

TOMASZ JANOWSKI, SŁAWOMIR ZDUŃCZYK, ANDRZEJ RAŚ, JACEK CHMIEL

Operacyjna kaniulacja żyły i tętnicy macicznej ciężarnych krów do badań endokrynologicznych^{*)}

Katedra Położnictwa, Wydział Weterynaryjny ART, 10-957 Olsztyn-Kortowo II

Badania *in vivo* nad hormonalną czynnością łożyska, będącego głównym źródłem hormonów sterydowych u ciężarnych krów, prowadzone są z reguły w oparciu o oznaczenia poziomów hormonów we krwi obwodowej (11, 12, 14). Oznaczenia te nie pozwalają jednak na określenie bezwzględnych ilości hormonów lub ich metabolitów powstających w łożysku, gdyż poziomy hormonów sterydowych we krwi obwodowej zależą również od ich biosyntezy i metabolizmu w innych organach (ciałko żółte, nadnercza, wątroba) oraz wydzielania z żółcią, kałem i moczem (2). W dokładniejszych badaniach endokrynologicznych nad czynnością wydzielniczą łożyska istnieje więc konieczność oznaczania koncentracji hormonów bezpośrednio we krwi dopływającej oraz odpływającej od łożyska (*arteria et vena uterina*). Stwierdzono, że poziomy estrogenów w żyłach macicznej są 2—5-krotnie wyższe niż we krwi obwodowej (3, 10, 12), a także są lepszym wskaźnikiem zmian w metabolizmie estrogenów łożyskowych (10). Metoda pomiaru tętniczko-żylnych różnic w poziomach hormonów sterydowych produkowanych przez łożysko ciężarnych krów jest stosowana w badaniach przeprowadzanych za granicą (5, 6), natomiast w kraju nie była jeszcze podejmowana.

Ponieważ etapem wstępnym do przeprowadzenia wymienionych badań endokrynologicznych jest uzyskanie możliwości pobierania krwi z tętnicy i żyły macicznej cielnich krów, dlatego też celem pracy było opracowanie operacyjnej techniki kaniulacji wymienionych naczyń, umożliwiającej łatwe pobieranie krwi w dłuższych okresach czasu.

Materiał i metody

W dostępnym piśmiennictwie zagranicznym (3, 5, 12) zabiegi kaniulacji naczyń ciężarnej macicy krów opisywane są bez podawania metodycznych szczegółów. W badaniach własnych zastosowano oryginalną metodę postępowania, wzorując się częściowo na badaniach Kotwicy i wsp. (9), dotyczących kaniulacji naczyń żylnych u świń.

Badania wykonano łącznie na 23 wysokociężarnych krowach rasy nećb o masie ciała 450—600 kg, które podzielono na dwie grupy. W I grupie (n=7) 261 dnia ciąży wykonywano kaniulację odgałęzień żyły macicznej (*vena uterina*), zaś w II grupie (n=16) 269—270 dnia ciąży kaniulowano równocześnie odgałęzienia żyły i tętnicy macicznej (*arteria et vena uterina*).

Zwierzęta doświadczalne przez 2 dni poprzedzające operację były głodzone oraz przez 1 dzień pozbawione wody. Zabiegi były przeprowadzane w narkozie ogólnej (wodzian chlorału — Merek 0,1 g na kg m.c. w 10% roztworze glukozy i.v.) po uprzedniej premedykacji (Combelen-Bayer, 0,5 ml na 50 kg m.c. i.m.). Krowy do zabiegu układano w pozycji mostkowo-brzuszej z odwiedzioną tyłą, lewą kończyną.

Laparotomię (cięcie dł. 30—40 cm) wykonywano w lewym dole przyłędźwiowym i przez powstały otwór eksponowano ciężarną macicę. Do kaniulacji wybierano duże odgałęzienia tętnicy i żyły macicznej, o prostym przebiegu i leżące możliwie najdalej od jajnika ciężarnego rogu. W przypadku równoczesnej kaniulacji żyły i tętnicy wybierano naczynia leżące obok siebie.

Po okryciu macicy (z wyjątkiem miejsca kaniulacji) jałową gazą nasyoną podgrzanym płynem fizjologicznym z antybiotykiem poprzez nacięcie *perimetrium* na dł. 4—5 cm, odsłaniano delikatnie wybrane naczynie. Po wypreparowaniu go, wprowadzano pod nie 2 przewiązki z jedwabiu Nr 1 i jedną z nich zamykano naczynie od strony obwodowej. Następnie nacinano naczynie i wprowadzano do światła jałową kaniulę z miękkiego i obojętnego dla organizmu tworzywa (PCW-M-65, producent: Centralny Ośrodek Techniki Medycznej w Warszawie). Kaniula o łącznej długości 1,5—2,0 m i przekrojach wewn. 1,2 mm i zewn. 2,2 mm była wprowadzana do naczyń pod kontrolą wzroku i palców na głębokość 20—30 cm, przechodząc tym samym do większych odgałęzień żyły lub tętnicy macicznej. Następnie za pomocą drugiej przewiązki zamykano przecięte naczynie, zespalaając je z kaniulą, do czego wykorzystywano również nałożone wcześniej na kaniulę dwa cienkie plastikowe pierścienie.

Po sprawdzeniu drożności kaniuli, przemywano je i wypełniano roztworem heparyny (500 I.U./ml płynu fizjologicznego) oraz zamykano metalową zatyczką. Nacięcie ściany macicy zamykano szwem ciągłym używając katgutu Nr 1, przy czym kaniulę mocowano dodatkowo z okolicznymi tkankami wykorzystując trzeci nałożony wcześniej pierścień. Powstały szew pokrywano maścią antybiotykową (Syntarpen-Polfa) i ciężarną macicę wprowadzano ponownie do jamy brzusznej. Obwodowy koniec kaniuli wyprowadzano na zewnątrz jamy brzusznej, przy użyciu zaadaptowanego do tego celu metalowego cewnika macicznego dla krów. Pod kontrolą ręki umieszczonej w jamie otrzewnowej przebijano otrzewną, mięśnie i skórę, wyprowadzając koniec kaniuli w lewym dole przyłędźwiowym w odległości ok. 5—10 cm powyżej i bocznie od początku cięcia skórznego. Następnie trzema piętarami szwów zamykano jamę brzuszną.

Czas operacji wynosił 1,5—2,5 godz i zazwyczaj w 3—4 godziny po jej zakończeniu zwierzęta wstawały. W dniu operacji oraz przez kilka kolejnych dni zwierzęta otrzymywały antybiotyki w zwyczajowych dawkach.

W I grupie krew z żyły macicznej pobierano 3-krotnie w ciągu dnia, zaś w II grupie równoległe pobieranie prób z tętnicy i żyły macicznej przeprowadzano 8-krotnie w ciągu dnia. Krew pobierano przy pomocy jałowych strzykawek każdorazowo po pobraniu przejmując i wypełniając kaniule roztworem heparyny w ilości 20 ml.

^{*)} Praca wykonana w ramach problemu MR.II.10

Wyniki i omówienie

Zastosowana metoda kaniulacji umożliwiła łatwe pobieranie krwi z naczyń macicznych przez dłuższe okresy czasu bez niepokojenia i ujemnych warunków, co jest zgodne z podstawowymi warunkami, jakie według Kotwicy i wsp. (9) powinna spełniać praktycznie użyteczna metoda trwałej kaniulacji. W I grupie krów ($n=7$), u których kaniulowano żyłę maciczną, pobieranie krwi z tego naczynia było możliwe średnio przez $6,2 \pm 3,2$ dnia, przy czym obserwowano znaczne różnice w długości tego okresu między poszczególnymi zwierzętami. W II grupie zwierząt ($n=16$) ze skaniulowanymi równocześnie tętnicą i żyłą maciczną, możliwość pobierania krwi z żyły istniała średnio przez $7,3 \pm 5,2$ dnia, zaś z tętnicy przez $5,2 \pm 3,4$ dnia, także przy znacznych różnicach między poszczególnymi zwierzętami. Równoległe pobieranie krwi z tętnicy i żyły macicznej, szczególnie cenne w badaniach nad hormonalną czynnością łożyska, było możliwe średnio przez $4,7 \pm 3,2$ dni, przy czym u 8 (50%) krów krew pobierano w ten sposób aż do porodu.

W dostępnym piśmiennictwie brak jest pracy metodycznej z danymi odnośnie długości okresów pobierania krwi z naczyń macicznych. Jednak na podstawie analizy profilów hormonalnych, wykonywanych w oparciu o próbki krwi pobieranej z wymienionych naczyń (3, 5, 6, 12), można stwierdzić, że w cytowanych badaniach długości okresów pobierania krwi były zbliżone do uzyskanych w badaniach własnych.

Wydaje się, że różnice między poszczególnymi zwierzętami w długości okresu pobierania krwi są prawdopodobnie powodowane indywidualnymi skłonnościami do powstawania zakrzepów. Każdorazowo zakończenie okresu pobierania łączyło się z objawami powstania zakrzepu na końcu kaniuli. W przypadkach tych obserwowano łatwość podawania przez kaniulę roztworu heparyny do wnętrza, przy trudności lub niemożności pobierania krwi. W takich przypadkach u niektórych krów podawanie przez kaniulę stężonej heparyny przedłużało okres pobierania. Obserwowano także przejściowe trudności w pobieraniu krwi, powodowane prawdopodobnie przyleganiem ścianek naczynia do końca kaniuli przy próbach zasysania krwi. Dłuższy okres pobierania krwi z żył w stosunku do okresu pobierania z tętnic można tłumaczyć wyższym ciśnieniem krwi w tętnicach, szybciej wypływającym z końcówek kaniul roztwór heparyny, co sprzyja powstawaniu zakrzepów.

Konieczność wykonywania laparotomii oraz bezpośrednich manipulacji na ciężarnej macicy spowodowały łącznie u 6 (26%) krów ronienia i przedwczesne porody. Według niektórych autorów laparotomie wykonywane u ciężarnych krów niosą za sobą zagrożenie ciąży (6, 13), przy czym jego stopień wzrasta wraz ze stopniem zaawansowania ciąży (1). Przedwczesne

zakończenie ciąży wystąpiło u 3 krów grupy I oraz również u 3 krów grupy II. Znacznie mniejszy odsetek ronień w II grupie, przy fizjologicznej średniej długości ciąży u zwierząt tej grupy ($278,2 \pm 5,1$ dni wobec skróconej, wynoszącej $271,1 \pm 4,9$ dni w I grupie), można wytłumaczyć rosnącą wraz z liczbą wykonanych zabiegów rutyną zespołu operacyjnego. Poziom kortyzolu we krwi obwodowej, oznaczony u 6 losowo wybranych zwierząt jako miernik stresu operacyjnego, wykazał duży wzrost tuż po zabiegu ($80-100$ ng/ml) oraz podwyższone wartości ($30-50$ ng/ml) w 2 i 8 godzin później. W 15-20 godzin po operacji obserwowano powrót do poziomu wyjściowego ($8-14$ ng/ml). Wartości te są zbliżone z wynikami uzyskanymi przy innego rodzaju operacjach (7).

W niniejszej pracy świadomie zrezygnowano z możliwości zapobiegania ronieniom poprzez zastosowanie progesteronu, środków blokujących syntezę prostaglandyn lub preparatów β -mimetycznych, gdyż mogłyby one mieć istotny wpływ na poziomy hormonów badanych po kaniulacji. Wstępne wyniki własnych badań endokrynologicznych, przeprowadzonych w oparciu o krew z naczyń macicznych, były publikowane wcześniej (8).

Innymi powikłaniami, jakie obserwowano po zabiegach, były ciężkie porody. Wystąpiły one u 3 (13%) krów, u których — poza zbyt dużymi płodami, stwierdzono słabe bóle porodowe. Przy rozwiązywaniu tych porodów metodą cesarskiego cięcia stwierdzono w jamie brzusznej zrosty ciężarnej macicy z okolicznymi narządami. Zrosty te były prawdopodobnie miejscowym odczynem *perimetrium* na manipulację, (wydobywanie i wprowadzanie do j. brzusznej), wykonywane na macicy. W przypadkach tych oceniano także stan ściany macicy w miejscu wprowadzenia kaniuli, nie stwierdzając miejscowego odczynu zapalnego. U pozostałych krów, ciążących się fizjologicznie, ocena miejscowej reakcji tkanek na wprowadzoną kaniulę była niemożliwa. Ponadto w jednym przypadku obserwowano nieznaczny stopień skręt ciężarnej macicy. Nie wykazano natomiast istotnego wpływu wykonywanych zabiegów na żywotność cieląt, które rodziły się zdrowe i zdolne do życia. Jedynie cielęta urodzone w wyniku przedwczesnych porodów były słabiej rozwinięte.

Reasumując można stwierdzić, że zastosowany w opisanych badaniach sposób kaniulacji tętnicy i żyły macicznej, mimo iż u pewnego odsetka krów powoduje powikłania (ronienia, ciężkie porody), umożliwia łatwe pobieranie krwi z naczyń macicznych ciężarnej macicy przez dłuższe okresy czasu.

Piśmiennictwo

1. Adams W. M.: J. Am. Vet. Ass. 154, 261, 1969.
2. Bamberg E., Möstl E.: Endbericht des Projektes N.P. 4411, Wien, October 1983.
3. Comline R. S., Hall L. W., Lavelle R. B., Nathanielsz P. W., Silver M.: J. Endocr. 63, 451, 1974.

4. Döcke F.: Veterinärmedizinische Endokrinologie, Verlag Fischer, Stuttgart, 1975.
5. Ferrel C. L., Ford S. P., Prior R. L., Christenson R. K.: J. Anim. Sci. 56, 656, 1983.
6. Hoffmann B.: Wien. tierärztl. Mschr. 70, 248, 1983.
7. Janowski T., Grunert E.: Zentbl. Vet. Med. A 31, 119, 1984.
8. Janowski T., Raś A., Chmiel J., Zduńczyk S.: Zuchthyg. 20, 122, 1985.
9. Kotwica J., Krzymowski T., Dębek J.: Medycyna Wet., 34, 118, 1978.
10. Mac Diarmid S. C.: Animal Breeding Abstracts. 51, 403, 1983.
11. Möstl E., Möstl K., Choi H. S., Dreier H. K., Stöckl W., Bamberg E.: J. Endocr. 89, 251, 1981.
12. Peterson A. J., Hunter J. T., Welch R. A. S., Fairclough R. J.: J. Reprod. Fert. 43, 179, 1975.
13. Robertson H. A., King G. J.: J. Reprod. Fert. 55, 463, 1979.
14. Schams D., Hoffmann B., Fischer S., Merz E., Karg H.: J. Reprod. Fert., 29, 37, 1972.
15. Vandeplassche M., Coryn M., Spincemaille J., Bouters R., Bonte P.: Dt. tierärztl. Wschr. 83, 554, 1976.

Adres autora: dr Tomasz Janowski, ul. Katowica 1, 40-251 Olsztyn

Яновский Т., Здунчик С., Рась А., Хмель Я. — Операционная каниюляция маточной вены и артерии беременных коров для эндокринологических исследований

Цель работы состояла в разработке операционной техники каниюляции маточной артерии и вены беременных коров, позволяющей легко брать из этих сосудов кровь для эндокринологических исследований.

Исследования провели на 23 коровах, у которых между 261—270 днями беременности через лапаротомию каниюлизовали ответвления маточной вены и артерии.

Период взивания крови из маточной вены составлял в среднем $7,3 \pm 5,2$ дня, из артерии же $5,2 \pm 3,4$ дня. Одновременное взятие крови из обоих сосудов было возможно в среднем $4,7 \pm 3,2$ дня, причем у 50% оперированных коров кровь брали тем же способом вплоть до родов.

У 26% подопытных животных появились осложнения в виде абортов либо тяжелых родов. Не наблюдали зато влияния выполняемых операций на витальность телят.

Janowski T., Zduńczyk S., Raś A., Chmiel J. — Surgical cannulation of the uterine vein and artery in pregnant cows for endocrinologic studies

The objectives of the studies were to develop a surgical technique of the uterine artery and vein cannulation in pregnant cows in order to obtain easy venous and arterial blood for endocrinological studies.

The experiments have been done on 23 laparomised cows between 261 and 270 day of gestation in which branches of the uterine artery and vein were cannulated. A mean time of venous and arterial blood collection was 7.3 ± 5.2 and 5.2 ± 3.4 days, respectively. Simultaneous collection of arterial and venous blood was possible by 4.7 ± 3.2 days, and in 50% of surgically treated cows blood was collected by this manner until parturition.

Complications (abortion, complicated parturitions) were noted in 26% of animals under study. However, the experiments did not influence negatively vitality of calves.

EDWARD WIERZCHOS*, R. A. CARMICHAEL**, W. R. BOONE**

Czwarte doroczne sympozjum American Embryo Transfer Association (A.E.T.A.) w Louisville

* Instytut Zootechniki, Kraków

** Maplehurst Ova Transplants Inc. Keota, Iowa 52248, USA

W dniach od 23—25 października 1985 r. w Louisville, Kentucky, odbył się kolejny zjazd Amerykańskiego Stowarzyszenia Przenoszenia Zarodków. Z uwagi na dość dużą liczbę zespołów zgłaszających się do egzaminów weryfikacyjnych w celu uzyskania licencji A.E.T.A., uprawniającej do prowadzenia stacji, pierwszy dzień zjazdu został w całości poświęcony sprawom administracyjnym. Natomiast w kolejnych dwudniach wygłoszone zostały następujące referaty:

I. Możliwości oznaczania płci u zarodków. Dr. M. Debre

Pracownik naukowy ImmuCell Corporation w Portland Maine, dr Debre omówił trzy będące do dyspozycji metody oznaczania płci u zarodków, tj. próbę polegającą na oznaczaniu kariotypu zarodka, metodę oznaczania ilości DNA w komórkach oraz test immunologiczny, polegający na reakcji specyficznego „antygeny płciowego” z surowicą zawierającą przeciwciała anty H-Y. Dr Debre w ImmuCell pracuje nad opracowaniem produkcji przeciwciał monoklonalnych do oznaczania płci u zarodków. Opierając się na własnych doświadczeniach uważa, że najbardziej obiecującą i najmniej pracochłonną jest metoda immunologiczna, jednakże uzyskiwane wyniki są bardzo niestabilne i układają się w granicach 60—85%. Na obecnym etapie metoda nie może wyjść poza laboratorium, w przyszłości na jej włączenie do praktyki będą miały wpływ następujące czynniki: a) duża zmienność

reakcji wynikająca z rozmieszczenia się antygeny na powierzchni zarodka, b) trwałość przeciwciał i innych reagentów, które nie będą zamieniały swych właściwości w procesie przechowywania, c) toksyczność poszczególnych składników, d) agregacja antygeny przez przeciwciała, e) duża zmienność w przepuszczalności osłonki przejrzystej, f) jakość przeciwciał.

II. Ekonomiczny aspekt oznaczania płci u zarodków. Dr G. E. Seidel Jr

Prof. G. E. Seidel jest kierownikiem Laboratorium Rozrodu Zwierząt Uniwersytetu w Colorado. Obok prac z zakresu fizjologii rozrodu samców, zapłodnienia in vitro, hodowli, mrożenia i dzielenia zarodków oraz metod superowulacji i transplantacji zarodków, zajmuje się też wykorzystaniem metod statystycznych w hodowli. Analizując obecną sytuację ekonomiczną, koszty przenoszenia zarodków oraz większe zainteresowanie hodowców materiałem żeńskim, cena zarodka o ustalonej płci żeńskiej powinna być wyższa o 2 tys. \$, a płci męskiej o 1 tys. \$ od cen obecnie proponowanych, przy założeniu, że skuteczność metody transplantacji będzie się układała na poziomie 80%. Jest oczywiste, że przy włączeniu do tych prac metod dzielenia i zamrażania zarodków, ceny te będą niższe.

III. Zastosowanie małych komputerów w warunkach stacji przenoszenia zarodków