

FIZJOLOGIA ZWIERZĄT

WITOLD SCHEURING, KRZYSZTOF SCHEURING

Zbąszynek

Badania czasu krwawienia i krzepnięcia krwi nutrii

Fizjologiczną reakcją organizmu na uszkodzenie tkanek jest hemostaza — złożony proces chroniący ustrój przed utratą krwi. Jednym z elementów tego procesu jest powstanie skrzepu zapobiegającego wystąpieniu krwawienia. Zatem poznanie czasu krwawienia i krzepnięcia krwi ma duże znaczenie w praktyce lekarsko-weterynaryjnej zarówno jako badanie diagnostyczne, jak i prognostyczne.

Ponieważ w dostępnym piśmiennictwie nie znaleziono danych dotyczących czasu krzepnięcia krwi i krwawienia u nutrii — *Myocastor coypus* (Molina, 1782), postanowiono ustalić te dane tego dziś już popularnego w hodowli krajowej gryzonia futerkowego.

Materiał i metody

Materiał do badań stanowiło 25 nutrii nie wykazujących objawów chorobowych, w wieku od 5 miesięcy do ponad 2 lat, różnej płci (8 samic i 17 samców) i różnych odmian barwnych.

Czas krwawienia obliczano co 15 sek. zgodnie z metodą ze skrawkiem bibuły (2). Miejscem nakłucia była tylna kończyna nutrii, na nieowłosionej powierzchni stopy, w odległości ok. 1 cm dopalcowo od guza piętowego. Zwierzę przy tym trzymane w położeniu poziomym. Nakłucia dokonywano igłą iniekccyjną szer. 2 mm, na głębokość ok. 2 mm. Krew pobierano w trakcie uboju zwierząt, wg metody podanej przy obliczaniu innych danych hematologicznych nutrii (4). Prócz łatwości w uzyskaniu krwi, pozwalało to uniknąć domieszki tromboplastyn tkankowych.

Czas krzepnięcia obliczano za pomocą nieheparyzowanych kapilarów hematokrytowych (śr. światła 1 mm), które po napełnieniu krwią stopniowo oblamywano co 15 sek, aż do stwierdzenia stężenia krwi lub pojawienia się nitki włókna. W obu badaniach czas mierzono przy pomocy stopera.

Badania wykonywano na wolnym powietrzu, u zwierząt podzielonych na trzy grupy, w miesiącach wrześniu i październiku, przy temperaturze powietrza od 14 do 20°C. Okres, w którym przeprowadzono badania gwarantował prawidłowy poziom witamin K w organizmie, pobranych w tym czasie z paszami zielonymi, istotnych jak wiadomo w procesie wytwarzania protombiny.

Wyniki i omówienie

Czas krwawienia dla badanej populacji nutrii wyniósł: średnio 62 sek, przy rozrzucie od 30

Tab. 1. Czas krzepnięcia krwi i krwawienia nutrii w zależności od wieku i płci (sek)

		Liczba zwierząt	Czas	
			krwawienia	krzepnięcia
Płeć	Samice	8	73,1	48,7
	Samce	17	56,4	40,5
Wiek	pow. 2 lat	3	75	60
	do 1 r.	19	52,1	42,6
	5—6 mies.	3	110	30
Średnia ogólna			61,8	43,2

do 120 sek. Natomiast czas krzepnięcia wyniósł średnio 43 sek, przy skrajnych danych 15—75 sek.

W mniej licznej grupie samic (8 szt.) uzyskano następujące średnie: czas krwawienia 73 sek, a czas krzepnięcia 49 sek. W grupie badanych samców (17 szt.) średni czas krwawienia wyniósł 56 sek, a czas krzepnięcia 40 sek. Dane te przedstawiono w tab. 1 i 2.

Uzyskane wyniki nie odbiegają istotnie od danych dotyczących innych badanych gryzoni (tab. 2), cechujących się jak wiadomo wrodzoną, fizjologiczną nadkrzepliwością krwi. Stąd też w badaniach zastosowano krótszy odstęp pomiędzy pomiarami czasu, wynoszący 15 sek, a nie jak przyjęty dla wielu innych gatunków zwierząt czas 30 czy nawet 60 sek (3, 5, 6).

Tab. 2. Czas krzepnięcia krwi i krwawienia niektórych gryzoni (wg 1)

Gatunek	Czas krzepnięcia	Czas krwawienia	Autor
Królik	6—8 min	30—60 sek	Dumas (1953)
Szczur	2,5 min	2 min	Farris i wsp. (1949)
Swinka morska	2,5—3,5 min	30—35 sek	Dumas (1953)
Mysz	2—3 min	50—60 sek	Dumas (1953)
Chomik syryjski	1 min	—	Schermer (1958)

Przy mierzeniu krzepnięcia krwi w kapilarach, w odlamywanych końcówkach rurek włosowatych rzadko obserwowano powstawanie widocznych nitki włókna, najczęściej stwierdzano nagłe zgalaretowanie całej krwi w badanych kapilarze.

Nutria ma jednak spośród zestawionych w tab. 2 gatunków gryzoni najkrótszy czas krzepnięcia krwi, wynoszący średnio poniżej 1 min. U badanych samic tego gatunku stwierdzono nieco dłuższe średnie czasy krwawienia i krzepnięcia niż u badanych samców, a w grupach wiekowych obserwowano dłuższy czas krwawienia u zwierząt najmłodszych, co można by odnieść do niepełnego wykształcenia mechanizmów hemostazy przed uzyskaniem dojrzałości.

Otrzymane wyniki mogą mieć praktyczne zastosowanie zarówno przy przeprowadzaniu niektórych krwawych zabiegów chirurgicznych u tego zwierzęcia, jak również jako badania diagnostyczne. Pozostają do dalszych badań mechanizmy wytwarzania skrzepu w poszczególnych fazach jego powstawania, jak i opracowanie niezawodnego antykoagulantu dla krwi tego zwierzęcia, bowiem stosowane dotąd powszechnie przyjęto tego typu środki nie dały, jak syg-

nalizowano, w poprzednim opracowaniu (4), zadowalających wyników.

Piśmiennictwo

1. Barański S., Czernski P., Krzemińska-Lawkowicz I., Krzymowski T., Lawkowicz W.: Układ krwiotwórczy zwierząt laboratoryjnych. PWN, 1962.

2. Krawczyński J. (red.): Zasady doboru badań laboratoryjnych w pracy lekarza. PZWL, 1969.
3. Schalm O. W.: Veterinary hematology. Lea & Febiger, 1965.
4. Scheuring W., Bratkowska E.: Medycyna Wet. 32, 239, 1976.
5. Stankiewicz W.: Hematologia weterynaryjna. PWRiL, 1973.
6. Stankiewicz W. (red.): Badania laboratoryjne w diagnostyce weterynaryjnej. PWRiL, 1973.

Adres autora: dr Witold Scheuring, ul. Kilińskiego 92, 66-310 Zbąszynek.

PRAKTYKA LABORATORYJNA

JANUSZ WIERCIAŃSKI

Luminometria i jej biochemiczne zastosowania

Z Centralnego Laboratorium Aparaturowego AR w Lublinie

Luminometria jest metodą analityczną wykorzystującą chemi- i bioluminescencję do ilościowego określenia związków chemicznych — w tym biologicznie istotnych składników organizmu oraz badania metabolizmu i liczby żywych komórek. Chemiluminescencja (reakcje chemiczne prowadzące do wydzielenia fotonów) i bioluminescencja (rodzaj reakcji chemiluminescencyjnych katalizowanych przez enzymy) związane są z wytwarzaniem wzbudzonych elektronowo cząsteczek i powrotem ich do stanu podstawowego. Do dzisiejszego dnia całkowicie jeszcze nie wiadomo, dlaczego pewne reakcje (stany wzbudzone) prowadzą do wydzielenia części swej energii w postaci światła.

Bioluminescencja — znana od niepamiętnych czasów — zawsze fascynowała naukowców i laików. Organizmy luminiscencyjne są szeroko rozpowszechnione w przyrodzie. Zdolność emitowania światła wykazują niektóre owady, wiele zwierząt morskich, szereg bakterii i grzybów. Spośród nich najbardziej znane są świetliki (*Photinus pyralis*). Formy świecące nie występują tylko wśród roślin zielonych. Światło produkowane przez organizmy świecące całkowicie należy do widzianej części widma, nie zawiera promieni podczerwonych ani ultrafioletowych. Bywa ono niekiedy nazywane „światłem żywym” lub częściej „światłem zimnym”, ponieważ daje bardzo mało ciepła. Wytwarzanie światła jest związane z reakcją enzymatyczną, różniącą się pod względem szczegółów u różnych gatunków zwierząt. W ciągu ostatnich 30 lat zostało wykrytych 14 różnych układów bioluminescencyjnych, z których szerzej tylko 3 wykorzystano w analizie biochemicznej.

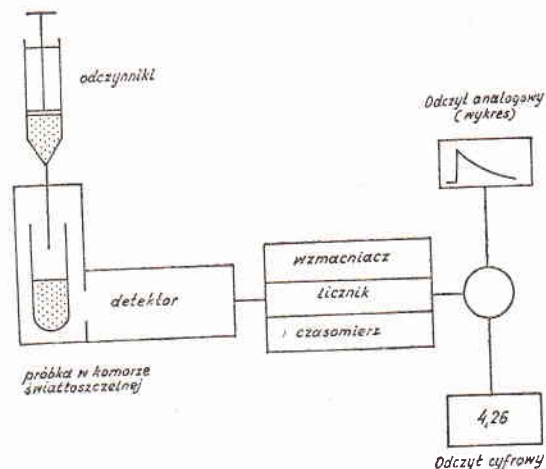
Chemiluminescencja została wykryta w 1877 r. i od tego czasu znaleziono bądź zsyntetyzowano ok. 100 substancji reagujących z wydzielaniem światła (19). Są one reprezentowane głównie przez związki organiczne, chociaż znane są także chemiluminescencyjne gazy nieorganiczne. W reakcjach chemiluminescencyjnych wydajność fotonowa (ułamek ogólnej liczby wytworzonych fotonów do całkowitej ilości cząsteczek zużytego substratu) jest zwykle mniejsza niż 1%. Tylko część wzbudzonych cząsteczek

doprowadza do wytworzenia fotonów, podczas gdy większość z nich traci energię wzbudzenia drogą tzw. ciemnych reakcji, jako ciepło. W odróżnieniu od reakcji chemiluminescencyjnych, w procesach katalizowanych przez enzymy — właściwych układom bioluminescencyjnym — wydajność fotonowa jest znacznie wyższa i waha się w granicach od 10 do 90%.

Aparatura

W luminometrii próbka emituje światło jako rezultat swoistych reakcji i dlatego nie spotyka się jednocześnie innych substancji wydzielających światło o odmiennej długości fali. Używana aparatura nie musi być z tych względów wyposażona w monochromatory czy filtry. Fotometr luminiscencyjny (ryc. 1.) jest urządzeniem prostszym od spektrofotometru rejestrującego i składa się z następujących elementów:

- światłoszczelna komora reakcyjna,
- detektor światła (fotopowielacz lub fotodioda silikonowa)
- układ przetwarzania sygnału (wzmacniacz, licznik, czasomierz)
- blok odczytu wyników.



Ryc. 1. Schemat fotometru luminiscencyjnego

Pomiar przeprowadza się zwykle przez umieszczenie próbki w przezroczystej kuwecie w komorze światłoszczelnej aparatu i wstrzyknięcie do próbki odczynnika luminiscencyjnego. Intensywność emitowanego światła jest mierzona w dowolnych względnych jednostkach świetlnych i odczytywana w formie analogowej (wykres) lub cyfrowej. Sposób wybierania sygnału zależy od kinetyki reakcji i metody pre-