

Wpływ wysiłku fizycznego psów zaprzęgowych na mięsień sercowy

ANITA PROCAJŁO

Zespół Chorób Wewnętrznych Katedry Nauk Klinicznych Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UWM,
ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn

Procajło A.

Influence of exercise on the heart muscle of sledge dogs

Summary

Hypertrophy of the heart muscle may occur as a result of maximum and prolonged physical training. Till now, heart failure has been the delineating marker for determining physiological hypertrophy and the transition period into pathological hypertrophy. The state of the heart muscle is usually evaluated by heart muscle injury markers, one of which is cardiac troponin I (cTnI). Troponin is detectable only in heart tissues and its concentration in blood increases rapidly in relation to the level of myocardium failure.

During this study some sledge dogs had increased concentrations of cTnI concentration in their sera which indicated heart muscle failure as a result of an excessive workload.

Keywords: sledge dogs, cardiac muscle, troponin

Intensywny i regularny wysiłek fizyczny istotnie wpływa na zmiany strukturalne i czynnościowe komórek mięśnia sercowego. Nie wiadomo jednak, czy świadczą one o zmianach patologicznych w organizmie, czy też o przystosowaniu do zwiększonego wysiłku. Stuewe i wsp. (24) twierdzą, że wysiłek korzystnie wpływa na mięsień sercowy, natomiast inni autorzy (3, 4, 19) wypowiadają odmienne opinie. Badania elektrokardiograficzne psów zaprzęgowych w treningu wytrzymałościowym wykazały zmiany rozmiarów serca, świadczące o jego powiększeniu. Zmiany te mogą być mylone z patologicznym przerostem mięśnia sercowego, dlatego ważne jest, aby prawidłowo ocenić stan zdrowia psa biegającego (5, 10, 23). U trenowanych koni z kompensacyjnym przerostem mięśnia sercowego badaniem ekg stwierdzono zwolnienie akcji serca w spoczynku. Objawy te są uważane za korzystne, ponieważ świadczą o przystosowaniu organizmu, a głównie układu krążenia i układu oddechowego do pokonywania zwiększonych obciążeń fizycznych (25). Opisaną bradykardię towarzyszy wzrost objętości wyrzutowej, dzięki czemu może być utrzymana taka sama objętość minutowa serca, co przedłuża fazę rozkurczu mięśnia sercowego. Pozwala to na zwiększone ukrwienie, a tym samym utlenowanie komórek mięśnia sercowego (8). Podobne zmiany w pracy serca stwierdzono u psów pociągowych, u których trening może spowodować arytmie, będącą wyrazem przystosowania do zwiększonego wysiłku. Zapisy elektrokardiograficzne psów pracujących mogą świadczyć o przystosowaniu czynnościowym mięśnia sercowego do wysiłku, jak i o podatności przerośniętego mięśnia sercowego na choroby (10, 18). Stwierdzane niekiedy arytmie o charakterze patologicznym wykluc-

czają z treningu zwierzęta, które następnie zostają poddane dokładnemu zbadaniu i leczeniu.

Dopuszczenie zwierząt (psów, koni) do prób wysiłkowych lub zawodów sportowych wymaga wykonania szeregu badań określających stan sprawności mięśnia sercowego. Dotychczasowa diagnostyka laboratoryjna schorzeń mięśnia sercowego opierała się na oznaczaniu aktywności enzymów i izoenzymów sercowych (AST, CK-MB, LDH). Niestety, badania te, ze względu na niską czułość diagnostyczną i małą specyficzność narządową, miały ograniczone znaczenie diagnostyczne. Potwierdzeniem tego jest wzrost aktywności wyżej wymienionych enzymów w surowicy w stanach patologicznych, w których nie doszło do uszkodzenia mięśnia sercowego (17).

Charakterystyczne dla mięśnia sercowego są izoenzymy dehydrogenazy mleczanowej: LDH₁ i LDH₂, ich podwyższona aktywność w surowicy wskazuje na uszkodzenie błony cytoplazmatycznej komórek uszkodzonej tkanki (9).

Obecnie uważa się, że największą wartość diagnostyczną w rozpoznaniu uszkodzenia komórek mięśniowych ma oznaczanie troponin, zaliczanych do grupy wczesnych markerów sercowych, reagujących wzrostem zawartości w surowicy w pierwszych godzinach uszkodzenia mięśnia sercowego (3, 14).

Troponiny są białkami znajdującymi się w miofilamentach cienkich mięśni poprzecznie prążkowanych, biorącymi udział w kurczliwości mięśnia sercowego i mięśni szkieletowych. Białka te za pośrednictwem wapnia regulują skurcz włókien mięśniowych (13). Występują jako kompleks złożony z trzech jednostek: troponina C (TnC), troponina I (TnI) oraz troponina T (TnT).

Troponina C wykazuje zdolność wiązania wapnia, jest odpowiedzialna za regulację procesu aktywacji filamentu cienkiego podczas skurczu mięśni szkieletowych i mięśnia sercowego. Troponina I hamuje wiązanie aktyny F (fibrylarnej) do miozyny. Troponina T łączy tropomiozynę z pozostałymi składnikami troponiny (20, 22). Istniejące różnice między troponiną sercową a troponiną mięśni szkieletowych stały się przyczyną badań nad nimi i ich rozpoznania. W mięśniu sercowym wyisobniono dwie izoformy troponin: troponinę T i troponinę I (cTnT i cTnI) należące do specyficznych markerów sercowych. Serceowa izoforma troponiny C (cTnC) z powodu braku swoistości nie jest brana pod uwagę w rozpoznaniu chorób mięśnia sercowego (20). Serceowa troponina T tylko nieznacznie różni się od izoform mięśni szkieletowych (wykazuje około 2% reakcji krzyżowych z izoformą mięśniową) i stwierdzana jest we krwi, np. po urazach mięśni szkieletowych (12, 16). Natomiast serceowa izoforma cTnI nie daje reakcji krzyżowej z innymi izoformami i nie jest wykrywana w innych tkankach ani w stanach fizjologicznych, ani patologicznych (1). Serceowa troponina I podlega różnym modyfikacjom w objętej procesem chorobowym tkance sercowej, w wyniku czego w miocytach powstają różne produkty przemian tej troponiny. Po uwolnieniu do krwi tworzą profil białkowy, odzwierciedlający stan mięśnia sercowego (7, 11).

W badaniach nad przydatnością oznaczenia ludzkiej serceowej troponiny I do określenia uszkodzenia mięśnia sercowego u różnych zwierząt, w tym i psów, wykorzystano przeciwciała monoklonalne (2, 15, 21). Wykazano, że przeciwciała te nie były gatunkowo specyficzne, natomiast były serceowo specyficzne. Okazało się, że za pomocą tych oznaczeń można odróżnić uszkodzenie mięśnia sercowego od uszkodzenia mięśni szkieletowych. Dlatego uznano, że cTnI jest najlepszym biomarkerem uszkodzenia mięśnia sercowego wszystkich gatunków ssaków. Galvani i wsp. (6) uważają, że żaden inny test biochemiczny nie jest tak czuły w wykrywaniu nawet niewielkich uszkodzeń komórek mięśnia sercowego.

Celem badań było określenie wpływu wysiłku fizycznego na mięsień sercowy psów zaprzęgowych oraz wykazanie przydatności wybranych wskaźników: cTnI, LDH₁ i LDH₂ w wykrywaniu podklinicznych stanów uszkodzenia mięśnia sercowego.

Materiał i metody

Badania wykonano na 17 psach zaprzęgowych: 8 psach rasy siberian husky i 9 psach rasy alaskan malamute. Wzmocniony trening przebiegał w sezonie zimowym, tj. od września do marca, przez pozostałe miesiące trening był mniej intensywny. Początkowo psy biegały jeden-dwa razy w tygodniu, pokonując dystans 10-15 km, przez ok. 1 godzinę w terenie leśnym. W miarę wytrenowania stopniowo zwiększano dystans do 30-40 km dziennie i częstotliwość treningów do trzech w tygodniu. Psy biorące udział w doświadczeniu były pod stałą opieką lekarsko-weterynaryjną (profilaktyka, leczenie drobnych urazów). Badanie psów obu ras przeprowadzono 3-krotnie w odstępach 2-miesięcznych przed i po wysiłku fizycz-

nym. Bezpośrednio przed i po treningu (bieg na odległość 20-30 km, w czasie 1-2 godz.) wykonano badanie kliniczne (określano temperaturę wewnętrzną ciała, liczbę tętna i oddechów, badano stan błon śluzowych), a następnie pobrano krew z żyły odłogowej podramienia (v. *cephalica antebrachii*). Oznaczenie zawartości troponiny I (cTnI) przeprowadzono za pomocą czytnika mikroplątek MRX Dynatech, przy użyciu testu ELISA firmy Life Diagnostics. Rozdział LDH na frakcje izoenzymatyczne wykonano na agarozie, metodą elektroforyzy wysokonapięciowej przy użyciu aparatu Paragon firmy Beckman. Do badań biochemicznych użyto probówek z polipropylenu z granulatem do szybkiego wykrzepiania.

Analizę statystyczną wyników przeprowadzono przy użyciu testu T dla prób niezależnych względem grup w programie statystycznym Statistica 6.0.

Wyniki i omówienie

Psy zaprzęgowe przed rozpoczęciem doświadczenia były zdrowe i w dobrej kondycji fizycznej. Podczas ostatniego treningu u jednego psa (6-letniego husky) nastąpiło osłabienie, u kilku innych wykazano braki kondycyjne. W tab. 1 podano poziom cTnI w surowicy badanych psów, który przed próbami wysiłkowymi był na niskim poziomie, a po testach nastąpił wyraźny wzrost. Najbardziej widoczny u 6-letniego husky, u którego zaobserwowano osłabienie w trakcie ostatniego treningu z objawami bledności błon śluzowych, z tętnem nitkowatym wyczuwalnym na tętnicy udowej, szybkimi i płytkimi oddechami. Zawartość serceowej troponiny I u tego psa wynosiła po pierwszym treningu 0,7 ng/ml, po drugim 1,5 ng/ml, a po trzecim 9 ng/ml i wyraźnie wzrastała po każdym teście. Norma cTnI u zdrowych psów wynosi 0,03-0,07 ng/ml (22). Stopniowo zwiększane obciążenie fizyczne psa spowodowało narastające uszkodzenie mięśnia sercowego. Dowiedziono, że wzrost tego białka w surowicy następuje tylko po uszkodzeniu mięśnia sercowego, a jej poziom świadczy o stopniu uszkodzenia. Oznaczanie cTnI w surowicy umożliwia wykrycie nawet najmniejszych uszkodzeń komórek mięśniowych (15). Wzrost zawartości cTnI w surowicy przekraczający wartości fizjologiczne u badanych psów, był wynikiem uszkodzenia mięśnia sercowego, co uwidoczniło się ogólnymi objawami klinicznymi (osowiałość, niechęć do biegania).

Innymi wskaźnikami badanymi u psów zaprzęgowych są izoenzymy dehydrogenazy mleczanowej LDH₁ i LDH₂. U ssaków dehydrogenaza mleczanowa występuje w postaci tetrameru zbudowanego z dwóch rodzajów podjednostek: H – charakterystycznych dla mięśnia

Tab. 1. Wpływ treningu psów zaprzęgowych na poziom serceowej troponiny I (cTnI) ng/ml ($\bar{x}$, SD)

Wysilek	Siberian husky (n = 8)			Alaskan malamute (n = 9)		
	badanie I	badanie II	badanie III	badanie I	badanie II	badanie III
Przed	0,40 0,34	0 0	1,50 0	0,16 0,28	0,12 0,17	1,50 0
Po	0,83 0,25	1,12 1,33	3,15 3,55	0,53 0,49	2,39 2,62	2,12 2,35

Objaśnienia: A – różnice istotne przy $p < 0,05$ w grupach przed i po wysiłku; B – różnice istotne przy $p < 0,05$ pomiędzy rasami psów

sercowego i M – dla mięśni szkieletowych. W zależności od liczby poszczególnych łańcuchów polipeptydowych wyróżnia się pięć rodzajów izoenzymów dehydrogenazy mleczanowej. Ich aktywności warunkowane są unikalnymi warunkami panującymi w poszczególnych tkankach, dzięki czemu możliwe stało się określenie przynależności tkankowej poszczególnych izoenzymów. W organizmie psów izoenzymy LDH₁ i LDH₂ wykazują maksymalną aktywność w komórkach mięśnia sercowego, mniejszą w śledzionie i nerkach. Izoenzymy LDH₃ i LDH₄ charakterystyczne są dla wątroby, śledziony i płuc, natomiast LDH₅ dla mięśni szkieletowych, w mniejszym stopniu dla płuc i wątroby. Wzrost aktywności izoenzymu świadczy o uszkodzeniu błony cytoplazmatycznej komórek tkanki, w której dany izoenzym występuje w przewodzie. W przypadku uszkodzenia mięśnia sercowego obserwuje się wzrost procentowego udziału izoenzymu LDH₁ i LDH₂ w całkowitej aktywności dehydrogenazy mleczanowej (9, 18). W tab. 2 podano zawartość izoenzymów LDH₁ i LDH₂ których aktywności istotnie wzrosły tylko u psów rasy siberian husky po drugim teście. Aktywność LDH₁ i LDH₂ w przypadku wyżej omawianego 6-letniego psa husky wzrosła nieznacznie, nie dając podstaw do rozpoznania zaburzeń pracy serca. Pierwsze objawy osłabienia obserwowano tuż przed ostatnim testem wysiłkowym, ale dopiero po nim pies został wycofany z zaprzęgu i poddany terapii. Psy rasy siberian husky, przed drugim testem, uczestniczyły w zawodach psich zaprzęgów poprzedzonych intensywnymi treningami, a stwierdzony istotny wzrost aktywności izoenzymów LDH₁ i LDH₂ w drugim badaniu wskazuje na uszkodzenie mięśnia sercowego.

Porównując przydatność cTnI jako markera uszkodzenia mięśnia sercowego z wartością izoenzymów LDH₁ i LDH₂ w diagnostyce schorzeń tego narządu należy podkreślić znacznie większą czułość cTnI. Fakt, że cTnI jest czułym i swoistym markerem uszkodzenia komórek mięśnia sercowego potwierdzają także badania innych autorów (1, 4, 15).

Wnioski

1. Troponina I jest przydatnym markerem uszkodzenia komórek mięśnia sercowego.

2. Wzrost stężenia cTnI w surowicy badanych psów odpowiada stopniowi uszkodzenia mięśnia sercowego, spowodowanego nadmiernym wysiłkiem.

3. Wzrost aktywności izoenzymów LDH₁ i LDH₂ w surowicy następuje dopiero po znacznym uszkodzeniu mięśnia sercowego.

Piśmiennictwo

- Adams J. E., Bodor G. S., Davila-Roman V. G., Delmez J. A., Apple F. S., Ladenson J. H., Jaffe A. S.: Cardiac troponin I. A marker with high specificity for cardiac injury. *Circulation* 1994, 89, 1447-1448.
- Bodor G. S., Porter S., Landt Y., Ladenson J. H.: Development of monoclonal antibodies for an assay of cardiac troponin I and preliminary results in suspected cases of myocardial infarction. *Clin. Chem.* 1992, 38, 2203-2214.

Tab. 2. Wpływ treningu psów zaprzęgowych na aktywność izoenzymów dehydrogenazy mleczanowej %

Parametry		Siberian husky (n = 8)			Alaskan malamute (n = 9)		
		badanie I	badanie II	badanie III	badanie I	badanie II	badanie III
LDH ₁	przed wysiłkiem	19,20 3,38	18,70 1,06	19,03 5,93	17,32 8,24	14,67 ^B 8,16	17,75 8,82
	po wysiłku	20,00 1,73	21,05 ^A 1,97	22,65 8,95	17,75 16,01	13,55 ^B 6,03	20,70 2,91
LDH ₂	przed wysiłkiem	4,97 2,28	4,27 0,91	3,83 1,35	4,47 0,70	4,12 0,80	5,62 1,54
	po wysiłku	4,95 0,98	5,08 ^A 1,77	4,95 1,78	5,13 1,07	4,55 1,48	6,40 2,26

Objaśnienia: A – różnice istotne przy $p < 0,05$ w grupach przed i po wysiłku; B – różnice istotne przy $p < 0,05$ pomiędzy rasami psów

- Chen Y., Serfass R. C., Mackey-Bojack S. M., Kelly K. L., Titus J. L., Apple F. S.: Cardiac troponin T alterations in myocardium and serum of rats after stressful, prolonged intense exercise. *J. Appl. Physiol.* 2000, 88, 1749-1755.
- Constable P. D., Hinchcliff K. W., Olson J. L., Hamlin R. L.: Athletic heart syndrome in dogs competing in a long-distance sled race. *J. Appl. Physiol.* 1994, 76, 433-438.
- Constable P. D., Hinchcliff K. W., Olson J. L., Stepień R. L.: Effects of endurance training on standard and signal-averaged electrocardiograms of sled dogs. *Am. J. Vet. Res.* 2000, 61, 582-588.
- Galvani M., Ottani F., Ferrini D., Ladenson J. H., Destro A., Baccos D., Rusticali F., Jaffe A. S.: Prognostic influence of elevated values of cardiac troponin I in patients with unstable angina. *Circulation* 1997, 95, 2053-2059.
- Gao W. D., Atar D., Liu Y., Perez N. G., Murphy A. M., Marban E.: Role of troponin I proteolysis in the pathogenesis of stunned myocardium. *Circ. Res.* 1997, 80, 393-399.
- Górski J. (red.): Fizjologiczne podstawy wysiłku fizycznego. Wyd. Lek. PZWL Warszawa 2002.
- Hamm R.: Lactate dehydrogenase and its importance in muscle research. *Fleischwirtschaft* 1990, 70, 1336-1339.
- Hinchcliff K. W., Constable P. D., Farris J. W., Schmidt K. E., Hamlin R. L.: Elektrokardiograficzne charakterystyki wytrzymałościowo-treningowe Alaskan sled dogs. *J. Am. Vet. Med. Assoc.* 1997, 211, 1138-1141.
- Jaffe A. S., Landt Y., Parvin C. A., Abendschein D. R., Geltman E. M., Ladenson J. H.: Comparative sensitivity of cardiac troponin I and lactate dehydrogenase isoenzymes for diagnosis acute myocardial infarction. *Clin. Chem.* 1996, 42, 1770-1776.
- Katus H. A., Looser S., Hallermayer K., Remppis A., Scheffold T., Borgya A., Essig U., Geuss U.: Development and in vitro characterization of a new immunoassay of cardiac troponin T. *Clin. Chem.* 1992, 38, 386-393.
- Lehrer S. S.: The regulatory switch of the muscle thin filament: Ca^{2+} or myosin heads? *J. Muscle Res. Cell. Motil.* 1994, 15, 232-236.
- Ni C. Y.: Cardiac troponin I: a biomarker for detection and risk stratification of minor myocardial damage. *Clin. Lab.* 2001, 47, 483-492.
- O'Brian P. J., Landt Y., Ladenson J. H.: Differential reactivity of cardiac and skeletal muscle from various species in a cardiac troponin I immunoassay. *Clin. Chem.* 1997, 43, 2333-2338.
- Ozorowski T., Torliński L.: Kliniczne zastosowanie biochemicznych markerów choroby niedokrwiennej serca. *Diagn. Lab.* 1997, 33, 545-553.
- Pasławska U.: Badania elektrokardiograficzne serca u psów pociagowych. *Cz. II. Mag. Wet.* 2004, 2, 58.
- Procajlo A.: Przydatność diagnostyczna markerów uszkodzenia mięśni szkieletowych u psów zaprzęgowych w treningu. *Medycyna Wet.* 2006, 62, 306-310.
- Puffer J. C.: Zespół serca sportowca. *Med. po dyplomie* 2003, 3, 113-120.
- Sitkiewicz D.: Biochemiczne markery niedokrwienia mięśnia sercowego. *Diagn. Lab.* 1997, 33, 395-415.
- Sleeper M. M., Clifford C. A., Laster L. L.: Cardiac troponin I in the normal dog and cat. *J. Vet. Int. Med.* 2001, 15, 501-503.
- Solaro R. J., Rarick H. M.: Troponin and tropomyosin: Proteins that switch on and tune in the activity of cardiac myofilaments. *Circ. Res.* 1998, 83, 471-480.
- Stepień R. L., Hinchcliff K. W., Constable P. D., Olson J.: Effect of endurance training on cardiac morphology in Alaskan sled dogs. *J. Appl. Physiol.* 1998, 85, 1368-1375.
- Stuewe S. R., Gwartz P. A., Agarwal N., Mallet R. T.: Exercise training enhances glycolytic and oxidative enzymes in canine ventricular myocardium. *J. Mol. Cell. Cardiol.* 2000, 32, 903-913.
- Zucca E., Ferrucci F., Di Fabio V., Croci C., Ferro E.: The use of electrocardiographic recording with Holter monitoring during treadmill exercise to evaluate cardiac arrhythmias in racehorses. *Vet. Res. Commun.* 2003, 27, 811-814.

Adres autora: dr Anita Procajlo, ul. Oczapowskiego 14, 10-957 Olsztyn;
e-mail: anitap@uwm.edu.pl