

**Hyperkalemic periodic paralysis in horses**

Wojtulewicz P.<sup>1</sup>, Gruszczyńska J.<sup>1</sup>, Siewruk K.<sup>2</sup>,  
Department of Genetics and Animal Breeding,  
Faculty of Animal Sciences<sup>1</sup> and Department of  
Large Animals Diseases with the Clinic, Faculty of  
Veterinary Medicine<sup>2</sup>, Warsaw University of Life  
Sciences – SGGW

The aim of this paper was to present hyperkalemic periodic paralysis (HYPP), the disease caused by a genetic defect in sodium channel of skeletal muscles in horses. It is inherited as autosomal dominant trait with variable penetration. The abnormality in the sodium channel predisposes the horse to episodes of complete depolarization of the muscle cell membrane resulting in flaccid paralysis. Such episodes may last minutes to hours and usually resolve spontaneously. Mild episodes are characterized by muscle(s) fasciculation and tremor that progressively leads to weakness, paralysis and recumbency. Horses often sweat and have contractions of facial and locomotor muscles during episodes. Inspiratory stentor commonly noted is probably due to laryngeal and pharyngeal dysfunction. During the more severe HYPP episodes stridor and dysphagia as well as lameness and balance deficits can occur. Acute episodes can potentially be fatal due to laryngospasm and airways obstruction however cardiac arrest may also occur. The disease can manifest in every age. Furthermore, no gender differences were observed. The test of choice for demonstrating presence of the mutated gene is a specific gene probe. The disease is heritable and carriers are readily identified, so breeding program for eliminating the disease is feasible.

**Keywords:** HYPP, American Quarter horses, genetics, clinical signs, diagnosis, treatment.

**H**yperkalemiczne porażenie okresowe (hyperkalemic periodic paralysis – HYPP) u koni jest chorobą o podłożu genetycznym, powodowaną mutacją autosomalną o charakterze dominującym, dotyczącą genu odpowiedzialnego za prawidłowe funkcjonowanie komórkowych kanałów sodowych. Zaburzenie to prowadzi do nieprawidłowego przepływu jonów, czego konsekwencją są niekontrolowane skurcze i drgania mięśni. Atak choroby może trwać od kilku minut do kilku godzin. W przebiegu łagodnym napad charakteryzuje się skurczami mięśni szyi, grzbietu i barków, ziewaniem, nadmiernym poceniem się zwierzęcia i głośnym oddychaniem. W przebiegu podostrym występuje osłabienie mięśni, przejawiające się potykaniem się konia i utratą równowagi oraz problemy z oddychaniem. Natomiast ostry atak może zakończyć się zapaścią lub śmiercią w wyniku porażenia mięśni ścian klatki piersiowej i zaburzeń przewodzenia w mięśniu sercowym. Zagrożenie występuje w równym stopniu wśród klaczy,

**Hiperkaliemiczne porażenie okresowe u koni**

Paulina Wojtulewicz<sup>1</sup>, Joanna Gruszczyńska<sup>1</sup>, Katarzyna Siewruk<sup>2</sup>

z Katedry Genetyki i Ogólnej Hodowli Zwierząt Wydziału Nauk o Zwierzętach<sup>1</sup> oraz Katedry Chorób Dużych Zwierząt z Kliniką Wydziału Medycyny Weterynaryjnej<sup>2</sup> Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie

ogierów i wałachów. Objawy mogą pojawić się w dowolnym momencie życia konia. Istnieje możliwość przeprowadzenia odpowiednich testów genetycznych w celu stwierdzenia, czy zwierzę jest nosicielem mutacji i czy może przekazać tę mutację potomstwu. Badania te umożliwiają wykluczenie z hodowli nosicieli zmutowanego genu, dzięki czemu zostaje ograniczone rozprzestrzenianie się tej mutacji (1, 2, 3).

**Rasa american quarter horse**

W Stanach Zjednoczonych niezwykle popularne są sporty z udziałem koni. Zalicza się do nich zarówno dyscypliny powszechnie uprawiane, jak wyścigi, a także bardziej wyszukaną konkurencję, do których bez wątpienia można zaliczyć pokazy typu western. Nowe konkurencje, które powstały na kanwie rutynowych zajęć amerykańskich ranczerów wymagały zaangażowania odpowiednich koni, które byłyby w stanie sprostać wymogom zawodów. Okazało się, że konie rasy american quarter horse (AQH), osiągające wcześniej doskonałe wyniki w wyścigach na ćwierć mili (od czego pochodzi nazwa tej rasy), najlepiej odpowiadały postawianym wymaganiom.

Historia powstania koni tej rasy jest dość długa i skomplikowana ze względu na mnogość krzyżowań wielu różnych ras. Sięga ona XVII w., kiedy amerykańscy osadnicy ze Wschodniego Wybrzeża zaczęli krzyżować lokalne rasy z końmi pełnej krwi angielskiej. Prekursorami nowej rasy quarter miler (QM) były najznakomitsze ogiery pełnej krwi angielskiej. Dalsze krzyżowania QM z końmi pełnej krwi angielskiej, a także, podczas ekspansji na zachód, z napotkanymi końmi ras rodzimych dały początek nowej rasie american quarter horse. Są to konie bardzo wytrzymałe. W ciągu tygodnia były używane do pracy, a w dni wolne od pracy brały udział w wyścigach. Wykazują one specyficzne zachowanie w stosunku do bydła („cow sense”), które jest wykorzystywane przez farmerów do pracy na ranczu. Dla ranczerów AQH stały się końmi idealnymi, które bardzo chętnie współpracowały z ludźmi. Umiejętności wypracowane przez ranczerów i ich konie stały się podwaliną dzisiejszych konkurencji rodeo. Właściciele tych

koni założyli stowarzyszenie i księgę rodowodową w celu zachowania czystości rasy. Tak powstało Stowarzyszenie Hodowców American Quarter Horse – American Quarter Horse Association (AQHA). Zaczęto prowadzić hodowlę koni tej rasy oraz doskonalono jej cechy. Konie te stały się ogólnoużytkowymi – wyścigowymi, ranczerskimi, używanymi w rodeo i rodzinnej rekreacji, a nawet do pracy w policji. Okazały się bardzo wszechstronne dzięki swemu łagodnemu usposobieniu, a przy tym dużej wytrzymałości fizycznej. Konie AQH charakteryzują się silnym, masywnym ciałem, krótką i mocną głową, krótkimi kończynami i niewielkim wzrostem, około 140 do 160 cm w kłębie, oraz dużą szybkością.

Obecnie są to najliczniej występujące i najbardziej popularne konie w USA oraz najlepsze w konkurencjach westernowych, takich jak cutting („wycinanie”) cielaka ze stada i utrzymywanie go w środkowej części areny przez konia, na którego można oddziaływać tylko za pomocą dośiadu. Uczestniczą także w zawodach typu jumping (skoki), reining (westernowe ujeżdżenie na arenie) oraz w konkurencji halter, gdzie ocenie podlega pokrój zwierzęcia. Ocenia się, że populacja tych koni na świecie wynosi ponad 3,2 mln osobników.

**Historia pojawienia się choroby i jej rozprzestrzenienie w populacji**

Nieustanne dążenie do wyhodowania konia, który byłby wzorcem rasy AQH, dały oczekiwany efekt. Liczne kojarzenia najlepszych osobników AQH oraz dolew krwi koni pełnej krwi angielskiej doprowadziły do urodzin w 1969 r. ogiera, który stał się wzorcem rasy. Ze względu na doskonały wygląd nadano mu imię Impressive (imponujący). Od pierwszych zawodów, w jakich startował, osiągał ogromne sukcesy w konkurencji halter. Był wielokrotnym championem zawodów ogólnostanowych, kontynentalnych i regionalnych. Jego idealny eksterier i liczne osiągnięcia sprawiły, że stał się bardzo pożądanym ogierem rozplodowym. Dał potomków nie tylko w obrębie rasy AQH, ale także w innych popularnych rasach amerykańskich, takich jak paint horse czy apolloosa. Było

to świadome i, jak się wówczas wydawało, bardzo korzystne działanie. Potomkowie ogiera Impressive osiągnęli bardzo dobre wyniki i byli często nagradzani w wielu konkurencjach, co doprowadziło do wzrostu liczebności koni z tej linii.

W 1980 r. po raz pierwszy zaobserwowano u koni rasy AQH zespół hiperkaliemicznego porażenia okresowego i wtedy też zostało oficjalnie potwierdzone przez AQHA pojawienie się nowej choroby, o której wiedza była wówczas znikoma.

Przełomowym momentem w poznaniu dotychczas nienazwanego zaburzenia był raport hodowcy i lekarza weterynarii Coxa (5) wygłoszony w 1985 r. na dorocznej konwencji Amerykańskiego Stowarzyszenia Lekarzy Koni (American Association of Equine Practitioners – AAEP), zawierający udokumentowane wyniki potwierdzające przypuszczenie, że nowa choroba u koni jest tożsama z hiperkaliemicznym porażeniem okresowym występującym u ludzi. W 1986 r. podobną sugestię wysunęli Steiss i Naylor (6).

Udało się ustalić, że jest to choroba genetyczna, która rozprzestrzeniła się za sprawą jednego ogiera. Początkowo jednak nie było wiadomo którego. W 1992 r. wykazano, że wystąpienie mutacji jest ściśle związane z bardzo popularnym ogierem Impressive. Właśnie z tym, który był tak doskonałym osobnikiem i dawał tak wspaniałe reprezentujące swą rasę potomstwo, w liczbie 355 tys. koni zarejestrowanych w księdze rodowodowej prowadzonej przez AQHA (7, 8).

W tym samym roku udostępniono hodowcom testy genetyczne umożliwiające wykrywanie nosicieli mutacji. Mimo to w ciągu kolejnych 14 lat, jak wykazuje raport z 2007 r., częstość występowania zmutowanego genu się nie zmniejszyła, a początkowo wręcz się zwiększała.

Na wzrost świadomości hodowców związanej z zasięgiem hiperkaliemicznego porażenia mięśni wpłynął dopiero obowiązek przeprowadzania testów genetycznych na HYPP, oraz wprowadzenie certyfikatu rejestracyjnego dla wszystkich źrebiąt z linii ogiera Impressive urodzonych po 1 stycznia 1998 r.

Pod wpływem silnych nacisków ze strony członków AQHA w 2004 r. wprowadzono zarządzenie, na mocy którego źrebięta urodzone w 2007 r. i później będące homozygotami pod względem zmutowanego genu (H/H) nie odpowiadają wymogom rejestracji, co jest równoznaczne z wykluczeniem tych koni z dalszej hodowli. Zaproponowano wówczas również zakaz wpisu do księgi rodowodowej koni z jedną kopią wadliwego genu, jednak pomysł ten nie przeszedł w głosowaniu. Hodowcy sprzeciwiali się temu, ponieważ twierdzili, że zaburzenie to można kontrolować

poprzez odpowiednie utrzymanie konia. Ponadto uważali, że jest to godzenie we własne interesy, gdyż konie z HYPP odnosiły ogromne sukcesy w zawodach głównej kategorii halter.

Wprowadzenie zakazu rejestracji homozygot było pierwszym krokiem do wyeliminowania wadliwego genu z populacji. Jest jednak jeszcze wiele do zrobienia w kwestii regulacji prawnych dotyczących choroby. Głównie odnosi się to do związków hodowców innych amerykańskich ras koni, które są krzyżowane z AQH i wśród których występują potomkowie ogiera Impressive. Można tu wymienić takie związki hodowców, jak: American Paint Horse Association, Appaloosa Horse Club i Pinto Horse Association. Do tej pory w związkach tych podejmowano próby wprowadzenia regulacji prawnych dotyczących HYPP, ale kończyły się one niepowodzeniem. Aby było możliwe całkowite wyeliminowanie zmutowanego genu z populacji, niezbędne jest narzucenie hodowcom bardzo restrykcyjnych przepisów dotyczących rejestracji koni z HYPP.

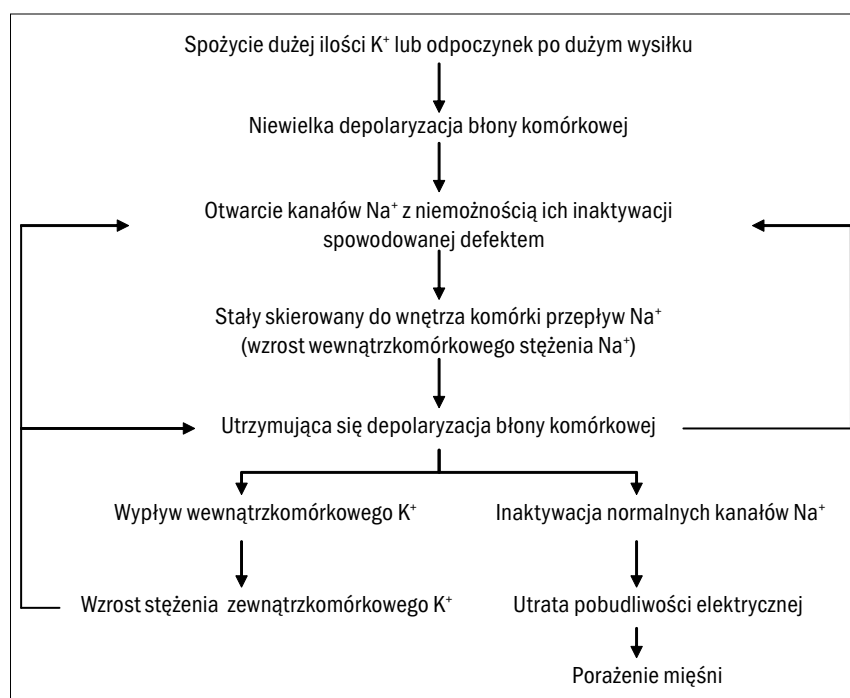
### Zaburzenia czynności mięśni szkieletowych w hiperkaliemicznym porażeniu okresowym

W komórkach mięśni prążkowanych w trakcie spoczynku zachowany jest potencjał spoczynkowy wywołany odpowiednim stężeniem jonów sodowych ( $\text{Na}^+$ ) na zewnątrz komórki oraz wewnątrzkomórkowym stężeniem jonów potasowych ( $\text{K}^+$ ). Dzięki różnicom potencjału, jakie wywołują, środowisko wewnętrzne komórki ma potencjał bardziej ujemny i w mięśniach

szkieletowych wynosi  $-90\text{mV}$ . Aby doszło do skurczu miocytów, muszą one ulec pobudzeniu poprzez odpowiedni mediator, wywołujący depolaryzację błony komórkowej. Jest nim acetylocholina wydzielana przez zakończenia włókien nerwowych. Łączy się ona z receptorami błonowymi komórek mięśniowych i tym samym aktywuje przepływ jonów  $\text{Na}^+$  do wnętrza komórki i jonów  $\text{K}^+$  na zewnątrz, niwelując ujemny potencjał wewnątrzkomórkowy, a gdy zostaje przekroczony potencjał progowy, sarkolema ulega depolaryzacji i następuje skurcz mięśnia (9, 10). Gdy acetylocholina przestaje oddziaływać na błonę komórek mięśniowych dochodzi do jej repolaryzacji dzięki wtórnemu napływowi jonów sodowych i potasowych na swoje poprzednie miejsce względem błony komórkowej. Powoduje to przywrócenie stanu pierwotnego komórki i doprowadza do zakończenia skurczu mięśnia.

Przepływ jonów przez błonę komórkową jest możliwy dzięki obecności specjalnego enzymu błonowego – ATP-azy  $\text{Na}^+\text{-K}^+$ , zwanej pompą sodowo-potasową. Działanie tej pompy polega na przenoszeniu trzech jonów  $\text{Na}^+$  na zewnątrz komórki oraz dwóch jonów  $\text{K}^+$  do jej wnętrza na zasadzie antyportu, który wymaga zużycia energii w postaci ATP.

Po terminacji sygnału pobudzającego płynącego z układu nerwowego, następuje repolaryzacja sarkolemy możliwa dzięki funkcjonowaniu pompy sodowo-potasowej, która na powrót przenosi jony sodu do płynu zewnątrzkomórkowego, a jony potasu do wnętrza komórki i przywraca tym samym potencjał spoczynkowy w komórce. W poprzednio opisanych



Ryc. 1. Mechanizmy wywołujące porażenie mięśni u koni z HYPP (1)

**Tabela 1.** Zestawienie różnic w sekwencji kodu genetycznego i łańcucha aminokwasów u koni zdrowych i koni z HYPP (4)

	Nukleotydy od 4243 do 4254	Aminokwasy od 1411 do 1420
Sekwencja u zdrowego konia	... ATC TTC GAC TTC...	...VGWNI <del>F</del> DFVV...
Sekwencja u konia z HYPP	... ATC TTG GAC TTC...	...VGWNI <del>L</del> DFVV...

badaniach u koni obarczonych hiperkaliemicznym okresowym porażeniem nie wykazano zaburzeń pompy sodowo-potasowej. Jednak podczas spoczynku, gdy komórka nie otrzymuje sygnałów z układu nerwowego, prawidłowo działająca pompa sodowo-potasowa utrzymuje stałe stężenie jonów sodowych i potasowych, wbrew gradientowi stężeń, po obu stronach błony komórkowej. Właśnie ta funkcja pompy sodowo-potasowej zostaje zaburzona u osobników obarczonych HYPP. Pompa sodowo-potasowa traci okresowo zdolność przenoszenia jonów potasowych i sodowych, czyli zostaje zmienione stężenie kationów po obu stronach błony komórkowej. Jony  $K^+$  zostają nadmiernie uwalnianie z komórki, a co za tym idzie, mięśnie stają się nadpobudliwe. W takim stanie sarkolema bardzo łatwo ulega niepożądaną depolaryzacji i pojawiają się patologiczne skurcze lub drżenia mięśni szkieletowych oraz podwyższenie poziomu potasu we krwi. Na **rycinie 1** przedstawiono schemat wyjaśniający mechanizmy prowadzące do ataków porażenia mięśni u koni z HYPP.

Nieprawidłowe działanie pompy sodowo-potasowej wynika z jej zmienionej struktury przestrzennej, a konkretnie zmiany konformacyjnej podjednostki alfa tego białka. Wada ta jest skutkiem zamiany jednego z aminokwasów na inny w łańcuchu polipeptydowym budującym tę podjednostkę. Nie doprowadza to do całkowitego uszkodzenia pompy sodowo-potasowej, a tylko do okresowej dysfunkcji tego enzymu, która objawia się samoistnie lub może być dodatkowo stymulowana różnymi czynnikami zewnętrznymi (11).

### Molekularne podłoże choroby

Hiperkaliemiczne porażenie okresowe u koni jest chorobą genetyczną, uwarunkowaną genem autosomalnym dominującym. W przypadku heterozygot choroba ma przebieg łagodny. U zwierząt homozygotycznych z dwiema kopiami wadliwego genu objawy HYPP występują już w okresie neonatalnym. W 2001 r. odnotowano, że około 50% źrebiąt homozygotycznych pada w pierwszym roku życia, a dalsze 30% do ukończenia 5 lat (12).

Choroba spowodowana jest wystąpieniem substytucji, prostej jednonukleotydowej mutacji punktowej w genie kodującym podjednostkę alfa kanału sodowego mięśni szkieletowych (SCN4A – sodium channel,

voltage-gated, type IV, alpha subunit), znajdującym się u konia na chromosomie 11 (12). Następuje podstawienie guaniny zamiast cytozyny w pozycji 4248. Powoduje to podstawienie w łańcuchu białkowym kanału sodowego, leucyny zamiast fenylalaniny (**tab. 1**), co prowadzi do zmiany konformacji białka błonowego i patologicznych zmian przepuszczalności pompy sodowo-potasowej (4).

### Objawy choroby

Hiperkaliemiczne porażenie okresowe u koni jest zaburzeniem wywołującym różnorodne objawy pod względem formy, nasilenia i czasu trwania, jednak zawsze powodują one zakłócenie pracy mięśni poprzecznie prążkowanych. Choroba ujawnia się najczęściej w wieku dwóch lub trzech lat, zdarzają się jednak przypadki wystąpienia objawów zarówno u źrebiąt, jak i koni starych. Zdiagnozowanie chorego osobnika jest trudne dlatego, że mogą u niego nie występować żadne objawy kliniczne przez całe życie lub wystąpić jednorazowo, co uniemożliwia stwierdzenie występowania zaburzeń typowych dla HYPP na podstawie obserwacji zwierzęcia.

Ataki HYPP mogą mieć bardzo różne podłoże. Napady choroby często wywołuje zbyt duża zawartość potasu w pożywieniu, dlatego konie obciążone tą chorobą nie powinny być karmione paszami zawierającymi w dużych ilościach ten pierwiastek. Bardzo niekorzystnie na konie z porażeniem hiperkaliemicznym wpływają też nagłe zmiany diety lub głódówka. Stwierdzono również stymulujący wpływ znieczulenia ogólnego, leków uspokajających, a także nawet krótkotrwałe przebywanie w bardzo niskiej temperaturze. Ponadto napady HYPP mogą pojawiać się u ciężarnych klaczy, w sytuacjach stresowych (np. transport koni), gdy koń nie ma zapewnionej dostatecznej ilości ruchu lub podczas odpoczynku po zbyt intensywnym wysiłku. Objawy mogą się również nasilać podczas przebiegu innych chorób. Najczęściej jednak ataki choroby, zwłaszcza początkowe, są nieprzewidywalne i bez konkretnego powodu. Napady występują w takim samym stopniu niezależnie od płci, a ich intensywność jest znacznie większa za dnia niż nocą (1, 2).

Czas trwania ataków wynosi od kilku minut do kilku godzin. Porażenia mięśni pod względem nasilenia można podzielić

na trzy kategorie: lekkie, średnie i ciężkie. Najczęstszymi są ataki pierwszej kategorii, które objawiają się w następujący sposób:

- okresowe drżenia pęczkowe mięśni różnych części ciała, głównie okolic szyi, łopatek, boków, żeber i bioder;
- skurcze mięśni głowy – marszczenie części twarzowej, świadczące o niepokoju konia;
- sztywność warg, wywołująca efekt szerokiego uśmiechu;
- wysunięcie fałdu półksiężycowatego spojówki („trzeciej powieki”);
- szybki, głośny i świszczący oddech;
- ślinienie się;
- nadmierne pocenie się, zwłaszcza w okolicy szyi i zadu;
- częste oddawanie moczu i kału.

Łagodny atak HYPP charakteryzuje się ogólnym lekkim osłabieniem konia, który może jednak stać i zachowywać normalną postawę.

Ataki o średnim natężeniu charakteryzuje ogólnie, ale znacznie silniejsze osłabienie mięśni. Do objawów, które występują w tej postaci choroby należą:

- rozszerzenie nozdrzy dające wyraz zaniepokojenia;
- problemy z polykaniem;
- przyspieszony oddech i akcja serca;
- nienaturalny odgłos podczas prób rżenia lub rżenia bezdźwięczne;
- pozycja „koziółka” z głową opuszczoną w dół, koń nie jest w stanie jej unieść do normalnej pozycji;
- kołysanie boczne i „ślanianie się” na kończynach;
- potykanie się i utrata równowagi;
- wykrzywanie kolan;
- przyjmowanie pozycji „siedzącego psa” (bardzo rzadko).

U młodych koni z silnymi objawami obserwuje się dodatkowo świst podczas oddychania lub porażenie krtani i zmniejszenie częstości oddechów. Ogólnie jednak konie z atakami o średniej intensywności pozostają relatywnie pobudliwe i czujne.

Najbardziej drastyczny i najpoważniejszy w skutkach jest ostry atak choroby. Może on prowadzić do upadku konia, który nie jest w stanie powstać oraz porażenia górnych dróg oddechowych, wymagającego przeprowadzenia tracheotomii. Najgorszym, ale najrzadszym skutkiem HYPP jest śmierć konia, która zazwyczaj jest nagła i niespodziewana, bez poprzedzających ją widocznych objawów. Jest ona spowodowana utratą wydolności układu oddechowego lub niewydolnością serca i układu krążenia.

### Diagnostyka kliniczna

Znalezienie odpowiednich metod diagnostycznych do wykrywania HYPP jest ważne ze względu na możliwości



niewystępowania klinicznych objawów defektu genetycznego oraz coraz szersze rozprzestrzenianie się choroby. Obecnie najbardziej dostępne i najskuteczniejsze są badania genetyczne. Nie wyklucza się jednak stosowania testów klinicznych, tym bardziej że odegrały one ważną rolę w bliższym poznaniu patogenezы choroby zanim były dostępne testy genetyczne.

Stosowano trzy metody klinicznych badań diagnostycznych. Główną był pomiar stężenia potasu w osoczu podczas ataku. Stężenie to może sięgać nawet 9,6 mmol/l, zazwyczaj jednak osiąga wartości 6–8 mmol/l, ale niekiedy bywa w normie (13). Podwyższone stężenie potasu w osoczu występuje jedynie w czasie ataku porażenia i utrzymuje się przez około dwie godziny. Dlatego ważne jest, aby szybko pobrać próbkę krwi do badań, gdy podejrzewane jest wystąpienie napadu. Krew do badań należy pobrać w czasie ataku, zaraz po jego zakończeniu i po 10 minutach. Po pobraniu krwi, powinno się jak najszybciej oddzielić osocze, aby nie doszło do hemolizy, gdyż potas uwolniony z erytrocytów może fałszywie podwyższać wyniki.

Natychmiastowe wyniki dają badania elektromiograficzne. Jednak do ich przeprowadzenia niezbędna jest odpowiednia aparatura. U zdrowych koni widoczne są jedynie pojedyncze potencjały związane z wkłuciem elektrody. U koni z HYPP występują spontaniczne potencjały związane z drganiami włóknkowymi i fale dodatnie. Najbardziej charakterystyczne są wyładowania miotoniczne i pseudomiotoniczne oraz ciągi zdwojonych potencjałów czynnościowych. Wykazanie zdwojonych potencjałów w czynnościowych w odpowiedzi na ruch elektrody świadczy o nadmiernej pobudliwości błon i pozwala na rozpoznanie defektu (14).

Inną metodą jest próba prowokacyjna z podaniem chlorku potasu. Próba ta polega na głodzeniu konia przez 12 godzin, a następnie doustnym podaniu 1% chlorku potasu w dawce 0,1 g KCl/ kg m.c. Zwierzę jest monitorowane przez 6 godzin. U koni z HYPP objawy choroby zwykle pojawiają się po 1–3 godzinach od podania roztworu. Dla upewnienia się co do wyników, badanie powtarza się pięciokrotnie (15). Metoda ta przestała być stosowana, ponieważ znane są inne i skuteczniejsze badania stwierdzające występowanie choroby, a przede wszystkim ze względu na to, że wywołanie ataku porażenia może prowadzić do bardzo poważnych konsekwencji, gdyż zdarzały się nawet przypadki śmiertelne.

### Diagnostyka molekularna

Zasady postępowania ustanowione przez AQHA obligują hodowców do



Ryc. 2. Wyniki symulacji komputerowej cięcia enzymem restrykcyjnym *TaqI* fragmentu egzonu 23 zawierającego gen SNC4A o długości 250 par zasad (pz) u: a) konia zdrowego, b) konia chorego na HYPP (4)

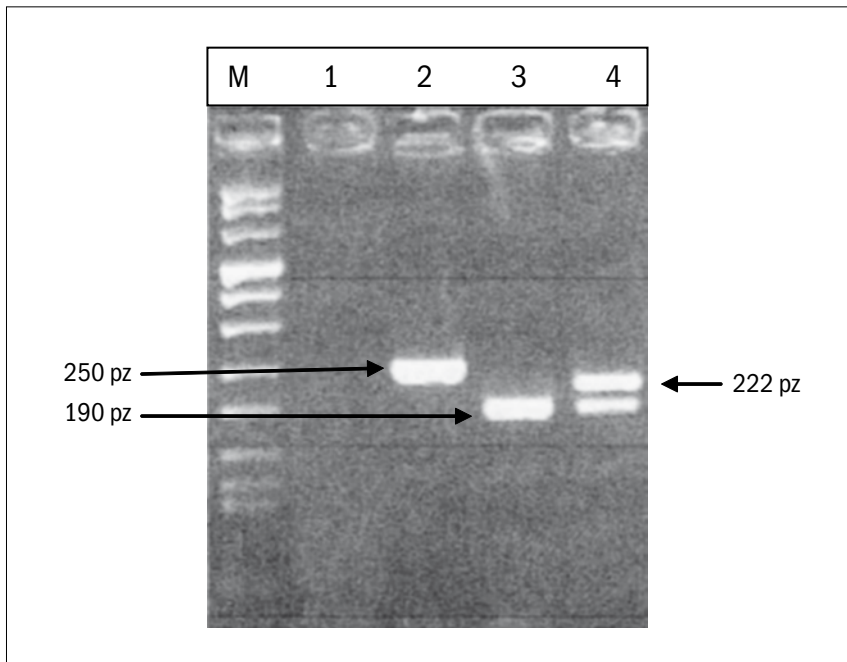
przeprowadzania testów genetycznych wśród potomków ogiera Impressive urodzonych po 1998 r. Badania takie, aby były uznane za wiarygodne, muszą być wykonywane w jednym z pięciu rekomendowanych laboratoriów. Głównym jest laboratorium Uniwersytetu Kalifornijskiego w Davis. Można również skontaktować się z AQHA w celu zamówienia komercyjnego zestawu do analizy DNA z cebulek włosów. Koszt przeprowadzenia badania wynosi 35 USD (16).

Obecnie stosowany test genetyczny na obecność zmutowanego genu kodującego podjednostkę alfa kanału sodowo-potasowego jest badaniem prostym i dość szybkim. Opiera się on na zastosowaniu łańcuchowej reakcji polimerazy (polymerase chain reaction – PCR) oraz cięcia enzymem restrykcyjnym *TaqI*. Amplifikację fragmentu egzonu 23, w którym mieści się gen SNC4A umożliwia para starterów – forward o sekwencji 5' TATGACTTTTGTGACGAAGCAGGT 3' oraz reverse 5' CCACAATGGACAGGATGACAAC 3'. Długość powielanego odcinka DNA wynosi 250 par zasad i zawiera nukleotydy od 4030 do 4279. Następnie zamplifikowane fragmenty zostają poddane działaniu enzymu restrykcyjnego *TaqI* (4).

Na **rycinie 2** zostały przedstawione wyniki symulacji komputerowej cięcia enzymem restrykcyjnym *TaqI* badanego fragmentu egzonu 23 zawierającego gen SNC4A o długości 250 par zasad u konia zdrowego oraz u konia chorego na HYPP. Wirtualne cięcie zostało wykonane za pomocą programu Webcutter 2.0.

Symulacja ukazuje działanie enzymu restrykcyjnego *TaqI*. Enzym ten tnie DNA w miejscu rozpoznania specyficznej dla niego sekwencji t/cga (/ – miejsce, w którym *TaqI* przecina nić DNA). W przypadku zdrowego osobnika amplifikowana sekwencja zostaje przecięta w dwóch miejscach, w pozycji 26 i 218. Co świadczy o tym, iż enzym odcina fragment 26 pz od końca 5' oraz od strony 3' fragment o długości 32 pz. Po działaniu enzymu pozostaje sekwencja o długości 190 pz.

Gdy użyty zostanie enzym *TaqI* do cięcia tego samego fragmentu DNA u konia chorego na HYPP, wyniki są zdecydowanie inne. Dzieje się tak, ponieważ następuje zamiana nukleotydów w miejscu rozpoznawanym przez *TaqI*, co uniemożliwia cięcie w tym regionie. Dochodzi wówczas do znalezienia tylko jednego miejsca cięcia fragmentu w pozycji 26, czyli do odcięcia fragmentu o długości 26 pz z końca 5'. Wynikiem tego jest powstanie fragmentu



**Ryc. 3.** Porównanie wyników testu DNA u konia zdrowego i nosiciela genu HYPP (4)

Objaśnienia: M – standard masy, 1 – negatywna kontrola DNA, 2 – produkt PCR (fragment egzonu 23) niepocięty enzymem restrykcyjnym, 3 – produkt PCR pocięty enzymem restrykcyjnym *TaqI* – bez mutacji, 4 – produkt PCR pocięty enzymem restrykcyjnym *TaqI* – heterozygota

DNA o długości 222 pz (ryc. 3; 4). Dzięki znaczącej różnicy w długości powstałych fragmentów u koni zdrowych i koni z HYPP możliwe jest łatwe i szybkie zdiagnozowanie nosiciela zmutowanego genu.

Od czasu wprowadzenia obowiązkowych testów genetycznych i konieczności odnotowywania ich wyników w rodowodach hodowcy mogą mieć pewność, że nabywają zdrowe konie. Problem pojawia się jednak, jeżeli chodzi o konie urodzone przed 1998 r., wówczas badania były dostępne, ale nie obowiązkowe i wielu właścicieli koni rasy AQH nie skorzystało z możliwości przebadania swoich koni.

Przeprowadzanie testów genetycznych zalecane jest tylko u potomków ogiera Impressive, ponieważ do tej pory nie jest znana żadna inna linia hodowlana koni, w której występowałaby ta mutacja. Nie przeprowadza się testów genetycznych potomków ogiera Impressive, u których żadne z rodziców nie ma ani jednego wadliwego allelu.

## Postępowanie z chorymi końmi

### Dieta

Podstawowym sposobem ograniczającym występowanie objawów choroby jest stosowanie diety niskopotasowej (17). Stwierdzono, że występuje interakcja między pojawieniem się objawów HYPP a dietą. Udowodniono to w doświadczeniu, w którym stosowano trzy rodzaje diet, które różniły się jedynie zawartością potasu. Dieta A zawierała 1,1% tego pierwiastka, dieta B 1,9%, a dieta C 2,9%. Doświadczenie

przeprowadzono na kłaczach zdrowych (N/N) oraz będących heterozygotami pod względem HYPP (N/H). Wyniki przedstawiały się następująco: u kłaczy zdrowych żadna z diet nie wywołała objawów klinicznych, u kłaczy z HYPP dieta A (niskopotasowa) nie wywołała ataku choroby. Natomiast diety B i C spowodowały napady porażenia, przy czym dieta B u 52%, a dieta C u 67% kłaczy.

Wyniki tych badań jednoznacznie wskazują na duży wpływ diety na wystąpienie objawów choroby. Może być to wskazówką dla hodowców w doborze odpowiedniej diety dla koni chorych na HYPP. Wprowadzenie właściwego żywienia nie wyeliminuje całkowicie problemów z zaburzeniem, ale polepszy kondycję zdrowotną i zapewni lepszy komfort życia konia (3). Przydatna może być fachowa pomoc dietetyka, gdyż zmniejszenie ilości potasu w całkowitej diecie konia nie jest łatwa. Trudność stanowi fakt, iż potas jest prawie całkowicie wchłaniany z jelit oraz że pierwiastek ten występuje w dużych ilościach w większości pasz dla koni. Konie, u których ataki są dość częste powinny przyjmować w diecie od 0,6 do 1,5% potasu w całkowitej suchej masie, a ilość potasu w posiłku nie powinna przekroczyć 33 g.

Właściciele koni chorych na HYPP powinni unikać podawania koniom pasz o wysokiej zawartości potasu, takich jak: siano z lucerny siewnej i stokłosy, otrębów (ok. 1,3% K<sup>+</sup>), mączki sojowej (ok. 2,1% K<sup>+</sup>) i rzepakowej (ok. 1,3% K<sup>+</sup>), a także cukru oraz melasy buraczanej (ok. 6%). Zamiast nich do diety należy wprowadzić:

siano z tymotki łąkowej i trawy bermudzkiej oraz ziarno owsa, pszenicy, jęczmienia i kukurydzy. Korzystne są wysłodki buraczane.

Niestety, pasze niskopotasowe zawierają też najczęściej małe ilości białka oraz fosforu, a niektóre także mało karotenu. Dorosłe konie tolerują te niedobory i nie wpływa to niekorzystnie na ich zdrowie, jednak w przypadku młodych koni takie braki mogą mieć znaczenie. Zalecane są mieszanki z ziaren o niskiej zawartości potasu – najlepiej owsa oraz mączki sojowej, która podnosi zawartość fosforu i jest paszą wysokobiałkową. Taki zestaw należy też podawać kłaczom w końcowym etapie ciąży i jakiś czas po wyżrebieniu. Młodym koniom nie należy natomiast podawać lucerny, ponieważ zawiera ona bardzo dużo wapnia, co powoduje dysproporcje w stosunku ilościowym wapnia do fosforu, a to z kolei powoduje skurcze mięśni. Nie dotyczy to koni dorosłych, które tolerują wysokie stężenie wapnia w organizmie bez negatywnych skutków dla zdrowia (1, 2).

Dodatkowe zalecenia odnośnie do sposobu żywienia koni chorych na HYPP są następujące: należy unikać długich przerw między posiłkami, gdyż głodzenie stymuluje porażenia; powinno się także unikać nagłych zmian w diecie lub znaczących zmian wielkości racji żywieniowej oraz stosowania suplementów diety, na przykład na bazie krasnorostów, które zawierają wysokie stężenie potasu.

Czasem, pomimo stosowania odpowiedniej diety o niskiej zawartości potasu, dochodzi do ataków drżenia mięśni. Należy wówczas podać ziarno owsa lub najlepiej 60 ml syropu z kukurydzy, które wspomaga wydzielanie insuliny. Hormon ten nasila przemieszczanie się kationów potasu do miocytów (1, 2).

Wszystkie wymienione zalecenia dietetyczne można odnieść do większości przypadków koni z HYPP. Nie jest to jednak regułą, ponieważ wiele koni może chorować bezobjawowo, pomimo wysokiej zawartości potasu w przyjmowanej paszy. Wskazuje to, iż konie mogą się adaptować do diety bogatej w ten pierwiastek. Do takiego przystosowania może dojść w ciągu dwóch tygodni, podczas których następuje zmniejszenie wahań stężenia potasu we krwi, czego konsekwencją jest obniżenie częstości występowania objawów klinicznych.

### Opieka nad końmi

Nadmiar potasu w paszy nie jest jedyną przyczyną wywołującą napady choroby. Są również inne czynniki związane z utrzymaniem koni, które mogą zapobiegać lub łagodzić napady HYPP. W łagodnych przypadkach, gdy koń zaczyna przejawiać oznaki zaburzeń związanych

z HYPP wprowadzenie odpowiednich ćwiczeń może czasem zatrzymać epizodyczne drżenia mięśni. W czasie lekkich ataków należy ćwiczyć z koniem – prowadząc go i lonżując. Należy zwrócić uwagę na to, aby ruch był spokojny, gdyż koń może potknąć się lub upaść. Taki trening stymuluje wydzielanie adrenaliny, która pomaga komórkom mięśniowym wychwytywać kationy potasu.

Tego rodzaju ćwiczenia zalecane są koniom z HYPP w ciągu całego życia, nie tylko podczas ataków. Należy ich jednak unikać w czasie 2 do 5 godzin po posiłku, ponieważ wówczas ilość potasu we krwi osiąga najwyższe stężenie, które może wywołać silne ataki. W tym też okresie powinno się obserwować konia w celu odnotowania ewentualnego pojawienia się objawów klinicznych choroby.

Poprawa komfortu życia koni z HYPP jest obowiązkiem każdego właściciela, dlatego powinni oni zapewniać im jak najbardziej dogodne warunki. Konie z tym zaburzeniem zdecydowanie lepiej czują się wypuszczone na cały dzień lub na tak długo jak to możliwe, na otwarte duże wybiegi, padoki lub zagrody – a najlepiej pastwiska, nie powinny być zamykane na małej przestrzeni. Wówczas, nawet gdy odżywiają się lucerną bez dodatku ziaren o niskiej zawartości potasu (owsa, pszenicy, jęczmienia), nie występują u nich ataki choroby. Dzieje się tak za sprawą trzech czynników: konie jedzą wówczas małe porcje przez cały dzień, trawa ma wysoką zawartość wody, wskutek czego konie nie spożywają dużych ilości potasu w krótkim czasie a ponadto mają zapewnioną możliwość stałego, ale niezbyt intensywnego ruchu, który stymuluje ich organizm do utrzymania właściwego poziomu potasu w surowicy krwi (1, 2).

Istotna dla hodowców jest z pewnością kwestia jazdy wierzchem na koniach z HYPP, ponieważ są często wykorzystywane do jazdy rekreacyjnej. Prawdopodobieństwo wystąpienia ataku choroby podczas jazdy konnej jest niewielkie (4). Obserwowano natomiast napady w czasie odpoczynku po zakończonym wysiłku. Wobec tego, że skurcze i drżenia mięśni są nieprzewidywalne i nie można zagwarantować, że nie wystąpią podczas jazdy zaleca się, aby koni z HYPP dosiadali tylko doświadczeni jeźdźcy, świadomi, jakie są objawy choroby i znający zachowanie konia. Konie z tym zaburzeniem nie są odpowiednimi partnerami dla młodych i początkujących amatorów jazdy konnej.

W ciężkich przypadkach choroby, gdy dochodzi do zalegania koni powyżej 8 godzin może dojść do niedokrwiennego rozpadu mięśni poprzedzającego prądkowania. W tym wypadku konieczne jest zastosowanie pasów utrzymujących konia w pozycji stojącej.

Kolejnymi istotnymi zaleceniami dla właścicieli koni z hiperkaliemicznym porażeniem okresowym jest unikanie stresowania zwierząt przez zminimalizowanie częstości ich transportowania, a podczas przewożenia robienie postojów i pojenie co ok. 2 godziny i stosowanie szczepień ochronnych oraz programów odrobaczenia, gdyż inne choroby sprzyjają pojawieniu się ataków porażenia. W boksach dla koni powinny być umieszczone lizawki i znajdować się poidła. Dostępność wody ppomaga usunąć nadmiar potasu z krwi, a lizawka uzupełnia zapotrzebowanie na inne pierwiastki.

### Leczenie

W wypadku poważnego ataku choroby wskazane jest dożylnie podanie 5% glukozy w dawce 2–6 ml/kg m.c. jednocześnie z podaniem wodorowęglanu sodu (od 1 do 2 mmol/kg m.c.) lub 23% roztworu glukonianu wapnia (0,2–0,4 ml/kg m.c.). Wlew preparatu wapniowego powinien być powolny. Podanie glukozy i wodorowęglanu ułatwia wnikanie potasu do komórek i chroni mięsień sercowy przed kardiotoksycznym działaniem tego pierwiastka. Podanie preparatu wapniowego przynosi poprawę za sprawą wzrostu stężenia wapnia podnoszącego potencjał progowy błony komórek mięśniowych i zmniejsza ich nadpobudliwość.

Długotrwałe postępowanie polega przede wszystkim na stosowaniu odpowiedniej diety. Farmakoterapia polega na zastosowaniu diuretyków, które nasilą wydalanie potasu z moczem. W tym celu stosuje się przede wszystkim acetalozamid w dawce od 2 do 3 mg/kg m.c. Lek podaje się doustnie dwa lub trzy razy dziennie. Acetalozamid poza stymulacją wydalania jonów potasowych stabilizuje stężenie glukozy we krwi poprzez pobudzenie wydzielania insuliny (1, 2).

Możliwe jest również zastosowanie hydrochlortiazydu w dawce 0,5 mg/kg m.c. Lek podaje się doustnie dwa razy dziennie. W czasie leczenia powinno się stopniowo zmniejszać dawkę leków, aż do ustalenia najmniejszej skutecznej dawki (3).

Podawanie obu leków podlega jednak ograniczeniom. Nie mogą one być stosowane u koni podczas zawodów. Często wymagany jest nawet certyfikat weterynaryjny potwierdzający brak tych substancji w organizmie koni biorących udział w zawodach. Podanie diuretyków może być bowiem stosowane w celu maskowania użycia środków dopingujących (1).

Zastosowanie środków używanych do znieczulenia ogólnego może być groźne dla koni z HYPP. Aby temu zapobiec należy przed i po narkozie zastosować terapię acetazolamidem.

### Podsumowanie

W Polsce hodowana jest trudna do określenia, lecz raczej niewielka liczba koni rasy quarter horse. Powstało nawet stowarzyszenie hodowców noszące nazwę Polish Quarter Horse Association (<http://www.plqha.com/go.live.php>), które w 2007 r. zostało uznane przez American Quarter Horse Association. Nie wiadomo, czy wśród koni hodowanych w naszym kraju znajdują się potomkowie ogiera Impressive obciążeni defektem genetycznym odpowiedzialnym za HYPP. Wobec tego, że polscy właściciele tych koni mają kontakty z hodowcami w USA, można mieć nadzieję, że zadbają o przeprowadzenie odpowiednich badań.

### Piśmiennictwo

1. Spier S.J.: Hyperkalemic periodic paralysis. W: Smith B.P. (edit.): *Large Animal Internal Medicine*, 4<sup>th</sup> ed., Mosby Elsevier, 2009, s. 1395-1398.
2. Reed S.M., Bayly W.M., Sellon D.C.: *Equine Internal Medicine*. 2<sup>nd</sup> ed., Saunders, 2004, s. 494-497.
3. J.M. Naylor: Equine hyperkalemic periodic paralysis: Review and implications. *Can. Vet. J.* 1994, **35**, 279-285.
4. O'Rourke B. A., Dennis J. A., Healy P. J.: Internal restriction sites: quality assurance aids in genotyping. *J. Vet. Diagn. Invest.* 2006, **18**, 195-197.
5. Cox J.H.: An episodic weakness in four horses associated with intermittent serum hyperkalemia and similarity of the disease in hyperkalemic periodic paresis in man. *Proc. Assoc. Equine Pract.* 1985, **31**, 383-391.
6. Steiss J.E., Naylor J.M.: Episodic muscle tremors in quarter horse: Resemblance to hyperkalemic periodic paralysis. *Can. Vet. J.* 1986, **27**, 332-335.
7. Naylor J.M., Robinson J.A., Bertone J.: Familial incidence of equine hyperkalemic periodic paralysis in Quarter Horses. *J. Am. Med. Vet. Assoc.* 1992, **200**, 340-343.
8. Rudolph J.A., Spier S.J., Byrns G., Hoffman E.P.: Linkage of hyperkalemic periodic paralysis in Quarter horse to the adult skeletal muscle sodium channel gene. *Nature Genet.* 1993, **2**, 144-147.
9. Krzymowski T., Przała J. (red.): *Fizjologia zwierząt*. Wydawnictwo PWRiL, Warszawa 2005.
10. Traczyk W. Z., Trzebski A. (red.): *Fizjologia człowieka z elementami fizjologii stosowanej i klinicznej*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa, 2004, s. 820-821.
11. Lengel J. P., Belge H., Devuyt O.: Periodic paralyses: when channel go wrong. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2008, **23**, 1098-1101.
12. Bowling A.T.: *Horse Genetic*. CAB International UK, 1996, s. 99-100.
13. Steiss J. E., Naylor J. M.: Episodic muscle tremors in Quarter Horse: resemblance to hyperkalemic periodic paralysis. *Can. Vet. J.* 1986, **27**, 332-335.
14. Robinson J.A., Naylor J.M., Crichtow E.C.: Use of electromyography for the diagnosis of equine hyperkalemic periodic paralysis. *Can. J. Vet. Res.* 1990, **54**, 495-500.
15. Naylor J.M., Jones V., Berry S-L.: Clinical syndrome and diagnosis of hyperkalemia periodic paralysis in Quarter Horses. *Equine Vet. J.* 1993, **25**, 227-232.
16. Hyperkalemic Periodic Paralysis (HYPP). [www.vgl.ucdavis.edu/services/hypp.php](http://www.vgl.ucdavis.edu/services/hypp.php)
17. Reynolds J. A., Potter G. D., Greene L. W., Wu G., Carter G. K., Martin M. T., Peterson T. V., Murray-Gerzik M., Moss G., Erkert R. S.: Genetic-diet interactions in the hyperkalemic periodic paralysis syndrome in Quarter Horses fed varying amounts of potassium: Part II. Symptoms of HYPP. *J. Equine Vet. Sci.* 1998, **18**, 655-661.

Inż. Paulina Wojtulewicz, Wydział Nauk o Zwierzętach, Szkoła Główna Gospodarstwa Wiejskiego, ul. Ciszewskiego 8, 02-786 Warszawa