



MIKROSKOPICKÁ STAVBA *MUSCULUS GLUTEUS MEDIUS* KONÍ V RÔZKOM TRÉNINGOVOM NASADENÍ

Microscopic structure of *musculus gluteus medius* of horses under different training burden

V. KULÍŠEK, P. HAŠČÍK, P. MAKOVICKÝ, O. DEBRECÉNI

Slovak Agricultural University in Nitra, Slovak Republic

ABSTRACT

This paper deals with the histological investigation of *m. gluteus medius* after biopsy. Three horses of various age and condition were tested. Six years old horse had the thickest muscular fibres (65.97 microns). The second and the third horse (15 and 7 years old, respectively) had the similar thickness of the muscular fibres (58.24 microns and 58.70 microns). These horses were discarded from the training. The first and the third horse had all three types of fibres in their muscles. The α White fibres were low (6.30 % and 5.60 %). The other horse had in the muscles only α Red and β Red fibres. The implication of the prevalence of oxidative fibres (β and α Red) is a result of differential training on the organism. The third horse had the biggest thickness of the fat cells (42.89 microns). The other two horses had comparable thickness of the fat cells (36.00 microns and 36.86 microns, respectively).

Key words: horse, training, biopsy, histochemical structure of muscles

ÚVOD

V chove hospodárskych zvierat dochádza k rôznym zmenám, ktoré vyplývajú z požiadaviek človeka a spoločnosti. Uvedené skutočnosti sa v plnej miere odrážajú aj v chove koní. K realizácii koncepcie rozvoja chovu koní bolo vypracovaných veľa opatrení. Zvyšovanie výkonnosti našich športových a dostihových koní vyžaduje okrem iného dôkladné štúdium klinickej fyziológie, záťažovej reakcie a adaptácie, k čomu slúžia nové vyšetrovacie metódy a postupy. Jednou z takýchto metód je biopsia aktívneho svalového tkaniva pomocou perkutánnej ihlovej biopsie. Zmeny kostrového svalového tkaniva po intenzívnom tréningu popísali Lopez-Rivero (1995) a Rivero a i. (1996) po bioptickom odbere, ktorí histochemicky sledovali vzorky svalov. Bioptické vzorky rôznych svalov koní po rôznej záťaži sledovali aj Misumi a i. (1995), Amorim a i. (1996) a Lepage a i. (2000). Podľa Islasa a i. (2001) možno svalové vlákna dospelých koní lepšie zobraziť pomocou imunohistochemických metód v porovnaní s metódami histochemickými. Odobratá vzorka svalového tkaniva sa potom dá analyzovať histochemicky, možno ju študovať biochemicky z

hľadiska enzymatickej aktivity a koncentrácie rôznych substrátov v svaloch a elektrónovou mikroskopiou možno pozorovať ultraštruktúrálnu stavbu tkanív a buniek.

Cieľom predloženej práce bolo histochemicky porovnať štruktúru svalu *musculus gluteus medius* u koní v rôznom zaťažení pomocou bioptickej ihly.

MATERIÁL A METÓDA

Vzorky svalu *m. gluteus medius* sme pomocou bioptickej ihly odobrali trom koňom (H1~H3) rôzneho plemena a veku.

Koň H1 - český teplokrvník, ktorý bol z tejto skupiny najmladším, mal šesť rokov, z toho tri roky bol zaradený v tréningu. Nepočítalo sa však s jeho zaradením do športovej kategórie (dostihovej ani skokovej). Temperamentom bol vyrovnaný až kľudný.

Koň H2 - pätnásťročný, dobre urastený anglický plnokrvník ako trojročný začínal v dostihových pretekoch. V dôsledku nervového zaťaženia odmietal po dostihoch dlhodobo prijímať potravu na základe čoho bol preradený na

Correspondence: E-mail: Peter.Hascik@uniag.sk

skokovú dráhu. Pri tomto koni je zaujímavé, že i po dlhom pôsobení v dostihovom športe začínal opäť od začiatku v skokovom športe, ale bol taký dobrý, že dosiahol najvyšší stupeň v skokových súťažiach, t. j. výšku 150 cm. Posledné dva roky už absolvoval v dôsledku zranenia z predchádzajúcich rokov už len ľahký tréning.

Kôň H3 sedemročný anglický plnokrvník, ktorý začínal svoju kariéru v dostihovom športe. V dostihovom tréningu bol zaradený do piatich rokov, potom bol kvôli nedostatočným výsledkom z dostihového športu vyradený.

Odber vzorky svalu

Vzorka svalu sa odobrala biopsiou ľavostrannej hlbokkej hlavy *m. gluteus medius*. Miesto vpichu bolo lokalizované 10 cm kaudodorzálne od *tuber toxae* a pred vykonaním biopsie vyholené v rozsahu 2x2 cm. Po dezinfekcii miesta vpichu sa subkutánne aplikovalo 3 až 5 ml 2%-ného roztoku Mesocainu tak, aby bola znecitlivená koža i povrchová fascia v predpokladanom mieste incízie. Incízia (v dĺžke 1 cm) sa urobila vpichom hrotu skalpeľa cez kožu a povrchovú fasciu. Bioptická ihla sa zaviedla kolmo do svalu asi do hĺbky 10 cm tak, aby prepichla hlbokú fasciu oddeľujúcu povrchovú hlavu *m. gluteus medius* od jeho hlbokkej hlavy. Po vytiahnutí vnútorného plášťa ihly, ktorý má cylindrický nôž sa otvorilo rezné okienko ihly, do ktorého sa vytvorením mierneho podtlaku pomocou 50 mililitrovej injekčnej striekačky nasadenej na ihlu vtiahla potrebná vzorka svalového tkaniva. Potom sa opäť zasunul vnútorný plášť ihly späť, pričom sa odrezala vzorka svalu o hmotnosti asi 50 - 200 mg. Ihneď po vytiahnutí ihly zo svalu sa vzorka spracovala zmrazovacou technikou. Najprv však bolo treba orientovať vzorku na korkovú podložku tak, aby sa po zmrazení mohli svalové vlákna rezať v kryokate priečne. Takto pripravená vzorka sa umiestnila na 60 - 90 sekúnd (podľa jej hmotnosti) do propan-butanového média v špeciálne upravenom valci s mištičkou. Po zmrazení svalu v tomto prostredí sa vzorka označila a umiestnila do kontajnera s kvapalným dusíkom a transportovala do histochemického laboratória.

Histochemické spracovanie vzorky svalu

Histochemické spracovanie sa uskutočňovalo v kryokate, kde sa pri teplote -18°C narezali sériové rezy o hrúbke 10 – 15 mikrónov. Pre stanovenie jednotlivých typov svalových vlákien sa rezy inkubovali na aktivitu sukcinátdehydrogenázy (SDH) podľa Lojdu a Papouška (1974). Po inkubácii na SDH sa v nich indentifikovali tri typy vlákien - červené (β Red), intermediárne (α Red) a biele (α White). Hrúbku svalových vlákien a percentuálne plošné zastúpenie vlákien a intersticiálneho väziva sme stanovili mriežkovou metódou na lanometri podľa

Uhrína a Kuliška (1980). Ďalšiu sériu rezov sme ofarbili prehľadným farbením hematoxylin-eozínom a tretiu sériu olejovou červeňou „0“ pre detekciu neutrálnych lipidov. Na každom preparáte sme náhodne vybrali desať miest hodnotenia tak, že bolo vyhodnotených minimálne päťsto vlákien zo vzorky. Zo zistených hodnôt sme vypočítali priemer, smerodajnú odchýlku a variačný koeficient. Veľkosť tukových buniek sme merali pomocou lanametru pri 500-násobnom zväčšení. Zo získaných údajov sme vypočítali základné variačno-štatistické hodnoty.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

V predloženej práci sme si overili metódy ihlovej biopsie svalového tkaniva, jeho zmrazenie, transport a následné histochemické vyšetrenie. Ako sme už uviedli v metodike, vzorky boli odobraté od zvierat rôzneho veku pri rôznom tréningovom zaradení. Získať totiž početnejšiu skupinu zvierat v rovnakom veku a tréningovom zaťažení a rovnakého plemena i chovateľských podmienok je takmer nemožné.

Prvý kôň mal priemernú hrúbku svalových vlákien *m. gluteus medius* 65,97 mikrónov. V svale boli zastúpené všetky tri typy svalových vlákien. Najhrubšie boli biele vlákna (80,93 mikrónov). Najtenšie boli červené vlákna (57,13 mikrónov).

Iný pohľad získame pri posudzovaní daného svalu z hľadiska percentuálneho (plošného) zastúpenia jednotlivých typov svalových vlákien. Tu bola tendencia v porovnaní s hrúbkou vlákien opačná. Podiel červených vlákien predstavoval 39,80 % a bielych iba 6,30 %. Percentuálny obsah intersticiálneho väziva bol veľmi nízky - iba 1,40 %. Zo získaných hodnôt vyplýva, že najmenšiu hrúbku mali červené svalové vlákna, avšak početne boli zastúpené najviac. Naopak najhrubšie svetlé vlákna mali veľmi nízky výskyt.

Druhý kôň mal priemernú hrúbku svalových vlákien v *m. gluteus medius* menšiu ako predchádzajúci kôň (58,24 mikrónov), pričom sval obsahoval len dva typy svalových vlákien, chýbali biele vlákna. Červené boli tenšie (53,34 oproti 63,15 mikrónov pri intermediárnych vláknach).

Tejto skutočnosti odpovedalo aj percentuálne zastúpenie svalových vlákien a intersticiálneho väziva. Červené vlákna zaberali 54,50 % plochy svalu a intermediárne vlákna 40,30 %. Vo svale bol však zvýšený obsah intersticiálneho väziva (5,10 %). Aj v tomto prípade boli červené vlákna najtenšie s najväčším početným zastúpením.

Sval tretieho koňa obsahoval všetky tri typy svalových vlákien. Zaujímavé je, že menšiu hrúbku mali intermediárne vlákna (55,52 mikrónov). Priemerná hrúbka červených vlákien bola 57,74 mikrónov, bielych 60,32 mikrónov.

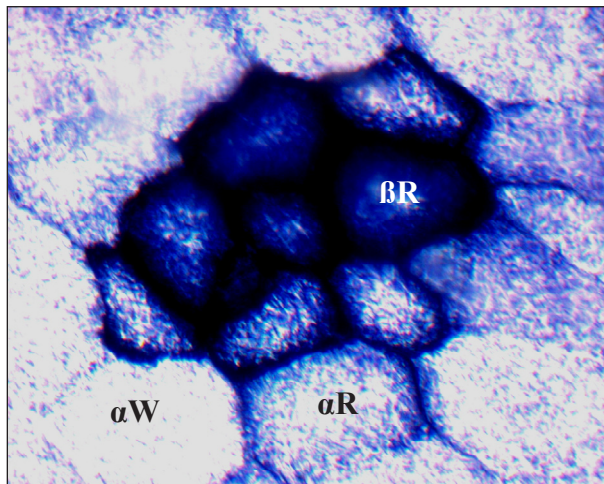
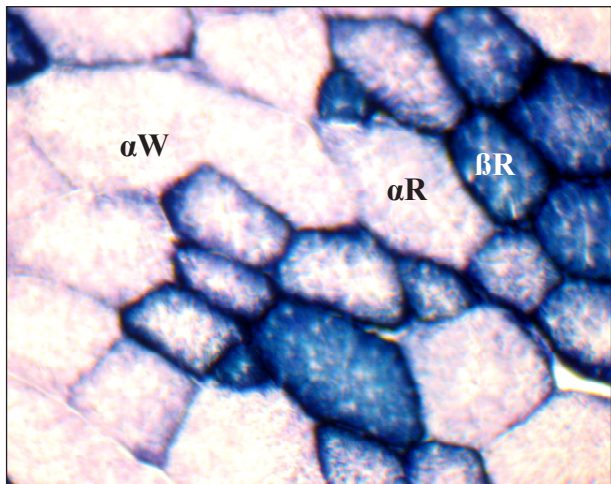
Tabuľka 1: Hrúbka a podiel svalových vlákien a veľkosť tukových buniek v m. gluteus medius testovaných koní
Table 1: Thickness and portion of muscle fibres and Lipid cells size in m. gluteus medius of tested horses

¹ Kôň	² Štat. hodnoty	³ Hrúbka svalových vlákien			⁴ Percentuálne zastúpenie svalových vlákien				⁵ Veľkosť tukových buniek
		BR	α R	α W	BR	α R	α W	ist.	
H1	\bar{x}	57,014	67,269	80,932	53,40	39,80	6,30	1,40	36,00
	s	2,772	3,661	8,45	9,543	8,942	6,567	1,174	10,733
	$s_{\bar{x}}$	7,685	13,404	71,411	91,156	79,956	43,122	1,378	-
	v (%)	4,852	5,443	10,442	17,879	22,467	104,234	83,842	29,81
H2	\bar{x}	53,348	63,152	0	54,50	40,30	0	5,10	36,86
	s	4,384	4,427	0	13,994	16,194	0	3,381	10,662
	$s_{\bar{x}}$	19,219	19,601	0	195,883	262,233	0	11,443	-
	v (%)	8,218	7,011	0	25,67	40,183	0	66,30	29,81
H3	\bar{x}	57,744	55,528	60,329	61,20	29,10	5,60	3,00	42,89
	s	4,85	4,177	4,485	8,297	8,266	5,929	2,309	8,551
	$s_{\bar{x}}$	23,518	17,447	20,118	68,844	68,322	35,156	5,333	-
	v (%)	8,398	7,522	7,435	13,558	28,405	18,907	76,98	29,81

BR - červené vlákna - red fibres
 α R - intermediárne vlákna - intermediary fibres
W - biele vlákna - white fibres
ist. - intersticiálne väzivo - interstitial tissue

\bar{x} - aritmetický priemer - arithmetic average
s - smerodajná odchýlka - standart deviation
 $s_{\bar{x}}$ - stredná chyba priemeru - standart mean error
v - variačný koeficient - coefficient of variance

¹Hors, ²Statistical values, ³Thickness of muscle fibres, ⁴Percentage of muscle fibres, ⁵Lipid cells size



BR - červené vlákna - red fibres;
 α R - intermediárne vlákna - intermediary fibres
 α W - biele vlákna - white fibres

Obr. 1: Histochemický obraz svalu m. gluteus medius koňa v plnom tréningovom zaťažení. SDH reakcia. (zv. 200x)

Fig. 1: Histochemical picture of m. gluteus medius of horse in full training burden. (magn. 200 x)

Obr. 2: Histochemický obraz m. gluteus medius sedemročného koňa vyradeného z tréningu. SDH reakcia (zv. 200 x)

Fig. 2: Histochemical picture of m. gluteus medius of seven year old horse cast out of the training. SDH test. (magn. 200 x)

Pri hodnotení plošného percentuálneho zastúpenia dominovali červené vlákna (61,20 %). Najmenšiu hrúbku však mali intermediárne vlákna. Biele vlákna boli najhrubšie a vyskytovali sa iba ojedinele.

Okrem hrúbky svalových vlákien a ich percentuálneho zastúpenia sme v *m. gluteus medius* sledovali aj veľkosť tukových buniek. Tukové bunky boli spravidla lokalizované medzi terciárnymi snopcami svalových vlákien v okolí krvných ciev, kde vytvárali málo početné lalôčky. Zriedka sme pozorovali ojedinelé tukové bunky. Ich výskyt medzi primárnymi snopcami svalových vlákien sme prakticky nezistili.

Podľa Mammara a i. (1993) je množstvo tukového väziva druhovo rozdielne, pričom sa líši aj v rôznych svaloch toho istého jedinca a so zväčšovaním množstva uloženého tuku sa tukové bunky evidentne rozširujú od terciárnych medzi sekundárne a primárne snopce svalových vlákien. Priemerná veľkosť tukových buniek bola vo svalе prvého a druhého koňa prakticky rovnaká, okolo 36,00 mikrónov. Tretí kôň mal tukové bunky väčšie (42, 89 mikrónov).

Podľa Uhrína (1997) je genotyp svalových vlákien geneticky založený, pričom jeho fenotypický prejav je podmienený faktormi exogénneho pôvodu. V procese vlastného tréningu vzniká v pohybovom aparáte celý rad adaptačných zmien, ktoré sa postupne špecifikujú podľa charakteru vykonávanej svalovej práce.

Podľa Lindholma a Piehla (1974) sa v tréningovom procese zvyšuje podiel zastúpenia rýchlych červených vlákien a znižuje sa zastúpenie bielych vlákien, zatiaľ čo percento intermediárnych vlákien sa veľmi nemení. Na druhej strane sa zväčšuje hrúbka intermediárnych a červených vlákien asi o 15 % a bielych až o 25 %. Zväčšovanie bielych vlákien vyvolané rýchlostným tréningom zvyšuje anaeróbnú kapacitu svalu. K podobným záverom došli aj Islas a i. (2001) a Misumi a i. (1995).

ZÁVER

Realizácia rastových potencií živých organizmov závisí od endogénnych i exogénnych vplyvov. Z výsledkov práce vyplýva, že vplyvy pohybu sú v priamej korelácii s hrúbkou svalových vlákien i s jednotlivými typmi svalových vlákien. Zaujať presné stanovisko k získaným výsledkom je dosť problematické, pretože vek a zaťaženie sledovaných koní bolo rôzne. Je tu určitá paralela medzi našimi výsledkami a výsledkami iných autorov. Najväčšiu hrúbku svalových vlákien sme zistili

u koňa v plnom trojročnom tréningu. Rovnako hrúbka jednotlivých typov svalových vlákien bola u trénovaných koní väčšia. O znižovaní percentuálneho podielu bielych vlákien môže svedčiť fakt, že najstarší kôň po celoživotnom zaťažení nemal v *m. gluteus medius* biele vlákna, kým kôň v tréningu ich mal 6 %.

LITERATÚRA

- AMORIM, R. M. - KUCHEMUCK, M. R. G. - GONCALVES, R. C. - LAUFER, R. - SEQUEIRA, J. L. - PAI, V. D. - LOPES, R. S. 1996. Equine motor neuron disease-first cases in South America. In: *Brasil J. Veter. Res a Anim. Sci.*, vol. 33, 1996. no. 1, p. 47-52.
- ISLAS, A. - QUEZADA, M. - MORA, G. - LOPEZ-RIVERO, JI. - MERINO, V. - ROJAS, H. CARRILLO, C. 2001. Characterization of fibers from gluteus medius muscle in horses by histochemical and immunohistochemical methods. In: *Archiv Med. Veter.*, vol 2001. no 1, p. 55-62.
- LEPAGE, Mfp. - GRONE, A. - LEPAGE, O. M. 2000. Severe muscle necrosis in seven horses associated with intramuscular penicillin injection. In: *Europ J Veteri Path*, vol 2000. no. 1, p. 25-29.
- LINDHOLM, A. - PIEHL, K. 1974. Fibra composition, enzyme activity concentration of metabolites and elektrolytes in muscles of Standardbred horses. In: *Acta Veteri Scand.*, vol 15, 1974, p. 287-309.
- LOPEZ-RIVERO, Jh. 1995. Effect of training on the skeletal musculature of the horse. (Bibliographic review). In: *Agro-Ciencia*, vol. 11, 1995. no. 1, p. 71-85.
- LOJDA, Z. - PAPOUŠEK, F. 1974. Základy histochemického príkazu enzymu. Brno : Ústav pro další vzdělávání středních zdravotnických pracovníků. 1974.
- MAMMAR, M. - VIGON, X. - ROCK, E. - MATHIEU, F. - GANDEMER, G. 1993. Analysis of lipid composition of sarkoplasmic reticulum membranes from normal and malignant hyperthermic pig skeletal muscle. In: *Biochemistry and cell biology*, vol. 71, 1993. no. 7-8, p. 324-330.
- MISUMI, K. - SAKAMOTO, H. - SHIMIZU, R. 1995. Changes in skeletal muscle composition in response to swimming training for young horses. In: *J Veteri Medi Sci*, vol. 57. 1995. no. 5, p. 959-961.
- RIVERO, JII. - VALERA, M. - SERRANO, A. - VINUESA, M. 1996. Variability of muscle fibre type composition in a number of genealogical bloodlines in Arabian and Andalusian horses. In: *Pferdeheilkunde*, vol. 12, 1996. no. 4, p. 661-665.
- UHRÍN, V. - KULÍŠEK, V. 1980. Využitie morfometrických metód pre stanovenie hrúbky svalových vlákien. In: *Živočišna výroba*, vol. 53, 1980. no. 12, p. 935-942.
- UHRÍN, V. 1997. Štruktúra svalov niektorých živočíchov. In: Zborník: 37. zjazd slovenskej anatomickej spoločnosti s medzinárodnou účasťou. Nitra : SPU, 1997. p. 79-80.

Adresa autorov: Doc. Ing. Václav Kulíšek, PhD., Ing. Peter Haščík, PhD., Ing. Peter Makovický, PhD., Prof. Ing. Ondrej Debreceni, CSc., Slovenská poľnohospodárska univerzita v Nitre. Trieda A. Hlinku č. 2, 949 76 Nitra.