

**ВПЛИВ РІЗНИХ ЗА ТРИВАЛІСТЮ ДИНАМІЧНИХ НАВАНТАЖЕНЬ НА
ЗМІНИ АКТИВНОСТІ ІЗОФЕРМЕНТІВ ЛАКТАТДЕГІДРОГЕНАЗИ В
КЛІТИНАХ МІЖХРЕБЦЕВОГО ДИСКА**

Андрій Сак

Раїса Антіпова

*Харківська державна академія фізичної культури,
Харків, Україна*

Мета: визначити вплив тривалих динамічних навантажень на зміни активності ізоферментів лактатдегідрогенази (ЛДГ) в клітинах міжхребцевих дисків у віковому аспекті.

Матеріали та методи: дослідження виконано на самцях щурів лінії Вістар трьох вікових груп: 1, 3 та 12-місяців. Всього в досліді спостерігалися 90 тварин дослідної серії та 90 тварин контрольної серії. Динамічні навантаження створювалися бігом в горизонтальному тредбані. За допомогою гістохімічних методів проведено аналіз змін активності ізоферментів лактатдегідрогенази у клітинах міжхребцевих дисків щурів лінії Вістар після 20- та 90-добового експериментального бігу.

Результати: експериментально встановлено, що зміни активності ізоферментів лактатдегідрогенази залежать від віку тварин та тривалості динамічних навантажень. Відзначено зниження у клітинах міжхребцевого диска активності ЛДГ-1 та ЛДГ-2 ізоферментів, але підвищення активності ЛДГ-3 та ЛДГ-4 ізоферментів.

Висновки: виявлені вікові особливості зміни активності ферментів пропонується використовувати як гістохімічний тест для об'єктивної оцінки ступеня руйнівної дії тривалого бігу на волокнистий хрящ міжхребцевого диска.

Ключові слова: лактатдегідрогеназа, міжхребцевий диск, тредбан, експериментальний біг.

Вступ

Ураження кістково-суглобової системи, особливо великих суглобів і хребта має високу соціальною значущість. В основі клінічних проявів болю в спині здебільшого лежить ураження міжхребцевих дисків [8]. Такі випадки зареєстровані при перевантаженні хребта [17; 18], а також, при неадекватному фізичному навантаженні в спорті [7; 11]. Тому з'ясування адаптаційних можливостей хряща при фізичних навантаженнях є актуальним завданням.

Показовою моделлю для вивчення процесів анаеробного та аеробного обміну при різних режимах рухової активності є реакція лактатдегідрогенази. Існують окремі повідомлення про активність цієї реакції в сироватці крові спортсменів [9]. Цінність гістохімічних досліджень полягає в їх здатності локалізувати біохімічну реакцію та оцінити активність реакції в структурах клітини.

Зв'язок дослідження з науковими програмами, планами, темами. Дослідження виконано в рамках кафедральної теми науково-дослідної роботи "Медико-біологічне обґрунтування проведення відновлювальних заходів і призначення засобів фізичної реабілітації для осіб молодого віку різного рівня тренуваності".

Мета дослідження. Методами гістохімії з'ясувати зміну активності ізоферментів лактатдегідрогенази (ЛДГ) в клітинах міжхребцевих дисків при тривалих динамічних навантаженнях у віковому аспекті.

Матеріал і методи дослідження

Дослідження виконано на щурах-самцях лінії Вістар трьох вікових груп: 1, 3 та 12-місяців, що відповідає статевонезрілому, пубертатному та старому віку [5]. Робота з лабораторними тваринами проводилася відповідно до вимог «Європейської конвенції по захисту хребетних тварин, які використовуються в експериментальних та інших наукових цілях» [16]. Всього в дослідах спостерігалися 90 тварин дослідної серії (ДС) та 90 тварин контрольної серії (КС).

Тварини тренувалися бігом в горизонтальному тредбані з використанням електронного лічильника для визначення довжини пробігу. Щури І групи пробігли протягом 20 днів 10560 м, а ІІ групи, протягом 90 днів – 17280 м.

Для всіх вікових груп експериментальної серії розраховано максимальну швидкість бігу та вибрано однакову швидкість руху стрічки тредбану – 40 м/хв. Така швидкість дозволила використовувати в дослідах тривалий біг. Тварини контрольної серії знаходилися в звичайних умовах віварію.

Дослідження проведені з використанням методів макро-мікроскопії, гістології (гематоксілін-еозин) та гістохімії.

Гістохімічні реакції поставлені на ферменти, що відображають стан анаеробних систем енергозабезпечення в клітинах: лактатдегідрогенази (ЛДГ) (К.Ф.1.1.1.27), її ізоферментів. ЛДГ – фермент анаеробного гліколізу, що каталізує перетворення пірувату на лактат [2,19]. Методом спектрофотометрії зазвичай визначається активність ЛДГ і п'яти її ізоформ. Гістохімічними методами виявлено чотири ізоферменти ЛДГ: ЛДГ-1, ЛДГ-2, ЛДГ-3, ЛДГ-4. Реакції поставлені на заморожених в кріостаті зрізах МХ диска, проведених паралельних підставі тіл хребців. Товщина зрізів складала 4-5 мкм. Постановка гістохімічних реакцій здійснювалася з дотриманням однотипних умов [1] і з урахуванням рекомендацій щодо обробки й оцінки результатів гістоензимологічних досліджень [10]. Контрольні зрізи інкубували за тих же умов без субстрата.

Кількісна оцінка активності ферментів проведена на двопроменевому скануючому цитофотометрі МУФ-5. Вимірювання проводилися плаг-методом з

використанням зонда діаметром 200 мкм і об'єктиву 50 і при робочій довжині хвилі 546 нм. Показники екстинкції визначалися в п'яти точках цитоплазми кожної клітини, після чого розраховувалося середнє значення. До вимірювань визначалася придатність матеріалу для фотометричних робіт з реєстрацією спектру поглинання на об'єктах різної щільності.

Отриманий цифровий матеріал біометричних і цитофотометричних досліджень оброблений методом варіаційної статистики.

Результати дослідження

Після 20-денного бігу тварин в тредбані помічалася зміна орієнтації колагенових волокон і клітин фіброзного кільця міжхребцевих дисків. Після 90-денного бігу виявлялися зміни форми, будови і внутрішньої організації міжхребцевих дисків. На території фіброзного кільця відбувалося разволокнення пучків колагенових волокон, порушення ходу фіброзних пластинок та орієнтації клітин. У вентральних відділах фіброзного кільця з'являлися кровоносні судини, що були орієнтовані продовж фіброзних пластинок. Ознаки дистрофічних змін були особливо виражені в міжхребцевих дисках тварин вікових груп 1 та 12-місяців.

В умовах гіперкінезії змінювалася морфологія клітин фіброзного кільця і активність ферментів. Активність ЛДГ змінювалася, але ступінь змін визначався віком тварин і рівнем фізичного навантаження (Рис.1).

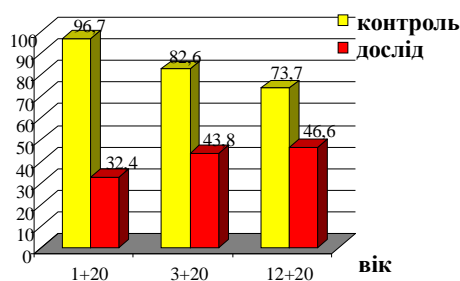


Рис. 1. Показники активності сумарної ЛДГ в клітинах фіброзного кільця після 20-денної гіперкінезії. Вік тварин: 1, 3 і 12 місяців + 20 днів бігу

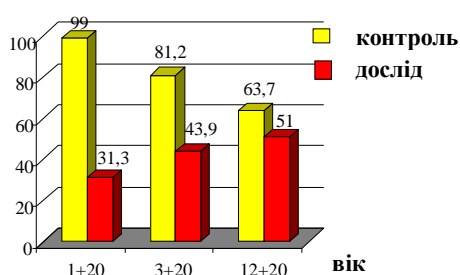
У серії 1+20 гіперкінезії в клітинах виявлялися темно-коричневі гранули диформагану, щільно розташовані навколо ядра. Клітини внутрішнього шару

фіброзного кільця розташовувалися менш впорядковано, ніж у контролі, і місцями – у складі дрібних ізогенних груп. При цьому помічено зниження до 80% кількості активних клітин. Активність ЛДГ знижувалася в порівнянні з контролем на 66,49%.

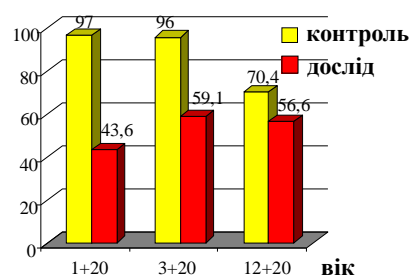
У серії 3+20 гіперкінезії щільно розташовані гранули диформагану заповнювали велику частину цитоплазми. Активність ЛДГ знизилася на 46,97%.

У серії 12+20 гіперкінезії виявлено зміна активності ЛДГ на тлі порушення орієнтації клітин і поліморфізму гранул диформагану: серед них з'являлися великі, дрібні і пилоподібні форми. Активність ЛДГ знижувалася на 37,6%. Що стосується ізоферментів ЛДГ після 20-денного бігу, то їх зміни були специфічні (Рис.2).

«Аеробні» ізоферменти ЛДГ

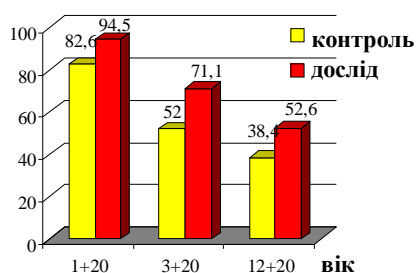


ЛДГ-1

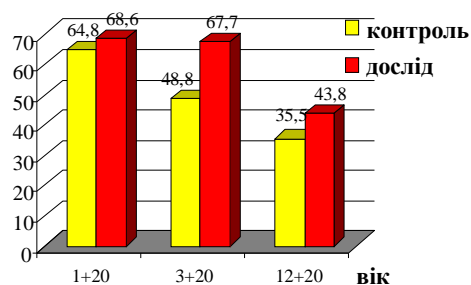


ЛДГ-2

«Анаеробні» ізоферменти ЛДГ



ЛДГ-3



ЛДГ-4

Рис. 2. Показники активності ізоферментів ЛДГ в клітинах фіброзного кільця диска після 20-денного бігу. Вік тварин: 1, 3 і 12 місяців + 20 днів

У серії 1+20 гіперкінезії активність ізоферментів ЛДГ змінювалася неоднаково. Значно знижувалася активність ЛДГ-1 (на 68,3%) і ЛДГ-2 (на 55%).

У той же час підвищувалась активність ЛДГ-3 (на 12,6%) й ще менш, активність ЛДГ-4 (на 5,53%).

У результаті, градієнт активності ізоферментів ЛДГ в клітинах міжхребцевих дисків 1-місячних щурів після 20-денного бігу складав: ЛДГ-3 – ЛДГ-4 – ЛДГ-2 – ЛДГ-1

У серії 3+20 гіперкінезії з ізоферментів ЛДГ знижувалася: активність ЛДГ-1 (на 45,9%) і ЛДГ-2 (на 38,4%), тоді як активність ЛДГ-3 і ЛДГ-4 підвищувалася (на 26,9 й 27,9% відповідно).

Градієнт активності ізоферментів ЛДГ в клітинах диска у 3-місячних щурів після 20-денного бігу складав ЛДГ-3 – ЛДГ-4 – ЛДГ-2 – ЛДГ-1.

У серії 12+20 гіперкінезії зміна активності ізоферментів ЛДГ виявлялася зниженням активності ЛДГ-1 і ЛДГ-2 (на 19,9% і 19,6% відповідно) й підвищенням активності ЛДГ-3 і ЛДГ-4 (на 26,9 і 18,9% відповідно).

У результаті градієнт активності ЛДГ 12-місячних тварин після 20-денного бігу складав: ЛДГ-2 – ЛДГ-3 – ЛДГ-1 – ЛДГ-4.

Тривалий 90-денний біг викликав зміну активності ЛДГ, яка мала вікові відмінності. Після закінчення експерименту тварини досягли віку 4, 6 і 15 місяців. Особливістю було підвищення активності ЛДГ в міжхребцевих дисках тварин, які треновані в третбані з 1-місячного віку. У міжхребцевих дисках тварин старших вікових груп активність ЛДГ знижувалася (Рис.3).

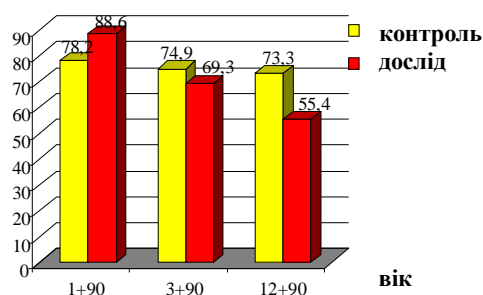


Рис.3. Показники активності сумарної ЛДГ в клітинах фіброзного кільця диска після 90-денного бігу. Вік тварин: 1, 3 і 12 місяців + 90 днів

У серії 1+90 гіперкінезії в клітинах зовнішнього шару фіброзного кільця виявлялися темно коричневі гранули диформагану, щільно розташовані

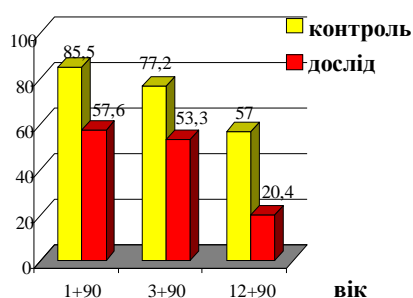
навколо ядра. Клітини внутрішнього шару фіброзного кільця розташовувалися менш упорядковано, місцями у складі дрібних ізогенних груп. Активність ЛДГ підвищувалася на 11,7%.

У серії 3+90 гіперкінезії активність ЛДГ знижувалася на 75%. У цитоплазмі з'являлися великі гранули диформагану, розсіяні серед дрібних гранул які переважали в ектоплазмі.

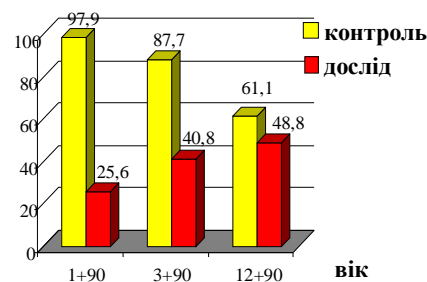
У серії 12+90 гіперкінезії активність ЛДГ знижувалася на 24,4%. Гранули диформагану щільно заповнювали ендоплазму й чітко обкреслювали контури ядра; більшість гранул відрізнялися темно-коричневим забарвленням і середніми за величиною розмірами. Розподіл у фіброзному кільці клітин, маркірованих ферментом, був нерівномірним, а характерна орієнтація клітин уздовж фіброзних пластинок, що властива контролю, була відсутня.

Зміни активності ізоферментів ЛДГ також мали вікові відмінності (Рис.4).

«Аеробні» ізоферменти ЛДГ

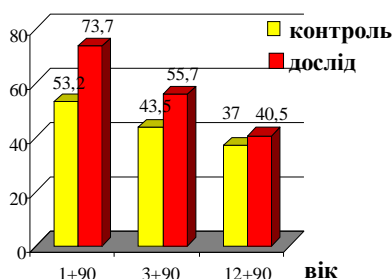


ЛДГ-1

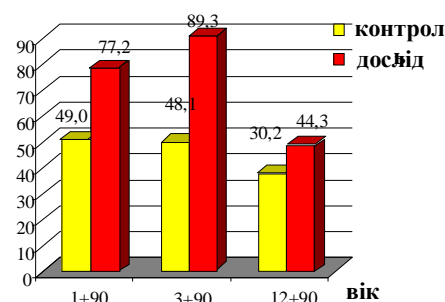


ЛДГ-2

«Анаеробні» ізоферменти ЛДГ



ЛДГ-3



ЛДГ-4

Рис. 4. Гістограма показників активності ізоферментів ЛДГ в клітинах фіброзного кільця після 90-денного бігу. Вік тварин: 1, 3 і 12 місяців + 90 днів бігу

У серії 1+90 гіперкінезії активність ізоферментів ЛДГ змінювалася неоднаково. Встановлено зниження активності ЛДГ-1 ізофермента (на 32,6%) і

ЛДГ-2 (на 73,8%), але виявлено підвищення активності ЛДГ-3 і ЛДГ-4 ізоферментів (на 27,8 і 6,6% відповідно).

Градiєнт активності ізоферментів ЛДГ (в порядку убубання) до клітин міжхребцевих дисків 1-місячних щурів після 90-денного бігу мав таку послідовність: ЛДГ-4 – ЛДГ-3 – ЛДГ-1 – ЛДГ-2.

У серії 3+90 гіперкінезії виявлено зміни активності ізоферментів ЛДГ: активність ЛДГ-1 знижувалася на 30,9%, ЛДГ-2 – на 53,5%; у той же час активність ЛДГ-3 підвищувалася на 21,9%, а ЛДГ-4 – на 46,1%.

Градiєнт активності ізоферментів ЛДГ 3-місячних щурів після 90-денного бігу: ЛДГ-4 – ЛДГ-3 – ЛДГ-1 – ЛДГ-2.

У серії 12+90 гіперкінезії зміна активності ізоферментів ЛДГ після тривалої гіперкінезії виражалася зниженням активності ЛДГ-1 (на 64,8%) і ЛДГ-2 (на 20,1%) ізоферментів і підвищенні активності ЛДГ-3 (на 8,6%) і значніше - ЛДГ-4 (на 31,8%).

У результаті градiєнт активності ізоферментів ЛДГ 12-місячних тварин змінювався: ЛДГ-2 – ЛДГ-4 – ЛДГ-3 – ЛДГ-1.

Отже, в умовах тривалих динамічних навантажень зниження активності ЛДГ у статевозрілих тварин супроводжується зміною співвідношення активності її ізоферментів.

У клітинах міжхребцевих дисків молодих тварин після 90-денного бігу чітко виявляється тенденція до зниження активності ізоферментів ЛДГ-1 і ЛДГ-2 та підвищенню активності ізоферментів ЛДГ-3 і ЛДГ-4.

У тварин старших вікових груп, в умовах гіперкінезії мало місце найбільш значне зниження активності ЛДГ. При цьому аналіз активності ізоферментів виявив зниження активності ЛДГ-1, а потім ЛДГ-2 при підвищенні ЛДГ-4 і менш значно – ЛДГ-3. Таким чином, у тварин різних віків є схожість реакції клітин на високі динамічні навантаження, але при певній відмінності в кількісному виразі цих реакцій.

Серед ізоферментів ЛДГ-1 і ЛДГ-2 належать до більш "аеробних" ізоформ, ЛДГ-3 і ЛДГ-4 – до "анаеробних". Підвищення активності анаеробних

ізоферментів ЛДГ може бути компенсацією падіння активності сумарної ЛДГ в умовах тривалого динамічного навантаження та служити маркером зниження аеробного окислення в системі гліколізу.

Таким чином, в умовах гіперкінезії мали місце зміни активності сумарної ЛДГ, загальною спрямованістю яких було її зниження у тварин зрілого і старшого віку груп з тонкою реакцією ізоферментів на зміну структури і функції міжхребцевих дисків. Тільки у статевонезрілих тварин активність сумарної ЛДГ, при тривалому бігу, підвищувалася.

При цьому зниження активності сумарної ЛДГ супроводжувалося зниженням активності більш "аеробних" ЛДГ-1 і ЛДГ-2, але підвищенням активності більш "анаеробних" ЛДГ-3 і ЛДГ-4 ізоферментів ЛДГ.

При цьому зміни метаболізму вуглеводів в умовах тривалої гіперкінезії поєднуються з активацією апоптозу клітин міжхребцевого диска і гіалінового хряща [4]. Активація апоптозу – нормального, генетично запрограмований процесу загибелі клітин під час розвитку організму, свідчить про прискорення інволютивних процесів в міжхребцевих дисках в умовах тривалих динамічних навантажень, та розповсюдженні дистрофічних процесів. Це підтверджує високу механосенситивність на фізичне навантаження не тільки гіалінового [13], але й волокнистого хряща.

Оцінка активності ЛДГ, та особливо її ізоферментного спектру, має високе діагностичне значення та використовується при діагностиці низки захворювань [14,15]. Проте більшість досліджень заснована на біохімічному аналізі сироватки крові і дають тільки непрямі відомості про внутрішньоклітинний метаболізм в клітинах тканин. Представлені гістоензимологічні дані можуть бути використані при аналізі матеріалу біопсії, можливості отримання якого в даний час підвищуються у зв'язку з розширенням способів діагностики патології хребта [3,8].

Висновки / Дискусія

Гістоензимологічний і цитофотометричний методи є чутливими та точними методами визначення активності ферментів [12]. Фіброзне кільце

міжхребцевого диска побудовано з щільної сполученої і волокнистої хрящової тканини, клітини якої мають високу гліколітичну активність. Проведений аналіз показав, що динамічне навантаження сприяє біохімічним змінам активності ЛДГ в клітинах між хребцевих дисків.

Після 20-денного бігу активність сумарної ЛДГ в клітинах фіброзного кільця знижувалась у тварин всіх вікових періодів при максимальному зниженні її у молодих щурів. Після 90-денного бігу активність сумарної ЛДГ була більш стійкою. Значне зниження її активності виявлено тільки у старих щурів. Щодо ізоферментів ЛДГ, то зміна їх активності мала різноспрямований характер. Характерною реакцією на динамічні навантаження була зміна в клітинах співвідношення активності "аеробних" і "анаеробних" ізоферментів ЛДГ, що залежали від віку тварин і тривалості бігу.

У нормі в міжхребцевому диску найбільш висока активність ЛДГ-2, далі – ЛДГ-1, тобто аеробних ізоформ ЛДГ. Найменша активність – ЛДГ-4 ізоформ ЛДГ. При цьому з віком активність усіх ізоформ ЛДГ знижувалась.

Тривалі фізичні навантаження обумовлювали зниження активності саме аеробних ізоформ – ЛДГ-1 і ЛДГ-2 і особливо, більш ніж вдвічі, у молодих тварин після 20-денного бігу.

90-денний біг теж сприяв зниженню активності аеробних ізоформ і особливо ЛДГ-2 у молодих тварин. Щодо анаеробних ізоформ ЛДГ, то активність їх підвищувалась у щурів досліджених вікових груп, й особливо після 90-денного бігу.

Відомо, що при зниженні активності ЛДГ розвивається метаболічний ацидоз, що сприяє порушенню структури тканин [6]. Пошкодження тканин міжхребцевого диска є передумовою пошкодження рухового хребтового сегмента у цілому. Тому отримані показники активності ЛДГ і, особисто, її ізоферментів можуть служити гістохімічним тестом для об'єктивної оцінки ступеня пошкоджуючої дії тривалого бігу на волокнистий хрящ в різні вікові періоди.

Перспективи подальших досліджень. Подальші дослідження можуть бути спрямовані на з'ясування зміни активності ферментів окислювально-відновного циклу в умовах динамічних навантажень для підвищення надійності діагностики стану міжхребцевого диска в умовах фізичних навантажень.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють, що немає конфлікту інтересів, який може сприйматись таким, що може завдати шкоди неупередженості статті.

Джерела фінансування. Ця стаття не отримала фінансової підтримки від державної, громадської або комерційної організації.

Список посилань

1. Автандилов, Г. Г., Казанцева, И. Д., Круглова, И. С. (1978), Инструкция по унификации гистологических и гистохимических методов исследования биопсийного и секционного материала. Москва: Медицина, 51 с.
2. Губський, Ю. І. (2000), Біологічна хімія: підручник. Київ-Тернопіль: Укрмедкнига, 508 с.
3. Епифанов, В. А., Епифанов, А. В. (2004), Остеохондроз позвоночника (диагностика, лечение, профилактика). Москва, 272 с.
4. Ковешников, В. Г., Сак, А. Е. (2006), "Ультраструктурные изменения клеток межпозвонкового диска при динамической физической нагрузке" Украинский медицинский альманах. Т.9, №3, с. 67-70.
5. Махинько, В. И., Никитин, В. Н. (1977), Константа роста и функциональные периоды развития в постнатальной жизни белых крыс. Эволюция темпов индивидуального развития животных. Москва: Наука, С. 85-99.
6. Марри, Р, Греннер, Д, Мейес, П., Родуелл, В. (1993), Биохимия человека. Т.1., Москва: Мир, С. 381.
7. Платонов, В. Н. (1997), Общая теория подготовки спортсменов в олимпийском спорте. Киев: Олимпийская литература, С. 220-290.

8. Попелянский, Я. Ю. (1997), Ортопедическая неврология (вертеброневрология). Руководство для врачей в двух томах. Т II. Этиология, патогенез, диагностика, лечение. Казань, 488 с.
9. Фомин, Н. А., Горохов, Н. М., Тимощенко, Л. В. (2006). "Особенности активности ферментов сыворотки крови у спортсменов и нетренированных лиц", Теория и практика физической культуры, №1, С. 9-11.
10. Райдер, К., Тейлор, К. (1983), Изоферменты: пер. с англ. Москва: Мир, 106 с.
11. Уилмор, Д. Х., Девид, Л. К. (2000), Физиология спорта и двигательная активность. Пер. с англ. Киев: Олимпийская литература, 504 с.
12. Цыганенко, А. Я., Жуков, В. И., Леонов, В. В., Мясоедов, В. В., Завгородний, И. В. (2005), Клиническая биохимия, 456 с.
13. Чертенкова, Е. В. (2006), "Механосенситивность хряща", Ортопедия, травматология и протезирование. №3, С.124-129.
14. Brown, S. M., Christenson, R. H., Dietzen, D. J., El-Khoury J. M., Oladipo, O., Platteborze, P., Reineks, E., Schmidt, A. E., Wang, S., Wu A. H., (2014), Diagnostic Enzymology: Walter de Gruyter.
15. Chaudhary A., Chauhan V. (2015), "Lactate Dehydrogenase as an indicator of Liver Diseases", J Adv Med Dent Scie Res, 3(5), pp. 20-22.
16. European convention for the protection of vertebral animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe. Strasbourg. 18.03.1986.
17. Justin A. Iorio, Andre M. Jakoi, Anuj Singl (2016), "Biomechanics of Degenerative Spinal Disorders", Asian Spine Journal. April 2016, 10(2), pp. 377-384.
18. Vieira, L. A., Dos Santos A. A., Peluso, C., Barbosa, C. P., Bianco, B., Rodrigues, LMR. (2018), "Influence of lifestyle characteristics and VDR polymorphisms as risk factors for intervertebral disc degeneration: a case-control study", European Journal of Medical Research. Feb 21, 23(1).

19. Wei D, Wei L, Li X, Wang Y, Wei L. (2016), "Effect of Hypoxia on Ldh-c Expression in Somatic Cells of Plateau Pika", Int J Environ Res Public Health. Aug 1;13(8), 773.

Стаття надійшла до редакції: 16.04.2020.

Опубліковано: 04.05.2020.

Аннотация. Андрей Сак, Раиса Антипова. Влияние различных по продолжительности динамических нагрузок на изменение активности изоформ лактатдегидрогеназы в клетках межпозвонкового диска. Цель: определить влияние длительных динамических нагрузок на изменения активности изоферментов лактатдегидрогеназы (ЛДГ) в клетках межпозвоночных дисков в возрастном аспекте. **Материал и методы:** исследование выполнено на самцах крыс линии Вистар трех возрастных групп: 1, 3 и 12-месяцев. Всего в опытах наблюдались 90 животных опытной серии и 90 животных контрольной серии. Динамические нагрузки создавались бегом в горизонтальном тредбане. С использованием гистохимических методов проведен анализ изменений активности изоферментов лактатдегидрогеназы в клетках межпозвоночных дисков крыс линии Вистар в условиях 20- и 90-дневного экспериментального бега. **Результаты:** экспериментально установлено, что изменения активности изоферментов лактатдегидрогеназы зависят от возраста животного и длительности динамических нагрузок. Отмечено снижение в клетках межпозвонкового диска активности ЛДГ-1 и ЛДГ-2 изоферментов, но повышение активности ЛДГ-3 и ЛДГ-4 изоферментов. **Выводы:** выявленные возрастные особенности изменения активности ферментов предлагается использовать как гистохимический тест для объективной оценки степени повреждающего действия длительного бега на волокнистый хрящ межпозвонкового диска.

Ключевые слова: лактатдегидрогеназа, межпозвонковый диск, тредбан, экспериментальный бег.

Abstract: Andrii Sak & Raisa Antipova. Influence of dynamic loads different in duration on changes in the activity of lactate dehydrogenase isoenzymes in intervertebral disc cells. Purpose: to determine the effect of prolonged dynamic loads on changes in the activity of lactate dehydrogenase isoenzymes (LDH) in the cells of intervertebral discs in an age-related aspect. **Material & methods:** the study was performed on male Wistar rats of three age groups: 1, 3, and 12 months. In total, 90 animals of the experimental series and 90 animals of the control series were observed in the experiments. Dynamic loads were created by running in a horizontal treadmill. Using histochemical methods, the analysis of changes in the activity of lactate dehydrogenase isoenzymes in the cells of the intervertebral discs of Wistar rats was carried out under conditions of a 20- and 90-day experimental run. **Results:** It was experimentally established that changes in the activity of lactate dehydrogenase isoenzymes depend on the age of the animal and the duration of dynamic loads. There was marked the decreasing of the activity of LDH-1 and LDH-2 isoenzymes in the cells of the intervertebral disc, but an increasing of the activity of LDH-3 and LDH-4 isoenzymes. **Conclusions:** the revealed age-related features of changes in enzyme activity are proposed to be used as a histochemical test for an objective assessment of the degree of the damaging effect of prolonged running on the fibrous cartilage of the intervertebral disc.

Key words: lactate dehydrogenase, intervertebral disk, treadmill, experimental running.

References

1. Avtandilov, G. G., Kazantseva, I. D., Kruglova, I. S. (1978), *Instruktsiya po unifikatsii gistologicheskikh i gistokhimicheskikh metodov issledovaniya biopsiynogo i sektionnogo materiala* [Instructions for the unification of histological and histochemical methods for the study of biopsy and sectional material] M. Meditsina, 51 p. (in Russ.)
2. Gubskiy, YU. Í. (2000), *Bíologíchna khímíya* [Biological chemistry]: Pídruchnik. Kiïv-Ternopíl: Ukrmedkniga, 508 p. (in Ukr.)

3. Yepifanov, V. A., Yepifanov, A. V. (2004), Osteokhondroz pozvonochnika (diagnostika, lecheniye, profilaktika) [Osteochondrosis of the spine (diagnosis, treatment, prevention)]. M., 272 p. (in Russ.)
4. Koveshnikov, V. G., Sak, A. Ye. (2006), "Ultrastructural changes in intervertebral disc cells under dynamic physical exertion", *Ukrainskiy medichniy almanakh*, T.9, №3, pp. 67-70. (in Russ.)
5. Makhin'ko, V. I., Nikitin, V. N. (1977), Konstanta rosta i funktsionalnyye periody razvitiya v postnatalnoy zhizni belykh krys. Evolyutsiya tempov individualnogo razvitiya zhyvotnykh [Growth constant and functional developmental periods in the postnatal life of white rats. The evolution of the rate of individual development of animals] M. Nauka, pp. 85-99. (in Russ.)
6. Marri, R., Grenner, D., Meyyes, P., Roduëll, V. (1993), Biokhimiya cheloveka [Human biochemistry]. T.1. M. Mir, p. 381. (in Russ.)
7. Platonov, V. N. (1997), Obshchaya teoriya podgotovki sportsmenov v olimpiyskom sporte [General theory of training athletes in Olympic sports.]. K. Olimpiyskaya literatura, pp. 220-290. (in Russ.)
8. Popelyanskiy YA.YU. (1997), Ortopedicheskaya nevrologiya (vertebronevrologiya). Rukovodstvo dlya vrachey v dvukh tomakh. T II. Etiologiya, patogenez, diagnostika, lecheniye [Orthopedic neurology (vertebro-neurology). A guide for doctors in two volumes. T II. Etiology, pathogenesis, diagnosis, treatment]. Kazan, 488 p. (in Russ.)
9. Fomin, N. A., Gorokhov, N. M., Timoshchenko, L. V. (2006), "Features of the activity of serum enzymes in athletes and untrained individuals", *Teoriya i praktika fizicheskoy kultury*, №1. pp. 9-11. (in Russ.)
10. Rayder, K., Teylor, K. (1983), Izofermenty [Isozymes]. Per. s angl. M. Mir, 106 p.
11. Uilmor, D.KH., Devid, L.K. (2000), Fiziologiya sporta i dvigatel'naya aktivnost [Physiology of sports and physical activity]. Per. s ang. Olimpiyskaya literatura. Kiyev, 504 p. (in Russ.)

12. Tsyganenko, A. YA., Zhukov, V. Í., Leonov, V. V., Myasoyedov, V. V., Zavgorodniy, I. V. (2005), *Klinicheskaya biokhimiya [Clinical biochemistry]*. Fakt, 456 p. (in Russ.)
13. Chertenkova, E. V. (2006), "Cartilage mechanosensitivity", *Ortopediya, travmatologiya i protezirovaniye*, №3, pp.124-129. (in Russ.)
14. Brown, S. M., Christenson, R. H., Dietzen, D. J., El-Khoury J. M., Oladipo, O., Platteborze, P., Reineks, E., Schmidt, A. E., Wang, S., Wu A. H., (2014), *Diagnostic Enzymology: Walter de Gruyter*. (in Eng.)
15. Chaudhary A., Chauhan V. (2015), "Lactate Dehydrogenase as an indicator of Liver Diseases", *J Adv Med Dent Scie Res*, 3(5), pp. 20-22. (in Eng.)
16. European convention for the protection of vertebral animals used for experimental and other scientific purpose: Council of Europe. Strasbourg. 18.03.1986. (in Eng.)
17. Justin A. Iorio, Andre M. Jakoi, Anuj Singl (2016), "Biomechanics of Degenerative Spinal Disorders", *Asian Spine Journal*. April 2016, 10(2), pp. 377-384. (in Eng.)
18. Vieira, L. A., Dos Santos A. A., Peluso, C., Barbosa, C. P., Bianco, B., Rodrigues, LMR. (2018), "Influence of lifestyle characteristics and VDR polymorphisms as risk factors for intervertebral disc degeneration: a case-control study", *European Journal of Medical Research*. Feb 21, 23(1). (in Eng.)
19. Wei D, Wei L, Li X, Wang Y, Wei L. (2016), "Effect of Hypoxia on Ldh-c Expression in Somatic Cells of Plateau Pika", *Int J Environ Res Public Health*. Aug 1;13(8), 773. (in Eng.)

Received: 16.04.2020.

Published: 04.05.2020.

Відомості про авторів / Information about the authors

Андрій Сак: к.б.н., доцент; Харківська державна академія фізичної культури: вул. Клочківська 99, м. Харків, 61058, Україна.

Сак Андрей: к.б.н., доцент. Харьковская государственная академия физической культуры: ул. Клочковская 99, г. Харьков, 61058, Украина.

Andrii Sak: PhD (Biological), docent; Kharkiv State Academy of Physical Culture: Klochkivska str. 99, Kharkiv, 61058, Ukraine.

ORCID.ORG/0000-0002-8491-3434

E-mail: sak_andrei@i.ua

Раїса Антіпова: старший викладач; Харківська державна академія фізичної культури: вул. Клочківська 99, м. Харків, 61058, Україна.

Раиса Антипова: старший преподаватель; Харьковская государственная академия физической культуры: ул. Клочковская 99, г. Харьков, 61058, Украина.

Raisa Antypova: senior lecturer; Kharkiv State Academy of Physical Culture: Klochkivska str. 99, Kharkiv, 61058, Ukraine.

ORCID.ORG/0000-0002-7172-4597

E-mail: antipowaraja@i.ua