

*Alina Joanna HEYŃCZAK, Agnieszka ADAMOWICZ, Maria KAWCZYŃSKA,
Krzysztof WNUCZYŃSKI, Stefan TCHÓRZEWSKI*

NIEKTÓRE WSKAŹNIKI HEMATOLOGICZNE I NUKLEOTYDY ADENINOWE KRWI KACZEK

Z Instytutu Chemii i Przechowalnictwa
Z Zakładu Biochemii
Szpital Wojskowy - Szczecin

Obecna praca obejmuje wyniki doświadczeń wykonanych na krwi kaczek. W badaniach określano następujące parametry: liczbę erytrocytów, ilość Hb (hemoglobina), liczbę hematokrytową, stopień rewersji hemolizy, oporność minimalną i maksymalną oraz „wrażliwość”, wskaźniki czerwonekrwinkowe jak WB (wskaźnik barwny), MCV (średnia objętość krwinki czerwonej), MCHC (średnie stężenie Hb w krwince czerwonej) i MCH (średni ciężar Hb w krwince czerwonej), niektóre wolne nukleotydy adeninowe: AMP (adenozyno-5'-monofosforan), ADP (adenozyno-5'-dwufosforan), ATP (adenozyno-5'-trójfosforan) i AXP (kompleksy ATP z Fe^{+3}) oraz stężenie jonów Na^+ i K^+ w osoczu, krwi pełnej i krwinkach czerwonych. Praca ma charakter doniesienia wstępnego.

MATERIAŁ

Badania przeprowadzono na krwi heparynowej kaczek niosek rasy Pekin. Przed pobraniem krwi, kaczkę hodowano przez okres paru tygodni w klatkach w zwierzętarni przyzakładowej i karmiono odpowiednią mieszanką.

Dawka dzienna żywieniowa na 1 kaczkę wynosiła: mieszanka DH - 75,0 g, płatki ziemniaczane - 7,7 g, susz zielony - 9,4 g, pszenica - 50 g, mleko suszone - 40 g, mikrofos i polfamix - 1,25 g oraz mieszanka mineralna - 1,25 g.

METODY BADAŃ

Liczbę krwinek czerwonych w 1 mm^3 krwi i ilość Hb w % i g% określano metodami rutynowymi (P o l i t y Ń s k a - B a n a s , 1971).

Liczbę hematokrytową oznaczano posługując się heparynowanymi kapilarami i wirówką do mikrohematokrytu, f-my Janetzki.

Stopień rewersji hemolizy w % oznaczano za pomocą metody podanej przez Z a b ł o c k ą (1965). Ilość Hb w roztworze określano przy użyciu kolorymetru Spekol, f-my Zeiss.

Oporność krwinek czerwonych na wodne hipotoniczne roztwory NaCl oznaczano metodą podaną przez K o z i r o w s k i e g o (1966). Ilość Hb w roztworze określano na kolorymetrze Spekol, f-my Zeiss.

Wskaźniki czerwonekrwinkowe wyliczano ze wzorów podanych przez P o l i t y Ń s k ą - B a n a ś (1971).

Preparatykę, rozdział i ilościowe oznaczanie związków adeninowych wykonano w oparciu o metodę B a r t l e t t a (1959). Adeninę oznaczano ilościowo na podstawie pomiarów absorpcji przy 260 nm posługując się spektrofotometrem „Spektromom 201”, produkcji węgierskiej.

Ilościowych oznaczeń jonów Na^+ i K^+ dokonywano przy użyciu fotometru płomieniowego, f-my Zeiss, model III.

WYNIKI

W tabeli 1 zebrano wyniki uzyskane dla liczby erytrocytów w 1 mm^3 krwi, ilości Hb wyrażonej w % i g% oraz dla liczby hematokrytowej - w %. W tej tabeli, jak i w następnych, podano liczbę przebadanych przypadków, wartości średnie i ich odchylenia standardowe.

W tabeli 1 dokonano zestawienia wartości wskaźników czerwonekrwinkowych, a mianowicie WB, SOK, SSH, SWH.

T a b e l a 1

Niektóre wskaźniki hematologiczne w krwi badanych kaczek

Rodzaj badania	n	\bar{x}	S	Jednostki
Liczba erytrocytów	9	2.561.000	± 377.000	w 1 mm^3
Hemoglobina	9	73,3	$\pm 10,87$	%
Hemoglobina	9	11,7	$\pm 1,14$	g%
Liczba hematokrytowa	9	41,3	$\pm 7,00$	%
WB	9	1,45	$\pm 0,141$	
SOK (MCV)	9	147	$\pm 10,8$	μ^3
SSH (MCHC)	9	31,5	$\pm 3,15$	%
SWH (MCH)	9	46,1	$\pm 4,31$	pg

n - liczba badanych przypadków

\bar{x} - średnia arytmetyczna

S - średnie odchylenie

Wartości niektórych właściwości fizykochemicznych, jak stopień rewersji hemolizy w %, oporność minimalną i maksymalną oraz „wrażliwość”, czyli 50% hemolizy zamieszczono w tabeli 2. W tabeli tej podano poziomy jonów Na^+ i K^+ w mE/l osocza, krwi pełnej, i erytrocytów oraz w mE/l wody komórkowej dla erytrocytów.

T a b e l a 2

Niektóre właściwości fizykochemiczne krwi badanych kaczek

Rodzaj badania	n	\bar{x}	S	Jednostki
Rewersja	9	65,2	$\pm 15,73$	%
Oporność minimalna	9	0,47	$\pm 0,023$	% NaCl
Oporność maksymalna	9	0,28	$\pm 0,010$	% NaCl
"Wrażliwość"	9	0,37	$\pm 0,024$	% NaCl
S ó d Na^+				
osocze	9	148	$\pm 11,3$	mE/l
Krew pełna	9	84	$\pm 15,0$	mE/l
erytrocyty	9	ok.1	-	mE/l
woda komórkowa erytrocytów	9	ok.2	-	mE/l
P o t a s K^+				
osocze	9	3,2	$\pm 0,65$	mE/l
krew pełna	9	13,5	$\pm 1,55$	mE/l
erytrocyty	9	28	-	mE/l
woda komórkowa erytrocytów	9	41	-	mE/l

n - liczba badanych przypadków

\bar{x} - średnia arytmetyczna

S - średnia odchylenie

Zawartość wolnych nukleotydów adeninowych tj. AMP, ADP, ATP, AXP wyrażoną w μg i w μM w przeliczeniu na 1 cm^3 masy erytrocytarnej, a w μM w 100 cm^3 krwi i 1 cm^3 wody komórkowej zamieszczono w tabeli 3.

T a b e l a 3

Zawartość oznaczonych związków adeninowych we krwi kaczek

Rodzaj badania	n	\bar{x}	S	Jednostki
AMP	9	115	$\pm 31,0$	$\mu g/1 \text{ cm}^3$ erytr.
AMP	9	0,85	$\pm 0,239$	$\mu M/1 \text{ cm}^3$ erytr.
AMP	9	31,6	$\pm 8,08$	$\mu M/100 \text{ cm}^3$ krwi peł.
AMP	9	1,23	$\pm 0,374$	$\mu M/1 \text{ cm}^3$ wody kom.
ADP	9	27	$\pm 11,9$	$\mu g/1 \text{ cm}^3$ erytr.
ADP	9	0,19	$\pm 0,047$	$\mu M/1 \text{ cm}^3$ erytr.
ADP	9	7,3	$\pm 2,38$	$\mu M/100 \text{ cm}^3$ krwi peł.
ADP	9	0,28	$\pm 0,070$	$\mu M/1 \text{ cm}^3$ wody kom.

Rodzaj badania	n	\bar{x}	S	Jednostki
ATP	9	150	$\pm 27,1$	$\mu\text{g}/1 \text{ cm}^3$ erytr.
ATP	9	1,18	$\pm 0,209$	$\mu\text{M}/1 \text{ cm}^3$ erytr.
ATP	9	41,3	$\pm 8,04$	$\mu\text{M}/100 \text{ cm}^3$ krwi peł.
ATP	9	1,60	$\pm 0,421$	$\mu\text{M}/1 \text{ cm}^3$ wody kom.
AXP	9	39	$\pm 9,6$	$\mu\text{g}/1 \text{ cm}^3$ erytr.
AXP	9	0,28	$\pm 0,072$	$\mu\text{M}/1 \text{ cm}^3$ erytr.
AXP	9	10,7	$\pm 3,59$	$\mu\text{M}/100 \text{ cm}^3$ krwi peł.
AXP	9	0,40	$\pm 0,109$	$\mu\text{M}/1 \text{ cm}^3$ wody kom.

n - liczba badanych przypadków

\bar{x} - średnia arytmetyczna

S - średnie odchylenie

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Badania nad metabolizmem i strukturą erytrocytów ssaków są szeroko reprezentowane w piśmiennictwie. W przypadku erytrocytów jądrzastych, dane literaturowe są skąpe, w związku z czym, nie ma prawie żadnej możliwości porównawczej a dodatkowo, wskutek stosowania różnych przeliczeń, interpretacja otrzymanych wyników jest bardzo trudna.

Z jednej strony, krwinki czerwone jądrzaste różnią się zasadniczo od krwinek bezjądrzastych, zarówno ich wyglądem, jak i metabolizmem, z drugiej jednak - cechują je i pewne podobieństwa. Na przykład, dużo większe jądrzaste erytrocyty o innej intensywności przemian, spełniają tę samą rolę przenoszenia tlenu, co erytrocyty bezjądrzaste.

Jeśli chodzi o liczbę erytrocytów w 1 mm^3 krwi ssaków, to jest ona prawie jeszcze raz tak wysoka jak we krwi drobiu i dla kaczek wynosi $2.561.000 \pm 377.000 / 1 \text{ mm}^3$ krwi (Hżyńiczak, 1970; Hżyńiczak i wsp., w druku). Wynik ten jest zgodny z danymi Kosztójancza (1955). Natomiast Bond i Gilbert (1958) i Gutowski (1965) podają dla liczby erytrocytów wartości wyższe sięgające ponad 3,5 mln erytrocytów w 1 mm^3 krwi.

Na zawartość erytrocytów we krwi wpływa cały szereg czynników. Między innymi Davis i wsp. (1945) stwierdzili wzrost liczby erytrocytów we krwi kaczek po podaniu Co , spowodowany pobudzeniem erytropoezy. Dłuższe podawanie Co , powodowało utrzymanie się tego poziomu, wskutek obniżenia rozpadu erytrocytów.

Ilość Hb w krwi kaczek wynosi $11,7 \pm 1,14 \text{ g} \%$ i mniej więcej na tym samym poziomie utrzymuje się i we krwi ssaków.

Wartość liczby hematokrytowej dla krwi kaczek wynosi $41,3 \pm 7,00\%$. Wynik ten jest bliski danym Bonda, Gilberta (1958) oraz Raporta, Guesta (1941). Podobne wartości wykazuje krew indyków i gęsi, a o około 25% niższe - krew kury.

Stopień rewersji hemolizy dla krwi kaczek wynosi $65,2 \pm 15,73\%$. Wartość ta jest zbliżona do wyników uzyskanych dla innych gatunków drobiu i jest dużo wyższa od wartości dla erytrocytów bezjądrzastych.

Oporność minimalną erytrocytów kaczek jest podobna do oporności dla innych ptaków i wynosi $0,47 \pm 0,023$, maksymalna natomiast, jest znacznie przesunięta w dół w porównaniu z wartościami zarówno dla erytrocytów jądrzastych jak i bezjądrzastych.

WB jest dla erytrocytów ptaków dużo wyższy, niż dla ssaków i dla kaczek wynosi $1,45 \pm 0,141$. Jest to zrozumiałe, jeśli się weźmie pod uwagę małą liczbę erytrocytów we krwi ptaków, przy prawie tej samej zawartości Hb we krwi ptaków i ssaków.

MCV jest znacznie większa dla erytrocytów jądrzastych, aniżeli bezjądrzastych i wynosi $147 \pm 10,8 \mu^3$ dla erytrocytów kaczek.

MCHC wydaje się być stałym pod względem ilościowym wskaźnikiem dla wszystkich zwierząt i dla kaczek wynosi $31,5 \pm 3,15$.

MCH dla krwinek jądrzastych jest dużo wyższy, niż dla erytrocytów ssaków i dla erytrocytów kaczkii wynosi $46,1 \pm 4,31 \text{ pg}$.

Krwinki czerwone jądrzaste wydają się mieć więcej AMP w porównaniu z erytrocytami bezjądrzastymi. Najwięcej AMP - nigdzie dotąd nie notowane, bo aż $0,85 \pm 0,239 \mu\text{M}/1 \text{ cm}^3$ erytrocytów wykryto u kaczki. Natomiast ADP - $0,19 \pm 0,047$ i AXP $0,28 \pm 0,072 \mu\text{M}/1 \text{ cm}^3$ erytrocytów są wartościami zbliżonymi i dla innych zwierząt. Poziom ATP w erytrocytach kaczek wynosi $1,18 \pm 0,209 \mu\text{M}/1 \text{ cm}^3$ masy erytrocytarnej. Według Raporta, Guesta wartość ta jest około 2 razy większa.

Ogólnie można powiedzieć, że w krwinkach czerwonych jądrzastych jest znacznie więcej ATP, aniżeli w bezjądrzastych. Być może jest to związane z tym, że w erytrocytach ssaków ATP jest resyntetyzowane tylko w procesie glikolizy, natomiast w erytrocytach jądrzastych odnowa tego związku ma miejsce podczas procesu oddychania, który jak wiadomo jest procesem energetycznie bardziej wydajnym.

Poziom Na^+ w osoczu wynosi $148 \pm 11,3 \text{ mE/l}$, a K^+ - $3,2 \pm 0,65 \text{ mE/l}$. Wartości te są prawie takie same jak dane Phillipsa i wsp. (1961). Poziom tych jonów w osoczu innych zwierząt jest też prawie taki sam.

W erytrocytach kaczki przeważa K^+ i jest go 28 mE/l , Na^+ natomiast - około 1 mE/l . To steson, Robertson (1956) podaje dla erytrocytów kaczek - samców wartości dużo wyższe, a mianowicie Na^+ - $7,3$, a K^+ - 112 mE/l . Być może, ta duża rozbieżność w zawartości ww. elektrolitów jest w jakiś sposób związana z płcią kaczek.

WNIOSKI

Na podstawie uzyskanych wyników stwierdzono:

1. Niską zawartość erytrocytów, ok. 2,5 mln/1 mm³ krwi.
2. Dużą zdolność erytrocytów do hemolizy odwracalnej, ok. 65%.
3. Wysoką odporność maksymalną - 0,28% NaCl.
4. Wysoki wskaźnik WB, 1,45.
5. Dużą objętość, ok. 147 μ³.
6. Wysoki wskaźnik MCH, ok. 46 pg.
7. Wysoki poziom AMP, ok. 0,85 μM/1 cm³ erytrocytów i ATP-ok. 1,2 μM/1 cm³ erytrocytów.
8. Wyższą zawartość K⁺ niż Na⁺ w erytrocytach.

LITERATURA

- B a r t l e t t G.R., 1959: Methods for the isolation of glycolytic intermediates by column chromatography with ion exchange resins. - J. Biol. Chem. t.234 s.459.
- B o n d C.F., G i l b e r t P.W., 1958: Comparative study of blood volume in representative aquatic and nonaquatic birds. - Am. J.Physiol.t. 194, s.519.
- D a v i s J.E., M c C u l l o u g h A.W., R i g d o n R.H., 1945: Polycythemia produced by cobalt in duck: A hematologic and pathologic study. - J.Lab.Clin. Med. t.30 s.327.
- G u t o w s k i B., 1965: Fizjologia zwierząt. t.I PWRiL, W-wa.
- H ł y ń c z a k A.J., 1970: Metabolizm energetyczny, niektóre właściwości fizykochemiczne i struktura krwinek czerwonych różnych kręgowców. - Biul. WAM Supl. I z.9 Łódź.
- H ł y ń c z a k A.J., A d a m o w i c z A., K a w c z y ń s k a M., R o m a n o w i c z M., W n u c z y ń s k i K.: Badania nad właściwościami fizykochemicznymi i metabolizmem erytrocytów gęsi (w druku).
- H ł y ń c z a k A.J., K a w c z y ń s k a M., A d a m o w i c z A., S z a f r a ń s k a A., R o m a n o w i c z M.: Badania nad właściwościami fizykochemicznymi i metabolizmem erytrocytów indyków (w druku).
- H ł y ń c z a k A.J., U z i ę b ę ł o L., A d a m o w i c z A., P r z y t u l s k i T., 1973: Niektóre nukleotydy adeninowe oraz właściwości fizykochemiczne krwinek czerwonych kury. - Z.nauk. AR Szczec., t.41 s.191.
- K o s z t o j a n c C.S., 1955: Zasady fizjologii porównawczej. t.I, PWN W-wa.

- K o z i k o w s k i C., 1966: Próba graficznej interpretacji osmotycznej oporności-wrażliwości krwinek czerwonych. - PTL t.21 s.704.
- P h i l l i p s J.F., H o l m e s W.N., B u t l e r D.G., 1961: The effect of total and subtotal adrenalectomy on the renal and extra-renal response of the domestic duck (*Anas platyrhynchos*) to saline loading. - Endocrinol. t.69 s.958.
- P o l i t y Ń s k a - B a n a ś E., 1971: Hematologia. - PZWL W-wa.
- R a p o r t S., G u e s t G.M., 1941: Distribution of acid-soluble phosphorus in the blood cells of various vertebrates.- J.Biol.Chem.t.138 s.269.
- T o s t e s o n D.C., R o b e r t s o n J.S., 1956: Pottassium transport in duck red cells. - J.Cell. Comp. Physiol. t.47 s.147.
- Z a b ł o c k a I., 1965: Rewersja hemolizy krwinek osób zdrowych.- PTL t.20 s.1014.

EINIGE HEMATOLOGISCHE INDEXE UND ADENIN-NUKLEOTIDEN DES ENTENBLUTES

Z u s a m m e n f a s s u n g

Im Blute der untersuchten Lege-Enten wurde der Gehalt einiger freier Adenin-Nukleotiden, Ionen Na^+ und K^+ , rote Blutkörperchen-Indexe, osmotische Widerstandskraft, Reversionsstufe der Hämolyse, Zahl der Erythrozyten in 1 mm^3 Blut, Zahl der roten Blutkörperchenmasse sowie Menge des Hb bezeichnet.

НЕКОТОРЫЕ ГЕМАТОЛОГИЧЕСКИЕ ПОКАЗАТЕЛИ И АДЕНИНОВЫЕ НУКЛЕОТИДЫ КРОВИ УТОК

Р е з ю м е

В крови исследованных уток-несушек определяли: содержание некоторых свободных адениннуклеотидов, ионов Na^+ и K^+ , показатели эритроцитов, осмотическое сопротивление, уровень реверсирования гемолиза, число эритроцитов в 1 мм^3 крови; гематокритное число, а также количество гемоглобина.

Praca wpłynęła w listopadzie 1975 r.

Adres:

Dr habil. Alina Hłyńczak
71-653 Szczecin, ul. Rugiańska 14 m.23
Polska - Poland

