



Institutionen för anatomi, fysiologi och biokemi

Rapport forskningsanslag

Till: Agrias och SKKs Forskningsfond för sällskapsdjur
Svenska Kennelklubben
Ulla-Britt Karlmann
163 85 Spånga

Från: Katja Höglund, VMD, PhD, universitetslektor
Inst. för anatomi, fysiologi & biokemi, SLU
Box 7011
750 07 Uppsala
Katja.Hoglund@slu.se
Tel: 018/672118
Fax: 018/672111

Uppsala den 21 juni 2012

Stort tack för ert bidrag till studien 'Påverkan av stress på blodtryck och njurfunktion hos friska hundar'. Denna studie har genomförts som en del av ett stort EU-finansierat projekt, 'Identifiering av den genetiska bakgrunden till variationer i blodtryck, blodfetter och blodsocker hos friska hundar'.

Bakgrund

I EU-projektet undersöks den ärftliga bakgrunden till flera sjukdomar som drabbar både människa och hund. Högt blodtryck är en folkhälsosjukdom och förändringar i blodfetter och ämnesomsättning är vanliga orsaker till ohälsa. Förhoppningen är att vi genom att lära oss mer om blodtryck och ämnesomsättning hos hund också bättre kommer att förstå människan. Därmed kan diagnostik och behandling av både hundar och människor förbättras.

Blodtrycket varierar med aktivitet och påverkas av stress. Vid stresspåslag ökar frisättningen av flera olika hormoner i kroppen och olika organsystem påverkas såsom hjärtkärlsystemet, lungorna och gastrointestinal-kanalen. I denna studie ville vi även undersöka stressens eventuella påverkan på njurfunktionen hos hundar. Målsättningen var att undersöka blodtryck och hjärtfrekvens under olika kliniska situationer, att mäta koncentrationen av stress-hormoner samt att undersöka om njurarnas filtrations- och koncentrationsmekanismer påverkas under klinisk undersökning hos friska hundar av olika raser. Stress-hormoner samt de olika njurvariablerna har analyserats i urinprover. Tidigare analysmetoder för dessa ämnen har varit omständliga och dyra som HPLC (high pressure liquid chromatography) alternativt inneburit hantering av radioaktiva ämnen; RIA (radioimmunoassay). Vi har därför i denna studie utvärderat nya ELISA-metoder för flertalet av analyserna.

| | | | | |
|----------------------------|---------------------|-------------|------------|----------------------|
| <i>Postadress</i> | <i>Besöksadress</i> | <i>Tel.</i> | <i>Fax</i> | <i>E-mail</i> |
| Box 7011 750 07 UPPSALA | HVC Ulls väg 27D | 018-672118 | 018-672111 | Katja.Hoglund@slu.se |

Förberedelse inför undersökningen

Hundägarna tog urinprov från sina hundar hemma på morgonen innan undersökningen, samt omedelbart efter undersökningen. Urinproven frystes ned och förvarades i -80°C fram till analys. För att morgonprovet verkligen skulle bli ett kontrollprov (dvs tas från en så ostressad hund som möjligt) instruerades hundägarna att träna hundarna att kissa i ett uppsamlingskärl några dagar innan undersökningen. Hundarna tränades även i att ha ett elastiskt band runt bröstkorgen (inför pulsmätningen) samt en manschett runt svansroten (inför blodtrycks-mätningen). På undersökningsdagen fastades hundarna och vattenskålen togs bort kl 7.

Undersökning

Efter att hunden och hundägaren anlänt till kliniken cirka kl 10 försågs hundarna med en s.k. Polarmätare (Polar Electro Oy, Finland), vilket är en pulsmätare som fästs runt hundens bröstkorg och som kontinuerligt sparar pulsfrekvensen elektroniskt. Efter att hunden fått vänja sig vid miljön i undersökningsrummet en stund startade blodtrycksmätningen. Den utfördes på stående hund med en manschett som fästes runt hundens svansrot (Vet HDO Memo-diagnostic SN1908, Germany) under fyra olika situationer:

- 1) standardsituation med både veterinär och hundägare i rummet
- 2) därefter hundägaren själv sedan veterinären lämnat rummet
- 3) därefter veterinären ensam direkt efter att hundägaren lämnat rummet
- 4) slutligen veterinären ensam medan hunden lyssnade till en pipleksak

För att säkerställa att hundarna var friska gjordes därefter också en klinisk undersökning, EKG, ultraljudsundersökning av hjärtat samt standard blod- och urinprovsanalyser. Dessutom vägdes hundarna efter att hund och ägare fått gå till en våg ute i korridoren. Efter att alla mätningar avslutats fick ägaren ta ett nytt urinprov från sin hund utanför kliniken, cirka kl 12. Sammanlagt har 46 labradorer, 35 Cavalier King Charles spaniels, 16 taxar och 15 boxrar undersökts i Sverige.

Urinanalyser

Urinens densitet mättes i färsk urin med en elektronisk refraktometer validerad för hundurin (Atago Pocket Refractometer PAL-USG (DOG), Atago Co.,Ltd, Japan). Alla frysta urinprover analyserades i batcher av vår biomedicinska analytiker efter validering av ELISA-metoderna för hund i vårt laboratorium. För samtliga variabler gjordes jämförelser mellan morgon-urinprovet och provet taget efter undersökningen.

Resultat

Blodtryck och puls

Det genomsnittliga blodtrycket för alla hundar i standardsituationen (med både veterinär och hundägare i rummet) var 139/71 mmHg (systoliskt/diastoliskt tryck), vilket stämmer väl med tidigare publicerade resultat på friska hundar. När vi jämförde de olika situationerna med varandra visade det sig att blodtrycket var högre när veterinären var ensam med hunden i rummet, jämfört med när ägaren var med. Det genomsnittliga trycket höll sig inom referensvärden i alla situationer, men variationen mellan hundarna var stor med enstaka blodtrycksvärden upp till 180/109 mmHg i standard-situationen och 200/141 mmHg i situationen då veterinären var ensam med hunden i rummet. Även låga värden sågs hos vissa hundar med systoliska tryck ned till 105 mmHg och distoliska ned till 40 mmHg i flera situationer. Vid jämförelse mellan raserna sågs inga skillnader i systoliskt tryck. Det diastoliska trycket var högre hos taxar än labradorer.

| | | | | |
|-------------------|---------------------|-------------|------------|----------------------|
| <i>Postadress</i> | <i>Besöksadress</i> | <i>Tel.</i> | <i>Fax</i> | <i>E-mail</i> |
| Box 7011 | HVC | 018-672118 | 018-672111 | Katja.Hoglund@slu.se |
| 750 07 UPPSALA | Ulls väg 27D | | | |

Även pulsen skiljde sig mellan raserna, med högre puls hos Cavalier King Charles spaniels än övriga raser under en stor del av undersökningen. Vid jämförelse mellan situationerna var pulsen högst då veterinären var ensam med hunden under blodtrycksmätningen samt när hunden gick till vågen med sin ägare för att mäta kroppsvikten. Lägst var pulsen när hunden låg ned på sidan vid EKG-undersökningen. Medelpulsen för alla hundar i standardsituationen var 105 slag/min, men den varierade mellan 53 och 172 slag/min.

Stresshormoner

För att korrigera för urinflödet undersöktes koncentrationen av stresshormonerna i förhållande till kreatinin-koncentrationen. Adrenalin/kreatinin och noradrenalin/kreatinin-kvoterna ökade markant i provet taget efter undersökningen jämfört med morgonprovet hos alla hundar. Båda kvoterna ökade mest hos Cavalier King Charles spaniel och tax, och minst hos labradorerna. Även kortisol/kreatinin-kvoten steg signifikant i provet taget efter undersökningen hos alla hundar, vilket tyder på att undersökningen upplevdes som stressande eller upphetsande för hundarna. ELISA-metoderna för alla stress-hormoner validerades i vårt laboratorium innan analys och fungerade väl.

Markörer för njurfunktion

Urindensiteten var inom referensvärde både innan och efter undersökningen. Men trots att hundarna inte haft tillgång till vatten, och borde koncentrera sin urin, var densiteten lägre efter undersökningen jämfört med morgonprovet. Möjliga förklaringar är att den upplevda stressen vid undersökningarna gett upphov till högre blodtryck i de afferenta arteriolerna, dvs de kärl som leder till glomeruli där filtrationen äger rum i njurarna, och därmed en ökad filtrationshastighet. En annan möjlighet är att njurarnas koncentrationsförmåga skulle påverkas av stressen. För att undersöka dessa mekanismer analyserades kreatinin, en nedbrytningsprodukt från kroppens muskelmetabolism som utsöndras med urinen och är en vedertagen markör för njurarnas filtrationsförmåga. En nackdel med kreatinin är att resultaten kan påverkas av flera faktorer, bland annat individens muskelmassa. Vi valde därför att även analysera en annan filtrationsmarkör, cystatin-C, som är oberoende av individens muskelmassa och därför används alltmer på humansidan. Både kreatinin och cystatin-C ökade signifikant efter undersökningen, vilket tyder på en ökad filtration. För att utvärdera njurarnas koncentrationsförmåga analyserade vi ADH (antidiuretiskt hormon) samt aquaporin-2, dvs de vattenkanaler som aktiveras av ADH, när kroppen behöver spara på vatten och urinen ska koncentreras. Vi hittade en ny ELISA-metod för aquaporin-2 som vi tog hem från Kina, Denna ELISA samt ELISAn för ADH validerades därefter för hundurin. Analyserna fungerade väl och resultaten visade att njurarna arbetade för att koncentrera urinen, men att koncentrationsmekanismerna inte påverkades av undersökningen. Vår slutsats blev därför att stress-påverkan ledde till ökad filtration, vilket gav upphov till den sänkta densiteten efter undersökningen.

Hemmätningar

För att få en uppfattning av hur mycket klinikmiljön påverkar resultaten upprepades blodtrycksmätningen i de fyra situationerna på 13 av labradorerna i deras hem. Urinprover togs innan och efter undersökningen och analyserades avseende adrenalin och noradrenalin. Varken blodtryck eller puls skiljde sig mellan klinik och hemmiljö, medan adrenalin/kreatinin kvoten var lägre efter undersökning hemma än efter undersökning på klinik. Resultaten av hemmätningarna bör tolkas med försiktighet eftersom antalet hundar var litet och bara gjordes på labradorer, dvs den ras som visade sig ha lägst blodtryck, puls och stresshormon-koncentration på kliniken.

| | | | | |
|-------------------|---------------------|-------------|------------|----------------------|
| <i>Postadress</i> | <i>Besöksadress</i> | <i>Tel.</i> | <i>Fax</i> | <i>E-mail</i> |
| Box 7011 | HVC | 018-672118 | 018-672111 | Katja.Hoglund@slu.se |
| 750 07 UPPSALA | Ulls väg 27D | | | |

Muntlig och skriftlig redovisning av resultat

Resultat har presenterats muntligt på två internationella vetenskapliga kongresser (21st European College of Veterinary Internal Medicine (ECVIM-CA) Congress, Seville, Spain, September 2011) och 30th American College of Veterinary Internal Medicine Congress (ACVIM), New Orleans, LA, USA June 2012).

En vetenskaplig publikation är inskickad till en internationell tidskrift och genomgår just refereegranskning. Ytterligare en publikation håller på att skrivas.

Två examensarbeten har publicerats:

- Blodtryck och hjärtfrekvens hos friska hundar under olika situationer i klinik- och hemmiljö av Lisa Dahl <http://epsilon.slu.se> ISSN 1652-8697 Examensarbete 2011:14
- Hjärtfrekvens och hjärtfrekvensvariabilitet hos friska hundar – en jämförelse mellan olika raser och kliniska situationer av Anna Westlindh <http://epsilon.slu.se> ISSN 1652-8697 Examensarbete 2011:5

Sammanfattning och slutsatser

Resultaten visar att upphetsning eller stress i samband med veterinärundersökning på en klinik kan påverka både blodtryck och puls på friska hundar. Enstaka hundar hade mycket höga blodtrycksvärden trots att alla undersökningsresultat visade att de var friska, vilket visar på vikten att bedöma hundens stressnivå då resultat av blodtrycksmätningar tolkas. Eftersom både blodtryck och puls steg då djurägaren lämnade rummet, rekommenderar vi att djurägaren närvarar vid blodtrycksmätning på klinik och att mätningen sker under så lugna förhållanden som möjligt.

Labradorerna hade lägre diastoliskt blodtryck, lägre puls och lägre koncentration av adrenalin och noradrenalin än de andra raserna, och var också den ras som betedde sig lugnast. De höga nivåerna av stresshormoner och puls hos Cavaliererna kan möjligen vara kopplat till deras tidiga utveckling av kronisk hjärtklaffsdegeneration. Detta är ett intressant fynd som bör undersökas vidare.

Utvärderingen av hundarnas njurfunktion visade att stress kan leda till ökad filtration hos friska hundar, medan koncentrationsmekanismerna var opåverkade. Den ökade filtrationshastigheten ledde sannolikt till den sänkta densiteten efter undersökningen, vilket bör beaktas då mätvärden tolkas i en klinisk situation. Ett flertal nya ELISA-metoder har validerats för hund med goda resultat, vilket kan ge underlag för kliniskt användbara diagnostiska metoder.

En genanalys är utförd på varje hund och dessa data analyseras nu av genetiker i Belgien och sammanställs med blodtrycksresultaten. Förhoppningsvis kommer resultaten att ge ytterligare information om bakomliggande orsaker till variationer i blodtryck hos hundar.

Vi vill återigen tacka för att ni möjliggjort denna studie.

Bästa hälsningar

Katja Höglund, VMD, PhD, universitetslektor

| | | | | |
|----------------------------|---------------------|-------------|------------|----------------------|
| <i>Postadress</i> | <i>Besöksadress</i> | <i>Tel.</i> | <i>Fax</i> | <i>E-mail</i> |
| Box 7011 750 07 UPPSALA | HVC Ulls väg 27D | 018-672118 | 018-672111 | Katja.Hoglund@slu.se |