

T. KRZYMOWSKI, W. MALINOWSKI

BADANIA SZPIKU I KRWI U KUR HODOWLANÝCH ZE SZCZEGÓLNYM UWZGLĘDNIENIEM GENEZY TROMBOCYTÓW ORAZ METODY OBLICZANIA KRWINEK

Z Katedry Fizjologii Zwierząt Wydziału Weterynaryjnego
Szkoły Głównej Gospodarstwa Wiejskiego w Warszawie
Kierownik: prof. dr *B. Gutowski*

Badania składu morfotycznego krwi ptaków domowych, a szczególnie kur, były przeprowadzane przez wielu autorów. Problem ten był najbardziej aktualny w końcu ubiegłego i w początkach bieżącego stulecia. W następnym jednak okresie poddano krytyce stosowane metody obliczania liczby leukocytów i trombocytów, wprowadzono szereg metod i zaczęto rewidować dotychczasowe wyniki. Stąd też w latach 1930—55 pojawia się znowu szereg obszernych prac z tego zakresu, tym bardziej, że zagadnieniem tym zaczyna się interesować hodowla zwierząt i weterynaria. W ostatnich latach, w związku z ogólnym rozwojem hematologii, wzrasta odpowiednio zainteresowanie krwią ptaków, ponieważ nowe metody wprowadzone do badań hematologicznych pozwalają szerzej i głębiej rozpatrzyć problem nie tylko składu morfotycznego krwi, ale przede wszystkim procesów krwiotwórczych. Badanie procesów krwiotwórczych u ptaków ma duże znaczenie dla hematologii porównawczej, rozpatrującej zagadnienie z szerszego, ogólnobiologicznego punktu widzenia. Ogólnie bowiem wiadomo, że w okresie postembrionalnym u większości ssaków proces krwiotwórczy sprowadza się w warunkach fizjologicznych do szpiku oraz częściowo (w odniesieniu do układu limfatycznego) do śledziony i węzłów limfatycznych. Jak wynika z nowszych badań u niektórych gatunków zwierząt w obrębie gromady ssaków jak pies, myszka, świnka morska i inne, proces krwiotwórczy może mieć miejsce również w wątrobie a ogniska hemopoetyczne śledziony czy węzłów limfatycznych nie ograniczają się do produkcji limfocytów, gdyż spotykamy tam młode komórki układu mieloblastycznego oraz szeregu płytkotwórczego (np. megakariocyty, mieloblasty, mielocyty itp.). U ryb, płazów, gadów i ptaków procesy krwiotwórcze różnią się zasadniczo od hemopoezy ssaków. U płazów np. występuje tzw. tkanka okołonerkowa, która obok szpiku i innych ognisk krwiotwórczych bierze udział w wytwarzaniu krwinek. W związku z powyższym, z punktu widzenia ogólnobiologicznego i z punktu widzenia hematologii porównawczej zainteresowanie się gromadami kręgowców niżej położonymi w rozwoju filogenetycznym (ptaki, gady, płazy, ryby) nabiera istotnego znaczenia i staje się wprost koniecznością.

O ile w piśmiennictwie dużo miejsca zajmują badania krwi obwodowej ptaków, a szczególnie kur, o tyle niewiele uwagi poświęcono dotychczas badaniom ich układu krwiotwórczego. W dostępnym nam piśmiennictwie znaleziono jedynie krótki opis elementów morfotycznych szpiku u kury

i gołębia podany przez Schermera (9) oraz bardzo powierzchowne dane dotyczące szpiku kur podane przez Bielajewa (1). Bielajew badał szpik, pobierając go przyżyciowo przez nakłucie kości śródstopia. Po zabarwieniu rozmazów metodą Pappenheima sporządzał mielogramy. Dokładniejsze badania szpiku i krwi kaczek, z uwzględnieniem ich wieku, przeprowadzili Crass i Rigdon (2). Autorzy ci pobierali szpik białych kaczek — „White Pekin Ducks“ od trzeciego dnia ich życia, do trzech miesięcy, przyczym szpik pobierano pośmiertnie, po skrwawieniu przez przecięcie *a. carotis*. Uwzględniając powyższe dane postanowiono wykonać równoczesne badania morfologii szpiku i krwi obwodowej u klinicznie zdrowych kur hodowlanych. Przyżyciowe pobieranie szpiku umożliwiło zastosowanie wcześniej opracowanej przez autorów (7) metody pobierania szpiku od ptaków.

METODYKA

Badania wykonano na 50 kurach hodowlanych rasy „Karmazyny“¹ w 2 grupach tj. w czerwcu 1955 r. (30 kur) i we wrześniu 1957 r. (20 kur). Wszystkie kury były żywione według obowiązujących norm hodowlanych. Ferma była wolna od gruźlicy, białaczki, paratyfusu i białej biegunki (nosicielstwo poniżej 1%). Wiek kur wahał się w granicach 12—16 miesięcy. Ciężar ciała wynosił od 1,9 do 2,7 kg. Przeciętna nieśność — 100 do 170 jaj rocznie. Ciężar jednego jaja wahał się od 50 do 70 g. U 20 kur przeprowadzono badania koprologiczne, oraz sekcje parazytologiczne². Badania koprologiczne u wszystkich kur wypadły ujemnie, natomiast sekcja parazytologiczna wypadła całkowicie ujemnie tylko w odniesieniu do 6 kur, wykazując u pozostałych obecność przeciętnie 1—3 sztuk *Ascaridia galli* i kilka sztuk *Heterakis gallinae*. U dwóch kur znaleziono po jednym egzemplarzu tasiemca *Raillietina tetragona*, oraz u jednej kury 1 egzemplarz *Fimbriana fasciolaris*. Po pobraniu krwi i szpiku, 20 kur skrwawiono i wykonano sekcje¹, które nie wykazały żadnych zmian patologicznych.

Krew od wszystkich kur pobierano przez nakłucie żyły łokciowej. Szpik pobierano przyżyciowo z kości łokciowej metodą własną (7). Badania krwi i szpiku obejmowały: 1. Opis elementów morfotycznych szpiku oraz skład odsetkowy szpiku i krwi. 2. Obliczanie liczby erytrocytów, leukocytów, trombocytów, retikulocytów, ilości hemoglobiny, wielkości erytrocytów oraz hematokrytu i wskaźników hematokrytowych. Preparaty barwiono metodą May-Grünwald-Giemzy stosując następujący czas barwienia: utrwalanie May-Grünwaldem — 5 minut, barwienie May-Grünwaldem (po rozcieńczeniu) — 15 minut, barwienie Giemzą — 40 minut. Retikulocyty barwiono przyżyciowo siarczanem błękitu Nilu i liczono je na 1000 krwinek czerwonych.

Liczbę erytrocytów, leukocytów i trombocytów liczono stosując niżej podaną własną modyfikację metody wyliczania poszczególnych wartości:

Do mieszalnika Potaina pobierano krew do podziałki „1“ i uzupełniano jego objętość płynem rozcieńczającym do podziałki „101“. Płyn do rozcieńczania krwi przygotowano w oparciu o metodę Kozmy, modyfikując ilość dodanych barwików.

¹ Kury pochodziły z fermy hodowlanej Zakładu Chowu Drobiu S. G. G. W. w Grudowie k/Warszawy.

² Badania koprologiczne i sekcje parazytologiczne zostały wykonane w Katedrze Parazytologii Wydz. Wet. S. G. G. W. przez lek. wet. J. Przyjałkowskiego.

¹ Sekcje anatomo-patologiczne zostały wykonane w Katedrze Anatomii Patologicznej Wydz. Wet. S. G. G. W. przez dr J. Preibisha, lek. wet. Z. Podgórnika, lek. wet. W. Plusińskiego i lek. wet. T. Pietraszek — za co autorzy składają podziękowanie.

a) Płyn podstawowy (płyn Kozmy): chlorek sodu — 1,0, chlorek rtęci — 0,8, cytrynian sodu — 0,3, szczawian amonu — 0,1, woda destylowana — 100,0.

b) W oparciu o płyn podstawowy sporządzano 1% roztwór eozyny i 1% roztwór błękitu trypanu.

c) Każdorazowo przed użyciem mieszano: płynu podstawowego 76 ml, błękitu trypanu 1% — 8 ml, eozyny 1% — 16 ml.

Uzyskana mieszanina trzech płynów stanowiła ostateczny płyn do rozcieńczenia krwi kur.

W komorze Bürkera erythrocyty, leukocyty i trombocyty obliczano w sposób następujący:

1. Na wstępie liczono erythrocyty w 80 małych kwadracikach.
2. We wszystkich kwadratach dużych komory liczono leukocyty (granulocyty, limfocyty, monocyty) oraz trombocyty, zapisując łączną liczbę.
3. W tych samych kwadratach liczono same granulocyty (pseudoeozynofile, bazofile i eozynofile), które przy tej metodzie barwienia są bardzo łatwe do wyróżnienia.

W ten sposób uzyskiwano trzy wartości liczbowe:

1. Liczbę erythrocytów w 1 mm³ krwi.
2. Liczbę leukocytów łącznie z trombocytami.
3. Liczbę samych granulocytów.

Aby móc obliczyć liczbę leukocytów w 1 mm³ krwi i liczbę trombocytów w 1 mm³ krwi, dysponując 2-a wyżej wymienionymi wartościami bezwzględными, przeprowadzono dalsze wyliczenia w oparciu o procentowy skład leukocytów odczytany z rozmazu krwi. Ogólną liczbę leukocytów i trombocytów obliczano więc w sposób następujący:

Jeżeli granulocyty stanowią np. 50% wszystkich leukocytów (dane z rozmazu krwi) i jednocześnie wiadome jest z wyliczenia bezpośredniego, że liczba ich wynosi 10 000 w 1 mm³ krwi, to liczba wszystkich leukocytów wynosi:

$$\begin{array}{r} 50\% \dots\dots\dots 10\ 000 \\ 100\% \dots\dots\dots x \end{array}$$

stąd $x = 20\ 000$, czyli liczba leukocytów wynosi 20 000 w 1 mm³ krwi.

Liczbę leukocytów odejmuje się następnie od ogólnej liczby leukocytów i trombocytów, otrzymanej z obliczenia bezpośredniego w komorze, i uzyskuje się stąd ilość trombocytów w 1 mm³ krwi.

Ilość hemoglobiny obliczano elektrofotokolorymetrem. Wielkość erythrocytów obliczano na podstawie pomiaru 2000 erythrocytów przy użyciu okularu mikrometrycznego. W odniesieniu do ilości bezwzględnych zastosowano obliczenie średniego odchylenia od średniej arytmetycznej.

WYNIKI

Wyniki liczbowe dotyczące składu morfotycznego krwi badanych kur zestawiono w tabeli I. Na tabeli II podano skład procentowy elementów morfotycznych szpiku kur. Poniżej podaje się krótki opis elementów morfotycznych szpiku i krwi:

Układ erytroblastyczny

Proerytroblast jest komórką wielkości około 12—15 mikronów (μ). Jądro o delikatnej strukturze zajmuje środek komórki i barwi się fioletowo. Struktura jego pozwala wyróżnić ciemniejsze grudki bazo-

chromatyny na tle jasnej oksychromatyny. Jądro otacza, zabarwiona niebiesko, pozbawiona jakichkolwiek ziarnistości cytoplazma, która nadaje komórce kształt okrągły. Cytoplazma wokół jądra wykazuje często przejaśnienia a w pozostałych miejscach intensywność jej zabarwienia nie jest jednakowa.

Erytroblast zasadochłonny różni się od proerytroblasta wielkością (10—12 μ), strukturą jądra i barwliwością cytoplazmy. Niebieska cytoplazma jaśniejsza niż w proerytroblaście otacza młode jądro, które wykazuje cechy większej już dojrzałości. Budowa chromatyny jądrowej oraz

Tabela I

Charakterystyka liczbowa krwi obwodowej kur

	Średnio (średnia arytmetyczna)	Wahania od—do lub średnie odchylenie od średniej arytmetycznej (\pm)
Liczba erytrocytów w 1 mm ³ krwi w mil.	2,56	\pm 0,45
Liczba leukocytów „ „ „ „ w tys.	31,00	\pm 14,0
Liczba trombocytów w 1 mm ³ krwi w tys.	33,76	\pm 14,0
Wskaźnik hematokrytowy	28,64	\pm 4,5
Ilość hemoglobiny w g/100 ml krwi	9,93	\pm 3,1
Ilość hemoglobiny w 1 erytrocyte w $\gamma\gamma$	31,0	
Średnia objętość erytrocytu w μ^3	112,0	
Średnie stężenie hemoglobiny w erytr. w %	34,0	
Ilość retikulocytów w % do erytrocytów	0,55	0,0—2,6
Hemogram		
Neutrofile (pseudoeozynofile)	32,0	14—53
Eozynofile	2,6	0,5—7,0
Bazofile	2,2	0,0—9,0
Limfocyty	56,0	30,0—70,0
Monocyty	7,2	0,5—17,0

swoisty odcień fioletowego zabarwienia są odtąd typowe dla jąder wszystkich erytroblastów.

Erytroblast wielobarwliwy jest komórką okrągłą wielkości około 10—12 μ . Cytoplazma jego traci niebieskie a stopniowo zyskuje różowe zabarwienie związane z obecnością hemoglobiny. Istnieje duża rozpiętość zarówno w wielkości erytroblastów wielobarwliwych jak i w barwliwości ich cytoplazmy.

Erytroblast kwasochłonny ma kształt i wielkość zbliżone do erytrocytu. Cechuje go głównie budowa jądra, które posiada strukturę zbliżoną do erytroblastów wielobarwliwych, oraz zupełnie dojrzała kwasochłonna cytoplazma.

Układ mieloblastyczny

Mieloblast jest komórką wielkości około 15—20 μ , o nieregularnym kształcie. Cytoplazma wyraźnie niebieska, bez ziarnistości posiada deli-

Tabela II
Mielogram kur

	Średnio	Wahania od—do
Proerytroblast	1,31	0,8— 2,2
Erytroblast zasadochłonny	12,00	8,0—16,8
„ wielobarwliwy	22,32	18,2—25,4
„ kwasochłonny	31,25	25,6—38,2
Razem:	66,88	
Mieloblast	0,62	0,2— 1,2
Promielocyt	0,81	0,4— 1,6
Pseudoeozynofile:		
mielocyt	1,33	0,2— 3,2
metamielocyt	2,31	0,4— 4,8
pałeczkowiec	4,54	0,8— 7,2
segmentowany	2,86	1,2— 4,2
Eozynofile:		
mielocyt	0,71	0,2— 3,6
metamielocyt	1,52	0,6— 3,6
pałeczkowiec	1,00	0,2— 4,2
segmentowany	0,93	0,2— 2,4
Bazofile:		
mielocyt i metamielocyt	1,31	0,0— 2,2
dojrzały	0,47	0,0— 2,2
Razem:	18,41	
Tromboplast	0,39	0,0— 1,2
Protrombocyt	3,61	0,8— 6,2
Trombocyt	10,02	3,2—16,4
Razem:	14,02	
Monoblast	0,01	0,0— 0,2
Promonocyt	0,01	0,0— 0,2
Monocyt	0,41	0,0— 0,6
Razem:	0,43	
Plazmoblast	0,02	0,0— 0,2
Proplazmocyt	0,02	0,0— 0,2
Plazmocyt	0,03	0,0— 0,2
Razem:	0,07	
Histioblast	0,02	0,0— 0,2
Prohistiocyt	0,02	0,0— 0,2
Histocyt	0,04	0,0— 0,2
Razem:	0,08	
Limfocyt mały	0,07	0,0— 0,2
Komórki niezidentyfikowane	0,02	0,0— 0,8

katną, jak gdyby piankową budowę. Jądro duże, nieregularne, o bardzo delikatnej strukturze, barwiące się jasno fioletowo, posiada parę dużych uwypuklających się jąderek.

W promielocycie w szaro niebieskiej cytoplazmie występują okrągłe ziarna, bardzo różnej wielkości o zabarwieniu niebieskim, szarym, różowym i fioletowym. Zagęszczenie ziarnistości jest duże i często pokrywają one jądro, zmniejszając jego widoczność.

Mielocyt pseudoeozynofilny wielkości około 12—15 μ , charakteryzuje obecność okrągłych ziarnistości barwy pomarańczowej, purpurowej i szarej, położonych w jasnoniebieskiej cytoplazmie, z przewagą ziarnistości pomarańczowych.

Metamielocyt pseudoeozynofilny wielkości około 12 μ , posiada jądro fasolowate położone zwykle peryferycznie. Charakterystyczną cechą metamielocytów jest przewaga ilościowa ziarnistości okrągłych nad owalnymi, o zabarwieniu pomarańczowym.

Pseudoeozynofilne pałeczkowce charakteryzują się zarówno typową budową jądra, które podobnie jak u ssaków jest wydłużone i zgięte, jak i ziarnistościami o kształtach owalnych.

Pseudoeozynofile segmentowane różnią się od pałeczkowatych typowym segmentowanym jądrem oraz wydłużonymi eliptycznymi ziarnistościami cytoplazmy (ziarnistość sztabkowata).

Mielocyty eozynofilne posiadają ziarnistości znacznie mniejsze okrągłe i zabarwione różowo z odcieniem malinowym, oraz nieliczne ziarna fioletowe. Jądro o delikatnej strukturze leży w środku komórki i zwykle jest dobrze widoczne.

Metamielocyt eozynofilny wykazuje szarą cytoplazmę z drobnymi ziarnistościami barwiącymi się różowo z odcieniem malinowym. Brak ziarnistości fioletowych. Jądro o kształcie lekko wydłużonym jest tu wyraźnie widoczne.

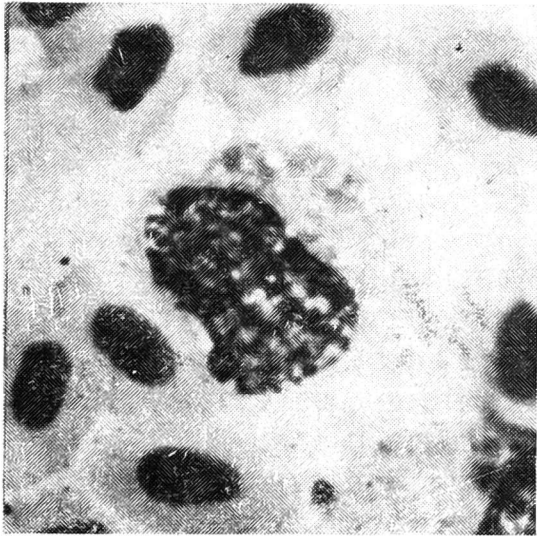
Eozynofil pałeczkowiec i eozynofil segmentowany posiadają lekko różowy odcień cytoplazmy, w której leżą rozrzucone, drobne, różowo zabarwione, okrągłe ziarnistości.

Mielocyt bazofilny posiada ziarnistości cytoplazmatyczne zabarwione fioletowo, które rozrzucone w niebieskiej jeszcze cytoplazmie otaczają młode jądro o delikatnej strukturze. W miarę dojrzewania komórki następuje zmniejszanie jej wielkości i zagęszczenie ziarnistości cytoplazmatycznych. W metamielocycie typowe jądro jest jeszcze widoczne, natomiast w bazofilach starszych ilość ziarnistości jest tak duża, że ustalenie struktury jądra jest niemożliwe.

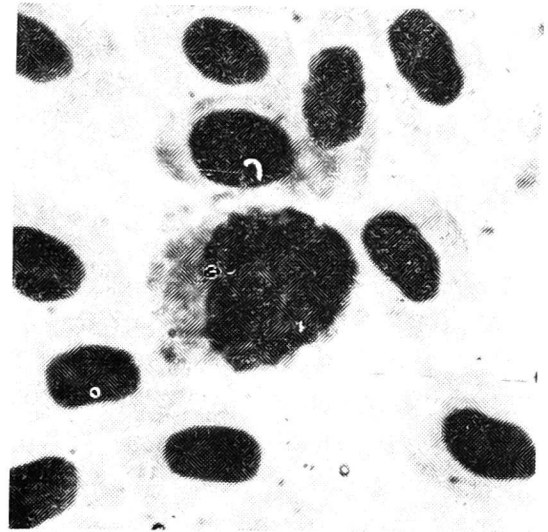
Układ trombocytów

Badając wszystkie preparaty szpiku kur nie znaleziono komórek, które by przypominały megakariocyty występujące w szpiku ssaków. Uwzględniając cechy morfologiczne trombocytów i na podstawie podobieństwa form pośrednich (postaci młodszych), ustalono linię rozwojową trombocytów. Według naszych badań macierzystą komórką trombocytów jest tromboplast (ryc. 1). Jądro tromboplastu o nieregularnych kształtach wielkości około 15—20, wykazuje obecność 1—2 jąderek i szczególnie delikatną strukturę. Struktura ta jest bardzo charakterystyczna ponieważ na tle jasnej oksychromatyny widać skupiska bazochromatyny, co stwarza obraz delikatnej, grudkowatej budowy jądra. Jąderka ostro odgraniczają

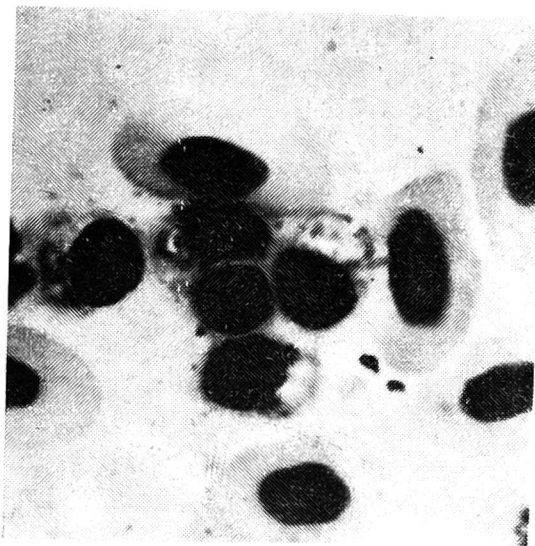
się (najczęściej jedno), uwypuklając się z chromatyny jądrowej. Cytoplazma jasnoszara otacza jądro nieregularnym postrzępionym pasmem zatracając wyraźne kontury. Wykazuje ona typową dla całego układu trombocytów budowę, charakteryzującą się strukturą piankową z przejaśnieniami, które wyglądają jakby bezbarwne ziarnistości. W dalszym rozwoju bazochromatyna zagęszcza się i jąderko zanika. Wokół jądra, które w miarę dalszego rozwoju zmniejsza swoją wielkość i staje się bardziej piknotyczne, pozostaje nadal delikatna, piankowa cytoplazma o szaro-



Ryc. 1. Tromboplast.
Fig. 1. Thromboplast.



Ryc. 2. Protrombocyt.
Fig. 2. Prothrombocyte.



Ryc. 3. Trombocyty.
Fig. 3. Thrombocytes.

niebieskim odcieniu. W cytoplazmie występuje szereg przejaśnień oraz nieliczne, bardzo drobne ziarnistości azurofilne. Kontury cytoplazmy są nadal słabo widoczne. Jądro ma kształt okrągły i odcień fioletowy. Kómkę taką określono jako protrombocyt (ryc. 2). W miarę dalszego rozwoju protrombocyt zyskuje jeszcze większe zagęszczenie chromatyny jądra oraz cytoplazmy. Piknotyczne jądro otacza już bardzo wąski rąbek cytoplazmy, która w dalszym ciągu wykazuje piankową budowę i obecność pojedynczych ziaren azurofilnych. Trombocyty leżą pojedynczo lub też w większych skupiskach pozczepiane z sobą nierównymi brzegami cytoplazmy (ryc. 3).

Układ siateczkowo-śródbłonkowy

W szpiku kur spotyka się komórki z szeregu monocytów, plazmocytów i histiocyty.

a) Szereg monocytów. Monoblast występuje bardzo rzadko. Jest to duża komórka wielkości około 15—20 μ , z młodym jądrem i szaro niebieską cytoplazmą pozbawioną jakichkolwiek ziarnistości. Jednolicie zabarwiona cytoplazma otacza jądro, które posiada zwykle jednostronne zagłębienie. Promonocyt ma już jądro o typowych nieregularnych kształtach, przy niebieskoszarej cytoplazmie pozbawionej ziarnistości. Monocyt wykazuje bardzo różne kształty jądra oraz szaroniebieską cytoplazmę. W cytoplazmie stwierdza się często drobne pojedyncze ziarenka azurofilne. Wielkość monocytów jest bardzo różna i waha się w granicach od 10—20 μ . Monocyty występują zarówno w szpiku jak i w krwi obwodowej.

b) Szereg plazmocytów. Plazmoblasty, proplazmocyty i plazmocyty spotykane są w szpiku rzadko, a w krwi obwodowej nie występują. Zasadniczą cechą komórek tego szeregu jest podobnie jak i u ssaków silna zasadochłonność cytoplazmy. Zasadochłonność cytoplazmy jest silniejsza w miarę dojrzewania komórki. Jądro w plazmoblaście jest młode, o delikatnej strukturze. W proplazmocyty jest wyraźnie piknotyczne. W plazmocytach jądro położone jest peryferycznie a w cytoplazmie spotyka się przejaśnienia lub białe pola po wakuolach lub wypłukanych ziarnistościach. Wielkość plazmocytów waha się w granicach około 10 μ .

c) Szereg histiocyty. Histioblast, prohistiocyt i histiocyt, są rzadko spotykane w szpiku i nie występują w krwi obwodowej. Są to komórki wielkości od 8—15 μ o bardzo delikatnej strukturze jądra i cytoplazmy. Charakterystyczną cechą komórek tego szeregu jest wydłużony kształt całej komórki przy szaroniebieskiej cytoplazmie pozbawionej ziarnistości. W cytoplazmie spotyka się czasem zabarwione fioletowo grudki, które prawdopodobnie są sfagocytowanymi grudkami chromatyny jądrowej.

Układ limfatyczny

W krwi obwodowej spotyka się limfocyty, które ze względu na ich wielkość dzielimy na limfocyty małe i duże. Bardzo rzadko występują limfoblasty o jądrze młodym wykazującym obecność jąderka. Cytoplazma limfocytów jest niebieska z odcieniem szarym. Wielkość limfocytów dużych dochodzi do 12—15 μ , limfocytów małych do 10 μ . Dla całego układu limfocytów charakterystyczne jest dość regularne, okrągłe jądro. W szpiku kostnym stwierdza się pojedyncze limfocyty małe.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wstępne badania metodyczne, wykonane przed przystąpieniem do niżejszych badań, zwróciły naszą uwagę na trudności różnicowania w komorze trombocytów i limfocytów przy zastosowaniu metody Kozmy. Zwróciliśmy uwagę na fakt, że uzyskana przy tej metodzie liczba leukocytów jak i trombocytów nie może być ścisła, gdyż rozróżnienie dokładne trombocyta od limfocyta małego jest w komorze bardzo trudne a cza-

sem niemożliwe. Po szeregu prób zmodyfikowaliśmy płyn Kozmy, zwiększając znacznie ilość zawartych w tym płynie barwików. Pozwoliło to uzyskać bardzo wyraźne zabarwienie wszystkich granulocytów, oraz dostatecznie wyraźne zabarwienie pozostałych leukocytów i trombocytów. W oparciu o ten fakt zastosowano podany w tej pracy (metodyka) zmodyfikowany sposób obliczania poszczególnych składników krwi, który pozwala bardziej dokładnie określać liczbę leukocytów i trombocytów. Ogólną zasadą tej modyfikacji jest to, że w komorze przeprowadza się różnicowanie granulocytów od pozostałych leukocytów i trombocytów, a następnie oblicza się ogólną liczbę wszystkich leukocytów i trombocytów razem. W ten sposób w komorze nie liczy się oddzielnie liczby trombocytów, jak to ma miejsce w większości metod, a uzyskuje się dwie liczby bezwzględne, które mówią o liczbie granulocytów w 1 mm^3 krwi i o łącznej liczbie wszystkich leukocytów i trombocytów. Fakt ten ma według naszych badań zasadnicze znaczenie, gdyż odróżnienie trombocytów od limfocytów małych, może mieć miejsce tylko na barwionym rozmazie przy użyciu mikroskopu z obiektywem immersyjnym. W oparciu o uzyskane w ten sposób dwie liczby bezwzględne (liczba leukocytów + trombocytów w 1 mm^3 krwi oraz liczba granulocytów w 1 mm^3) i przy pomocy wyników uzyskanych z rozmazu krwi (procentowy skład leukocytów), można uzyskać dalsze dane o liczbie leukocytów i trombocytów w 1 mm^3 krwi.

Dalszym istotnym zagadnieniem poruszonym w tej pracy jest geneza trombocytów. Problem ten od początku badań krwi ptaków jest sporny i do dzisiejszego dnia nie został rozstrzygnięty. I tak np. *Kasarinoff* i inni (5), traktują trombocyty jako komórki pochodzące z przekształconych limfocytów. *Heyem, Hedfeld, Kozma* i inni (3, 6) traktują trombocyty jako pierwotne postacie erytrocytów, zaś odwrotnie *Csosz, Gordon, Schilling* i inni (wg 8) uważają je za starzejące się, lub wyrodniałe erytrocyty. Uzyskane dotychczas wyniki z badania szpiku u ptaków są bardzo różne. *Bielajew* (1) opisuje w szpiku kur komórkę, którą nazywa megakariocytem. Podany przez niego opis megakariocytu w szpiku kury mówi, że są to: „największe komórki szpiku, z dużym różnokształtnym jądrem i cytoplazmą bazofilną, w której jest drobna ziarnistość azurofilna“. Według *Bielajewa* megakariocyty stanowią od 0,5 do 1,5% mielogramu. *Crass i Ridgon* (2) opisują w szpiku kaczek megakariocyty wielkości od 75—150 μ . Megakariocyty te charakteryzuje cytoplazma z azurofilnymi ziarnistościami, przy czym w każdym megakariocycie znajduje się od 6 do 10 oddzielnych jąder o kształtach okrągłych lub owalnych. *Schermer* podaje (9), że w szpiku kur i gołębi stwierdza się obecność komórek podobnych do megakariocytów występujących u ssaków. Uwzględniając strukturę cytoplazmy, *Schermer* wyciąga przypuszczenie, że mogą to być wspólne komórki macierzyste dla erytrocytów i trombocytów.

Biorąc pod uwagę trudności w rozwiązywaniu tego bardzo istotnego problemu, przed przystąpieniem do badań szpiku i krwi kur, wykonaliśmy szereg badań krwi obwodowej i szpiku zarodków kurzych w 6, 9, 12, 18 i 21 dniu ich rozwoju, z jednoczesnym wykonaniem wymazów wątroby i śledziony. W oparciu o poczynione w ten sposób obserwacje co do genezy poszczególnych komórek krwi i szpiku, przystąpiono do wykonania niniejszej pracy. Przy badaniu rozmazów szpiku kur dorosłych stwierdzono, że w szpiku kur występują komórki wykazujące ciągłość genetyczną od najstarszej komórki zwanej trombocytem, do najmłodszej komórki macierzy-

stej zwanej tromboplastem. Jednocześnie przekonano się, że u kur dorosłych tak jak i u zarodków kurzych występujące w szpiku tromboplasty nie posiadają cech megakariocytów ssaków i w większości wypadków występują jako oddzielne komórki wielkości około 15—20 μ . W niektórych jednak przypadkach stwierdza się w szpiku większe skupiska tych komórek (miejsca ich rozplemu) co dzięki delikatnej postrzępionej cytoplazmie robi czasem wrażenie jednej dużej komórki. Dokładne jednak oglądanie preparatu pozwala wyróżnić odrębność poszczególnych komórek, zczepionych nieraz ze sobą, lecz stanowiących oddzielne komórki, przypadkowo ze sobą złączone. Najbardziej przemawiającym faktem przeciwko potraktowaniu skupiska tromboplastów jako jednej komórki jest to, że na żadnym rozmazie szpiku nie znaleziono komórki pośredniej, którą można by uznać za komórkę macierzystą tzw. megakariocytu. W szpiku ssaków występuje megakarioblast, promegakariocyt i megakariocyt). W związku z powyższym nie można przyjąć, że 100—150 μ komórka o 10 jądrach powstaje z mezenchymy czynnej bez dostrzegalnych form pośrednich. Przemawia również przekonująco fakt, że w większości przypadków tromboplasty czyli komórki o bardzo typowym, młodym jądrze i charakterystycznej cytoplazmie, występują oddzielnie dając w dalszym rozwoju protrombocyt, czyli następną fazę rozwojową komórek tego szeregu, pośrednią między tromboplastem a trombocytom.

Biorąc powyższe pod uwagę do mielogramu kur (w przeciwieństwie do tego co ma miejsce u ssaków) włączyliśmy spotykane w szpiku trombocyty, protrombocyty i tromboplasty. Należy podkreślić, że w mielogramie kur podanym przez *Bielajewa*, wliczone są tzw. „megakariocyty“, a w ogóle brak jest danych co do trombocytów. Wychodząc z założenia, że mielogram obejmuje również dojrzałe granulocyty, spotykane w szpiku, uważaliśmy za najwłaściwsze włączenie również do mielogramu i trombocytów.

Т. Кржимовски, В. Малиновски

ИССЛЕДОВАНИЯ КОСТНОГО МОЗГА И КРОВИ ВЫРАЩИВАЕМЫХ КУРИЦ
С ОСОБЫМ УЧЁТОМ ГЕНЕЗА ТРОМБОЦИТОВ И МЕТОДА ИСЧИСЛЕНИЯ
КРОВЯНЫХ ТЕЛЕЦ

T. Krzymowski, W. Malinowski

STUDIES ON THE BONE MARROW AND BLOOD IN FARM HENS
WITH PARTICULAR REFERENCE TO THE GENESIS OF THROMBOCYTES
AND THE METHOD OF COUNTING THE BLOOD CELLS

Summary

A description of the cells of bone marrow and blood along with the hemogram and myelogram are presented in hens of carmazine race. Taking into consideration the morphologic characteristics of thrombocytes and on the basis of similarity of middle forms (young forms in the bone marrow) and the presence of cells which the authors call „thromboplasts“, the developmental line of thrombocytes in chickens was established: thromboplast — prothrombocyte — thrombocyte. Besides

that a modification was introduced in reference to the manner of counting the individual morphotic elements of blood. The modification enables one to make calculations of the amount of leukocytes and thrombocytes with a greater accuracy than by the heretofore used methods.

PIŚMIENNICTWO

1. *Bielajew I. M.*: Trudy Moskovskoj Wet. Akad., 1955, 13, 138. — 2. *Crass G., Rigdon R. H.*: Arch. Path., 1954, 58, 159. — 3. *Hedfeld E.*: Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, 1913, 21, 266. — 4. *Herman W.*: Studia hematologiczne nad kurami zielononózkami polskimi z hodowli doświadczalnej stacji zootechnicznej w Dublanach koło Lwowa. Warszawa 1936. — 5. *Kasarinoff A.*: Folia Haematol., 1910, 10 (wg 8). — 6. *Kozma J.*: Közletemenyh, 1929, 23, 5/6 (węgierskie). Ref. Deutsche Tierärztliche Wochenschrift, 1930, 38, 281. — 7. *Krzymowski T., Malinowski W.*: Acta Physiol. Pol., 1956, 4, 495. — 8. *Preibish J.*: Pol. Arch. Wet., 1951, 1, 255 i 279. — 9. *Schermer S.*: Die Blutmorphologie der Laboratoriumstiere, Leipzig 1954.

Otrzymano dnia: 31. VIII. 1958 r.