

Z Katedry Fizjopatologii Wydziału Weterynaryjnego WSR w Lublinie

Kierownik: prof. dr Feliks Stański

Tadeusz RUCIŃSKI

Wpływ inkubacji na szybkość opadania krwinek i niektóre składniki osocza u kur

Влияние инкубации на скорость оседания эритроцитов и некоторые элементы плазмы у куриц

Influence of Incubation on the Blood Sedimentation Rate and on some Components of Blood Plasma in Hens

Badania Fahraeusa (cyt. za Ruhensroth-Bauerem, 6) nad zjawiskiem zahamowania odczynu opadania krwinek (OB) konia pod wpływem przechowywania osocza w ciągu kilku godzin w temperaturze 37—39°C doprowadziły do wniosku, że pod wpływem ciepła powstaje w osoczu jakiś czynnik, który gromadząc się na powierzchni krwinek przyczynia się do zmniejszenia szybkości odczynu.

Nowsze badania Giselli Schmidt (8), a w szczególności Ruhensroth-Bauera (5, 6, 7), wykazały, że w osoczu człowieka i konia występuje szereg czynników, z których jedne działają przyspieszająco na OB, inne natomiast w pewnych warunkach mogą spowodować jego opóźnienie. Do zespołu tych ostatnich Ruhensroth-Bauer zalicza przede wszystkim lipoproteidy osoczowe, oraz swoistą lipazę osocзовą.

Ze względu na występujące u ptaków w porównaniu ze ssakami fizjologiczne różnice, postanowiono przebadać wpływ inkubacji osocza krwi kur na OB oraz na te składniki lipidowe i proteinowe osocza, które mogłyby odgrywać pewną rolę w zjawisku opadania krwinek.

MATERIAŁ I METODY

Do doświadczeń użyto 16 zdrowych klinicznie kur rasy Sussex, wagi około 2 kg, pochodzących z jednej hodowli. Po upływie 24 godzin od chwili podania karmy, pobierano strzykawką krew z żyły jarzmowej. Pobieranie krwi przy pomocy strzykawki ma przewagę nad często sto-

sowanym pobieraniem krwi od ptaków w czasie uboju lub przez przecięcie żyły, ponieważ zapobiega zanieczyszczeniu krwi sokami wola, względnie sokami tkankowymi. Od każdej kury otrzymywano dwie porcje krwi.

Pierwszą (ok. 30 ml) wirowano w ciągu 5 min. przy ok. 900 obr./min. Odwirowane osocze przenoszono do osobnej probówki, z której po jego skrzepnięciu (w temperaturze 18°C) zbierano zaledwie około 1 ml surowicy. W części surowicy oznaczano od razu badane składniki, w części zaś oznaczano je po uprzedniej inkubacji w temperaturze 37°C w ciągu 6 godz.

Drugą porcję w ilości 5 ml mieszano z 3,8% roztworem cytrynianu sodowego w stosunku 4:1. Dzieleno ją również na dwie części. W pierwszej badano OB metodą Westergreena, w drugiej natomiast oddzielone od krwinek osocze poddawano inkubacji, po czym mieszano z odpowiednimi krwinkami i oznaczano prędkość opadania krwinek. Wyniki odczytywano po 1 i 2 godzinach i przeliczano je na średnie arytmetyczne dla jednej godziny według wzoru podanego przez Hankiewicz a (2).

Lipidy całkowite oznaczano metodą Kunkela i współprac. w modyfikacji Homolki (3). Alfa i beta lipoproteidy oznaczano elektroforetycznie metodą Swahna (10) w modyfikacji własnej. Modyfikacja polegała na zastosowaniu jako podłoża do rozdzielu płytek szklanych (9×13 cm), pokrytych 3 mm warstwą 2% buforowego roztworu agaru Difco. Dzięki temu rozdziały były znacznie lepsze niż na bibule Whatman I.

Białka całkowite surowicy oznaczano refraktometrycznie (Tulczyński, 11).

Wyniki badań poddano analizie statystycznej (Ojwin, 4) obliczając średnie arytmetyczne (M), ich odchylenia standardowe (s), średnie błędy (m) oraz wartości krańcowe. Istotność różnic pomiędzy średnimi wartościami wyjściowymi, a średnimi wartościami końcowymi obliczono przy pomocy testu Studenta. Za istotne przyjęto różnice, gdy $t^{\circ} > t_{0,05}$.

WYNIKI

Zaobserwowano w niniejszych doświadczeniach, że inkubacja osocza powoduje opóźnienie OB w granicach od 20% do 57,89%. Opóźnienie OB jest statystycznie wysoko znamienne ($t^{\circ} > t_{0,01}$). Tylko w 4 przypadkach (na ogólną liczbę 16) inkubacja nie spowodowała zmian w OB (tab. 1).

Inkubacja spowodowała również statystycznie znamienny ($t^{\circ} > t_{0,05}$) spadek poziomu lipidów całkowitych o 6,67% do 19,18% (tab. 2). Tylko u 4 kur lipidy całkowite praktycznie nie zmieniły się. Były to te same ptaki, u których nie stwierdzono zmian w OB.

Tab. 1. Szybkość opadania krwinek w osoczu nie inkubowanym i inkubowanym
Blood sedimentation rate in non-incubated and incubated blood plasma

	Wartości skrajne	M	s	m	t°
Przed inkubacją	3,5—19,0	7,25	3,4496	0,8624	—
Po inkubacji	1,5—11,0	3,75	2,9495	0,7373	3,0853

M — średnie arytmetyczne (arithmetical means),

s — odchylenia standardowe (standard deviations),

m — średnie błędy (mean errors),

t° — różnice pomiędzy średnimi wartościami wyjściowymi i końcowymi
(differences between mean initial and final values)

Tab. 2. Lipidy całkowite surowicy nie inkubowanej i inkubowanej (w mg%)
Total lipids of non-incubated and incubated serum in (mg%)

	Wartości skrajne	M	s	m	t°
Przed inkubacją	725,1—1470,1	1155,11	146,4418	36,6104	—
Po inkubacji	748,4—1300,0	1030,08	126,7256	31,6816	2,5824

Objaśnienia patrz tab. 1 (for explanations see Table 1)

Fracje alfa₁, alfa₂ i beta lipoproteidów ze względu na trudności związane z dokładnym rozdzieleniem postanowiono omówić łącznie (tab. 3). Wyraźny i statystycznie znamieny spadek lipoproteidów zaobserwowano u tych samych 12 kur, u których stwierdzono zmiany w OB i w lipidach całkowitych. Lipoproteidy zmniejszyły się o 16,71% do 41,24%. Nieznaczny spadek poziomu lipoproteidów stwierdzony w krwi pozostałych 4 kur zawierał się w granicach od 0,63% do 1,81% i był praktycznie bez znaczenia.

We wszystkich 16 przypadkach inkubacja nie spowodowała zmian ilościowych białek surowicy. Wartości skrajne białka surowicy zawierały się w granicach 3,40 g% do 7,15 g%.

Tab. 3. Alfa + beta lipoproteidy surowicy nie inkubowanej i inkubowanej (w mg%)
Alpha + beta lipoproteids of non-incubated and incubated serum (in mg%)

	Wartości skrajne	M	s	m	t°
Przed inkubacją	396,6—864,2	498,10	120,2724	30,0680	—
Po inkubacji	257,0—677,5	400,97	98,7373	24,6843	2,4967

Objaśnienia patrz tab. 1 (for explanation see Table 1)

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Z przedstawionych wyżej danych wynika, że inkubacja osocza krwi kur spowodowała zmniejszenie szybkości OB. Otrzymane wyniki są więc podobne do wyników uzyskanych przez Fahraeusa, Ruhensroth-Bauera (5, 6, 7), Gisellę Schmidt (8) oraz Zenonę Zygier (13) u ludzi i koni. Dowodzą one, że również w osoczu krwi zdrowych kur zachodzą pod wpływem inkubacji podobne zmiany.

Wydaje się, że zjawisko opadania krwinek jest w jakiś sposób związane ze spadkiem lipidów i lipoproteidów osocza. Warto zwrócić uwagę, że spadek lipoproteidów dotyczy głównie frakcji alfa i beta, co sugeruje, że prawdopodobnie (będąc labilnym elementem osocza) odgrywają one ważną rolę w zjawisku opadania krwinek. Lipoproteidy zmieniają się również w przebiegu schorzeń wywołanych niektórymi toksynami (Cohen i współprac., 1), co potwierdza pogląd o dużej ich chwiejności.

Powstające na skutek procesów zapalnych produkty rozpadu uszkodzonych komórek narządów mięsnych również oddziałują w jakiś sposób na równowagę lipoproteidową, wywierając równocześnie znaczny wpływ na OB (9). To jeszcze bardziej potwierdza pogląd, że lipoproteidy osocza decydują w zasadniczy sposób o przebiegu OB.

Do podobnego wniosku doszedł Ruhensroth-Bauer (5, 6, 7) przypisując im rolę proinhibitora, który pod wpływem lipazy osoczowej (Senkungslipase) przekształca się we właściwy inhibitor OB. Również de Vries i współprac. (12) twierdzą, że zmniejszenie szybkości opadania krwinek następuje na skutek adsorpcji przez erytrocyty kwasów tłuszczowych, uwolnionych z połączeń białkowo-tłuszczowych pod wpływem lipazy lipoproteidowej.

Stwierdzony u 4 kur brak wpływu inkubacji na szybkość OB, oraz brak zmian w lipidach i lipoproteidach osocza można by może tłumaczyć niedoborem lipazy lipoproteidowej w ich krwi, bądź też niedoborem heparyny — efektor przyspieszającego działanie owej lipazy.

Ponieważ inkubacja nie spowodowała zmian w ilości białka całkowitego, nie udało się więc stwierdzić, czy zmiany tego składnika osocza również nie wywołują wpływu na OB.

Reasumując możemy ostatecznie powiedzieć, że pomimo istnienia fizjologicznych różnic między ptakami i ssakami, wpływ inkubacji osocza na OB u tych dwóch grup zwierząt jest bardzo zbliżony.

WNIOSKI

1. Inkubacja osocza krwi 16 zdrowych kur spowodowała u 12 wyraźnie zaznaczone zahamowanie OB z równoległym znacznym spadkiem ilości lipidów całkowitych i alfa + beta lipoproteidów osocza.

2. U pozostałych 4 kur nie stwierdzono po inkubacji osocza zmian w szybkości OB ani też w ilości lipidów całkowitych i alfa + beta lipoproteidów osocza.

3. We wszystkich badanych przypadkach inkubacja nie spowodowała żadnych zmian w ilości białka całkowitego surowicy krwi.

PIŚMIENNICTWO

1. Cohen A. E. i współprac.: Biochemical Mechanism in Chronic Carbon Disulfide Poisoning. Am. Industr. Hyg. Journ., 20, 1959.
2. Hankiewicz J.: Próba różnicowania płynu mózgowo-rdzeniowego za pomocą odczynu opadania krwinek czerwonych. Wiad. Lek., 22, XVI, 1963.
3. Homolka J.: Diagnostyka biochemiczna. PZWL, Warszawa 1958.
4. Ojwin I. A.: Statisticheskaja obrabotka riezultatow eksperimentalnych issleddowanii. Patol. Fizjol. Eks. Tier., 4, 1960.
5. Ruhensroth-Bauer G.: Der Mechanismus der Blutsenkung. Münch. Med. Wschr., 99, 1957, 22.
6. Ruhensroth-Bauer G.: Der Mechanismus der Blutkörperchensenkung. Acta Haematol., 18, 1957, 1.
7. Ruhensroth-Bauer G.: Der Mechanismus der Blutkörperchensenkung. III. Die spezifischen und unspezifischen Faktoren der Senkung. Blut, 5/2, 1959.
8. Schmidt G.: Zur Kenntnis der Blutzellen Sedimentierung beim Tier. Zeitschr. f. Immunitätsforsch. u. exp. Therapie, 112/1, 1955.
9. Stański F., Kostarz T., Ruciński T.: Działanie wyciągu z tkanki zapalno-martwiczej na białka surowicy krwi, odczyn opadania krwinek i czas protrombinowy u królików. (Praca w rękopisie).
10. Swahn B.: Micromethod for the Determination of Serum Lipids after Electrophoretical Separation on the Filter Paper. Scand. J. Clin. and Lab. Invest., 9, Suppl., 1953 (55).
11. Tulczyński M.: Metody laboratoryjne diagnostyki klinicznej. PZWL, Warszawa 1962.
12. de Vries A. i współprac.: Crenerule des globules rouges et inhibition de la formation des rouleaux dans le sang humain en correlation avec l'activité de la lipoproteine-lipase. Sang, 31/4, 1960.
13. Zygiert Z.: Wpływ przechowywania osocza w temperaturze 37°C na szybkość opadania krwinek w tym osoczu. Acta Physiol. Pol., XII, 1961, 3.

РЕЗЮМЕ

Автором велись наблюдения над влиянием хранения плазмы и сыворотки крови 16 здоровых кур при температуре 37° С в продолжении 6 часов на реакцию оседания эритроцитов, уровень общих липидов, альфа + бета липопропротеидов и общего белка.

На основании исследований можно прийти к следующим выводам:

1. Инкубация плазмы крови 16 здоровых куриц вызвала у 12 куриц отчетливо отмеченное заторможение реакции оседания эритроцитов с параллельным значительным снижением количества общих липидов и альфа + бета липопротеидов плазмы.

2. У остальных четырех куриц не установлено после инкубации плазмы изменений ни в скорости оседания красных кровяных телец, ни в количестве общих липидов и альфа + бета липопротеидов плазмы.

3. Во всех исследуемых случаях инкубация не вызвала никаких изменений в количестве общего белка сыворотки крови.

SUMMARY

The author studied the influence of storage of blood plasma and serum of 16 healthy hens (at 37°C for 6 hours) on the blood sedimentation rate, total lipid content, alpha + beta lipoprotein content, and total protein content.

The results were presented in the form of the following conclusions:

1. Incubation of blood plasma of 16 healthy hens caused in 12 cases a distinct slowing down of the blood sedimentation rate, accompanied by a considerable fall in the total lipid, and alpha + beta lipoprotein content of the plasma.

2. In the remaining 4 hens no changes in the blood sedimentation rate, total lipid or alpha + beta lipoprotein content were found after incubation of blood plasma.

3. In all cases studied, incubation did not produce any changes in the amount of total protein in blood serum.