      |
| RBC, x 10 <sup>12</sup> /l | 7.83 $\pm$ 0.91 de       | 7.45 $\pm$ 1.03 e     | 6.72 $\pm$ 0.87 f       |
| WBC, x 10 <sup>9</sup> /l  | 8.68 $\pm$ 1.50 def      | 8.64 $\pm$ 1.46 ef    | 8.75 $\pm$ 1.46 f       |
| LYM, x 10 <sup>9</sup> /l  | 2.19 $\pm$ 0.92 def      | 1.76 $\pm$ 0.72 ef    | 1.79 $\pm$ 0.85 f       |
| Hb, g/l                    | 139.75 $\pm$ 19.15       | 135.71 $\pm$ 22.30    | 127.00 $\pm$ 16.40 b    |
| HCT, %                     | 33.29 $\pm$ 3.97 de      | 31.54 $\pm$ 3.91 ef   | 29.51 $\pm$ 4.19 f      |
| MCV, fl                    | 42.58 $\pm$ 2.66 def     | 42.51 $\pm$ 2.63 ef   | 44.09 $\pm$ 2.47 f      |
| MCH, pg                    | 1791 $\pm$ 1.73 de       | 18.24 $\pm$ 1.59 ef   | 18.95 $\pm$ 1.03 f      |
| MCHC, g/l                  | 422.21 $\pm$ 50.18 def   | 430.09 $\pm$ 39.94 ef | 430.55 $\pm$ 10.34 f    |
| PLT, x 10 <sup>9</sup> /l  | 152.81 $\pm$ 64.61       | 148.26 $\pm$ 60.99    | 124.91 $\pm$ 46.21 c    |

The different letters (a, b, c, d, e, f) show a statistically significant difference ( $P < 0.05$ ) between the age group

**Table 3.2** Blood morphological test result of Žemaitukai females and males (mean with  $\pm$ SD)

| Parameters                 | Females           | Males                |
|----------------------------|-------------------|----------------------|
| N                          | 92                | 81                   |
| RBC, x 10 <sup>12</sup> /l | 8.36 $\pm$ 0.13   | 7.74 $\pm$ 0.15 ***  |
| WBC, x 10 <sup>9</sup> /l  | 9.29 $\pm$ 0.21   | 9.48 $\pm$ 0.26      |
| LYM, x 10 <sup>9</sup> /l  | 2.38 $\pm$ 0.14   | 2.72 $\pm$ 0.14      |
| Hb, g/l                    | 141.78 $\pm$ 2.24 | 135.57 $\pm$ 2.05 *  |
| HCT, %                     | 33.42 $\pm$ 0.45  | 30.84 $\pm$ 0.41 *** |
| MCV, fl                    | 40.33 $\pm$ 0.45  | 40.33 $\pm$ 0.49     |
| MCH, pg                    | 17.04 $\pm$ 0.20  | 17.69 $\pm$ 0.20 *   |
| MCHC, g/l                  | 424.99 $\pm$ 5.68 | 440.06 $\pm$ 3.52 *  |
| PLT, x 10 <sup>9</sup> /l  | 144.54 $\pm$ 6.27 | 150.59 $\pm$ 7.09    |

\* –  $P < 0.05$ ; \*\* –  $P < 0.01$ ; \*\*\* –  $P < 0.001$

**Table 3.3** Blood biochemical values of Žemaitukai horses (mean  $\pm$ SD)

| Parameters   | Group A                 | Group B                   | Group C                  |
|--------------|-------------------------|---------------------------|--------------------------|
| N            | 12                      | 19                        | 48                       |
| TP, g/l      | 62.61 $\pm$ 9.56 abcef  | 65.33 $\pm$ 8.58 bcdef    | 62.40 $\pm$ 10.92 cf     |
| Alb, g/l     | 29.03 $\pm$ 4.84        | 28.96 $\pm$ 3.74          | 30.03 $\pm$ 4.86         |
| Glu, mmol/l  | 4.85 $\pm$ 1.38 ae      | 3.19 $\pm$ 1.50 bcdef     | 3.40 $\pm$ 1.28 cdef     |
| Urea, mmol/l | 5.29 $\pm$ 0.84         | 5.29 $\pm$ 1.11           | 5.16 $\pm$ 1.15          |
| Crea, mmol/l | 0.98 $\pm$ 0.17         | 0.94 $\pm$ 0.13           | 1.04 $\pm$ 0.20          |
| AST, U/l     | 311.11 $\pm$ 67.31      | 305.86 $\pm$ 66.93        | 311.10 $\pm$ 106.86      |
| ALT, U/l     | 14.61 $\pm$ 4.25        | 14.70 $\pm$ 4.62          | 14.20 $\pm$ 5.94         |
| ALP, U/l     | 599.25 $\pm$ 361.42 a   | 402.79 $\pm$ 142.69 bcdef | 357.21 $\pm$ 158.52 cdef |
| GGT, U/l     | 30.00 $\pm$ 6.78        | 27.75 $\pm$ 5.64          | 27.24 $\pm$ 11.72 abc    |
| CK-NAC, U/l  | 314.92 $\pm$ 215.83     | 357.47 $\pm$ 137.13       | 354.11 $\pm$ 143.82      |
| CK-MB, U/l   | 477.80 $\pm$ 249.26 a   | 619.40 $\pm$ 242.31       | 583.70 $\pm$ 236.51      |
| Ca, mmol/l   | 2.72 $\pm$ 0.38         | 2.68 $\pm$ 0.36           | 2.65 $\pm$ 0.47          |
| P, mmol/l    | 1.33 $\pm$ 0.42 a       | 0.94 $\pm$ 0.30 bcde      | 0.93 $\pm$ 0.29 cde      |
| Mg, mmol/l   | 0.74 $\pm$ 0.10 abdef   | 0.71 $\pm$ 0.13 bcdef     | 0.65 $\pm$ 0.11 c        |
| K, mmol/l    | 5.12 $\pm$ 0.59 acdef   | 4.52 $\pm$ 0.37 bf        | 5.16 $\pm$ 0.85 cdef     |
| Na, mmol/l   | 151.63 $\pm$ 9.72       | 152.13 $\pm$ 5.71         | 154.51 $\pm$ 4.34        |
|              |                         |                           |                          |
| Parameters   | Group D                 | Group E                   | Group F                  |
| N            | 48                      | 35                        | 11                       |
| TP, g/l      | 68.96 $\pm$ 9.16 def    | 67.11 $\pm$ 8.08 ef       | 66.04 $\pm$ 8.50 f       |
| Alb, g/l     | 30.84 $\pm$ 4.96 a      | 29.22 $\pm$ 4.95          | 27.54 $\pm$ 5.12 b       |
| Glu, mmol/l  | 3.33 $\pm$ 1.16 def     | 3.89 $\pm$ 2.55 ef        | 3.35 $\pm$ 1.05 f        |
| Urea, mmol/l | 5.53 $\pm$ 1.70         | 5.12 $\pm$ 1.12           | 5.99 $\pm$ 1.24          |
| Crea, mmol/l | 1.00 $\pm$ 0.18         | 0.96 $\pm$ 0.22           | 0.92 $\pm$ 0.19          |
| AST, U/l     | 297.06 $\pm$ 89.23      | 283.64 $\pm$ 82.49        | 299.09 $\pm$ 76.17       |
| ALT, U/l     | 13.20 $\pm$ 3.58        | 12.57 $\pm$ 3.77          | 12.76 $\pm$ 4.05         |
| ALP, U/l     | 338.67 $\pm$ 114.99 def | 370.60 $\pm$ 166.28 ef    | 442.55 $\pm$ 236.37 f    |
| GGT, U/l     | 26.83 $\pm$ 13.70 bc    | 25.58 $\pm$ 12.93 c       | 40.57 $\pm$ 30.39 e      |
| CK-NAC, U/l  | 361.57 $\pm$ 167.80     | 401.77 $\pm$ 197.98       | 352.91 $\pm$ 126.66      |
| CK-MB, U/l   | 603.83 $\pm$ 284.30     | 652.53 $\pm$ 264.26 b     | 585.94 $\pm$ 204.35      |
| Ca, mmol/l   | 2.75 $\pm$ 0.32         | 2.69 $\pm$ 0.34           | 2.67 $\pm$ 0.47          |
| P, mmol/l    | 0.88 $\pm$ 0.20 de      | 0.82 $\pm$ 0.26 ef        | 0.71 $\pm$ 0.15 f        |
| Mg, mmol/l   | 0.74 $\pm$ 0.12 def     | 0.71 $\pm$ 0.12 ef        | 0.76 $\pm$ 0.16 f        |
| K, mmol/l    | 5.14 $\pm$ 0.72 def     | 4.99 $\pm$ 0.60 ef        | 5.00 $\pm$ 0.71 f        |
| Na, mmol/l   | 153.69 $\pm$ 4.72       | 153.80 $\pm$ 4.42         | 152.64 $\pm$ 5.50        |

The different letters (a, b, c, d, e, f) show a statistically significant difference ( $P < 0.05$ ) between the age group

Biochemical test results of Žemaitukai horses are presented in Tables 3.3–3.4.

Blood biochemical tests of Žemaitukai horses (Table 3.3) showed that TP, GGT, and CK-MB concentrations in blood serum statistically significantly ( $P < 0.05$ ) increase, while Glu, ALP, P, and K values decrease with the age of horses. The average amount of creatinine in the Žemaitukai horses was  $1.04 \pm 0.20$  mmol/l and it was higher in adult horses than foals, but urea was higher in geriatric horses ( $5.99 \pm 1.24$  mmol/l). The enzyme AST and ALT activity was decreases with increasing age. Foals female blood glucose ( $4.85 \pm 1.38$  mmol/l) values were higher compared to the other groups.

**Table 3.4** Blood biochemical values of Žemaitukai females and males (mean with  $\pm SD$ )

| Parameters   | Females            | Males                  |
|--------------|--------------------|------------------------|
| N            | 92                 | 81                     |
| TP, g/l      | $65.55 \pm 1.04$   | $65.95 \pm 1.04$       |
| Alb, g/l     | $31.25 \pm 0.50$   | $28.06 \pm 0.50$ ***   |
| Glu, mmol/l  | $3.58 \pm 0.14$    | $3.53 \pm 0.22$        |
| Urea, mmol/l | $5.26 \pm 0.14$    | $5.40 \pm 0.14$        |
| Crea, mmol/l | $1.04 \pm 0.02$    | $0.93 \pm 0.02$        |
| AST, U/l     | $318.78 \pm 8.48$  | $286.38 \pm 9.30$ *    |
| ALT, U/l     | $13.99 \pm 0.51$   | $13.16 \pm 0.48$       |
| ALP, U/l     | $348.73 \pm 12.21$ | $400.42 \pm 20.78$     |
| GGT, U/l     | $26.78 \pm 1.02$   | $28.59 \pm 2.30$       |
| CK-NAC, U/l  | $314.48 \pm 12.84$ | $419.18 \pm 21.27$ *** |
| CK-MB, U/l   | $532.31 \pm 22.14$ | $677.00 \pm 31.37$ *** |
| Ca, mmol/l   | $2.76 \pm 0.04$    | $2.63 \pm 0.04$ *      |
| P, mmol/l    | $0.98 \pm 0.03$    | $0.83 \pm 0.03$ ***    |
| Mg, mmol/l   | $0.69 \pm 0.01$    | $0.73 \pm 0.01$ *      |
| K, mmol/l    | $5.14 \pm 0.08$    | $4.92 \pm 0.07$        |
| Na, mmol/l   | $154.57 \pm 0.43$  | $152.40 \pm 0.68$ **   |

\* –  $P < 0.05$ ; \*\* –  $P < 0.01$ ; \*\*\* –  $P < 0.001$

Alb ( $P < 0.001$ ), AST ( $P < 0.05$ ), Ca ( $P < 0.05$ ), P ( $P < 0.001$ ), and Na ( $P < 0.001$ ) values are higher, while CK-NAC ( $P < 0.001$ ), CK-MB ( $P < 0.001$ ), and Mg ( $P < 0.05$ ) values are lower in blood serum of mares than stallions in all age groups.

### Blood morphological and biochemical parameters variation during endurance ride (32 km)

Blood morphological test of clinically healthy old type Žemaitukai horses performed during endurance competition showed that WBC ( $P < 0.05$ ) and RBC ( $P < 0.001$ ) values, Hb ( $P < 0.001$ ) concentration and HCT ( $P < 0.001$ ) concentration, and MCHC ( $P < 0.05$ ) values are statistically significantly higher after competition than before the competition. The data are delivered in Table 3.5.

**Table 3.5** Average norms of blood morphological parameters in Žemaitukai horses during endurance competition (32 km)

| Parameters              | V0                 | V1                    | F      | Sig.   |
|-------------------------|--------------------|-----------------------|--------|--------|
| WBC, $\times 10^9/l$    | 10.12 $\pm$ 2.17   | 11.15 $\pm$ 2.29*     | 4.016  | 0.0490 |
| LYM, $\times 10^9/l$    | 1.51 $\pm$ 0.61    | 1.22 $\pm$ 0.54*      | 4.700  | 0.0330 |
| MID, $\times 10^9/l$    | 0.44 $\pm$ 0.30    | 0.59 $\pm$ 0.31*      | 4.738  | 0.0330 |
| GRA, $\times 10^9/l$    | 8.16 $\pm$ 2.18    | 9.34 $\pm$ 2.31*      | 5.220  | 0.0250 |
| LY, %                   | 15.43 $\pm$ 7.56   | 11.64 $\pm$ 6.15*     | 5.674  | 0.0200 |
| MI, %                   | 4.16 $\pm$ 2.68    | 5.29 $\pm$ 2.60       | 3.436  | 0.0680 |
| GR, %                   | 79.99 $\pm$ 7.04   | 83.08 $\pm$ 6.01*     | 4.187  | 0.0440 |
| RBC, $\times 10^{12}/l$ | 8.31 $\pm$ 1.02    | 9.34 $\pm$ 0.97***    | 20.154 | 0.0000 |
| Hb, g/l                 | 127.90 $\pm$ 16.48 | 143.97 $\pm$ 15.29*** | 19.293 | 0.0000 |
| HCT, %                  | 36.22 $\pm$ 4.28   | 40.16 $\pm$ 3.90***   | 17.476 | 0.0000 |
| MCV, fl                 | 43.93 $\pm$ 2.99   | 43.11 $\pm$ 2.91      | 1.441  | 0.2340 |
| MCH, pg                 | 15.34 $\pm$ 1.22   | 15.45 $\pm$ 1.07      | 0.180  | 0.6730 |
| MCHC, g/l               | 348.38 $\pm$ 25.47 | 358.67 $\pm$ 10.30*   | 5.121  | 0.0270 |
| PLT, $\times 10^9/l$    | 166.08 $\pm$ 62.44 | 193.50 $\pm$ 2.12     | 0.373  | 0.5470 |

\* –  $P < 0.05$ ; \*\* –  $P < 0.01$ ; \*\*\* –  $P < 0.001$

Blood biochemical tests showed that average total protein (TP) value are statistically significantly ( $P < 0.01$ ) lower after the endurance competition than before race; respectively, albumin (Alb) value ( $P < 0.05$ ) is lower. Glucose (Glu), creatinine (Crea), and sodium (Na) values are statistically significantly higher ( $P < 0.001$ ), seemingly as CK-NAC ( $P < 0.01$ ), after the competition than before. It was identified that enzyme AST, ALT, and CK-MB activity, and potassium (K), calcium (Ca), and phosphorus (P) values are statistically insignificantly higher than before, while urea and alkaline phosphatase (ALP) values are lower. The data are delivered in Table 3.6.

**Table 3.6** Average norms of blood biochemical parameters in Žemaitukai horses during endurance competition (32 km)

| Parameter    | V0            | V1             | F      | Sig.   |
|--------------|---------------|----------------|--------|--------|
| TP, g/l      | 71.29±7,13    | 66.33±7.54**   | 8.372  | 0.0050 |
| Alb, g/l     | 32.08±3,88    | 29.07±6.60*    | 5.719  | 0.0190 |
| Glu, mmol/l  | 3.27±1,10     | 4.39±1.94**    | 9.533  | 0.0030 |
| Urea, mmol/l | 5.84±1,79     | 5.77±1.58      | 0.029  | 0.8640 |
| Crea, mg/l   | 0.85±0,13     | 1.00±0.22***   | 11.699 | 0.0010 |
| AST, U/l     | 355.64±97,50  | 374.19±115.32  | 0.547  | 0.4620 |
| ALT, U/l     | 14.44±6,35    | 22.15±32.71    | 2.032  | 0.1580 |
| ALP, U/l     | 391.32±126,49 | 373.63±152.12  | 0.294  | 0.5900 |
| GGT, U/l     | 25.71±11,32   | 27.24±13.29    | 0.281  | 0.5980 |
| CK-MB, U/l   | 603.45±232,05 | 673.79±298.81  | 1.149  | 0.2880 |
| CK-NAC, U/l  | 376.29±149,48 | 476.06±238.61* | 4.197  | 0.0450 |
| Mg, mmol/l   | 0.63±0,08     | 0.60±0.79      | 2.453  | 0.1220 |
| K, mmol/l    | 5.29±0,69     | 5.34±1.24      | 0.047  | 0.8290 |
| Na, mmol/l   | 154.23±2,54   | 157.36±3.69*** | 16.373 | 0.0000 |
| Ca, mmol/l   | 2.59±0,27     | 2.65±0.48      | 0.511  | 0.4770 |
| P, mmol/l    | 0.96±0,24     | 1.00±0.33      | 0.306  | 0.5820 |

\* –  $P < 0.05$ ; \*\* –  $P < 0.01$ ; \*\*\* –  $P < 0.001$

Physical preparation of horses for the competition, confirmed blood morphological and biochemical parameter variation, is high enough and corresponds to that of horses participating in endurance sports.

### **Blood morphological and biochemical parameters variation during long distance race running (1500 km)**

The evaluation of acid-base balance of horses is important because it detects alterations that affect their performance and health.

#### *pH average variations in a long-distance race running (1500 km)*

Blood pH concentration measurement showed decreasing pH concentration compared to that at the beginning of the trip. Blood pH concentration reached its lowest value at the limit of 1200 km. Blood pH value statistically significantly decreased after 300 km, compared to the value at the limit of 1200 km ( $P < 0.05$ ). At the end of the trip (1500 km), pH value increased almost reaching its level before the beginning of the trip and statistically significantly increased ( $P < 0.05$ ) 2 weeks after the trip, compared to the value before the trip.

#### *pCO<sub>2</sub> and pO<sub>2</sub> average variations in a long-distance running (1500 km)*

Partial pressure of carbon dioxide (pCO<sub>2</sub>) statistically significantly

( $P < 0.05$ ) increased after 300 km, compared to the value at the end of the trip. After 600 km and 900 km,  $p\text{CO}_2$  statistically significantly ( $P < 0.05$ ) decreased, compared to its value 2 weeks after the trip. After 1200 km, it reached its maximum statistically significant value ( $P < 0.05$ ), compared to the values before the trip and 2 weeks after the trip. At the end of the trip (1500 km),  $p\text{CO}_2$  value decreased almost to the level before the trip and 2 weeks after the trip it as even much lower compared to the value before the trip (see Figure 3.2). During the trip, partial pressure of carbon dioxide ( $p\text{O}_2$ ) decreased after 600 km and 900 km, reaching its minimum statistically significant value ( $P < 0.05$ ), compared to the values before the trip and 2 weeks after the trip. After 1200 km, the value of  $p\text{O}_2$  statistically significantly increased ( $P < 0.05$ ) and almost reached its base level at the end of the trip, compared to the values before the trip and 2 weeks after the trip.

#### *Hemoglobin (Hb) average variations in long-distance running (1500 km)*

After 1200 km, Hb concentration statistically significantly increased ( $P < 0.05$ ), compared to the value after 1500 km, while 2 weeks after the trip it increased even more and almost reached its level before the trip.

#### *$\text{HCO}_3^-$ and $\text{TCO}_2$ average variations in long-distance running (1500 km)*

After 300 km, bicarbonate concentration ( $\text{HCO}_3^-$ ) statistically significantly increased, compared to its value after 1200 km ( $P < 0.05$ ). More significant statistical variations of  $\text{cHCO}_3^-$  and  $\text{cTCO}_2$  were not detected. During the research, statistically significant variations of  $\text{cTCO}_2$  were not detected (see Figure 3.3.4).

#### *Hematocrit (HCT) average variations in long-distance running (1500 km)*

During the trip, hematocrit (HCT) average varied depending of organism's ability to keep it constant. The test showed obvious statistically significant difference between the stages ( $P < 0.05$ ). After 1200 km, HCT value reached maximum statistically significant value ( $P < 0.05$ ), compared to those after 300 km, 600 km, and 1500 km. 2 weeks after the trip, hematocrit value decreased almost reaching its level before the trip.

#### *Potassium ( $\text{K}^+$ ) average variations in long-distance running (1500 km)*

In all horses, potassium ( $\text{K}^+$ ) concentration statistically significantly ( $P < 0.05$ ) decreased, compared to its value before the trip. The lowest statistically significant value ( $P < 0.05$ ) was reached after 600 km, compared to the values before the trip; after 300 km, 900 km, 1200 km, 1500 km; and 2 weeks after the trip. After 1200 km, potassium

concentration statistically significantly increased ( $P < 0.05$ ), compared to its value after 600 km. After the trip, K concentration was statistically significantly ( $P < 0.05$ ) lower, compared to its value before the trip. 2 weeks after the trip, potassium concentration increased almost reaching its level before the trip.

*Sodium ( $\text{Na}^+$ ) average variations in long-distance running (1500 km)*

Sodium ( $\text{Na}^+$ ) variations were minimal all over the trip; only minor significant difference of the results was noticed. Sodium value slightly increased at the beginning of the trip. Sodium value was statistically significantly higher ( $P < 0.05$ ) after 300 km, 600 km, 900 km, 1200 km, and 1500 km, compared to the value 2 weeks after the trip.

*Calcium (Ca) average variations in long-distance running (1500 km)*

In blood plasma, calcium (Ca) variations were minimal, and its level statistically significantly differed, compared the values before the trip, after 300 km, 600 km, 900 km, 1500 km, and 2 weeks after the trip ( $P < 0.05$ ). All values were statistically insignificantly increased compared with those before the trip.

*Magnesium (Mg) average variations in long-distance running (1500 km)*

Magnesium (Mg) varied minimally during the entire trip; only minor differences were noticed in the results. Statistically significantly ( $P < 0.05$ ) higher values of magnesium were noticed after 1200 km, compared to the values before the trip, 300 km, 600 km, 900 km, 1500 km. 2 weeks after the trip, the level of magnesium was statistically insignificantly higher compared to the value before the trip.

*Phosphorus (P) average variations in long-distance running (1500 km)*

In all horses, potassium (P) concentration statistically significantly ( $P < 0.05$ ) decreased right after starting the trip, compared to the value before trip. The lowest statistically significant value was reached after 300 km, compared to the values before the trip; after 600 km, 900 km, 1200 km, 1500 km; and 2 weeks after the trip.

*Total protein (TP) average variations in long-distance running (1500 km)*

In all horses, total protein (TP) concentration was higher during the entire trip and 2 weeks after the trip, compared to the value before the trip. The highest statistically significant value was reached after 600 km, compared to those before the trip and after 300 km.

*Albumin (Alb) average variations in long-distance running (1500 km)*

In all horses, albumin (Alb) concentration increased at 600 km, then it decreased at the end of the trip and reached the lowest value after 1500 km, while 2 weeks after the trip the albumin value increased and reached its maximum, compared to the values during the entire trip. Statistically significant variations were not detected.

*Glucose (Glu) average variations in long-distance running (1500 km)*

In all horses, glucose level statistically significantly increased after 300 km and reached its maximum statistically significant ( $P < 0.05$ ) value, compared to the values after 600 km, 900 km, 1200 km, 1500 km, and 2 weeks after the trip. When 300 km were passed, glucose concentration statistically significantly ( $P < 0.05$ ) decreased all over the trip (1500 km). The lowest statistically significant ( $P < 0.05$ ) value was achieved 2 weeks after the trip, compared to the values after 300 km and 600 km.

*Urea average variations in long-distance running (1500 km)*

In all horses, urea value statistically significantly ( $P < 0.05$ ) increased during the entire trip, compared to the level before the trip. The highest statistically significant value was reached after 600 km, compared to the values before the trip, after 300 km and 1200 km. After 900 km, it slightly, statistically significantly ( $P < 0.05$ ) decreased, compared to the values before the trip, after 300 km, and 2 after the trip. After 1200 km, urea value statistically significantly ( $P < 0.05$ ) increased, and then decreased at the end of trip (1500 km), while 2 weeks after the trip it almost reached the value before the trip.

*Creatinine (Crea) average variations in long-distance running (1500 km)*

In all horses, creatinine (Crea) concentration was higher during the entire trip, compared to the value before the trip. The highest statistically significant value ( $P < 0.05$ ) was reached after 600 km, compared to the values before the trip and after 300 km. After the trip, Crea value decreased almost reaching the level before the trip, and 2 weeks after the trip, it statistically significantly increased ( $P < 0.05$ ), compared to the value before the trip.

*Aspartate aminotransferase enzyme (AST) activity average variations in long-distance running (1500 km)*

In all horses, AST enzyme activity was higher during the entire trip, up to 1500 km, compared to the value before the trip. The highest statistically insignificant value was reached after 300 km, compared to the vales all over the trip.

*Alanine aminotransferase enzyme (ALT) activity average variations in*

### *long-distance running (1500 km)*

In all horses, ALT activity was higher during the entire trip up to the end (1500 km), compared to the value before the trip. After the trip (1500 km), ALT activity was statistically significantly lower ( $P < 0.05$ ), compared to the value before the trip. The lowest statistically significant variation ( $P < 0.05$ ) was reached 2 weeks after the trip, compared to the other values during the trip. The highest statistically significant ( $P < 0.05$ ) value was observed after 1200 km.

### *Gama glutamiltransferase enzyme (GGT) activity average in long-distance running (1500 km)*

During the entire trip, GGT activity gradually increased and reached its statistically significant maximum ( $P < 0.05$ ) after 1200 km, compared to the values before the trip, after 300 km, and 2 weeks after the trip. At the end of the trip (1500 km) GGT activity decreased, and 2 weeks after the trip it reached the value before the trip.

### *Alkaline phosphatase enzyme (ALP) activity average variations in long-distance running (1500 km)*

During the entire trip, up to 1200 km, ALP activity constantly increased in all horses, compared to the value before the trip. The highest statistically significant ( $P < 0.05$ ) value was reached after 1200 km, compared to the values before the trip and 2 weeks after the trip. At the end of the trip (1500 km) ALP activity decreased, and 2 weeks after the trip it reached the lowest statistically significant value ( $P < 0.05$ ), compared to the values after 600 km, 900 km, and 1200 km. 2 weeks after the trip ALP activity was lower compared to the value before the trip.

### *Total creatinekinase enzyme (CK-NAC) activity average variations in long-distance running (1500 km)*

In all horses, CK-NAC activity statistically significantly ( $P < 0.05$ ) decreased during the entire trip, up to the very end (1500 km), compared to the value before the trip. The lowest statistically significant ( $P < 0.05$ ) activity value was reached after 1500 km, compared to the values before the trip, after 300 km and 1200 km, and 2 weeks after the trip.

### *Cardiac creatinekinase enzymes (CK-MB) activity average in long-distance running (1500 km)*

In all horses, CK-MB activity statistically significantly ( $P < 0.05$ ) decreased up to 900 km, then increased, again decreased after 1200 km, and kept decreasing up to the very end of the trip (1500 km). The lowest statistically significant value was reached after 1500 km, compared to the values before the trip, after 300 km, and after 1200 km.

## DISCUSSION

Knowledge on physiological functions that depend on age and gender of horses is necessary in order to develop horse raising, feeding, usage, and pairing recommendations; finding the best horse raising and feeding methods; due usage of horses in work, sports, and reproduction. The individual development of a horse from birth till natural death can be divided into five age stages that differ in the exterior, nutrition features, and appearance of physiological functions in the organism: 1) suckling period (foals); 2) sexual maturity period (youngster); 3) final development of the organism period (young horses); 4) maturity period (adult and older horses); 5) old age period (geriatric horses) [43; 45; 90; 91; 146; 147].

### **Blood hematological and serum biochemical parameters characteristics in horses depending on age**

It was identified that total erythrocyte (RBC) and leukocyte (WBC) values statistically significantly decrease with the age of horse. In the blood of foals, thrombocyte (PLT) and lymphocyte (LYM) values are statistically significantly higher than those in older adult and geriatric horses. During the research, Hb concentration gradually statistically significantly increased ( $P < 0.05$ ) with the age up to 6 years. The highest Hb concentration value was identified in the blood of young stock horses (3–6 years), mostly in presence of oxidation reactions in the organism; while after this period it statistically significantly decreases ( $P < 0.05$ ) up to the old age. Hematocrit (HCT) varied with the horse age respectively. Similar hematocrit variations were noticed by Nina Čebuli-Kaudune *et al* (2002) in their studies of Lipizzaner breed horses [25]. Cigdem Altinsaatt (2008) identified that HCT level increases with the age in Arabian horses [4], while Alina S. De Aluja *et al* found it true (2006) in donkeys [33].

It was identified that MCH value in the blood of Žemaitukai horses varied depending on the age too: MCH concentration in blood statistically significantly increased ( $P < 0.05$ ) with the age. It shows that physiological value of erythrocytes and hemoglobin does not depend on their values in the organism [148]. It was researched that MCHC value in blood of Žemaitukai youngster is higher by 10.92 percent compared with the older adult horses. Similar variations were noticed by Ashok K. Gupta (2002) in the blood of Kathiawari horses [58].

In this research, total leukocyte blood cell (WBC) and lymphocyte

(LYM) values in Žemaitukai horses gradually statistically significantly decreased ( $P < 0.05$ ) from one year of age till the geriatric age (see Table 3.1); also, in foals these parameters were statistically significantly ( $P < 0.005$ ) higher than in older adult and geriatric horses. Similar variations were noticed by Gupta (2002) in the blood of Kathiawari horses [58] and by Diaz (2011) in Peruvian horses [36].

Studies claim that potassium (P), alanine aminotransferase (ALT) and alkaline phosphatase (ALP) activity values are statistically significantly higher in foals than in adult and geriatric horses. The research results showed that the highest level of total protein (TP) and albumin (Alb) in Žemaitukai horses is in the age of 6–10; in addition, the TP of this group is statistically significantly ( $P < 0.05$ ) higher 9.21 percent than that of foals, while Alb is higher 10,7 percent than that of geriatric horses. During the maturity, the most intensive is nitrogen metabolism due to the use of horse for intensive work, sport, and reproduction [79]. This research also showed the increase of total protein (TP) and albumin (Alb) values during maturity.

AST and ALT activity decreased with the age. The highest AST activity was noticed in blood serum of foals (Age group A): it was 8.83 percent higher, compared to the older horses. ALT activity is 14.49 percent higher in blood serum of youngster, compared to the adult horses. Priya Selvaraj *et al* (2008) researched thoroughbred Indian horses and detected that ALT, AST, ALP, and GGT values are significantly higher in the blood of foals, compared to the older adult horses of such breeds [153]. This research of Žemaitukai horses, assessed CK-NAC and CK-MB activity for the first time. The highest glucose level was identified in foals, when the organism develops at the most rapid pace. It is also confirmed by studies of Bruna R. Curcio and Carlos E. W. Nogueira, who researched glucose values in the blood of foals from birth till 6 month of age. The scientists state that glucose level in the blood of thoroughbred foals is higher than in older adult horses [28].

### **Blood hematological and serum biochemical parameters characteristics in horses depending on gender**

The research disclosed statistically significant differences on the basis of gender: Hb concentrations ( $P < 0.05$ ), HCT concentrations ( $P < 0.001$ ), RBC ( $P < 0.001$ ), MCH ( $P < 0.05$ ), MCHC ( $P < 0.05$ ), Alb ( $P < 0.01$ ), CK-NAC ( $P < 0.001$ ), CK-MB ( $P < 0.001$ ), P ( $P < 0.001$ ), Na ( $P < 0.01$ ), Ca

( $P < 0.05$ ), Mg ( $P < 0.05$ ), AST ( $P < 0.05$ ) concentrations. According to Čebuli-Kaudune (2002) [25], Gupta *et al* (2002) [58], Katy Satue *et al* (2009) [146], Hernandez (2008) [68], Paden *et al* (2014) [125] and other scientists, RBC, and Hb and HCT concentration limits are higher in the blood of warm-blood stallions than mares, while MCH and MCHC are higher in mares than stallions. However, the results of this research confirm the opposite: RBC, Hb and HCT concentrations were statistically significantly lower in the blood of Žemaitukai stallions than mares, RBC ( $P < 0.001$ ), Hb ( $P < 0.05$ ), HCT ( $P < 0.001$ ) respectively. While MCH and MCHC values were statistically significantly ( $P < 0.05$ ) higher in Žemaitukai stallions than mares. Altinsa (2008) identified higher MCHC value in Arabian stallions than mares [4].

The research of Žemaitukai horses also showed higher MCV count in stallions than mares. Altinsa (2008) found similar variations in Arabian horses [4].

The research of Žemaitukai horses also disclosed that WBC count is 2 percent lower in mares than stallions. Similar variations were identified by Čebule-Kaudune *et al* (2002) [25] in Arabian mares. Some authors suggest that it might happen due to the effect of androgens on erythropoiesis [4; 25; 45; 125; 147].

Statistically significant ( $P < 0.001$ ) 11.36 percent lower albumin count was found in blood serum of Žemaitukai stallions compared to mares. However, Altinsa (2008) [4] and Paden *et al* (2014) [125] claim that WBC count is higher in mares than stallions.

The research of Žemaitukai horses disclosed statistically significant ( $P < 0.05$ ) 11.31 percent lower AST activity in blood of stallions, compared to mares. However Ruiz *et al* (2010) did not notice the factor of gender on AST and GGT values in blood serum of Columbian horses [140].

The research of Žemaitukai horses also showed higher activity of CK-NAC and CK-MB in blood of stallions compared to mares: CK-NAC by 33.29 percent, CK-MB by 27.18 percent, statistical significance ( $P < 0.001$ ). However Diaz *et al* (2011) identified that CK-NAC was statistically significantly higher in Arabian mares than stallions [36].

### **Žemaitukai breed attribution to the blood type**

Based on the data of this research, RBC average values of Žemaitukai mares and stallions match the lower limit of the Thoroughbred breed. In

Žemaitukai mares, RBC count mostly matches the value of warm-blood Italian (Murgese) breed, while WBC count varies in the range of the Thoroughbred mares. However, in Žemaitukai stallions, RBC count matches the value of warm-blood Italian (Murgese) breed stallions, while WBC count matches the value of Kathiawari (India) breed stallions. Hb, MCH, and MCHC values of Žemaitukai horses are similar to the values of the warm-blood horses [25; 45; 84; 87; 132] reaching their higher limits; only MCV count remains at the lower limit. Hb, MCH, and MCHC concentrations are 3.0–14.5 percent higher than in Quarter [80], Appaloosa [128], and Lipizzaner [25; 130] horses. Higher MCH and MCHC values in Žemaitukai horses may be explained by higher Hb concentration.

The research disclosed that RBC, WBC, HCT, Hb, MCH, and MCHC values of Žemaitukai youngster are higher 8.5–12.0 percent, compared to the values of the older adult warm-blood horses, while MCV is lower 13.7 percent., compared to the value of foals [4; 25; 56; 63].

In Žemaitukai mares and stallions, total protein values vary from HB [57; 79; 87] to WB [58; 84; 87; 124; 135; 163] type horses and reach the level of Creole, Brazilian, Kathiawari, American Standardbred [87] horses, but the highest TP value matches the limits of HB horses [57; 87].

TP values of Žemaitukai mares, foals, and young adult horses match the values of Murgese horses [57]. Creatinine (Crea) concentration variations in various age groups of Žemaitukai mares and stallions match the values of WB horses (Kathiawari, Murgese) [58; 139]. In some WB breeds macroelement values are 15.7–25.2 percent higher [57; 87; 106] than in Žemaitukai horses, however their variations in age and gender groups are similar. It should be noticed, that average concentrations of calcium, potassium, and magnesium in Žemaitukai mares and stallions match the limits of Kathiawari breed [58].

Based on the blood morphological and biochemical parameter limits, Žemaitukai can be attributed to the type of warm-blood horses.

### **Blood morphological and biochemical count variations in endurance competition (32 km)**

All blood morphological values examined in horses before the competition varied in physiological values of Žemaitukai breed. Immediately after the finish, it was noticed statistically significant ( $P < 0.001$ ) increase in physiological erythrocyte (RBC) count,

hemoglobin concentration (Hb), and hematocrit (HCT) count due to the intensified lung ventilation, cardiovascular functions [72; 75], and blood viscosity [32] experienced in a state of physical activity. Similar variations after physical activity were also noticed by Harold C. Schott *et al* (2006) [151], Elena Borodkina (2008) [185], Valentina Sergienko (2008) [189], Larson *et al* (2013) [88] and other scientists [14; 73]; they also noticed reduced weight and dehydration due to the intensive perspiration. Giuseppe Bruschetta noticed increased RBC, HCT, and Hb in horse blood after 74 km due to more abundant consumption of oxygen [19].

Lymphocyte count on a leukogram represents the immune system, functional state, and non-specific adaptation type of a horse [72]. After the competition, WBC count in Žemaitukai horses statistically significantly increased 10.18 percent, granulocyte-lymphocyte ratio changed, and lymphocyte percentage (LY %) decreased 23.77 percent due to the activity of adaptation processes, compared to the results before the competition. Bruschetta *et al* (2014) noticed the increase of WBC count due to the activity of muscles and fatigue caused by the intensive work of muscles [19].

The research showed that total thrombocyte (PLT) count in Žemaitukai horses statistically significantly increased 16.51 percent after the competition. Some researchers noticed increased blood viscosity and reduced clotting time [13; 76; 90; 96; 94] due to the influence of catecholamine [127] in horses during the competition.

Increased AST, CK-MB, CK-NAC, GGT, and ALT activities signal about huge physical stress the horse experiences during the competition. All five enzymes take part in the metabolic processes of proteins and contribute to the formation of energy storage substrate [72; 99; 160; 178]. Marcella (2008) states that the increase in GGT count after the endurance competition is clear indicator of muscle activity and the best indicator of competition stress [99].

During our research, enzyme AST and ALT activity values were higher respectively 5.22 percent and 53.40 percent after the endurance race; similar variations were noticed by Larson *et al* (2013) in the studies of horses after endurance competitions of 32 km, 90 km, and 120 km in Norway [88]. It should be noted, that AST activity after the competition varies, but fits into physiological norms of Žemaitukai horses set in Stage I. Thus, muscle work does not have any pathologic influence on the systems of horse organism.

After the competition, in Žemaitukai horses alkaline phosphatase (ALP)

activity statistically insignificantly decreased 4.52 percent, compared to the result before the competition. Alkaline phosphatase count is the indicator of physical stress in horses during the competition [72]. ALP increase in horses during endurance competition shows that physiological systems of the organism, including musculoskeletal system, were stressed. However insignificant increase of this enzyme in our research witnesses due preparation of muscles for the stress.

In present study CK-NAC activity is statistically significantly ( $P < 0.05$ ) 26.52 percent higher after the competition, compared to the result before the competition. Increased CK-NAC activity is related to the increased muscle work due to muscle fibre membrane permeability [13; 76; 89; 94; 122; 168]. Similar increase is described by Peter Krulje *et al* (2014) in police horses patrolling in the streets 35 km a day [86], and by R. Zobba *et al* (2011) [182] and Antonio R. Teixeira-Neto *et al* (2008) [164] in horses after endurance competitions of 70 km and 120 km. Endurance competitions are associated to the reconstruction of tissues, which is witnessed by urea, protein, and creatine kinase (CK) variations in blood serum. However CK increases only slightly, to 27 percent, and the muscle damages are minimal and reversible.

During the endurance competitions, Žemaitukai horses experienced minor stress and fatigue and this is clearly evidenced by variations of circulating erythrocyte and leucocyte values and creatinine concentration. It was identified that Crea value in blood of Žemaitukai horses statistically significantly ( $P < 0.001$ ) increased 17.64 percent after the competition compared to the results before it. Celine Robert *et al* (2010) indicated the increase in creatinine concentration 20.66 percent in blood of horses that finished endurance competition of 130 km [137], while Munoz *et al* (2010) noticed the increase of even 52.17 percent after 91 km [111]. Based on his data, it happens due to more intensive muscle work. In our case, however, it was identified that Urea count is statistically insignificantly lower 1.20 percent after the competition than before. Urea is final protein degradation product [175]. High reduction in urea count after the endurance competition shows the reduction in protein degradation activity in horses participating in the competition [72; 76; 175].

The research showed that after the competition Glu concentration in blood of Žemaitukai horses statistically significantly ( $P < 0.01$ ) increased 34.25 percent, compared to the level before the competition. According to Kerr Morag (2002), the need for glucoses in the organism increases with more intensive work of muscles (for energy production) [106].

After the competition, total protein (TP) value in blood of geriatric Žemaitukai horses is statistically significantly ( $P < 0.01$ ) lower 6.96 percent, while albumin count (Alb) is statistically significantly ( $P < 0.05$ ) lower 9.38 percent, then before the competition. It is assumed that this is because of more intensive protein metabolism due to the intensive work of muscles. Robert *et al* (2010) state that the less fraction of albumin is found in blood the less resistant becomes the organism to changing environment, including organism's ability to adapt and restore the homeostasis[137]; however the reduction must be below 27.00 g/l.

After the competition, magnesium (Mg) value in blood of Žemaitukai horses was lower 4.76 percent. Weiss (2002) noticed similar reduction in the level of magnesium in Arabian horses after the competition [176]. He associated it with abundant perspiration during the competition. In our research, we also noticed the reduced level of magnesium during the competition. Since the concentration reduced only lightly, we assume that it might happen due to more intensive usage of muscles, but not because of the abundant perspiration.

It was identified that blood calcium (Ca) value increased 81.46 percent, Na value statistically significantly ( $P < 0.001$ ) increased 2.03 percent, and K value increased 0.94 percent in Žemaitukai horses after the competition. During endurance competition, the organism of horses participate and needs calcium for the contraction of muscles, and low calcium count in blood plasma may cause metabolic disorders. According to Bergero *et al* (2009) [16] and David Frape (2010) [38], electrolytes perform an important role in horse's organism: maintain osmotic pressure, balance liquids, keeps nervous and muscle fibre active. Increase in Na and K is associated with abundant perspiration under the work of muscles [52]. Fielding *et al* (2009) [46] noticed variations of blood parameters (Na<sup>+</sup>, K<sup>+</sup>, HCT, TP) similar to those shown up in our research. Changes in serum biochemical parameters and electrolytes make deleterious effect on horses during endurance race [99].

Thus, it was defined that endurance competitions result in significant variations of blood morphological and biochemical parameters in organisms of horses. Under consideration of this, it can be maintained that Žemaitukai are capable of full-fledge participating in endurance competitions although they are attributed to a warm-blood horse type. Their organism's ability to compensate and restore the distorted homeostasis of vital activities, adapt to harmful internal and external factors, and maintain physiological norms of the main blood biochemical

and organism functional parameters has been clearly evidenced.

### **Variations of blood morphological and biochemical parameters in long-distance race running (1500 km)**

During the trip, Hb count reached maximum concentration after 1200 km and decreased to the minimum after the trip (1500 km). 2 weeks after the trip, Hb concentration almost reached its level at the beginning of the trip. It shows spleen's ability to quickly react to oxygen demand in muscles and to the exhaustion of energy reserves in an organism. Compensational stage of organism's adaptation turns on [183]. In our research, hemoglobin concentration in blood of Žemaitukai horses varied differently during the trip than that of Arabian horses in an endurance distance of 164 km [14] and reached its lowest concentration at the end of the trip. It is interesting that Hb concentration was lower than the physiological limit of Žemaitukai horses set in Stage I. According to Hinchcliff *et al* (2008), blood total protein (TP) and albumin (Alb) values increase in long distance run due to dehydration (loss of liquids in result to perspiration) [46; 72]; intensive dehydrations develops after the increase of HCT values [161]. According to Steve Stockham and Michael A. Scott (2008), HCT should increase equally to TP [161]. Thus, if HCT increase is not followed by the increase of TP (or vice versa), such variations of blood parameters cannot result from dehydration and should be interpreted differently. In the research, TP and Alb values increased and reached their maximum statistically significant value after 600 km, however the reduction in HCT suggests that it was not due to dehydration. In our case, TP increased after 900 km and 1200 km, but it did not reach its maximum value, and this does not confirm dehydration of the organism. Žemaitukai horses exploit TP depo. The increase of HCT can indicate pain [96; 148] or stress [10; 119; 189] experienced by the animal. During the trip, HCT count was lower than physiological limit of Žemaitukai horses set in Stage I in all horses (see Table 3.1), thus the horses were well prepared for the trip, did not experience much stress, and got enough water.

After 600 km, active antioxidant adaptation started. According to Hargreaves *et al* (2002a; 2002b), increased AST and ALP activity after 80 km and 160 km of endurance distance shows intensive exploitation and straining of horses [59; 133], thus we suspected that reduced CK-NAC activity after 900 km and 1200 km could signal straining of muscles in Žemaitukai horses, but reduced CK-NAC activity, compared to the beginning of the trip, did not show any oxidation damage. This shows

livers' ability of exploit depo and good adaptation features of the organism. After 600 km, AST, ALP, and ALT activities decreased to physiological norms of Žemaitukai horses set in Stage I. According to Adamu Lawan *et al* (2012) [92] and Mohamed El-Deeb *et al* (2014) [40], simultaneous CK-NAC and AST activity decrease in long-distance race running witness the beginning of myoglobinuria. In this trip, the enzyme activity varied, but values compensated each other and did not harm horses. Soares *et al* (2011) [158] and Cywinska *et al* (2012; 2013) [30; 31] state that CK-NAC activity increase is associated to muscle fibre permeability during intensive and long muscle work in 120 km and 160 km endurance distance. CK-NAC and CK-MB activity values varied in physiological limits of Žemaitukai horses set in Stage I and did not climb over the limit of 1000 U/l that would mean irreversible musculoskeletal and cardiomyocardial disorders as of Munoz *et al* (2010) [110; 111] and Martin Hoffman *et al* (2012) [74].

Glucose level varied and exceeded physiological limits of Žemaitukai horses set in Stage I during the entire trip (see Tables 3.2), however it even decreased at the end of the trip (1500 km) and reached minimal value 2 weeks after the trip. The initial increase is associated to more intensive work of muscles.

Variations in electrolytes and macroelements were minor during the entire trip; also, K and Mg values were respectively 20.10 percent and 1.35 percent lower at the end of the trip, and reached the initial value 2 weeks after the trip. Such variations are described by Tanja Hess *et al* (2005; 2008) [70; 71], Judit Viu *et al* (2010) [170], and Elena Borodkina (2008) [185] in their studies of intensive trainings and after endurance competitions of 80 km and 120 km.

The research showed that P values decreased 31.34 percent at the end of the trip (1500 km) and remained lower 2 weeks after the trip. Na and Ca values increased 1.44 percent and 5.49 percent respectively at the end of the trip. 2 weeks after, Ca remained statistically significantly ( $P < 0.05$ ) higher, while Na statistically significantly ( $P < 0.05$ ) slightly decreased, compared to its values at the beginning of the trip and 2 weeks after the trip. According to A. Barnes *et al* (2010) [14] and Robert *et al* (2010) [137], K concentration in blood plasma is lower during long-distance race running. The same changes were noticed by A. Barnes *et al* (2010) in organisms of Arabian and English horses during endurance distance of 164 km [14]. Such changes are attributed to kidney control mechanism and influence the repeated absorption of water [23].

During the trip Urea, Crea, TP, and Na concentrations increased after 600 km and remained higher till the end of the trip in all horses, while HCT went lower all the time, except after 1500 km, compared to the count before the trip. Such variations are well explained by Hinchcliff *et al* (2008) – according to the researcher, it happens due to kidney control mechanism, allowing the resorbtion of water through kidney channels in long-distance race running [72].

Analyzing blood parameter variation in long-distance run, it is not difficult to see, that 1200 km may be considered critical point of the trip, when AST, ALP, ALT, GGT activities and TP, Urea, Crea, Ca, Mg, HCT values, Hb concentration, microelement P, Mg, and Na values, and CO<sub>2</sub> count increased twice; while pH, pO<sub>2</sub>, K, Alb values and CK-NC and CK-MB activity decreased, compared to the results at the beginning of the trip. According to Hinchcliff *et al* (2008), higher ALP count in blood serum of horses during long-distance race running shows stress on physiological systems of organism, including musculoskeletal system [72]. In the adaptation process, ALP performs musculoprotective functions. According to Kerr Morag (2002), and Dezfouli *et al* (2009), hypocalcaemia causes the risk of pain in sport horses; hypocalcaemia was not diagnosed in horses during the trip, thus the risk of pain did not exist [29; 106]. According to Guy Alexander *et al* (2012) [2], Tatiana Art and Pierre Lekeux (2005) [11], Stive Nemec *et al* (2006) [119], Satue *et al* (2009) [147], and Sergienko (2006), variations of some parameters (HCT, Ca, Urea, Crea, Mg, AST, ALT, ALP, GGT) show that horses might experience significant stress [147; 189]. Further during the trip, however, blood parameters restored, some even reached their initial levels, and horses successfully reached the end of the trip (1500 km), having entered into organism adaptation stage and aerobic oxidation degradation processes.

As an indicator of oxidation stress, higher GGT after 900 km and its reduction further during the trip and at the end of the trip (1500 km) can show cardiorespiratory disorders; however Kingston describe the GGT increase as the reaction to muscle work [83]. GGT variations are tightly related to glucose variations and its usage during the muscle work. Similar variations are described by Lawan (2014) [94]. During long-time physical work, the number of capillaries increases, new capillaries develop, while the older ones become more capacious and elastic, the quantity of circulating blood simultaneously increase, the blood flows slower, thus its contact with the muscle functioning becomes longer and more extensive. It might be presumed that the muscles of Žemaitukai horses mainly consist

of I type (slow contraction) muscle fibres with predominant aerobic oxidation degradation processes. Particularly, this is shown by variations of blood biochemical values during the trip. This statement clearly needs further research.

## CONCLUSIONS

1. The research showed that total erythrocytes count gradually statistically significantly ( $P < 0.05$ ) decrease with an age, while total leukocytes and lymphocytes count statistically significantly ( $P < 0.05$ ) increase from one year till the geriatric horses. Hemoglobin concentration and hematocrit statistically significantly ( $P < 0.05$ ) increase up to 6 years, while later gradually statistically significantly decrease ( $P < 0.05$ ) till the old age. Mean erythrocyte volume and mean hemoglobin count in erythrocyte gradually statistically significantly increase with an age ( $P < 0.05$ ). It was found that the lower RBC 7.41 ( $P < 0.001$ ), hemoglobin 7.72 ( $P < 0.05$ ) and hematocrit 4.38 ( $P < 0.001$ ) percent was in stallions.

2. It was identified that the highest total protein and albumin values are in blood of 6–10 years mares and stallions ( $68.96 \pm 9.16$  g/l) and ( $30.84 \pm 4.96$  g/l), and they are higher respectively 9.21 ( $P < 0.05$ ) and 10.7 ( $P < 0.05$ ) percent compared to the blood of geriatric and younger horses. It was identified that the highest creatinine concentration is in blood of 3–6 years foals ( $1.04 \pm 0.20$  mmol/l), and blood urea in geriatric older horses was ( $5.99 \pm 1.24$  mmol/l). The highest glucose level was identified in foals ( $4.85 \pm 1.38$  mmol/l).

3. It was found that the highest enzymes AST, ALP and GGT activities are in blood of foals and decreases with age. Enzymes CK-NAC and CK-MB activities are greatest in blood of 10 to 14 years stallions ( $401.77 \pm 197.98$  U / l) and ( $652.53 \pm 264.26$  U / L), and following appropriate is 21.62 ( $P < 0.05$ ) and 26.78 ( $P < 0.05$ ) percent higher compared to youngest or older adult horses blood.

4. It was found that age and gender have a statistically significant effect on blood minerals variation. Calcium, phosphorus activities are decreases with age. Potassium and sodium maximum of 3–6 years horse blood, respectively  $5.16 \pm 0.85$  mmol/l and  $154.51 \pm 4.34$  mmol/l, as compared to younger or older horse blood.

5. According to blood morphological and biochemical parameters set, which define horses' blood type, Žemaitukai can be attributed to the type of warm-blood horses.

6. Blood morphological tests of clinically healthy old type Žemaitukai horses during endurance competition (32 km) showed that the following parameters were statistically significantly higher than before the endurance competition: total leukocyte (WBC) 10.18 percent ( $P < 0.05$ ), total erythrocyte (RBC) 12.39 percent ( $P < 0.05$ ), hemoglobin (Hb) 12.56 percent ( $P < 0.001$ ), hematocrit (HCT) 10.88 percent ( $P < 0.001$ ), and mean hemoglobin concentration in erythrocyte (MCHC) 2.95 percent ( $P < 0.05$ ).

7. Biochemical blood tests disclosed that the following parameters were statistically significantly lower in Žemaitukai horses after the endurance competition (32 km) than before it: total protein (TP) 8.88 percent ( $P < 0.01$ ), albumin (Alb) 9.38 percent ( $P < 0.05$ ). The following parameters were statistically significantly higher after the endurance competition than before it: glucose (Glu) 34.25 percent ( $P < 0.01$ ); creatinine (Crea) 17.65 percent, sodium (Na) 2.03 percent ( $P < 0.001$ ), total creatinekinase (CK-NAC) 25.51 proc. ( $P < 0.05$ ).

8. Blood parameter variations assessed during the historical trip to the Black Sea showed that 1200 km may be considered critical point of the trip, when AST, ALP, ALT, GGT activities and TP, Urea, Crea, Ca, Mg, HCT values, Hb concentration, microelement P, Mg, and Na values, and CO<sub>2</sub> count increased twice; while pH, pO<sub>2</sub>, K, Alb values and CK-NC and CK-MB activity decreased, compared to the results at the beginning of the trip.

## **RECOMMENDATION**

Blood morphological and biochemical parameter limits set can be applied to the old type Žemaitukai breed only, and cannot be used for health control, diagnostics of diseases, reproduction, purposeful selection and dosage of veterinary medicines, horse training, etc.

## LIST OF PUBLICATION

1. Zoja Miknienė, Kęstutis Maslauskas, Sigita Kerzienė, Jūratė Kučinskienė, Audrius Kučinskas. The effect of age and gender on blood haematological and serum biochemical parameters in Žemaitukai horses. Veterinarija ir zootechnika. Kaunas: ISSN 1392-2130. 2014; 65(87):37–43. Prieiga per internetą:

<http://vetzoo.lva.lt/data/vols/2014/65/pdf/mikniene.pdf>.

2. Zoja Miknienė, Audrius Kučinskas. Žemaitukų veislės žirgų kraujo rodiklių kitimas ištvermės sporto varžybų metu. Žemės ūkio mokslai. ISSN: 1392-0200. 2014; 21(4):242–249. Prieiga per internetą: <http://www.lmaleidykla.lt/ojs/index.php/zemesukiomokslai/article/view/3027/1854>

## REZIUMĖ

Šiuo metu arklys praradęs pagrindinį darbinio arklio vaidmenį ir tampa vis svarbesnis kaip žmogaus poilsio ir laisvalaikio leidimo priemonė, įkurta ir pastatyta daug privačių arklidžių. Pradėjus intensyviai naudoti arklius laisvalaikiui, gana dažnai neatsižvelgiama į gyvūno sveikatos būklę.

Nuo praėjusio šimtmečio pradžios atliekami įvairūs morfologiniai ir biocheminiai kraujo tyrimai arklių sveikatos būklei nustatyti. Žmonių medicinoje sportininkų biocheminių kraujo rodiklių pokyčiai išnagrinėti išsamiau, nustatytos jų normos, mokslininkai savo darbuose dažnai lygina kraujo rodiklius tarpusavyje.

Šiuo metu taikomos metodikos, leidžiančios identifikuoti arklio organizmo pasirengimo laipsnį. Pagal jas nustatoma, ar arklys gali dalyvauti ištvermės, išjodinėjimo ir konkūrinio jojimo varžybose, kuriose itin svarbi gyvūno koordinacija. Treniruočių kontrolė negali būti ribojama stebint tik tam tikrus funkcinius rodiklius ir jų pakitimus (kvėpavimo, širdies ir kraujagyslių sistemų sutrikimai, šlubavimas). Trenerio dėmesys turėtų būti sutelkiamas į arklio organizmą kaip įvairių fiziologinių funkcijų gamtinę vienybę, tarpusavio ryšį.

Patiriant fizinį krūvį ir veikiant kitiems aplinkos veiksniams, taip pat dėl patologinių medžiagų apykaitos pakitimų arba po farmakologinių preparatų vartojimo keičiasi atskirų kraujo rodiklių vertės. Taigi vertinant kraujo mėginių rezultatus galima nustatyti, ar arklio sveikatos būklė atitinka keliamus reikalavimus ir fiziologines normas, lūkesčius dėl jo fizinio pasirengimo ir pajėgumo.

Kraujo tyrimas – tai vienas informatyviausių ir dažniausiai atliekamų tyrimų, norint tiksliai įvertinti arklių sveikatos būklę. Diagnozuojant arklių ligas, svarbu žinoti, kokios fiziologinės kraujo rodiklių ribos taikytinos konkrečiai arklių veislei.

Visos pasaulio arklių veislės pagal kraujo tipą, kuris nustatomas pagal būdingus kraujo morfologinius ir biocheminius rodiklius, skirstomos į karštakraujus (KK), arba grynakraujus, dar vadinamus pilnakraujais (arabai ir grynakraujai jojamieji), ir šaltakraujus (ŠK), arba sunkiuosius, arklius – tai sunkiųjų veislių arkliai, tinkami sunkiems darbams; taip pat dalis ponių klasės arklių. Ir paskutinė grupė, kuri yra didžiausia: į šiltakraujus (ŠL) arba mišrūnus – tai arkliai, išvesti sukryžminus KK ir ŠK, dažniausiai veisiami tikslingai, žinant, kur jie bus naudojami. Arklių veislės priskyrimas prie tam tikro kraujo tipo lemia geresnį arklių

panaudojimą tam tikrose sporto šakose. Tinkamai panaudojus arklių veislę yra pasiekiami geresnį rezultatai ir patvirtinamas veislės unikalumas, tiksliai parenkami vaistai ir jų terapinės dozės.

Šio tyrimo objektas yra viena seniausių arklių veislių Europoje – žemaitukų veislės arkliai. Tai vena nacionalinių Lietuvos veislių. Žemaitukai atsparūs ligoms, neišrankūs pašarams, yra ilgaamžiai, stiprūs, energingi, bet paklusnaus charakterio. Tai universalūs arkliai, tinkami dirbti ūkyje, važiuoti karieta, jodinėti. Norint, kad veislė neišnyktų, reikia pritaikyti žemaitukus, kad jie būtų veisiami, auginami ir toliau. Iškeltas teiginys, kad šie arkliai išverme prilygsta arabų arkliams, o prisitaikymu, atsparumu, greitu organizmo funkcijų atkūrimu, tvirtu charakteriu neturi lygių visame pasaulyje.

Lietuvoje nebuvo tirti ir vertinti žemaitukų veislės arklių kraujo morfologiniai ir biocheminiai rodikliai, jų kitimo ribos, kurioms turi įtakos arklių lytis ir amžius. Žemaitukų veislės arkliai dėl išorinių požymių priskiriami ponių klasės arkliams, tačiau iki šiol nežinomas jų kraujo tipas, leidžiantis geriau parinkti, dozuoti veterinarinius vaistus, bei pasirinkti tinkamą sporto šaką.

Šio **tyrimo tikslas** buvo nustatyti ir pateikti skirtingo amžiaus ir lyties senojo tipo žemaitukų veislės arklių 25-ias kraujo morfologinių ir biocheminių rodiklių fiziologines ribas, taip pat remiantis jomis, priskirti žemaitukų veislės arklius arklių kraujo tipui. Atsižvelgiant į funkcinę arklio būklę, išanalizuoti kraujo morfologinių ir biocheminių rodiklių pasikeitimus arklio organizme tarp amžiaus ir lyties, taikant krūvį.

Buvo iškelti šie **uždaviniai**:

1. Nustatyti senojo tipo žemaitukų veislės arklių kraujo morfologinių (bendro eritrocitų ir leukocitų, limfocitų ir trombocitų kiekius, hemoglobino koncentraciją, hematokritą, vidutinį eritrocito tūrį, vidutinį hemoglobino tūrį ir vidutinę hemoglobino koncentraciją eritrocite) ir biocheminių (bendrųjų baltymų, albuminų, kalcio, fosforo, magnio, kalio, natrio, šlapalo, gliukozės, kreatinino koncentracijas, širdies ir bendros kreatininkinazės koncentracijas, fermentų alaninaminotransferazės, aspartataminotransferazės, šarminės fosfatazės ir gamaglutamiltransferazės aktyvumus) rodiklių reikšmes.

2. Įvertinti pateiktų biocheminių ir morfologinių rodiklių pokyčius, atsižvelgiant į amžių ir lytį; ir pateikti gautas reikšmes kaip fiziologines senojo tipo žemaitukų veislės arklių kraujo rodiklių ribas.

3. Palyginti gautus duomenis su kitomis arklių veislėmis ir remiantis rezultatais priskirti senojo tipo žemaitukų veislės arklius arklių kraujo tipui.

4. Įvertinti kraujo biocheminių ir morfologinių rodiklių kitimą po fizinio krūvio arkliams dalyvaujant ištvermės varžybose 32 km ir ilgojoje distancijoje 1500 km.

### **Naujumas**

Žinant, kad yra genetinių skirtumų tarp arklių veislių, šiame darbe nustatyti sveikų senojo tipo žemaitukų veislės arklių kraujo morfologiniai ir biocheminiai rodikliai, jų svyravimo ribos, kurioms turi įtakos arklių lytis ir amžius. Pirmą kartą Europoje žemaitukai arkliai priskirti prie kraujo tipo, tai padės tikslingai įvertinti arklio sveikatos būklę, bei panaudoti atitinkamoje sporto šakoje, diagnozuoti ligas, tinkamai parinkti ir dozuoti veterinarinius vaistus gydymui. Ištirtas ir įvertintas senojo tipo žemaitukų veislės arklių kraujo morfologinių ir biocheminių rodiklių kitimas po fizinio krūvio ir ilgojoje ištvermės distancijoje.

### **Teorinė ir praktinė reikšmė**

Atliktas tyrimas atsako į svarbius teorinius ir praktinius klausimus – sportinių arklių vertinimas atsižvelgiant į kraujo rodiklių kitimą ir arklių funkcinę būklę. Nustatytos kraujo morfologinių ir biocheminių rodiklių ribos gali būti taikomos tik senojo tipo žemaitukų arklių veislei. Jomis gali būti remiamasi atliekant sveikatos kontrolę, diagnozuojant ligas, treniruojant žemaitukų veislės arklius, tikslingai parenkant fizinį krūvį, dalyvaujant ištvermės ar kitose varžybose.

## **TYRIMŲ MEDŽIAGOS IR METODAI**

Tyrimas atliktas trimis etapais.

**I etapas.** Siekiant įvykdyti užsibrėžtą I etapo tikslą, t. y. nustatyti kraujo morfologinių ir biocheminių rodiklių fiziologinių ribų kitimą priklausomai nuo amžiaus ir lyties, visi žemaitukų veislės arkliai buvo suskirstyti į šešias grupes pagal amžių vertinat arklių mitybos ypatumus ir fiziologinių funkcijų atsiradimą organizme ir sugrupuoti pagal lytį: eržilai ( $n = 81$ ) ir kumelės ( $n = 92$ ).

Tyrimui panaudoti 173-jų licencijuotų Žemaitukų veislės arklių ir jų prieauglio kraujo bandiniai. Dieną prieš imant kraujo mėginį visiems

arkliams buvo atliktas bendrasis klinikinis tyrimas – sveikatos įvertinimas. Arkliai nepraėję patikrinimo į tyrimą įtraukti nebuvo. Arkliai, nepraėję patikrinimo, į tyrimą įtraukti nebuvo. Visi arkliai, iš kurių imtas kraujo bandinys buvo sveiki, laiku vakcinuoti, 1 mėn. prieš atliekant tyrimą profilaktiškai dehelmintizuoti, daugiau medikamentiškai negydyti mėnesio bėgyje, suaugusios kumelės nebuvo kumelingos. Kraujo bandiniai imti į du mėgintuvėlius: vienas morfologiniam tyrimui, kitas biocheminiam kraujo tyrimui.

**II etapas.** Siekiant ištirti ir įvertinti Žemaitukų veislės arklių kraujo biocheminių ir morfologinių rodiklių kitimą po fizinio krūvio, buvo pasirinktos ištvermės varžybos. Pasirinktos ištvermės varžybas, nes arklys patiria didelį krūvį, išsekvoja daug energijos ir organizmo sąnaudų, labai pasikeičia kraujo morfologinės, biocheminės ir fiziologinės funkcijos.

2011 m. gegužės ir rugpjūčio mėn. Tyrime ištirti ir įvertinti 40-ies kliniškai sveikų Žemaitukų veislės arklių kraujo mėginiai. Šie arkliai buvo specialiai treniruoti pagal ištvermės programą, laikantys FEI (*Federation Equestre Internationale*) tarptautinės žirgų sporto federacijos taisyklių. Arkliai su raiteliais ištvermės varžybose bėgo 32 km ištvermės distanciją. Kraujo mėginiai morfologiniams ir biocheminiams kraujo tyrimams ( $n = 40$ ) imti iš visų žemaitukų veislės arklių į du mėgintuvėlius (morfologiniam ir biocheminiam kraujo tyrimams): prieš varžybas (V0) ir po varžybų, perėjus veterinarinį patikrinimą (V1). Visi tyrime dalyve arkliai pasiekė finišą ir nebuvo diskvalifikuoti.

**III etapas.** Atliktas ir įvertintas senojo tipo žemaitukų veislės arklių kraujo dujų, biocheminių ir morfologinių rodiklių kitimas ilgoje ištvermės distancijoje (1500 km).

Į tyrimą buvo įtraukta 15 žemaitukų veislės arklių (kumelės,  $n = 3$ ; kastratai,  $n = 11$ ; eržilas,  $n = 1$ ), 5–7 metų amžiaus, sveriantys ( $375 \pm 57$  kg), jais visais nujotas 1500 km atstumas, 2010 m. rugsėjo–spalio mėn. leidusis į 2000 km istorinį-kultūrinį žygį žirgais buvusią LDK teritoriją iki Juodosios jūros. Žygis tęsėsi 40 dienų. Visi arkliai buvo kliniškai sveiki, fiziškai subrendę, treniruoti pagal ištvermės programą, praėję veterinarinį patikrinimą. Kraujo mėginiai morfologiniams, biocheminiams ir kraujo dujų tyrimams imti iš visų arklių, juos minimaliai stresuojant, po veterinarinio patikrinimo: dieną prieš prasidedant žygiui ( $T_0$ ), kas 300 km ( $T_1, T_2, T_3, T_4, T_5$ ) ir 2 savaitės po žygio pabaigos ( $T_6$ ).

Žygio metu iš karto po kraujo paėmimo kraujas su ličio heparinu buvo nedelsiant tiriamas portatyviniu kraujo dujų analizatoriumi „EPOC“ („EPOC“, Kanada). Hb koncentracija taip pat buvo nustatoma vietoje,

žygio metu, portatyviniu fotometriniu „HemoCue HB 201+“ analizatoriumi („HemoCue“, Švedija). Žygio metu atlikti biocheminį tyrimą nebuvo sąlygų, todėl atsiskyres kraujo serumas buvo siurbiamas Pastero pipete į du „Eppendorf“ tipo 2 ml tūrio mėgintuvėlius su dangteliu. Mėgintuvėliai, pripildyti kraujo serumo, buvo numeruojami, užšaldyti ir iki tyrimo pradžios laikomi skystame azote  $-196^{\circ}\text{C}$  temperatūroje viso žygio metu iki tyrimo pradžios. Kraujo morfologiniai rodikliai vertinti automatinio morfologinio analizatoriumi „Abacus Junior Vet“

Visų **etapų (I, II ir III)** biocheminiai kraujo tyrimai atlikti LSMU VA Neužkrečiamųjų ligų katedros Gyvulių reprodukcijos laboratorijoje automatinio kompiuterinio biocheminio analizatoriumi „SELECTRA Junior“

Tyrimų duomenys apdoroti SPSS statistiniu paketu („SPSS for Windows 15.0“, „SPSS Inc.“, Čikaga, Ilinojus, JAV, 2006) ir „Microsoft Office Excel“ (2007) programa. Kraujo morfologiniai ir serumo biocheminiai rodikliai buvo lyginami naudojant „ANOVA“ modelį: I etape – nustačius lyties (kumelių ir eržilų) ir amžiaus (6 grupės) veiksnius; II etape – nustačius veiksnius prieš ir po varžybų; III etape – nustačius veiksnius tarp etapų (7 grupės).

Reikšmingiems skirtumams tarp visų tiriamųjų grupių nustatyti naudotas LSD testas (mažiausiai reikšmingas skirtumas – Fišerio testas) ( $\alpha = 5$  proc.). Rodiklių analizės duomenys statistiškai patikimi, kai  $p < 0,05$  (I ir III etapuose). Reikšmingiems skirtumams tarp tiriamųjų grupių II etape įvertintas dispersinės analizės metodu (F kriterijus ir p reikšmė). Rodiklių analizės duomenys statistiškai patikimi, kai  $p < 0,05$ ,  $p < 0,01$  ir  $p < 0,001$ . Kraujo rodiklių vidutinės normos pateiktos su standartiniu nuokrypiu ( $\pm$  SD).

## TYRIMŲ REZULTATAI

Žinios apie arklio fiziologines funkcijas, priklausančias nuo amžiaus ir lyties, reikalingos tam, kad būtų galima sukurti arklių auginimo, šėrimo, panaudojimo ir kergimo rekomendacijas, atrasti geriausius arklių auginimo ir šėrimo metodus, arklius tinkamai naudoti darbe, sporte ir reprodukcijoje. Arklio individualų vystymąsi nuo gimimo iki natūralios mirties galima suskirstyti į penkis amžiaus tarpsnius, kurie skiriasi gyvūno eksterjero, mitybos ypatumais, fiziologinių funkcijų atsiradimu organizme: 1) žindomasis laikotarpis (kumeliukai); 2) lytinio brendimo laikotarpis (prieauglis); 3) galutinis organizmo formavimosi laikotarpis (jauni arkliai);

4) brandos laikotarpis (suaugę ir vyresni arkliai); 5) senatvės laikotarpis (seni arkliai) [43; 45; 90; 91; 146; 147].

### **Kraujo morfologinių ir biocheminių rodiklių fiziologinių ribų kitimas, atsižvelgiant į arklių amžių ir lytį**

Atlikus kliniškai sveikų senojo tipo žemaitukų veislės arklių kraujo tyrimus nustatyta, kad didėjant amžiui RBC ir WBC, LYM kiekiai statistiškai patikimai mažėja, o MCV ir MCH koncentracijos didėja ( $p < 0,05$ ) ir didžiausios koncentracijos nustatytos atitinkamai  $44,09 \pm 2,47$  fl ir  $18,95 \pm 1,03$  pg vyresnių arklių kraujyje. Tik WBC ir LYM kiekiai mažėjo nuo vienerių metų amžiaus, o RBC nuo pusės. Nustatyta, kad prieauglio kraujyje MCHC kiekis ( $p < 0,05$ ) didesnis už suaugusių kraujo vertes, ir siekė  $430,09 \pm 39,94$  g/l. Didėjant amžiui MCHC vertė laipsniškai patikimai didėjo ( $p < 0,05$ ). Visų amžiaus grupių kumelių RBC, HCT ir Hb kiekiai kraujyje statistiškai patikimai ( $p < 0,001$ ;  $p < 0,01$  ir  $p < 0,05$ ) didesni, o MCH ir MCHC statistiškai patikimai ( $p < 0,05$ ) mažesni už eržilų. Taip pat kumelių WBC, LYM ir PLT kiekiai kraujyje nepatikimai mažesni už eržilų. Panašius hematokrito svyravimus pastebėjo ir Nina Čebuli-Kaudune su bendraautoriais (2002) [25] savo darbuose lipicų veislės arkliams. Cigdem Altinsaat (2008) [4] savo darbuose nustatė, kad HCT koncentracija arabų veislės arklių kraujyje didėjant amžiui didėja. Nustatyta, kad žemaitukų prieauglio MCHC kiekis kraujyje 10,92 proc. didesnis, palyginti su suaugusių arklių kraujyje, panašius svyravimus pastebėjo ir Ashok K. Gupta (2002) [58] kathiawari arklių kraujyje.

Žemaitukų veislės arklių kraujo biocheminiais tyrimais nustatyta, kad didėjant amžiui, statistiškai patikimai ( $p < 0,05$ ) didėja TP kiekis, fermentų GGT ir CK-MB aktyvumas kraujo serume, tuo tarpu Glu, ALP, P ir K kiekiai mažėja. Brandos laikotarpiu intensyviausiai vyksta azoto apykaita dėl arklio naudojimo intensyviai darbui, sportui bei reprodukcijai [79]. Ir šiame tyrime arklių brendimo laikotarpiu pastebimas bendrųjų baltymų (TP) ir albuminų (Alb) kiekio padidėjimas. Šlapalo ir kreatinino kitimai nepriklausė nuo amžiaus, bet didžiausias šlapalo kiekis arklių kraujyje ( $5,99 \pm 1,24$  mmol/l) nustatytas vyresniems arkliams, o kreatinino ( $1,04 \pm 0,20$  mmol/l) jaunų 3–6 m. amžiaus arklių kraujyje. Prieauglio iki 3 metų amžiaus kraujyje buvo 2,0–5,8 proc. mažesnė kreatinino vertė nei jaunų ir suaugusių arklių.

Fermentų AST ir ALT aktyvumas didėjant amžiui mažėja. Didžiausias AST fermento aktyvumas nustatytas kumeliukų kraujo serume (A amžiaus grupė): jis yra 8,83 proc. didesnis, palyginti su vyresniais arkliais. Fermento ALT aktyvumas yra 14,49 proc. didesnis prieauglio kraujo serume, palyginti su vyresnio amžiaus arkliais. Priya Selvaraj su bendraautoriais (2008) [153] savo darbuose nustatė, kad Indijos grynakraujų veislės arklių kraujyje fermentų ALT, AST, ALP ir GGT aktyvumas pastebimas didesnis kumeliukų kraujyje, palyginti su suaugusiųjų šios veislės arklių krauju. Didėjant amžiui žemaitukų arklių kraujyje pastebima fermento GGT aktyvumo tendencingas mažėjimas nuo gimimo iki 10–14 m. amžiaus. Pirmą kartą įvertintas žemaitukų veislės arklių CK-NAC bendros kreatinkinazės bei CK-MB širdies raumens kreatinkinazės fermentų aktyvumas. Didžiausias gliukozės kiekis nustatytas kumeliukams, kai intensyviausiai vyksta organizmo formavimasis. Tai patvirtina ir Bruna R. Curcio ir Carlos E. W. Nogueira tyrimai tiriant gliukozės kiekį kumeliukų kraujyje nuo gimimo iki 6 mėn. amžiaus. Mokslininkai rašo kad gliukozės koncentracija grynakraujų kumeliukų kraujyje yra didesnė už suaugusių arklių [28].

Visų amžiaus grupių kumelių kraujo serume Alb ( $p < 0,001$ ), AST ( $p < 0,05$ ), Ca ( $p < 0,05$ ), P ( $p < 0,001$ ) ir Na ( $p < 0,001$ ) kiekiai didesni, o CK-NAC ( $p < 0,001$ ), CK-MB ( $p < 0,001$ ) bei Mg ( $p < 0,05$ ) mažesni už visų amžiaus grupių eržilų. Pagal Čebuli-Kaudune N (2002) [25], Gupta su bendraautoriais (2002) [58], Kary Satue (2009) [146], Hernandez (2008) [68] ir Paden su bendraautoriais (2014) [125] ir kitų mokslininkų duomenimis RBC kiekis, Hb ir HCT koncentracijos ribos šiltakraujų eržilų kraujyje didesnės nei kumelių, o kumelių MCH ir MCHC didesnės nei eržilų.

Tačiau šiame tyrime gauti rezultatai liudija priešingai: eržilų RBC kiekis, Hb ir HCT koncentracijos žemaitukų arklių kraujyje buvo patikimai mažesnės, atitinkamai RBC kiekio  $p < 0,001$ , Hb  $p < 0,05$  ir HCT  $p < 0,001$ . O MCH ir MCHC kiekiai žemaitukų eržilų kraujyje buvo patikimai didesni ( $p < 0,05$ ) nei kumelių. Altinsaat (2008) [4] arabų veislės arkliams nustatė MCHC kiekį didesnę eržilų kraujyje už kumelių. Panašius svyravimus nustatė Čebule-Kaudue su bendraautoriais (2002) [25] arabų veislės kumelėms. Kai kurie autoriai teigia, kad taip gali būti dėl endrogenų poveikio eritropoezei [4; 25; 45; 125; 147].

Labiausiai kraujo morfologinių ir biocheminių rodiklių kitimai priklausomai nuo lyties ir amžiaus atitiko šiltakraujų kraujo tipui priskiriamiems veislės arkliams. Remiantis gautomis kraujo morfologinių

ir biocheminių rodiklių ribomis, žemaitukai gali būti priskiriami šiltakraujų arklių kraujo tipui.

### **Kraujo morfologinių ir biocheminių rodiklių kitimas per ištvermės varžybas (32 km)**

Visi morfologiniai kraujo rodiklių kiekiai tirti arkliams prieš startuojant varžybose svyravo žemaitukų veislės arklių fiziologinėse ribose. Iškart po finišo pastebimas fiziologinis statistiškai patikimas ( $p < 0,001$ ) bendras eritrocitų kiekio (RBC), trombocitų kiekio (PLT), hemoglobino koncentracijos (Hb) ir hematokrito (HCT) padidėjimas, dėl suintensyvėjusios plaučių ventiliacijos ir širdies bei kraujagyslių sistemos darbo. Pagal Domenico Bergero su bendraautorais (2005) [16], David Hodgson (2006) [73], Harold C. Schott su bendraautorais (2006) [151], Borodkiną (2008) [185], Valentina Sergienko (2008) [190], Anne Barnes su bendraautorais (2010) [14], Rosanna Zobba su bendraautorais (2011) [182], Johan Larson su bendraautorais (2013) [88] ir Cywinska su bendraautorais. (2014) [32] šie rodikliai padidėja dėl organizmo dehidracijos smarkiai prakaituojant per varžybas, dėl fizinio krūvio per treniruotes, žaidžiant polo, dėl to sumažėja kraujo klampumas.

Analizuojant leukocitus ir jų diferenciaciją, nustatyta, kad per varžybas padidėjo leukocitų 9,68 proc. ( $p < 0,05$ ), limfocitų 19,21 proc. ( $p < 0,05$ ) ir granulocitų 3,86 proc. ( $p < 0,05$ ) kiekiai. Pasikeičia granulocitų – limfocitų santykis, o limfocitų procentinė išraiška (LY %) tampa 23,77 proc. statistiškai patikimai mažesnė, palyginti su rezultatu prieš varžybas, suaktyvėjus adaptacinės sistemos procesams. G. Bruschetta su bendraautorais (2014) [19] taip pat nurodo WBC kiekio padidėjimą dėl raumenų veiklos ir nuovargio intensyviai dirbant raumenims. Nustatyta, kad žemaitukų veislės arklių kraujo serume bendrųjų baltymų (TP) vertė 6,96 proc. ( $p < 0,01$ ) mažesnė nei prieš varžybas, atitinkamai ir albuminų (Alb) vertė 9,38 proc. ( $p < 0,05$ ) sumažėja per varžybas. Taip pat ir šlapalo vertė arklių kraujo serume 1,20 proc. sumažėjo per varžybas. Manoma, kad tai dėl baltymų apykaitos suaktyvėjimo intensyviai dirbant raumenims. Robert su bendraautorais (2010) duomenimis, kuo mažesnis albuminų frakcijos kiekis kraujyje, tuo mažesnis organizmo atsparumas kintančioms sąlygoms, gebėjimas prisitaikyti ir atkurti homeostazę [137], tačiau tas sumažėjimas turi būti žemiau 27,00 g/l. Pažymėtina, kad Alb kiekis žemaitukų arklių kraujyje prieš varžybas buvo didesnis nei nustatytas fiziologinės normos I etape, jo sumažėja per varžybas intensyviai dirbant

raumenims.

Tyrimo metu nustatyta, kad po varžybų žemaitukų veislės arklių kraujyje Glu koncentracijos kiekis 34,25 proc. statistiškai patikimai ( $p < 0,01$ ) padidėjo, palyginti su kiekiu prieš varžybas. Kerr G. Morag (2002) duomenimis, padidėjus raumenų darbo intensyvumui, organizme padidėja gliukozės poreikis (energijos gamybai) [106].

Padidėję fermentų AST, CK-MB, CK-NAC, GGT ir ALT aktyvumai po varžybų signalizuoja apie didelį fizinį krūvį, tenkantį rungtyniaujančiam arkliui. Visi penki fermentai dalyvauja baltymų apykaitoje ir prisideda prie energijos kaupimo substrato formavimo [72; 99; 160; 178]. Murat Arslan su bendraautorais (2002) [10] ir Marcella (2008) [99] teigia, kad fermento GGT kiekio padidėjimas po varžybų yra tikslus rodiklis, nurodantis raumenų aktyvumą, ir geriausias varžybų streso rodiklis. Reikia pažymėti, kad fermento AST aktyvumo kiekis po varžybų svyruoja, bet atitinka nustatytas I etape žemaitukų veislės arklių fiziologines normas. Taigi raumenų darbas neturi jokio patologinio poveikio fiziologinėms arklio organizmo sistemoms. Fermento CK-NAC aktyvumas 26,51 proc. statistiškai patikimai ( $p < 0,05$ ) didesnis po varžybų, palyginti su rezultatu prieš varžybas. Julio C. M. Soares su bendraautorais (2011) [158], Anna Cywinska su bendraautorais (2012) [30] ir kitų mokslininkų duomenimis fermento CK-NAC aktyvumo padidėjimas siejamas su raumenų darbo padidėjimu – padidėja raumeninių skaidulų membranos pralaidumas intensyviai ir ilgai dirbant raumenims [13; 76; 89; 94; 122; 168]. Tai aprašo Peter Krulje su bendraautorais (2014), kad policijos tarnybos arkliams padidėja fermento CK-NAC aktyvumas, patruliuojant gatvės 35 km vienodu greičiu dėl patiriamo streso [86]. Munoz su bendraautorais (2010) [110; 111], Williams su bendraautorais (2005) [178] ir Zobba su bendraautorais (2011) [182] nurodo, kad fermento CK-NAC aktyvumo padidėjimas gali atspindėti oksidacinę nuostolį. Tai pateikia savo darbuose Antonio R. Teixeira-Neto su bendraautorais (2008) [164], kad kreatinkinazės aktyvumas kraujo serume padidėja arkliams po 70 km ir 120 km ištvermės varžybų, taip pat ir Cywinska su bendraautorais (2012) arkliams po 34 km ir 60 km bei po 120 km ir 160 km ištvermės varžybų [30].

Nustatyta, kad per varžybas padidėjo arklių kraujo serume kalcio (Ca) 2,32 proc., fosforo (P) 4,17 proc. ir kalio (K) 0,95 proc. vertės. Ištvermės varžybose dalyvaujančių arklių organizmui reikia kalcio raumenų susitraukimams, o mažas kalcio kiekis kraujo plazmoje per sunkias ištvermės varžybas gali sukelti medžiagų apykaitos sistemos sutrikimus.

Pagal Bergero su bendraautorais (2009) [16] ir David Frappe (2010) elektrolitai atlieka svarbų vaidmenį arklio organizme: palaiko osmosinį slėgį, skysčių balansą, nervinių ir raumeninių skaidulų aktyvumą. Natrio ir kalio kiekių padidėjimas siejamas su dideliu prakaitavimu dirbant raumenims [16; 38; 52]. Fielding (2009) [46], taip pat Escolastico Aguilera-Tejero su bendraautorais (2000) [1] pastebėjo panašius kraujo rodiklių ( $\text{Na}^+$ ,  $\text{K}^+$ , HCT, TP) pakitimus arklių kraujyje kaip ir mūsų tiriamajame darbe, dėl prakaitavimo dirbant raumenims.

Nustatyta, kad per varžybas arklių organizme vyksta reikšmingi morfologiniai ir biocheminiai kraujo rodiklių pokyčiai. Įvertinę tai, galime teigti, kad žemaitukų veislės arkliai, nors ir priskiriami šiltakraujų arklių kraujo tipui, gali visavertiškai dalyvauti ištvermės varžybose.

### **Kraujo morfologinių ir biocheminių rodiklių kitimas kraujyje ilgojoje distancijoje (1500 km)**

Vertinant rūgščių ir šarmų balansą (RŠB) tradiciškai atsižvelgiama į kraujo pH,  $\text{pO}_2$ ,  $\text{pCO}_2$ , BE,  $\text{HCO}_3^-$  rodiklių svyravimus.

Vertinant gautus rezultatus įdomiausia yra 1200 km riba. Ties 1200 km riba žemaitukų veislės arkliams sumažėjus kraujo pH, padidėjus  $\text{pCO}_2$  ir sumažėjus  $\text{pO}_2$  vertėms, palyginti su žygio pradžia, nustatoma kvėpuojamoji acidozė, kurios pasekoje padidėja plaučių ventiliacija, anglies dvideginis pašalinamas iš organizmo ir jo koncentracija pasiekia vidutinio kiekio ribą kraujyje. Panašius kraujo dujų rodiklių svyravimus dirbant raumenims nustato Judit Viu su bendraautorais savo darbuose arkliams po 120 km ištvermės trasos [37; 170], Chiara A. A. Oliveira su bendraautorais [123] arkliams bėgant bėgimo takeliu, Pollyanna C. Araujo su bendraautorais (2014) [9] arkliams po polo rungtynių.

Žygio eigoje Hb kiekis po 1200 km pasiekė didžiausią koncentraciją ir po to žygiui pasibaigus (1500 km) nukrito iki minimumo. Praėjus 2 savaitėms po žygio, Hb koncentracija beveik pasiekė koncentracijos lygį, buvusį žygio pradžioje. Tai rodo blužnies gebėjimą greitai reaguoti į raumenų deguonies poreikį, organizmo energijos išteklių išsekimą. Įsijungia organizmo adaptacijos kompensacinė stadija.

Pagal Kenneth W. Hinchcliff su bendraautorais (2008) [72] ilgojoje distancijoje dėl prasidedančios dehidracijos (su skysčių netekimu prakaituojant) kraujo serume didėja bendrųjų baltymų (TP) ir albuminų (Alb) kiekiai [38; 46], kad išsivystytų stipri dehidracijos forma, turi padidėti ir HCT kiekis [148; 161]. Pagal Steven Stockham ir

Michael A. Scott su bendraautorais (2006) [161] ir Cinthia B. Dumont (2014) [37] HCT padidėjimas turėtų būti lygus TP padidėjimui. Todėl, jei HCT padidėja, o TP lieka nepakitęs (arba atvirkščiai), tokie kraujo rodiklių kitimai, negali būti dėl dehidracijos ir turėtų būti interpretuojami kitaip. Šiame žygyje po 600 km TP ir Alb kiekiai padidėjo ir pasiekė didžiausią statistiškai reikšmingą vertę, tačiau vertinant sumažėjusį HCT kiekį galima teigti, kad stiprios dehidracijos nebuvo. Mūsų atveju TP padidėjo po 900 km ir po 1200 km, tačiau nesiekė didžiausios vertės ir tai neįrodo organizmo dehidracijos. Žemaitukų veislės arkliai išnaudoja TP depo kiekį. Padidėjęs HCT gali rodyti patiriamą skausmą [96; 148] arba stresą [11; 119; 189].

Po 600 km ėmė aktyviai veikti antioksidacinis adaptacinis mechanizmas. Kadangi pagal Hargreaves su bendraautorais (2002a; 2002b) po 80 km ir po 160 km ištvermės trasos padidėjęs fermentų AST, ALP aktyvumas nurodo intensyvų arklio naudojimą ir raumenų pertempimą [58; 59; 133], mes galime įtarti kad mūsų žygio metu po 900 km ir 1200 km žemaitukams galėjo būti raumenų pertempimas, tačiau sumažėjęs fermento CK-NAC aktyvumas palyginus su žygio pradžioje nustatytu nerodo raumenų oksidacinės žalos. Tai rodo kepenų gebėjimą išnaudoti depą ir geras organizmo adaptacines savybes. Po 600 km žygio fermentų AST, ALP ir ALT aktyvumai sumažėjo iki I etape nustatytų žemaitukų veislės arklių fiziologinių ribų. Pagal Adamu Lawan su bendraautorais (2012) [92] ir Mohamed W. El-Deeb su bendraautorais (2014) [40] ilgoje ištvermės distancijoje vienalaikis arklių fermentų CK-NAC ir AST aktyvumo padidėjimas liudija prasidedančią mioglobinuriją. Šiame žygyje fermentų aktyvumas svyravo, bet vertės kompensavo viena kitą ir nesukėlė arklio organizmui žalos. Pagal Soares su bendraautorais (2011) [158], Cywinska su bendraautorais (2012; 2013) [30; 31] mokslininkų duomenimis fermento CK-NAC aktyvumo padidėjimas siejamas su raumeninių skaidulų membranos pralaidumu intensyviai ir ilgai dirbant raumenims po 1200 km ištvermės trasos. Fermentų CK-NAC ir CK-MB aktyvumo vertės žemaitukų veislės arklių kraujyje svyravo I etape nustatytose fiziologinėse fermentų aktyvumo ribose ir žygio metu neviršiojo daugiau nei 1000 U/l ribos liudijančios apie galimus negrįžtamus pakitimus skeleto ar širdies raumenyse pagal Munoz su bendraautorais (2010) [110] ir Martin D. Hoffman su bendraautorais (2012) [74].

Gliukozės kiekiai per visą žygį svyravo ir buvo didesni nei I etape nustatytos žemaitukų veislės kraujo Glu fiziologinės normos, tačiau

duomenis lyginant tarpusavyje pastebėta, kad gliukozės kiekis žygiui pasibaigus (1500 km) netgi sumažėjo ir pasiekė mažiausią vertę praėjus 2 savaitėms nuo žygio pabaigos. Pradinis padidėjimas siejamas su padidėjusiu raumenų darbo intensyvumu [106].

Elektrolitų ir makroelementų pokyčiai žemaitukų veislės arkliams viso žygio metu buvo minimalūs ir K, Mg kiekiai buvo atitinkamai 20,10 proc. ir 1,35 proc. sumažėję žygiui pasibaigus, ir atsistatė beveik iki pradinės vertės 2 sav. po žygio pabaigos. Tokius svyravimus savo darbuose per intensyvias treniruotes, po 80 km ir 120 km ištvermės varžybų aprašo Tanja M. Hess su bendraautorais (2005; 2008) [70;71], Borodkina (2008) [185], Viu su bendraautorais (2010) [170] ir Diana Goundasheva su bendraautorais (2011) [54].

Nustatyta, kad P kiekis 31,34 proc. sumažėjo žygiui pasibaigus (1500 km) ir 2 sav. po žygio pabaigos išliko sumažėjęs. Na ir iCa kiekiai atitinkamai 1,44 proc. ir 5,49 proc. padidėjo žygiui pasibaigus. Po 2 sav. po žygio pabaigos Ca kiekis išliko statistiškai patikimai ( $p < 0,05$ ) padidėjęs, o Na kiekis statistiškai patikimai ( $p < 0,05$ ) šiek tiek sumažėjo, palyginti su kiekiu žygio pradžioje 2 sav. po žygio pabaigos. Goundasheva su bendraautorais (2011) [54] teigia, kad natrio padidėja ir kalio sumažėja dėl padidėjusio seilėtekio ir prakaitavimo stipriai dirbant raumenims. Amaral su bendraautorais (2013) [5] duomenimis kalio arklių kraujyje sumažėja patiriant nuovargį po 750 km ištvermės distancijos.

Visiems arkliams per žygį Urea, Crea, TP ir Na koncentracijos padidėjo po 600 km ir išsilaikė padidėjusios iki žygio pabaigos, o HCT kiekis visą laiką, išskyrus vertę po 1500 km, mažėjo, palyginti su kiekiais žygio pradžioje. Tokius pasikeitimus gerai paaikšina Hinchcliff su bendraautorais (2008) – mokslininko teigimu, taip yra dėl inkstų kontrolės mechanizmo, sugebančio rezorbuoti vandenį per inkstų kanalėlius ilgoje distancijoje [72].

Nagrinėjant kraujo rodiklių kitimą kraujyje ilgoje distancijoje, nesunku pastebėti, kad kritine žygio riba galima laikyti 1200 km, kai fermentų AST, ALP, ALT, GGT aktyvumas ir rodiklių TP, Urea, Crea, Ca, Mg, HCT kiekiai, Hb koncentracija, taip pat mikroelementų P ir Mg, Na kiekiai bei pCO<sub>2</sub> kiekis padidėjo, o pH, pO<sub>2</sub>, K, Alb kiekiai, bei fermentų CK-NC, CK-MB aktyvumas sumažėjo, palyginti su kiekiais žygio pradžioje. Pagal Hinchcliff su bendraautorais (2008) ALP kiekio didėjimas arklių kraujo serume ištvermės distancijos metu rodo fiziologinių organizmo sistemų, įskaitant skeleto raumenų sistemą, įtampą [72]. ALP organizmo adaptacijos procese atlieka raumenų veiklos apsauginę funkciją. Pagal

Kerr (2002) [108] ir Mokhber Dezfouli su bendraautoriais (2009) [34] hipokalcemija yra dieglių atsiradimo rizika sportiniams arkliams, kadangi žygio metu hipokalcemijos nebuvo, vadinasi, nebuvo ir dieglių rizikos. Pagal Guy Alexander (2012) [2], Tatiana Art Pierre Lekeux (2005) [11], Stive A. Nemec su bendraautoriais (2008) [119], Satue su bendraautoriais (2009) ir Sergienko (2006) kai kurių (HCT, Ca, Urea, Crea, Mg, AST, ALT, ALP, GGT) rodiklių svyravimai rodo, kad arkliai galėjo patirti didelį stresą [147; 189]. Tačiau, žygio metu, jei žiūrėsime toliau, kraujo rodikliai atsistato ir kai kurie pasiekia pradinį kiekį ir arkliai sėkmingai pasiekė žygio pabaigą (1500 km), įsijungus organizmo adaptacijos kompensacijos stadijai ir aerobinio oksidacijos irimo procesams. Šlapalo padidėjimą reikėtų vertinti kartu su bendrųjų baltymų sumažėjimu kaip arklių organizmo gebėjimą katabolizuoti baltymus panaudojant juos kaip papildomą energijos šaltinį [5] Rieser su bendraautoriais (2013) duomenimis [134] ilgai trunkančiame aerobiniame darbe raumenys gali nuvargti dėl raumenų skaidulų ir jungiamojo audinio mikropažeidimų, tai pastebime nukritus pH,  $pO_2$ , padidėjus  $pCO_2$  kiekiui.

Kaip oksidacinio streso žymė, GGT fermento padidėjimas nukeliavus 900 km ir jo kiekio mažėjimas žygiui tęsiantis ir po žygio pabaigos (1500 km) gali rodyti širdies ir kvėpavimo sistemos sutrikimus, tačiau Janene K. Kingston aprašo GGT padidėjimą kaip reakciją į raumenų apkrovą [83]. Tačiau taip pat GGT svyravimas glaudžiai susijęs su gliukozės svyravimais ir jo naudojimu dirbant raumenims. Panašius svyravimus aprašo Lawan (2014) savo darbuose [94]. Staigus GGT ir ALT fermentų aktyvumo sumažėjimas praėjus 2 savaitėms po žygio dėl to, kad arkliai poilsavo po žygio ir neturėjo jokio krūvio.

Ilgo fizinio darbo metu didėja kapiliarų skaičius, susidaro nauji, o buvusieji tampa talpesni, elastingesni, kartu didėja ir cirkuliuojančio kraujo kiekis, kraujas teka lėčiau, vadinasi ir kraujo kontaktas su funkcionuojančiu raumeniu tampa didesnis ir ilgesnis. Galima daryti prielaidą, kad žemaitukų veislės arklių raumenys susideda daugiausiai iš I tipo (lėtai susitraukiančių) raumeninių skaidulų, kuriuose dominuoja aerobinio oksidacinio irimo procesai. Ką būtent ir rodo kraujo biocheminių rodiklių kaita žygio metu. Aišku, šį teiginį pagrįsti reikalingi tolimesni moksliniai tyrimai.

## IŠVADOS

1. Nustatyta, kad didėjant amžiui žemaitukų veislės arklių kraujyje bendras eritrocitų kiekis nuosekliai statistiškai patikimai mažėjo ( $p < 0,05$ ), o bendras leukocitų kiekis ir limfocitų kiekis statistiškai patikimai mažėjo ( $p < 0,05$ ) nuo vienerių metų iki senatvės. Hemoglobino koncentracija ir hematokrito kiekis statistiškai patikimai ( $p < 0,05$ ) didėjo iki 6 metų, po to didėjant amžiui nuosekliai statistiškai patikimai mažėjo ( $p < 0,05$ ) iki senatvės. Vidutinis eritrocitų tūris ir vidutinis hemoglobino kiekis eritrocite, didėjant amžiui statistiškai patikimai didėjo ( $p < 0,05$ ). Nustatyta, kad eržilų eritrocitų 7,41 ( $p < 0,001$ ), hemoglobino 7,72 ( $p < 0,05$ ) ir hematokrito 4,38 ( $p < 0,001$ ) proc. vertės kraujyje mažesnės palyginti su kumelėmis.

2. Didžiausi bendrųjų baltymų ir albuminų kiekiai buvo 6–10 metų amžiaus patelių ir patinų kraujyje ( $68,96 \pm 9,16$  g/l) ir ( $30,84 \pm 4,96$  g/l), t.y. 9,21 ( $p < 0,05$ ) ir 10,7 ( $p < 0,05$ ) proc. buvo didesni, palyginti su jaunesnių ar vyresnių arklių krauju. Kreatinino koncentracija buvo 3–metų kumelių kraujyje  $1,04 \pm 0,20$  mmol/l, o šlapalo vyresnių eržilų kraujyje  $5,99 \pm 1,24$  mmol/l. Nustatyti statistiškai patikimi ( $p < 0,05$ ) gliukozės skirtumai tarp arklių amžiaus grupių. Didžiausias gliukozės kiekis nustatytas kumeliukams ( $4,85 \pm 1,38$  mmol/l).

3. Didžiausi fermentų aspartataminotransferazės, šarminės fosfatazės ir gamaglutamiltransferazės aktyvumas buvo kumeliukų kraujyje ir didėjant amžiui aktyvumas mažėjo. Fermentų bendros ir širdies kreatinkinazės aktyvumas didžiausi buvo eržilų 10–14 metų arklių kraujyje ( $401,77 \pm 197,98$  U/l) ir ( $652,53 \pm 264,26$  U/l), t.y. 21,62 ( $p < 0,05$ ) ir 26,78 ( $p < 0,05$ ) proc. didesni, palyginti su jaunesnių ar vyresnių arklių krauju.

4. Nustatyta, kad amžius ir lytis turėjo statistiškai reikšmingą įtaką kraujo mineralinių medžiagų kitimui. Didėjant amžiui kalcio, fosforo kiekis arklių kraujyje mažėjo. Kalio ir natrio kiekiai didžiausi buvo 3–6 metų kumelių kraujyje, atitinkamai  $5,16 \pm 0,85$  mmol/l ir  $154,51 \pm 4,34$  mmol/l, palyginti su jaunesnių ar vyresnių eržilų krauju.

5. Pagal nustatytus kraujo morfologinius ir biocheminius rodiklius, apibūdinančius arklių kraujo tipą, žemaitukų veislės arkliai gali būti priskiriami šiltakraujų arklių kraujo tipui.

6. Atlikus kliniškai sveikų žemaitukų veislės arklių morfologinį kraujo tyrimą ištvermės varžybų metu (32 km), nustatyta, kad bendras leukocitų (WBC) 10,18 proc. ( $p < 0,05$ ) ir bendras eritrocitų (RBC) 12,39 proc. ( $p < 0,05$ ) kiekiai, hemoglobino (Hb) 12,56 proc. ( $p < 0,001$ ) ir hematokrito (HCT) 10,88 proc. ( $p < 0,001$ ) koncentracijos ir vidutinė hemoglobino koncentracija eritrocite (MCHC) 2,95 proc. ( $p < 0,05$ ) buvo statistiškai patikimai didesni nei prieš varžybas.

7. Biocheminiais kraujo tyrimais nustatyta, kad žemaitukų veislės arklių po ištvermės varžybų (32 km), kraujo serume vidutiniai bendrųjų baltymų (TP) kiekis 8,88 proc. buvo statistiškai patikimai ( $p < 0,01$ ) ir albuminų (Alb) kiekis 9,38 proc. ( $p < 0,05$ ) mažesnis nei prieš varžybas. Gliukozės (Glu) 34,25 proc. ( $p < 0,01$ ), kreatinino (Crea) 17,65 proc., natrio (Na) 2,03 proc. kiekiai buvo statistiškai patikimai didesni ( $p < 0,001$ ), kaip ir bendro kreatinkinazės fermento (CK-NAC) aktyvumas 25,51 proc. ( $p < 0,05$ ) didesnis nei prieš varžybas.

8. Istoriniame žygyje iki Juodosios jūros įvertinti žemaitukų veislės arklių kraujo rodiklių kitimai parodė, kad kritine žygio riba galima laikyti 1200 km, kai fermentų AST, ALP, ALT, GGT aktyvumas ir rodiklių TP, Urea, Crea, Ca, Mg, HCT kiekiai, Hb koncentracija, taip pat mineralinių medžiagų P, Mg ir Na kiekiai bei  $p\text{CO}_2$  kiekis padidėjo, o pH,  $p\text{O}_2$ , K, Alb kiekiai, bei fermentų CK-NC, CK-MB aktyvumas sumažėjo, palyginti su kiekiais žygio pradžioje. Bet žygiui pasibaigus (1500 km) ir 2 savaites po žygio pabaigos kraujo rodiklių vertės grįžo iki pradinių ribų.

## **PRAKTINĖ REKOMENDACIJA**

Nustatytos kraujo morfologinių ir biocheminių rodiklių ribos gali būti taikomos tik senojo tipo žemaitukų arklių veislei ir gali būti naudojamos sveikatos kontrolei, ligų diagnostikai, tikslingam vaistų parinkimui ir dozavimui, veisimui, tinkamai parinkti fizinį krūvį treniruočių metu ir dalyvaujant varžybose.

## **GYVENIMO APRAŠYMAS (*CURRICULUM VITAE*)**

Zoja Miknienė, gimė 1981 m. gegužės 8 d., Panevėžyje.

1987–1999 m. mokėsi Panevėžio 3-ioje vidurinėje mokykloje.

1999 m. įstojo į Lietuvos veterinarijos akademiją, kurią 2005 m. baigė ir įgijo veterinarijos gydytojo kvalifikaciją.

2002–2006 m. dirbo Lietuvos zoologijos sode sanitarė.

2006–2008 m. dirbo veterinarijos gydytoja veterinarijos gydykloje „Kaivana“.

2007 m. įstojo į Lietuvos veterinarijos akademiją rezidentūros hematologijos ir toksikologijos programą, kurią 2009 m. baigė ir įgijo veterinarijos gydytojo hematologo-toksikologo kvalifikaciją.

Nuo 2008 m. dirba veterinarijos gydytoja LSMU, VA, Stambijų gyvulių klinikoje.

2009 m. įstojo į doktorantūrą Veterinarijos akademijos Neužkrečiamųjų ligų katedroje. Paskelbė 2 mokslinius straipsnius, įrašytus į mokslinės informacijos instituto duomenų bazę, dalyvavo tarptautinėse mokslinėse konferencijose.

