

PRAKTYKA LABORATORYJNA

JAN KOTWICA, TADEUSZ KRZYMOWSKI, JADWIGA DĘBEK

Kaniulizowanie naczyń żylnych u świń do badań endokrynologicznych

Z Instytutu Fizjologii i Biochemii Zwierząt AR-T w Olsztynie

W badaniach nad fizjologią i patologią układu rozrodczego świń, a szczególnie w badaniach endokrynologicznych, istnieje potrzeba wielokrotnego pobierania krwi w ciągu dnia, bądź też przez okres kilku lub kilkunastu dni. Wielokrotne pobieranie próbek krwi przez każdorazowe nakłucie żył nie może być stosowane u świń, ze względu na nieuniknione przy tym silne niepokojenie zwierząt (działanie stresorów zmieniających bieg regulacji hormonalnej). Jedynie trwałe kaniulizowanie naczyń krwionośnych pozwala na wielokrotne pobieranie krwi bez ubocznych szkodliwych skutków w naturalnych warunkach bytowych świń. Musi ono jednak spełniać trzy podstawowe warunki:

- być proste w wykonaniu,
- być trwałe przez żądany okres czasu (np. przez okres jednego cyklu estralnego świni),
- zapewniać łatwość pobierania krwi bez ujarzmiania zwierząt.

Shearer i wsp. (5) cewnikowali u świń żyłę jarzmową zewnętrzną przez żyłę brzezną ucha. Connor i wsp. (2) Lindloff i wsp. (3) oraz Wierchoś i wsp. (6) kaniulizowali żyłę jarzmową bezpośrednio, zaś Moeljono i wsp. (4) oraz Baldwin i Stabenfeldt (1) kaniulizowali żyłę czczą tylną przez żyłę odstopową.

W niniejszej pracy przedstawiamy modyfikację dotychczas stosowanych metod kaniulizowania naczyń żylnych obwodowych, polegającą na wprowadzeniu kaniuli do żyły jarzmowej świni bez jej wypreparowywania, przez powierzchnię przebiegającą na określonym odcinku żyły odgłowowo-ramieniową (*v. cephalica humeri*). Ponadto wobec rozwoju badań endokrynologicznych przedstawiamy prosty sposób wielokrotnie przez nas stosowany częstego pobierania krwi odpływającej z jajników bądź macicy, użyteczny przy badaniu czynności tych narządów w różnych stanach fizjologicznych i patologicznych.

Wyniki

I. Kaniulizowanie żyły jarzmowej poprzez żyłę odgłowowo-ramieniową (*v. cephalica humeri*)

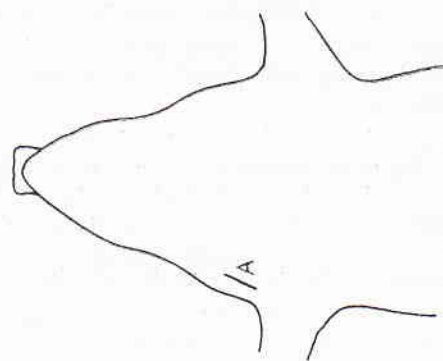
Zabieg trwa około 15—20 minut. W sali operacyjnej wykonano 70 zabiegów oraz w warun-

kach fermowych na terenie Fermy Przemysłowej Tuczu Trzody Chlewnej w Knopinie — około 60 zabiegów. Kaniulizowano maciory o ciężarze około 130—200 kg, które po zabiegu trzymane w oddzielnych pomieszczeniach bądź też w Fermie w Knopinie na uwięzi (ferma typu węgierskiego) w normalnych warunkach fermowych. Krew od skaniulizowanych świń pobierano w zależności od potrzeb przez okres kilku dni do 3 miesięcy raz, kilka razy bądź w niektórych przypadkach kilkadziesiąt razy w ciągu doby (np. co 15 minut przez 6 godzin).

Po każdym pobraniu krwi, zachowując pełną jałowość przemywano kaniule płynem fizjologicznym i napełniano roztworem heparyny (500 IU/ml płynu fizjologicznego).

A. Wprowadzenie kaniuli do żyły.

Stosowano ogólne znieczulenie Vetbutalem (przez żyłę brzezną ucha) w ilości około 20—25 ml/kg ciężaru ciała. Uśpioną świnię układano na grzbiecie i wykonywano cięcie skóry i tkanki podskórnej długości 4—5 cm wzdłuż rowka piersiowego bocznego (*sulcus pectoralis lateralis*) — cięcie A na ryc. 1. Po odsłonięciu żyły, podwiązano jej koniec obwodowy, nacinano naczynie i dośrodkowo, do wnętrza żyły wprowadzano kaniulę wykonaną z miękkiego, obojętnego dla organizmu tworzywa (PCW-M-65, producent: Centralny Ośrodek Techniki Medycznej w Warszawie) o przekroju wewnętrznym 0,8—1,5 mm i przekroju zewnętrznym 1,2—2,0 mm. Kaniulę wypełniono heparyną o wyżej podanym rozcieńczeniu i zamykano metalową za-

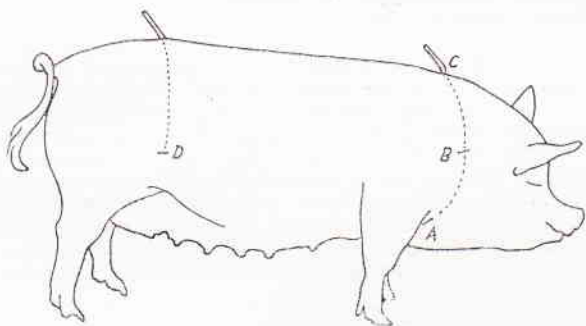


Ryc. 1. Schemat przedstawiający miejsce nacięcia A

tyczką. Około 18—20 cm kaniuli (w zależności od wielkości świni) wprowadzano do żyły odgłowo-ramieniowej, przez którą osiąga ona żyłę jarzmową. Dla zabezpieczenia kaniuli przed wysunięciem się z naczynia wcześniej zakładano na nią pierścien z tego samego tworzywa. Pierścien ten wsuwano do światła naczynia i zaciskano przewiązkę mocującą naczynie na kaniuli.

B. Wyprowadzenie kaniuli pod skórą na grzbiet świni.

Obwodowy koniec kaniuli wyprowadzano pod skórą na grzbiet, nad łopatkami. Zabieg ten wykonywano przystosowując znajdujący się w sprzedaży metalowy cewnik maciczny dla krów o długości 40 cm i wewnętrznym świetle 3 mm. W połowie odległości między nacięciem A a grzbietem świni w linii kończyny przedniej robiono cięcie skóry o długości 1 cm (ryc. 2, cięcie B). Do naciętego otworu kierowano ostrze cewnika i wprowadzano go bezpośrednio pod skórę, w kierunku pierwszego nacięcia A, w miejsce wyjścia kaniuli z naczynia żylnego.



Ryc. 2. Schemat obrazujący wprowadzenie kaniuli pod skórą na grzbiet

Przez metalowy cewnik chwilowo założony pod skórę przewlekano kaniulę, po czym cewnik usuwano pozostawiając pod skórą kaniulę. W identyczny sposób przewlekano kaniulę pod skórę na odcinku górnym między cięciem oznaczonym na ryc. 2 literą B a cięciem C wykonanym na grzbiecie świni nad łopatkami. W obu przypadkach ostrze cewnika kierowano od strony grzbietowej do strony brzusznej. Cięcie pierwsze (ryc. 1, cięcie A) zaszywano dwoma lub trzema pojedynczymi szwami. Cięcie B i C nie wymaga zaszywania, a jedynie pokrywano je warstwą hemostynu. Wyprowadzony na grzbiet obwodowy koniec kaniuli o długości około 10 cm zamknięty metalową końcówką, umocowywano do skóry lub sierści przylepcem. Po każdym pobraniu krwi, kaniulę przepłukiwano płynem fizjologicznym i wypełniano roztworem heparyny w płynie fizjologicznym o stężeniu podanym wyżej.

II. Kaniulizowanie naczyń żylnych maciczno-jajnikowych

Wykonano 35 kaniulizacji jednostronnych oraz 30 dwustronnych u macior o ciężarze ciała

około 130—200 kg w różnych okresach ich cyklu rujowego. Zabieg wykonywano przy pełnym znieczuleniu uzyskanym przez stosowanie Vetbutalu i narkozy eterowej w systemie półotwartym.

Skaniulizowanie żyły maciczno-jajnikowej (*v. utero ovarica*) przez żyłę maciczną przednią (*v. uterino cranialis*) pozwala wielokrotnie pobierać krew odpływającą od jajnika (oznaczenie poziomu horm. sterydowych), zaś skaniulizowanie żyły maciczno-jajnikowej przez odgałęzienie żyły macicznej środkowej (*v. uterino media*) pozwala uzyskiwać krew odpływającą z macicy i jajnika (np. oznaczanie poziomu prostaglandyn). Zabieg może być wykonany jednostronnie bądź dwustronnie.

1. Wprowadzenie kaniuli do żyły maciczno-jajnikowej.

Po otwarciu jamy brzusznej i wyjęciu rogu macicy wyszukiwano jedno z drobnych odgałęzień żyły macicznej przedniej (*v. uterino cranialis*) lub żyły macicznej środkowej (*v. uterino media*) umieszczonych w wiązadle szerokim macicy. Unosząc pincetkami blaszkę grzbietową wiązadła szerokiego macicy (*lamina dorsalis ligamenti lati uteri*) przecina się go na długości 2—3 cm delikatnie odsłaniając drobne naczynie żyłne.

Po przygotowaniu dwóch przewiązek, pierwszą z nich podwiązuje się na stałe obwodowy koniec naczynia, a po nacięciu żyły przysrodnikowo wprowadza się kaniulę z miękkiego i obojętnego dla organizmu tworzywa (PCW-M-65) o średnicy wewn. 0,5 mm i średnicy zewn. 1,0 mm. Średnicę kaniuli uzależniano od dnia cyklu rujowego w czasie operacji. W pierwszym tygodniu cyklu światło naczyń żylnych jest bardzo małe i wprowadzenie kaniuli o średnicy zewnętrznej większej niż 0,5—0,7 mm jest bardzo trudne. Kaniulę wprowadzano przez odgałęzienie do żyły maciczno-jajnikowej na dowolną głębokość w zależności od zamierzonych celów. Umieszczenie końca kaniuli w pożądanym miejscu kontrolowano palcami przez dwustronne uchwycenie naczynia w wiązadle szerokim macicy. Przeciętą blaszkę grzbietową wiązadła szerokiego macicy zszywano 2 szwami, które jednocześnie przymocowują do wiązadła włożoną do naczynia kaniulę. Kaniulę przymocowywano ponadto jednym szwem do rogu macicy lub wiązadła szerokiego macicy, wykorzystując założony w miejscu mocowania kaniuli pierścien, umieszczony na jej zewnętrznej powierzchni. Obwodowy koniec kaniuli długości około 70 cm wyprowadzano na zewnątrz jamy brzusznej przy użyciu wspomnianego wyżej metalowego cewnika macicznego, który wprowadzano do jamy brzusznej po nacięciu skóry (ryc. 2, cięcie D) przez przebicie mięśni i otrzewnej pod stałą kontrolą ręki umieszczonej w jamie brzusznej. Przez cewnik wyprowadzano kaniulę na powierzchnię skóry na wysokości fizjologicznego położenia macicy w jamie brzusznej,

po czym obwodowy koniec wyprowadzano pod skórą na grzbiet świni. Sposób przeprowadzenia kaniuli pod skórę podobny jak opisano uprzednio.

Przedstawiony sposób kaniulizowania naczyń żylnych macicy i jajnika świni pozwalał wielokrotnie przez okres 15—20 dni pobierać krew odpływającą od tych narządów, w dowolnym czasie i bez niepokojenia zwierząt. W przypadkach niemożliwości pobrania krwi przy pierwszym zassaniu strzykawką — zmieniano pozycję świni lub skłaniano ją do ruchu. Przy niektórych bowiem przypadkowych pozycjach rogów macicy końcówka kaniuli może znaleźć się naprzeciw ścianki naczynia i przylegać do niego przy próbie zasysania krwi. W przypadkach tych podawanie przez kaniulę płynu fizjologicznego do wnętrza odbywa się z łatwością, natomiast pobieranie krwi natrafia na trudności.

Omówienie wyników

Zastosowana modyfikacja kaniulizowania żyły jarzmowej ma istotną praktyczną przewagę nad dotychczas stosowanymi sposobami kaniulizowania dużych naczyń żylnych świni a mianowicie:

1. Żyła głowowo-ramieniowa u świni (we wskazanym miejscu nacięcia) przebiega bardzo powierzchownie pod skórą i zabieg ogranicza się do małego 4—5 cm cięcia skóry i tkanki podskórnej.

2. Wprowadzenie tą drogą kaniuli wyklucza nacięcie i uszkodzenie żyły jarzmowej, z której pobierana jest krew; wyklucza się tym samym tworzenie się tam zakrzepów.

3. Umieszczona tą drogą w żyłę jarzmowej kaniula może być wyprowadzona pod skórą na grzbiecie świni bez ostrych zagięć, w linii prawie prostej, co wyklucza powstawanie załamań, a koniec kaniuli znajduje się w najbardziej bezpiecznym i łatwo dostępnym miejscu.

4. Usunięcie kaniuli nie zmniejsza wartości użytkowej zwierzęcia.

Kaniulizowanie dużych naczyń żylnych przez żyłę odstopową (1, 4) uniemożliwia bez ostrego zagięcia wyprowadzenie końca kaniuli na grzbiet zwierzęcia. Pozostawiona zaś na nodze końcówka kaniuli może łatwo ulec uszkodzeniu jak też utrudnione może być pobieranie próbek krwi. Wprowadzenie kaniuli do żyły jarzmowej przez żyłę uszne (5) ma szereg ujemnych stron a mianowicie: stosunkowo drobne naczynia uszne wymagają użycia kaniul o małym przekroju. Kaniule są wiotkie i nawet jeśli uda się pokonać duże trudności w przejściu przez wielokrotne rozgałęzienia, ulegają one załamaniom prowadząc do niedrożności. Ponadto końcówka kaniuli pozostawiona na głowie (na małżowinie) narażona jest na bardzo łatwe jej wyszarpania przez świnię. Connor i wsp. (2), Lindloff i wsp. (3) oraz Wierchoś i wsp. (6) kaniulizowali żyłę jarzmową bezpośrednio, z tym, że Lindloff

i wsp. wykonywali tę czynność na miniaturowych świniach Göttingen (Göttingen Miniature Pigs), co było poważnym ułatwieniem z uwagi na wielkość zwierzęcia. W przypadku dużych świń np. około 150 kg, które kaniulizowaliśmy, takie postępowanie wymaga długiego i głębokiego cięcia skóry i tkanek podskórnych, co cały zabieg czyni bardziej złożonym, szczególnie ze względu na dość głęboki przebieg żyły jarzmowej i krótką szyję świni.

Piśmiennictwo

1. Baldwin D. M., Stabenfeldt G. H.: Biol. Repro. 12, 503, 1975.
2. Connor L., Phillips G. D., Palmer W. M.: Can. J. Anim. Sci. 56, 661, 1976.
3. Lindloff G., Holtz W., Elsaesser F., Kreikenbaum K., Smidt D.: Biol. Repro. 15, 303, 1976.
4. Moeljono M. P. E., Frank M., Owens L. J., Wilcox C. J., Fuller W. Bazer, Thatcher W. W.: J. Anim. Sci. 43, 298, 1976.
5. Shaerer I. J., Purvis K., Jenkin G., Haynes N. B.: J. Repro. Fert. 30, 347, 1972.
6. Wierchoś E., Cibor Z., Gajda B., Bielański A.: Medycyna Wet. (praca w druku).

Adres autora: Jan Kotwica, ul. Artyleryjska 2/2, 10-165 Olsztyn.

Котвица Я., Кшимовский Т., Дембек Я. — Канюлирование венных сосудов свиней для эндокринологических исследований.

У 125 свиней польской белой длинноухой породы провели по собственному методу канюлирование венных сосудов. 15—20-минутное канюлирование венной сквозь головно-плечевую вену выполнили под неглубоким наркозом, а окончание канюли вывели под кожей на спину. В последующих операциях, выполненных под эфирным наркозом, закладывали канюли в вену матки или в вены личников. Прочность и использование так заложенных канюль составляла от свыше десяти дней до трех месяцев.

Kotwica J., Kizymowski T., Dębek J. — Cannulaization of pig veins for endocrinous examinations.

Cannulaization of veins in 125 pigs was performed according to own method. The operation of this kind of the jugular vein, lasting 15—20 minutes, through the brachiocephalic vein was carried out under superficial anaesthesia and the end of the cannula was introduced subcutaneously. In the next operations, made under ether anaesthesia, the cannulas were introduced into the uterine or ovarian veins. The persistence and usefulness of such fixed cannulas was from a dozen or so days up to three months.

NORCROSS N. L.: Odpowiedź immunologiczna gruczołu mlekowego i rola uodporniania w zwalczaniu zapaleń wymion. (Immune response of the mammary gland and role of immunization in mastitis control). J. Amer. vet. med. Ass. 170, 1228—1231, 1977 (10).

Poziom immunoglobulin podlega znacznym wahaniom w siarze i mleku krów oraz w okresie zasuszenia. IgG₁ jest główną immunoglobuliną występującą w wydzielinie gruczołu mlekowego. W siarze jej stężenie wynosi 40 mg/ml, w mleku 0,3—0,5 mg/ml, w surowicy krwi 13 mg/ml. Immunoglobuliny mleka pochodzą głównie z krwi. W mniejszym stopniu wytwarzane są one w gruczole mlekowym w następstwie miejscowej stymulacji antygenowej. U krów zasuszonych po dowymieniom wprowadzeniu antygenów *Escherichia coli*, w pierwszych 28 dniach laktacji stężenie immunoglobulin klasy IgA jest średnio trzykrotnie wyższe aniżeli u krów kontrolnych. W mniejszym stopniu wzrasta poziom IgG₁ i IgM.

G.