

# Parametry hematologiczne, biochemiczne i równowagi kwasowo-zasadowej zająca szaraka

JÓZEF NICPOŃ, PIOTR SŁAWUTA, JAKUB NICPOŃ\*, AGNIESZKA NOSZCZYK-NOWAK

Katedra Chorób Wewnętrznych i Pasożytniczych z Kliniką Chorób Koni, Psów i Kotów

Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP, pl. Grunwaldzki 47, 50-322 Wrocław

\*Katedra i Klinika Chirurgii Wydziału Medycyny Weterynaryjnej UP, Pl. Grunwaldzki 51, 50-366 Wrocław

Nicpoń J., Sławuta P., Nicpoń J., Noszczyk-Nowak A.

## Hematological, biochemical and acid-base equilibrium parameters of the European Brown Hare

### Summary

The aim of the study was to determine the hematological, biochemical and acid-base equilibrium parameters that could be referential for the population of hares inhabiting Poland. Blood for analysis was collected from 36 clinically healthy adult hares (24 females and 12 males), which were caught alive in their natural environment. The hares were observed for 48 hours to eliminate sick animals from further examinations. Before blood collection the animals were administered a mixture of ksylazyna – 2 mg/kg – and ketamina in the same dose. The following acid-base equilibrium parameters were determined from the arterial blood: pH of blood,  $p\text{CO}_2$ ,  $\text{HCO}_3^-$ . The AST, ALT, ALP, concentration of urea, creatinine, cholesterol, triglycerides, glucose, WBC, RBC, HGB, Ht were determined from the venous blood. The concentration of calcium, phosphorus, magnesium, sodium, potassium and chlorides were determined in the blood serum. The mean of the determined parameters was: pH = 7.38,  $p\text{CO}_2$  = 41.11 mmHg,  $\text{HCO}_3^-$  = 22.83 mmol/l, AST = 245 U/l, ALT = 124 U/l, ALP = 51.4 U/l, the concentration of urea = 7.2 mmol/l, creatinine = 95.7  $\mu\text{mol/l}$ , cholesterol = 0.55 mmol/l, triglycerides 1.3 mmol/l, glucose = 9.24 mmol/l, WBC = 4.27 U/L, RBC = 9.74 U/L, Hb = 12.5 mmol/l, Ht = 0.58 l/l,  $\text{Ca}^{2+}$  = 2.55 mmol/l,  $\text{Mg}^{2+}$  = 1.14 mmol/l,  $\text{P}^{2+}$  = 1.37 mmol/l,  $\text{Na}^+$  = 146.5 mmol/l,  $\text{K}^+$  = 3.77 mmol/l,  $\text{Cl}^-$  = 108 mmol/l.

**Keywords:** hare, blood parameters

Od kilkunastu lat obserwuje się w Europie wyraźny i wciąż postępujący spadek populacji zająca szaraka (*Lepus europaeus*). Drastyczne zmniejszenie liczebności jest prawdopodobnie sumą wielu czynników: monokulturowych i wielkoobszarowych upraw rolnych, wciąż gęstniejącej sieci dróg i nasilenia ruchu samochodowego, stosowania środków ochrony roślin, zanieczyszczenia środowiska, wzrastającej liczby drapieżników (lis, kruk i inne) (11), osłabienia potencjału rozrodczego (1, 12, 13), chorób zakaźnych – zespół zająca szaraka (EBHS – European Brown Hare Syndrome). Pod koniec lat dziewięćdziesiątych opisywano również tzw. chorobę pachwinową o nie wyjaśnionej etiologii i etiopatogenezie, która obok EBHS miałyby być przyczyną gwałtownego wymierania zającej w Polsce (10, 14). W Niemczech, Austrii, Francji, Wielkiej Brytanii, krajach skandynawskich (2-8, 11, 15) podjęto próby wyjaśnienia przyczyn spadku liczby zającej. W Polsce szczegółowo opisywano problem zająca szaraka jako bioindykatora pozwalającego ocenić stopień zanieczyszczenia środowiska (16). Dotychczasowe badania koncentrowały się na wpływie metali ciężkich i substancji toksycznych (insektycydy, herbicydy) na śmiertelność, obniżenie odporności (11)

i zdolności zającej do rozrodu (1, 12, 13), oraz występowaniu chorób wirusowych w populacji (10, 15). Jednak ciągle brak jest danych pozwalających wyznaczyć wartości referencyjne dla badań laboratoryjnych, które wykorzystywane są do oceny stanu zdrowia zwierząt. Badania krwi zającej pod tym kątem prowadzone były dotychczas tylko w Hiszpanii (9), jednak nie wiadomo, czy uzyskane wyniki mogą być traktowane jako uniwersalne w stosunku do zającej bytujących w Polsce, ze względu na klimat, środowisko, inną bazę żerową i zawartość metali ciężkich w środowisku (16). Parametry równowagi kwasowo-zasadowej (RKZ), oraz stężenie niektórych elektrolitów w surowicy krwi nie były dotychczas u tych zwierząt badane.

Celem badań było określenie parametrów hematologicznych i biochemicznych oraz parametrów RKZ krwi, które mogą stanowić wartości referencyjne dla zającej szaraków bytujących na terenie Polski.

### Materiał i metody

Krew do badań pobrano od 36 klinicznie zdrowych zającej (24 samice i 12 samców) w wieku 1-3 lata, odłowionych w południowo-wschodniej części Polski, które następnie umieszczono w wolieryze o powierzchni 9 ha, będącej

wycinkiem naturalnych terenów leśnych. Badania przeprowadzono w listopadzie. Zajęce po odłowieniu umieszczano po trzy osobniki, w zagrodzonych, wysłanych sianem boksach o powierzchni 2 m<sup>2</sup> i obserwowano przez 48 godzin. Okres ten był konieczny dla ewentualnego wyeliminowania z dalszych badań zwierząt wykazujących kliniczne objawy chorobowe oraz ograniczenia czynników związanych ze stresem po odłowach i transporcie. Przed pobraniem krwi zwierzętom podano w formie iniekcji domięśniowej mieszaninę ksylazyny – 2 mg/kg i ketaminy w takiej samej dawce. Krew tętniczą pobierano z odgałęzienia tętnicy usznej po zewnętrznej stronie małżowiny igłą o  $\varnothing$  0,7 mm. O tętnicznym charakterze pobranej krwi świadczyła jej jasna, żywoczerwona barwa. Krew pobierano do strzykawki z heparyną, co umożliwiała aspirację bez dostępu powietrza. Pobraną próbkę natychmiast po pobraniu umieszczano w termosie z lodem. We krwi tętniczej, przy pomocy aparatu Osmotech OPTI Blood Gas Analyser, oznaczano parametry RKZ – pH krwi, ciśnienie cząsteczkowe CO<sub>2</sub> (pCO<sub>2</sub>) i HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>, zasób zasad buforujących (BB) oraz nadmiar lub niedobór zasad buforujących (BE). Krew żylną pobierano z żyły odstrzałkowej przy pomocy igły  $\varnothing$  0,8 mm, po usunięciu sierści i dezynfekcji skóry w miejscu wkłucia. W żylną krwi, przy pomocy aparatów Animal Blood Counter abc Vet, Ciba Corning 865 i Pointe 180 oznaczono: aktywność enzymów wątrobowych – aminotransferazy asparaginowej (AST) i aminotransferazy alaninowej (ALT), fosfatazę alkaliczną (FA), stężenie mocznika, kreatyniny, zawartość cholesterolu, triglicerydów, glukozy, liczbę białych i czerwonych krwinek, stężenie hemoglobiny i wartość hematokrytu. W surowicy krwi oznaczano ponadto: stężenie wapnia, fosforu nieorganicznego, magnezu, sodu, potasu i chlorków. Zwierzęta po pobraniu materiału do badań zostały wypuszczone na teren woliery. Z otrzymanych wartości obliczano średnią i odchylenie standardowe.

### Wyniki i omówienie

Uzyskane wyniki przedstawiają tab. 1, 2, 3 i 4. Dotychczas badania krwi zajęcy, pod kątem wartości referencyjnych przeprowadzili jedynie Marco i wsp. (9). Autorzy, porównując parametry krwi zajęcy młodych i dorosłych, wykazali, że liczba erytrocytów, zawartość hemoglobiny, ilość białka całkowitego, albumin, gamma globulin, mocznika i kreatyniny są istotnie wyższe u osobników starszych. Autorzy ci ze względu na całkowity brak danych piśmiennictwa ustalili własne wartości referencyjne i odchylenia standardowe na podstawie uzyskanych wyników. Uzyskane w niniejszych badaniach wyniki morfologii krwi obwodowej oraz parametrów biochemicznych krwi, z wyjątkiem AST i ALT, były zbliżone do podanych przez Marco i wsp. Określenie aktywności AST i ALT należy do rutynowej diagnostyki enzymologicznej w przypadku podejrzenia chorób wątroby, przy czym ALT jest wyłącznie enzymem cytoplazmatycznym, a AST występuje również w mitochondriach. Wyniki własne dotyczące aktywności AST i ALT różniły się od wyników podanych przez Marco i wsp. Podczas badania

Tab. 1. Parametry hematologiczne krwi zająca szaraka

Oznaczone parametry	Wartość średnia	Odchylenie standardowe	Zakres wartości
WBC G/l	4,27	1,7	2,1-10,1
RBC T/l	9,74	9,74	6,94-10,94
Hb mmol/l	12,5	12,5	9,2-1,4
Ht l/l	0,58	0,58	0,43-0,63
MCV fl	60	–	
MCH fmol	1,28	–	
MCHC mmol/l	21,5	–	

Objaśnienia: WBC – liczba białych krwinek; RBC – liczba czerwonych krwinek; Hb – stężenie hemoglobiny; Ht – wartość hematokrytu; MCV – średnia objętość krwinki czerwonej; MCH – średnia masa hemoglobiny; MCHC – średnie stężenie hemoglobiny w krwince

Tab. 2. Parametry biochemiczne krwi zająca szaraka

Nazwa	Wartość średnia	Odchylenie standardowe	Zakres uzyskanych wartości
AST U/l	245	85,3	111-453
ALT U/l	124	40,2	66-247
ALP U/l	51,4	22	8-95
Mocznik mmol/l	7,2	1,13	5,6-9,5
Kreatynina $\mu$ mol/l	95,7	9,7	75-116
Bc g/l	46	3,4	38-53
Alb. g/l	36	2,9	30-41
Glob. g/l	9,8	3,1	5-19
Gluk. mmol/l	9,24	2,2	6,1-15,8
TG mmol/l	1,3	0,4	0,5-8,2
Chol. mmol/l	0,55	0,1	0,25-1,16

Objaśnienia: AST – aminotransferaza asparaginowa; ALT – aminotransferaza alaninowa; ALP – fosfataza alkaliczna; Bc – białko całkowite; Alb. – albuminy; Glob. – globuliny; Gluk. – glukoza; TG – triglicerydy; Chol. – cholesterol

Tab. 3. Stężenie elektrolitów w surowicy krwi zająca szaraka

Oznaczone jony	Wartość średnia	Odchylenie standardowe	Zakres uzyskanych wartości
Ca <sup>2+</sup> mmol/l	2,55	0,23	2,0-3,10
Mg <sup>2+</sup> mmol/l	1,14	0,21	0,77-1,76
P <sup>2+</sup> mmol/l	1,37	0,24	1,06-1,89
Na <sup>+</sup> mmol/l	146,5	4,12	140-157
K <sup>+</sup> mmol/l	3,77	0,41	2,9-4,56
Cl <sup>-</sup> mmol/l	108	3,18	103-117

klinicznego, poprzedzającego pobranie krwi, nie obserwowano żadnych zmian w ogólnym stanie zdrowia zajęcy. Autorzy cytowanych badań oprócz uzyskanych wartości średnich podają również odchylenie standardowe oraz zakres uzyskanych wyników. W przypadku ALT były to wartości od 0 do 107,18 U/L, zakres AST

**Tab. 4. Parametry równowagi kwasowo-zasadowej krwi tętniczej zająca szaraka**

Oznaczone parametry RKZ	Wartość średnia	Odchylenie standardowe	Zakres uzyskanych wartości
pH	7,38	0,04	7,30-7,49
pCO <sub>2</sub> mmHg	41,11	4,57	32,50-51,60
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mmol/l	22,83	3,37	18,10-29,50
tCO <sub>2</sub> mmol/l	29,90	6,26	14,80-33,90
BB mmol/l	49,40	6,72	33-53,30
BE mmol/l	3,60	1,04	1,90-4,80

Objaśnienia: pCO<sub>2</sub> – ciśnienie cząsteczkowe CO<sub>2</sub>; HCO<sub>3</sub><sup>-</sup> – aktualne stężenie wodorowęglanów; tCO<sub>2</sub> – całkowita zawartość CO<sub>2</sub> w osoczu; BB – zasady buforujące osocze; BE – nadmiar zasad buforujących osocze

**Tab. 5. Porównanie wartości referencyjnych wskaźników biochemicznych w surowicy krwi królika z uzyskanymi wartościami średnimi krwi zająca szaraka**

Porównywane parametry	Zając – wartości średnie i odchylenie standardowe	Królik – wartości referencyjne	Zakres uzyskanych wartości
Ca <sup>2+</sup> mmol/l	2,55 ± 0,23	1,40-3,03	2,0-3,10
Mg <sup>2+</sup> mmol/l	1,14 ± 0,21	0,82-2,21	0,77-1,76
P <sup>2+</sup> mmol/l	1,37 ± 0,24	0,74-2,23	1,06-1,89
Na <sup>+</sup> mmol/l	146,5 ± 4,12	138-155	140-157
K <sup>+</sup> mmol/l	3,77 ± 0,41	3,70-6,80	2,90-4,56
Cl <sup>-</sup> mmol/l	108 ± 3,18	92-112	103-117
pH	7,38 ± 0,04	brak danych	7,30-7,49
pCO <sub>2</sub> mmHg	41,11 ± 4,57	brak danych	32,50-51,60
HCO <sub>3</sub> <sup>-</sup> mmol/l	22,83 ± 3,37	24,0	18,10-29,50

wahał się pomiędzy 14,77 a 165,41 U/L, a odchylenie standardowe dla ALT wynosiło ± 29,15, a dla AST ± 41,93. Przy tak dużym odchyleniu standardowym wyników oraz małej liczbie grup w badaniach Marco i wsp. można założyć, że wyniki uzyskane w niniejszych badaniach nieco odbiegają od wyników cytowanej pracy. Można przyjąć zatem, że wysoka aktywność enzymów wątrobowych uzyskana w przedstawionych badaniach wcale nie musi być wynikiem toczącego się procesu chorobowego, lecz wartościami fizjologicznymi dla zająca naszej strefy klimatycznej.

Uzyskane wyniki dotyczące stężenia elektrolitów i parametrów równowagi kwasowo-zasadowej w surowicy krwi zająca są zbliżone do wartości podanych przez Winnicką (17) dla krwi królika (tab. 5). Parametrów tych, oznaczonych we krwi zającej, brak jest w dostępnej literaturze. Badania porównawcze fizjologii zająca i królika wykonali również Studziński i wsp., opisując różnice pomiędzy elektrokardiogramami zająca i królików (14).

W polskiej literaturze zając szarak był również opisany przez Wałkuską jako bioindykator zanieczyszczenia środowiska metalami ciężkimi. Badania przepro-

wadzone zostały u zająca bytujących w makroregionie środkowowschodnim Polski. W swoich badaniach autorka określała zawartość ołowiu, kadmu, cynku i miedzi w wątrobie, nerkach i mięśniach szkieletowych u dorosłych zająca oraz ich płodów, nie wykonywała jednak żadnych oznaczeń we krwi. We wnioskach tej pracy podkreślono konieczność prowadzenia monitoringu stanu zdrowia zająca w różnych regionach kraju ze względu na szybko zmieniające się warunki środowiska naturalnego (16).

Podsumowując należy stwierdzić, że w Polsce nie były dotychczas oznaczane parametry hematologiczne i biochemiczne krwi zająca szaraka występującego w naszym kraju oraz że podane w pracy wyniki mogą stanowić wartości referencyjne dla tego gatunku.

## Piśmiennictwo

- Caillol M., Martinet L., Lacroix M. C.: Relative roles of oestradiol and of the uterus in the maintenance of the corpus luteum in the pseudopregnant brown hare (*Lepus europaeus*). *J. Reprod. Fertil.* 1989, 87, 603-612.
- Duff J. P., Chasey D., Munro R., Wooldridge M.: European brown hare syndrome in England. *Vet. Rec.* 1994, 134, 669-673.
- Frolich K., Meyer H. H., Pielowski Z., Ronsholt L., von Seck-Lanzendorf S., Stolte M.: European brown hare syndrome in free-ranging hares in Poland. *J. Wildl. Dis.* 1996, 32, 280-285.
- Frolich K., Wissner J., Schmuser H., Fehlberg U., Neubauer H., Grunow R., Nikolaou K., Priemer J.: Epizootiologic and ecologic investigations of European brown hares (*Lepus europaeus*) in selected populations from Schleswig-Holstein, Germany. *J. Wildl. Dis.* 2003, 39, 751-761.
- Gavier-Widen D., Morner T.: Epidemiology and diagnosis of the European brown hare syndrome in Scandinavian countries. *Rev. Sci. Tech.* 1991, 10, 453-458.
- Gustafsson K., Svensson T., Ugglå A.: Studies on an idiopathic syndrome in the brown hare (*Lepus europaeus* P.) and mountain hare (*Lepus timidus* L.) in Sweden, with special reference to hepatic lesions. *Zntbl. Vet. Med. A* 1989, 36, 631-637.
- Kozdrowski R., Dubiel A.: Pobieranie i właściwości nasienia zająca szaraków. *Medycyna Wet.* 2005, 61, 571-572.
- Kozdrowski R., Dubiel A., Siemieniuch M.: Preliminary studies on cryopreservation of hare (*Lepus europaeus*) semen. *Anim. Reprod. Sci.* 2006, 93, 179-182.
- Marco I., Cuenca R., Pastor J., Velarde R., Lavin S.: Hematology and serum chemistry values of the European brown hare. *Vet. Clin. Pathol.* 2003, 32, 195-198.
- Nowotny N., Bascunana C. R., Ballagi-Pordany A., Gavier-Widen D., Uhlen M., Belak S.: Phylogenetic analysis of rabbit haemorrhagic disease and European brown hare syndrome viruses by comparison of sequences from the capsid protein gene. *Arch. Virol.* 1997, 142, 657-673.
- Schmidt N. M., Asferg T., Forchhammer M. C.: Long-term patterns in European brown hare population dynamics in Denmark: effects of agriculture, predation and climate. *BMC Ecol.* 2004, 12, 15-19.
- Stott P., Wight N.: Female reproductive tract abnormalities in European hares (*Lepus europaeus*) in Australia. *J. Wildl. Dis.* 2004, 40, 696-703.
- Strbenc M., Bavdek S. V.: Apoptosis and proliferation in the testes of the brown hare (*Lepus europaeus*) under the influence of photoperiod. *Pflugers Arch.* 2001, 442, R161-162.
- Studziński T., Wałkuszka G., Valverde Pietra J. L.: Studies of electrocardiographic parameters in rabbits and hares. *Annales UMCS sectio DD* 1995, 50, 117-124.
- Syrjala P., Nylund M., Heinikainen S.: European brown hare syndrome in free-living mountain hares (*Lepus timidus*) and European brown hares (*Lepus europaeus*) in Finland 1990-2002. *J. Wildl. Dis.* 2005, 41, 42-47.
- Wałkuszka G.: Wykorzystanie zająca: (*Lepus europaeus* Pallas) do oceny stopnia zanieczyszczenia środowiska związkami ołowiu, kadmu, cynku i miedzi w makroregionie środkowowschodnim Polski. Praca habilitacyjna, Wydz. Medycyny Weterynaryjnej, AR Lublin 1999. Rozprawy naukowe AR w Lublinie (219).
- Winnicka A.: Wartości referencyjne podstawowych badań laboratoryjnych w weterynarii. Wyd. SGGW, Warszawa 1997.

Adres autora: prof. dr hab. Józef Nicpoń, pl. Grunwaldzki 47, 50-322 Wrocław; e-mail: nicpon@ozi.ar.wroc.pl