

METODA KANILIRANJA JUGULARNE VENE ŠTAKORA I NJEZINO KORISTENJE U TOKSIKOLOŠKIM ISTRAŽIVANJIMA

M. VANDEKAR i T. FAJDETIĆ

Institut za medicinska istraživanja i medicinu rada, Zagreb

(Primitljeno 27. XI 1962)

Opisan je postupak kaniliranja jugularne vene štakora u svrhu ponavljano vađenja uzoraka krvi. Istaknuta je široka mogućnost primjene te metode u onim istraživanjima koja inače zahtijevaju znatno veće pokusne životinje.

Većina toksikoloških laboratorija u svijetu služi se štakorom kao glavnim objektom pri ocjeni akutne i kronične toksičnosti nekog spoja. Želimo li, međutim, naša istraživanja proširiti na studij postojanosti nekog otrova ili antidota u organizmu, odnosno želimo li izučavati metabolizam ili pratiti biokemijske učinke što ih taj spoj proizvodi, često će takva istraživanja zahtijevati ponavljano vađenje krvi pokusnoj životinji u određenim vremenskim razmacima. Uzimanje krvi iz repa, odnosno izravno iz srca štakora, rijetko će nas zadovoljiti s obzirom na ograničeni volumen odnosno broj uzoraka krvi koji postićemo pri jednom ili drugom vađenju.

Metodu kaniliranja jugularne vene štakora koristimo već niz godina za pokuse spore intravenozne infuzije otrova, u kojima želimo odrediti maksimalnu toleriranu dozu u odnosu na brzinu ulaska otrova u organizam (1, 2). Taj način aplikacije otrova može nam u određenoj mjeri oponašati ulazak otrova kroz pluća ili kožu, s jednom velikom prednošću što nam je u toku čitavog pokusa količina otrova koja je ušla u organizam poznata.

Prije godinu dana upotrijebili smo metodu kaniliranja štakora za ponavljano vađenje uzoraka krvi (3, 4). Metoda vađenja krvi kaniliranim štakoru pokazala se vrlo pouzdanom i tačnom, pa nam je omogućila racionalno korištenje te relativno male i jeftine životinje i za ona istraživanja koja inače zahtijevaju znatno veće i skuplje pokusne životinje (5).

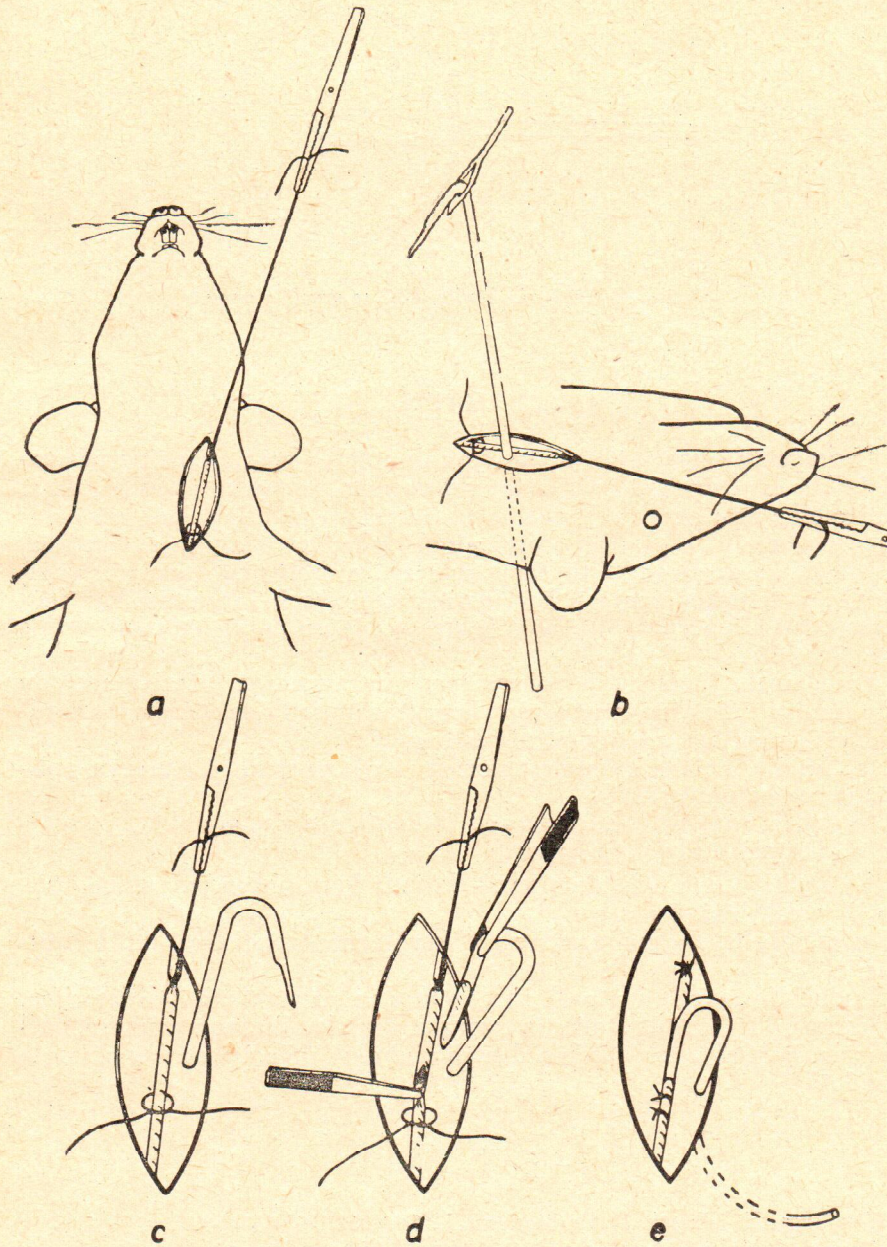
POSTUPAK

Štakoru u eterskoj narkozi isprepariramo jugularnu venu (*vena jugularis externa*) u dužini od oko 1 cm. Distalni kraj vene podvežemo, a na proksimalnom kraju pripremimo šav za fiksiranje kanile (sl. 1a). Kanilu utaknutu u debelu iglu ili šilo provedemo kroz kožu i meka tkiva od nugalne regije do isprepariranog područja (sl. 1b i c). Distalno od pripremljenog šava učinimo škaricama (za iris) otvor na veni, kroz koji uvedemo kanilu u smjeru prema srcu što je dublje moguće (sl. 1d i e). Čim smo uveli kanilu čvrsto stegnemo prije pripremljeni šav (1–2 mm proksimalno od tog šava možemo učiniti još jedan sigurnosni šav). Pri uvođenju u venu kanila je ispunjena 0,1% otopinom heparina u fiziološkoj otopini (100 i. j./ml). Po zatvaranju operativnog reza tekućim šavom, injiciramo štakoru 0,1 ml/100 g heparina iste koncentracije, a zatim zatalimo slobodni kraj kanile plamenom. Operativni zahvat u pravilu ne traje dulje od 10 minuta i životinja se brzo oporavlja od narkoze.

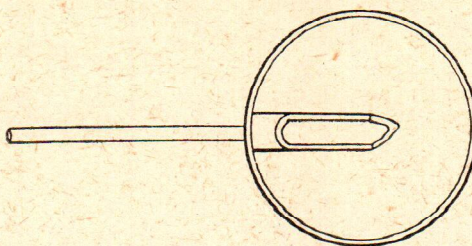
Za tu svrhu pokazala se najprikladnija politenska kanila (proizvod firme Esco-Rubber, London), kojoj je vanjski promjer 1,0 mm, a unutarnji 0,5 mm. Ponekad smo u pokusima primijetili da pri vađenju krvi vrlo lako dođe do stvaranja »ventila« na kraju kanile, tj. kanila je bila prohodna samo u smjeru ubrizgavanja. Zatvaranje kanile pri vađenju krvi nastaje zbog prijanjanja intime venozne stijenke na otvor kanile zbog nastalog podtlaka pri aspiraciji krvi. Da otklonimo tu nepriliku oblikovali smo kraj kanile koji se uvodi u venu na način kao što ga prikazuje slika 2. Koristeći tako oblikovanu kanilu, vađenje uzoraka krvi postaje neometano i zavisi isključivo od brzine punjenja desnog atrija.

Da spriječimo oštećenje slobodnog kraja kanile što izlazi dužinom od oko 15 cm iz nugalne regije, životinju smještavamo u Bollmanov kavez (6) koji joj omogućuje slobodno uzimanje hrane i vode, ali sprečava okretanje. Već isti dan (2 sata nakon operacije) ili drugi dan životinju možemo koristiti za pokus. Uzorke krvi vadimo aspiracijom pomoću tuberkulinske štrcaljke (slika 3) koju smo prethodno napunili do željene oznake (npr. 0,1 ml) fiziološkom otopinom, puferom ili drugom otopinom u kojoj namjeravamo kasnije razrijediti krv. Tim postupkom možemo uvući u štrcaljku tačno mjerene količine krvi i izbjeći mrtvi prostor što ga čine igla i štrcaljka do početka graduirane skale. Pri vađenju vrlo malih uzoraka krvi uklanjamo nekoliko kapi krvi koje se nalaze u kanili – i koje nisu u cirkulaciji – pomoću druge štrcaljke, tik prije vađenja.

Ukupna količina krvi, odnosno broj uzoraka, nije ograničena metodom već jedino težinom životinje. Eksperimentator će sam ocijeniti do koje mjere može uzimati krv životinji, a da taj gubitak krvi još ne utječe na rezultate pokusa. U našim su pokusima pojedinačni uzorci iznosili 0,15–0,8 ml, a ukupna količina krvi što smo je izvadili u toku 3–4 sata pokusa iznosila je kod štakora težih od 400 g 5–6 mililitara.



Sl. 1. - Shematski prikaz metode kaniliranja jugularne vene štakora



Sl. 2. – Oblik kraja kanile, koji se uvodi u venu

PRIMJENA

U praćenju učinaka koje neki otrov ili antidot ispoljuje na određenim biološkim sistemima u krvi (aktivnost enzima, promjene u sastavu krvi, morfološke promjene itd.) idealni su oni pokusi u kojima možemo dobiti vrijednosti usporediti s normalnim vrijednostima iste životinje, tj. da svaka životinja služi sama sebi za kontrolu. Isto tako će studij postojanosti nekog spoja u krvi dati mnogo jasnije rezultate kad možemo pratiti koncentraciju spoja u krvi u odnosu na vrijeme kod jedne iste životinje.

Pored prije spomenutih pokusa spore intravenozne infuzije, metodu kaniliranja jugularne vene s uspjehom smo koristili za uzimanje uzoraka krvi štakorima u ovim istraživanjima:

(a) Studij inhibicije kolinesteraze krvi nakon različitih puteva aplikacije antikolinesteraza;

(b) studij reaktivacije inhibirane kolinesteraze nakon aplikacije antidota (oksima) otrovanom štakoru;

(c) studij efekta dekontaminacije kože štakora nakon perkutane aplikacije antikolinesteraza i

(d) studij perzistencije oksima u krvi nakon različitih puteva aplikacije.

Budući da gotovo sva naša istraživanja *in vivo* vršimo na štakorima, to će zacijelo metoda vadenja uzoraka krvi kaniliranom štakoru naći ubrzo primjenu u testiranju i drugih bioloških učinaka otrova odnosno antidota.

Literatura

1. Vandekar, M. i Heath, D. F.: *Biochem. J.*, 67 (1957) 202.
2. Vandekar, M.: *Arh. hig. rada*, 13 (1962) 3.
3. Wilhelm, K. i Vandekar, M.: I simpozij o antikolinesterazama, Zagreb, 1961, rezime i saopćenja, str. 44.

4. *Uandekar, M.*: I simpozij o antikolinesterazama, Zagreb, 1961, rezimei saopćenja, str. 55.
5. *Svetličić, B. i Uandekar, M.*: J. Comp. Path., 70 (1960) 257.
6. *Bollman, J. L.*: J. Lab. Clin. Med., 33, (1948) 1348.

Summary

A METHOD FOR THE CANNULIZATION OF THE RAT'S V. JUGULARIS AND ITS USE IN EXPERIMENTAL TOXICOLOGY

A method is developed for the cannulization of the jugular vein of the rat, in order to make repeated withdrawal of blood samples possible. A wide application of the method in those investigations which would otherwise require large (and expensive) experimental animals is pointed out.

*Institute for Medical Research,
incorporating the Institute of
Industrial Hygiene, Zagreb*

*Received for publication
November 27, 1962*