

Hladina karotenu a vitaminu A v krevní plazmě krav v poslední době březosti a po porodu

Уровень каротина и витамина А в плазме крови коров в последнем периоде
стельности и после родов

Der Karoten- und Vitamin-A-Spiegel im Blutplasma der Kühe während der letzten
Trächtigkeitsperiode und nach der Geburt

M. DVOŘÁK

Z oddělení fyziologie a patologie rozmnožování hospodářských zvířat VÚV ČSAZV
v Brně, vedoucí prof. dr. E. Přibyl, a z II. interní kliniky veterinární fakulty VŠZL
v Brně, vedoucí katedry prof. dr. K. Šobra.

Došlo dne 25. IX. 1958

Úvod

U dospělých krav se mohou první klinicky zjistitelné příznaky hypovitaminózy A prokázat až za 350 dní od začátku diety s omezeným obsahem karotenu (52). Mnohem dříve se však mohou projevit u jejich potomstva. Vedle charakteristických symptomů je A hypovitaminóznímu stavu u mladých telat přičítán nepříznivý vliv na vznik a průběh některých jejich chorob (1, 2, 9, 10, 11, 12, 25, 29, 30, 32, 37, 38, 39, 40, 41, 51).

Poněvadž novorozená telata jsou v zajištění tímto důležitým vitaminem plně závislá na svých matkách, je snaha zjistit v hospodářstvích, kde se vyskytuje vysoká morbidita telat, situaci v zásobení krav vitaminem A (3, 4, 8, 10, 11, 15, 21, 28, 29, 30, 38, 39, 50, 51, 52). Většinou se používá jeho kolorimetrického stanovení v krevním séru nebo plazmě. Tohoto způsobu určení stavu nasycenosti organismu lze použít zřejmě s důvěrou, neboť Wheeler a spolupracovníci (52) potvrdili, že jak karoten, tak vitamin A krevní plazmy jsou signifikantně ve vzájemném vztahu s hladinou vitaminu A v játrech, a to při hypovitaminózních experimentálních i terénních podmínkách, i když předpovědi zásob vitaminu A v játrech mohou být podle koncentrace v plazmě u jednotlivých krav nespolehlivé.

Výše hladiny vitaminu A a zvláště karotenu v krvi závisí především na jejich množství v krmné dávce (5, 6, 7, 8, 10, 14, 17, 18, 20, 44, 45, 46, 52). B a s z y ř í s k i (5) zjistil u krav během několika týdnů po začátku pastevního údobí 9–12,5násobné zvýšení karotenu ve srovnání s množstvím koncem údobí stájového.

Koncentrace vitamínu A v krvi nepodléhá tak značnému a rychlému kolísání. Vlivem jarní pastvy se zvyšuje jen velmi pomalu (46). Maxima dosahuje zpravidla v srpnu a během zimních měsíců se pak po vyčerpání jaterních zásob snižuje k minimálním hodnotám, zjištěným B a s z y ů s k i m (5) v únoru až březnu. V pokusech W h e e l e r a a spoluprac. (52) klesly hodnoty vitamínu A v krevní plazmě krav od listopadu do května při zimním karenčním krmení asi na polovinu. Pokles byl zaznamenán i u skupin, které dostávaly přídatky 5 a 25 mg karotenu na 100 lb ž. v. Organismus má snahu udržet určitou hladinu vitamínu A v krvi i při jeho jistém dietním nedostatku (5, 13, 34).

Na množství karotenu i vitamínu A v krvi má dále vliv řada různých okolností. Schopnost přeměňovat karoten na vitamin A může být odlišná u jednotlivých plemen skotu (13, 43). Byly pozorovány též značné odchylky individuální (7, 43).

Značný význam mají pro metabolismus vitamínu A i pro jeho obsah v krvi změny způsobené březostí a porodem. Větší potřeba je u plemenic během březosti všeobecně uznávána (1, 8, 34, 41, 51). V posledním stadiu březosti hladina vitamínu A v mateřské krvi klesá (34). Nápadné změny jsou zaznamenávány hlavně v období několika málo týdnů před a po porodu.

O poklesu vitamínu A v mateřské krvi během 3. trimestru těhotenství žen a jeho opětím rychlém zvýšení v době 48 hodin po porodu referovali první L u n d a K i m b l e (33).

Podobně byly podány důkazy o snížení koncentrace vitamínu A i karotenu krevní plazmy též v době telení krav (7, 10, 11, 15, 16, 19, 20, 27, 28, 47, 48). V jednotlivých pracích se však jeví četné rozpory, pokud jde o údaje délky i výše poklesu, dobu jeho kulminace a opětného zvyšování, i v nejednotnosti vysvětlení těchto změn.

S u t t o n se spoluprac. (48) pozorovali v krvi tři týdny před porodem prudký pokles jak vitamínu A, tak karotenu, po němž následovalo zvýšení během prvních 2 týdnů po porodu.

G o d w i n a W i l s o n (20) nezjistili během šesti letních měsíců statisticky významné variace v hladinách obou látek v séru s výjimkou při porodu. Všechny krávy jevíly postupný pokles obou hladin během posledního týdne březosti až do porodu, nebo těsně po porodu, kdy zjištěné množství bylo průměrně mezi 60 a 70 % jejich normálních hodnot. Poté se hladiny postupně lepšily až do 1 měsíce *post partum*, kdy dosáhly přibližně normálu. Pouze u jedné krávy, která byla dříve nemocná, pokles pokračoval dále.

Mnohem nejednotnější výsledky zaznamenali D o m a n s k i, D o b r o w o l s k a a Z a l e w s k a (10) u krav krmených bohatě i chudě po stránce obsahu karotenu. U většiny krav hladina vitamínu A v krvi od doby 14 dní před porodem k otelení klesala a poté se opět zvyšovala. U některých krav se množství před porodem téměř neměnilo, nebo se i zvýšilo. Též po porodu byl mnohdy zaznamenán až do sledované doby 14 dní *post partum* i příkrý další pokles.

G a ž o a L a n d a u (19) potvrdili u 7 krav slovenského strakatého plemene během zimního, po stránce obsahu karotenu nedostatečného krmení, značný pokles vitamínu A v krevním séru v poslední době březosti. Jeho nejnižší hodnoty pozorovali 3.—5. den po otelení. Následující stoupání bylo příkrější až po 18. dni a vrcholilo kolem 24. dne *post partum*, načež došlo k opětnému poklesu. Hladina karotenu se však v séru ani před porodem ani 15 dní po otelení neměnila.

Úkolem této práce je ověřit v některých bodech se lišící literární údaje o kolísání hladiny vitamínu A i karotenu krve v poslední době březosti a po porodu,

a to u našeho červenostakatého skotu, najít zde případné zákonitosti a přispět k objasnění metabolismu vitamínu A v této době. Z poznatků pak vyvodit praktické důsledky vzhledem k zásobení matek karoteny. Neméně důležité je zodpovědění otázky, zda je možno krevní plazmu krav po porodu použít k rozpoznání jejich případného nedostatečného zásobení tímto důležitým vitamínem.

Materiál a metodika

Byly sledovány hladiny vitamínu A a karotenu v krevní plazmě 17 krav a 3 jalovic, u nichž byla opakovaně odebírána krev.

V první části pokusu byla vyšetřována krev v poslední době březosti a po porodu u 9 krav, ustájených na klinice. Tři z nich zde byly trvale a klinicky nejevily chorobné příznaky. Krmeno bylo senem střední a horší jakosti, v letním období většinou čerstvou zelenou pící, převážně směskami, dále krmnou slámou; otruby, případně šroty byly podávány v nápoji. Další 4 krávy (č. 2, 5, 6 a 7) byly nemocné (akutní nebo chronická traumatická ohraničená peritonitis) a 2 z nich (č. 6 a 7) byly pro nepříznivý zdravotní stav v krátké době po porodu nutně poraženy. Krávy č. 8 a 9 byly zdravé, pocházely ze Státního statku O., kde přes zimní období byla krmná dávka po stránce obsahu karotenu nedostatečná. Týden před jejich otelením začala být zkrmována čerstvá zelená směska.

V druhé části pokusu byla vyšetřována v týdenních intervalech od 25. února do 29. dubna krevní plazma od 5 krav a 3 jalovic školního statku N. D., které v této době porodily. Vedle těch zde byly současně sledovány ještě dvě další vysokobřeží krávy, které porodily v květnu, a jedna přes rok jalová, která byla 15. 4. poražena. Krmná dávka pro tato zvířata sestávala po období krmení čerstvou pící od 10. listopadu do 10. března z 20 kg silážované ozimé směsky (žito, vikev, pšenice), 20 kg silážovaných řízků s řepným chrástem, 2,5 kg jaderného krmiva a 6 kg krmné slámy. Asi 14 dní před porodem a 14 dní po porodu bylo kravám dáváno 8 kg vojtěškotravního sena. Od 11. března byla silážovaná ozimá směska nahrazena stejným množstvím silážovaných řízků s řepným chrástem.

Karoteny a vitamin A v krevní plazmě byly určovány kolorimetricky, vitamin A Carre-Priceovou reakcí s chloridem antimonitým.

V podstatě bylo užito postupu jaký udávají Leipert, Piringer a Pilgerstorfer (31) s určitými modifikacemi, při použití 6 ml plazmy. Proteiny plazmy byly vysráženy ethylalkoholem přidávaným k plazmě po kapkách za současného protřepávání (53). K extrakci byl použit přečištěný petroléter. Po 10minutovém intenzivním ručním třepání a následném krátkodobém centrifugování při nízkých otáčkách a zchlazení v lednici, byla čirá petroléterová vrstva odpipetována a kolorimetricky určeno množství zde rozpuštěných karotenů. Poté bylo odměřené množství petroléterového roztoku odpařeno v proudu dusíku prostého kyslíku ve vodní lázni 40° C teplé. Odparek byl rozpuštěn v chloroformu, přidána kapka anhydridu kyseliny octové a po rychlém přidání Carre-Priceova reagens byla ihned kolorimetricky určena intenzita modrého zabarvení.

Carre-Priceovo reagens bylo připravováno předcházející den a představuje při pokojové teplotě nasycený roztok $SbCl_3$ v přečištěném bezvodém chloroformu.

Měření karotenu a modrého zabarvení — reakce vitamínu A i karotenu s Carre-Priceovým reagens, bylo prováděno fotoelektrickým kolorimetrem J 55 se dvěma fotočlánky, výrobek Kovodružstva Hořovice. Koncentrace karotenu byla měřena při filtru 11, výsledné modré zabarvení při filtru 3.

Pro vypočítání obsahu karotenu byla sestrojena kalibrační křivka použitím krystalického *beta karotenu* firmy Hoffman — La Roche, Basel. Byla překontrolována kalibrací 0,0145% alkoholickým roztokem azobenzolu (49).

Vitamin A byl vypočítán z kalibrační křivky konstruované s vitaminem A — acetátem, vyrobeným firmou Hoffman — La Roche, Basel, při reakci s $SbCl_3$, po odčítání extinkce, kterou dával ke kalibraci užitý betakaroten rozpuštěný v chloroformu při Carre-Priceově reakci — korelace pro karoteny obsažené v chloroformem rozpuštěném odparku (23, 26).

Hodnoty vitaminu A jsou udávány v mezinárodních jednotkách, karotenu v mikrogramech.

V ý s l e d k y

I. Tabulky I a II zachycují průběh hladin vitaminu A a karotenu u krav v první části pokusu, které se otelily v průběhu celého roku při odlišném karotenovém krmení, obvyklém pro určitou roční dobu.

I. Průběh hladin vitaminu A v krevní plazmě krav otelených v průběhu roku při odlišném krmení

Kráva číslo	Datum porodu	Vitamin A — m. j./100 ml krevní plazmy										
		dni před porodem			den po- rodu	dni po porodu						
		19-23	11-14	2-6		1-2	3-5	6-7	8-9	11-14	16-24	25-38
1.	30. července		224	181	149			196		160	174	182
2.	8. října			198	136		194	152				
3.	19. října		175		92	82	120	114	134	150	149	136
4.	28. prosince		160			93	120	102		96	101	120
5.	13. února			107	104	120		92	78			
6.	1. března			79	66		41					
7.	24. ledna			58	30	20						
8.	17. května	99	79	54	91			106	89	100		
9.	14. května	78	61		59		98		106	101	122	

II. Průběh hladin karotenu v krevní plazmě krav otelených v průběhu roku při odlišném krmení

Kráva číslo	Datum porodu	Karotén — μg /100 ml krevní plazmy											
		dni před porodem			den po- rodu	dni po porodu							
		19-23	11-14	2-6		1-2	3-5	6-7	8-9	11-14	16-24	25-38	
1.	30. července		345	330	230			300		295	290	280	
2.	8. října			330	300		290	320					
3.	19. října		240		115		120	160	170	200	200	185	
4.	28. prosince		215			110	120	160		200	200	185	
5.	13. února			160	150	165	190	195		195	210	120	
6.	1. března			160	150	150		135	130				
7.	24. ledna			155	60		45						
8.	17. května	120	85	115	70	50							
9.	14. května	80	70	110	125			140	160	260			
					90		105		160	200	250		

U krav č. 1 až 4 se množství vitamínu A při prvním určení před porodem pohybovalo v hranicích od 224 m. j./100 ml plazmy (kráva č. 1 — porod v červenci) k 160 m. j./100 ml (kráva č. 4 — porod v prosinci). Během posledních čtrnácti dní březosti klesla u první krávy na 149 m. j./100 ml, u č. 4 na 93 m. j./100 ml. U těchto krav byl zaznamenán po porodu poměrně příkrý vzestup hladin vitamínu A, který však byl u všech přerušen 3.—7. den *post partum* opět- ným krátkodobým poklesem. Do konce prvního měsíce se hladiny v poměru k výši vitamínu A při porodu zvýšily, nedosáhly však výchozích hodnot před porodem. V případech vyšší absolutní hodnoty před porodem byla též vyšší hladina po porodu.

Také výše hladin karotenu byla úměrná příslušně roční době a krmení a sledovala do značné míry výkyvy vitamínu A v plazmě. U krávy č. 4, jejíž porod spadl nejdále do období zimního krmení, byl pokles k době porodu jen mírný a povlnné zvyšování *post partum* bylo 17. den přerušeno nápadným poklesem.

Další 3 krávy (č. 5—7) uvedené v tabulkách I a II, porodily v lednu až březnu. Jejich hladiny vitamínu A v krvi před porodem byly velmi nízké (58 až 107 m. j./100 ml). Rovněž tak karotenu (115—160 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$). K době porodu se ještě více snížily a v krátké době sledování po porodu dále klesaly. Pouze v jednom případě, u krávy č. 5, jejíž hladina byla stále nejvyšší, bylo zaznamenáno přechodné mírné zvýšení koncentrace vitamínu A druhý den *post partum*.

Tyto krávy byly nemocné a dvě z nich (č. 6 a 7) byly po posledním odběru krve nutně poraženy. Nelze proto asi považovat průběh hladin u těchto 3 krav za fyziologický; zvláště ne u krávy č. 6, u níž byla zjištěna mimo jiné též degenerace jater.

Zajímavý obraz poskytují hladiny vitamínu A i karotenu u krav č. 8 a 9, které těsně před porodem začaly dostávat čerstvé zelené krmivo. Podobně jako u předcházejících 3, byly 20 dní před porodem hladiny jak vitamínu A (78 a 99 m. j./100 ml), tak karotenu (80 a 120 $\mu\text{g}/100\text{ ml}$) nízké. S postupující březostí se dále snižovaly a množství vitamínu A kleslo až na 54 m. j./100 ml u krávy č. 8 tři dny před porodem, a na 59 m. j./100 ml u krávy č. 9 v den porodu. Od této doby se hladiny vitamínu A a zvláště karotenu rychle zvyšovaly bez zřetelnějšího přerušování poklesem.

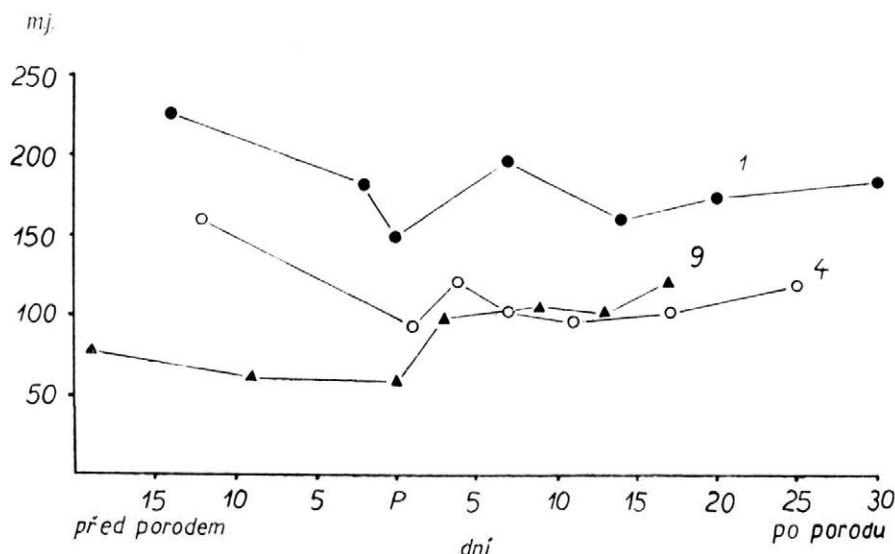
Rozdílnou výši hladin vitamínu A a karotenu a jejich průběh u krav č. 1, 4 a 9, které byly v poslední době březosti a po porodu krmeny odlišně po stránce příjmu karotenu, ukazují grafy 1 a 2.

II. V druhé části pokusu byly sledovány hladiny vitamínu A a karotenu v krvi pouze v zimním období, a to v chovu, kde po skončeném podávání čerstvé zelené píce na podzim byla krmná dávka pro skot i dále až do 10. března poměrně bohatá na karoteny (silážovaná ozimá směska).

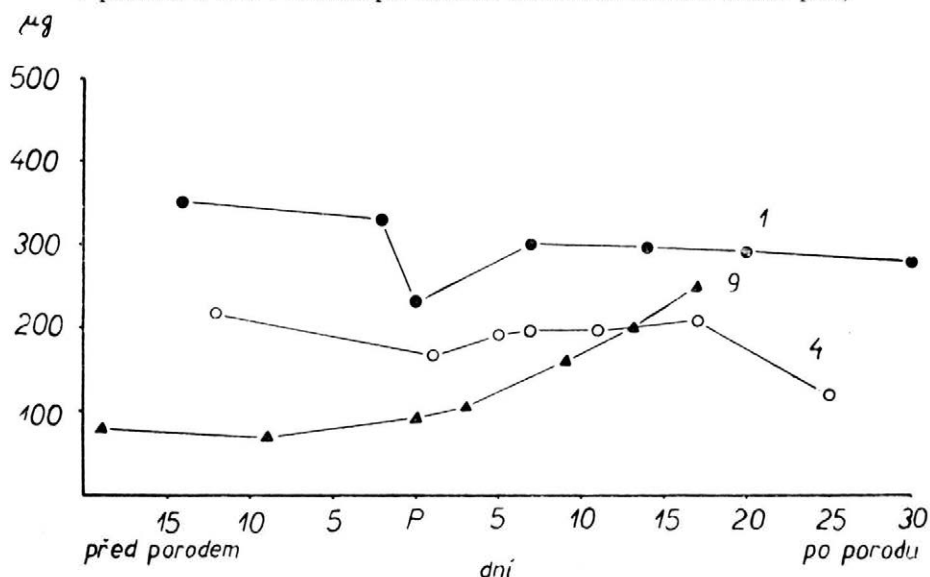
Od 25. února do 29. dubna — jak ukazují tabulky III a IV, byla vyšetřována krev 5 krav a 3 jalovic, které v tomto období porodily a 3 dalších krav, z nichž dvě byly ve třetím trimestru březosti a jedna byla považována za vysoce březí a jako taková krmena. Poslední tři sloužily jako kontroly pro sledování kolísání hladin nevyvolaného porodem.

Při prvním vyšetření bylo množství vitamínu A v krvi vzhledem k zimnímu období neobvykle vysoké. Mimo krávu č. 10, která den po prvním odběru krve porodila, se pohybovala hladina vitamínu A u pokusných krav a jalovic v hranici 211—284 m. j./100 ml, u kontrolních 261—339 m. j./100 ml plazmy. Nižší hodnoty byly u jalovic.

Nejvyšší koncentraci vitaminu A v plazmě jevila kráva jalová, u níž v průběhu 7 týdnů klesla hladina pouze o 59 *m. j.*/100 *ml.* U ostatních kontrolních, ale březích krav, bylo počáteční množství vitaminu A o něco menší a v průběhu sledované doby kleslo více, v průměru o 70,5 *m. j.*/100 *ml.* U krav č. 11–17 klesla během 9 týdnů sledování hladina vitaminu A v průměru o 67 *m. j.*/100 *ml.* plaz-



Graf 1. Hladiny vitaminu A v krevní plazmě krav s odlišným příjmem karoténového krmiva v poslední době březosti a po porodu. (Kráva č. 1 se otelila v červenci, č. 4 v prosinci a č. 9 v květnu při začátku zkrmování čerstvé zelené píce)



Graf 2. Hladiny karoténu v krevní plazmě krav s odlišným příjmem karoténového krmiva v poslední době březosti a po porodu. (Kráva č. 1 se otelila v červenci, č. 4 v prosinci a č. 9 v květnu při začátku zkrmování čerstvé zelené píce)

III. Průběh hladin vitamínu A v krevní plazmě krav (K) a jalovic (J) v době od 25. února do 29. dubna, dobře zásobených karotény v krmné dávce až do 10. března. Hodnoty nejbližší porodu jsou vyznačeny polotučně

Kráva (jalo- vice) č.	Datum porodu	Vitamin A — m. j./100 ml krevní plasmy									
		25. 2.	4. 3.	11. 3.	18. 3.	25. 3.	1. 4.	8. 4.	15. 4.	23. 4.	29. 4.
10. J	26. února	179	196	200	268		239				200
11. K	9. března	284	261	241	258		228				211
12. J	13. března	211	176	184	146	178	191		180	177	168
13. J	15. března	228	229	208	180	136		201		187	189
14. K	19. března		271	278	260	180	231	221	186	169	168
15. K	8. dubna	280		290		225	210	209	200	211	204
16. K	13. dubna	271				216	210	251	172	220	188
17. K	20. dubna	224					200	221	150	170	173
18. K	sterilní	339	332		330	302		296	280		
19. K	březi		276	280		240	254			208	
20. K	březi		261	247		228		181		193	

IV. Průběh hladin karoténu v krevní plazmě krav (K) a jalovic (J) v době od 25. února do 29. dubna, dobře zásobených karotény v krmné dávce až do 10. března. Hodnoty nejbližší porodu jsou vyznačeny polotučně

Kráva (jalo- vice) č.	Datum porodu	karotén — μg /100 ml krevní plasmy									
		25. 2.	4. 3.	11. 3.	18. 3.	25. 3.	1. 4.	8. 4.	15. 4.	23. 4.	29. 4.
10. J	26. února	240	235	230	280		255				170
11. K	9. března	340	320	300	305		260				150
12. J	13. března	240	230	230	200	170	190		140	150	110
13. J	15. března	285	280	250	210	180		185		145	130
14. K	19. března		295	280	280	180	205	180	160	135	120
15. K	8. dubna	300		270		250	250	180	150	160	145
16. K	13. dubna	300				260	240	210	150	160	140
17. K	20. dubna	240					190	170	140	150	125
18. K	sterilní	320	360		310	270		240	225		
19. K	březi		340	325		280	285			200	
20. K	březi		290	300		250		225		165	

my, tedy přibližně stejně jako u březích, u nichž byl porod očekáván až během dalšího měsíce po skončení sledování.

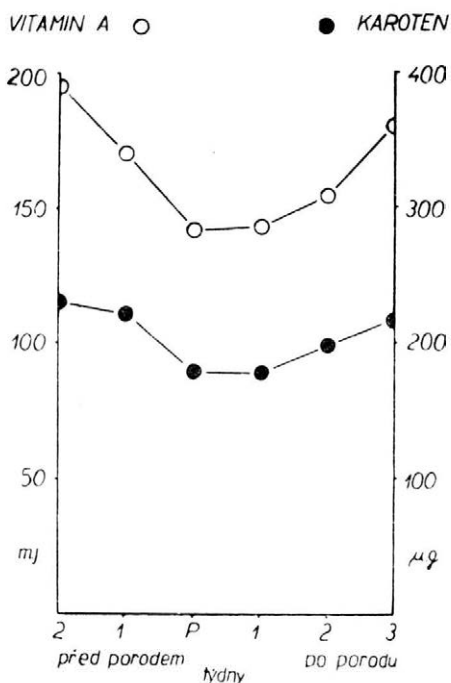
Zatím však, co průběh hladin kontrolních krav nevykazoval podstatného kolísání, nýbrž poměrně pravidelný mírný pokles, jevíly hladiny vitamínu A krav č. 10–17 větší nebo menší, vždy však výrazné kolísání v období kolem porodu.

U krav, u nichž byla krev vyšetřována, již delší dobu před porodem, byl vždy k době telení zjištěn pokles hladiny vitamínu A, který však nebyl vždy jednoznačný. Někdy (č. 15) ke zřetelnému klesání docházelo již měsíc před porodem, většinou však pokles nabyl příkrostiti během jednoho týdne kolem porodu (č. 14, 16 a 17). Pokles též nebyl zcela pravidelný. U několika případů, zvláště u krav č. 16 a 17 byl před prudkým klesáním těsně před porodem zaznamenán zřetelnější krátce trvající vzestup.

Pokles zjištěný v době při porodu činil u zvířat č. 12–17 30–40 %, průměrně 33 %, nejvyšší hodnoty zaznamenané během posledních pěti týdnů před

porodem. Minimální hodnoty se pohybovaly od 136–241 *m. j./100 ml* plazmy. Nejnížší byla u jalovice č. 13, u níž koncentrace vitamínu A v plazmě klesla během 3 týdnů, a to i po porodu o 93 *m. j./100 ml*, tj. o 40 % nejvyšší hodnoty před porodem. Druhá minimální hodnota v období porodu byla u jalovice č. 12 (146 *m. j./100 ml*), která jak před, tak po porodu měla nejnížší hladinu a procentuální pokles byl jen 30 %. Většinou i při vyšším procentuálním poklesu zůstávala hladina stále poměrně vysoká.

U všech sledovaných krav i jalovic došlo po kulminaci poklesu opět k vzestupu hladin vitamínu A. Ten však nebyl vždy stejně vysoký a trval jen 1–3 týdny. Poté byl zaznamenán u všech stálý pokles, podobně jako u krav kontrolních.



Graf 3. Průměrné hodnoty vitamínu A a karotenu v krevní plazmě krav 2 týdny před porodem a 3 týdny po porodu

Největší vzestup po porodu – o 89 *m. j./100 ml* během 3 týdnů byl zaznamenán u krávy č. 10, která porodila ještě v době krmení bohatého po stránce obsahu karotenů. U všech ostatních nedosáhly hodnoty vitamínu A v plazmě již té výše, jaká byla zjištěna před porodem. Vzestup hladin po porodu trval u jalovic 2–3 týdny a byl značný, u krav byl zpravidla již po týdnu přerušen opětným klesáním.

Průběh hladin karotenu v plazmě u krav a jalovic v druhé části pokusu byl charakterizován všeobecným trvalým postupným klesáním jak u těch zvířat, která v průběhu sledování porodila, tak u ostatních, kontrolních. Počáteční hodnoty se pohybovaly v hranicích 240–340 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$, byly tedy vzhledem k hodnotám získaným v první části pokusu u krav v zimním období poměrně vysoké. Během 2 měsíců klesly na 110–170 $\mu\text{g}/100 \text{ ml}$. Jen poněkud vyšší množství měla při posled-

ním vyšetření 1–2 týdny před ukončením pokusu pouze kráva jalová (č. 18) a jedna březí (č. 19).

Pokles hladiny karotenu před porodem byl až na případy č. 14 a 15 tak postupný, že se téměř nelišil od snižování u krav sledovaných jako kontroly. Nejvyšší koncentrace karotenu v plazmě, zjištěná v době až 5 týdnů před porodem, se snížila u krav č. 12–17 vzhledem k nejnížší hladině zaznamenané při porodu v průměru o 36,3 %. Za tutéž dobu u kontrolních o 31,6 %.

Pravidelně do 3 týdnů po porodu nastalo zvýšení hladiny karotenu v krvi. Bylo však výrazné pouze u jalovice č. 10, která se telila ještě v době bohatého karotenového krmení. U ostatních bylo jen zcela mírné, trvající 1–2 týdny. Vždy pak bylo následované pokračujícím klesáním.

Kulminace poklesu hladiny karotenu v době při porodu se až na jeden případ (č. 12) časově kryla se současně zjištěným minimálním množstvím vitamínu A v plazmě.

Diskuse

Vyšetřením množství karotenu a vitamínu A v krevní plazmě krav a jalovic v poslední době březosti a po porodu bylo prokázáno, že v tomto údobí dochází u obou látek, zvláště však u vitamínu A, k podstatným změnám, jak ukazuje graf 3. To potvrzuje některé dřívější literární údaje.

Příčiny jejich poklesu v době porodu nejsou bezpečně objasněny a nelze je vysvětlit alimentárními vlivy. Goodwin a Wilson (20) považují tento zjev za důsledek změny v koncentraci součástí krve, ke které v tento čas dochází. Moore (34) však poznamenává, že změny v krvi v poslední době těhotenství nejsou univerzální tak, jak by bylo vyvoláno pouhým zředěním všech krevních složek.

Nápadný pokles koncentrace vitamínu A a zpravidla v menší míře též karotenu v krevní plazmě krav před porodem a následující vzestup po porodu nasvědčuje zřejmě tomu, že v této době jsou na metabolismus vitamínu A v těle matky kladeny mimořádné požadavky. Kolísání jeho hladiny v krvi je pravděpodobně jen odrazem důležitých metabolických změn.

Na krev, v níž je vitamin A lokalizován v plazmě, se lze dívat jako na prostředek, který slouží k roznášení této důležité látky všem tkáním těla. Chanda a spoluprac. (24) uvádějí, že vitamin A je v krvi převážně ve formě alkoholu. Estery vitamínu A jsou zde jen tehdy, je-li v dietě obsaženo dost karotenů, které jsou přeměňovány v tuto formu vitamínu A a ta je pak ukládána v játrech. V Kupferových buňkách jsou estery hydrolyzovány a podle potřeby je vitamin uvolňován do krevního proudu, kde je jako volný alkohol udržován pravděpodobně fixací na bílkovinu, s kterou tvoří komplex (34). Jemným mechanismem je hladina vitamínu A v krvi udržována v rozmezí limitů typických pro druh a individuum.

Prokázaný pokles hladiny vitamínu A v plazmě v poslední době březosti ukazuje na mimořádně zvýšenou potřebu tohoto vitamínu, která je pravděpodobně tak značná, že nemůže být vyrovnána normálním příívodem karotenů v krmivu, ani uvolňováním zásob z jater není postačující. Ochuzování jater o vitamin A při porodu bylo skutečně prokázáno (3 a 4). To však, že se nedaří udržet hladinu vitamínu A v játrech, neukazuje ještě nezbytně na nepřiměřený příjem karotenů v pokročilé březosti a v časně laktaci (3).

Velkou potřebu si lze vysvětlit jednak přechodem vitamínu A do placenty a plodu, jednak přesunováním obrovských kvant do mléčné žlázy, kde se již před porodem vytváří vitaminem A nejbohatší mlezivo. Tomuto přesunu z krve do mleziva nasvědčuje zjištěný příkrý pokles hladiny vitamínu A v plazmě při, nebo brzo po porodu. Faktory, které působí jak zachycování vitamínu A ve tkáních, které mají jeho zvýšenou potřebu, tak mající vliv na uvolňování zásob z jater jsou bezpochyby velmi složité a v podstatě dosud neznámé. Nepůsobí zřejmě v každém jedinci zcela stejně, takže se nelze divit individuálním odchylkám v kolísání vitamínu A v plazmě v období telení. Velký význam při tom asi má různé množství vitamínu A v krvi i jeho zásob v játrech, a hlavně současný příívod s potravou.

Zjištěnou skutečností je, že k poklesu vitamínu A před porodem došlo v těchto pozorováních, ať byla hladina vitamínu A v plazmě vysoká nebo nízká. Je to zřejmě fyziologický zjev. Příčinou poklesu hladiny vitamínu A v krvi a podle literárních údajů (3 a 4) i v játrech, lze vidět v mobilisaci této látky mateřským organismem pro zajištění jeho dostatku v mlezivu pro mládě.

Jinak se tomu zdá být s následným zvyšováním koncentrace. Zajímavá je ta okolnost, že pokud nebyla hladina vitamínu A v plazmě před i po porodu

z karencích příčin snížena, došlo brzo po porodu k náhlému vzestupu, který však byl ve většině sledovaných případů zpravidla po týdnu přerušen opětným snížením. K trvalému zvyšování hladiny docházelo jen tehdy, bylo-li současně dosti karotenů v krmivu. Při abnormálně nízké hladině byla po porodu trvalá tendence klesání.

Náhlý a téměř pravidelný vzestup brzo po otelení nelze vysvětlit snad větším přívodem vitamínu nebo jeho provitaminů. Právě naopak je možno v této době předpokládat ochuzování vylučováním vitamínu A mlezivem. Zřejmě zde dochází ke zvýšenému uvolňování zásob z jater. Na tento proces mohou působit též hormonální vlivy (34). Chandra a spolupracovníci (24) zjistili při aplikaci preparátu předního laloku hypofýzy, obsahujícího thyreotropin a gonadotropiny, zvýšení vitamínu-A-alkoholu v krvi, pravděpodobně zvýšenou mobilizací jaterních rezerv. Poznatky o vlivu hormonů, působících v době porodu na metabolismus vitamínu A, jsou malé. Schreiber (42) uvádí, že současné podávání pituitrinu s vitamínem A zvýší u lidí více hladinu vitamínu v krvi než bez pituitrinu, což se však neděje vlivem antidiuretickým.

Je pravděpodobné, že pozvolný nebo příkrý vzestup hladiny vitamínu A v plazmě po porodu, nebo i její pokles, je záležitostí závisící na množství vitamínu A vylučovaného v kolostru mléčnou žlázou a na předpokládaném, hormonálním vlivem vyvolaném nasycování krve vitamínem z jater. Delší dobu trvající vzestup je však zřejmě podmíněn dostatkem vitamínu A nebo jeho provitaminu v krmivu. Údaj Domanského (10), že u krav s vyšší laktací zůstává hladina vitamínu A v krvi na stejné výši jako při porodu, podporuje uvedenou typotézu.

Na druhé straně, při nízké hladině vitamínu A v krevní plazmě již před porodem, jsou pravděpodobně jaterní zásoby již tak dalece vyčerpány, že vitamin A je z jater vylučován v menší míře a proto se zvýšení hladiny v krvi po porodu neprojeví.

Obtížněji si lze vysvětlit kolísání koncentrace karotenu v krevní plazmě. Jejich výše závisí pravděpodobně i v konečném období březosti a po porodu hlavně na příjmu provitaminu v potravě. Pokles při porodu byl ve sledovaných případech zaznamenán podobně jako u vitamínu A. Byl však často, hlavně v zimním období, méně výrazný. K markantnímu vzestupu karotenu po porodu došlo pouze v těch případech, kdy krávy nebo jalovice měly v této době dostatek karotenu v dietě. Více než 100% zvýšení během 14 dní nastalo u krav, které po zimním období začaly týden před porodem dostávat čerstvé zelené krmivo. Vzestup nastal téměř současně s dobou vysokého přívodu karotenů již před porodem.

Při posouzení významu nelze nepřipomenout, že zatím co vitamin A má v krvi funkční důležitost, je zde karoten nejspíše nefyziologickou hodnotou a je zde proto, že unikl přeměně ve vitamin A při přechodu střevní stěnou (20). Do mleziva však v hojné míře přechází (1, 5, 19, 21 a 36), i když jej tele v první čas po narození nedovede asi přeměnit ve vitamin A (10). Tomu, že karoten plazmy nemá v době telení asi takový význam jako vitamin A, svědčí též rozdílné literární údaje o jeho hladině v krvi: Braun (7) i Gažda a Landau (19) jeho kolísání u skotu v této době nezjistili. Též u lidí nebyly jeho výkyvy při porodu prokázány (33).

Pokud jde o vhodnost odběru krve u krav po porodu k určení nasycenosti organismu vitamínem A, bylo možno zjistit, že u krav, případně jalovic, dobře zásobených tímto vitamínem, neklesla jeho hladina ani při kulminaci poklesu na úroveň hodnot krav delší dobu karenčně krměných. Je však nutno počítat až

se 40% snížením hladiny při porodu vzhledem ke koncentraci vitamínu A v plazmě, jaká byla asi měsíc před porodem. Tento poznatek odpovídá zjištění Goodwina a Wilsona (20). Vzhledem k tomu, že pokles není vždy stejný ani velikostí, ani časem, v kterém kulminuje a průběh hladin v době telení a zvláště následný vzestup je nepravidelný, případně k němu při značném vyčerpání zásob a nedostatku provitaminu v krmivu vůbec nemusí dojít a vyskytují se četné individuální odchylky, nelze jednorázovému vyšetření přiznat diagnostickou přesnost. Může však dosti spolehlivě informovat o extrémních situacích, tj. o tom, zda je matka zásobena vitamínem dobře, nebo trpí jeho nedostatkem.

Poněvadž — shodně podle v literárním úvodu citovaných autorů — se obsah karotenů v krevní plazmě poměrně rychle mění v závislosti na jeho příjmu s krmivem, lze koncentrace karotenu i v poslední době březosti a po porodu vhodně použít k poznání současného zajištění provitaminem A v krmné dávce poslední doby.

Ze sledovaných případů, u nichž se hladina vitamínu A i karotenu po porodu značně a rychle zvyšovala, vyplývá též praktický důsledek, který může mít s největší pravděpodobností značný význam pro zajištění dostatku vitamínu A teleťi mlezivem a mlékem. U krav, jejichž krmná dávka byla po delší dobu deficientní po stránce obsahu karotenů, je třeba zajistit alespoň v posledním období březosti a po porodu dostatek provitaminů, případně preparátu vitamínu A v krmivu, aby byla zvýšena hladina těchto látek v krvi, mlezivu a mléce. Odpovídá to poznatkům Parrishe a spoluprac. (36), že obsah karotenu a vitamínu A v mlezivu lze zvýšit podáváním provitaminu A v krmivu poslední týdny březosti. Estery vitamínu A, tvořící se při přeměně karotenu, mohou být z krve, proudící ve velkém množství vemenem, převedeny do mleziva (24) vedle vitamínu pocházejícího z jaterních zásob. Shodně udává Alikajev (1), že není-li v krmné dávce karoten, je v mlezivu snížený obsah vitamínu A i jeho provitaminu.

Souhrn

Kolorimetrickým stanovením množství vitamínu A a karotenu ve 127 vzorcích krevní plazmy 17 krav a 3 jalovic bylo potvrzeno, že v poslední dva týdny březosti dochází u obou látek zpravidla k prudkému poklesu.

Pokud zvířata netrpěla karencí, projevující se trvale nízkou hladinou karotenu a vitamínu A v krvi, došlo v týdnu po porodu k jejich rychlému vzestupu. Zvyšování koncentrace obou látek však mělo trvalou tendenci jen tehdy, byl-li zajištěn současný přívod provitaminu A v krmné dávce. Při zimním hypovitaminózním krmení byly změny v hladině karotenu, způsobené porodem, méně výrazné.

Kolísání koncentrace vitamínu A v plasmě v době telení je považováno za odraz důležitých změn metabolismu tohoto vitamínu v organismu matky. Nápadné snížení těsně před porodem je vysvětleno vysokou spotřebou hlavně při tvorbě mleziva. Je vyslovena domněnka, že rychlý vzestup hladiny vitamínu A po porodu je působen asi hormonálními vlivy vyvolaným zvýšeným uvolňováním zásob z jater.

Různý, až 40procentní pokles koncentrace vitamínu A v krevní plazmě při porodu a značné odchylky v průběhu hladin po porodu nedovolují při jednorázovém vyšetření krve v této době přesnou informaci o nasycenosti organismu matky vitamínem A. Je však možné rozlišit případy karence. Hodnoty karotenu v plazmě

lze i v době před a po otelení vhodně použít k poznání zajištění provitaminem A v krmné dávce poslední doby.

Je zdůrazněna potřeba bohatého karotenového krmiva pro krávy v poslední době březosti a po porodu.

Literatura

1. Alikajev V. A.: Veterinarija 31, č. 1, 46, 1954. — 2. Avdějev I. M., Vorobjev A. E.: Veterinarija 32, č. 2, 73, 1955. — 3. Baker F. H., Mc Vicar R., Pope L. S., Whitehair C. K.: Proc. Soc. Expt. Biol. Med. 83, 57, 1953. Cit. 52. — 4. Baker F. H., Pope L. S., Mc Vicar R.: J. Animal Sci. 13, 802, 1954. Cit. 52. — 5. Baszyński T.: Med. Wet. 9, 76, 1953. — 6. Berger S.: Rocz. nauk rol., ser. E, 66, 371, 1954. Ref.: Vet. Bul. 25, 431, 1955. — 7. Braun W.: J. Nutrit. 29, 61, 1945. — 8. Byers J. H., Weswig P. H., Bone J. F., Jones I. R.: J. Dairy Sci. 38, 657, 1955. — 9. Devos A.: Annales med. vet. 97, 228, 1954. — 10. Domanski E., Dobrowolska D., Zalewska E.: Vit. u. Horm. 7, 249, 1956. — 11. Dvořák M.: K problému karence vitaminu A při chorobách telat. I. věd. konference vet. fak. v Brně, 1955. — 12. Eden E.: Vet. Rec. 61, 845, 1949. — 13. Eddy W. H.: Vitaminology. Baltimore 1949. — 14. Erben J.: Diss., Monachium, 1952. Ref.: Med. Wet. 10, 679, 1954. — 15. Emelina N. T.: Zbornik rabot po kormleniu sel'skochoz. životnych. Moskva-Leningrad, 1954. — 16. Gallup M. D., Kuhlman A. H.: Okla. Acad. Sci. Proc. 21, 89, 1941. Cit. 34. — 17. Gažo M., Landau L.: Vet. čas. 5, 267, 1956. — 18. Gažo M.: Vet. čas. 7, 66, 1958. — 19. Gažo M., Landau L.: Vet. čas. 7, 253, 1958. — 20. Goodwin T. W., Wilson A. A.: Biochem. J. 49, 499, 1951. — 21. Haubold H., Kolb E.: Milchwissenschaft 10, 340 a 375, 1955. — 22. Hjarde W., Nielsen J., Porotnikoff O.: Acta Agric. Scand. IV:1, 3, 1954. — 23. Hořejší J., Kandrác M., Michalec Č., Slavík K.: Základy chemické vyšetřování v lékařství. Praha 1957. — 24. Chanda R., Clapham H., Owen E. C.: Biochem. J. 60, 391, 1955. — 25. Kalmykov S. T., Puškarjeva V. I.: Veterinarija 28, č. 1, 43, 1951. — 26. Knobloch E.: Fysikálně chemické metody stanovení vitaminů. Praha 1956. — 27. Kuhlmann A. H., Gallup W. D.: J. Dairy Sci. 27, 633, 1944. — 28. Langham R. F.: M. S. C. Veterinarian 6, 14, 1945/46. Ref.: W. T. M. 37, 736, 1950. — 29. Lebeděv P. T.: Veterinarija 31, č. 2, 41, 1954. — 30. Lebeděv P. T.: Veterinarija 32, č. 10, 81, 1955. — 31. Leipert, Piringer, Pilgerstorfer: Laboratoriums-Diagnostik. Wien-Innsbruck, 1953. — 32. Lo Storto C.: Veterinaria (Milano) 5, 36, 1956. — 33. Lund C. J., Kimble M. S.: Amer. J. Obstet. Gynec. 46, 486, 1943. Cit. 34. — 34. Moore T.: Vitamin A. Amsterdam, London, New York, Princeton, 1957. — 35. Muth H. W.: Dtsch. Med. J. 8, 253, 1957. — 36. Parrish D. B., Wise G. H., Atkeson F. W., Hughes J. S.: Dairy Sci. 32, 209, 1949. — 37. Plotnikov K. I.: Veterinarija 33, č. 3, 70, 1956. — 38. Romváry J., Murányi F., Krámer M.: Mag. állatorv. lap. 10, 93, 1955. — 39. Romváry J., Murányi F., Krámer M.: Acta Vet. Ac. Sci. Hung. 6, 1, 1956. — 40. Schoop G.: XVth Int. Vet. Congres, Stockholm. Proceedings Part I, Vol. 1, 633, 1953. — 41. Schoop G.: Mh. f. Thk. 6, 289, 1954. — 42. Schreiber V.: Vitaminy a žlázy s vnitřní sekrecí. Praha 1956. — 43. Sréter F.: Acta Vet. Ac. Sci. Hung. 3, 299, 1953. — 44. Sréter F., Barna J., Székely P., Hunyadi E.: Állattenyésztés 3, 315, 1954. Ref.: Landw. Zblt. III, 1, 54, 1955. — 45. Sréter F.: Mag. állatorv. lap. 9, 234, 1954. Ref.: Landw. Zblt. III, 2, 694, 1956. — 46. Staudenmaier O.: Diss., München, 1952. Ref.: Mh. Vet. Med. 8, 559, 1953. — 47. Sutton T. S., Soldner P. A.: J. Dairy Sci. 26, 740, 1943. — 48. Sutton T. S., Kaeser H.

E., Soldner P. A.: J. Dairy Sci. 28, 933, 1945. — 49. Šapiro D. K., Patent R. L.: Voprosy pit. 12, č. 5, 73, 1953. — 50. Šmaněnkov N. A., Galičnikova L. A.: Veterinarija 32, č. 9, 75, 1955. — 51. Wagner K. H.: Arch. Tierernährung 4, 270, 1954. — 52. Wheeler R. R., Weswig P. H., Brannon W. F., Hubbert F. E., Jr., Sawyer W. A.: J. Animal Sci. 16, 525, 1957. — 53. Yudkin S.: Biochem. J. 35, 551, 1941.

Уровень каротина и витамина А в плазме крови коров в последнем периоде стельности и после родов

Колориметрическим измерением количества витамина А и каротина в 127 пробах кровяной плазмы, взятой от 17 коров и 3 нетелей, было подтверждено, что в последнем периоде стельности происходит снижение содержания обоих этих веществ. Снижение каротина происходило в большинстве случаев постепенно и сравнительно медленно, в то время как у витамина А перед родами весьма резко.

Поскольку животные не страдали каренцией, проявляющейся в последний период стельности постоянно низким уровнем каротина и витамина А в крови, в день родов или вскоре после них наблюдалось быстрое повышение их содержания, особенно витамина А. Повышение концентрации обоих веществ отличалось постоянной тенденцией только в том случае, когда в кормовой рацион прибавлялся провитамин А.

Колебание концентрации витамина А в кровяной плазме в период родов объясняется важными изменениями метаболизма этого витамина в организме матери. Резкое снижение каротина и витамина А непосредственно перед родами вызывается высоким потреблением их главным образом при образовании молозива. Высказывается также предположение, что быстрое повышение уровня витамина А после родов вызывается гормональными влияниями в результате повышенного освобождения запасов из печени.

Резкое снижение концентрации витамина А в кровяной плазме при родах, достигающее 40 %, и значительные колебания его уровня после родов дают возможность при разовом исследовании крови в этом периоде сделать заключение о насыщении организма матери витамином А только в исключительных случаях, независимо от того, снабжена ли она витамином А хорошо, или страдает его недостатком. Уровень каротина в кровяной плазме в период до и после родов можно использовать для обеспечения кормового рациона провитамином А в последний период стельности.

В работе подчеркивается необходимость богатого каротинного корма для коров в последний период стельности и после родов

Der Karoten- und Vitamin-A-Spiegel im Blutplasma der Kühe während der letzten Trächtigkeitsperiode und nach der Geburt

Durch kolorimetrische Bestimmung der Vitamin-A- und Karotenmengen in 127 Blutplasmamustern von 17 Kühen und 3 Färsen wurde bestätigt, daß in der letzten Trächtigkeitsperiode ein Herabsinken von beiden Stoffen eintritt. Das Sinken von Karoten verlief meistens stufenweise und relativ mäßiger im Vergleich mit Vitamin-A, bei dem das Sinken vor der Kalbung schneller wurde.

Wenn die Muttertiere nicht an Mangelkrankheit litten, die sich sonst während der letzten Trächtigkeitsperiode durch dauernd niedrigen Karoten- und Vitamin-A-

Spiegel im Blut bemerkbar machte, trat am Tage der Geburt oder kurz nachher ein schneller Anstieg, besonders der des Vitamins-A, ein. Die Konzentrationssteigerung beider Stoffe hatte eine dauernde Tendenz nur dann, wenn in der Fütterungsgabe eine gleichzeitige Verabreichung von Provitamin-A sichergestellt wurde.

Die Schwankung in der Vitamin-A-Konzentration im Plasma zur Zeit der Kalbung wird als Abspiegelung wichtiger Veränderungen in dem Metabolismus dieses Vitamins in dem mütterlichen Organismus angesehen. Auffallende Herabsetzung unmittelbar vor der Geburt wird durch großen Verbrauch desselben, vor allem bei Kolostrumbildung, erklärt. Die Annahme wird ausgesprochen, daß den schnellen Anstieg des Vitamin-A-Spiegels nach der Geburt die durch hormonale Einflüsse herbeigeführte erhöhte Freimachung der Vorräte aus der Leber verursacht.

Variables, manchmal bis 40 prozentiges Herabsinken der Vitamin-A-Konzentration im Blutplasma während der Kalbung und beträchtliche Abweichungen im Verlaufe einzelner Spiegel nach der Geburt gestatten zu dieser Zeit eine zuverlässige Information über die Absättigung des mütterlichen Organismus mit Vitamin-A nur in extremen Fällen zu gewinnen, nämlich wenn das Muttertier entweder damit gut versorgt ist, oder aber an dessen Mangel leidet. Die Karotenwerte im Plasma können sowohl in der Zeit vor als auch nach der Geburt zur Feststellung geeignet verwendet werden, ob das Tier in der letzten Zeit mit Provitamin-A in den Fütterungsgaben versorgt wurde.

Der Bedarf nach reicher karotenhaltiger Fütterung für Kühe in der letzten Trächtigkeitsperiode und nach der Geburt wird hervorgehoben.

První případ izolace *Stachybotrys alternans* v ČSR

Первый случай изоляции *Stachybotrys alternans* в Чехословакии

Erster Fall von Isolation des *Stachybotrys alternans* in der ČSR

MVDr. L. ZIMA

Ze Státního vědeckého veterinárního ústavu v Praze, pobočka Brno, vedoucí MVDr.
J. Křivinka

Došlo dne 21. VII. 1958

Úvod

Plísňová onemocnění rozdělujeme podle dosavadních znalostí na mykózy a mykotoxikózy.

Dochází-li přímo v živém organismu k růstu a parazitismu patogenních plísní, nazýváme onemocnění *mykóza*mi. Tak jsou již dosti dlouho známy dermatomykózy, kožní plísňová onemocnění, které řadíme mezi klasické plísňové choroby (např. *favus*, *herpes tonsurans* aj.). Do této skupiny patří také i káňové mykózy (typická je aspergillomykóza), známé a časté zvláště u ptáků.

Nejmladším odvětvím ve veterinární mykologii jsou *mykotoxikózy*. Vznikají po podání krmiva, napadeného toxickými plísněmi. Jejich důležitost je v poslední době stále více zdůrazňována.

Hospodářská zvířata přicházejí často, zvláště za dosud místy nevyhovujících hygienických podmínek v chovu a krmení ve styk s různými plísněmi a jejich sporami, které zanechávají v organismu nesporně zhoubné následky. Je proto třeba v praxi věnovat více pozornosti hygienickému hodnocení krmiv, umět správně diagnostikovat klinicky, patologicko-anatomicky i kultivačně mykotoxikózy a naučit se jim předcházet.

Z prostudované dostupné literatury bylo nejvíce prací o mykotoxikózách nalezeno v sovětské literatuře. Levitskij a Koňuchova (2) se zabývali toxicitou krmiv, napadených banálními plísněmi. Zkoumali toxicitu:

1. podkožní injekci kultivačních tekutin i étero-lihových extraktů z krmiv uměle infikovaných plísněmi;
2. zkrmováním plesnivého krmiva a kultur plísní;
3. aplikací éterových a étero-lihových výtažků plísní a plesnivých krmiv na kůži králíka.

Jejich pokusy bylo zjištěno, že některé plísně rodů *Penicillium*, *Aspergillus*, *Mucor* a *Rhizopus* jsou toxické pro prasata, králíky a ptáky. Autoři doporučují používat ve veterinárních bakteriologických laboratořích ke zjištění toxicity plísní metodu kožní reakce a podkožní injekce. Pro detoxikaci zaplesnivělých krmiv

doporučují vařit krmiva jednu hodinu ve vodě s přísadou 2—3% kyselého uhlíkatu sodného.

Levenštern (3) popsal případ plísňové otravy kachňat po krmení vikví, napadenou plísní *Aspergillus fumigatus* a *Fusarium*.

Otravu prasat plesnivým krmivem zaznamenal Bojarskij (1). Podle jeho pozorování bývají vyvolávány otravy prasat plesnivým krmivem nejčastěji na jaře a v zimě. Projevují se klinicky poruchou nervové soustavy, charakteristickou pro rostlinné jedy. Nervová forma mykotické otravy bývá nejčastější; méně častá je zažívací forma a forma plicní.

Toxicitu některých vláknitých plísní z jetelového sena popisuje Oněgov (4). Toxicita byla přezkoušena na morčatech, králících a hřibatech, aplikací na kůži, podkožními injekcemi a zkrmováním.

Charakteristika mykotoxikóz

Podrobně se intoxikacemi plísňového původu zabývá Sarkisov (5), který udává ve své knize řadu nových poznatků. Mezi mykotoxikózy počítá ergotismus, klavicepstoxikózu, dendrochiotoxikózu koní, stachybotryotoxikózu koní, fusariotoxikózu, intoxikace po krmení zrninami, které přezimovaly na poli a toxikózy ze zaplesnivělých rostlinných produktů. K jednotlivým kapitolám jsou připojeny obsáhlé seznamy příslušné literatury.

Mykotoxikózy mají podle Sarkisova charakteristickou ohniskovost a zonální rozšíření. Zonálnost závisí především od ekologických podmínek vnějšího prostředí, optimálních pro vývoj příslušných plísní. Každá z mykotoxikóz má svou charakteristickou periodu vzniku a trvání.

Sarkisov dále uvádí, že toxiny plísní, vyvolávající klinicky různá onemocnění, porušují ve všech případech nervovou soustavu, především centrální nervový systém. Z hospodářských zvířat jsou k mykotoxikózám nejvzímavější koně, poněkud méně prasata a ovce a značně odolný je skot. Také ptáci jsou dosti odolní. Odolnost některých druhů zvířat k toxinům plísní je zvlášť vyjádřena u stachybotryotoxikózy. Dávky slámy, napadené touto plísní, toxické pro koně, nevaří vůbec skotu. Naproti tomu je známé, že vůči toxickým sklerociím námelů (*Claviceps purpurea* *Claviceps paspali*) jsou vnímavá všechna zvířata.

Stachybotryotoxikóza

Stachybotryotoxikóza je těžké onemocnění zvláště koní. Vzniká po krmení slámy, případně sena, napadených toxickou formou plísně *Stachybotrys alternans* Bonorden. Projevuje se zánětlivými, někdy až nekrotickými změnami v průběhu zažívacího traktu, se současnou hemoragickou diatézou a agranulocytózou.

V Sovětském svazu se od r. 1931 vyskytovala „neznámá choroba“ (N. Z.) koní a rok od roku případů přibývalo. V letech 1932 až 1937 pracovaly na objasnění etiologie různé vědecké instituce a skupiny výzkumníků. Zpočátku jedna skupina specialistů razila teorii o prudké infekci tohoto onemocnění a prof. Gurvič (cit. podle Sarkisova) nazval chorobu „viskózní“ infekcí. Domníval se, že nejprve vzniká intoxikace a potom septikemie, vyvolaná *Bact. viscosum*; při tom vylučoval možnost nějaké polyavitaminózy nebo intoxikace z krmiva.

Další skupiny vědeckých pracovníků předkládaly zase jiné domněnky o různých infekcích bakteriálních nebo virových, o intoxikacích z krmiv, o avitaminózách i o minerálních jodech. Teprve v r. 1938 Drobok (cit. podle Sarkisova) poukázal na roli plísně *Stachybotrys alternans*. Toxickou formu plísně určili pak největší mykologové Jatel a Pidopličko. Podle Sarkisova byla stachybotryotoxikóza zjištěna na různých místech SSSR, dále je uváděn, podle nedostupné nám literatury, její výskyt také v Polsku, Maďarsku a na Slovensku (Moseliani D. V., Sov. veterinarija 1940, No 10, str. 42—44).

Plíseň druhu *Stachybotrys alternans* popsal již v r. 1851 Bonorden. Rod *stachybotrys* je zařazen mezi *Fungi imperfecti*, řád *Hyphomycetales*, čeleď *Dematiaceae*. V přírodě je tato plíseň v SSSR hojně rozšířena, zvláště na buničitých substrátech. Na slámě obilovin je toxický účinek plísně intenzivnější než na slámě luštěnin. Sarkisov popsal morfologii a toxikologické účinky této plísně, kliniku i patologicko-anatomický obraz stachybotryotoxikózy.

Vlastní práce

Kultivace a morfologie

Kultivace ze vzorků podezřelé slámy, sena a zrnin byla prováděna

1. v Petriho miskách s vložkou filtračního papíru, navlhčenou roztokem van Itersonovým (<i>Ammonium nitricum</i>)	0,05
<i>Kalium fosforicum acidum</i>	0,05
<i>Aqua fontis</i>	100,0

sterilizovaných při 1 atm 40 minut. Rovněž Petriho misky s filtračním papírem byly přesterilizovány. Protože plíseň napadá slámu v kolínkách a na nich nejintenzivněji roste, byly, zvláště pro izolaci, používány krátké kousky slámy s kolínkem a vloženy na ovlhčený filtrační papír.

2. Na Čapkově agaru byly rozstírány začernalé skvrny plísně ze slámy, seškrabané skalpelem nebo kličkou. Na této půdě byla prováděna také izolace kultur. Růst plísně *Stachybotrys alternans* se dařil dobře za aerobních podmínek.

Z většího počtu podezřelého materiálu podařilo se pouze v jednom případě izolovati toxickou formu kmene *Stachybotrys alternans* Bonorden. V roce 1955 docházelo v některých okresech na Slovensku k většímu hynutí koní. Etiologie a epizootologie nebyla jasná. Z jednoho hospodářství, kde došlo k několika letálním případům, předal s. dr. Rašín našemu ústavu osobně vzorek slámy; podle dodatečného ústního sdělení šlo o slámu z obce D. D., okr. Trnava. Vzorek byl jen částečně zatuchlý a ložiskově byla některá kolínka slámy slabě načernalá, zvláště v duté části uvnitř kolínek.

Kultivace byla provedena pomnožením na filtračním papíru, smočeném van Itersonovým roztokem a na Čapkově agaru. Podařilo se izolovat čistou kulturu *Stachybotrys alternans*. Na filtračním papíře, ovlhčeném van Itersonovým roztokem rostly kultury poměrně zvolna, ale ve výrazných černých povlacích. Na kouscích slámy byl nejintenzivnější růst na kolínkách a v jejich těsné blízkosti.

Na Čapkově agaru se počínají asi po třech dnech při teplotě laboratoře objevovat první kolonie, během jednoho týdne vyrostou souvislý olivově zelený povlak, který během dalšího týdne ztmavne a spodina zcela zčerná. Mycelium této plísně, které je z počátku bezbarvé nebo bledě olivové barvy, teprve postupně stárím ztemní. Konidiofory jsou dělené; na jejich terminálním pólu vyrůstají na pěti

až osmi sterigmatech konidie eliptického, protáhle vejčitého tvaru. Jsou bledě olivové barvy, zráním ztemní a jsou temně hnědé až černé. Velikost konidií se pohybuje kolem $10 \times 6 \mu$.

Průkaz toxicity

K prokázání toxicity zachyceného kmene *Stachybotrys alternans* provedli jsme opakovaně následující zkoušky toxicity:

1. Éterový extrakt ze slámy, na které byla rozmnožena kultura *Stachybotrys alternans*, nanesený na depilovanou kůži králíka, vyvolal na ní již druhý den silnou zánětlivou hyperaemii a během pěti dnů došlo k výrazné povrchové nekróze kůže. Tyto příznaky začaly sedmý den mizet. Reakce byla silně pozitivní.

Pro kontrolu byl na druhý bok králíka nanesen na oholenou kůži éterový výtažek z nezávadné slámy a vedle zbytek po odpaření éteru, používaného k extrakci. Obě tato kontrolní místa zůstala bez zánětlivých změn.

2. Éterový výtažek z filtračního papíru, na kterém byla pomnožena kultura *Stachybotrys alternans*, vyvolal na depilované kůži králíka zánětlivou hyperaemii a výrazný deskvamativní proces. Kontroly byly negativní.

3. Éterový výtažek z kultury *Stachybotrys alternans*, pomnožené na Čapkově agaru vyvolal na oholené kůži králíka zánětlivou hyperaemii s méně výraznými deskvamativními změnami.

4. Vodní extrakt z kultur *Stachybotrys alternans*, pomnožených na slámě, podaný perorálně v množství 50 ml králíku, vyvolal po druhém podání sondou (po třech dnech od prvního podání) apatii, inapetenci, částečnou *tympanitis* a částečné zvýšení teploty na $39,9^{\circ} \text{C}$. Příznaky apatie a inapetence se udržovaly téměř celý měsíc, kdy bylo králíku podáváno 50 ml vodního výtažku v intervalech 4–6 dnů. Během dalšího měsíce již králík nejevil klinicky zdravotní poruchy.

5. Zkoušky toxicity byly prováděny také na morčatech. Nekrotické změny na depilované kůži morčat byly dosti výrazné, daleko rychleji se však překrývaly nově rostoucí srstí. Na ušních boltcích morčat byla po nanesení toxického výtažku pozorována jen výrazná hyperaemie.

6. Zkouška toxicity na lalůčích kohouta nevyvolala nekrózu a hyperaemii nebylo možno dobře posoudit.

7. Zkouška toxicity provedená výtažkem filtračního papíru na paži člověka byla negativní.

Diskuse

V literárním přehledu jsem se zmínil o tom, že prof. Gurvič se domníval, že neznámá choroba koní v SSSR je intoxikací a pak septikemií, vyvolanou *Bact. viscosum egui*.

Příčinami hynutí koní na Slovensku v r. 1955 se zabývalo také několik našich odborníků, mezi nimi také Stricker a Grúnert (6). Měli možnost patologicko-anatomicky a bakteriologicky vyšetřovat některé uhynulé koně nebo jejich orgány. Udávají také některá anamnestická a klinická údaje tohoto etiologicky a epizootologicky málo objasněného hynutí koní. Pokud se v popisovaných případech mluví o krmení, byla to vždy také zatuchlá, podřadná sláma. Klinicky byly pozorovány průjmy, celková slabost, inapetence, nejistá chůze, překrvení viditelných sliznic. Teplota $40,7$ až $41,6^{\circ} \text{C}$. Pitvou zjištěny krváceniny v podkoží a na serózách, na sliznici žaludku, někdy ve střevech, krváceniny pod mozkovými

plenami, pod pouzdrém sleziny někdy miliární nekrotická ložiska v játrech. Jinak nebyly v parenchymatózních orgánech signifikantní změny.

Ze 30 případů koní, uhynulých na Slovensku v době od ledna 1955 do dubna 1956, ze kterých byl bratislavskému ústavu zaslán materiál s anamnézou, že jde o rychle probíhající horečnaté onemocnění, byly jen ve 12 případech (40 %) vypěstovány zárodky *B. pyosepticum viscosum equi* (*Shigella equerulis*). Zatím co u hřibát je tento mikrob nejčastějším původcem septicemických onemocnění, jsou dospělí koně podstatně rezistentnější. Onemocnění se u nich objevuje jen sporadicky, a to lokalizovaně ve formě abscesů v orgánech anebo jako septikémie. Podle Manningera (cit. podle Strickera a Grúnerta) se zárodek často nachází v tonsilách, ve střevním obsahu zdravých koní, odkud může proniknout do krevního oběhu a vyvolat septikemii. Autoři zastávají souhlasný názor s jinými literárními údaji v tom, že vyvolávajícím momentem onemocnění jsou noxy oslabující odolnost individua, v tomto případě hlavně nevyhovující krmení (zatuchlá, podřadná sláma!). Ve dvou případech bylo provedeno virologické vyšetření s negativním výsledkem. Autoři dále konstatují, že případy hynutí koní na Slovensku představuje odlišnou nosologickou jednotku od případů encefalohepatopatie koní v Čechách a na Moravě a doporučují podrobit výskyt této choroby epizootologické analýze a podrobnějšímu studiu.

Citoval jsem závažnější partie z práce, neboť lze předpokládat souvislost některých z popisovaných případů se stachybotryotoxikózou. V SSSR bylo také původně považováno za původce stachybotryotoxikózy *B. pyosepticum viscosum equi*. Ve všech případech, kdy je v anamnéze uváděno krmení, byla to zatuchlá, podřadná sláma a na slámě se *Stachybotrys alternans* snadno pomnožuje. Také klinické i patologicko-anatomické příznaky se velmi podobají příznakům stachybotryotoxikózy, jak je uvádí Sarkisov.

Vzorek slámy zkrmované koňmi, u nichž došlo k většímu hynutí, byl našemu ústavu zaslán dodatečně, bez potřebných anamnestických a klinických dat. Neměli jsme možnost provést pitvy nebo vyšetření orgánů uhynulých koní a nemůžeme tudíž prokázat přímou etiologickou souvislost mezi zmíněným hynutím koní a zachycením toxickým kmenem *Stachybotrys alternans*. Tato souvislost však není vyloučena, o čemž svědčí místní a časová shoda a Strickerem a Grúnertem popisované anamnestické, klinické a patologicko-anatomické údaje a nálezy. Z jiných podobných případů nebylo již krmivo (sláma) k vyšetření zasláno. V dalším období nepodařilo se již zachytit podobný toxický kmen této plísně.

Popsaný případ prokazuje výskyt plísní *Stachybotrys alternans* i na našem území a tedy také možnost onemocnění koní stachybotryotoxikózou. Bude proto nutné zabývat se mykologickou diagnostikou stále více, prohlubovat naše znalosti ve veterinární mykologii, zvláště o mykotoxikózách.

Souhrn

V práci je popsána izolace čisté kultury toxického kmene plísně *Stachybotrys alternans* Bonorden.

Byla prokázána toxicita éterového výtažku kultury, pomnoženého na slámě, filtračním papíře a agaru, nanesením tohoto kmene na depilovanou kůži králíků a morčát.

Byla prokázána toxicita vodního výtažku kultury *Stachybotrys alternans* při perorálním podávání králíku, jevíci se inapetencí, apatií a částečně zvýšením teploty pokusného zvířete.

Je diskutována možnost ekologického vztahu zachyceného toxického kmene *Stachybotrys alternans* (časová a místní shoda, anamnestické, klinické a patologicko-anatomické údaje) k hynutí koní na Slovensku, u nichž v některých případech bylo prokázáno kultivačně *B. pyosepticum*.

Podle dosavadního zjištění je nutno počítat s tím, že se i na území našeho státu vyskytuje stachybotryotoxikóza koní.

Literatura

1. Bojarskij: Veterinarija 1950, VII, 38. — 2. Levitskij, Koňuchova: Veterinarija 1947, X, 40. — 3. Levenštěrn: Veterinarija 1957, V, 42. — 4. Ončgov: Veterinarija 1949, X, 41. — 5. Sarkisov: Mikotoksikozy, Moskva, 1954. — 6. Stricker Fr., Grünert Z.: Veterinársky časopis 1956, V, str. 260-266.

Первый случай изоляции *Stachybotrys alternans* в Чехословакии

В работе описывается изоляция чистой культуры токсического штамма плесневого гриба *Stachybotrys alternans* Bonorden.

Токсичность эфирного экстракта культуры этого штамма, размноженного на соломе, фильтровальной бумаге и агаре, была доказана путем нанесения его на кожу кроликов и морских свинок по ее предварительной депилиции.

В работе доказывается также токсичность водного экстракта культуры *Stachybotrys alternans*, подаваемого кроликам в корме, которая проявляется в инантенции, апатии и частичном повышении температуры тела.

В дискуссии указывается на возможность установления связи — по сходству времени и месту и по описанным анамnestическим, клиническим и патолого-анатомическим данным — между токсическим штаммом и гибелью лошадей в Словакии, у которых в некоторых случаях путем культивации было доказано присутствие *B. pyosepticum*.

Согласно до сих пор проведенным установлениям необходимо считаться с тем, что и на территории Чехословакии встречается стахитобтриотоксикоз лошадей.

Erster Fall von Isolation des *Stachybotrys alternans* in der ČSR

In dieser Arbeit wird die Isolation der Reinkultur von toxischem Stamm des Schimmelpilzes *Stachybotrys alternans* Bonorden beschrieben.

Die Toxizität von Etherextrakt dieses Stammes welcher auf Stroh, Filtrierpapier und Agar angereichert wurde, wurde durch Auftragen auf depilierte Haut der Kaninchen und Meerschweinchen bewiesen.

Man konnte die Toxizität des Wasserauslauges der *Stachybotrys alternans* beweisen, indem man denselben peroral einem Kaninchen verabreichte; die Folge war Inappetenz, Apathie und eine gewisse Temperaturerhöhung.

Die Gewinnungsmöglichkeit von toxischem Stamm des *Stachybotrys alternans* je nach den zeitlichen und örtlichen Umständen und nach den beschriebenen anamnestischen, klinischen und pathologisch-anatomischen Angaben über das Absterben von Pferden in der Slowakei, bei welchen in manchen Fällen *B. pyosepticum* kultivationsmäßig nachgewiesen wurde, ist in der Diskussion angeführt.

Nach bisheriger Feststellung ist die Möglichkeit des Vorkommens von Stachybotryotoxikose bei Pferden auf dem Gebiete der ČSR im Augenschein zu behalten.

Asimilácia glukózy, bielkovinové spektrum a zákalové reakcie u oviec po podaní chlórovaných uhlovodíkov

Ассимиляция глюкозы, белковый спектр и осадочные реакции у овец после
подачи хлорированных углеводов

Die Glukoseassimilation, das Eiweißspektrum und die Trübungsreaktionen bei Schafen
nach Verabreichung von chlorierten Kohlenwasserstoffen

E. KÓŇA

Ústav patologickej fyziológie Veterinárskej fakulty v Košiciach

Došlo dňa 21. VII. 1958

Úvod

Vo veterinárnej medicíne sa chlórované uhlovodíky, *carboneum tetrachloratum* a *carboneum trichloratum*, s úspechom používajú predovšetkým pri terapii fasciolózy rožného statku a oviec. Je známe, že *carboneum tetrachloratum* spôsobuje biochemické a morfológické zmeny. Toxicita *carboneum trichloratum* je menšia. Štúdiu účinku, biochemickému a morfológickému prejavu chlórovaných uhlovodíkov u zdravého a chorého rožného statku i oviec je venované viac prác (Šulc, 1931, Sereda, 1941, Gžickij, 1953, Skovroňska, 1953, Panasjuk a spol., 1953, Gall, 1955, Staškiewicz a spol., 1955, Winterhalter a spol., 1957 a i.), v ktorých sa z biochemických ukazovateľov sledovali hlavne zmeny v hladine protrombínu, kalcia, chloridov, acetónových látok, amoniaku, cukru, bilirubínu, cholesterolu v krvi a i. a tiež zmeny v morfológickom obraze. Terapeuticky sa vyžaduje, aby pri liečení fasciolózy bola dostatočná koncentrácia chlórovaných uhlovodíkov v pečeni, čím je daná tiež možnosť jej funkcionálneho a morfológického poškodenia. Niektorí autori uvádzajú (Ryss, Vajnštejn, 1936), že pri poruchách pečene syntéza a fixácia glykogénu naruša sa prv ako jej druhé funkcie. Preto sme si vzali za úkol preskúmať vplyv chlórovaných uhlovodíkov pri vyšších dávkach ako terapeutických na asimiláciu glukózy u oviec metódou glukózového zafarbenia. Glukózové zafarbenie sa volilo zato, že vo veterinárnej medicíne boli už dosiahnuté dobré výsledky s touto skúškou, včítane prežúvavcov (Garner, 1952, Savojskij, 1955, 1956, Bunting a spol., 1956, Mazurczak a spol., 1956, Markiewicz, 1956, Grigorjan, 1957, Forenbacher, 1952, 1957).

Materiál a metodika

V práci sa použilo 20 kusov oviec, z toho 9 kusov starých 10–12 mesiacov, klinicky zdravých a 11 kusov starých 2–4 roky. Ovce sa zadelili do 4. skupín. Mladé ovce: 4 ovciam (1. skupina) sa injikoval samotný CCl_4 , 5 ovciam (2. skupina) sa injikoval CCl_4 a súčasne sa podal C_2Cl_6 . Staré ovce: 6 ovciam (3. skupina) sa injikoval samotný CCl_4 , 5 ovciam (4. skupina) sa injikoval CCl_4 a súčasne sa podal C_2Cl_6 . *Carboneum tetrachloratum* sa injikoval s. c. na viac miest v dávke 0,25 ml/kg ž. v., *carboneum trichloratum* sa podával per os vo forme „Motolitu O“ v dávke 0,94 g/kg ž. v., čo je približne šesť krát vyššia dávka ako použil Mitterpáková (1957) pri dosiahnutí 98,5% intenzívneho efektu preparátov u oviec. Pred a počas pokusu zvieratá boli kŕmené senom *ad libitum*.

Sledovali sme nasledujúce hodnoty: glykemickú krivku antrónovou metódou po i. v. zafažení 40% glukózou 0,15 g/kg ž. v. v časových intervaloch – pred, 15, 30, 60, 120 minút po podaní glukózy, ďalej celkový bilirubín podľa Heilmeyera (1938), kedy sa stanovujú vyššie hodnoty, zákalové reakcie (kadmium-sulfátová, tymolová o pH 7,8, Takata v modifikácii Mancke-Sommerera) a bielkovinové frakcie krvného séra pomocou papierovej elektroforézy ako v predchádzajúcich prácach (Kóňá, 1957a, 1957b). Pri stanovovaní glukózy a elektroforetických hodnôt sa prevádzali dve paralelné vyšetrovania. Koprologické vyšetrenie pred pokusom a po pokuse sa previedlo premývacou metódou podľa Chylu (1955).

Uvedení ukazovatelia sa sledovali pred, po 2, 4 a 6 dňoch po podaní chlórovaných uhľovodíkov po predchádzajúcej 18hodinovej hladovke. Krv sa odoberala z v. jugularis obvyklým spôsobom. Potom sa ovce odporazili a previedla sa u nich kompletná patologicko-anatomická pitva, pečene sa po fixácii v Zenkerovej tekutine a farbení hemalaun-eosínom histologicky vyšetrovali.

I. Priemerné hodnoty glykemických kriviek mladých oviec u 1. skupiny po podaní CCl_4 , u 4. skupiny

Stanovenie po dňoch		Hladina glukózy			
		0'	P	15'	P
1. skupina	0	50 ± 4,1	—	99 ± 6,7	—
	2	45 ± 8,5	0,10 < P	103 ± 11,1	0,10 < P
	4	45 ± 5,7	0,05 < P < 0,10	100 ± 8,1	0,10 < P
	6	48 ± 3,4	0,10 < P	91 ± 11,0	0,10 < P
2. skupina	0	46 ± 6,9	—	101 ± 17,5	—
	2	45 ± 4,7	0,10 < P	104 ± 19,1	0,10 < P
	4	41 ± 3,0	0,10 < P	108 ± 13,4	0,10 < P
	6	41 ± 4,6	0,10 < P	104 ± 17,2	0,10 < P
3. skupina	0	46 ± 9,0	—	104 ± 12,9	—
	2	44 ± 5,0	0,10 < P	100 ± 6,5	0,10 < P
	4	40 ± 7,1	0,10 < P	91 ± 11,1	0,05 < P < 0,10
	6	36 ± 6,4	0,02 < P < 0,05	98 ± 8,7	0,10 < P
4. skupina	0	42 ± 10,0	—	104 ± 26,7	—
	2	35 ± 3,3	0,10 < P	99 ± 24,5	0,10 < P
	4	37 ± 6,5	0,10 < P	99 ± 17,8	0,10 < P
	6	39 ± 2,8	0,10 < P	104 ± 22,0	0,10 < P

Smerodatná odchýlka sa počítala podľa vzorca $\sigma = \pm \sqrt{\frac{\sum A^2}{n-1}}$. Štatistická významnosť bola určená z Fisherovej tabuľky k testovaniu významnosti pri Studentovom rozdelení.

Stanovenie glukózy antrónovou metódou

0,1 ml čerstvej krvi, získanej punkciou z *v. jugularis* napipetuje sa do 2,7 ml roztoku $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$ ($\text{Na}_2\text{SO}_4 \cdot 10 \text{H}_2\text{O} \odot 3\% - 640 \text{ ml} + \text{CuSO}_4 \cdot 5 \text{H}_2\text{O} \odot 7\% - 60 \text{ ml}$), zamiešame a pipetu vypláchneme touto zmesou. Roztok $\text{Na}_2\text{SO}_4 + \text{CuSO}_4$ zabráňuje glykolýze, takže sa krv takto udrží bez zmeny po dobu až 6 hodín. Potom pridáme 0,2 ml 10 % $\text{Na}_2\text{WO}_4 \cdot 2 \text{H}_2\text{O}$, zamiešame a centrifugujeme. 1 ml filtrátu prevrstvíme na 10 ml antrónového reagensu v skúmavke sa zabrusenou zátkou, ktorú máme uloženú v ľadovom kúpeli ($+2^\circ\text{C}$) (von Holt, 1954). Skúmavka sa nechá temperovať najmenej 15 min. v ľadovom kúpeli, silným trepaním zamiešame a varíme presne 5 minút v prudko vrúcom vodnom kúpeli. Reakciu zastavíme opätovným ponorením skúmavky do ľadového kúpeľa a po 15 minútach fotometrujeme na Langeho fotokolorimetri s filtrom OG 2 v 10 ml okrúhlych kyvetách proti slepej skúške.

Antrónové reagens:

K 100 ml H_2SO_4 p. a. ($\text{h}=1,717$), pridáme 200 mg antrónu, syntetizovaného podľa Meyera (1932).

Výsledky

Priemerné výsledky glykemických kriviek u oviec po podaní chlórovaných uhlovodíkov sú uvedené v tab. I.

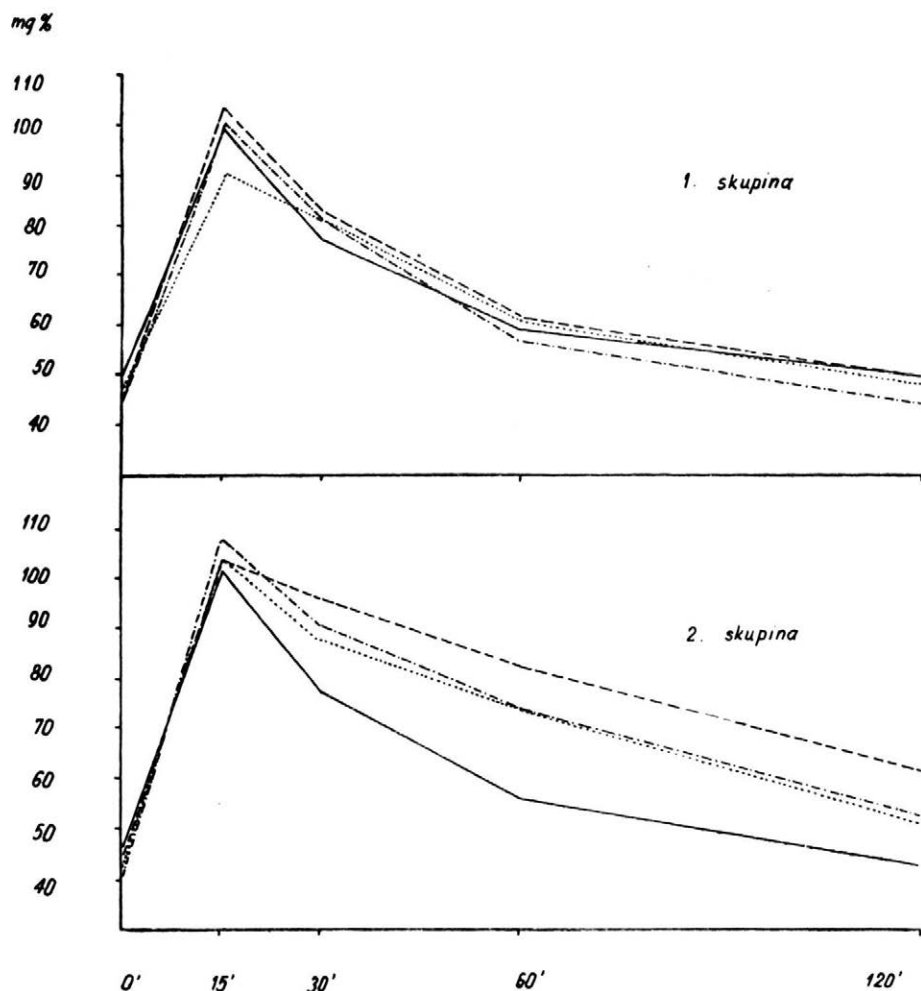
CCl_4 , u 2. skupiny po podaní CCl_4 a C_2Cl_6 a starých oviec u 3. skupiny po podaní po podaní CCl_4 a C_2Cl_6

v krvi v mg %					
30'	P	60'	P	120'	P
77 ± 7,5	—	59 ± 9,6	—	50 ± 4,9	—
83 ± 15,6	0,10 < P	62 ± 15,0	0,10 < P	50 ± 13,6	0,10 < P
81 ± 10,8	0,10 < P	57 ± 7,2	0,10 < P	45 ± 3,6	0,05 < P < 0,10
81 ± 8,0	0,10 < P	61 ± 9,8	0,10 < P	49 ± 7,6	0,10 < P
77 ± 12,6	—	56 ± 11,0	—	43 ± 14,1	—
96 ± 15,4	0,05 < P < 0,10	83 ± 11,5	P < 0,01	62 ± 5,1	P < 0,05
91 ± 15,9	0,10 < P	74 ± 16,0	0,05 < P < 0,10	53 ± 4,6	0,10 < P
88 ± 20,6	0,10 < P	74 ± 19,9	0,10 < P	52 ± 16,2	0,10 < P
88 ± 14,1	—	69 ± 11,9	—	47 ± 9,5	—
77 ± 5,8	0,05 < P < 0,10	59 ± 7,6	0,10 < P	44 ± 4,8	0,10 < P
70 ± 7,4	0,02 < P < 0,05	51 ± 6,4	0,10 < P	43 ± 4,6	0,10 < P
81 ± 11,2	0,10 < P	55 ± 12,1	0,05 < P < 0,10	40 ± 10,5	0,10 < P
90 ± 26,8	—	64 ± 28,6	—	47 ± 3,8	—
87 ± 24,3	0,10 < P	68 ± 20,7	0,10 < P	46 ± 13,8	0,10 < P
82 ± 20,3	0,10 < P	59 ± 24,4	0,10 < P	49 ± 15,6	0,10 < P
79 ± 18,4	0,10 < P	52 ± 16,5	0,10 < P	42 ± 12,4	0,10 < P

Z tabuľky vidieť, že štatisticky významné zníženie asimilácie glukózy sa zistilo u 2. skupiny mladých oviec po 2 dňoch od podania CCl_4 spolu s C_2Cl_6 po 60 a 120 min. od injikovania glukózy ($P < 0,01$, príp. $P < 0,05$). V ostatných skupinách a ani v inom časovom rozmedzí sa po podaní chlórovaných uhlovodíkov zmena na stranu zníženia asimilácie glukózy nenašla (graf 1. a 2.)

Východzia hladina glukózy v krvi v priebehu pokusu klesala, avšak tento pokles nie je štatisticky významný, s výnimkou 3. skupiny po 6 dňoch od aplikácie.

Z hodnôt bielkovinového spektra krvného séra vidieť (tab. II), že v časovom priebehu sa zistili štatisticky významné zmeny u 2. skupiny mladých oviec, a to zvýšenie β globulínovej frakcie po podaní CCl_4 spolu s C_2Cl_6 po 4 a 6 dňoch. V tejto skupine je taktiež pokles albumínov a γ globulínov. V 4. skupine starých oviec je zníženie γ globulínov po 2 a 4 dňoch.

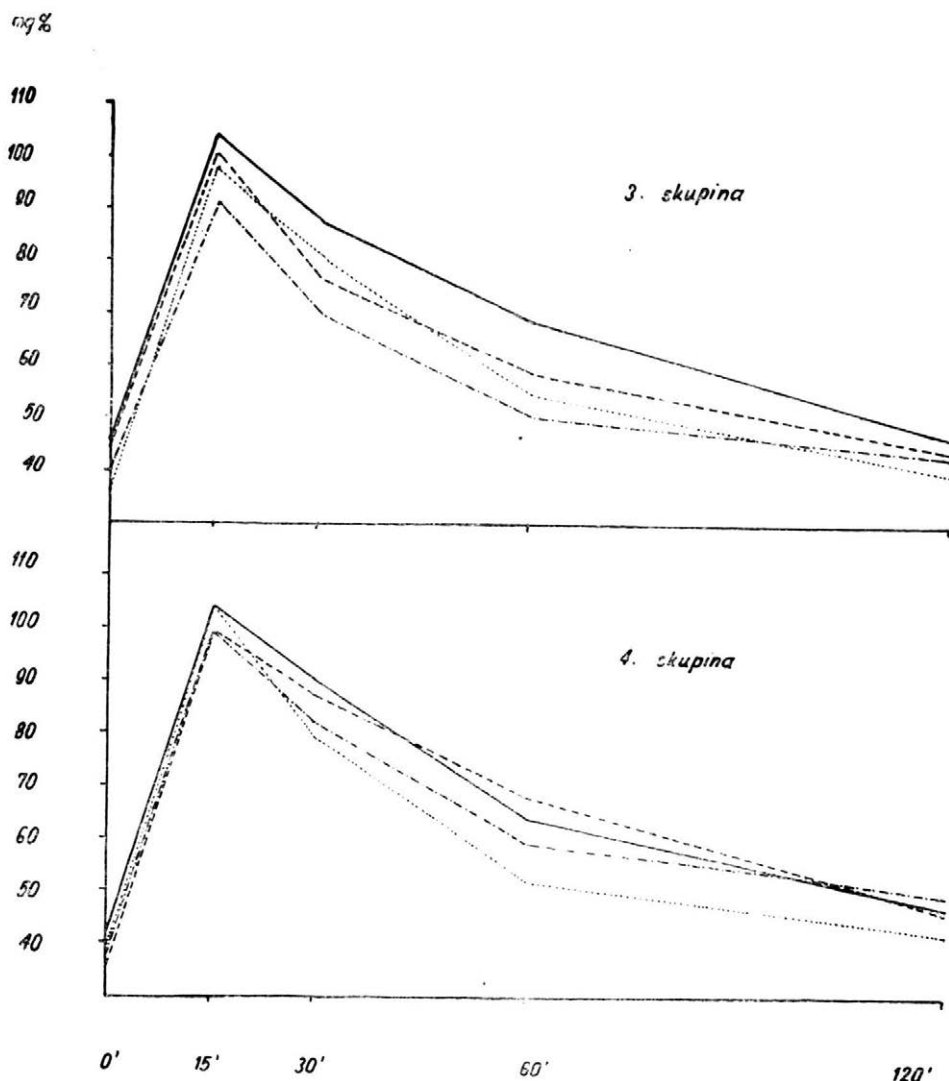


Graf č. 1. Glykemické krivky u mladých oviec po podaní CCl_4 (1. skupina) a po podaní CCl_4 a C_2Cl_6 (2. skupina). Glykemická krivka: — pred podaním, — — — po 2 dňoch, - - - - po 4 dňoch, po 6 dňoch od podania chlórovaných uhlovodíkov

Hodnoty bilirubínu a zákalových reakcií (tab. IV) sa proti východným hodnotám pred podaním chlórovaných uhlovodíkov v priebehu pokusu v jednotlivých skupinách význačne nemenili až na hladinu bilirubínu u 4. skupiny, kde sa po 6 dňoch zistilo jeho zvýšenie.

Koprologickým vyšetrením pred pokusom sa u mladých oviec nenašli fasciolózne vajíčka, u starých oviec množstvo fasciolózných vajíčok sa pohybovalo od 1 do 35 kusov.

Patologicko-anatomickou pitvou sa u oboch skupín mladých oviec nezistili podstatné makroskopické zmeny. Histologicky u 1. skupiny mladých oviec zisto-



Graf č. 2. Glykemické krivky u starých oviec po podaní CCl_4 (3. skupina) a po podaní CCl_4 a C_2Cl_6 (4. skupina). Glykemická krivka: ————— pred podaním, — — — — po 2 dňoch, po 4 dňoch, - . - . - po 6 dňoch od podania chlórovaných uhlovodíkov

II. Priemerné relatívne hodnoty bielkovinových frakcií krvného séra mladých oviec u 3. skupiny po podaní CCl_4 ,

Stanovenie po dňoch		Albumíny v %		
			P	α
1. skupina	0	$37,0 \pm 0,48$	—	$10,8 \pm 1,60$
	2	$38,6 \pm 1,87$	$0,10 < P$	$10,1 \pm 1,34$
	4	$37,3 \pm 2,72$	$0,10 < P$	$10,4 \pm 2,24$
	6	$35,9 \pm 0,12$	$0,10 < P$	$12,3 \pm 2,54$
2. skupina	0	$39,0 \pm 0,95$	—	$9,4 \pm 0,82$
	2	$40,3 \pm 1,09$	$0,10 < P$	$8,6 \pm 1,13$
	4	$39,3 \pm 1,26$	$0,10 P$	$8,6 \pm 0,97$
	6	$36,4 \pm 0,86$	$P < 0,01$	$11,2 \pm 2,24$
3. skupina	0	$38,4 \pm 5,45$	—	$7,4 \pm 2,40$
	2	$43,9 \pm 6,89$	$0,10 < P$	$7,5 \pm 2,04$
	4	$35,4 \pm 5,41$	$0,10 < P$	$8,3 \pm 2,62$
	6	$36,8 \pm 3,03$	$0,10 < P$	$8,2 \pm 2,51$
4. skupina	0	$39,6 \pm 1,26$	—	$8,0 \pm 1,00$
	2	$45,1 \pm 8,25$	$0,10 < P$	$8,5 \pm 3,34$
	4	$43,3 \pm 4,19$	$0,10 < P$	$8,3 \pm 3,68$
	6	$37,4 \pm 3,71$	$0,10 < P$	$9,7 \pm 2,19$

III. Hodnoty bilirubínu a zákalových reakcií v sére mladých oviec u 1. skupiny po podaní CCl_4 , u 2. skupiny po podaní CCl_4 a C_2Cl_6 a v sére starých oviec u 3. skupiny po podaní CCl_4 , u 4. skupiny po podaní CCl_4 a C_2Cl_6

Stanovenie po dňoch		Bilirubín v mg %		CdR	Takata v mg % sublimátu	TzR jednotky
			P			
1. skupina	0	$0,45 \pm 0,08$	—	neg.	40–60	0,8–1,6
	2	$0,51 \pm 0,10$	$0,10 < P$	neg.	40–70	1,4–3,3
	4	$0,45 \pm 0,07$	$0,10 < P$	neg.	40–60	1,3–1,8
	6	$0,47 \pm 0,08$	$0,10 < P$	neg.	40–60	1,1–1,6
2. skupina	0	$0,36 \pm 0,04$	—	neg.	40–70	0,8–1,8
	2	$0,41 \pm 0,06$	$0,10 < P$	neg.	40–70	1,4–2,4
	4	$0,47 \pm 0,10$	$0,10 < P$	neg.	40–70	1,3–2,2
	6	$0,49 \pm 0,11$	$0,05 < P < 0,10$	neg.	40–70	1,0–2,0
3. skupina	0	$0,33 \pm 0,11$	—	neg.	30–50	0,6–2,2
	2	$0,33 \pm 0,10$	$0,10 < P$	neg.	20–50	0,6–2,5
	4	$0,37 \pm 0,14$	$0,10 < P$	neg.	30–50	0,6–2,4
	6	$0,35 \pm 0,10$	$0,10 < P$	neg.	30–50	0,6–2,8
4. skupina	0	$0,25 \pm 0,12$	—	neg.	30–60	0,7–1,1
	2	$0,27 \pm 0,10$	$0,10 < P$	neg.	30–60	0,6–1,0
	4	$0,32 \pm 0,10$	$0,10 < P$	neg.	30–60	0,6–1,1
	6	$0,40 \pm 0,05$	$0,02 < P < 0,05$	neg.	30–60	0,6–1,2

CdR v 3. skup. u dvoch oviec, v 4. skup. taktiež u dvoch oviec je pri každom vyšetrowaní pozitívna (+), Takatova reakcia: v 3. skup. u štyroch oviec, v 4. skup. u jednej ovce hodnoty sú pri každom vyšetrowaní patologické.

u 1. skupiny po podaní CCl_4 , u 2. skupiny po podaní CCl_4 a C_2Cl_6 a starých oviec
u 4. skupiny po podaní CCl_4 a C_2Cl_6

P	β	P	γ	P
— 0,10 < P 0,10 < P 0,10 < P	23,5 ± 1,0 23,3 ± 0,95 24,1 ± 0,94 24,0 ± 1,94	— 0,10 < P 0,10 < P 0,10 < P	28,7 ± 1,96 28,0 ± 1,79 28,2 ± 1,64 27,8 ± 1,46	— 0,10 < P 0,10 < P 0,10 < P
— 0,10 < P 0,10 < P 0,10 < P	23,4 ± 0,70 24,6 ± 0,98 25,1 ± 1,94 25,5 ± 0,71	— 0,05 < P < 0,10 P < 0,05 P < 0,01	28,2 ± 1,12 26,5 ± 1,14 27,0 ± 1,43 26,9 ± 1,88	— P < 0,05 0,10 < P 0,10 < P
— 0,10 < P 0,10 < P 0,10 < P	21,3 ± 2,04 18,1 ± 4,31 22,5 ± 2,54 20,9 ± 1,48	— 0,10 < P 0,10 < P 0,10 < P	32,9 ± 4,35 30,5 ± 6,88 33,8 ± 2,42 34,1 ± 0,89	— 0,10 < P 0,10 < P 0,10 < P
— 0,10 < P 0,10 < P 0,10 < P	21,4 ± 3,13 19,2 ± 3,67 21,0 ± 2,14 24,2 ± 3,63	— 0,10 < P 0,10 < P 0,10 < P	31,0 ± 1,78 27,2 ± 2,25 27,4 ± 2,16 28,7 ± 1,97	— 0,01 < P < 0,02 0,01 < P < 0,02 0,05 < P < 0,10

vala sa v niektorých prípadoch nevýrazná degenerácia — vakuolizácia a periacinózná bunečná infiltrácia. U 2. skupiny mladých oviec histologicky sa našli následné toxické afekcie vo forme výrazných degeneratívnych zmien, vakuolizácie, aktivácie endotelií a v menšej miere bunečných infiltrátov, a to vo všetkých prípadoch, v jednom boli i nekrotické zmeny.

U oboch skupín starých oviec makroskopické afekcie prechádzali od nevýznamných zmien cez hyperplastickú cholangitídu až po difúznú cirhózu, hlavne ľavého laloku. Pri pitve sa nenašli žiadne živé motolice, ani ich zvyšky. Pri histologickom vyšetrení u oboch skupín starých oviec sa nachádzali fasciolózne zmeny, zodpovedajúce morfológickému obrazu. Za histologický nález toxického pôsobenia chlórovaných uhlovodíkov možno počítať len nález ojedinelých bunečných infiltrácií okolo ciev, v periportálnych priestoroch i okolo *v. centralis* u 2 oviec a 3. skupiny. U ostatných starých oviec 3. a 4. skupiny sa nenašli histologické zmeny pečeneových buniek, ktoré by bolo možno pripísať toxickému pôsobeniu chlórovaných uhlovodíkov.

Diskusia

Zvýšenie hladiny glukózy v krvi po 15 min. od i. v. zaťaženia 0,15 g/kg ž. v. 40% roztokom glukózy bolo u oviec pred podaním chlórovaných uhlovodíkov približne dvojnásobné a návrat na východziu hodnotu glukózy v krvi bol po 120 min., čo svedčí o vhodnosti použitej dávky glukózy. Pri použití vyšších dávok návrat na pôvodnú hladinu sa značne predlžuje (Poll a spol., 1956) a dochádza k vylučovaniu cukru močom (Grigorjan, 1957). Priebeh kriviek bol u zvierat v širších individuálnych hraniciach, avšak priemerné hodnoty pri zachovaní rovnakých podmienok pokusu, mohli byť podkladom pre hodnotenie.

Asimilácia glukózy je znížená len u skupiny mladých oviec, ktorým bol súčasne podaný CCl_4 a C_2Cl_6 po 2 dňoch od ich podania. Z toho je zrejmé, že podanie chlórovaných uhlovodíkov kombinovane v použitých dávkach pôsobí na mladý organizmus toxickejšie ako samotné podanie CCl_4 a mení uhlohydrátový metabolizmus, ktorý sa však už po ďalších 2 dňoch upravuje. Ešte po 6 dňoch je táto rozdielnosť zrejماً v patologicko-histologickom obraze. Väčšia citlivosť mladých oviec na podanie chlórovaných uhlovodíkov bola zistená (K a z a k o v a spol., 1955). U starých oviec ani samotné s. c. podanie CCl_4 , ani v kombinácii s C_2Cl_6 neznížilo asimiláciu glukózy. Hoci v skupinách starých oviec bolo niekoľko kusov s výraznými cirhotickými zmenami pečene, nezistilo sa sníženie asimilácie, čo svedčí o tom, že ani chlórované uhlovodíky v použitých dávkach, ani chronické fasciolózne cirhotické zmeny pečene nemenia zreteľne asimiláciu glukózy, čo potvrdil u chronickej fasciolózy i Grigorjan (1957).

Normálna hladina glukózy v krvi sa pohybuje okolo 40 mg% (K r o n f e l d, 1956), v rozmedzí 30–50 mg% (D u k e s, 1955), čo súhlasí s našimi hodnotami pred podaním chlórovaných uhlovodíkov. Po podaní toxických dávok CCl_4 sa hladina cukru v krvi znižuje (L a h a m, 1955). Po perorálnom podaní oboch chlórovaných uhlovodíkov jednotlivo i kombinovane sa hladina cukru v krvi znižuje i u oviec (G ž i c k i j, 1953, S t a š k i e w i c z a spol., 1955), ale C_2Cl_6 na uhlohydrátový metabolizmus pôsobí slabo (G ž i c k i j). V našich pokusoch po s. c. podaní uvedených dávok chlórovaných uhlovodíkov ovciam došlo tiež k poklesu hladiny glukózy (o 1 až 10 mg%), avšak tento pokles nie je štatisticky významný, až na skupinu starých oviec, kde po podaní CCl_4 po 6 dňoch je pokles zreteľný. Podobne i S e r e d a (1941) nezistil po podaní približne terapeutických dávok CCl_4 zreteľný pokles cukru v krvi. Možno usudzovať, že významný pokles hladiny cukru v krvi u oviec nastáva po s. c. podaní len vyššej dávky CCl_4 , kedy sa prejaví ich zreteľnejší toxický účinok.

Bielkovinové spektrum krvného séra sa mení hlavne pri dlhodobej aplikácii CCl_4 na stranu zvýšenia predovšetkým γ globulínov (A g n i s e t t a, C o c c o, 1955, K a p l a n s k i j, K u z o v l e v a, 1957). Pri ľahkej otrave ľudí CCl_4 zistilo sa relatívne zníženie albumínov a zvýšenie globulínov, najmä α globulínov (E l e f a n t e, 1956). U oviec po jednorázovej dávke CCl_4 v bielkovinovom spektre, sledovanom voľnou elektroforézou došlo v prvý deň k miernemu poklesu α_2 globulínov, na 3 deň k miernemu stúpnutiu γ globulínov a k malému poklesu albumínov. V ďalšom časovom priebehu sa tieto malé rozdiely stierali (G a l l, 1955). V našom pokuse sa zaznamenalo zvýšenie β globulínov, pravdepodobne súvisiace s poruchou lipoidného metabolizmu, zníženie γ globulínov a albumínov a to len v skupinách oviec, ktorým bol podaný súčasne CCl_4 a C_2Cl_6 . I keď zmeny sú štatisticky významné, ani v priemeroch, ani v individuálnych hodnotách nie sú výrazné percentuálne rozdiely, takže možno len predpokladať, že *carboneum trichloratum* v súčinnosti s *carboneum tetrachloratum* môže meniť po jednorázovej dávke chlórovaných uhlovodíkov, použitej v pokuse, inakšie bielkovinové spektrum, pretože samotné podanie CCl_4 nezmenilo u oviec bielkovinové spektrum. Z uvedeného tiež vyplýva, že použité dávky chlórovaných uhlovodíkov po jednorázovom podaní nespôsobujú podstatné zmeny v bielkovinovom metabolizme.

Hladina bilirubínu po podaní chlórovaných uhlovodíkov sa výrazne nemenila, čo zodpovedá nálezu S e r e d u (1941). Naproti tomu po podaní toxických i terapeutických dávok CCl_4 iní autori zistili jeho stúpnutie (G r a s s n i c k e l, 1930, Š u l c, 1931, P a n a s j u k, C v e t a j e v a, 1953). Nezhoda údajov môže byť zapríčinená rozdielnosťou aplikácie, pretože pri perorálnom podaní CCl_4 účinkuje toxickejšie.

Hodnoty zákalových reakcií sa počas pokusu nemenili, čo je pochopiteľné k ich pomerne malej citlivosti na zmeny bielkovinového spektra, ktoré sa výrazne nemenili.

Sila patologicko-histologických zmien pečene následkom pôsobenia chlórovaných uhlovodíkov vcelku zodpovedala veľkosti nálezu zmien v biochemických ukazovateľoch.

S ú h r n

Autor v práci sledoval asimiláciu glukózy u mladých a starých oviec po s. c. podaní *carboneum tetrachloratum* v dávke 0,25 ml/kg ž. v., alebo súčasne s podaním *per os carboneum trichloratum* v dávke 0,94 g/kg ž. v. v priebehu 6 dní v dvoj denných intervaloch. Okrem toho sledoval bielkovinové spektrum pomocou papierovej elektroforézy, bilirubín a zákalové reakcie. Po 6 dňoch sa previedlo patologicko-anatomické a histologické vyšetrenie.

1. Asimilácia glukózy sa znížila u mladých oviec pri súčasnom podaní CCl_4 a C_2Cl_6 po 2 dňoch od podania chlórovaných uhlovodíkov. V ostatných skupinách nedošlo k zmenám zníženia asimilácie glukózy.

2. Pred zafažovaním zisťovaný pokles hladiny glukózy v priebehu pokusu nie je štatisticky významný.

3. V bielkovinovom spektre krvného séra a v hladine bilirubínu nedošlo k percentuálne výrazným výchylkám. Hodnoty zákalových reakcií sa počas pokusu nemenili.

4. Patologicko-histologický nález bol úmerný veľkosti zmien v biochemických ukazovateľoch.

5. Zistené výsledky svedčia o tom, že chlórované uhlovodíky, použité hlavne kombinovane, pôsobia toxickejšie na mladý ako na starý organizmus oviec.

L i t e r a t u r a

1. Agnissetta S., Cocco F.: *Folia med* 38, 11, 1279, 1955. — 2. Bunding I. M., Davenport M. E., Schooley M. A.: *J. anim. Sci.* 15, 1, 234, 1956. — 3. Dukes H. H.: *The Physiology of domestic animals*, New York, 1955. — 4. Elefante E.: *Riforma med.*, 70, 17, 478, 1956, ref. *R. ž. Biol.* 20544, 1957. — 5. Forenbacher S.: *Schw. Arch. Thkde*, 94, 3, 153, 1952. — 6. Forenbacher S.: *Vet. archiv*, 27, 7-8, 185, 1957. — 7. Gall Z.: *Veterinaria* (Sarajevo), 4, 2-3, 1, 1955. — 8. Garner R. J.: *J. comp. Path.*, 62, 292, 1952. — 9. Grassnickel W.: *Arch. Thkde*, 62, 76, 1930, cit. podľa 32. — 10. Grigorjan G. A.: *Bjull. nauč. techn. inform. armjan. nauč. issled. instit. životn. i veterin.*, 1, 58, 1957. — 11. Gžickij S. Z.: *Nauka i žitja*, 9, 17, 1953. — 12. Heilmeyer L.: *Biochem. Z.*, 296, 5-6, 383, 1938. — 13. Holt C. von: *Klin. Wchschr.*, 27-28, 661, 1954. — 14. Chyla M.: *Vet. časopis*, 4, 1, 47, 1955. — 15. Kaplanskij S. Ja., Kuzovleva O. B.: *Biochimija*, 22, 1-2, 162, 1957. — 16. Kazakov B. N., Zotov V. A.: *Veterinarija*, 32, 8, 50, 1955. — 17. Kóna E.: *Vet. časopis*, 6, 5, 424, 1957. — 18. Kóna E.: *Sborník ČSAZV-Vet. med.*, 30, 2, 159, 1957. — 19. Kronfeld D. S.: *Nature*, 178, 4545, 1290, 1956. — 20. Lahan S.: *Ann. Univ. Paris*, 25, 4, 618, 1955. — 21. Markiewicz K.: *Medyc. Weter.*, 12, 12, 724, 1956. — 22. Mazurczak J., Tomicki Z.: *Medyc. Weter.*, 12, 11, 669, 1956. — 23. Meyer K. H.: *Organic Synthesis*, I, 60, New York, 1932. — 24. Mitterpák J.: *Sborník SAV, Práce z I. konf. čs. helmintol.* Bratislava, 1957. — 25. Panasjuk D. S., Cvetajeva N. P.: *Trudy Vsesojuz. instit. gelm.*, 5, 124, Moskva 1953. — 26. Poll E., Sasu V., Suteanu E.: *Probleme veter.*, 3, 24, 1956. — 27. Ryss S. M., Vajnštejn S. S.: *Terap. archiv*, 1, 1936, cit. podľa 29. — 28. Savojskij A. G.: *Veterinarija*, 32, 11, 55, 1955. — 29. Savojskij A. G.: *Trudy Moskov. vet. akad. Patol. fyz.*, 15, 56, Moskva 1956. — 30. Sereďa N. I.: *Naukovi pracj Ukrain. instit.*

eksp. veter., 10, 204, Kiiv-Charkiv 1941. — 31. Skovroňska E. V.: Biochim. siřskogosp. tvarin, Kiiv 1953. — 32. Stařkiewicz G., Juszkiewicz T., Romanowska M.: Medyc. Weter., 11, 11, 673, 1955. — 33. Šulc R. S.: Četyřchloristij ugleřod v veterinarnoj praktike, Selchozgiz 1931, cit podřa L. G. Panova: Fasciolez s.-ch.- životnych, Selchozgiz 1951. — 34. Winterhalter M., Rukavina J., Levi J.: Vet. arhiv, 27, 7-8, 219, 1957.

Ассимиляция глюкозы, белковый спектр и осадочные реакции у овец после подачи хлорированных углеводов

В работе автор излагает свои наблюдения за ассимиляцией глюкозы у молодых и старых овец после подачи *carboneum tetrachloratum* подкожно в дозе 0,25 мл/кг живого веса или одновременно с подачей *per os carboneum trichloratum* в дозе 0,94 г/кг живого веса в течение 6 дней с двухдневными интервалами. Кроме того автор наблюдал белковый спектр при помощи бумажного электрофореза, билирубин и осадочные реакции. Через 6 дней был произведен патологическо-анатомическое и гистологическое исследование.

1. Ассимиляция глюкозы снизилась у молодых овец при одновременной дачи CCl_4 и C_2Cl_6 через 2 дня после дачи хлорированных углеводов. В остальных группах не произошли изменения по снижению ассимиляции глюкозы.

2. Перед нагрузкой найденное снижение уровня глюкозы в коде опыта не является статистически достоверным.

3. В белковом спектре кровяной сыворотки и в уровне билирубина не было значительных процентных отклонений. Величина осадочных реакции во время опыта оставалась неизменной.

4. Патологическо-гистологические изменения были пропорциональны величине изменений биохимических показателей.

5. Полученные результаты свидетельствуют о том, что хлорированные углеводороды, главным образом, использованные комбинированно, действуют более токсически на молодой организм овец, чем на старый.

Die Glukoseassimilation, das Eiweißspektrum und die Trübungsreaktionen bei Schafen nach Verabreichung von chlorierten Kohlenwasserstoffen

Der Verfasser verfolgte in der Arbeit die Glukoseassimilation bei jungen und alten Schafen nach s. c. Verabreichung von Carboneum tetrachloratum in der Dosis von 0,25 ml per Kg, oder gleichzeitig mit der *per os*-Verabreichung von Carboneum trichloratum in der Dosis von 0,94 g per Kg im Verlauf von 6 Tagen in zweitägigen Zeitabständen. Außerdem untersuchte er das Eiweißspektrum mittels Papierelektrophorese, das Bilirubin und die Trübungsreaktionen. Nach 6 Tagen wurden pathologisch-anatomische und histologische Untersuchungen durchgeführt.

1. Die Assimilation von Glukose bei jungen Schafen wurde bei gleichzeitiger Verabreichung von CCl_4 und C_2Cl_6 binnen 2 Tagen seit Verabreichung von chlorierten Kohlenwasserstoffen herabgesetzt. In anderen Gruppen traten keine Veränderungen in dem Herabsinken der Glukoseassimilation.

2. Das vor der Belastung festgestellte Herabsinken des Glukosespiegels im Verlaufe des Experimentes ist statistisch nicht signifikant.

3. In dem Eiweißstoffspektrum des Blutserums und in dem Bilirubinspiegel gab es keine prozentig markante Abweichungen. Die Trübungsreaktionen änderten sich während des Versuches nicht.

4. Der histopathologische Befund war der Größe der Veränderungen in den biochemischen Kennziffern proportionell.

5. Festgestellte Ergebnisse zeugen dafür, daß chlorierte Kohlenwasserstoffe auf den Jungen Organismus der Schafe mehr toxisch wirken als auf den alten.

Chlorpromazin a změny krevního obrazu III. sdělení

Vliv chlorpromazinu na amoeboidní aktivitu leukocytů

Хлорпромазин и изменения картины крови. III сообщение
Влияние хлорпромазина на амёбoidную деятельность лейкоцитов

Chlorpromazin und Änderungen des Blutbildes. III. Mitteilung
Der Einfluß des Chlorpromazins auf die amöboide Aktivität den Leucocyten

Chlorpromazin and Changes in Blood Picture
Report III. Effect of Chlorpromazin on Amoeboid Activity of the Leucocytes

J. POSPÍŠIL, J. KOMÁREK, B. POSPÍŠILOVÁ, technická spolupráce:
Z. CHALOUPKOVÁ

Výzkumné veterinární středisko Praha

Došlo dne 10. VII. 1958

Úvod

Chceme-li hodnotit obranné pochody v organismu, nesmíme vedle humorálních látek (baktericidinů, opsoninů, bakteriotropinů) pomíjet vyšetření buněčných elementů přispívajících k obraně organismu — leukocytů. V klinické praxi se provádí běžně zjištění celkového počtu leukocytů, právě tak jako diferenciální rozpočet spojený s morfológickou charakteristikou jednotlivých buněčných elementů bílé krevní složky.

I když jsou tato zjištění nesmírně důležitá pro stanovení stadia a do určité míry i prognózy určitých onemocnění, přes to nám málo říkají, jak uvádí P o l á k (29) o dynamických vztazích mezi leukocyty, patogenním agens a imunitním stavem organismu.

Od doby, kdy M e č n i k o v (49) objevil fagocytózu a dokázal řadou neotřesných faktů, že bílé krvinky se aktivně účastní obrany organismu proti infekci, je tato uznávána za nejpodstatnější úlohu bílýchrvinek v organismu [P e l n á ř (46), L a w k o w i t z (47), T u l l i s (43), V a c e k (44)]. Řada autorů se zabývala problémem fagocytózy a doplnila původní Mečnikovo učení novými poznatky. M e r c h a n t (25) charakterizuje funkční stav leukocytů jejich fagocytární aktivitou, amoeboidní pohyblivostí, diapedézou, Brownovým molekulárním pohybem, adhesivitou, některými morfológickými znaky a prokázal, že za různých experimentálních podmínek mění se všechny tyto funkční projevy paralelně. Také S i e s s (37) dokázal, že snižuje-li se motilita leukocytů, snižuje se jejich fagocytární schopnost. S m i t h o v á a spolupracovníci (38) sledovala fagocytózu *in vivo* důmyslně uspořádaným pokusem zakládajícím se na pozorování leukocytů

ve skleněných komůrkách umístěných v uchu králíka. Z výsledků těchto pokusů vyplývá, že je nutno revidovat představu, že leukocyty fagocytyují bakterie, které volně plavou v krvi. K fagocytóze došlo, jakmile byla bakterie přitlačena ke stěně tak, že jak leukocyt, tak bakterie adherovaly k témuž podkladu. Polymorfonuklear, jakožto buňka krevní vyznačující se mohutnou schopností fagocytární, vykonává svou funkci převážně ve tkáních, zde se pomocí amoeboidní aktivity pohybuje a zde fagocytyje. Ballowitzová (4) uvádí, že nemůžeme pohlížet na fagocytární schopnost leukocytů jen jako na velmi jemnou známku nepoškozené buněčné aktivity leukocytů. Mechanicky poškozené buňky jsou schopny fagocytózy. I potom, když byly leukocyty otráveny kyanovodíkem, tak dalece, že jejich dýchání ustalo, mohly ještě fagocytyvat. Polák (31) udává, že motilitu leukocytů lze považovat za kritérium jejich funkčních schopností, i když je pochopitelné, že nelze klást naprosté rovnítko mezi motilitou a fagocytózou.

Rezistence organismu závisí tedy nejenom na fagocytární schopnosti leukocytů, ale i na jejich amoeboidní aktivitě.

K určování pohyblivosti leukocytů *in vitro* byla vypracována řada metod (16), (4), (34), (25), (24), (23), (27), (20), (11), (8), (37), kterých bylo použito: k určení základních vlastností leukocytů během pohybu (11), (12), (4), (26), (28), (37) a k sledování pohyblivosti leukocytů během vývoje dítěte (4), (27), (29), k určení vlivu různých mikroorganismů patogeních i nepatogeních (2), (23), (41), (42), (10), (5) a vlivu různých chemických látek (1), (8), (16), (3), (37). V dalších pracích sledovali jednotliví pracovníci vliv teploty (31), transfuzí dospělé plazmy dětem (29), nespecifické zátěže (13), ACTH (50), antibiotik (6), (37), vysokomolekulárních bílkovin (35), gama globulinů (30), polysacharidů (7), vitamínu C (25), celotělového ozáření pronikavým zářením (36), (15), (33), různých nemocí (20), (16), (24). Řada prací se zabývala problémem faktoru obsaženého v plazmě, který ovlivňuje migraci leukocytů (24), (29), (1), (45). Zde nutno uvést zjištění Poláka, Polákové, Škvařila (29), kteří prokázali u lidí existenci faktoru stimulujícího amoeboidní aktivitu leukocytů v plazmě. Tento faktor nazvali „Leukokinin“ a určili některé jeho vlastnosti: thermostabilitu při 56° C po době 30 minut, jeho inaktivaci při skladování za teploty 0° až 4° C mezi 17 až 27 dnem, počítáno od data sesátí plazmy od erythrocytů, přítomnost v těchto Cohnových frakcích a subfrakcích ACDRA plazmy: II—III, II—III W, III—1, 2, 3, III—3. Faktor je též přítomen v normálním lidském séru a lze jej absorbovat na BaSO₄. Na základě srovnání zjištěných vlastností Leukokininu a literárních údajů o ostatních aktivních faktorech plazmy (komplementu, properdinu, plasminu, plasminogenu, stimulačního faktoru objeveného Ketchelem, faktoru Surgenorova, faktoru Menkinové) bylo zjištěno, že jde o nový dosud neznámý faktor plazmy. Škvařil ve svých pracích (39, 40) vedených biochemickým směrem, provedl některá upřesnění tohoto problému.

Ovlivnění migrace leukocytů různými chemickými látkami bylo povětšinou sledováno tak, že zkoumané agens bylo k leukocytům přidáno v různé koncentraci *in vitro*. Tak byl Allgöwerem (3) zjištěn inhibiční vliv natriumcitrátu a stimulující vliv vápníku. Problém působení vápníkových iontů též sledoval Deleunay (8), Kiaer (16) sledoval chemotaxi při přidání kyseliny viné v různých koncentracích, pilokarpinu, aleuronátové vody, peruanského balzámu, terpenů. Siess (37) zjistil, že optimální pH pro funkci leukocytů je mezi 6,7 až 7,0. Dále tento autor zjistil, že nedostatek kyslíku má po určité době za následek pokles pohyblivosti leukocytů. Při sledování farmakologického účinku narkotik zjistil, že urethan, methyl a ethylalkohol mají brzdivý účinek na migraci leukocytů.

Ke sledování vlivu chlorpromazinu na pohyblivost leukocytů nás vedle ta skutečnost, že tento lék nachází stále větší uplatnění ve veterinární medicíně. Naše práce má být příspěvek, který by napovídal, jakým způsobem působí tento lék na jednu z obranných funkcí organismu.

Metodika

Amoeboidní aktivita leukocytů byla zjišťována u šesti psů skupiny pokusné a u šesti psů skupiny kontrolní. Psi byli vybráni k pokusu za stejných kritérií a chováni za stejných podmínek, jak je uvedeno ve sdělení I. a II. (17, 32). Doba a způsob odběrů krve, právě tak jako dávka a aplikace chlorpromazinu je také uvedena ve sdělení I. a II.

Ke zjištění amoeboidní aktivity leukocytů byla použita metoda, kterou podle Martina (23) modifikovala Poláková (27). Protože nejde o metodiku ve veterinární medicíně běžnou, považujeme za vhodné uvést její popis.

K určování migrační schopnosti leukocytů bylo použito speciálních komůrek zhotovených z podložních sklíček a filtračního papíru nasyceného směsí parafinu a včelího vosku (obraz 1). Protože při použití normálních podložních sklíček dochází k ulpívání leukocytů na stěnách komůrky [Polák (29)], bylo k zhotovení komůrky použito sklíček impregnovaných silikonovým olejem, čímž se na sklíčku vytvořil tak zv. nesmáčivý povrch, který se od smáčivého povrchu neimpregnovaného skla liší vlastnostmi fyzikálními a vlivy fyziologickými. K impregnaci bylo použito 5% roztoku silikonového oleje MSO 216 v benzenu. Pečlivě očištěná podložní sklíčka byla ponořena do impregnačního roztoku. Po odkapání přebytečného roztoku byla sklíčka vložena do elektrického horkovzdušného sterilizačního bubnu a zahřata na 200°C po dobu 8 hodin. Po tomto zpracování nelze vzniklý film na sklíčku smýt smáčecími prostředky ani organickými rozpustidly. Submikroskopická vrstva silikonového polymeru neovlivňuje nikterak běžné vlastnosti skla, vzhledově nelze impregnované sklo od obyčejného rozeznat.

K pokusům se používalo 1 ml venózní krve odebírané z hrudní končetiny z *vena cephalica antebrachii* do naprosto čisté a suché stříkačky, při použití čisté a suché injekční jehly. Při odběru nutno dbát, aby naplnění injekční stříkačky, která byla předem vychlazená vložením do ledové drtě, bylo provedeno proudící krví rychle, bez zbytečného násilného nasávání. Krev z injekční stříkačky je nutno ihned šetrně vystříknout do předem připravené zkumavky, která je vložena do nádoby s ledem. Do zkumavky byl předem napipetován roztok Heparinu ve fyziologickém roztoku v celkovém množství 0,02 ml. Pro naše práce s krví psů se nejlépe osvědčil roztok takové koncentrace, kdy 0,02 ml obsahovalo 5 gamma Novoheparinu. Tato koncentrace heparinu dostačovala k tomu, aby nedošlo při šetrném zacházení ke koagulaci krve dříve, než byla celá manipulace dokončena a komůrky vloženy do thermostatů.

Po vpravení krve do připravené zchlazené zkumavky s roztokem heparinu se krev opatrnými krouživými pohyby promísí s heparinem a ponechá asi 5 minut v klidu. Po tomto se přistoupí k plnění komůrek. Komůrky před plněním nutno vychladit položením na misku s ledem. Vlastní plnění se provádí pipetkou (pasteurkou) předem vychlazenou tak, že se opatrně kápne kapka krve před ústí otvoru vzniklého u výřezu ve filtračním papíru komůrky. Celá komůrka je uložena na zvlášť upraveném raménku ruční odstředivky tak, že při mírném otáčení je krev odstředivou silou vpravena do komůrky. Komůrku nutno naplnit 2–3 mm

pod okraj. Po naplnění byla komůrka zatavena směsí vosků. Během naplňování se komůrka ohřála na pokojovou teplotu, což je vhodné při zatavování. Zatavená komůrka byla vložena do speciálního plechového košíčku a s tímto uložena do centrifugační nádoby vyplněné ledem. Aby při odstředování nedocházelo vlivem proudění vzduchu k předčasnému rozehrání ledové drtě, je nutno centrifugační nádobku uzavřít korkovou zátkou.

Komůrka naplněná krví uložená v centrifugační nádobce s ledem byla odstřeďována 10 minut při 2200 obrátkách za minutu.

Po centrifugaci byly komůrky prohlédnuty pod mikroskopem (obj. 20, okulár 10) a ty, kde byly nalezeny bílé krvinky v pásmu plazmy byly z dalšího sledování vyloučeny. Po té byly komůrky zastaveny do plechového stojánu pod úhlem 20° od kolmice a uloženy do termostatu vyhřátého na teplotu 37°C . Odečítání vzdálenosti, kterou leukocyty urazily bylo prováděno za 4 hodiny a 24 hodin po vložení do termostatu. Tato doba byla zvolena vzhledem k výsledkům, kterých dosáhl Polák (29) při sledování charakteru křivky znázorňující průběh pohybu lidských leukocytů. Aby nedocházelo k narušení případně k zastavení pohybu leukocytů během pozorování pod mikroskopem vlivem změny teploty a ochlazení komůrek, bylo pozorování prováděno ve zvláštní komoře vytopené na 37°C , opatřené stolem pod mikroskop, mikroskopem s fotokomorou, termostatem s ulo-

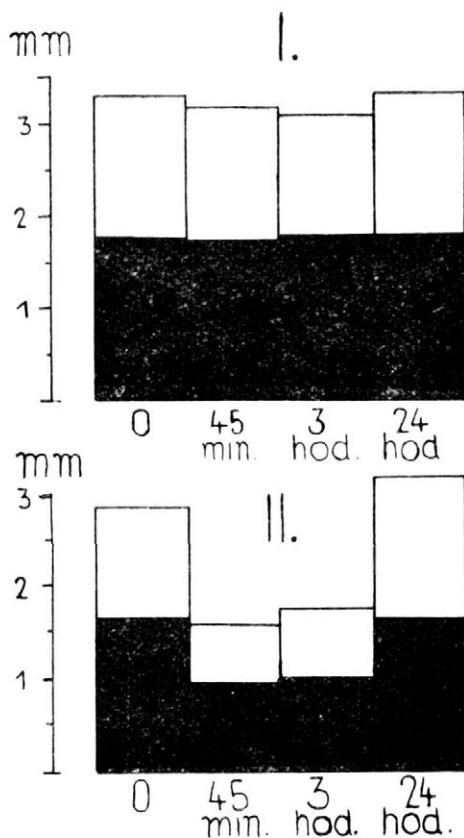
ženými komůrkami, tepelným elektrickým zdrojem a samočinným regulátorem teploty. Komora byla uspořádána tak, aby v ní mohl jeden pracovník za uvedených teplotních podmínek provádět pozorování. Odečítání bylo prováděno pod mikroskopem za pomoci okulárového měřítka se známou konstantou. Velikost migrace byla vyjádřena v μ . Aby chyba v měření byla zmenšena, byly u jedné komůrky měřeny tři hodnoty, z kterých byl vzat průměr. Pro každé sledování byly naplněny vždy nejméně tři komůrky. Došlo-li během manipulace k vyřazení více než jedné komůrky byl proces opakován.

Statistické hodnocení dosažených výsledků bylo provedeno pořadovým V testem [Malý (48)].

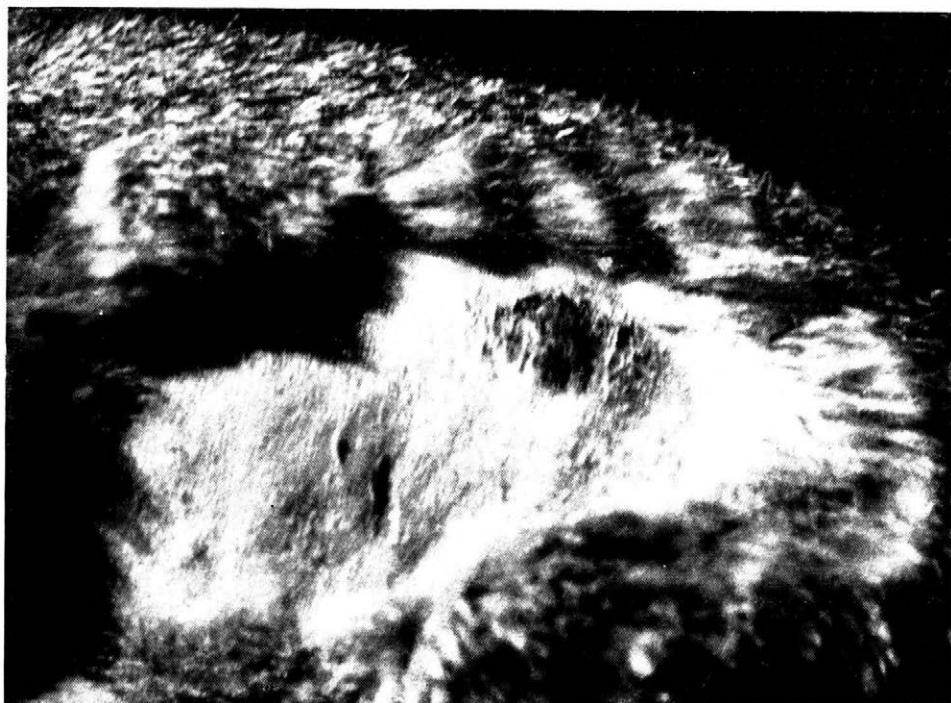
Vlastní pozorování

Dosažené výsledky jsou znázorněny na grafu 1 a mikrofotografii 1 a 2 a uvedeny v tabulce I a II.

Z grafu je patrné, že u skupiny kontrolní (I), která byla složena ze stejného počtu jedinců jako skupina pokusná (II), nedošlo k podstatným změnám amoeboidní aktivity během sledování.

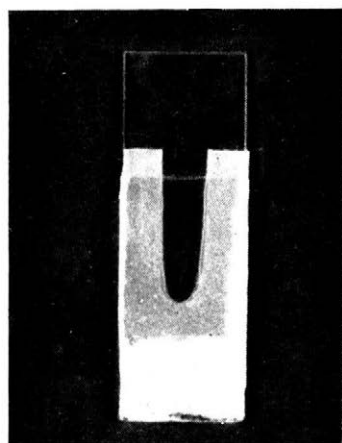


Graf 1. Černá plocha: Migrace za 4 hodiny — Bílá plocha: Migrace za 24 hodin



Pozitivní reakce s éterovým výtažkem kultury kmene *Stachybotrys alternans* Bonorden na depilované kůži králíka

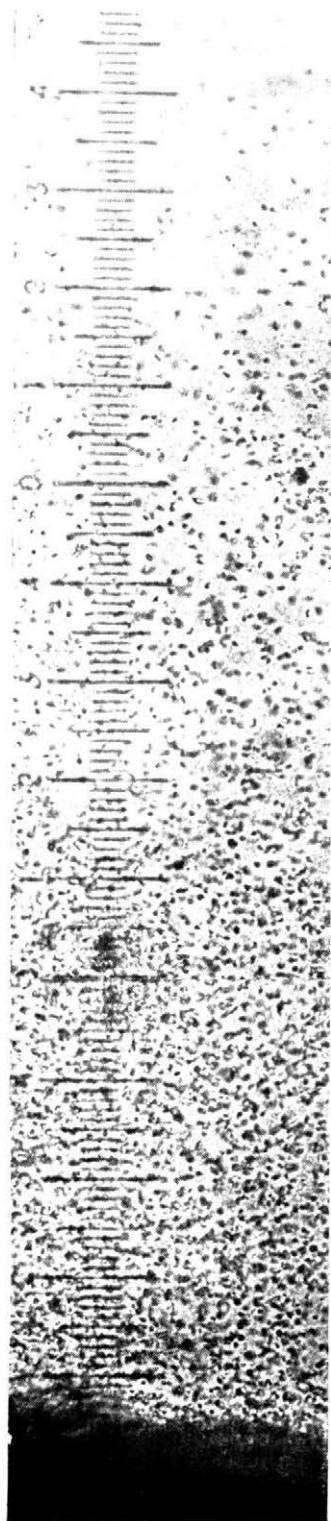
K článku: Chlorpromasin a změny krevního obrazu III



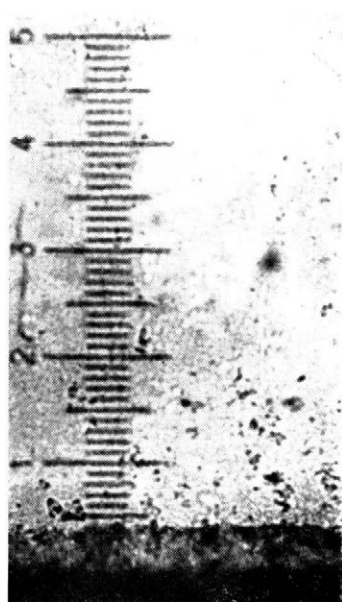
Obr. 1. Jednotlivé součásti, z kterých se zhotovuje komůrka

Zhotovená komůrka před plněním krví

a) silikované podložní sklíčko, b) upravený filtrační papír s výstřihem, c) silikované podložní sklíčko rozpůlené



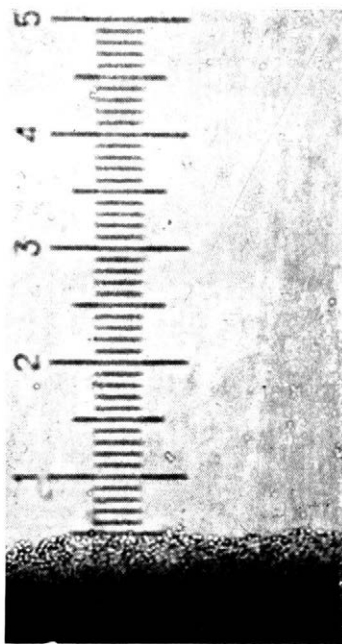
2a



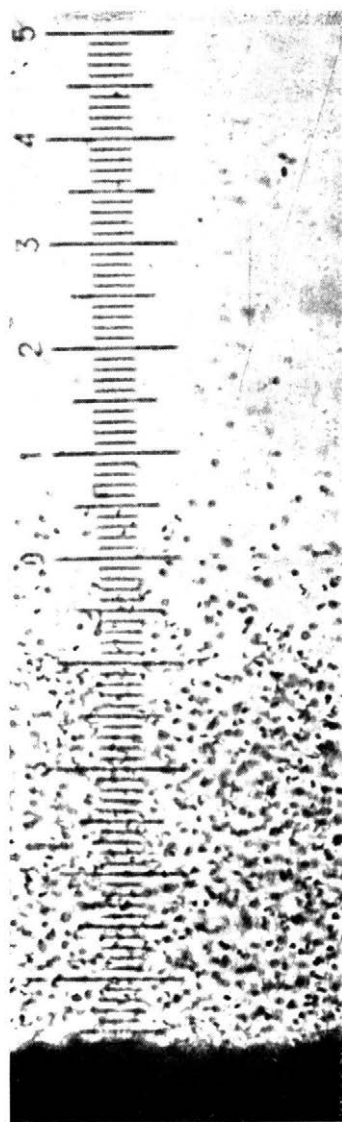
2b

Obr. 2. Mikrofotografie migrace leukocytů u psa ze skupiny kontrolní (objektiv 20, okulár 12)

A — komůrka po odstředění před uložením do termostatu
B — komůrka po čtyřhodinové inkubaci v termostatu



3a



3b

Obr. 3. Mikrofotografie migrace leukocytů u psa 45 minut po aplikaci Largactilu (3 mg na 1 kg i. m.)

A — komůrka po odstředění před uložením do termostatu
B — komůrka po čtyřhodinové inkubaci v termostatu

I. Kontrolní skupina

Odběr	0		45 min.		3 hod.		24 hod.	
	4 hod.	24 hod.	4 hod.	24 hod.	4 hod.	24 hod.	4 hod.	24 hod.
inkubace v termostatu								
Pes č. 1	19803	40083	22540	40572	22330	39445	19481	41216
Pes č. 2	17710	36225	17388	36869	17066	36708	18032	37030
Pes č. 3	20125	37513	19320	33649	20286	33488	19964	37996
Pes č. 4	20930	34454	19320	33810	20930	33327	21574	34937
Pes č. 5	14812	26404	14490	24633	14973	24955	14329	25599
Pes č. 6	15456	24394	14973	25116	15295	24150	15778	32039
Průměr	18139	33179	18005	32441	18473	32017	18193	34802

II. Pokusná skupina

Odběr po aplikaci Largactilu	0		45 min.		3 hod.		24 hod.	
	4 hod.	24 hod.	4 hod.	24 hod.	4 hod.	24 hod.	4 hod.	24 hod.
Inkubace v termostatu								
Pes č. I	15617	28336	7567	12880	8694	11592	15456	27048
Pes č. II	12880	24156	8050	14651	6762	16905	15617	26082
Pes č. III	16422	30107	9982	15778	8372	15617	15456	31234
Pes č. IV	15617	27537	8694	12397	8533	15456	15295	28014
Pes č. V	15939	28658	9660	18998	12800	27692	17388	40894
Pes č. VI	19803	33810	12719	19320	12719	19964	20930	43792
Průměr	16044	28766	9445	15670	9646	17871	17357	32344

U skupiny psů, kterým byl aplikován chlorpromazin (*i. m.* 3 mg na 1 kg váhy pokusného zvířete) je zřejmý pokles migrace leukocytů u krve odebrané za 45 minut a za 3 hodiny po aplikaci chlorpromazinu. Tento pokles je v hodnotách odečítaných jak za 4 hodiny, tak za 24 hodin po uložení komůrek do termostatu. Tento pokles je při porovnání k hodnotě dosažené v časově souhlasných odběrech u skupiny kontrolní (I) i k výchozí hodnotě skupiny pokusné (II) statisticky výsoce významný. U krve odebrané pokusným psům za 24 hodin po aplikaci chlorpromazinu nebyl zaznamenán pokles proti výchozí hodnotě a zjištěné hodnoty se neliší od hodnot dosažených u časově souhlasného odběru skupiny kontrolní.

Mimo dočasné zástavy migrace leukocytů zjištěné u pokusných psů po aplikaci chlorpromazinu, bylo nápadné vyjasnění pásma plazmy u těchto komůrek bezprostředně po odstředění.

Diskuse

Ludány, Vajda, Döcklen a Li Bok Nam (21) sledovali fagocytární odpověď u králíků a psů po intravenózním podání Largactilu (5 mg na 1 kg živé váhy pokusného zvířete) a zjistili u bílých krvinek snížení fagocytární schopnosti. Snížení fagocytární schopnosti bylo jen dočasné a návrat k normálním

hodnotám byl zaznamenán v některých případech za dvě hodiny u jiných později, počítáno od doby aplikace Largactilu. Naše výsledky, i když bylo použito dávky Largactilu na 1 kg živé váhy pokusného zvířete o něco nižší (o 2 mg) jsou obdobné jako výsledky těchto autorů. Určité diskrepance u našich výsledků a výsledků dosažených Ludánym a spolupracovníky je patrná pouze v tom, že u našich pokusů byl pozorován pokles migrační schopnosti i po 3 hodinách po aplikaci Largactilu. Tento rozdíl by snad bylo možno odůvodnit způsobem aplikace Largactilu a tím rychlostí detoxikace, která pravděpodobně probíhá rychleji po intravenózní aplikaci než intramuskulární.

Změny fagocytární aktivity po aplikaci chlorpromazinu odůvodňují Ludány a spolupracovníci sympatikolytickým účinkem tohoto léku.

Tyto výsledky jsou podpořeny některými klinickými pozorováními, kdy Delay, Denis a Harl (9), Labhardt (18) a Giems, Böszrményi, Orthmayr (21) pozorovali po podání chlorpromazinu sníženou rezistenci organismu proti infekci. Tímto problémem se také zabýval Laborit (19), který doporučuje při léčbě chlorpromazinem a opodstatněných případech kombinaci s antibiotiky.

Ludány se spolupracovníky uvádí, že chlorpromazin nesnižuje rezistenci organismu proti infekci jen tím, že vyvolává leukopenii (v našich pokusech statisticky významná leukopenie nebyla prokázána — Komárek, Pospíšil, Janeček, 17) a snížením fagocytózy a tím oslabení mobilní celulární obranyschopnost, ale i snížením tvorby některých humorálních faktorů, které přispívají k obraně organismu.

Souhrn

Byla sledována amoeboidní aktivita leukocytů u 6 psů po intramuskulární aplikaci Largactilu (3 mg na 1 kg). U těchto pokusných psů bylo zjištěno snížení amoeboidní aktivity leukocytů za 45 minut a za 3 hodiny po aplikaci chlorpromazinu. Za 24 hodin po aplikaci chlorpromazinu byla u těchto psů zjištěna normální amoeboidní aktivita leukocytů. Dosažené výsledky byly statisticky vyhodnoceny a zkonfrontovány se stejně početnou skupinou kontrolní.

Naše výsledky potvrzují literární údaje, které na podkladě různých pozorování zjistily při léčbě chlorpromazinem sníženou odolnost organismu proti infekci.

Literatura

1. Allgöwer M.: *Experientia* 5, 405 (1949). — 2. Allgöwer M., Bloch H.: *Am. Rew. Tuberc.* 59, 562 (1949). — 3. Allgöwer M., Süllmann H.: *Experientia* 6, 107 (1950). — 4. Ballowitz L., Schäfer H.: *Zeitschrift für Kinderheilkunde* 76, 561-563 (1955). — 5. Ballowitz L., Schäfer H.: *Zeitschrift für Kinderheilkunde* 76, 564-573 (1955). — 6. Ballowitz L., Schäfer H.: *Zeitschrift für Kinderheilkunde* 76, 574-585 (1955). — 7. Butter U., Thomas G.: *Münch. Med. Wochenschrift* 98, 37, str. 1240-1242 (1956). — 8. Delaunay A.: *Annales de l'Institut Pasteur*, 70, str. 372-375 (1944). — 9. Delay J., Denise P., Harl J.: *Ann. Méd. psychol* 110, 112 (1952). — 10. Elberg S., Schneider P.: *Jor. Infect. Dis.* 93, 36 (1953). — 11. Fukushima K.: *Med. Jour. Osaka Univ.* 5, 2-3 (1954). — 12. Fukushima K.: *Med. Jour. Osaka Univ.* 5, 1 (1954). — 13. Charvát J., Polák H.,

Němec J.: Čas. lék. českých 96, 51 (1957). — 14. Ketchel M., Favour C.: Science 118, str. 79-80 (1953). — 15. Kikuchi T., Wakisaka O.: Acta Scholae Med. Univ. Kioto 30, 1-2 (1952). — 16. Kiaer S.: Archiv für experimentelle Zellforschung I, str. 289-354 (1924). — 17. Komárek J., Pospíšil J., Janeček J.: Sborník ČSAZV Veterinární medicína č. 4, r. 1959. — 18. Labhardt F.: Schweiz. Archiv Neurol. Psychiat. 73, 338 (1954). — 19. Laborit H.: Deutsche med. J., 4, 381 (1953). — 20. Lapin J., Horonick A.: Blood. — 21. Ludány G., Vajda G., Dökle A., Li Bok Nam: Schweiz. Med. Wochenschrift 86, 37 (1956). — 22. Martin P., Chaudhuri N.: Proc. Soc. Exp. Biol. Med. 81, 286 (1952). — 23. Martin P., Pierce C., Middlebrook G., Dubos R.: Jour. Exp. Med. 91, 381 (1950). — 24. Ketchel M., Favour C.: Jour. Exp. Med. 101, 647 (1955). — 25. Merchant D. J. J.: Inf. Dis. 87, 275 (1950). — 26. Němec J., Polák H., Neuwirth J., Zita Z., Blažková P.: Čs. Fysiologie 3, 10, 900-902 (1957). — 27. Poláková K.: Čs. Pediatie 2 (1955) — 28. Polák H., Poláková K., Malý V.: Čs. pediatie XI, č. 5 (1956). — 29. Polák H., Poláková K., Škvařil F.: „Leukokinin“. Stát. zdrav. nakladatelství Praha (1956). — 30. Polák H., Němec J., Neuwirth J., Blažková P., Zita Z.: Čs. Epid. Mikrobiol. Imunol. 6, 3 (1957). — 31. Polák H., Neuwirth J., Němec J., Zita Z., Blažková P.: Časopis lék. českých XCVI, 19 (1957). — 32. Pospíšil J., Komárek J.: Sborník ČSAZV Vet. medicína č. 4, roč. 1959. — 33. Pospíšil J., Komárek J.: Voj. zdrav. listy 1958, č. 9. Příloha 4. — 34. Seitz W.: Folia Haematologica 72, str. 273-290 (1954). — 35. Schar B., Kahnt H.: Helv. Physiol. Acta 15, 116-124 (1957). — 36. Shechmeister I., Fishman M.: The Jour. of Exp. Medicine 101, 259 (1955). — 37. Siess M.: Zeitschrift für die gesamte exp. Medizin 120, 139-158 (1953). — 38. Smith M., Perry W., Berry W., Wood B.: J. Immunol. 67, 71 (1951). — 39. Škvařil F., Poláková K., Polák H.: Chemické listy 51, 81, 1284-1288 (1957). — 40. Škvařil F., Poláková K., Polák H.: Čs. pediatie 12, 4 (1957). — 41. Šterzl J.: Čs. biologie I, č. 5 (1952). — 42. Šterzl J.: „Obranné pochody v organismu“. Nakl. Československé Akademie Věd, Praha 1954. — 43. Tullis J. L.: „Blood Cells and Plasma Proteins“. New York 1953. — 44. Vacek: Srovnávací fysiologie domácích zvířat. Brno 1937. — 45. Wood H.: Proc. soc. Exp. Biol. Med. 79, 843 (1952). — 46. Pelnář J.: Věstník Českosl. akad. IX, 1901. — 47. Lawkowiec W., Lawkowiecova I.: „Hematologický atlas“. Státní zdrav. nakl. Praha (1953). — 48. Malý Z.: Sborník lékařský 59, 155 (1957). — 49. Mečnikov I. I.: „Otázky imunity“. Nakl. ČSAV, Praha 1955. — 50. Polák H., Němec J.: Čas. lék. českých 96, 40/41 (1957).

Хлорпромазин и изменения картины крови. III сообщение **Влияние хлорпромазина на амебоидную деятельность лейкоцитов**

Амебоидная деятельность лейкоцитов исследовалась у 6 собак после внутримышечного введения им Ларгактиля (3 мг на 1 кг живого веса). У этих подопытных собак было установлено снижение амебоидной деятельности лейкоцитов через 45 минут и через 3 часа после введения хлорпромазина. Через 24 часа после введения хлорпромазина у этих собак была установлена нормальная амебоидная деятельность лейкоцитов. Полученные результаты подвергались статистической оценке и сопоставлялись с результатами, достигнутыми у контрольной группы, состоявшей из одинакового числа собак.

Полученные нами результаты подтверждают данные литературы, которые на основании различных наблюдений свидетельствуют о сниженной сопротивляемости организма против инфекции при лечении хлорпромазином.

Chlorpromazin und Änderungen des Blutbildes. III. Mitteilung

Der Einfluß des Chlorpromazins auf die amoeboide Aktivität den Leukozyten

Man verfolgte die amoeboide Leukozytenaktivität bei 6 Hunden nach intramuskulärer Applikation von Largactil (3 mg pro 1 kg). Bei diesen Versuchstieren wurde eine Senkung der amoeboiden Leukozytenaktivität nach 45 Minuten und nach 3 Stunden nach Applikation von Chlorpromazin festgestellt. Nach 24 Stunden nach Applikation von Chlorpromazin konnte bei diesen Hunden eine normale amoeboide Leukozytenaktivität sichergestellt werden. Die erzielten Ergebnisse wurden statistisch ausgewertet und mit einer gleichen Anzahl von Kontrolltieren konfrontiert.

Unsere Ergebnisse bestätigen die Literaturangaben über die laut verschiedener Beobachtungen festgestellte geschwächte Widerstandsfähigkeit des Organismus gegen Infektion bei Chlorpromazin-Therapie.

Chlorpromazin and Changes in Blood Picture

Report III. Effect of Chlorpromazin on Amoeboid Activity of the Leucocytes

The amoeboid activity of leucocytes was observed in six dogs after intramuscular application of Largactil (3 mg per kilogram). There was found to be a decrease in amoeboid activity of the leucocytes in the experimental dogs 45 minutes and three hours after the application of chlorpromazin. Normal amoeboid activity of the leucocytes was found in the dogs 24 hours after application of chlorpromazin. The results obtained were evaluated statistically and compared with a control group which consisted of the same number of dogs.

Our results confirm the data given in literature on the subject which, on the basis of various observations, discovered a lowered resistance of the organism to infection when treatment was made with chlorpromazin.

Změny periferního krevního obrazu psů ozářených celotělově rtg paprsky

Изменения периферической кровяной картины собак, облученных по всему телу рентгеновыми лучами

Die Veränderungen des peripheralen Blutbildes bei den mit Roentgenstrahlen ganzkörperbestrahlten Hunden

The Changes in the Peripheral Blood Picture of Dogs after the Total X-Ray-Irradiation

J. POSPÍŠIL, J. KOMÁREK, J. PINKAS
Technická spolupráce Z. CHALOUPOVÁ
Veterinární výzkumné středisko Praha

Došlo dne 10. VII. 1958

Úvod

Při akutní nemoci z ozáření jsou změny v periferní krvi považovány většinou autorů za jednoho z nejprůkaznějších a prozatím nejlepších ukazovatelů stupně ozáření a za vodítko ke stanovení prognózy.

Změny v periferním krevním obraze vzniklé po ozáření organismu pronikavým zářením nejsou způsobeny přímým účinkem záření na cirkulující krevní buňky, ale výsledkem složitého procesu, který nastane po ozáření v organismu. Výjimku snad tvoří lymfocyty, u kterých byly pozorovány Schreackem (20) bezprostředně po ozáření degenerativní změny.

Změny v periferní krvi jsou především odrazem poškození hematopoetické tkáně, při kterém též nutno uvážit účinek záření na nervový systém, který dokazuje Lebedinskij (13) na podkladě prací několika autorů, kteří jemnými histologickými a histochemickými metodami zjišťují změny na nervové tkáni. Účinek pronikavého záření na nervový systém ve spojitosti s krvetvorbou nutno uvážit při přihlédnutí k experimentálním pracím zabývajících se problematikou neuroregulace krvetvorby [Komísa (11)]. Jeden z dalších faktorů, o kterém nutno uvažovat, je přímý účinek záření na žlázy s vnitřní sekrecí, jejichž působení na poměry v periferní krvi jsou obecně uznávány.

Přímý účinek na hematopoetický systém je závislý na citlivosti jednotlivých mateřských buněk. Za nejcitlivější jsou považovány mateřské buňky lymfocytů. Podle zjištění Blooma (1), které bylo provedeno na myších, krysách, králících a kuřatech ozářených dávkou LD 50/30 a dávkou mnohem menší, jsou z buněk kostní dřeně nejcitlivější erythroblasty. Jejich citlivost možno přirovnat k citlivosti lymfocytů. Tyto závěry byly provedeny na podkladě histologického vyšetření

kostní dřeně. Ostatní kmenové buňky krve nacházející se v kostní dřeni, jsou méně citlivé na záření. Retikuloendoteliální buňka, která je společnou základní buňkou všech krevních buněk je podle většiny autorů poměrně radioresistentní. Změny v periferní krvi jsou dále závislé na době přežívání jednotlivých buněk druhů a na rychlosti a schopnosti regenerace. Nejdelší dobu přežívání mají červené krvinky, u kterých uvádí Tullis (17) 120 dnů. Bílé krvinky mají kratší dobu života, lymfocyty 10–12 hodin, neutrofilní granulocyty 5–8 dnů. Při porovnání citlivosti mateřských buněk a doby života u červených krvinek a lymfocytů, je snáze vysvětlitelná rozdílnost číselných změn těchto buněk v periferní krvi.

Naše práce směřovala k ověření dostupných literárních údajů vlastními poznatky o dynamice změn v periferní krvi psů po celotělovém ozáření *rtg* paprsky.

Pracovní postup a metodika

K práci bylo použito 18 psů a fen, kříženců různých ras, váhy 4–8 kg, ve stáří od 1 roku do 8 let. Před započítím vlastní pokusné práce prošel každý pes karanténou trvající 21 dní. V této době bylo mimo sledování klinického stavu provedeno sérologické vyšetření na leptospirózu, tři po sobě jdoucí vyšetření trusu na salmonellózu, každý pes byl zbaven ekto- i endo-parazitů. Po uplynutí karantény doby bylo během 14 dnů provedeno u každého psa čtyři až pět hematologických vyšetření. Průměry z těchto hodnot byly vzaty pro každého psa jako výchozí hodnoty (100 % —) pro další sledování.

Pokusní psi byli rozděleni do čtyř skupin: Skupina první byla tvořena ze 4 jedinců kontrolních, neozářených. Skupinu druhou tvořilo pět jedinců, kteří byli ozáření dávkou 100 r. Třetí skupinu tvořili 4 jedinci, ozáření celotělově dávkou 400 r, čtvrtou skupinu pět jedinců ozářených celotělově dávkou 600 r.

Ozařování bylo prováděno *rtg* terapeutickým přístrojem značky „Super Sanax“ (180 kW, 10 mA, 0,2 cm Al). Psi byli ozařováni na celé tělo. Jednotlivé dávky byly měřeny dozimetrem Mekapion na střed těla psa.

Z hematologických hodnot periferní krve byl zjišťován počet červených krvinek, množství hemoglobinu, počet retikulocytů, počet bílých krvinek, diferenciální rozpočet bílých krvinek. Při zjišťování jednotlivých hematologických hodnot bylo pracováno obvyklými hematologickými metodami. Počet červených a bílých krvinek, množství hemoglobinu, byly zjišťovány z nesrážlivé žilné krve. Počet červených a bílých krvinek byl stanoven baničkovou metodou, množství hemoglobinu bylo zjišťováno hemometrem GIM. Počet retikulocytů byl zjišťován počítáním na krycím sklíčku, jak je popsáno D o n n e r e m (6). Krevní nátěry na rozpočet bílých krvinek byly prováděny z čerstvé krve. Nátěry byly barveny May-Grünwaldem Giemsou. Při normální bohatosti bílých krvinek bylo hodnoceno 200 buněk, při leukopenii 100 buněk.

Jednotlivé krevní odběry byly prováděny 1. 2. 3. 5. 7. 9. 11. 13. 15. 17. 19. 21. 24. 26. 29. 32. 36. 39. 42. 45. 52. 59. 63. 65. 73. 81. 91. den po ozáření:

Statistické zpracování bylo provedeno pořadovým V testem, který byl převzat z práce M a l é h o (14).

V ý s l e d k y

Jako úvod k hematologickému sdělení předkládáme stručné klinické pozorování současně s přehledem pitevních nálezů.

Klinické pozorování

U psů ozářených celotělově dávkou 600 r docházelo bezprostředně po ozáření k vrhnutí, psi byli apatičtí a malátní. Bezprostředně po ozáření nebyl pozorován vzestup tělesné teploty. V dalším průběhu se u těchto psů dostavilo nechutenství, doprovázené tělesnou slabostí a celkovou zemdleností. U psů, kteří uhynuli druhý a třetí den po ozáření, nebyly pozorovány mimo uvedené nechutenství a nausea žádné klinické příznaky. U psa, který uhynul sedmý den po ozáření byly pozorovány mimo zmíněného nechutenství nauzey a apatie v počátku onemocnění před uhynutím krváceniny na dásních. Pes uhynul ve stavu celkové kachexie. U dvou psů, kteří uhynuli 12. den po ozáření byly klinické příznaky shodné se psem, který uhynul sedmý den, bezprostředně před uhynutím byla nápadná anémie viditelných sliznic.

U psů ozářených celotělově dávkou 400 r, kteří uhynuli pátý, sedmý a třináctý den po ozáření, byly klinické příznaky obdobné jako u psů ozářených celotělově dávkou 600 r. U psa, který uhynul třináctý den po ozáření, byla bezprostředně před uhynutím pozorována krev ve stolici. Pes č. 110 uhynul 45. den po ozáření a bylo u něho z počátku pozorováno vrhnutí, nechutenství a malátnost, tento stav se do 5 dnů upravil, pes byl čilejší a projevil zájem o potravu. Po několika dnech dočasného zlepšení byl opětovně malátným a potravu nepřijímal. 21. den po ozáření objevily se tečkovité krváceniny na dásních a krvavě prosáklé zduření dásní kolem zubů. Během celého průběhu onemocnění teplota neustále kolísala mírně nad 39° C. Pes uhynul za příznaků naprosté kachexie.

Psi ozáření celotělově 100 r byli bezprostředně po ozáření malátní. Tento stav se do druhého dne upravil tak, že mimo zmenšenou chuť k přijímání potravy po tři až čtyři dny nebyly pozorovány žádné příznaky onemocnění. Výjimku zde tvořil pes č. 107, u kterého byly od 7. dne po ozáření pozorovány příznaky zánětu plic doprovázené vzestupem teploty. Stav se neustále zhoršoval a pes 36. dne po ozáření uhynul.

Přehled pitevních nálezů

U skupin psů ozářených celotělově dávkou 400 a 600 r převládal obraz hemorhagické diathézy. V podkoží byly silně nastříklé cévy a časté krváceniny velikosti až 25 haléře, které nebyly stabilně lokalizovány. Drobné krváceniny byly nalezeny na epiglotis, v jícnu, v průdušnici, na osrdečníku, na srdci, srdečních chlopních, na bránici, pohrudnici, na koře i ve dřeni ledvin, na sliznici žaludku i střeva.

Podkožní mizní uzliny byly zvětšeny, na řezu krvavě prosáklé. Na slezině nebyly pozorovány žádné makroskopické změny. Nález jaterních změn nelze označit za specifický pro nemoc z ozáření, neboť v některých případech játra vykazovala zánětlivé nebo degenerativní změny, v jiných případech byla játra beze změn. Při pitvě psa, který uhynul 36. den po celotělovém ozáření dávkou 100 r, byl zjištěn hnisavý zánět plic.

Hematologické vyšetření

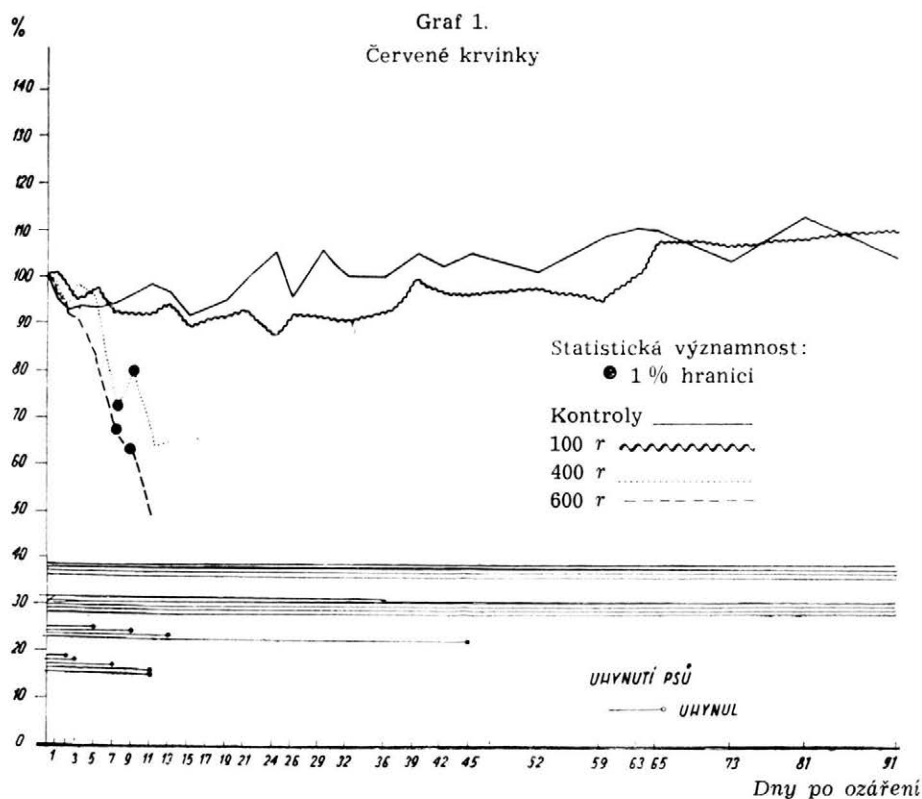
U psů ozářených celotělově dávkou 600 r nedošlo v prvních třech dnech po ozáření k výrazným změnám v počtu červených krvinek. U psa, který uhynul sedmý den po ozáření, došlo bezprostředně před uhynutím k poklesu červených krvinek z původních 100 % výchozí hodnoty na 67 %. U psů, kteří uhynuli 12.

den po ozáření došlo k významnému poklesu počtu červených krvinek od sedmého dne, pokles se neustále prohluboval a při posledním hematologickém vyšetření bezprostředně před uhynutím byly zjištěny hodnoty přibližně o 50 % nižší, než byla hodnota výchozí.

U psů ozářených celotělově dávkou 400 r nebyl v prvních třech dnech zaznamenán pokles červených krvinek. U psa ozářeného dávkou 400 r, který uhynul sedmý den po ozáření byl zjištěn posledním hematologickým vyšetřením před uhynutím počet červených krvinek o 25 % nižší, než byla hodnota výchozí. U dalšího psa z této skupiny, který uhynul třináctý den po ozáření byl zjevný pokles červených krvinek od sedmého dne; tento pokles se až do uhynutí neustále prohluboval. U psa, který uhynul 45. den po ozáření, docházelo k pozvolnému poklesu počtu červených krvinek počínaje pátým dnem po ozáření. 24. den po ozáření bylo zjištěno 54 % červených krvinek proti výchozí hodnotě. V dalším průběhu se počet červených krvinek udržoval až do uhynutí v hodnotách blízkých 50 % proti výchozí hodnotě.

U psů ozářených celotělově dávkou 100 r nedošlo během celého průběhu sledování k výraznému poklesu červených krvinek. Výjimku zde tvořil pes, který uhynul 36. den po ozáření. U tohoto psa byla pozorována anémie od 11. dne po ozáření, kdy se počet červených krvinek pohyboval od tohoto dne až po uhynutí v hodnotách mezi 70–80 % výchozí hodnoty.

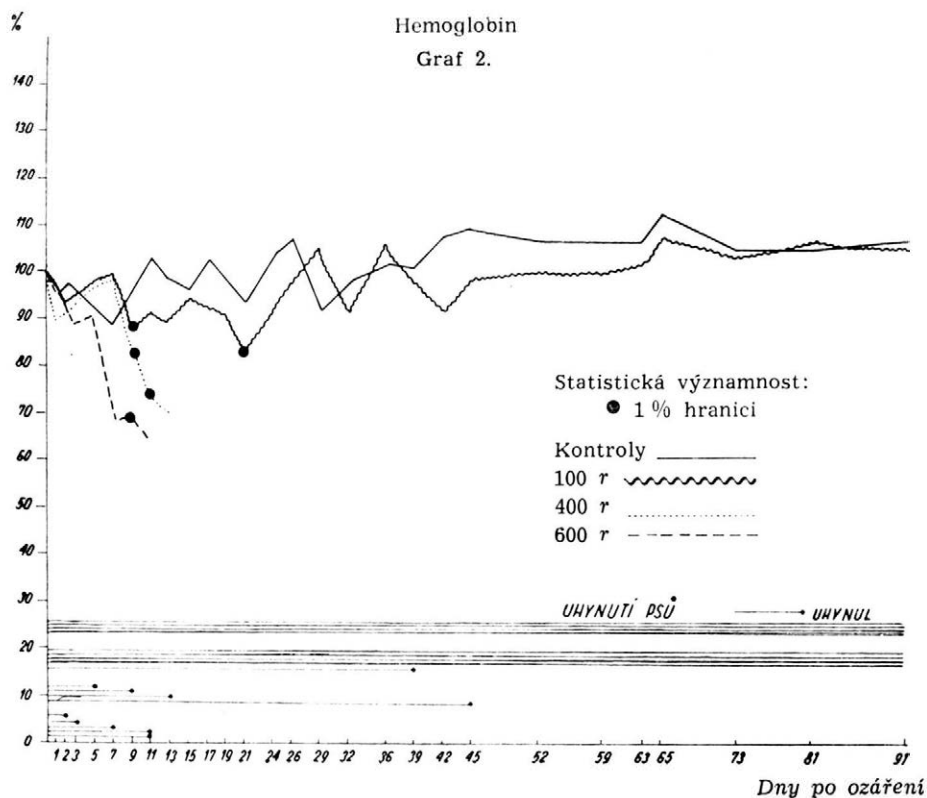
U psů kontrolních nedošlo během celé doby pozorování ke změnám v počtu červených krvinek.



Změny v počtu červených krvinek u všech skupin ozářených psů i skupiny kontrolní jsou znázorněny na grafu 1. Změny v množství krevního barviva u jednotlivých skupin pokusných psů byly souhlasné se změnami v počtu červených krvinek a jsou znázorněny na grafu 2.

U psů ozářených celotělově dávkou 400 a 600 r došlo v krátké době po ozáření k naprostému vymizení retikulocytů z periferní krve a tento stav se až do uhynutí neupravil. U dvou psů ozářených dávkou 100 r došlo k dočasnému vymizení retikulocytů z periferní krve, které trvalo od 7. dne do 14. dne. U zbývajících tří psů této skupiny došlo v této době jen ke snížení počtu retikulocytů. Po tomto poklesu docházelo individuálně u jednotlivých psů k vzestupu na normální hodnoty. Jen výjimečně byla pozorována dočasná retikulocytóza.

Bílé krvinky klesly u skupiny ozářených dávkou 600 r výrazně první den po ozáření. Tento pokles se u jednotlivých psů neustále prohluboval až do uhynutí a byl tím hlubší, čím později po ozáření pes uhynul. Nejmenší zjištěný počet bílých krvinek byl 800 v *cmm* krve. U skupiny psů ozářených dávkou 400 r došlo po ozáření k výraznému poklesu počtu bílých krvinek. Tento pokles se opět jako u psů ozářených dávkou 600 r neustále prohluboval až do uhynutí jednotlivých pokusných psů. Výjimku zde tvořil pes, který uhynul 45. den po ozáření. U tohoto psa došlo třetí den po ozáření k výraznému vzestupu počtu bílých krvinek. Tento vzestup nebyl trvalý a byl vystřídán opětovným sestupem, takže se počet bílých krvinek pohyboval až do uhynutí v hodnotách od 17 % do 57 % z výchozí hodnoty.



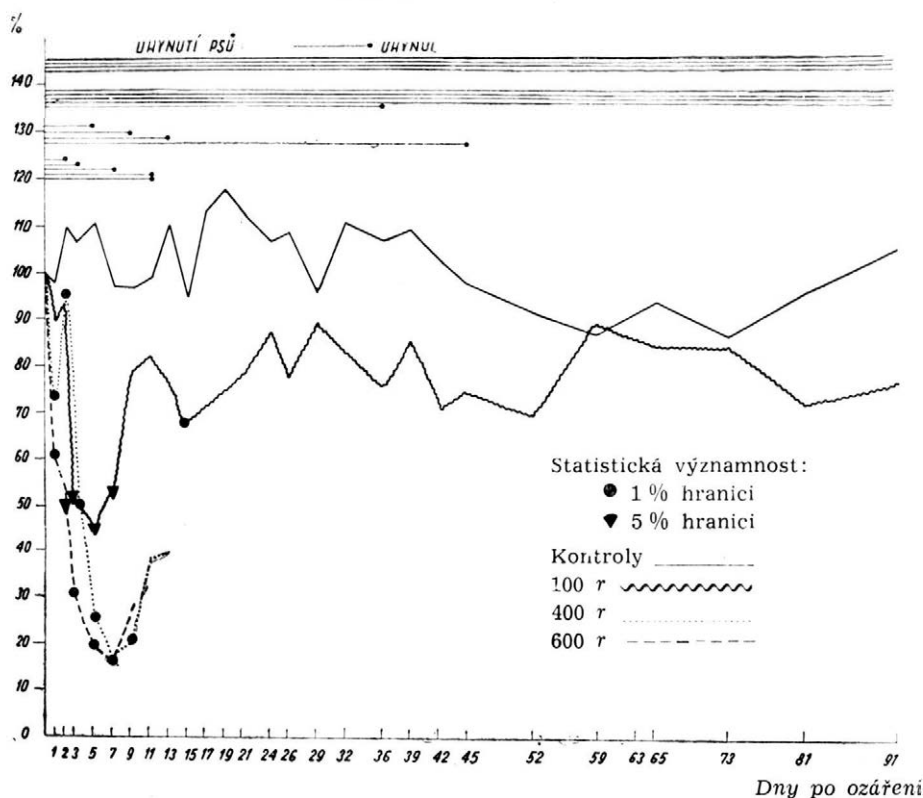
U psů ozářených dávkou 100 r nedošlo k tak výrazné leukopenii, jako u skupin předešlých. Maximum poklesu bylo zaznamenáno pátý den po ozáření, kdy došlo ke snížení počtu bílých krvinek v průměru u všech pěti pokusných psů této skupiny na 47 % proti výchozímu 100 %. Od tohoto maximálního poklesu došlo poměrně ke strmému vzestupu počtu bílých krvinek, který byl vystředán 13. den po ozáření opětovným, ale již mírnějším poklesem. Po tomto se počet bílých krvinek přibližoval hodnotám zjištěným u psů kontrolních. U psa z této skupiny, který uhynul 36. den po ozáření, došlo v době od 16. do 23. dne po ozáření k zvýšení počtu bílých krvinek, které přesahovalo 100 výchozí hodnoty. Po tomto vzestupu se počet bílých krvinek opět upravil, aby se nadále pohyboval v hodnotách blízkých hodnotám výchozím. Bezprostředně před uhynutím došlo u tohoto psa k náhlé a výrazné leukopenii, kdy počet bílých krvinek dosáhl 29 % z výchozí hodnoty.

U psů kontrolních došlo sice k určitému kolísání počtu bílých krvinek, i když jednotlivé zjištěné odchylky nepřesahovaly nikdy podstatně hranice fyziologického normálu.

Dynamika změn počtu bílých krvinek u jednotlivých skupin pokusných psů je znázorněna na grafu 3.

V diferenciálním rozpočtu bílých krvinek se počet neutrofilních granulocytů pohyboval souhlasně s celkovým počtem bílých krvinek. U psů ozářených celotělově dávkou 600 r byl zaznamenán od prvního dne po ozáření nápadný pokles, který se neustále prohluboval. Obdobně tak tomu bylo u psů ozářených dávkou 400 r.

Graf 3. Bílé krvinky



Počet neutrofilních granulocytů u psů ozářených celotělově dávkou 100 r výrazně poklesl pátý až sedmý den po ozáření. Po náhlém částečném vzestupu dochází 15. den k opětovnému snížení počtu neutrofilních granulocytů. Po tomto snížení se opět počet neutrofilních granulocytů zvýšil, aby 45—52. den po ozáření došlo k opětovnému, i když ne tak výraznému poklesu, který byl vystřídán vzestupem směřujícím k reparaci k normálním hodnotám.

U psů kontrolních dochází k určitým výkyvům v počtu neutrofilních granulocytů, které však nepřesahovaly hranice obvyklého fyziologického normálu. Změny v počtu neutrofilních granulocytů jsou znázorněny na grafu 4.

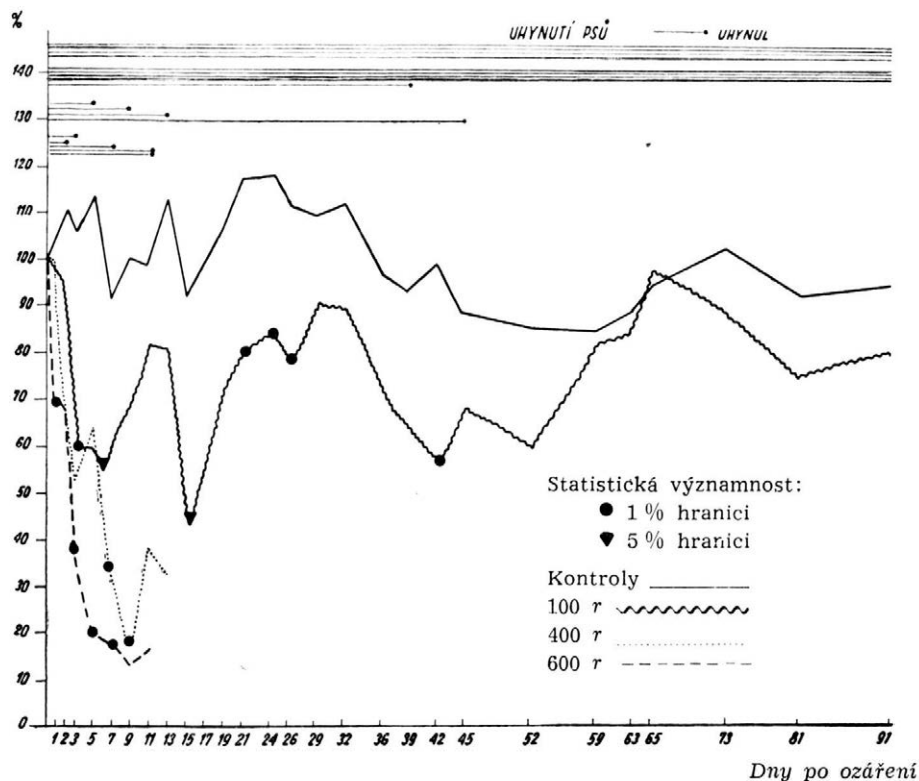
Z bílých krvinek periferní krve reagovaly na celotělové ozáření nejcitlivěji lymfocyty strýmým a hlubokým poklesem, který byl tím hlubší, čím větší byla dávka záření.

U psů ozářených dávkou 400 a 600 r byl zřejmý náhlý a hluboký pokles a počet lymfocytů u jednotlivých pokusných psů, který se pohyboval na značně nízkých hodnotách až do uhynutí.

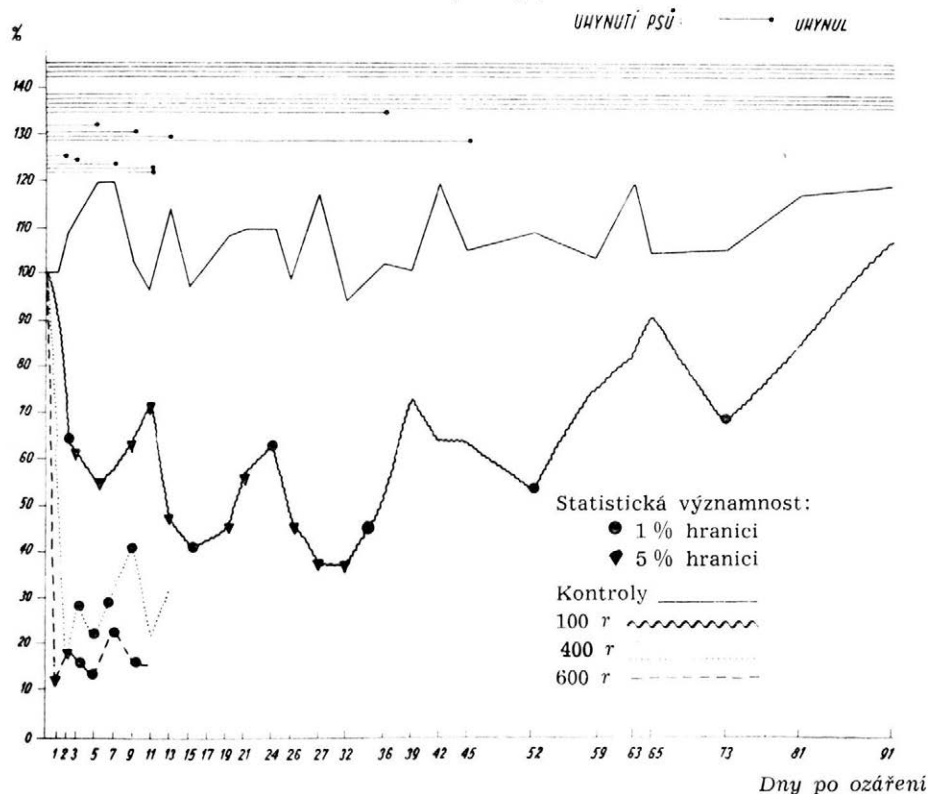
U skupiny psů ozářených dávkou 100 r je patrný výrazný pokles lymfocytů ihned po ozáření, který se dvěma mírnými náznaky k reparaci neustále prohluboval, aby svého maxima dosáhl 29. až 32. den po ozáření. Po dosažení maximálního poklesu měl počet lymfocytů i přes občasné krátkodobé poklesy vzestupnou tendenci.

Změny v počtu lymfocytů jsou znázorněny na grafu 4.

Graf 4. Neutrofilní granulocyty



Graf 5. Lymfocyty



Monocyty reagovaly u psů ozářených celotělově dávkou 400 a 600 r podobným poklesem jako lymfocyty. U většiny psů těchto skupin docházelo dva až tři dny před uhynutím k naprostému vymizení monocytů z periferní krve. U psů ozářených dávkou 100 r docházelo bezprostředně po ozáření k redukci počtu monocytů, která ale nedosahovala takové výraznosti jako byla zjištěna u lymfocytů. Snížení počtu monocytů u této skupiny se poměrně rychle upravovalo k výchozím hodnotám. Eosinofilní granulocyty jsou krevní buněčné elementy, které početně v periferní krvi značně kolísají i za fyziologického stavu organismu. Přes to byly zaznamenány u psů ozářených dávkou 400 a 600 r nápadné změny projevující se značným snížením počtu eosinofilních granulocytů. V době bezprostředně před uhynutím docházelo k naprostému vymizení eosinofilních granulocytů z periferní krve.

U psů ozářených dávkou 100 r nedošlo k výrazným změnám eosinofilních granulocytů.

Diskuse

Z literárních údajů je zřejmo, že většina autorů považuje červené krvinky za značně odolné proti působení pronikavého záření. Dienstbier, Arient, Kofránek (3) uvádějí zjištění Sipovského, který na podkladě pokusů na zvířatech udává, že počet erytrocytů se mění těsně po ozáření ze všech krevních

elementů nejméně. Jacobson (10) uvádí, že i po ozáření dávkou letální se obvykle do 6 dnů neshledáváme s žádným významným poklesem v hodnotách červených krvinek a krevního barviva a považuje stanovení počtu červených krvinek a množství hemoglobinu v periferní krvi za značně hrubý prostředek k zachycení účinku záření, zvláště během prvních dvou týdnů po vystavení X paprskům v rozsahu LD 50 nebo výše. Ingram a Mason (8) pozorovali během prvních dvou týdnů pokles červených krvinek u psů ozářených celotělově dávkou 300 r, který dosáhl maximálního poklesu 70–72 % výchozí hodnoty. Brewer (2) zjistil anemii u psů počínaje desátý den po ozáření dávkou 450 r.

Erythrocytární odpověď, kterou jsme popsali u jednotlivých skupin ozářených psů odpovídá literárním údajům. U dávek smrtelných byl zřejmý pokles červených krvinek počínající pátým až sedmým dnem po ozáření. U těchto psů byl bezprostředně před uhynutím pozorován náhlý pokles červených krvinek, který také je udáván literaturou. Dávka 100 r nebyla v našem pokusu dostatečná k vyvolání změn v červeném krevním obraze.

Postiradiační změny v červené krevní složce periferní krve vysvětluje Jacobson (10) po zhodnocení experimentálních prací Furta a spolupracovníků, kteří k objasnění tohoto problému použili řady metodik, včetně značkování izotopy. Tyto práce byly provedeny na myších, králících a psech ozářených x paprsky v rozsahu LD 50 a výše a lze je shrnout takto:

1. Erythropoéza přestává ve 24 hodinách po ozáření a navrátí se po sedmi až čtrnácti dnech.

2. Během téhož období nastává redukce množství červených krvinek a současný pokles plasmového objemu. Tato změna zakrývá velikost poklesu masy erythrocytů zvláště během prvního týdne po ozáření a vysvětluje fakt, že během tohoto období je stanovení erythrocytů, hemoglobinu a hematokritu obvykle v normálním rozsahu.

3. Redukce masy červených krvinek nastává:

- a) uhynutím normálních červených krvinek,

- b) ztrátami červených krvinek z oběhu vzniklými zvýšenou prostupností kapilár do lymfatických tkání a tkáňových prostorů. Osudem takto propuštěných červených krvinek po primárním nebo sekundárním poškození endothelii, je fagocytóza případně hemolýza.

Bílá složka periferní krve je na působení pronikavého záření mnohem reaktivnější. Dienstbier, Arient (5) uvádějí v rozvoji postiradiačních hematologických změn čtyři období:

1. Období nespecifických periferních krevních změn, trvající několik hodin až dnů. Tyto změny (vyjma lymfopenie) jsou analogické jakékoliv zátěžové hematologické odpovědi a jsou charakterizovány několikaminutovou leukopenií, následovanou leukocytózou.

2. Období akutních postiradiačních změn trvajících několik dnů až týdnů, charakterizované postupně se rozvíjejícím poklesem všech druhů leukocytů, trombocytů a erythrocytů.

3. Období reparace, která plynule navazuje na předchozí fázi, kdy během několika týdnů či měsíců dochází postupně k normalizaci všech druhů krvinek.

4. Období chronických změn.

V našem sledování jsme zachytili u jednotlivých skupin ozářených psů druhou fázi postiradiačních změn, kdy výrazně klesly počty jednotlivých druhů bílých

krvinek. U skupiny psů ozářených celotělově dávkou 100 r bylo zachyceno třetí stadium reparace. Při poklesu bílýchrvinek nejcitlivěji reagovaly lymfocyty. Citlivá reakce lymfocytů je ve shodě s literárními údaji. Jacobson (10) považuje lymfocyty za nejcitlivější indikátor akutního účinku ozáření v periferní krvi všech zvířat. Toto potvrzuje experimentálními pracemi řada autorů Dienstbier, Arient, Kofránek (3); Dienstbier, Arient (5); Jegorov, Bočkarjev (9); Pospíšil, Komárek, Dienstbier, Arient (15); Kikuchi, Wakisaka (16); Wirth (18); Gershon-Cohen, Hermel (19); Brewer (2) aj. Ingram a Mason (8) pozorovali u psů ozářených dávkou 350 r pokles lymfocytů bezprostředně po ozáření, který dosáhl 22 % z původních 100 % výchozí hodnoty. Lymfopenie trvala až do 21. dne. Pokles neutrofilů, který byl pozorován u jednotlivých skupin ozářených psů se také shoduje s literárními údaji (2), (3), (4), (5), (8), (9), (10), (15), (16), (18) aj. Dienstbier, Arient, Kofránek (3) považuje vymizení eosinofilních granulocytů z obvodové krve za prognosticky nepříznivý ukazatel nemoci z ozáření. Toto odpovídá i námi popsanému vymizení eosinofilních granulocytů u jednotlivých skupin ozářených dávkou 400 a 600 r, které nastalo bezprostředně před uhynutím.

Eosinofilie, kterou popisuje Lawrence (12) u psů po ozáření dávkou 300 r, nebyla námi zjištěna. U psů ozářených dávkou 400 r a 600 r byl pozorován pokles eosinofilů. Podobný pokles pozorovali Fóti a Deak (7) a je ve shodě s naší předešlou prací (15). U monocytů byl zjištěn po ozáření ve shodě s literárními údaji (3) pokles počtu elementů a u prognosticky nepříznivých případů naprosté vymizení.

Souhrn

Byla sledována hematologická odpověď u psů po jednorázovém celotělovém ozáření rtg paprsky dávkami 600 r, 400 r, 100 r. Dosažené výsledky jsou ve shodě s literárními údaji. U skupiny psů ozářených dávkou 600 r a 400 r bylo popsáno období akutních postiradiačních hematologických změn, charakterisované poklesem počtu všech buněčných elementů periferní krve. U skupiny psů ozářených dávkou 100 r bylo zachyceno období akutních postiradiačních hematologických změn a období reparace. Jako úvod k hematologickému sledování je uvedeno stručné klinické pozorování a popis pitevních nálezů.

Literatura

1. Bloom M. A., Bloom W.: J. Lab. Clin. 32, 654, 1947. — 2. Brewer N. R. z knihy „Canine Medicine str. 523-525. American Veterinary Publications INC, Evaston 1953. — 3. Dienstbier Z., Arient M., Kofránek V.: Nemoc z ozáření. Stát. zdrav. nakl. Praha 1957. — 4. Dienstbier Z., „Akutní nemoc z ozáření“ z knihy „Ionisující záření“ str. 66-79. SZN 1956. — 5. Dienstbier Z., Arient M.: Vojenské zdrav. listy 12, 26, 1957. — 6. Donner L.: „Hematologie“, Státní pedagogické nakladatelství, Praha 1956. — 7. Fóti I., Deak S.: Z. ges. Inn. Med. 9, 11, 1954. — 8. Ingram M., Mason W. B. z knihy „Blair H. A. - Biological Effects of

external Radiation“ str. 58-83. M. GRAW-HILL, BLOOK Company New York 1954. — 9. Jegorov A. P., Bočkarov V. V.: Krvetvorenije i ionizirujuščaja radiacija. Medgiz-Moskva 1955. — 10. Jacobson L.: „The Hematologic Effects of Ionizing Radiation“, 16. kapitola z knihy „A. Hollaender - Radiation Biology, Volume I. McGRAW-HILL BOOK COMP., INC. New York 1954. — 11. Komiya E. Die Zentralnerval Regulation des Blutbildes Thieme G., Stuttgart 1956. — 12. Lawrence J. S. Am. J. Physiol. 144, 284, 1945. — 13. Lebedinskij A. V.: „O působení ionisujícího záření na živočišný organismus“. Materiál ze ženevské konference. Překlad vydala: Československá společnost pro šíření politických vědeckých poznatků v Bratislavě 1956. — 14. Malý V.: Sborník lékařský 59, 5, 1957. — 15. Pospíšil J., Komárek J., Dienstbier Z., Arient Z.: Postradiační syndrom. Vojenské zdravotnické listy č. 9. příloha č. 4. — 16. Kikuchi T., Wakisaka G.: Acta Scholae Med. Univ. Kioto 2, -, 1952. — 17. Tullis J.: „Blood Cells and Plasma Proteins“. New York 1953. — 18. Wirth D.: „Grundlagen einer Klinischen Hämatologie der Haustiere“. Urban a Schwarzenberg, Wien und Innsbruck 1950. — 19. Gershon - Cohen J., Hermel M.: Am. J. Roentgen 71, 846, 1954. — 20. Schreek R.: Radiology 6, 65, 1955.

Изменения периферической кровяной картины собак, облученных по всему телу рентгеновыми лучами

Авторы исследовали гематологическую реакцию собак на однократное облучение всего тела рентгеновыми лучами в дозах 600 г, 400 г, 100 г. Полученные результаты соответствуют литературным данным. У группы собак, облученных в дозе 600 г и 400 г, описан период острых постиррадиационных гематологических изменений, характеризующийся уменьшением количества всех клеточных элементов периферической крови. У группы собак, облученных в дозе 100 г, был установлен период острых постиррадиационных гематологических изменений в период репарации. В виде вступления к гематологическому исследованию авторы кратко излагают результаты клинического наблюдения и приводят описание анализов при вскрытии.

Die Veränderungen des peripheralen Blutbildes bei den mit Roentgenstrahlen ganzkörperbestrahlten Hunden

Es wurde die hämatologische Reaktion bei Hunden nach einmaliger Ganzkörperbestrahlung mit den Dosen von 600 r, 400 r und 100 r verfolgt. Die erzielten Ergebnisse stimmen mit Literaturangaben überein. Bei den mit den Dosen von 600 r und 400 r bestrahlten Hunden wurde der Zeitabschnitt der akuten hämatologischen Nachbestrahlungsveränderungen, der durch die Herabsetzung in der Zahl aller Zellenelemente des peripheralen Blutes charakterisiert ist, beschrieben. Bei der Gruppe der mit der Dosis von 100 r bestrahlten Hunde wurde der Zeitabschnitt der akuten hämatologischen Nachbestrahlungsveränderungen und derjenige der Regeneration beschrieben. Als Einleitung zur hämatologischen Verfolgung wird eine kurze klinische Beobachtung und Beschreibung der Sektionsbefunde angeführt.

The Changes in the Peripheral Blood Picture of Dogs after the Total X-Ray-Irradiation

The haematological response in dogs was studied after the single irradiation with the doses of 600 r, 400 r and 100 r respectively. The results obtained are in accordance with the literature data. In the groups of dogs irradiated with a dose of 600 r and 400 r respectively the period of acute post-irradiation haematological changes characterized with the drop in counts of all peripheral blood cell-elements was described. In the group of dogs irradiated with the dose of 100 r the period of acute post-irradiation haematological changes and that of regeneration was described. A brief clinical observation and a description of section-finding serve as an introduction to this haematological study.

Sledování urobilinů v zaživacím traktu zdravých, hladových koní

Исследование уробилинов в пищеварительном тракте здоровых,
голодных лошадей

Die Verfolgung von Urobilinen im Verdauungstrakt gesunder hungernder Pferde

Search for Urobilin in the Digestive Organs of the Healthy Hungry Horses

L. ŠLESINGR

Došlo dne 21. V. 1958

Úvod

Při sledování obsahu bilirubinu v séru domácích zvířat je nápadné vyšší procento tohoto barviva v séru zdravých koní. Doposud není vyřešena příčina fyziologické bilirubinémie [Zink I — 2 mg % (3)] u tohoto druhu domácích zvířat. Některé práce se sice dotýkají uvedené otázky, ale neřeší ji. Jiné údaje si zase navzájem odporují (viz níže). Tyto rozdílné údaje o produkci žlučových barviv u koně byly pohnutkou pro tuto práci.

Původně jsme sledovali urobiliny ve výkalech a moči koní. Jejich průkaz se nám nedařil. Začali jsme proto se šetřením u orgánu s hlavní tvorbou žlučových barviv, u jater. Pokusili jsme se u 5 koní získat žluč přímo z jaterních ductů po odporažení koní. Tento způsob získání žluče byl úspěšný pouze u třech koní. V získaných několika kapkách žluče jsme prokázali diázo-reaktivní barvivo. Pro svízelné získávání žluče z jater jsme se rozhodli prokazovat žlučové barvivo přímo v zaživacím aparátu koní a současně sledovat jeho další osud. Vycházeli jsme z předpokladu, že se bilirubin na své cestě zaživadly redukuje na urobilinogeny (urobilinogen a sterkobilinogen) a tyto se buďto vyloučí z části oxydované na urobiliny (urobilin a sterkobilin) trusem nebo se vstřebají a vstřebané vyloučí ledvinami nebo se dostanou zpět do jater, kde se buďto rozruší nebo postupují do žluče.

Přehled literárních údajů

Literární údaje řadíme podle časového sledu.

O získávání žluče u koní píše B i e r t h e n (8) (1956), že se z jater těchto zvířat velmi těžko získává. Vytlačováním z jaterních ductů obdržel maximálně 4 až 5 kapek žluté, husté tekutiny, která však G m e l i n e m nedávala typickou reakci pro žlučová barviva. Průkaz konal na 32 koních.

Wester (8) (1912) zjistil urobilinoidy u koní, skotu, psů a koz ve faeces. Autor podotýká, že jsou se současným výskytem v trusu rovněž vždy přítomny v moči.

Nestlé (8) prokázal rovněž v roce 1912 přítomnost urobilinogenu v čerstvé stolici u 59 koní. Při současném pátrání po této látce v moči zjistil, že jí je v moči více nežli v trusu. Nižší obsah v trusu připisuje na vrub dlouhého zažívacího traktu koně a tudíž její důkladné resorpci.

V roce 1923 konal podobné šetření Beijer (8). Autor zjistil u všech 20 zkoumaných koní bilirubin ve žluči. Poukazuje na malé množství žluče u koní, ale neuvádí kvantitativní poměry.

Zajímavé je zjištění Kämmerera a Millera (8) v roce 1922 až 1923 o schopnostech redukovat bilirubin bakteriemi. Autoři zjistili, experimentálními pokusy, že bakteriální kultury z faeces, schopné redukovat bilirubin, byly neschopné u herbivorů redukovat biliverdin. Z tohoto poznatku dedukují nepřítomnost urobilinoidů ve střevním obsahu herbivorů, u nichž převládá nadbytek biliverdinu.

Sborov a Watson (8) zkoumali v roce 1949 účinný aureomycin na tvorbu bilirubinoidů. Zjistili, že u člověka vymizí po aplikaci tohoto antibiotika koliformní organismy do 48 hodin. Paralelně vymizí rovněž přítomnost urobilinoidů z faeces, moče a žluče. Tímto pokusem prokázali autoři redukční schopnost mikroorganismů na bilirubiny u člověka.

Benedek (2) prokazoval v roce 1956 přítomnost bilirubinu ve žluči u domácích zvířat. Zjistil pouze u jednoho koně ze 48, který byl odporažen v důsledku volvulu, pozitivní reakci zkouškou Gmelinovou, Grimbortovou a Rosinovou v získané žluči. Autor provedl souběžně zkoušku s diázem a kofeinem, avšak tato vyzněla dubiálně. Žluč získával výplachy duktů anebo neředěnou.

Metodika

Práce je založena na průkazu bilirubinu a urobilinů v zažívací rouře 15 zdravých, dva dny hladových koní. Obsah z jednotlivých úseků střevních, dvánácterníku, jejunu, ilea, coeka, ventrální slohy 30 cm od coeka, flexury pelviny, žaludkovitého rozšíření a malého kolonu uprostřed, byl odebírán ihned po odporažení koní na brněnských jatkách a nejpozději za 12 hodin byly se střevním obsahem jednotlivých úseků provedeny následující reakce:

1. reakce diázová, za účelem průkazu přítomnosti bilirubinu v obsahu střevním.
2. reakce Heilmayer-Krebsova, reakce Schmidtova, zkouška fluorescenční, za účelem zjištění přítomnosti urobilinů.

Pod pojmem urobiliny zahrnujeme urobilin a sterkobilin, neboť oba se prokazují stejnými metodami a redukce je při uvedených reakcích od sebe neodliší.

Popis jednotlivých reakcí

Reakce diázová: 2 g střevního obsahu jsme protřepali s 5 ccm alkoholu a přefiltrovali. Ke třem ccm filtrátu jsme přidali několik kapek připraveného diáza. Charakteristické zbarvení nastávalo ihned nebo za několik vteřin.

Reakce Heilmayer-Krebsova: hodí se pro kvalitativní i kvantitativní stanovení urobilinoidů v moči i ve faeces. Faeces (5 g) se rozmíchají

I. Výsledky diázo-reakce a reakce na urobiliny v jednotlivých střevních úsecích zdravých koní

Číslo	Popis	<i>Duodenum</i>	jejunum 4m od duodena	<i>ileum</i>	coecum	ventr. sloha 30 cm od cocka	<i>flexura pelvina</i>	Žaludkovité rozšíření	Malý kol. uprostřed	
1	klisna, 14 r.	++ —	++ —	+ —	± —	— +	— ++	— +	— —	D U
2	valach, 10 r.	++ —	+++ —	—+ —	— +	— +++	— ++	— +	— —	D U
3	valach, 8 r.	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	— —	D U
4	klisna, 9 r.	+ —	+ —	— —	— —	— ±	— ±	— —	— —	D U
5	valach, 2 r.	+ —	++ —	+ —	— ±	— +	— ++	— ++	— +	D U
6	klisna, 14 r.	+ —	++ —	— —	— +	— ++	— +	— +	— —	D U
7	klisna, 12 r.	++ —	++ —	+ —	— —	— +	— ++	— ++	— ±	D U
8	valach, 9 r.	++ —	+ —	+++ —	— +	— +	— +++	— ++	— +	D U
9	valach, 13 r.	± —	+ —	+ —	± —	— +	— ++	— +	— —	D U
10	valach, 8 r.	+ —	+ —	— —	— —	— —	— —	— ±	— —	U D
11	valach, 16 r.	+ —	++ —	++ —	— —	— +	— +	+ —	— —	U D
12	klisna, 10 r.	+ —	+ —	± —	— —	— ±	— +	— +	— —	U D
13	valach, 9 r.	+ —	++ —	++ —	— —	— +	— ++	— ++	— ±	U U
14	klisna, 14 r.	+ —	+ —	± —	— —	— —	— +	— —	— —	D U
15	valach, 10 r.	+ —	++ —	+ —	— —	— ±	— +	— +	— —	D U

II. Reakce Heilmayer-Krebsova a reakce Schmidtova — porovnání výsledků těchto reakcí v jednotlivých úsecích zažívacího traktu zdravých koní s výsledky fluorescenční zkoušky

Číslo	Popis	<i>duodenum</i>	<i>jejunum 4m</i> od duodena	<i>ileum</i>	<i>coecum</i>	ventr. sloha 30 cm od coeka	<i>flexura</i> <i>pelvina</i>	Žaludkovité rozšíření	Malý kolon uprostřed	
1	klisna, 14 r.	neg. neg. —	neg. neg. —	neg. neg. —	neg. neg. —	neg. neg. +	neg. neg. ++	neg. neg. +	neg. neg. —	HK Sch. fl.
2	valach, 10 r.	— — —	— — —	— — —	— — +	— ± +++	— — ++	— — +	— — —	HK Sch. fl.
3	valach, 8 r.	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	— — —	HK Sch. fl.
4	klisna, 9 r.	— — —	— — —	— — —	— — —	— — ±	— — ±	— — —	— — —	HK Sch. fl.
5	valach, 11 r.	— — —	— — —	— — —	— — ±	— ± +	— — ++	— — ++	— — +	HK Sch. fl.
6	klisna, 14 r.	— — —	— — —	— — —	— + +	— ± ++	— — +	— — +	— — —	HK Sch. fl.
7	klisna, 12 r.	— — —	— — —	— — —	— — —	— — +	— + ++	— ± ++	— — ±	HK Sch. fl.
8	valach, 9 r.	— — —	— — —	— — —	— ± +	— + +	— + +++	— — ++	— — +	HK Sch. fl.

9	valach, 13 r.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	HK Sch. fl.
10	valach, 8 r.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	HK Sch. fl.
11	valach, 16 r.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	HK Sch. fl.
12	klišna, 10 r.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	HK Sch. fl.
13	valach, 9 r.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	HK Sch. fl.
14	klišna, 14 r.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	HK Sch. fl.
15	valach, 10 r.	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	HK Sch. fl.

D = zkouška diázová

U = zkouška na urobiliny (fluorescenční)

HK = zkouška Heilmayer-Krebsova

Sch. = zkouška Schmidtova

fl. = zkouška fluorescenční

v 50 ccm vody, přidá se 5 ccm 12 % NaOH a 5 ccm 16 % roztoku Ferro-ammoniumsulfátu. Směs se protřepe, chrání před oxydací navrstveným čistým benzinem a řádným uzátkováním. Směs se ponechá 6 až 10 hod. ve tmě. Po uplynutí této doby se přefiltruje přes řídký filtr, odpipetují se 4 ccm do třepací nádoby a okyslí ledovou kyselinou octovou. K filtrátu se přidá 20 ccm éteru. Protřepeme asi osmdesátkrát a spodní vrstvu vypustíme: Éter se promyje dvakrát vodou. K čistému éterovému extraktu se přidá na špičku nože dimethylaminobenzaldehydu a 8 kapek koncentrované HCl. Po jednominutovém třepání se přidá troška vody a 3 ccm 50 % Na-acetátu. Třepe se ještě asi padesátkrát. Spodní filtrátovou vrstvu potom vypustíme do odměrného válce a éter podle potřeby znovu protřepeme vodou. Pro kvantitativní stanovení hromádíme extrakty ve válci. 10 ccm získaného extraktu se pak doplní do 16 ccm vodou a kolorimetruje se. Výsledek je udán v mg % a dospěje se k němu podle uvedeného příkladu. Celkové množství stolice 187 g, 2 g stolice na 60 ccm redukční směsi, tj. zředění třicetkrát (v_1), 4 ccm filtrátu na 20 ccm éteru, tj. zředění pětikrát (v_2), 10 ccm éterového extraktu se doplní do 16 ccm, tj. zředění 1,6 (v_3). Koeficient extinkce $\varepsilon(1 \text{ cm}) = 0,30$. Celková hodnota urobilinů je potom $v_1 \cdot v_2 \cdot v_3 \cdot \varepsilon(1 \text{ cm}) \cdot 1,36 \times$ množství stolice v stovkách gramů, tj. 1,87 g.

Zkouška Schmidtova: pozůstává v rozetření asi 5 g střevního obsahu se stejným množstvím 8 % roztoku sublimátu na skleněné podložce. Získanou směs ponecháme 2 hod. v termostatu nebo ji necháme na několik hodin stát při pokojové teplotě. Částice obsahující bilirubin se zbarví zeleně, kdežto částice, které obsahují urobiliny se zbarví růžově.

Zkouška fluorescenční: 2 g střevního obsahu protřepeme s 5 % suspenzí octanu zinečnatého v 90 % alkoholu, přidáme kapku jodové tinktury, přefiltrujeme a filtrát zkoušíme, zdali fluoreskuje.

Positivní výsledky získané uvedenými zkouškami označujeme v tabulkách podle intenzity barevných odstínů jedním až třemi křížky. Dubiozní výsledky jsou označeny $\pm$.

Výsledky jednotlivých reakcí

Díazová zkouška provedená popsáním způsobem byla pozitivní u čtrnácti šetřených koní, pouze jednou byla negativní. Reakce dávala pozitivní výsledky pouze s obsahem tenkých střev, v coeku a kolonech byla negativní. Barva reakcí byla růžově červená až fialová. Podle intenzity jsme výsledky zkoušky označovali jedním až dvěma křížky. Ve srovnání s díazo-reakcí provedenou s obsahem tenkých střev psa, byly u koní výsledky méně výrazné.

Zkouška Heilmayer-Krebova byla u všech koní ve všech již zmíněných úsecích negativní.

Zkouška Schmidtova byla u 6 koní slabě pozitivní, u 9 zcela negativní. Podle jednotlivých úseků byla tato zkouška dvakrát dubiozní ve ventrální sloze, jednou pozitivní v coeku a ventrální sloze, jednou pozitivní ve flexuře pelvině a dubiozní v žaludkovitém rozšíření, jednou dubiozní v coeku, pozitivní ve ventrální sloze a flexuře pelvině, jednou dubiozní ve ventrální sloze a flexuře pelvině. Zkouška dávala více nebo méně hnědočervené zbarvení.

Zkouška fluorescenční byla negativní v orálních částech, tj. v tenkých střevech všech koní. U třech koní byla pozitivní a jednou dubiozní v coeku, devětkrát pozitivní a třikrát dubiozní ve ventrální sloze, dvanáctkrát pozitivní a jednou

dubiózní ve flexuře pelvině, jedenákrát pozitivní a jednou dubiízní v žaludkovitém rozšíření, dvakrát pozitivní a dvakrát dubiízní v malém kolonu.

Posuzujeme-li uvedené tři reakce sloužící k průkazu urobilinů podle citlivosti, jeví se nám nejcitlivější zkouška fluorescenční, méně je citlivá zkouška Schmidtova a jako nejméně citlivá se nám jeví při použití 2 g střevního obsahu Heilmayer-Krebsova. Pro její negativní výsledky nemohli jsme provést kvantitativní stanovení urobilinů podle uvedené formule.

Souhrnně jsou výsledky jednotlivých reakcí uvedeny v tabulkách I a II.

Diskuse

Začali jsme svou práci tam, kde podle údajů Withových chybějí další údaje o vylučování žlučových barviv u koně. With sám upozornil na nutnost dalších prací, řešící závažný problém žlučových barviv v organismu koně.

Na základě uvedenými zkouškami získaných výsledků se ztotožňujeme s údaji Westera, Nestlého a Beijera tak, jak je cituje With (8). Uvedení autoři prokázali rovněž bilirubin u koní ve žluči nebo urobiliny ve foeces a v moči. Diázo reakce u našich případů byla čtrnáctkrát pozitivní, pouze u jednoho koně byla zcela negativní. Příčinu negativního výsledku se nám u tohoto pacienta nepodařilo vysvětlit. Výsledky Bierthenovy (cit. podle Witha) a Benedekovy (2) se nám zdají nepravděpodobné. Domníváme se však, že u Benedeka hraje rozhodující úlohu jeho negativních výsledků, značné zředění již tak malého obsahu žlučových pigmentů v exkretu jater u koně. U třech koní, u nichž se nám podařilo získat žluč přímo z jater, jsme prokázali diázem pozitivní reakci uvedeným způsobem. Že žluč koní obsahuje žlučová barviva o tom svědčí jejich prokazatelnost nejen v kraniálním střevním traktu, ale rovněž přítomnost prokazatelných urobilinů v kaudálních částech zažívacího traktu, jak vyplývá z obou údajů v naší práci a jak to dokázali rovněž autoři již uvedení.

U koně je ovšem i při použití jednoduchých kvalitativních zkoušek nápadné, že ve srovnání s jinými druhy (pes, člověk) je vylučovaných žlučových barviv jen poměrně velmi málo. K vylučování bilirubinu játry obvyklým způsobem dochází u koně jen v omezené míře. To by vysvětlovalo v úvodě naznačený problém fyziologické hyperbilirubinémie u koně a malý obsah barviv v zažívacím traktu a tím i tak různí se údaje o jeho průkazu v exkretech koně.

Pro nedostatek údajů nemůžeme podrobněji porovnat získané výsledky u našich na lačno odporažených zdravých koní.

Souhrn

Práce prokazuje přítomnost žlučových barviv v zažívacím traktu 15 hladových koní. Byl vyšetřen obsah jednotlivých úseků střevních na bilirubin a urobiliny reakcí diázo, metodou Heilmayer-Krebsovou, Schmidtovou a zkouškou fluorescenční.

Přítomnost uvedených barviv byla prokázána těmito zkouškami u 14 koní v obsahu zažívadle. U jednoho koně nebyla žlučová barviva v zažívadlech prokázána. Z výsledků se usuzuje na relativně malou produkci žluče u koní.

Literatura

1. Aktan: M. f. V. M., H. 5, S. 97, 1954. — 2. Benedek: Mag. Állatorvosok lapja, No. 10-12, 361, 1956. — 3. Berger: Zbl. f. V. M., No. 3, S. 275, 1956. — 4. Heilmayer - Krebs: Bioch. Zs., B. 231, S. 393, 1931. — 5. Homolka: Chemická diagnostika v dětském věku, Praha, 1956. — 6. Hořejší - Slavík: Základy chem. vyš. v lékařství, Praha, 1953. — 7. Pospíšil: Seminář exp. pathol., Brno, 1955. — 8. With: Biology of Bile. Westminster, 1954. — 9. Wheat: A. J. V. R., Vol. 18, No. 67, p. 369, 1957. — 10. Watson: Annals of int. Med., Vol. 47, No. 4, p. 611, 1957.

Исследование уробилинов в пищеварительном тракте здоровых, голодных лошадей

В статье автор доказывает наличие желчных красящих веществ в пищеварительном тракте 15 голодных лошадей. Он исследовал содержимое разных участков кишечника и устанавливал билирубин и уробилины, пользуясь диазо-реакцией, методом Гейлмайер-Кребса, Шмидта, реакцией флуоресценции.

Наличие упомянутых красящих веществ было доказано этими пробами в содержимом пищеварительного тракта у 14 лошадей. У одной лошади желчные красящие вещества в пищеварительном тракте не были доказаны. На основании результатов можно судить об относительно малой продукции желчи у лошади.

Die Verfolgung von Urobilinen im Verdauungstrakt gesunder hungernder Pferde

In der Arbeit wird die Anwesenheit von Gallenfarbstoffen im Verdauungstrakt 15 hungernder Pferde nachgewiesen. Der Inhalt einzelner Darmabschnitte wurde auf Bilirubin und Urobiline mit der Diazo-reaktion, mit Heilmeyer's, Krebs's und Schmidt's Methoden und Fluoreszenztest geprüft.

Die Anwesenheit von angeführten Farbstoffen wurde durch diese Erfahrungen bei 14 Pferden in dem Inhalt der Verdauungsorgane nachgewiesen. Bei einem Pferd wurden die Gallenfarbstoffe in den Verdauungsorganen nicht nachgewiesen. Aus den Ergebnissen wird an eine verhältnismäßig kleine Produktion der Galle bei Pferden geschlossen.

Search for Urobilin in the Digestive Organs of the Healthy Hungry Horses

The work proves the existence of the gall pigments in the digestive organs with 15 hungry horses. The quantity of bilirubin and urobilin in different sections of intestines were examined by means of the Heilmayer-Krebs and Schmidt method and by means of the fluorescent examination.

The existence of the above mentioned pigments has been proved in the examinations with 14 horses in the digestive tract. With one horse no gall pigment in his digestive organs were found. The results speak for the relatively small production of gall with the horses.

Přítomnost bilirubinu a urobilinu v zažívacím aparátu nemocných koní

Наличие билирубина и уробилинов в пищеварительном тракте
больных лошадей

Die Anwesenheit von Bilirubin und Urobilinen im Verdauungsapparat der kranken
Pferde

The Existence of the Bilirubin and Urobilin in the Digestive Organs of Sick Horses

L. ŠLESINGR

Došlo dne 21. V. 1958

Úvod

V předcházející práci jsme prokázali u 15 koní přítomnost žlučových barviv a některých jejich redukčních a oxydačních zplodin v zažívacím traktu. Zjistili jsme, že pro nízký obsah urobilinů jsou některé zkoušky méně citlivé a nehodí se pro průkaz urobilinů v obsahu střevním u koní. Platí to pro zkoušku Heilmayer-Krebsovu a podle našich poznatků i citlivější zkoušku Schmidtovu. K průkazu urobilinů se osvědčila u našeho zkoumaného materiálu reakce fluorescenční, která má proti uvedeným zkouškám i další výhody.

Poněvadž jsme nemohli předpokládat chování žlučových barviv v zažívadlech nemocných koní na základě dosavadních poznatků u zdravých koní, použili jsme opětovně všech již užitých zkoušek k průkazu bilirubinu a urobilinů v obsahu zažívadl nemocných koní.

V dostupné literatuře jsme nenalezli údaje o výsledcích uvedených reakcí u nemocných koní. Citace, týkající se průkazu bilirubinu v organismu koně, byly uvedeny již v předešlé práci.

Metodika

Použitá metoda průkazu diázo-pozitivních barviv a některých jejich redukčních zplodin je uvedena v poslední práci. Metodu rozšiřujeme pouze o způsob vyčíslení několika hodnot.

Číselné výsledky jsou vypočítány u pozitivní zkoušky Heilmayer-Krebsovy koní č. p. 221 a 222 podle vzorce:

$$v_1 \cdot v_2 \cdot v_3 \cdot E (1 \text{ cm}) \cdot 1,36 \cdot M$$

(v_1 , v_2 , v_3) jsou zředovací poměry, popsány blíže v minulé práci.

$E (1 \text{ cm})$ = konstanta

M = množství stolice ve stovkách gramů.

Výsledky jednotlivých zkoušek u koní shrnujeme do následující tabulky.

I. Výsledky zkoušek: diazem, fluorescenční, Schmidtovy, Heilmayer-Krebsovy v zažívacím aparátu některými chorobami stížených koní

Číslo	Diagnóza	<i>duodenum</i>	<i>jejunum</i>	<i>ileum</i>	<i>coecum</i>	Ventr. sloha 30 cm od coeka	<i>flexura pelvina</i>	Žaludkovité rozšíření	Malý kolon uprostřed	Re- akce
628	<i>Volvulus</i>	+	++	-	-	-	-	-	-	D. fl. Sch. HK
		-	-	+	-	+	++	±	-	
		-	-	-	-	-	±	-	-	
		-	-	-	-	-	-	-	-	
202	<i>Dilatatio ventriculi</i>	+	++	+	-	-	-	-	-	D fl. Sch. HK
		-	-	-	+	-	++	-	-	
		-	-	-	-	-	+	-	-	
		-	-	-	-	-	+	-	-	
364	<i>Obstipatio coli</i>	+	+	++	-	-	-	-	-	D fl. Sch. HK
		-	-	-	+	++	+++	±	±	
		-	-	-	-	+	+	+	-	
		-	-	-	-	±	+	-	-	
281	Torse v. kolonu	±	++	++	±	-	-	-	-	D fl. Sch. HK
		-	-	+	+	++	-	-	-	
		-	-	-	-	+	-	-	-	
		-	-	-	-	+	-	-	-	
308	Torse v. kolonu	++	++	+	-	-	-	-	-	D fl. Sch. HK
		-	-	-	-	+++	++	++	-	
		-	-	-	-	±	+	±	-	
		-	-	-	-	+	+	±	-	
229	<i>Obstipatio ilei</i>	+	+	-	-	-	-	-	-	D fl. Sch. HK
		+	++	-	-	-	-	-	-	
		+	+	-	-	-	-	-	-	
		±	±	-	-	-	-	-	-	
44	Invaginace	±	±	-	-	-	-	-	-	D fl. Sch. HK
		-	-	+	+	++	+	-	+	
		-	-	-	-	±	-	-	-	
		-	-	-	-	+	-	-	-	
314	Torse v. kolonu	±	++	++	±	-	-	-	-	D fl. Sch. HK
		-	-	+	+	+++	+	++	+	
		-	-	-	+	+	±	-	-	
		-	-	-	±	+	±	-	-	

406	Torse v. kolonu	++ — —	++ — —	+ + —	— — —	— ++ +	— +++ ++	— — —	— — —	D fl. Sch. HK
221	Torse v. kolonu	+ — —	+++ — —	+ ++ ±	± — —	— — —	— — —	— + —	— ++ +	D fl. Sch. HK
222	<i>Tympania</i>	+ — —	+ + —	± — —	— ++ ±	— ++ +	— +++ ±	— ++ —	— + —	D fl. Sch. HK
286	<i>Tetanus</i>	++ — —	++ — —	+ — —	— — —	— ++ ±	— ++ +	— +++ +	— + —	D fl. Sch. HK
341	<i>Tetanus</i>	+ — —	++ — —	+ — —	— ± —	— + —	— +++ +	— +++ ±	— ++ —	D fl. Sch. HK
361	<i>Tetanus</i>	++ — —	++ — —	++ — —	± + —	— + —	— ++ ±	— ++ +	— + —	D fl. Sch. HK
317	Sepse	+ — —	+++ — —	+ + —	± — —	— ++ +	— ++ +	— + +	— + —	D fl. Sch. HK
293	Intoxikace	+ — —	± — —	++ + —	— ± —	— ++ +	— ++ +	— ++ ±	— ± —	D fl. Sch. HK
326	Dystrofie jater	+ — —	++ — —	+ — +	— + ±	— + —	— ++ +	— + —	— — —	D fl. Sch. HK
191	<i>Haemoglobi- naemie paralyt.</i>	+ — —	++ — —	+ — —	— + ±	— ++ +	— ++ —	— ++ —	— + —	D fl. Sch. HK

Výsledky a diskuse

Diázo-reakce prokazuje zřejmou přítomnost diázo-reaktivních barviv v předních částech střevního traktu našich nemocných koní. Vzhledem k častému a velmi zředěnému obsahu střev byly výsledky diázové reakce slabší ve srovnání s dřívější skupinou hladových koní. Průběh reakcí na urobiliny (reakce fluorescenční, Schmidtova, Heilmayer-Krebsova) byl obdobný jako u koní hladových. Při uvedených kolikových chorobách jsme nacházeli urobiliny v obdobných úsecích. Zajímavé je však chování urobilinů u koně č. p. 229, u něhož šlo o obstrukci ilea. U tohoto pacienta jsme prokázali urobiliny již ve dvanácterníku a jejunu. V ostatních úsecích zažívacího traktu jsme je neprokázali. Absolutní obstrukce ilea zamezila zřejmě postupu žlučových barviv do kaudálních částí a rovněž také současněmu šíření bakterií nutných k redukci žlučových barviv. Ve srovnání s dřívějšími výsledky jsme prokázali u většího počtu pacientů přítomnost urobilinů v malém kolonu. V lejunu jsme jej neprokázali.

Z pozitivních výsledků i méně citlivých zkoušek, jako se nám jeví např. zkouška Heilmayer-Krebsova, lze usuzovat na vyšší procento urobilinů ve střevním obsahu nemocných koní. Uvedená zkouška vylučuje přítomnost phyloerythrinu.

Pro názornost uvádíme obsah urobilinů měřený z pozitivních výsledků koně č. p. 221 a 222 metodou Heilmayer-Krebsovou. Činíme tak proto, aby bylo možno aspoň v hrubých rysech porovnat např. obsah urobilinů u člověka ve *faeces*, který je desateronásobně vyšší, nežli obsah urobilinů ve střevním traktu koní. Soudíme proto, že u koní se urobiliny v důsledku jejich nízkého procenta ve střevním obsahu kaudálních částí rozrušují nebo se vstřebávají dříve než odejdou výkaly z těla. Je pravděpodobné také, že vedle nízkého procenta jejich obsahu je příčinou vytrácení urobilinů z *faeces* dlouhý zažívací trakt koně. Je třeba podotknout, že urobiliny v lejunu koně se nám nepodařilo žádnou metodou prokázat, kdežto u člověka nebo psa naopak jsme nacházeli ve výkalech vysoké procento urobilinů, zjištěných metodou Heilmayer-Krebsovou (vlastní zjištění). Propočítané výsledky fluorescenční, tedy citlivější zkoušky, nemůžeme zatím z technických důvodů uvést.

Výsledky v *mg%* u zmíněných dvou koní.

Vzorec: $(v_1) 12 \cdot (v_2) 5 \cdot (v_3) 1,6 \cdot 1,36 \cdot E/(1 \text{ cm}) \cdot M$

extinkce:	221	ileum	0,13	= 17 <i>mg%</i>
E(1 cm)	221	m. kol.	0,057	= 7,4 <i>mg%</i>
	222	coecum	0,035	= 4,6 <i>mg%</i>
	222	v. slo.	0,06	= 7,6 <i>mg%</i>
	222	fl. p.	0,035	= 4,6 <i>mg%</i>

II. Množství urobilinů jednotlivých střevních úseků ve stovkách gramů

Číslo	Diagnóza	duod.	jejunum	ileum	coecum	v. sl.	flex. p.	Žal. r.	M. kol.
221	Torse kolonu	0	0	17 <i>mg %</i>	0	0	0	0	7,4 <i>mg %</i>
222	Tympania	0	0	0	4,6 <i>mg %</i>	7,6 <i>mg %</i>	4,6 <i>mg %</i>	0	0

Souhrn

Na průkazném materiálu 18 koní, stížených chorobami zažívacího aparátu i jinými chorobami, jsou podány v práci výsledky šetření žlučových barviv a urobilinů vzniklých redukčním pochodem. Z výsledků vyplývá průkaz bilirubinu a urobilinů v zažívacím traktu nemocných koní. Pro nízký obsah urobilinů v zažívadlech rovněž nemocných koní je nutné k jejich prokázání volit nejcitlivější metody. Za takovouto zkoušku pokládáme metodu fluorescenční, která současně vylučuje průkaz phylloerythrinu, barviva, které u býložravců přichází v úvahu. Výpočtem je prokázána číselně nízká kvantita urobilinů u dvou nemocných koní.

Literatura

1. Heilmayer - Krebs: Bioch. Zs., B. 231, S. 393, 1931. — 2. Homolka: Chem. diagnostika, Praha, 1956. — 3. Hořejší - Slavík: Základy chem. v. v. lékařství, Praha, 1953. — 4. Talafant: Vznik a osudy hemoglobinu a žluč. barviv. Babáková sbírka, sv. 3, 1957. — 5. Saiki: The Jap. Jour. of Gastroenterology, Vol. 3, p. 197, 1931. — 6. Watson: Annals of int. Med., Vol. 47, No. 4, p. 611, 1957.

Наличие билирубина и уробилинов в пищеварительном тракте больных лошадей

На основании доказательного материала 18 лошадей, пораженных болезнями пищеварительного аппарата и другими заболеваниями, автор излагает результаты исследования желчных красящих веществ и уробилинов, возникших вследствие редукционного процесса. Результаты указывают на наличие билирубина и уробилинов в пищеварительном тракте больных лошадей. Из-за низкого содержания уробилинов в пищеварительном тракте больных лошадей, с целью их доказательства необходимо выбирать самые чувствительные методы. Таким методом мы считаем метод флуоресценции, который одновременно исключает доказательность филоэритрина, красящего вещества, приходящего во внимание у травоядных. Путем исчисления доказано малое количество уробилинов у двух больных лошадей.

Die Anwesenheit von Bilirubin und Urobilinen im Verdauungsapparat der kranken Pferde

Auf Grund des Nachweismaterials von 18 an Verdauungsapparatskrankheiten und anderen Erkrankungen leidenden Pferden werden in der Arbeit die Ergebnisse der Untersuchung der Gallenfarbstoffe und der durch Reduktionsprozesse entstandenen Urobiline angegeben. Aus den Ergebnissen erfolgt der Nachweis von Bilirubin und den Urobilinen in dem Verdauungsapparat der erkrankten Pferde. Wegen des niedrigen Urobilinhalt in dem Verdauungsapparat der gleichfalls kranken Pferde ist es nötig zu deren Nachweis die empfindlichsten Methoden zu wählen. Für einen solchen Test halten wir die Fluoreszenzmethode, welche gleichzeitig den Nachweis von Phylloerythrin-ein Farbstoff, der bei pflanzenfressenden Tieren in Erwägung genommen werden muß, ausschließt. Durch Berechnung wird die niedrige Zahl der Urobilinenmenge bei 2 kranken Pferden nachgewiesen.

The Existence of the Bilirubin and Urobilin in the Digestive Organs of Sick Horses

In the present work the results of the experiments with the gall pigment and urobilin having their source in the process of reduction are given. Eighteen horses affected by various diseases concerning the digestive tract and even some other diseases were investigated. The results speak for the existence of bilirubin and urobilin in the digestive organs of the sick horses. As the number of the urobilin in the digestive organs of the sick horses is relatively small, the most sensitive methods are required for their discovery. As a suitable experiment we suggest the fluorescent method which at the same time eliminates the existence of phylloerythrin, the pigment, which must be taken in consideration in the herbivorous animals. The calculation proves the low quantity of urobilin with two sick horses.

I.

Sledování bilirubinaemie při akutních procesech jaterních u koní

Наблюдения за билирубинемией у лошади при острых процессах в печени

I. Tracing of Bilirubinaemia in Acute Liver Processes in Horses.

MVDr. J. KONRÁD*)

Interní oddělení krajské veterinární nemocnice v Čes. Budějovicích

Došlo dne 24. VI. 1958

Úvod

Tvorba bilirubinu z haemoglobinu, uvolňujícího se při rozpadu erytrocytů, probíhá hlavně v játrech a ve slezině. Tato okolnost zdůrazňuje velký význam poruchy jaterní činnosti v patogenezi mnohých žloutenek (Jelínek, 10).

Iktus jako klinický symptom zůstává až dosud také jedním z hlavních činitelů pro posuzování a diagnostikování jaterních afekcí ve veterinární medicíně. Třebaže iktické zabarvení viditelných sliznic není možno považovati ve všech případech za patognomický symptom pouze jaterních onemocnění, přesto převážnou část kvantitativně zjištěné bilirubinaemie (kromě haemolytického iktu), nutno vždy diferenciatně diagnosticky zaměřiti především k afekcím jaterním.

V předložené práci snažili jsme se sledovati a zhodnotiti hladinu celkového bilirubinu v séru koní při akutních patologických procesech, jak po stránce kvalitativní, tak i kvantitativní a ověřiti i takové reakce vyšetřovací, které by pro technickou nenáročnost mohly býti využity i v terénní praxi.

Literární přehled

V literárních pracích jak zahraničních, tak i domácích autorů setkáváme se s klinickým označením iktu velmi často. Většina starších prací označuje hodnotu bilirubinaemie převážně jen podle intenzity žlutavého zabarvení viditelných sliznic, především spojivky a sklery oční. Tyto údaje jsou ovlivňovány příliš subjektivním hodnocením tohoto zabarvení, aniž mohou dáti bližší přehled o skutečném kvantitativním zmnožení žlučových barviv v séru krevním, přičemž hodnota přímo a nepřímou reagujícího bilirubinu již vůbec diferencována býti nemůže.

*) Za technické spolupráce J. Vyhličky.

V tomto literárním přehledu uvádíme pouze ty citace, které si všimají především hodnot bilirubinu vzhledem k akutním procesům jaterním u koní. Práce zabývající se problematikou bilirubinaemie u zdravých zvířat, jakož i některé novější názory na vznik a vlastnosti žlučových barviv, jsou shrnuty v samostatné vlastní práci, týkající se hladiny bilirubinu v séru klinicky zdravých koní [Konrád (16)].

Jednou z prvních prací, zabývajících se i kvantitativním zjišťováním bilirubinu při různých onemocněních, u nás, je publikace Šobrova (1928). Zvýšené množství bilirubinu, kromě žďárské choroby koní, zjistil autor u krupózní pneumonie, akutních střevních chorob, morbu maculosu i u dalších vnitřních onemocnění. Zvýšené množství bilirubinu až na 50 mg % uvádí Wirth (1954), při jaterní echinokokóze, žloutence, v nižším stupni při obstrukcích, pneumoniích, myoglobinurii, infekční anemii. Hladinou bilirubinu při některých vnitřních onemocněních zabýval se již také v roce 1926 Grassnickel, a v další své práci (1930) pak i toxickým působením chloridu uhličitého (CCl_4) na parenchym jaterní. Lohraff (1931) zjišťoval zvýšení bilirubinaemie při obstrukcích caeca. Přitom nejvyšší hladina, kterou zaznamenal, dosáhla 5,24 mg %. Autor připisuje toto zvýšení hladiny působení tlaku přeplněných střev na játra. Také Reichardt (1931) považuje určování bilirubinu za důležitý prognostický a diagnostický úkon, hlavně při kolikových onemocněních, jak dokazuje na 48 vyšetřovaných případech. Zvláštní pozornost hladině bilirubinu při horečnatých onemocnění u koní, věnuje Gebauerová (1936).

Zvýšenou bilirubinaemii zjistil Nabholz (1938) rovněž při pneumoniích, zácpových kolikách, tetanu, myoglobinurii a ve dvou případech i u infekční anaemie. Vysoké hodnoty zaznamenává Vasiljev (1956) shodně se Siněvem (1946) při infekční encephalomyelitis — 12 mg %. Také Ihlenburg (1957) zjišťuje zvýšení při bornasské chorobě v průměru na 2,31 mg %. Klaus a Matthias (1958) u téže choroby v rozmezí 1,65—5,71 mg %. Ihlenburg nepovažuje však určování bilirubinu, jako diagnostickou metodu pro tuto chorobu za zvlášť vhodnou. Kudrjavcev (1953) uvádí vyšší hladiny při piroplasmóze — až 6,5 mg %. Značně vysokou hladinu 18,1 mg % zjistil Karsai (1957) při těžkém iktu s haemoglobinurií s podezřením na piroplasmózu.

Schulze a Gürtler (1957) popisují intoxikaci švédským jetelem (*Trifolium hybridum*) u 9 koní. Nejnižší naměřená hladina bilirubinu při převzetí pacientů byla 4,23 mg %, nejvyšší 12,8 mg %. V obsáhlé práci Forenbacherově (1957) zjišťujeme až 25,0 mg % bilirubinu při akutní žluté atrofii jater.

Třebaže v některých publikacích nenalézáme vždy číselné vyjádření hodnot bilirubinu (Blažek, 1955, Domanský, 1955, Fried a spol., 1956), setkáváme se v poslední době stále častěji již s nálezy bilirubinaemie, uváděnými jak kvantitativně, tak i kvalitativně.

Největší počet prací zaznamenáváme hlavně od doby, kdy se v našich zemích rozšířila tzv. „hepatocerebrální choroba“ koní, označovaná v domácí literatuře jako enzootická hepatitis (Blažek, 1955, Konrád, 1956), dystrofie jater (Šobra, 1955), enzootický iktus (Sova, 1956), encephalomyelitis s iktrem (Nový, 1956, Zendulka a Černý, 1956). Při tomto onemocnění nacházel Šobra (1956) několikanásobné zvýšení hladiny bilirubinu proti normálu. Nejvyšší hladina naměřená Blažkem (1956) dosáhla 10 mg %. Zvýšení hladiny bilirubinu při této hepatocerebrální chorobě zjišťoval rovněž Neuman, Piskač, Hruška (1956) a Konrád (1956). Posledně jmenovaný autor v jednom případě hepatodystrofie ve zvýšení až na 14 mg %.

S o v a (1957) uvádí zvýšení hladiny celkového bilirubinu až do 15 mg % při akutní leptospirozní hepatitidě, sledované celkem u 6 koní. V protikladu k nálezům Sovovým nezaznamenal Š o b r a (1956) výrazné zvýšení hladiny bilirubinu při leptospirozních invazích, uměle prováděných, a to ani při vysokých titrech kolem 50 000, kdy bilirubin zůstával v hranicích kolem 2,4–2,9 mg %. K přechodnému výkyvu hladiny na 4,5–5,0 mg % došlo u jednoho koně v důsledku vysokých infekcí, převážně kultur *Leptospira grippotyphosa*.

Ve své biochemické a histologické studii uvádí Z í c h a a B l a ž e k (1956), kromě dalších nálezů, i zvýšení bilirubinu na 5 mg % při akutní hepatitidě.

Při zjišťování hladiny bilirubinu v séru krevním u koní připisuje Š o b r a (30) zvlášť důležitý význam kvalitnímu určování. Podle jeho zjištění dává bilirubin v séru koní vždy reakci přímou. V séru bývá i při normálním obsahu bilirubinu přímý i nepřímý, ale rozdíl jsou v kvalitním vývoji této reakce. Autor uvádí přímou, rychlou reakci podle V. d. Bergha, kdy po 30 vteřin vzniklý červený prstenec nabývá rychle na šíři a intenzitě; případně dvojfázovou, která vzniká ihned jako slabý prstenec a ve třech minutách se vyvine do širokého prstence. Tyto reakce zjišťované při těžkých dystrofických stavech jater, nenacházíme u normálních sér, kde bilirubin dává reakci slabou přímou, velmi volně se vyvíjející tak, že slabý červený prstenec vzniká do 3 minut.

Metodika práce

K sledování hladiny bilirubinu v séru koní stížených chorobnými stavy jater, byli především vybíráni pacienti hospitalisovaní na interním oddělení KVN v období 1956–1958.

Krev byla ve všech případech odebírána z *vena jugularis*, a to u koní hospitalisovaných vždy krátce po převzetí pacienta a při sledování dynamiky procesu (opakovaná vyšetřování) vždy kolem desáté hodiny dopolední.

Kvalitní zjišťování bilirubinu se provádělo reakcí podle V. d. Bergha v modifikaci podle Komaricyna, posuzováním vývoje barevné reakce na styčné ploše séra a navrstveného diázového činidla. Okamžitá přímá reakce jest v tabulkách označena +, tzv. dvojfázová + — a jako — je označena mírná, volně vznikající reakce, charakterizovaná slabým načervenalým proužkem na styčné ploše. Orientační rozlišení přímo a nepřímo reagujícího žlučového barviva se ověřovalo metodou podle K u c h a ř e (18) za použití zjišťovaného séra, 12 % vodného roztoku síranu sodného a chloroformu. Po centrifugaci dochází k rozlišení přímo a nepřímo reagujícího bilirubinu v podobě tří vrstev, z nichž horní obsahuje p ř í m ý, dolní p a k n e p ř í m ý bilirubin. Obě vrstvy jsou odděleny vrstvou bílé sraženiny. Výsledky těchto vyšetření jsou uvedeny v tabulkách ve formě zlomku (čítatel=přímý, jmenovatel=nepřímý bilirubin s označením +, —).

Hladinu celkového bilirubinu jsme sledovali metodou podle J e n d r a s s i k a a G r o f f a (11) na Pulfrichově fotometru při použití filtru S 61.

Současný patologický stav jaterní buňky byl v některých případech zároveň ověřován histologicky z jaterních vzorků získaných intravitální punkcí, případně ze vzorků odebraných při sekci. Biopsie jater byla prováděna technikou popsanou již dříve (K o n r á d, 1958). Stručný histologický nálezn jest uváděn u příslušného případu v jednotlivých tabulkách.

Histologická vyšetřování prováděla Histo-patologická laboratoř SVVÚ Praha — dr. K. Blažek, kterému patří náš dík za ochotnou spolupráci.

Vlastní sledování

V diagnostice jaterních onemocnění ve veterinární medicíně setkáváme se nejčastěji s poruchami patologického charakteru, převážně akutního průběhu, případně s takovými klinickými symptomy, které lze považovat za časný stav choroby.

Dosavadní klinická diagnostika nemůže často přesně hodnotit klasifikaci klinického syndromu podezřelého z patofyziologické poruchy jaterní tkáně. Klinická diferenciaci různých druhů ikterů (kromě haemolytické žloutenky), kdy není ještě atakována jaterní buňka, a kritického přechodu počátku zánětlivých a degenerativních změn jaterního parenchymu, jest diagnosticky prakticky nemožná.

Klinické příznaky těchto akutních stavů (pokud nejde o zvlášť těžké průběhy), bývají v celku velmi obdobné. Všeobecně nezjišťujeme zvýšení teploty (kromě chorobných stavů v průběhu jiných samostatných onemocnění jako je leptospirozní hepatitis, IEM; není dosud ani jednotného názoru na počáteční výši teploty v průběhu tzv. Enzootické hepatitis). Další klinický obraz jest charakterisován výraznou počáteční inapetencí, trvající jen několik málo dní, celkovou apatií, somnolencí, bez zvláštních změn na pokožce. Nápadné příznaky sledáváme na zažívacím ústrojí. Sliznice dutiny ústní jest suchá, mírně lepkavá, většinou s ikterickým nádechem. Činnost střevní zpomalená, někdy, hlavně v počátečním stadiu, je peristaltika zcela sistována. Katarální změny na sliznici střevní bývají méně časté. Charakteristická jsou *faeces* svou suchostí, tmavší barvou; bývají i drobnější s mírným povlakem hleny.

Nejnápadnějším symptomem zůstává různě výrazný ikterus viditelných sliznic, především pak spojivky oční, u klisen dobře patrný i na sliznici poševní, zvláště kolem klitoris.

Dýchací aparát nebývá zvlášť postižován, pokud nejde o komplikované případy. Podle závažnosti chorobného procesu je atakována i činnost srdeční a nervová soustava. Těžké celkové změny s nebezpečnými excitacemi pozorujeme hlavně v průběhu dystrofických stavů, jak se často vyskytovaly u enzootické hepatitidy v letech 1955—57.

Dynamika těchto akutních projevů jaterní insuficience bývá většinou krátkodobá, rychle vznikající a podle závažnosti stavu jest dirigována i délka onemocnění. Excitační stadia probíhají bouřlivě a končí smrtí v krátkém intervalu jednoho až tří dnů. Ostatní případy vyžadují 14denní až třítýdenní ošetřování.

Podrobnou klinickou symptomatologií těchto akutních stavů jaterních lézí v průběhu enzootické hepatitidy zabýval se u nás hlavně Š o b r a (1955, 1956), B l a ž e k (1956), K o n r á d (1956).

V naší sestavě sledovaných pacientů s výrazným projevem ikteru i ostatních symptomů, jak byly popsány výše, zjišťovali jsme u 7 koní opakovaně hladinu celkového bilirubinu a u 17 případů jednorázově (tab. I, Ia). V posledních případech (jednorázové vyšetření), šlo většinou o krevní vzorky odebrané těsně před exitem.

Vysvětlivky zkratk v tabulkách:

V — valach, kl — klisna, B — biopsie jater s příslušným datem odběru, H — histologický nálezn, A — ambulantní vyšetření a odběr krve, D — propuštěn z ústavního ošetřování, (u ambulantních případů — uzdraven), NP — nutná porážka koně, J — pitevní nálezn při sekci.

I. Akutní procesy jaterní
(Opakovaná vyšetřování)

Číslo koně	Pohlaví	Stáří r.	Příchod	Klinická diagnóza:	Odběr krve	Bi. celk. mg %	V. d. Bergh	Kuchař	Poznámka
1	kl	8	12. 7.	<i>Hepatitis enzootica</i>	14. 7. 18. 7. 23. 7.	3,58 2,14 1,12	— — —	++/++ +/- +/-	D
2	kl	8	18. 7.	<i>Hepatitis suspecta</i>	20. 7. 21. 7. 9. 8.	2,57 2,62 2,30	— — —	+/-	B: 19. 7. H: Ložisková nekrobiosa jaterní tkáně D
3	V	11	20. 7.	<i>Hepatitis enzootica</i>	20. 7. 21. 7. 27. 7. 28. 7.	9,10 11,23 3,66 2,99	+ + +- —	++/++ ++/++ +/-	D
4	V	6	20. 8.	<i>Hepatitis enzootica</i>	21. 8. 22. 8. 14. 9.	4,54 5,08 1,39	+ + —		D
5	V	10	29. 6.	Alimentární intoxikace <i>Icterus catharalis</i>	1. 7. 2. 7. 5. 7. 13. 7.	5,88 4,87 2,62 1,39	+ + — —	++/- ++/- +/- +/-	B: 1. 7. H: bez patologického nálezu D
6	V	10	9. 9.	<i>Hepatodystrofie</i>	9. 9. + 9. 9.	9,89 14,98	+	++/++	H: Diffusní parenchymatózní hepatitis NP (+ druhý vzorek krve odebrán před odporažením)
7	kl	9	7. 2.	Alimentární intoxikace <i>Icterus</i>	7. 2. 8. 2. 10. 2. 12. 2.	3,79 2,46 2,88 1,76	— — — —	+/- +/- +/- -/-	B: 7. 2., 12. 2. H: bez výrazného patologického nálezu D

I. a Akutní procesy jaterní
(jednorázové vyšetření)

Číslo koně	Pohlaví	Stáří r.	Příchod	Klinická diagnóza:	Odběr krve	Bi. celk. mg %	V. d. Bergh	Kuchař	Poznámka
8	kl	6	11. 9.	Hepatodystrofie	11. 9.	12,50	+	++/++	H: Akutní degenerativní hepatitis NP
9	kl	—	12. 9.	<i>Ikterus gravis</i>	12. 9.	10,16	+-	++/++	H: Akutní parenchymatosní hepatitis, s pokročilými regresivními změnami jaterních buněk NP
10	V	8	3. 10.	Hepatodystrofie	3. 10.	10,48	+	++/++	H: Hepatitis se zvratem ve žlutou jater. atrofii NP
11	V	8	22. 10.	<i>Hepatitis enzootica</i>	22. 10.	7,65	+-	++/++	NP
12	kl	15	19. 8.	Hepatodystrofie	19. 8.	12,30	+	++/++	NP, A
13	—	—	10. 9.	<i>Hepatitis enzootica</i>	10. 9.	12,30	+	++/++	NP, A
14	kl	8	22. 3.	<i>Hepatitis enzootica</i>	24. 3.	5,35	—	+-/++	NP
15	kl	3	24. 8.	Alimentární intoxikace	23. 8.	12,84	+	++/++	A
16	V	14	2. 6.	<i>Hepatitis? Ikterus</i>	3. 6.	3,15	+-	+/+	NP
17	kl	14	6. 2.	<i>Ikterus catharalis</i>	6. 2.	5,32	—	+/+-	NP
18	V	8	28. 1.	<i>Ikterus catharalis</i>	27. 1.	5,03	—	++/+-	D, A
19	V	10	17. 9.	<i>Hepatitis enzootica</i>	17. 9.	6,42	—	+/+	B: 17. 9. H: Odezňivající hepatitis D
20	kl	9	27. 6.	<i>Ikterus Intoxikace</i>	25. 6.	7,27	+	++/++	A
21	—	—	13. 6.	<i>Hepatitis enzootica</i>	?	3,85	—	+/+	A — zasláno poštou ikterus na ústupu
22	kl	10	5. 7.	<i>Ikterus. Intoxikace</i>	5. 7.	2,41	—	+-/-	A, D (<i>Trifolium hybridum</i>)
23	kl	8	5. 7.	<i>Ikterus. Intoxikace</i>	5. 7.	2,57	—	++/+-	A, D (<i>Trifolium hybridum</i>)
24	kl	3	19. 2.	<i>Hepatopathie</i>	19. 2.	7,75	+-	+/+	NP

Obě tabulky této sestavy zahrnují chorobné stavy jaterní, označované dosud jako tzv. enzootická hepatitis, hepatodystrofie (v průběhu enzootické hepatitis a hepatitid jiného původu), ikterus v průběhu alimentární intoxikace, ikterus známé etiologie i neznámého původu a stavy, u nichž nebylo možno stanovit bližší zařazení do určité skupiny. Pokud byla prováděna současně biopsie jater, zaznamenáváme i stručný histologický nálezn. U koní s opakovaným sledováním hladiny bilirubinu, byla zároveň aplikována běžně užívaná léčiva v terapii jaterních lézí (glukóza, insulin, vitaminy, cardiaca, antibiotika, dieta).

Hodnocení bilirubinaemie při akutních procesech jaterních

Tabulka I zachycuje 7 případů různých druhů akutních hepatopatií, z nichž jeden (č. 6) končil letálně. U tohoto případu byla také zjištěna vysoká hladina bilirubinu, a to 14,98 mg %, krátce před nutným odporažením. Rozdíl 5,09 mg % Bi. v intervalu osmi hodin od přijetí do ošetření, svědčí o rychlosti pokroku dystrofických změn v játrech.

Výšku hladiny bilirubinu nutno hodnotit v komplexu celkového zdravotního stavu, o čemž svědčí pacient č. 3, kdy poměrně vysoká hladina bilirubinu po přijetí do ústavního ošetření, byla následujícího dne vystřídána ještě dalším zvýšením až na 11,23 mg % a přesto konečný průběh choroby byl příznivý. Šlo však o případ, kde se nedostavily komplikace se strany nervového aparátu (excitace).

U případů s benigním průběhem vrací se hladina bilirubinu k normálu obyčejně během týdne až 14 dnů, podle závažnosti postižení jaterního parenchymu (č. 1, 3, 5, 7).

Zvláštní postavení zaujímá případ č. 2, kde histologické vyšetření bioptického vzorku zaznamenalo ložiskovou nekrobiózu jaterní tkáně. Přes tento patologický stav jater nedosahuje však bilirubin tak výrazného zvýšení, jak by se snad očekávalo, a během dvaceti dnů se stále udržuje hladina v rozmezí 0,32 mg % na výši 2,30–2,62 mg %, bez tendence klesání k normálu, přes úsilivnou symptomatickou léčbu.

Kromě koně č. 3 nedosáhla hladina bilirubinu v průběhu E. H. i ikterů bez jasné etiologie (kromě č. 6), zvláště vysokých hodnot; nejvyšší (č. 5) 5,88 mg %. Naproti tomu tabulka Ia zachycuje převážně případy letálně končící, kde současně také hladiny bilirubinu jsou mnohem vyšší než u případů předcházejících. U deseti koní, kde došlo k exitu, pohybuje se hladina bilirubinu od 7,65 mg % až do 12,5 mg %.

Alimentární intoxikace švédským jezelem u č. 22, 23, neprokázala v době odběru krve nápadné zvýšení bilirubinu v séru krevním, třebaže v obou případech byly ještě patrné i klinické symptomy v podobě inapetence, somnolence a ochablosti.

V celé sestavě upoutává pozornost kůň č. 5 a č. 7, kde v prvním případě po přijetí do ústavního ošetření byla zjištěna hladina 5,88 mg % s celým komplexem klinických příznaků a výrazným ikterem viditelných sliznic. Přesto u obou koní nebyly histologickým vyšetřením jaterních vzorků zjištěny podstatné patologické změny, i když u prvního případu byla okamžitá přímá reakce podle V. d. Bergha pozitivní a rovněž i reakce přímo reagujícího bilirubinu.

Jakostní sledování přímo a nepřímou reagujícího bilirubinu podle Kuchaře, potvrzuje ve všech případech pozitivní reakci na přímý bilirubin. Přitom nepřímou reagující bilirubin u opakovaně sledovaných případů s benigním průběhem jest většinou negativní. Také kvalitní sledování Bi. podle V. d. Bergha prokázalo ve většině případů letálně končících, okamžitou přímou reakci ve formě rychle vzni-

kajícího sytě červenofialového prstence na styčné ploše séra a diázočinnidla, často již do 15—20 vteřin. V těch případech, kde byla tato okamžitá přímá reakce zjištěna u pacientů, kteří byli po léčení propuštěni z ústavního ošetřování, bylo možno tuto reakci a její pozvolné zanikání velmi dobře hodnotit vzhledem k prognóze chorobného stavu, ověřované současně i klesáním hladiny bilirubinu (č. 3, 4, 5). Ze 49 pozitivních vyšetření okamžité přímé reakce podle V. d. Bergha, byla tato zjištěna při nejnížší hladině celkového bilirubinu 4,54 mg %.

Diskuse

V předložené práci bylo vyšetřeno celkem 24 koní stížených různými akutními patologickými afekty na játrech. Kvantitativní zjišťování hladiny celkového bilirubinu bylo prováděno fotometricky metodou podle Jendrassika a Grofa.

Kromě toho byla provedena vyšetření, která sledovala metodou podle Kuchaře přítomnost přímého a nepřímého bilirubinu a vyšetření podle V. d. Bergha v modifikaci Komaricyna. Poslední reakce jesta považována Š o b r o u (30) za zvlášť diagnosticky i prognosticky důležitou při hodnocení vážnosti dystrofických stavů jater, pokud se týká kvalitního zjišťování bilirubinu v séru koní.

Různé hepatopatie zahrnuté do společné sestavy „Akutní chorobné stavy jater“, vykazují u většiny případů značně zvýšenou hladinu bilirubinu. Zvláště stavy provázené klinicky nervovými příznaky v průběhu akutních hepatitid, kdy histologické vyšetření současně zaznamenává nekrobiózu až nekrózu jaterních buněk, vykazují hladinu mnohonásobně zvýšenou. Za fyziologické hodnoty u klinicky zdravých koní považujeme hladinu bilirubinu v rozmezí 0,21—2,0 mg % (K o n r á d, 16).

Zhoršování patologického stavu parenchymu jaterního a tím i zvyšování hladiny Bi. může v některých případech postupovati velmi rychle (č. 6). Jak prokázala kvalitní vyšetřování na přímo a nepřímo reagující žlučová barviva, jest zřejmé, že v konečné fázi onemocnění dochází i k haemolytickým projevům v organismu, o čemž svědčí silně pozitivní reakce na nepřímý bilirubin. Tyto haemolytické projevy v organismu zdůvodňují pak i výraznější zvýšení hladiny celkového bilirubinu v konečném stadiu onemocnění.

Výšku hladiny Bi. při akutních procesech jaterních nutno prognosticky posuzovati opatrně a v komplexu celkového zdravotního stavu pacienta. I vysoká hladina Bi. nemusí mít vždy infaustní prognosu (č. 3). Klesání hladiny a zanikání okamžité přímé reakce V. d. Berghovy posuzujeme prognosticky za příznivý zvrát, jak na to již upozornil ve své práci, týkající se hepatocerebrálních onemocnění koní Š o b r a (30).

Podle našich zkušeností klesá hladina Bi. k normálu během týdne až 14 dnů. Závažnost chorobného procesu a zlepšování celkového klinického stavu pacienta, jsou hlavními činiteli, kteří toto patologicky zvýšené množství Bi. podmiňují. Excitací projevy zhoršují vždy chorobný proces a způsobují i nepříznivé zvedání hladiny bilirubinu.

V naší sestavě akutních stavů jaterních, především parenchymatózních a degenerativních hepatitid v průběhu tzv. enzootické hepatitis, nezaznamenali jsme vyšší hodnoty Bi. než 14,98 mg %. Nejvyšší hodnoty nalezené u této choroby B l a ž k e m (2) dosahují 10 mg %.

Hladiny nad 15 mg % Bi. nebývají již tak častým nálezem a objevují se v literárních údajích K a r s a i (12), S o v a (27), hlavně při piroplasmóze a lep-

tospiróze koní, třebaže Š o b r a (30), při umělých infekcích virulentními kmeny leptospir podobných nálezů nezaznamenal.

Hladinu, kterou zjistil v séru koní po intoxikaci švédským jetelem (*Trifolium hybridum*) S c h u l z e a G ü r t l e r (25) nemůžeme s našimi případy porovnávat (č. 22, č. 23) — neboť v době, kdy bylo ambulantně prováděno vyšetření těchto koní, byl již ikterus na ústupu. V této sestavě zaznamenali jsme i případ jaterní laese, charakterisovaný histologicky ložiskovou nekrobiózou jaterních buněk. Hladina Bi. nedosáhla však u tohoto koně výraznějšího zvýšení (2,30 až 2,62 mg %), ale nebyla pozorována ani tendence k ústupu během 20 dnů, třebaže byla pacientu věnována denní léčebná péče. Tak vysokých hodnot (až 25,0 mg %), které uvádí Forenbacher (4) při akutní žluté atrofii jater, neměli jsme možnost v žádném případě zaznamenat.

Zajímavé kontrastní nálezy vykazují koně (č. 5 a č. 7), kde šlo v prvním případě o dosti vysokou hladinu celkového Bi. s pozitivní přímou okamžitou reakcí podle V. d. Bergha, třebaže histologický nález bioptických vzorků v obou případech byl bez výrazného patologického nálezu. I když etiologicky byla podezírána alimentární intoxikace, zůstávají oba případy bez bližšího objasnění pozitivity okamžité přímé reakce V. d. Berghovy, vysoké hladiny bilirubinu a téměř negativně reagujícího nepřímého bilirubinu a nevýrazného histologického nálezu. Oba případy podmiňují jistě další intenzivní výzkum v oblasti diagnostiky jaterních chorob u zvířat i pokud se týká biochemismu žlučových barviv. Tyto iktery bylo by snad možno klinicky označiti jako posthepatické.

Kvalitní reakce podle V. d. Bergha ukázala se jako vhodná diagnostická i prognostická zkouška pro hodnocení bilirubinaemie i sledování dynamiky patologického procesu v játrech především u akutních a těžších poruch jaterních, kdy dochází k destrukcím jaterního parenchymu.

Metodou zjišťování přímého a nepřímého Bilirubinu podle Kuchaře lze označiti pouze za orientační diagnostickou reakci, která do značné míry podléhá subjektivním vlivům posuzovatele, zvláště pokud jde o odhadování množství přímého a nepřímého Bi. podle intensity žlutého zabarvení výsledné reakce (č. 22). Při hodnocení s celkovým množstvím Bi. však přece vhodně doplňuje obraz o jakostních vlastnostech bilirubinaemie. Pro technickou jednoduchost i materiální nenáročnost na reagencie, hodí se velmi dobře, stejně tak jako reakce s diázočínidlem i pro příruční laboratoře pracovníků přímo v terénu.

Souhrn

Předložená práce zabývá se sledováním hladiny celkového bilirubinu u 24 koní, stížených různými akutními patologickými afekty na játrech.

Hladina bilirubinu byla zjišťována fotometricky, kvalitní zjišťování pak reakcí podle V. d. Bergha a reakcí podle Kuchaře. Současný stav jaterní buňky byl ověřován histologickým vyšetřením vzorků, získaných intravitální punkcí jater.

Akutní procesy jaterní, zvláště pak stavy provázené klinicky nervovými příznaky, charakterizované histologicky nekrobiózou až nekrózou jaterních buněk, vykazují hladinu mnohonásobně zvýšenou. Nejvyšší naměřená hladina dosáhla 14,98 mg % bilirubinu.

Zvýšení hladiny celkového bilirubinu v konečné fázi onemocnění podmiňují i haemolytické projevy v organismu, jak prokázala vyšetřování na přímo a nepřímo reagující žlučová barviva.

Patologické zvýšení hladiny u akutních procesů ustupuje k normálu během jednoho týdne až 14 dnů.

Výšku hladiny bilirubinu při akutních procesech nutno prognosticky posuzovati opatrně v komplexu hodnocení celkového klinického stavu pacienta.

Nebyly blíže objasněny případy okamžité přímé reakce podle V. d. Bergha a zvýšení hladiny celkového bilirubinu až na 5,88 mg % u dvou koní, kdy současné histologické vyšetření biotických vzorků bylo bez výrazného nálezu. Oba případy poukazují na nutnost dalšího výzkumu v oblasti biochemismu žlučových barviv.

Kvalitní reakce podle V. d. Bergha ukázala se jako vhodná diagnostická i prognostická zkouška pro hodnocení bilirubinaemie i dynamiky patologického procesu u akutních a těžších hepatopatií. Zároveň s reakcí podle Kuchaře, která umožňuje orientační sledování přímo a nepřímo reagujícího bilirubinu, doporučují se obě pro technickou jednoduchost, jako použitelné metody i pro pracovníky v terénu.

Literatura

1. Blažek: Enzootická hepatitis (enzootický ikterus) koní, Veterinářství, V, 9, 278, 1955. — 2. Blažek: Příspěvek k enzootické hepatitidě koní, Sborník ČSAZV, Veter. medicina, XXX, 3, 157, 1956. — 3. Domanský: Dlouhodobá leptospiroza u koně, Veterinářství, V, 12, 356, 1955. — 4. Forenbacher: Uporedna istraživanja o metabolizmu bilirubina kod konja sa zdravom i bolesnom jetrem, Veterinarski Arhiv, XXVII, 9, 245, 1957. — 5. Fried, Hrudka, Vrtiak, Kněžík, Lopuchovský: Naše doterajšie skúsenosti s enzootickou hepatodystrofiou s cerebrálnymi príznakmi na východnom Slovensku, Veterinářství, VI, 8, 227, 1956. — 6. Gebauerová: Der Bilirubinspiegel im Blutserum bei fieberhaften Erkrankungen der Pferde, I. D. Berlin, 1936. — 7. Grassnickel: Die Bestimmung und Bedeutung des Bilirubins im Blutserums der Pferde, I. D. Berlin, 1926, cit. z č. 6. — 8. Grassnickel: Der Bilirubinspiegel des Blutes nach Tetrachlorkohlenstoffgabe beim Pferde, Arch. f. wiss. u. prakt. Tierheilkunde, 2, 1930, cit. z č. 20. — 9. Ihlenburg: Zur Epidemiologie, Diagnose und Behandlung der Bornaschen Krankheit, Arch. f. Exp. Vet. med., XI, 5, 835, 1957. — 10. Jelínek: Patologická fyziologie, SPN, Praha, 1953. — 11. Jendrassik, Grof: Biochem. Z. 297, 81, 1938. — 12. Karsai: Untersuchungen zur Diagnose der Leberkrankheiten von Pferde, Acta veter. Hung. VII, 2, 221, 1957. — 13. Klaus, Matthias: Das Verhalten des Serum-bilirubinspiegel bei der Bornaschen Krankheit, Arch. f. Exp. Vet. med. XII, 1, 152, 1958. — 14. Konrád: Příspěvek ke klinickému průběhu tzv. enzootické hepatitidy u koní, Veterinářství, VI, 10, 295, 1956. — 15. Konrád: Intravitální punkce (biopsie) jater u koní z hlediska klinické diagnostiky, Sborník ČSAZV, Veter. medicina, XXXI, 5, 367, 1958. — 16. Konrád: Hladina celkového bilirubinu v seru klinicky zdravých koní, Sborník ČSAZV, Veter. medicina, XXXII, 4, 309, 1959. — 17. Kudrjavcev: Isledovanija krovi v veterinarnoj diagnostike, Moskva, 1953. — 18. Kuchař: cit. Netoušek, Nauka o krvi, str. 281, Praha, 1949. — 19. Lohraff: Der Bilirubinspiegel im Blutserum bei an Blindarmverstopfung erkrankten Pferden, I. D. Berlin, 1931, cit. z č. 6. — 20. Nabholz: Quantitative Bilirubinbestimmung im Blutserum von Pferd und Rind, I. D. Zürich, 1938. — 21. Neuman, Piskač, Hruška: Biochemické nálezy při dystrofii jater koní, Veterinářství, VI, 1, 17, 1956. — 22. Nový: Infekční encephalomyelitis koní, Veterinářství, VI, 1, 11, 1956. — 23. Reichardt: Der Bilirubinspiegel im Blutserum kolikkranker Pferde, ein prognostisches Hilfsmittel, I. D. Berlin, 1931, cit. z č. 20. — 24. Siněv: Kliničeskaja

diagnostika vnutrenych boleznej domašnich životnych, Moskva, 1946. — 25. Schulze, G ürtler: Ein Beitrag zur Schwedenkleevergiftung des Pferdes, Mnhft. f. Vet. med. XII, 15, 401, 1957. — 26. Sova: Klinická studie enzootického ikteru u koní v pardubickém kraji, Veterinářství, VI, 1, 13, 1956. — 27. Sova: Příspěvek k diferenciální diagnóze leptospirosy a enzootické hepatitidy koní, Sborník ČSAZV, Veter. medicina, XXX, 10, 681, 1957. — 28. Šobra: O obsahu bilirubinu v seru koně se zřetelem k ikteru a jeho změně při kalciové léčbě žďárské choroby, Klinické spisy, VŠZ, VI, 307, 1928. — 29. Šobra: Klinika leptospirosy a dystrofie jater koně, Veterinářství, V, 12, 353, 1955. — 30. Šobra: Hepatocerebrální nemoc koní a její vztah k leptospirose a jiným nemocem s těžkým ikterem, Sborník ČSAZV, Veter. medicina, XXIX, 10, 757, 1956. — 31. Vasiljev: Diagnostika vnutrenych boleznej domašnich životnych, Moskva, 1956. — 32. Wirth: Grundlagen einer Klinischen Hämatologie der Haustiere, Wien, 1950. — 33. Zendulka, Černý: Příspěvek k etiologii onemocnění koní, probíhajícího za příznaků encephalitidy a ikteru, Veterinářství, VI, 1, 20, 1956. — 34. Zícha, Blažek: K biochemickému obrazu enzootické hepatitidy koní, Sborník, ČSAZV, Veter. medicina, XXIX, 10, 693, 1956.

Наблюдения за билирубинемией у лошади при острых процессах в печени

В предлагаемой статье автор занимается исследованием количества всего билирубина у 24 лошадей, пораженных разными острыми патологическими заболеваниями печени.

Автор устанавливал количество билирубина фотометрическим путем. Установление билирубина велось по реакции Ван ден Берга и по реакции Кухаржа. Состояние печеночной клетки проверялось путем гистологического исследования проб печени, полученных интравитальной пункцией печени.

Острые печеночные процессы, в особенности состояния, сопровождающиеся клинически нервными признаками, гистологически характеризованные некробиозом, даже некрозом печеночных клеток, показывают в несколько раз большее количество. Максимальное количество всего билирубина, полученное при измерении, составляло 14,98 мг%.

Повышенное количество всего билирубина в окончательной фазе заболевания обуславливается также гемолитическими проявлениями в организме, как доказали исследования прямо и непрямо реагирующих желчных красящих веществ.

Патологическое повышение уровня при острых процессах приближается к норме в течение 1—2 недель.

При острых процессах необходимо, с точки зрения прогноза, тщательно оценивать билирубин, в комплексе оценки общего клинического состояния пациента.

Не были объяснены подробно случаи внезапной прямой реакции по Ван ден Бергу и повышение содержания всего билирубина даже до 5,88 мг% у двух лошадей, когда одновременное гистологическое исследование биоптических образцов не показало явных изменений. Оба случая указывают на необходимость дальнейшего исследования в области биохимизма желчных красящих веществ.

Реакция по Ван ден Бергу оказалась хорошей диагностической и прогностической пробой для оценки билирубинемии и динамики патологического процесса при острых и более серьезных заболеваниях печени. Наряду с реакцией по Кухаржу, которая дает возможность в порядке ориентировки следить за прямо и непрямо реагирующим билирубином, автор рекомендует обе реакции — ввиду их технической несложности — в качестве хороших методов для работников практики.

I. Tracing of Bilirubinaemia in Acute Liver Processes in Horses.

The paper deals with tracing the total bilirubin levels in 24 horses affected with various acute pathological processes in liver.

The bilirubin levels were studied by photometric method, the quality evaluated by reactions according to V. d. Bergh and Kuchař. The simultaneous state of liver cells was controlled by histological examination of liver samples gained by intra-vital liver puncture.

Acute liver processes, especially states associated with clinical nervous symptoms, of which necrobiosis, even necrosis of liver cells was typical, show levels increased many times. The highest level measured amounted to 14,98 mg % of bilirubin.

Increased total bilirubin levels in the final stage of the disease stipulate also haemolytic phenomena in the organism as has been proved by investigation tests on directly and indirectly reacting gall-dyes.

Pathological rise of the level in acute processes falls down to the normal within 1—2 weeks.

The height of bilirubin level in acute processes should be considered cautiously in prognosis in the complex of evaluating the general clinical state of the patient.

Two cases of immediate direct reaction according to V. d. Bergh and level increase of the total bilirubin up to as much as 5,88 mg % in 2 horses when in simultaneous histological examination of biopsies no marked finding was detected, could not be elucidated more clearly. Both cases evidence the necessity of further research in the realm of gall dyes biochemistry.

The quality reaction according to V. d. Bergh proved as both diagnostic and prognostic suitable test for evaluating bilirubinaemia and dynamics of the pathological process in acute and severer hepatopathies. Together with the reaction according to Kuchař allowing the orientation tracing of directly and indirectly reacting bilirubin both (on account of their technical simplicity) are recommended as applicable methods also for veterinarians in field practice.

II.

Sledování bilirubinaemie při vleklých procesech a cirhósách jater

Наблюдения за билирубинемией при затяжных процессах и циррозах печени

II. Tracing of Bilirubinaemia in Chronic Processes and Liver Cirrhoses.

MVDr. J. KONRÁD

Interní oddělení krajské veterinární nemocnice v Čes. Budějovicích

Došlo dne 24. VI. 1958

Ú v o d

V předcházející práci podali jsme výsledky našeho sledování bilirubinaemie při některých akutních patologických stavech jater (7). Vzhledem k tomu, že se u nás velmi často, proti ostatním krajům, setkáváme s klinickými projevy hepatopathií, charakterizovanými v konečném stadiu cirhotickými stavy v průběhu tzv. žďárské choroby koní, podáváme v této práci získané zkušenosti s možností využití kvantitativního zjišťování celkového bilirubinu v klinické diagnostice jaterních cirrhos i protrahovaných procesů.

Poněvadž klinická diagnostika jaterních chorob ve veterinární medicíně všeobecně, je velmi obtížná a zvláště pak u chronických a cirhotických stavů, nesetkáváme se ani v odborné literatuře s větším počtem prací, které by se blíže zabývaly otázkou kvantitativního určování bilirubinu při těchto onemocněních. Jejich diagnostikování bývá také, kromě konečných stadií žďárské choroby, většinou až *post mortem*, při sekci.

I když klinický příznak „ikterus“ u těchto jaterních lézí je citován mnohými autory, a to nejen ze starších let, ale stále ve větší míře i z doby současné, nebývá však zmnožení žlučových barviv blíže vyjadřováno kvantitativně (J i ř í k o v s k ý, 1921, K r á l, 1922, N ě m e č e k, 1927, E n g e l h a r d t, 1934, L u k e š, Č e c h, 1948, P r o c h á z k a, 1948, L u k e š, 1949).

Již v roce 1928 zjišťoval Š o b r a (13) zvýšení obsahu bilirubinu, často značného stupně, zvláště u případů s latentním průběhem žďárské choroby, zatím co v lehčích případech byla hladina normální nebo mírně zvýšená. Číselné údaje porovnával autor se standardou v kolorimetru podle Autenrietha-Königsberga i v kolorimetru modifikovaném Haselhorstem.

Poměrně vysoké hodnoty při cirhósách uvádí W i r t h (16). Podle zkušeností Z í c h y a B l a ž k a (1956) udržuje se bilirubin při chronické hepatitis bez přestavby v hranicích normálu a při subakutní hepatodystrofii na přechodu

ve fibrózu, zjistili v jednom případě zvýšení během choroby na 7 mg %, třebaže určení bilirubinu v konečném stadiu nemohlo být provedeno vzhledem k hemolytickému syndromu.

V a n ě k (1956) zjistil u pokusné třináctileté klisny, u níž bylo během 87 dnů zkrmeno 147 kg starčku barbarkolistého (*Senecio barbareiifolius*) 10,7 mg % bilirubinu v séru krevním, a po 17denní přestávce zkrmeno během dalších 86 dnů ještě 53 kg starčku. Klinický i pitevní nález u této klisny připomínal obraz žďárské choroby koní.

Sledováním celkového, přímého i nepřímého bilirubinu u chronické intersticiální hepatitidy i u cirrhos jaterních zabýval se F o r e n b a c h e r (1957). Při chronických zánětlivých procesech nacházel celkový bilirubin v rozmezí 0,5 mg % až 2,27 mg %, v průměru 1,17 mg %, zatím co u cirrhos v rozsahu od 0,71 do 5,0 mg %. Zvýšené hodnoty zjišťoval především u hypertrofických cirrhos, zatím co atrofické vykazovaly hodnoty pohybující se kolem fyziologických hranic (0,71 až 2,5 mg %).

Kvalitním vyšetřováním bilirubinu u koní stížených fibrózou jater žďárského typu se zabývali L u k e š a Č e c h (1948). Autoři na základě svých výsledků udávají, že vyšetřování bilirubinaemie metodou podle V. d. Bergha není u těchto koní doporučitelné. Kvantitativní nálezy nejsou citovány. Diázo-reakci u jaterních onemocnění koní sledoval také F o r e n b a c h e r (1957) a zjistil u chronické intersticiální hepatitidy pozitivní dvojfázovou prodlouženou reakci ve 22 % a negativní reakci v 78 %. Podobné výsledky vykazovaly i koně stížené cirrhózou jater. V žádném případě nebyla zjištěna pozitivní okamžitá přímá ani dvojfázová okamžitá reakce.

Vlastní pozorování

Pracovní postup

Výběr nemocných koní a získávání krve a séra k určování celkového bilirubinu bylo prováděno obdobným způsobem, jak je popsáno v práci (I. část), zabývající se sledováním hladiny bilirubinu u akutních procesů jaterních (7). Do této sestavy byly zahrnuty také v menším počtu i výsledky vyšetření krevních vzorků koní, zaslaných k diagnostickým účelům z okresních veterinárních ošetřoven a od obvodních veterinárních lékařů, pro podezření z onemocnění žďárskou chorobou, pokud u nich byla tato choroba i pitvou potvrzena.

Také v této práci byl klinický stav i zjištěné hodnoty bilirubinu ověřovány se současným stavem jaterního parenchymu, histologickým vyšetřením biopsických vzorků (6), a to u všech případů, kde bylo prováděno opakované sledování. Histologická vyšetřování prováděla Histo-patologická laboratoř SVVÚ Praha — dr. B l a ž e k.

A. Hladina bilirubinaemie při chronických procesech jaterních

Proti akutním stavům v klinice a patologii jater nesetkáváme se u koní s klinickými projevy protrahovaných lézí tak často, jak by se dalo předpokládat.

Důvody tohoto „poměrně malého“ výskytu chronických hepatitid nutno především spatřovati v široké fyziologické schopnosti jater, v jejich značné regenerační schopnosti a schopnostech rychlého zastupování postižené části parenchymu

náhradními úseky, což vše nevyvolává tak nápadné klinické příznaky, které by mohly včas upozorniti na podezření protrahovaných lézí jaterních. Proto také bývají tyto stavy častějšími nálezy patologických piteven než kliniky.

Tak uvádí Jelínek (4), že choroby jater nezřídka bývají chronické povahy a velmi často souvisí těsně s jinými nemocemi. To velmi znesnadňuje analýzu poruch jaterních funkcí, důležitých pro klinické vyšetřování. I naše sestava zachycuje pouze tři případy chronického průběhu hepatitidy, potvrzené současně histologickým vyšetřením biptických vzorků. Suspektní chronické hepatitidy, pro něž jsme neměli histologických podkladů, jsme do naší sestavy nezahrnuli. Vzhledem k malému počtu těchto případů, podáváme i jejich klinickou charakteristiku.

Č. 1./A Kůň, Hd, klisna, lehký, 9r. Anamnéza: V lednu 1957 zjištěn otok zadní levé končetiny, který později přešel na spodinu břicha a na prsa. Zde došlo také k abscedaci a spontánnímu odtoku hnisu. Od té doby špatně přijímá krmivo a hubne se. Klinický nález: Výživný stav špatný, spojivka bledě růžová, spíše s anaemickým nádechem, teplota kolísá během doby léčení mezi 38,3—39,4° C. Frekvence pulsu neopatrně zvýšená (50). První ozva srdeční rozdvojená, zesílené vestikulární dýchání, zkouška na kašel pozitivní. Peristaltika střevní levostranně čilejší, *faeces* neformované, častěji kašovitě konsistence. Pokožka bez klinických změn, nervový aparát není porušen, klisna jest pouze citlivější na ošetřování. Haematologické vyšetření: Počet červ. krvinek z počátečních 5.360 mil. zvyšuje se postupně až na 7.600 mil. počet BK klesá z 23.400 na 9.000. Zpočátku zrychlená sedimentace se rovněž vrací k normálu. V bílé složce krevní převažuje výrazně počet segmentovaných neutrofilů (86) nad lymfocyty (8). Tento stav se později upravuje opět ve prospěch lymfocytů (43). Haemoglobin udržuje se po celou dobu ústavního léčení pod normou. Bakteriologické vyšetření krve negativní, trusu: silně *E-coli*, *Proteus vulgaris*, slabě *Paracoli* (SVVÚ, Č. Bu.).

V průběhu léčení byla třikrát provedena biopsie jater za účelem histologického zpřesnění diagnózy. 1. histologické vyšetření: chronická intersticiální hepatitis se stále novými exacerbacemi. 2. a 3. vyšetření: aktivní chronická pericholangitis. Vazivo v portobiliárních prostorech oedematózně prosáklé, místy hojněji infiltrováno buňkami lymfoidního typu. Aktivace Kupferových buněk. Hladina bilirubinu jest zachycena společně s ostatními případy (č. 2, č. 3) v tabulce I. Klisna byla po 15denním ošetřování propuštěna do domácího ošetření.

Č. 2./A Kůň, Hd, klisna, chlad. 10r. Anamnéza: Dva měsíce trvající srdeční slabost, spojená s otoky pod břichem a na vemeni. V posledních dnech inapetence. Klinický nález: výživný stav dobrý, srst a pokožka bez nálezu, spojivka narůžovělá, činnost srdeční zrychlená (60), puls slabší, arterie nedostatečně naplněná. Trias zvýšen po celou dobu ošetření, oedematózní otoky předních končetin i spodiny břicha, mírné dyspnoe. Morfologické vyšetření krve nebylo provedeno. Histologický nález biptického vzorku jater, odebraného druhého dne po převzetí do ústavu: Chronický intersticiální zánět jater. Klisna byla pátého dne doporučena k nutnému odpočívání.

Č. 3./A Kůň, sv. R., kv., klisna, chlad., 12r. Anamnéza: Od listopadu 1956 prodělala třikrát onemocnění spojené s teplotou, nechutenstvím, somnolencí, kopřivkovou vyrážkou a výrazným ikterem (Enzootický ikterus?). Tento stav trval vždy obvykle jeden týden. Klinický nález: výživný stav velmi dobrý, spojivka i ostatní sliznice bez zvláštního nálezu, mírně subikterické. Po obou stranách krku i hrudníku drobné puřenovité vyrážky, trias v hranicích normálu, defekace i *faeces* normální, chuť k žrádlu dobrá, motilita i sensibilita neporušena, rovněž i činnost srdeční a dýchacího ústrojí bez zvláštního nálezu. Vyšetření krevní:

ČK 6.160 mil. BK 10.800, Hgb. 65 %, Sed. 19/15, 41/30, 73/45, 95/1 hod., 120/24 hod. Leukogram: T 1, S 55, Ly 32, Mo 2, Eos. 7, Bas. 3. Histologické vyšetření biptického vzorku, odebraného třetí den po převzetí, označuje stav jako subchronický po prodělané akutní hepatitidě.

Hodnocení hladiny bilirubinu při chronických procesech jaterních

Popsané tři případy protražovaných jaterních poruch nemohou jistě objektivně podat přesný obraz o hladině bilirubinu v séru krevním při těchto chronických hepatálních lézích u koní. Nutno uvážit i tu okolnost, že ve všech třech případech šlo o chronické zánětlivé stavy jater jako následný stav v průběhu nebo po prodělaném jiném onemocnění. To zdůvodňuje jak klinické obrazy jednotlivých případů, tak i histologický nález u č. 1./A.

Dynamika chronického procesu nejlépe vystupuje u třetího koně, kde došlo k několikerým recidivám akutní hepatitidy, etiologicky neznámého původu (snad E. H.), a v důsledku opakovaného dráždění parenchymu jaterního dochází k protražovanému stavu.

Hladina bilirubinu v séru krevním, zůstává přesto ve všech případech těchto chronických hepatitid v hranicích normálu a nedosahuje z 6 vyšetření nikdy ani 2 mg%. Také reakce přímo a nepřímo reagujícího bilirubinu podle Kuchaře nevykazují podstatných změn. Kvalitní zjištění okamžité přímé reakce podle V. d. Bergha nemohlo být v žádném případě zaznamenáno. Tuto reakci lze označit jako negativní, neboť slabý, načervenalý prstenec vzniká až po několika minutách.

B. Hladina bilirubinaemie při jaterních cirrhosách

Přechod chorobných procesů jaterních ve stav cirrhotický i cirrhosy samotné vymykají se dosud objektivním možnostem včasné diagnostiky u všech druhů zvířat. K těmto nedostatkům diagnostických zkušeností, přispívá i poměrně malé procento výskytu jaterních cirrhos, zvláště u koní.

Jižní Čechy lze označit za lokalitu, kde výskyt těchto cirrhotických změn na játrech jest nejčastější a nejpočetnější z celého území našeho státu.

Podrobnou morfologii jaterních cirrhos u koní, charakterisujících klinické terminální stadium tzv. žďárské choroby, zveřejnil u nás především Jelínek

I. Chronické

Číslo koně	Pohlaví	Stáří r.	Příchod	Klinický nález	Odběr krve
1	kl	9	14. 5.	klinický nález viz v textu (A)	14. 5. 21. 5. 27. 5.
2	kl	10	12. 4.		13. 4.
3	kl	12	8. 5.		10. 5. 28. 5.

(1927), Lukeš a Čech (1948), v poslední době Vaněk (1956). Také tato práce zabývající se sledováním hladiny bilirubinu při jaterních cirrhosách, týká se především „difusní fibrózy jaterního parenchymu“ (cirrhózy) žďárského typu. Klinika žďárské choroby jest známa z práce Králový (8), Lukešovy a Čechovy (9), Šobrový (14) i jiných a nebude zde proto blíže rozváděna.

Snahou naší práce bylo opakované sledování bilirubinu v séru koní stížených touto chorobou v krátkých i dlouhodobých intervalech, vlivu terapie na kolísání bilirubinaemie i jednorázová vyšetření těch případů, kdy nemocný kůň musel býti pro pokročilý stav choroby, nutně odporazen, nebo kdy tomu nedovolily technické podmínky.

Tabulka II zachycuje hladinu bilirubinu sledovanou opakovaně u 17 koní stížených fibrózou jater žďárského typu. Tabulka IIa zachycuje pak výsledky jednorázových vyšetření u 16 koní.

Hodnocení hladiny bilirubinu při jaterních cirrhosách

Ze 17 opakovaně sledovaných případů jaterních cirrhos typu žďárské choroby (ústavně hospitalizovaných koní), potvrzené současně histologickým nálezem biopsických vzorků jater, bylo zaznamenáno stále zvyšování (ne však výrazné) hladiny bilirubinu u 12 koní. Pouze u koně č. 7 a č. 9, kolísá hladina rovnoměrně, zatím co v ostatních případech, tj. u č. 11, 14, 15 jest patrné klesání hladiny žlučových barviv. Ve všech těchto třech případech šlo o pacienty, kteří byli po hospitalisaci propuštěni, třebaže jejich zdravotní stav nebyl klinicky uspokojivý a po zasazení do práce bylo nutno koně č. 11 nechat odporaziti. Vyřazen byl později i kůň č. 14. O třetím pacientu z této skupiny (č. 15) nemáme přesných informací.

Že kůň č. 14 neprojevoval dosud příznaků jaterní insuficience před předáním do ústavního ošetření, svědčí důvod, pro který byl předán do léčení na chirurgické oddělení (chomoutové otlaky). Také anamnéza neudávala podezření ze žďárské choroby.

Vysvětlivky zkratk v tabulkách:

V — valach, kl — klisna, B — biopsie jater s příslušným datem odběru, H — histologický nález, A — ambulantní vyšetření a odběr krve, D — propuštěn z ústavního ošetřování, u ambulantních případů — uzdraven, NP — nutná porážka koně, J — pitevni nález při sekci.

hepatitidy

Bi. celk. mg %	V. d. Bergh	Kuchař	Poznámka
0,75 1,17 1,23	— — —	—/— +/- —/—	B: 15. 5., 24. 5., 27. 5. H: chronický intersticiální zánět jater D
1,98	—	+/-	B: 13. 4. H: <i>Hepatitis interst. chronica</i> NP
1,28 1,97	— —	- +/- + —/—	B: 10. 5. H: subchronický zánětlivý proces D

II. Cirrhosy jaterní
(Opakovaná vyšetřování)

Číslo koně	Pohlaví	Stáří r.	Příchod	Klinická diagnóza:	Odběr krve	Bi. celk. mg %	V. d. Bergh	Kuchař	Poznámka
1	kl	17	3. 10.	Žďárská choroba	4. 10. 13. 10.	2,46 6,95	— + —	+ / — + + / + +	B: 4. 10. H: <i>Fibrosis hepatis</i> NP
2	V	13	16. 7.	Žďárská choroba	18. 7. 9. 8.	2,67 2,94	— —	+ / — + + / —	B: 17. 7. H: Pericelulární fibrosa jater, morfologické příznaky oběhové insuficience NP
3	V	12	22. 5.	Žďárská choroba	1. 8. 25. 8. 14. 9.	1,71 2,08 2,35	— — —	— / — + / — + / + —	B: 13. 6., 25. 6. H: <i>Fibrosis hepatis</i> NP
4	kl	10	18. 7.	Žďárská choroba	18. 7. 19. 7. 21. 7. 23. 7. 27. 7. 29. 7.	1,92 1,76 1,46 2,08 2,67 2,83	— — — — — —	+ — / — + — / — + — / — + — / — + — / — + — / + —	B: 18. 7. H: <i>Fibrosis hepatis</i> NP
5	V	11	19. 1. 3. 4.	Žďárská choroba	26. 1. 5. 2. 8. 2. 12. 2. 3. 4. 6. 4.	1,39 1,18 1,39 1,24 4,92 8,02	— — — — + +	— / — — / — + — / — — / — + / — + / +	B: 25. 1. H: Cirrhosa jater D NP
6	kl	11	26. 3.	Žďárská choroba	27. 3. 1. 4. 2. 4. 3. 4.	4,33 5,61 7,49 8,29	— — + +	+ / + — + / + — + / — + / +	B: 30. 3. H: Pokročilá cirrhosa jater se známkami krevní stase a těžké oběhové insuf. NP
7	kl	11	29. 3.	Žďárská choroba	30. 3. 2. 4. 3. 4. 8. 4.	3,21 2,94 3,26 2,62	— — — —	+ — / — — + / — + — / — + / —	B: 30. 3. H: <i>Fibrosis hepatis</i> NP

8	kl	13	17. 5.	Žďárská choroba	18. 5. 20. 5. 24. 5. 27. 5.	2,73 3,69 5,29 5,24	— + — — —	+ / + + / + + / + + / +	B: 18. 5. H: Fibrosa jater D
9	kl	15	23. 12.	Žďárská choroba	23. 12. 27. 12. 29. 12.	2,40 4,11 3,79	— — —	+ / — + / + —	B: 23. 12 H: <i>Fibrosis hepatitis</i> NP
10	kl	9	22. 8.	Žďárská choroba	28. 8. + 29. 8. + 29. 8. + 29. 8. 30. 8. 31. 8.	2,46 2,03 2,08 2,19 2,51 2,78	— — — — — —	+ — / + — + / — + / — + / — + / — + / —	B: 23. 8. H: Výrazná fibrosa jater se známkami poruchy krevního oběhu 8, 12, 15 hod. NP
11	kl	8	5. 4.	Žďárská choroba	6. 4. 13. 4. 15. 4. 17. 4. 29. 4.	3,82 3,21 2,94 2,89 2,57	— — — — —	+ — / — + — / — + — / — + — / — + / —	B: 8. 4., 28. 4. H: Nepřilíš pokročilá fibrosa jater D
12	kl	15	23. 10.	Žďárská choroba	24. 10. 30. 10. 6. 11.	2,51 3,26 3,26	— — —	+ — / + — + — / + — + / — +	B: 24. 10., 30. 10. H: Fibrosa jater NP
13	kl	13	10. 4.	Žďárská choroba	12. 4. 13. 4.	3,85 5,29	— —	+ — / — + / + —	B: 11. 4. H: Fibrosa jater NP
14	kl	13	10. 6.	Žďárská choroba	27. 6. 1. 7.	0,91 0,75	— —	+ — / — —	B: 19. 6. H: Vytvářející se fibrosa jater D
15	kl	17	24. 6.	Žďárská choroba	24. 6. 25. 6. 2. 7.	1,75 1,75 0,96	— — —	+ / — + / — + / —	B: 24. 6. H: Fibrosa jater D
16	kl	15	3. 7.	Žďárská choroba	3. 7. 4. 7.	2,46 2,73	— —	+ — / — + / —	B: 3. 7. H: Pokročilá fibrosa jater NP
17	kl	15	27. 1.	Žďárská choroba	27. 1. 28. 1. 29. 1.	3,04 4,23 5,14	— — —	+ — / + + / + + — / —	B: 27. 1. H: Fibrosa jater NP

IIa. Cirrhosy jaterní
(Jednorázové vyšetření)

Číslo koně	Pohlaví	Stáří r.	Příchod	Klinická diagnóza:	Odběr krve	Bi. celk. mg %	V. d. Bergh	Kuchař	Poznámka
18	kl	10	23. 8.	Žďárská choroba	23. 8.	2,54	—	+ / + —	A, NP (u všech koní)
19	kl	9	17. 2.	Žďárská choroba	6. 3.	2,32	—	+ + / —	B: 6. 3. H: Cirrhosa jater
20	kl	12	16. 9.	Žďárská choroba	16. 9.	1,98	—	+ / —	A
21	—	—	30. 8.	Žďárská choroba	29. 8.	5,88	—	+ + / +	A
22	—	—	1. 10.	Žďárská choroba	1. 10.	1,50	—		A
23	kl	15	13. 11.	Žďárská choroba	15. 11.	3,15	—	+ / —	B: 14. 11. H: Pokročilá fibrosa jater s morfol. známkami oběhové insuf.
24	kl	16	31. 10.	Žďárská choroba	2. 11.	2,25	—		B: 2. 11. H: Fibrosa jater
25	V	15	19. 9.	Žďárská choroba	19. 9.	1,33	—	+ — / —	H: Fibrosa jater
26	kl	10	11. 10.	Žďárská choroba	11. 10.	4,06	+ —	+ / + —	H: Fibrosa jater
27	kl	15	18. 9.	Žďárská choroba	18. 9.	3,04	—		J: Cirrhosa jater
28	kl	14	24. 9.	Žďárská choroba	24. 9.	2,88	—	+ / + —	H: Fibrosa jater
29	kl	12	5. 10.	Žďárská choroba	5. 10.	1,44	—	+ / —	B: 5. 10. H: Fibrosa jater
30	kl	12	19. 3.	Žďárská choroba	21. 3.	3,47	—	+ / +	H: Fibrosa jater
31	kl	11	10. 9.	Žďárská choroba	10. 9.	1,33	—	+ — / —	B: 10. 9. H: Cirrhosa jater
32	kl	16	31. 1.	Žďárská choroba	1. 2.	4,33	—	+ — / —	B: 1. 2. H: Fibrosa jater
33	kl	15	27. 2.	Žďárská choroba	1. 3.	2,19	—	+ / + —	J: Cirrhosa jater

V 15 případech (88,3 %) byla hladina bilirubinu při opakovaných vyšetřováních vždy vyšší než 2 mg %. Pouze u č. 14 a č. 15 nevystoupila hladina Bi. ani na 2 mg % po celou dobu, pokud byli tito koně v ústavním ošetření. V šesti případech byla zaznamenána hladina Bi. vyšší než 5 mg %, nejvyšší pak 8,29 mg %, a to pouze u dvou koní z celkového počtu 33 vyšetřovaných a stížených fibrózou jater.

Ani u jednoho ze 16 koní, u nichž šlo většinou o terminální stadium žďárské choroby, nedosáhla hladina žlučových barviv nápadné výše a pouze u jednoho koně v této sestavě vystoupila na 5,88 mg %. Porovnáme-li všechna provedená vyšetření u těchto cirrhotiků, tj. 76 vyšetření u 33 koní, zjišťujeme, že značná část těchto vyšetření (65,5 %) nezaznamenává hladinu bilirubinu přes 3 mg %, přičemž vyšší hladiny nedosahují již tak početního zastoupení, jak je patrné z tabulky IIb.

IIb. Cirrhosy jaterní

Počet vyšetření vzhledem k hladině Bi. v rozmezí po 0,5 mg %

Bi mg %		<2,0	2,1-2,5	2,6-3,0	3,1-3,5	3,6-4,0	4,1-4,5	4,6-5,0	5,1-5,5	5,6-6,0	6,1 <
Vyšetření	Počet	19	16	15	5	5	5	1	4	2	4
	%	25	21	19,6	6,5	6,5	6,5	1,3	5,3	2,6	5,3

Zavedení opakované léčby, obdobně jak byla uvedena u akutních procesů (7) ve formě infuzí, ovlivnilo snížení hladiny Bi. u koní č. 11 a č. 15 (v prvním případě 5 infuzí v intervalu 11 dnů, ve druhém 4 během 7 dnů). Na druhé straně však tyto infuze neměly za následek snížení hladiny u č. 12 ani u č. 8, kde naopak nezamezily stálému zvyšování hladiny Bi. z počátečních 2,75 mg % při převzetí, až na 5,24 mg % při jeho propuštění, přičemž infuze byla opakována během 10 dnů čtyřikrát.

Orientační sledování kolísání hladiny Bi. během jednoho dne u koně č. 10, a to v 8,00, 12,00 a 15,00 hod. nezaznamenalo podstatné výkyvy.

Kvalitní sledování bilirubinu podle V. d. Bergha prokázalo ve všech případech (kromě č. 5, č. 6) slabou, volně se vyvíjející reakci, kterou lze označit za negativní. Okamžitá přímá reakce byla zjištěna pouze u koně č. 5 a č. 6 a reakce dvojfázová u č. 1, č. 8 a č. 26, aniž její barevná intenzita byla zvláště výrazná. Reakce přímo a nepřímo reagujícího žlučového barviva podle Kuchaře prokazuje ve většině případů zvýšené hladiny Bi. pozitivní reakci na přímý bilirubin, zatím co nepřímo reagující obvykle kolísá na hranici negativní až slabě pozitivní reakce kromě č. 1 z 13. X., kdy nepřímý Bi. převažuje intenzitou zbarvení složku přímo reagující.

Diskuse

Literární údaje o klinické diagnostice vleklých procesů a cirrhos jaterních nejsou příliš početné. Pokud si všimají i hladiny bilirubinu, porovnávají ji většinou až s diagnózou stanovenou pitevně.

V naší studii sledovali jsme kvantitativně hladinu celkového bilirubinu fotometricky a kvalitativně pomocí dvou jednoduchých reakcí, z nichž V. d. Berg-hova z diázo-čínidlem jest všeobecně známa a reakci podle Kuchaře k rozlišení přímého a nepřímého bilirubinu. Obě zkoušky se nám velmi dobře osvědčily při hodnocení akutních a těžších procesů jaterních (7).

Zjištěné hladiny bilirubinu při chronických hepatitidách, ověřených současně histologicky, nedávají diagnosticky vhodně využitelných podkladů. Nezjistili jsme při žádném z vyšetřování těchto tří případů zvýšení hladiny Bi. ani nad 2 mg %. Rovněž Z í c h a a B l a ž e k (17) uvádějí hladinu bilirubinu u jednoho pří-padu chronické hepatitidy pouze 0,8 mg %. Ani kvalitní zjišťování přímého a ne-přímého Bi. neposkytlo využitelných nálezů, stejně jako sledování jakostní reakce s diázo-čínidlem. Okamžitou přímou reakci jsme nezjistili v žádném případě vy-šetřování. Tyto naše nálezy shodují se i s výsledky, kterých dosáhl F o r e n b a - c h e r (2), nejen pokud jde o bilirubinaemii, ale i negativních výsledků s diázo-reakcí.

Také cirrhosis jaterní zaujímají v patologii jaterních chorob koní zvláštní po-stavení jak po stránce klinického průběhu, tak i z hlediska diagnostiky. V naší sestavě 33 koní, u nichž byla histologicky *intra vitam* i pitevně zjištěna fibróza jater žďárkového typu, vykazuje sice hladina celkového bilirubinu patologické zvýšení, které však v 65,6 % nepřesahuje 3 mg %. Ani u koní v konečném stadiu choroby (před nutnou porážkou) nevykázala hladina Bi. nápadné výše a pouze v jednom případě vystoupila na 5,88 mg % (č. 21). Pouze ve dvou případech z 33 koní byly zaznamenány hladiny přesahující 8 mg % (č. 5 a č. 6). V 25 % všech vyšetření nebyla hladina Bi. zjištěna vyšší než 2 mg %, tj. v mezích nor-málu a jen v 5,3 % přesáhla 6 mg %. Ze 76 vyšetření nezjistili jsme nikdy takovou výši hladiny (10,7 mg %), kterou uvádí V a n ě k (15) u pokusného koně, kde klinický i pitevní nález připomínal obraz žďárské choroby koní.

Zvýšené hladiny u koně č. 5 na 8,02 mg % a u č. 6 na 8,29 mg % považujeme za následek druhotných patologických změn v průběhu nemoci. Naše výsledky jsou i v souladu s prací Š o b r o v o u (13), pokud jde o nálezy normálních hodnot v některých případech žďárské choroby, i pokud jde o výsledky ve sledování kva-litní diázo-reakce. Rovněž F o r e n b a c h e r nezaznamenal vyšších hodnot než 5,0 mg %, a to převážně také u hypertrofických cirrhos.

I když opakování léčebné intravenózní infuze terapeutik používaných k léčbě jaterních chorob u koní měly v některých případech (č. 11, č. 15) i určitý vliv na zlepšení současného stavu pacienta i snížení hladiny bilirubinu, přece se dosud snahy o terapeutické ovlivnění, zejména jaterních cirrhos, nesetkaly s úspěchem, snad proto, že v době klinické manifestace choroby a hospitalisace pacienta jsou změny na játrech většinou irreversibilní.

Výsledky dosažené kvalitní reakcí podle V. d. Bergha lze hodnotiti jen v tom smyslu, že tyto procesy nevykazují okamžitou přímou reakci. Dvojlázová reakce byla potvrzena pouze u č. 1/B, 8 a 26. Také L u k e š a Č e c h dosáhli jen ne-gativních výsledků s touto reakcí při žďárské chorobě (9).

Zkouška podle Kuchaře nás vhodně orientuje i při cirhotických stavech o kva-litním zastoupení přímého a nepřímého bilirubinu. Její barevná intenzita je od-vislá od celkového množství Bi., přičemž u většiny případů převažuje pozitivní reakce na přímý bilirubin (57,74 %). Dubiozní reakce přímého Bi. byla zjištěna v 33,80 %, negativní při 8,46 %. Pozitivní reakce nepřímo reagujícího Bi. byla stanovena v 16,9 %, dubiozní v 19,71 % a negativní v 63,39 %.

Souhrn

Sledování bilirubinaemie u chronických hepatitid nezaznamenalo v žádném případě zvýšení hladiny nad 2 mg % bilirubinu. Také kvalitní zjišťování přímého a nepřímého bilirubinu neprokázalo pozitivních nálezů.

Jaterní cirrhosy žďárkového typu, charakterisují se v 75 % patologickým zvýšením celkového bilirubinu. Toto zvýšení není však zvláště výrazné a ve většině případů nepřesahuje 3 mg %. Nápadné zvýšení nebylo pozorováno ani v terminálních stadiích těchto onemocnění a pouze v 5,3 % přesáhla hladina bilirubinu přes 6 mg %.

Kvalitní reakce podle V. d. Bergha nedává dostatečně využitelných podkladů v diagnostice chronických hepatitid i jaterních cirrhos.

Zkouška podle Kuchaře doplňuje vhodně kvantitativní nálezy bilirubinaemie, pokud jde o rozlišení přímo a nepřímo reagujícího bilirubinu. Touto reakcí byl u cirrhos zaznamenán pozitivní nález přímého bilirubinu v 57,74 %, dubiální v 33,80 % a negativní v 8,46 %. Nepřímo reagující bilirubin nebyl touto metodou potvrzen v 63,39 %; jeho pozitivní nález byl zaznamenán v 16,9 % a dubiální v 19,71 %.

Veškerá snaha o therapeutické ovlivnění jaterních cirrhos nesetkala se dosud s úspěchem. Tyto neúspěchy zdůvodňují se především irreversibilními změnami na játrech v době klinické manifestace choroby a hospitalisace pacienta.

Pro další výzkum těchto chorob zdůrazňuje se důležitost prověřování současného stavu jaterní buňky, histologickým vyšetřením biopsických vzorků s biochemickými nálezy.

Literatura

1. Engelhardt: Beitrag zur Hepatitis interstitialis chronica equorum, Prager tierärztl. Arch. 14, 221, 1934. — 2. Forenbacher: Uporedna istraživanja o metabolizmu bilirubina kod konja sa zdravom i bolesnom jetrem, Veterinarski Arhiv. XXVII, 9, 245, 1957. — 3. Jelínek: Příspěvek k patologické anatomii a etiologii žďárské choroby, Klin. spisy, VŠZ, V, 167, 1927. — 4. Jelínek: Pathologická fyziologie, SPN, Praha, 1953. — 5. Jiříkovský: Schweinsberská choroba v Jižních Čechách, Z. O. 8-10, 1921. — 6. Konrád: Intravitální punkce (biopsie) jater u koní z hlediska klinické diagnostiky, Sborník ČSAZV, Veter. medicina, XXXI, 5, 367, 1958. — 7. Konrád: Sledování bilirubinaemie při akutních procesech jaterních koní, Sborník ČSAZV, Veter. med., XXXII, 5, 395, 1959. — 8. Král: Žďárská choroba koní, Publikace MZ, Praha, 1922. — 9. Lukeš, Čech: Žďárská nemoc v jižních Čechách, Čas. čs. veter., III, 13, 367, 1948. — 10. Lukeš: Nové zkušenosti s jaterní jankovitostí (mrákotami) v roce 1949, Čas. čs. veter., IV, 24, 561, 1949. — 11. Němeček: Příspěvek ku diagnose a terapii „Žďárské choroby koní“. Z. R. č. 12, 13, 1927. — 12. Procházková: Hladina krevního cukru při žďárské chorobě koní, Diss. Brno, 1948. — 13. Šobra: O obsahu bilirubinu v seru koně se zřetelem k ikteru a jeho změně při kalciové léčbě žďárské choroby, Klinické spisy, VŠZ, VI, 307, 1928. — 14. Šobra: Leptospiroza a žďárská choroba koní, Sborník ČSAZV, Veter. medicina, XXIX, 10, 705, 1956. — 15. Vaněk: Srovnávací studie experimentálně vyvolané otravy starčkem se žďárskou chorobou koní, Sborník ČSAZV, Veter. medicina, XXIX, 10, 705, 1956. — 16. Wirth: Grundlagen einer Klinischen Hämatologie der Haustiere, Wien, 1950. — 17. Zícha, Blažek: K biochemickému obrazu enzootické hepatitidy koní, Sborník ČSAZV, Veter. medicina, XXIX, 10, 693, 1956.

Наблюдения за билирубинемией при затяжных процессах и циррозах печени

Исследуя билирубинемиию при хронических гепатитах, автор ни в одном случае не заметил увеличения количества билирубина свыше 2 мг%. Путем качественного определения прямого и непрямого билирубина также не было получено позитивных данных.

Печеночные циррозы ждьярского типа в 75 % характеризуются патологическим повышением содержания всего билирубина. Это повышение, однако, не является особенно выразительным и в большинстве случаев не превышает 3 мг%. Резкое повышение не замечалось даже в терминальных стадиях этих заболеваний, и только в 5,3% случаев содержание билирубина превышало 6 мг%.

Качественная реакция по Ван ден Бергу недостаточно обоснована для применения в диагностике хронических гепатитов и печеночных циррозов.

Реакция по Кухаржу хорошо пополняет данные количественного анализа билирубинемии, поскольку касается различия прямо и непрямо реагирующего билирубина. С помощью этой реакции у циррозов был получен позитивный анализ прямого билирубина в 57,74%, дубиозный — в 33,80 и негативный — в 8,46%. Непрямо реагирующий билирубин не был доказан этим методом в 63,39%; позитивный анализ установлен в 16,9 % и дубиозный — в 19,71 %.

Все стремления терапевтически повлиять на печеночные процессы не имели до сих пор никакого успеха. Эта безуспешность обосновывается прежде всего ирреверсильными изменениями в печени в период клинической манифестации болезни и госпитализации пациента.

Для последующего изучения этих заболеваний подчеркивается важность проверки состояния печеночной клетки путем гистологического исследования биоптических проб с биохимическими анализами.

II. Tracing of Bilirubinaemia in Chronic Processes and Liver Cirrhoses.

Tracing of bilirubinaemia in chronic hepatitis did not reveal the increase of bilirubin levels surpassing 2 mg % of bilirubin in any case, neither could positive findings be proved by qualitative estimation of direct and indirect bilirubin.

In cases of liver cirrhosis of the Žďár type the pathological increase of total bilirubin is characteristic of 75 %. This increase, however, is not especially marked and in most cases does not exceed 3 mg %. A conspicuous increase could not be observed even in terminal stages of this disease and in merely 5,3 % the bilirubin levels exceeded 6 mg %.

The qualitative reaction according to V. d. Bergh does not provide sufficiently utilizable bases in diagnostics of chronic hepatitis and liver cirrhoses.

Kuchar's test suitably completes quantitative findings of bilirubinaemia as far as distinguishing between directly and indirectly reacting bilirubins is concerned. In cases of cirrhosis the positive finding of direct bilirubin was proved with this reaction in 57,74 %, dubious in 33,80 %, negative in 8,46 %. Indirectly reacting bilirubin could be proved by this method in 63,39 %; a positive finding was made in 16,9 %; a dubious in 19,71 %.

So far all attempts at therapeutical influencing liver cirrhoses have not been successful. These failures are substantiated especially by irreversible liver lesions in the time of clinical manifestation of the disease and the admittance of the patient.

For further research of these diseases the importance is stressed of verifying the simultaneous state of the liver cell by histological examination of biopsies and biochemical findings.