

Przydatność oznaczania niektórych markerów uszkodzenia mięśnia sercowego u koni sportowych poddanych wysiłkowi fizycznemu

✉ I HOR MAKSYM OVYCH¹, ✉ LUBOV SLIVINSKA¹, ✉ KRZYSZTOF KUBIAK²,
✉ MARCIN JANKOWSKI², ✉ MARTA LENO¹, ✉ BOGDAN CHERNUSHKIN¹, ✉ VASYL RUSYN¹,
✉ JOLANTA SPUŻAK², ✉ KAMILA GLIŃSKA-SUCHOCKA², ✉ DOMINIKA KUBIAK-NOWAK³

¹Katedra Chorób Wewnętrznych i Diagnostyki Klinicznej,
Lwowski Narodowy Uniwersytet Medycyny Weterynaryjnej i Biotechnologii im. S. Z. Grzyckiego,
ul. Piekarska 50, 79010 Lwów

²Katedra Chorób Wewnętrznych z Kliniką Koni, Psów i Kotów,
Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, pl. Grunwaldzki 47, 50-366 Wrocław

³Katedra i Klinika Chirurgii, Uniwersytet Przyrodniczy we Wrocławiu, pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław

Otrzymano 22.11.2022

Zaakceptowano 26.01.2023

Maksymovych I., Slivinska L., Kubiak K., Jankowski M., Leno M., Chernushkin B.,
Rusyn V., Spużak J., Glińska-Suchocka K., Kubiak-Nowak D.

Usefulness of determining some markers of myocardial damage in sports horses subjected to physical exertion

Summary

The aim of the study was to evaluate the usefulness of determining markers of myocardial damage, such as: aspartate aminotransferase, total creatine kinase, cardiac creatine kinase isoenzyme, total lactate dehydrogenase, cardiac lactate dehydrogenase isoenzyme and peripheral blood lactic acid in sport horses subjected to physical exertion. The research was carried out on 50 horses of three breeds: Ukrainian Riding, Hanoverian and Westphalian, aged 4-16 years. In all horses, the activity of: aspartate aminotransferase, total creatine kinase, cardiac creatine kinase isoenzyme, total lactate dehydrogenase, cardiac isoenzyme lactate dehydrogenase and lactic acid concentration were marked before and after exercise. It was found that after physical exercise in the tested horses, there was an increase in markers of myocardial damage. On the basis of the conducted research, it was demonstrated that the highest increase concerned the concentration of lactic acid and the activity of the cardiac isoenzyme of creatine kinase. The conducted studies additionally indicate that the evaluation markers of myocardial damage in horses may be useful as a screening test in detecting cardiac muscle disorders associated with excessive exercise. However, it should be emphasized that it must be considered together with the results of a clinical examination and additional tests such as cardiac ultrasound and electrocardiography.

Keywords: horse, cardiac markers, physical exertion

Uszkodzeniom mięśnia sercowego towarzyszy pojawianie się w krwi obwodowej substancji uwalnianych z uszkodzonych kardiomiocytów, które nazywane są biochemicznymi markerami uszkodzenia mięśnia sercowego. Należą do nich między innymi: kinaza kreatynowa (CK), sercowy izoenzym kinazy kreatynowej (CK-MB), dehydrogenaza mleczanowa (LDH), sercowy izoenzym dehydrogenazy mleczanowej (HBDH), mioglobiny oraz troponiny kardiospecyficzne T i I (TrT, TrI) (20, 42).

Obecnie w praktyce klinicznej ocenę stopnia uszkodzenia mięśnia sercowego dokonuje się na podstawie oznaczenia wielu markerów. Zaznaczyć jednak należy, że markery te powinny charakteryzować się

wysoką czułością i specyficznością, być proste do oznaczenia oraz ich cena powinna być akceptowalna (7, 37). W medycynie człowieka stosuje się algorytm przewidywania uszkodzenia mięśnia sercowego, który obejmuje kompleksową ocenę: informacji uzyskanych z wywiadu, wyniku badania klinicznego, wyników badania ultrasonograficznego i elektrokardiograficznego serca oraz wyników badań laboratoryjnych krwi, w tym aktywności CK-MB oraz HBDH (38).

Podczas nadmiernego wysiłku fizycznego może dojść do uszkodzenia mięśnia sercowego, co najprawdopodobniej związane jest z deficytem energii. Uszkodzenie mięśnia sercowego wiąże się z hipoksyjnym działaniem nadmiaru katecholamin, które powodują silne zwężenie

nie naczyń krwionośnych. Konsekwencją tego jest zmniejszenie dopływu krwi do mięśnia sercowego, a tym samym dostarczanie zbyt małej ilości tlenu do kardiomiocytów (9). Taka sytuacja powoduje zmiany w metabolizmie kardiomiocytów. Ograniczona ilość tlenu jest zużytkowana na utlenianie glukozy i wolnych kwasów tłuszczowych. W przypadku niedotlenienia mięśnia sercowego glukoza rozkładana jest głównie na drodze glikolizy beztlenowej, a powstały pirogronian ulega dekarboksylacji oksydacyjnej i przemienia się w kwas mlekowy, który obniża pH w komórkach mięśnia sercowego (3, 6, 8).

Jednym z testów biochemicznych do oceny wydolności mięśnia sercowego u koni sportowych jest określenie stężenia kwasu mlekowego we krwi obwodowej (25). U zdrowych zwierząt stężenie tego parametru nie powinno przekraczać 4 mmol/l. Podwyższone stężenie kwasu mlekowego w mięśniach, w tym w kardiomiocytach, podczas długotrwałego wysiłku fizycznego u koni, zwłaszcza z zaburzeniami wydolności serca, może prowadzić do uszkodzenia mięśnia sercowego (18).

Obecnie w medycynie weterynaryjnej istnieje tylko kilka prac badawczych dotyczących patogenyzy oraz klinicznych i biochemicznych zmian występujących w mięśniu sercowym związanych z wysiłkiem sportowym u koni. Zatem badania dotyczące skuteczności testów pozwalających na wczesne wykrywanie zmian patologicznych serca u koni sportowych są w pełni uzasadnione (7, 28, 36).

Celem pracy była ocena przydatności oznaczania markerów uszkodzenia mięśnia sercowego, takich jak: aminotransferaza asparaginianowa (AST), całkowita kinaza kreatynowa (CK), sercowy izoenzym kinazy kreatynowej (CK-MB), całkowita dehydrogenaza mleczanowa (LDH), sercowy izoenzym dehydrogenazy mleczanowej (HBDH) oraz kwas mlekowy (LA) we krwi obwodowej u koni sportowych poddanych wysiłkowi fizycznemu.

Materiał i metody

Badania przeprowadzono u 50 koni trzech ras wykorzystywanych w sporcie jeździeckim: rasy ukraińskiej wierzchowej ($n = 20$), rasy hanowerskiej ($n = 15$) oraz rasy westfalskiej ($n = 15$). Badane konie były w wieku 4-16 lat (śr. $8,4 \pm 0,71$ lat). Średni wiek koni dla rasy ukraińskiej wierzchowej wynosił $10,7 \pm 3,5$ lat, dla rasy hanowerskiej – $8,1 \pm 3,2$ lat, a dla rasy westfalskiej – $9,4 \pm 3,6$ lat. Masa ciała badanych koni wynosiła średnio $479,4 \pm 8,54$ kg (zakres od 350 do 605 kg). Wszystkie zwierzęta utrzymywane były w jednakowych warunkach zoohigienicznych oraz były jednakowo żywione.

Konie z grupy badanej poddawano regularnemu treningowi sportowemu o średniej intensywności, którego czas trwania wynosił 1 godzinę dziennie i obejmował: jazdę stępem (5 min), jazdę kłusem (10 min), jazdę stępem (5 min); jazdę kłusem (10 min), jazdę stępem (10 min), jazdę galopem (10 min) oraz jazdę stępem (10 min).

Wszystkie konie były zdrowe, co oceniono na podstawie: badania klinicznego, badań laboratoryjnych krwi, badania ultrasonograficznego serca oraz badania elektrokardiograficznego serca. Od każdego konia bezpośrednio przed treningiem, jak i po jego zakończeniu każdorazowo pobrano krew w celu oznaczenia aktywności enzymów uszkodzenia mięśnia sercowego oraz stężenia kwasu mlekowego. Próbkę krwi koni pobierano z żyły szyjnej zewnętrznej do probówek bez antykoagulantu (10 ml; Vacutest, Włochy) i z antykoagulantem (EDTA; 2,0 ml; Sarstedt, Niemcy).

W celu uzyskania surowicy krew wirowano przy 3000 obr./min przez 10 minut. Następnie w surowicy krwi, przy pomocy automatycznego analizatora biochemicznego Mindray BS-120 (Mindray, Chiny), przy użyciu odczynników PZ Cormay SA, oznaczano: aktywność aminotransferazy asparaginianowej (AST) (ACCENT-200 ASAT, Polska), aktywność całkowitej kinazy kreatynowej (CK) (ACCENT-200 CK, Polska), aktywność sercowego izoenzymu kinazy kreatynowej (CK-MB) (ACCENT-200 CK-MB, Polska), aktywność całkowitej dehydrogenazy mleczanowej (LDH) (Liquick Cor – LDH, Polska) oraz aktywność sercowego izoenzymu dehydrogenazy mleczanowej – dehydrogenazy hydroksymaślanowej (HBDH) (Liquick Cor – HBDH, Polska). Natomiast stężenie kwasu mlekowego oznaczono metodą nieenzymatyczną we krwi pełnej w reakcji z hydrochinonem (17). Do mierzenia absorbancji wykorzystano fotometr Solar PM 2111 (CJSC Spectroscopy, Optics and Lasers – Modern Developments, Białoruś).

Do oceny istotności statystycznej oznaczanych parametrów w grupie koni przed i po wysiłku zastosowano test t-Studenta dla prób zależnych. Analizy prowadzono na poziomie istotności 5% przy użyciu pakietu statistica (data analysis software system), version 13 firmy TIBCO Software Inc. (2017).

Wyniki i omówienie

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano, istotny statystycznie wzrost średniego stężenia kwasu mlekowego w krwi obwodowej u koni po wysiłku fizycznym związanym z treningiem (śr. $5,17 \pm 1,43$ mmol/l) w porównaniu do średniego stężenia LA w krwi obwodowej u badanych koni przed wysiłkiem (śr. $4,04 \pm 1,15$ mmol/l) ($p < 0,001$) (ryc. 6). Podwyższone średnie stężenie kwasu mlekowego u koni przed wysiłkiem fizycznym było dużym zaskoczeniem dla autorów pracy. Wzrost LA przed wysiłkiem fizycznym ≥ 4 mmol/l stwierdzono u 44% badanych koni. Przyczyną tej sytuacji najprawdopodobniej było zsumowanie się kilku czynników, które mają wpływ na wysokość stężenia kwasu mlekowego w krwi obwodowej. Tymi czynnikami mogły być: stres związany z pobieraniem krwi (powoduje on: wyrzut katecholamin, które nasilają proces glikolizy oraz podwyższenie poziomu metabolizmu); poskramianie zwierzęcia do pobrania krwi oraz przedłużające się uciskanie naczyń, z którego pobierana jest krew; niepokój ruchowy zwierzęcia związany z jego badaniem, wydłużony czas pomiędzy pobraniem krwi, a oznaczeniem stężenia LA (należy pamiętać, że eryocyty ze względu na przebiegający w nich proces glikolizy beztlenowej po pobraniu prób-

ki krwi nadal produkują kwas mlekowy, a schłodzenie takiej próbki może jedynie spowolnić ten proces, ale go nie zatrzyma); okresowa hipoperfuzja narządów związana np. ze skurczem naczyń krwionośnych (powoduje zmniejszenie zdolności do usuwania kwasu mlekowego przez wątrobę oraz nasilenie jego produkcji) oraz złe wykorzystanie glukozy do wytwarzania energii (spowodowane niewystarczającym poziomem transporterów glukozy w mięśniach) (1, 30). Średnia aktywność tego parametru po wysiłku fizycznym związanym z treningiem była o 31,6% wyższa od jego średniej aktywności przed wysiłkiem. Powyższe obserwacje potwierdzają wyniki badań innych autorów, którzy stwierdzili istotny statystycznie wzrost stężenia kwasu mlekowego u koni po wysiłku fizycznym (6, 10, 22, 25, 27-29, 43, 45). Jedynie w badaniach przeprowadzonych przez Di Filippo i wsp. (11) u koni nie stwierdzono różnicy istotnie statystycznej pomiędzy stężeniem kwasu mlekowego przed i po wysiłku fizycznym. Średnie stężenie kwasu mlekowego w tych badaniach było wyższe jedynie o 1,3-8,5% od średniego stężenia tego parametru przed wysiłkiem fizycznym. Taka różnica wyniknęła z faktu, że Di Filippo i wsp. (11) pobierali krew od koni dopiero 2 godz. po wysiłku fizycznym. W przeprowadzonych badaniach średnie stężenie kwasu mlekowego w krwi obwodowej u koni po wysiłku wzrosło u rasy ukraińskiej wierzchowej o 31,0%, u rasy hanowerskiej o 26,6% i u rasy westfalskiej o 23,6% (tab. 1). W związku z tym, że stężenie kwasu mlekowego związane jest z prędkością biegu konia podczas wysiłku fizycznego, jego oznaczenie może być markerem oceny przemian metabolicznych w organizmie tego gatunku zwierząt, a tym samym do oceny jego wydolności sportowej (16, 22, 25, 45). Należy jednak zaznaczyć, że u wytrenowanych koni, fizjologicznie, zawartość kwasu mlekowego jest znacznie niższa w porównaniu do zwierząt niewytrenowanych (22). Dodatkowo u koni stężenie kwasu mlekowego we krwi uzależnione jest od intensywności i czasu trwania wysiłku fizycznego (6, 10, 27, 28, 43). Podczas nadmiernego wysiłku fizycznego na skutek glikolizy beztlenowej w komórkach mięśniowych (w tym w kardiomiocytach) gromadzi się kwas mlekowy, co powoduje spadek pH. Konsekwencją tego jest zmniejszenie syntezy ATP, który jest niezbędny do zachowania integralności błony komórkowej komórek mięśniowych. Zaburzenia tej integralności powodują zatem wzrost ich przepuszczalności (6, 12, 16, 27, 29, 35). Podejrzewa się, że hiperlaktatemia, która występuje u koni podczas wysiłku fizycznego, może odgrywać kluczową rolę w patogenezie uszkodzenia mięśnia sercowego u tych zwierząt. Dodatkowo wyka-

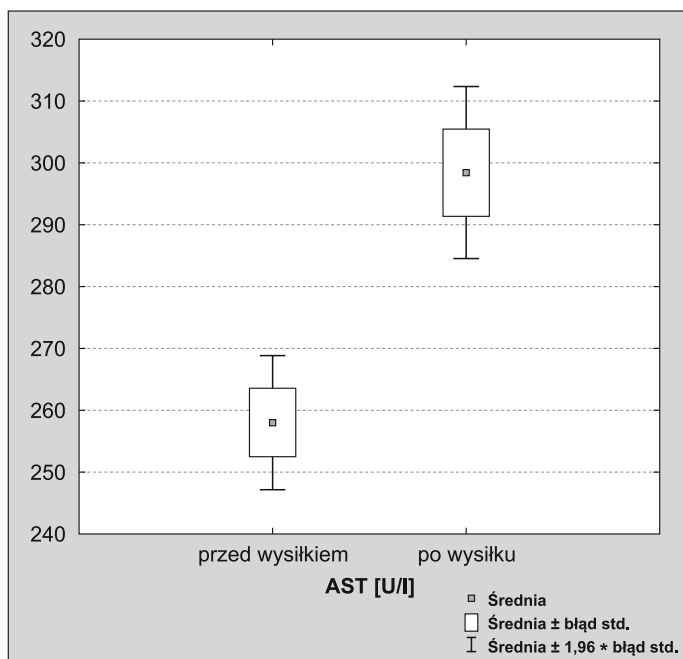
Tab. 1. Średnia arytmetyczna oraz odchylenie standardowe dla AST, CK, CK-MB, LDH, HBDH i LA u ras: ukraińskiej wierzchowej, hanowerskiej oraz westfalskiej przed i po wysiłku fizycznym

Parametr		Rasa		
		ukraińska wierzchowa	hanowerska	westfalska
AST (U/l)	przed wysiłkiem	257,20 ± 45,28	257,20 ± 26,69	257,67 ± 43,41
	po wysiłku	299,98 ± 71,74	292,67 ± 32,02	302,00 ± 27,66
CK (U/l)	przed wysiłkiem	160,70 ± 58,68	189,50 ± 46,75	167,80 ± 37,49
	po wysiłku	190,90 ± 84,81	222,35 ± 39,84	197,00 ± 51,27
CK-MB (U/l)	przed wysiłkiem	208,10 ± 43,45	246,53 ± 58,85	203,07 ± 30,84
	po wysiłku	262,54 ± 95,35	300,72 ± 72,27	293,08 ± 75,90
LDH (U/l)	przed wysiłkiem	502,68 ± 74,02	551,27 ± 72,94	433,19 ± 75,48
	po wysiłku	555,12 ± 136,49	614,73 ± 91,01	544,87 ± 133,00
HBDH (U/l)	przed wysiłkiem	224,96 ± 44,09	244,40 ± 38,58	205,77 ± 56,77
	po wysiłku	253,35 ± 78,81	266,20 ± 46,17	251,60 ± 61,58
LA (mmol/l)	przed wysiłkiem	4,93 ± 1,17	3,42 ± 0,78	3,47 ± 0,53
	po wysiłku	6,46 ± 0,86	4,33 ± 1,13	4,29 ± 0,95

zano, że kinaza kreatynowa i kwas mlekowy są ze sobą dodatnio powiązane, ponieważ kwas mlekowy zwiększa przepuszczalność błon komórkowych miocytów, w tym również kardiomiocytów (15).

W przeprowadzonych badaniach stwierdzono także, że średnia aktywność aminotransferazy asparaginianowej w krwi obwodowej u badanych koni sportowych była istotnie statystycznie wyższa po wysiłku związanym z treningiem (śr. – 298,39 ± 50,22 U/l) w porównaniu ze średnią aktywnością AST w krwi obwodowej u koni przed wysiłkiem (śr. – 257,94 ± 39,22 U/l) ($p < 0,001$) (ryc. 1). Średnia aktywności aminotransferazy asparaginianowej po wysiłku była o 17,0% wyższa od średniej aktywności tego enzymu przed wysiłkiem, jednak nie przekroczyła zakresu referencyjnego dla tego parametru u koni (zakres referencyjny: 222-489 U/l*). Powyższe obserwacje potwierdzają wyniki badań innych autorów, którzy również stwierdzili istotny statystycznie wzrost aktywności aminotransferazy asparaginianowej u koni po wysiłku fizycznym, który był wyższy od aktywności AST przed wysiłkiem o 18,0% – 45,3% (2, 8, 15, 23, 27, 31, 41). Natomiast badania przeprowadzone przez Kendzierski i wsp. (22), Octura i wsp. (33) oraz Sribhen i wsp. (38) wykazały u koni po wysiłku fizycznym wzrost aktywności aminotransferazy asparaginianowej, ale nie był on istotny statystycznie. Taka różnica może wynikać z krótszego czasu i mniejszej intensywności ćwiczeń, a tym samym mniejszego wysiłku fizycznego koni oraz z ich wytrenowania (44). Ponadto w przeprowadzonych badaniach stwierdzono, że po wysiłku fizycznym związanym z treningiem średnia aktywność aminotransferazy asparaginianowej w krwi obwodowej wzrosła: u koni rasy ukraińskiej wierzchowej o 16,6%, u koni rasy hanowerskiej o 13,7% oraz u koni rasy westfalskiej o 17,2% (tab. 1). Wzrost aktywności AST po wysiłku fizycznym związany jest ze stresem oksy-

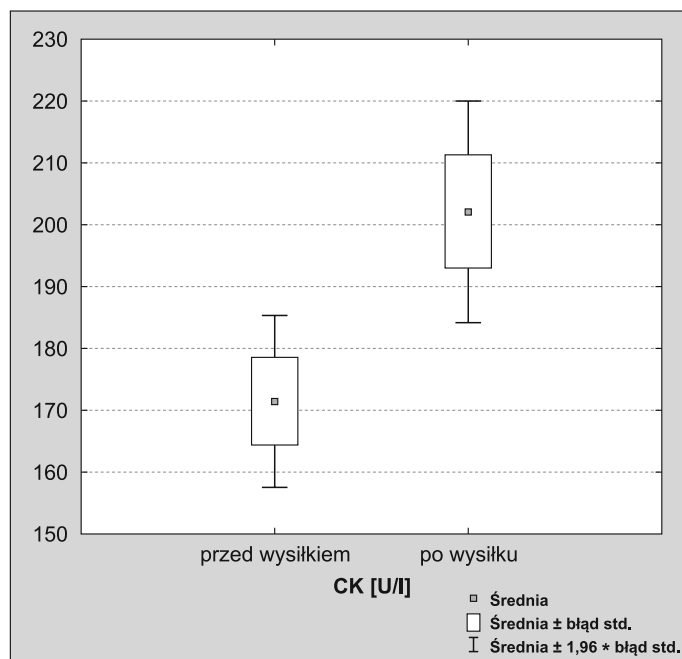
*Wartości referencyjne zgodne z: Animal Health Diagnostic Center Cornell University College of Veterinary Medicine (www.vet.cornell.edu/animal-health-diagnostic-center/laboratories/clinical-pathology/reference-intervals/chemistry).



Ryc. 1. Średnia aktywność aminotransferazy asparaginoanowej (AST) w krwi obwodowej u badanych koni przed i po wysiłku

dacyjnym, podczas którego powstające wolne rodniki powodują zwiększoną przepuszczalność błon komórkowych komórek mięśniowych. Należy zaznaczyć, że stres oksydacyjny trwający przez dłuższy czas może doprowadzić do uszkodzenia komórek mięśniowych. Odzwierciedleniem tego jest obserwowany wysoki wzrost aktywności AST w surowicy krwi (8, 12, 22, 27, 31, 33, 34, 37, 41, 44). W opinii Harris i wsp. (15), Klobučar i wsp. (23) oraz Octura i wsp. (33) nieznaczny wzrost aktywności aminotransferazy asparaginianowej w krwi obwodowej jest mało specyficzny dla zaburzeń mięśniowych i może występować u zdrowych koni, a dopiero znaczny wzrost jej aktywności może wskazywać zarówno na uszkodzenie mięśni szkieletowych, jak i mięśnia sercowego.

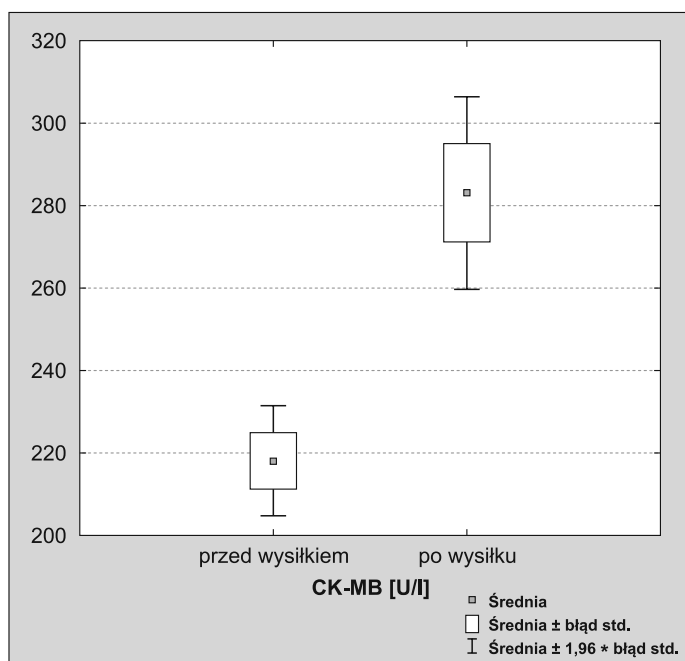
W przeprowadzonych badaniach wykazano ponadto istotny statystycznie wzrost średniej aktywności całkowitej kinazy kreatynowej w krwi obwodowej u badanych koni sportowych po wysiłku związanym z treningiem (śr. – $202,15 \pm 64,64$ U/l) w porównaniu do średniej aktywności całkowitej CK w krwi obwodowej u koni przed wysiłkiem (śr. – $171,48 \pm 50,13$ U/l) ($p = 0,007$) (ryc. 2). Pomimo istotnego statystycznie wzrostu aktywności kinazy kreatynowej po wysiłku jej wartość nie przekroczyła zakresu referencyjnego (zakres referencyjny: 117-567 U/l*), ale była o 17,8% wyższa od średniej aktywności CK przed wysiłkiem. Wzrost aktywności kinazy kreatynowej po wysiłku fizycznym potwierdzają badania innych autorów, którzy wykazali, że wartość CK po wysiłku była wyższa o 29,3-343,9% w porównaniu z wartością tego enzymu przed wysiłkiem (2, 8, 12, 15, 23, 28, 33, 38, 39, 41, 43-45). Natomiast badania Kędzierskiego i wsp. (22) oraz Muñoz i wsp. (27) podobnie jak w przypadku aminotransferazy asparaginianowej wykazały wzrost aktywności kinazy kreatynowej po wysiłku, ale nie był



Ryc. 2. Średnia aktywność całkowitej kinazy kreatynowej (CK) w krwi obwodowej u badanych koni przed i po wysiłku

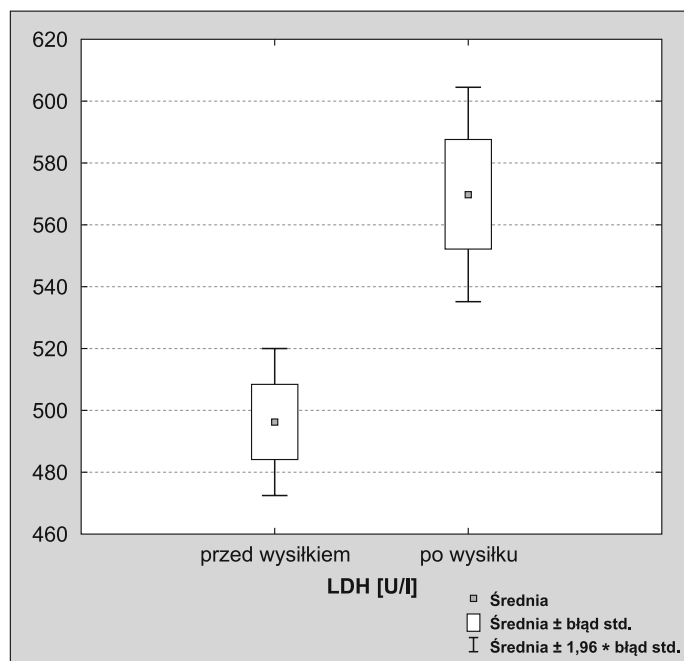
on istotny statystycznie. Przyczyną różnicy pomiędzy wynikami uzyskanymi przez autorów pracy, a wynikami badań uzyskanymi przez Kędzierskiego i wsp. (22) oraz Muñoz i wsp. (27) najprawdopodobniej był różny schemat ćwiczeń treningowych koni. W przeprowadzonych badaniach średnia aktywność całkowitej kinazy kreatynowej w surowicy krwi po wysiłku fizycznym wzrosła u koni: rasy ukraińskiej wierzchowej, rasy hanowerskiej i rasy westfalskiej o 18,7%, 17,3% i 17,4%, odpowiednio (tab. 1). Kinaza kreatynowa jest enzymem występującym w wysokich stężeniach w energochłonnych tkankach, takich jak: mięsień sercowy i mięśnie szkieletowe. Składa się ona z 3 izoenzymów: mięśniowego (CK-MM), sercowego (CK-MB) i mózgowego (CK-BB) (5, 26, 27, 33, 39, 40). Przyczyną wysokiego wzrostu aktywności kinazy kreatynowej w krwi obwodowej może być uszkodzenie mięśni, w tym mięśnia sercowego (2, 12, 19). Mechanizm tego zjawiska jest podobny do wzrostu aktywności AST i wynika z przedłużającego się stresu oksydacyjnego (8, 12, 33, 39, 41, 45). Należy jednak podkreślić, że po uszkodzeniu komórek mięśniowych CK jest szybko uwalniana do krwi obwodowej, gdzie jej szczyt aktywności następuje po 4-12 godzinach, jak i szybko z niej usuwana (okres półtrwania – ok. 2 godz.). W przeciwieństwie do kinazy kreatynowej AST i LDH osiągają szczytowe stężenie dopiero po 24 godzinach, a okres półtrwania jest znacznie dłuższy i wynosi 7 dni (27, 33, 39, 41). Dodatkowo badania Klobučar i wsp. (23) wykazały, że nieznaczny do umiarkowanego wzrost aktywności kinazy kreatynowej po wysiłku fizycznym występuje u koni zdrowych, a dopiero znaczny wzrost aktywności CK po wysiłku może wskazywać na uszkodzenie mięśni szkieletowych i/lub mięśnia sercowego.

Na podstawie przeprowadzonych badań stwierdzono istotny statystycznie wzrost średniej aktywności sercowego izoenzymu kinazy kreatynowej (CK-MB) w krwi



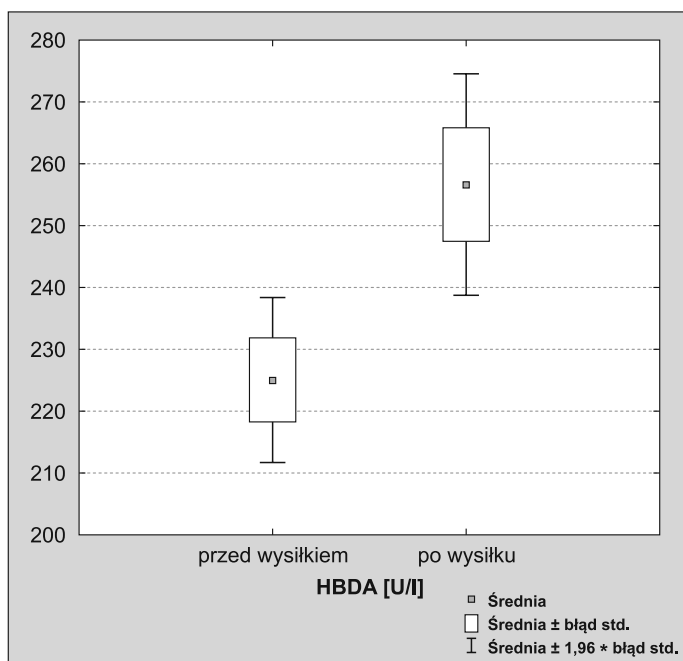
Ryc. 3. Średnia aktywność izoenzymu sercowego kinazy kreatynowej (CK-MB) w krwi obwodowej u badanych koni przed i po wysiłku

obwodowej u koni po wysiłku fizycznym związanym z treningiem ($\bar{x}$ 283,16 $\pm$ 84,19 U/l) w porównaniu do średniej aktywności CK-MB w krwi obwodowej u koni przed wysiłkiem ($\bar{x}$ 218,10 $\pm$ 48,49 U/l) ($p < 0,001$) (ryc. 3). Średnia aktywności CK-MB po wysiłku była o 29,8% wyższa od średniej aktywności tego enzymu przed wysiłkiem. Powyższe obserwacje potwierdzają badania przeprowadzone u koni przez Di Filippo i wsp. (11) oraz u ludzi biegaczy maratonu przez Kratz i wsp. (24). Natomiast Michima i wsp. (26) oraz Octura i wsp. (33) u koni po wysiłku fizycznym stwierdzili wzrost aktywności CK-MB w krwi obwodowej, ale nie był on istotny statystycznie. Przyczyną takiej różnicy może być czas pobrania krwi po wysiłku fizycznym koni, co może być związane z okresem półtrwania oraz okresem eliminacji tego enzymu z krwi obwodowej. Średnia aktywność sercowego izoenzymu kinazy kreatynowej u koni po wysiłku wzrosła o 26,1% u rasy ukraińskiej wierzchowej, 21,9% u rasy hanowerskiej i 44,3% u rasy westfalskiej (tab. 1). Dodatkowo należy podkreślić, że wzrost aktywności CK i AST we krwi koni trzech badanych ras był niższy w porównaniu do wzrostu aktywności CK-MB. Sercowy izoenzym kinazy kreatynowej oprócz serca występuje w mięśniach szkieletowych, a jego zawartość w mięśniu sercowym koni jest stosunkowo niska, gdyż określa się ją na 1,5-40% całkowitej CK (4, 5, 11, 13, 24, 36). Wzrost aktywności sercowego izoenzymu kinazy kreatynowej w krwi obwodowej może być związany ze wzrostem przepuszczalności sarkolemy komórek mięśnia sercowego i mięśni szkieletowych. Obecnie uważa się, że przyczyną wzrostu aktywności CK-MB u koni po wysiłku fizycznym może być: przerost mięśnia sercowego u wytrenowanych zwierząt oraz uszkodzenie mięśnia sercowego i/lub uszkodzenie mięśni szkieletowych powstałe w wyniku nadmiernego wysiłku fizycznego (11, 24, 26).



Ryc. 4. Średnia aktywność całkowitej dehydrogenazy mleczanowej (LDH) w krwi obwodowej u badanych koni przed i po wysiłku

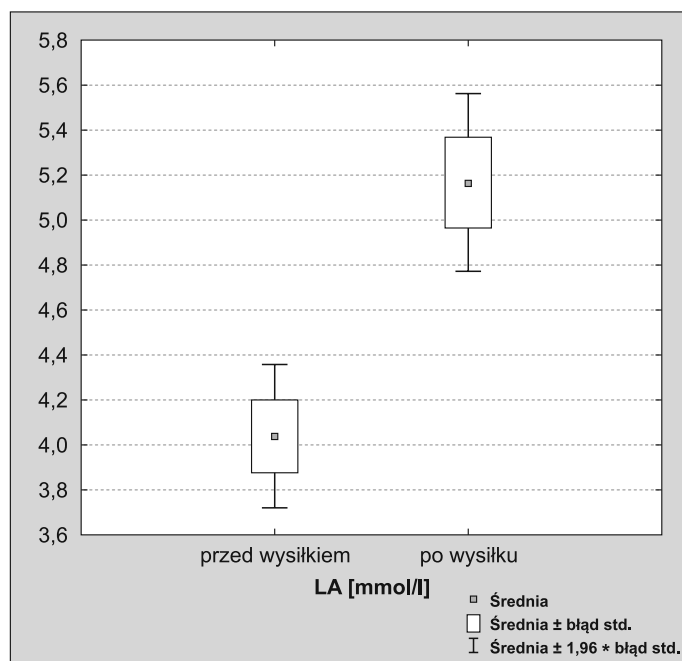
Średnia aktywność całkowitej dehydrogenazy mleczanowej w przeprowadzonych badaniach była również istotnie statystycznie wyższa w krwi obwodowej u koni po wysiłku fizycznym związanym z treningiem ($\bar{x}$ 596,93 $\pm$ 125,08 U/l), w porównaniu do średniej aktywności LDH w krwi obwodowej u koni przed wysiłkiem ($\bar{x}$ 496,41 $\pm$ 86,22 U/l) ($p = 0,001$) (ryc. 4). Pomimo istotnego statystycznego wzrostu aktywności po wysiłku wartość ta nieznacznie tylko przekroczyła zakres referencyjny dla LDH (zakres referencyjny: 218-555 U/l*) i była o 14,8% wyższa od średniej aktywności tego enzymu przed wysiłkiem. Powyższe obserwacje potwierdzają wyniki badań innych autorów, którzy stwierdzili istotny statystycznie wzrost aktywności dehydrogenazy mleczanowej u koni po wysiłku fizycznym, który był wyższy od aktywności LDH przed wysiłkiem o 23,7-89,9% (8, 23, 27, 28, 38, 41, 43-45). Kedzierski i wsp. (22) również stwierdzili wzrost aktywności dehydrogenazy mleczanowej u koni po wysiłku, ale nie był on istotny statystycznie. Natomiast w przeprowadzonych badaniach Octura i wsp. (33) stwierdzili obniżenie o 6,2% średniej aktywności LDH po wysiłku w porównaniu do średniej aktywności tego enzymu przed wysiłkiem. Takie różnice mogą wynikać z następujących czynników: wytrenowanie koni, rodzaj i intensywność wysiłku fizycznego, rasa, płeć i wiek zwierząt oraz czas pobrania krwi do badania po wysiłku fizycznym (23, 27, 45). W przeprowadzonych badaniach średnia aktywność całkowitej dehydrogenazy mleczanowej w krwi obwodowej u koni po wysiłku wzrosła u rasy ukraińskiej wierzchowej o 10,4%, rasy hanowerskiej o 11,5% i rasy westfalskiej o 25,7% (tab. 1). Wzrost aktywności dehydrogenazy mleczanowej w krwi obwodowej jest wynikiem wzrostu przepuszczalności błony komórkowej komórek mięśniowych spowodowanej nadmierną generacją wolnych rodników powstających



Ryc. 5. Średnia aktywność izoenzymu sercowego dehydrogenazy mleczanowej (HADA) w krwi obwodowej u badanych koni przed i po wysiłku

podczas wysiłku fizycznego. Należy zaznaczyć, że nieznaczny wzrost aktywności dehydrogenazy mleczanowej w krwi obwodowej u koni po wysiłku fizycznym może być fizjologiczny i związany jest z okresowym zwiększeniem przepuszczalności błon komórkowych komórek mięśniowych podczas wysiłku fizycznego. Dopiero znaczny wzrost aktywności LDH stwierdzony po wysiłku fizycznym może być związany z patologicznym uszkodzeniem mięśni szkieletowych, jak i mięśnia sercowego (8, 25, 41, 44, 45).

W przeprowadzonych badaniach wykazano również istotny statystycznie wzrost średniej aktywności sercowego izoenzymu dehydrogenazy mleczanowej (HBDH) w krwi obwodowej u koni po wysiłku fizycznym związanym z treningiem (śr. – 256,68 ± 64,82 U/l), w porównaniu do średniej aktywności HBDH w krwi obwodowej u koni przed wysiłkiem (śr. 225,04 ± 48,25 U/l) ($p = 0,005$) (ryc. 5). Średnia aktywność tego enzymu po wysiłku fizycznym związanym z treningiem była o 14,0% wyższa od jego średniej aktywności przed wysiłkiem. Średnia aktywność izoenzymu sercowego dehydrogenazy mleczanowej w krwi obwodowej u koni po wysiłku wzrosła u rasy ukraińskiej wierzchowej o 12,6%, rasy hanowerskiej o 8,9% i rasy westfalskiej o 22,2% (tab. 1). Należy jednak zaznaczyć, że wzrost ten był mniej wyraźny w porównaniu z CK-MB. Powyższe obserwacje potwierdzają badania przeprowadzone przez Jović i wsp. (21) u koni biegających na krótkim i długim dystansie, gdzie wykazali oni istotny statystycznie wzrost aktywności HBDH po wysiłku fizycznym, który był o 14,6% i 28,3% wyższy w porównaniu do aktywności tego enzymu u koni przed wysiłkiem fizycznym. Przyczyną wzrostu aktywności sercowego izoenzymu dehydrogenazy mleczanowej po wysiłku fizycznym może być stres oksydacyjny, podczas którego powstające rodniki hydroksylowe mogą uszkadzać komórki mię-



Ryc. 6. Średnie stężenie kwasu mlekowego (LA) w krwi obwodowej u badanych koni przed i po wysiłku

śnia sercowego. Konsekwencją takiego uszkodzenia jest wzrost przepuszczalności błon komórkowych komórek mięśnia sercowego i przenikanie HBDH z cytoplazmy kardiomiocytów do przestrzeni zewnątrzkomórkowej (wzrost aktywności w krwi obwodowej). Natomiast Gehlen i wsp. (14) w przeprowadzonych badaniach stwierdzili istotnie statystyczną różnicę w średniej aktywności HBDH pomiędzy końmi zdrowymi i końmi z chorobami serca o różnej etiologii, jednak pomimo uzyskania takiego wyniku nie uważają oni sercowego izoenzymu dehydrogenazy mleczanowej, jako wysoce specyficznego dla chorób serca, ponieważ u wielu koni ze zmianami patologicznymi serca aktywność HBDH nie przekraczała wartości stwierdzonych u koni zdrowych. Obserwacje przeprowadzone przez Gehlen i wsp. (14) są potwierdzeniem wcześniejszych badań przeprowadzonych przez Nuytten i wsp. (32), którzy wykazali istotny statystycznie wzrost aktywności sercowego izoenzymu dehydrogenazy mleczanowej tylko u koni z ostrym uszkodzeniem mięśnia sercowego. Natomiast w chorobach zastawek serca lub w przewlekłej niewydolności serca izoenzym ten nie przekraczał wartości stwierdzanych u koni zdrowych.

Na podstawie przeprowadzonych badań wykazano wzrost wszystkich ocenianych u koni sportowych biochemicznych markerów uszkodzenia mięśnia sercowego po wysiłku fizycznym związanym z treningiem. Należy zaznaczyć, że najwyższy wzrost dotyczył stężenia kwasu mlekowego i aktywności sercowego izoenzymu kinazy kreatynowej. Przeprowadzone badania dodatkowo wskazują, że ocena markerów uszkodzenia mięśnia sercowego u koni może być przydatna jako badanie przesiewowe w wykrywaniu zaburzeń mięśnia sercowego związanych z nadmiernym wysiłkiem fizycznym. Należy jednak podkreślić, że musi ona być rozpatrywana łącznie z wynikami badania klinicznego oraz badań

dodatkowych, takich jak ultrasonografia serca i elektrokardiografia.

Piśmiennictwo

- Adamu L., Noraniza M. A., Rasedee A., Bashir A.: Effects of race distance on physical, hematological and biochemical parameters of endurance horses. *Am. J. Anim. Vet. Sci.* 2010, 5, 244-248.
- Adamu L., Noraniza M. A., Rasedee A., Bashir A.: Metabolic responses in endurance horses during racing in relation to uric acid profile, leucocytes, heart rate and plasma biochemical parameters. *Vet. Med. (Praha)* 2012, 57, 11, 591-596.
- Amosova K. M.: Metabolic therapy of myocardial damage due to ischemia: a new approach to the treatment of coronary heart disease and heart failure. *Ukrainian Journal of Cardiology* 2000, 4, 85-92.
- Anderson M. G.: The effect of exercise on the lactic dehydrogenase and kinase isoenzyme composition of horse serum. *Res. Vet. Sci.* 1976, 20, 191-193.
- Argiroudīs S. A., Kent J. E., Blackmore D. J.: Observations on the isoenzymes of creatine kinase in equine serum and tissues. *Equine Vet. J.* 1982, 14, 317-331.
- Assenza A., Bergero D., Congiu F., Tosto F., Giannetto C., Piccione G.: Evaluation of serum electrolytes and blood lactate concentration during repeated maximal exercise in horse. *J. Equine Vet. Sci.* 2014, 34, 1175-1180.
- Buergeit C. D.: Equine cardiovascular pathology: an overview. *Anim. Health Res. Rev.* 2003, 4, 109-129.
- Castejon F., Trigo P., Muñoz A., Riber C.: Uric acid responses to endurance racing and relationships with performance, plasma biochemistry and metabolic alterations. *Equine Vet. J.* 2006, 36, 70-73.
- Charnaya M. A., Dementieva E. E., Morozov Y. A., Gladysheva V. G.: Cardiospecific biomarkers in cardiology and cardiac surgery. Part I. General characteristics of biomarkers. *Cardiology and Cardiovascular Surgery* 2010, 3, 26-33.
- Davie A. J., Evans D. L.: Blood lactate responses to submaximal field exercise tests in Thoroughbred horses. *Vet. J.* 2000, 159, 252-258.
- Di Filippo P. A., Linhares J. M., Bogossian P. M., de Almeida Guerra R. V. B., Bustamante S. R. B., de Carvalho C. B., da Silveira Ferreira F., de Camargo Ferraz G.: Influence of cavalcade of different distance on the serum concentration of the cardiac biomarkers troponin I (CtnI) and creatine kinase myocardial band (CK-MB) in horses. *SOJVS* 2017, 8, 1-5.
- Fernando J. G., Claudio C. Z., Leonardo Dos R. S., Lucia P. S., Denise V. M.: Possible relationship between performance and oxidative stress in endurance horses. *J. Equine Vet. Sci.* 2009, 29, 206-212.
- Fugii Y., Ikeda S., Watanabe H.: Analysis of creatine kinase isoenzyme in racehorse serum and tissues. *Bull. Equine Res. Inst.* 1980, 17, 21-31.
- Gehlen H., Rohn K., Deegen E., Stadler P.: Analysis of laboratory values in horses with cardiac disease: Diagnostic value of different cardiac biomarkers. *Pferdeheilkunde* 2006, 22, 532-541.
- Harris P. A., Marlin D. J., Gray J.: Plasma aspartate aminotransferase and creatine kinase activities in Thoroughbred racehorses in relation to age, sex, exercise and training. *Vet. J.* 1998, 155, 295-304.
- Hauss A. A., Stablein C. K., Fisher A. L., Greene H. M., Nout-Lomas Y. S.: Validation of the lactate plus lactate meter in the horse and its use in a conditioning program. *J. Equine Vet. Sci.* 2014, 34, 1064-1068.
- Herasimov E. G., Plaksina O. M.: Non-enzymatic determination of lactate and pyruvate in one blood sample. *Laboratory diagnostics* 2000, 2, 46-47.
- Hudson M. B., Hosick P. A., McCauley G. O.: The effects of resistance exercise on humoral markers of oxidative stress. *Med. Sci. Sports Exerc.* 2008, 40, 542-548.
- Ibanez J. I., Sobrado R., Rivero M., Olite J., Idoate I., Berrozpe I., Arina E.: Use of troponin-I, CK-MB and myoglobin in the diagnosis of myocardial infarct and processes of muscular necrosis of non-cardiac origin. *An. Sist. Sanit. Navar.* 2001, 24, 15-23.
- Jaffe A. S., Ravkilde J., Roberts R., Naslund U., Apple F. S., Galvani M., Katus H.: It's time for a change to a troponin standard. *Circulation* 2000, 102, 1216-1220.
- Jović S., Stevanović J., Borozan S., Dimitrijević B., Milosavljević P.: Influence of physical activity of racehorses on lactate dehydrogenase and creatine kinase activities, and protein synthesis. *Acta Vet. Beograd* 2013, 63, 549-568.
- Kedzierski W., Bergero D., Assenza A.: Trends of hematological and biochemical values in the blood of young race horses during standardized field exercise. *Acta Vet-Beograd* 2009, 59, 457-446.
- Klobučar K., Vrbanc Z., Gotić J., Bojanić K., Bureš T., Brkljača Bottegato N.: Changes in biochemical parameters in horses during 40 km and 80 km endurance races. *Acta Vet-Beograd* 2019, 69, 73-87.
- Kratz A., Lewandowski K. B., Siegel A. J., Chun K. Y., Flood J. G., Van Cott E. M., Lee-Lewandowski E.: Effect of marathon running on hematologic and biochemical laboratory parameters, including cardiac markers. *Am. J. Clin. Pathol.* 2002, 118, 856-863.
- Lindner A.: Use of blood biochemistry for positive performance diagnosis of sport horses in practice. *Revue Méd. Vét.* 2000, 151, 611-618.
- Michima L. E. S., Mirandola R. M. S., Fernandes W. R.: Study of serum creatine kinase isoenzyme CKMB in endurance horses after prolonged physical exercise. *Braz. J. Vet. Res. Anim. Sci.* 2010, 47, 23-30.
- Muñoz A., Riber C., Santisteban R., Lucas R. G., Castejón F. M.: Effect of training duration and exercise on blood-borne substrates, plasma lactate and enzyme concentrations in Andalusian, Anglo-Arabian and Arabian breeds. *Equine Vet. J. Suppl.* 2002, 34, 245-251.
- Muñoz A., Riber C., Trigo P., Castejón F. M.: Dehydration, electrolyte imbalances and renin-angiotensin-aldosterone-vasopressin axis in successful and unsuccessful endurance horses. *Equine Vet. J.* 2010, 42, 83-90.
- Muñoz A., Santisteban R., Rubio M. D., Riber C., Agüera E. I., Castejón F. M.: Locomotor response to exercise in relations to plasma lactate accumulation and heart rate in andalusian and Anglo-Arabian horses. *Vet. Res. Commun.* 1999, 23, 369-384.
- Neil K.: How to use lactate in equine practice. *Aust. Equine Vet.* 2008, 27, 34-48.
- Noletto P. G., Cubas J. P. C., Barbosa F. C., Guimarães E. C., Mundim A. V.: Biochemical profile of polo horses in training phase and those players of official competition. *Comp. Clin. Path.* 2016, 25, 911-915.
- Nuytten J., Deprez P., Picavet T., van den Hende C., Muylle E.: Heart failure in horses: hemodynamic monitoring and determination of LDH₁ concentration. *J. Equine Vet. Sci.* 1988, 8, 214-216.
- Octura J. E. R., Lee K. J., Cho H. W., Vega R. S. A., Choi J. Y., Park J. W., Shin T. S., Cho S. K., Kim B. W., Cho B. W.: Evaluation of blood creatine kinase and selected blood parameters after exercise in thoroughbred racehorses (*Equus caballus* L.). *J. Agric. Anim. Sci.* 2014, 2, 7-13.
- Padilha F. G. F., Dimache L. A. G., de Almeida F. Q., Ferreira A. M. R.: Blood biochemical parameters of brazilian sport horses under training in tropical climate. *Rev. Bras. Zootec.* 2017, 48, 678-682.
- Persson S. G. B.: Heart rate and blood lactate responses to submaximal treadmill exercise in the normally performing standardbred trotter-age and sex variations and predictability from the total red blood cell volume. *J. Vet. Med. A.* 1997, 44, 125-132.
- Phillips W., Giguere S., Franklin R. P., Hernandez J., Adin D., Peloso J. G.: Cardiac troponin I in pastured and racetraining thoroughbred horses. *J. Vet. Intern. Med.* 2003, 17, 597-599.
- Singh T. P., Nigam A. K., Gupta A. K., Singh B.: Cardiac Biomarkers: When to Test? – Physician Perspective. *JIACM* 2011, 12, 117-121.
- Sribhen C., Siththichaiyakul A., Kongpiromchean Y., Sribhen K.: Influence of training exercise on clinical plasma chemistry parameters and cardiac markers in race horses. *Kasetsart J. Nat. Sci.* 2007, 41, 478-483.
- Stucchi L., Valli C., Stancari G., Zucca E., Ferrucci F.: Creatine-kinase reference intervals at rest and after maximum exercise in standardbred racehorses. *Comp. Exerc. Physiol.* 2019, 15, 319-325.
- Takagi Y., Yasukura T., Gomi K.: Creatine kinase and its isozymes. *Rinsho Byori* 2001, 116, 52-61.
- Texeira-Neto A. R., Ferraz G. C., Moscardini A. R. C., Balsamão G. M., Souza J. C. F., Queiroz-Neto A.: Alterations in muscular enzymes of horses competing long-distance endurance rides under tropical climate. *Arq. Bras. Med. Vet. Zootec.* 2008, 60, 543-549.
- Vekens N. Van Der, Declodt A., De Clercq D., Verheyen T., Van Loon G.: The use of cardiac biomarkers in veterinary medicine: the equine perspective. *Vlaams Diergeneesk. Tijdschr.* 2012, 81, 319-327.
- Vincze A., Szabó Cs., Hevesi Á., Veres S., Útő D., Babinszky L.: Effect of age and event on post exercise values of blood biochemical parameters in show jumping horses. *Acta Agraria Kaposváriensis* 2010, 14, 185-191.
- Wanderley E. K., Bem B. C. S., Melo S. K. M., Gonzales J. C., Manso H. E. C., Manso Filho H. C.: Hematological and biochemical changes in Mangalarga Marchador horses after a hour-beat gait challenge in three different distances. *J. Equine Vet. Sci.* 2015, 35, 259-263.
- Zobba R., Ardu M., Niccolini S., Cubeddu F., Dimauro C., Bonelli P., Dedola C., Visco S., Parpaglia M. L. P.: Physical, hematological, and biochemical responses to acute intense exercise in polo horses. *J. Equine Vet. Sci.* 2011, 31, 542-548.

Autor korespondencyjny: dr hab. Ihor Maksymovych, ul. Piekarska 50, 79010 Lwów, Ukraina; e-mail: maksymovychvet@gmail.com