

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
MINISTERSTVA ZEMĚDĚLSTVÍ,
LESNÍHO A VODNÍHO HOSPODÁŘSTVÍ

Veterinární medicína

12 ✓

ROČNÍK 7 (XXXV) — PRAHA, PROSINEC 1962

CENA 10 Kčs

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
MINISTERSTVA ZEMĚDĚLSTVÍ,
LESNÍHO A VODNÍHO HOSPODÁŘSTVÍ
VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Rídí redakční rada: *akademik Vincenc Jelínek (předseda), gen. MVDr. Vladimír Chládek, člen korespondent SAV František Nižnánský, MVDr. Jiří Boháč, prof. MVDr. Richard Harnach, doc. MVDr. Jaroslav Dražan, prof. MVDr. Karel Šobra, prof. MVDr. Emanuel Král, MVDr. Ladislav Zima, MVDr. Ladislav Polák, MVDr. František Lehký, doc. MVDr. inž. Jan Vlček. Vedoucí redaktor František Němec.*

© Ústav vědeckotechnických informací MZLVH, Praha 1962

Obsah - Содержание - Inhalt - Content - Contenu

- Neuman V., Zendulka M.:** Proteinový index a Brdičkova filtrátová reakce při experimentálním poškození jater
Протеиновый индекс и фильтратная реакция Брдички при экспериментальном повреждении печени
L'indice protéinique et la réaction à filtrate d'après Brdička lors d'un endomagement expérimental du foie **819**
- Janeček A., Žerníček D.:** Reakce séra s kyselinou pikrovou — II. Reakce séra s kyselinou pikrovou za některých patologických stavů u koní
Реакция сыворотки крови с пикровой кислотой. — II. Реакция сыворотки крови с пикровой кислотой при некоторых патологических состояниях лошадей
Seroreaktion mit Pikrinsäure — II. Seroreaktion mit Pikrinsäure bei einigen pathologischen Zuständen der Pferde
La séro-réaction avec acide picrique — II. La séro-réaction avec acide picrique chez quelques états pathologiques des chevaux **827**
- Paraskivescu M., Feredyan T.:** O nervovém typu činnosti u plemených býků a beranů
О типе нервной системы и ее деятельности у племенных выков и баранов
Der Nerventyp und die Nervenfunktion von Zuchtbullen und -Widdern
On Nervous Type and Function in Bulls and Rams for Breeding
Le type nerveux et la fonction nerveuse chez les taureaux et des béliers d'élevage **837**
- Rob O. a kol.:** Metody morfologického vyšetření spermatu býků při sledování patologických změn a jejich význam z hlediska dědičnosti
Методы морфологического исследования спермы быков при изучении патологических изменений и их значение с точки зрения наследственности
Methoden der morphologischen Untersuchung des Spermas von Bullen bei Verfolgung der pathologischen Veränderungen und ihrer Bedeutung vom Standpunkt der Erbllichkeit
Methods of the Morphological Examination of the Sperm of Bulls in Following the Pathological Changes and their Importance from the Viewpoint of Heredity
Les méthodes d'examination morphologique du sperme des taureaux en suivant les changements pathologiques et leur importance vu la hérédité **843**

Proteinový index a Brdičkova filtrátová reakce při experimentálním poškození jater*)

Протеиновой индекс и фильтратная реакция Брдиčky при экспериментальном повреждении печени

L'indice protéinique et la réaction à filtrate d'après Brdička lors d'un endommagement expérimental du foie

Vojtěch NEUMAN, Miroslav ZENDULKA

Katedra lékařské chemie, fyziky a toxikologie veterinární fakulty, vedoucí katedry prof. MVDr. A. Janeček, a Katedra patologické morfologie a fyziologie veterinární fakulty VŠZ v Brně, vedoucí katedry prof. dr. V. Jelínek, doktor veterinárních věd

Úvod a přehled literatury

Kromě nejčastěji používaného způsobu hodnocení výsledků polarografické reakce krevního séra podle výšky bílkovinné dvojvlny filtrátové reakce, byly v průběhu let navrženy a z části zavedeny do praxe různé modifikace. Jednou z nich je vyjadřování polarografické aktivity krevního séra nebo plazmy tzv. proteinovým indexem. Na modelu experimentální toxické hepatitidy jsme v této práci studovali jeho diagnostickou hodnotu při jaterních poruchách v porovnání s hodnotou Brdičkovy filtrátové reakce.

Proteinovým indexem je vyjádřen poměr výšky dvojvlny filtrátové reakce (Filtrate test) k výšce dvojvlny nefiltrátové reakce (Digest test) krevního séra nebo plazmy vynásobený faktorem, který je volen tak, aby normální hodnota proteinového indexu bylo číslo nízké a větší než jedna. Při této metodě, kterou zavedli Müller a Davis (1, 2, 3), jsou obě reakce (F-test a D-test) prováděny zároveň se stejnou krví a za stejných experimentálních podmínek a proto výsledný proteinový index při opakovaných analýzách není závislý na citlivosti galvanoměru, na charakteristice kapiláry apod. Změněné podmínky tohoto rázu působí totiž přibližně stejně na filtrátovou i nefiltrátovou reakci.

Janeček, Neuman, Hruška a Piskač (4) vidí přednost této metody kromě již uvedeného zejména v tom, že proteinovým indexem je zvýšena rozlišovací schopnost mezi polarografickou aktivitou krevního séra nebo plazmy zdravých a nemocných jedinců. Výška dvojvlny filtrátové a nefiltrátové reakce se totiž při některých patologických stavech mění zpravidla protichůdně. Zvýší-li se výška dvojvlny filtrátové reakce, sníží se výška dvojvlny nefiltrátové reakce. To do-

*) Ve zkráceném znění byla práce přednesena na vědecké konferenci veterinární fakulty VŠZ v Brně, 1959.

kládá i práce Timara a Sterové (5), v níž autoři prokázali, že po přidání dostatečného množství mukoproteinu k séru se snižuje vlna D-testu, naproti tomu že se však zvyšuje výška dvojvlny F-testu. Dosud však nebylo prokázáno, zda analogický vztah se uplatňuje také při poklesu hladiny sérových mukoproteinů, to znamená, zda snížené dvojvlňné filtrátové reakce (např. při některých jaterních chorobách) bude korespondovat vyšší dvojvlňná nefiltrátové reakce. Práce Timara a Sterové zároveň znovu potvrdila skutečnost, která je v souladu se současnými poznatky o látkové podstatě filtrátové reakce, že totiž množství sérového mukoproteinu má rozhodující význam pro její výsledek.

Zvýšené hodnoty proteinového indexu byly zjištěny při dně, reumatické artritidě, rakovině žaludku, tumoru pánve a rakovině slepého střeva (3), dále při sili-kóze (6) a pneumokonióze lidí (5), u koní pak při hnisavém zánětu kloubu spěn-kového a akutní exsudativní pleuritidě (7) a dále u krav s klinickými příznaky choroby jater (8).

Sníženou hodnotu proteinového indexu zejména v důsledku podstatného snížení katalytické dvojvlny Brdičkovy filtrátové reakce, zaznamenali Neuman, Piskač a Hruska při dystrofii jater koní (7, 9), pak L a m m při infekční hepatitidě lidí (10).

Úkolem práce bylo porovnat vztah mezi proteinovým indexem a Brdičkovou filtrátovou reakcí a ověřit, zda přednosti proteinového indexu platí rovněž pro ty případy, kdy je filtrátová reakce snížena. Při řešení tohoto úkolu jsme přihlíželi k současným poznatkům o látkové podstatě a o vlivu alkalizace séra na průběh filtrátové reakce, jak o tom bylo referováno v předchozím sdělení (11). Vedle proteinového indexu a filtrátové reakce alkalizovaného séra byly proto tytéž hodnoty určeny v séru s vynecháním alkalické denaturace.

Materiál a metodika

K pokusu bylo použito 32 morčat, z nichž 8 bylo kontrolních a zbývajících 24 obdrželo podkožně 0,2 ml chloridu uhličitého na 100 g živé váhy. Pokusná morčata byla utrácena v časovém rozmezí od 24 do 72 hodin po aplikaci látky.

S krevními séry všech zvířat byla provedena Brdičková nefiltrátová a filtrátová reakce alkalizovaného (D_A a F_A-test) a nealkalizovaného séra (D_B-test a F_B-test) a pak vypočten odpovídající proteinový index (P. I._A a P. I._B).

Proteinový index alkalizovaného séra

$$P. I. A = \frac{F_A - \text{test}}{D_A - \text{test}} \cdot 7,5.$$

Proteinový index nealkalizovaného séra

$$P. I. B = \frac{F_B - \text{test}}{D_B - \text{test}} \cdot 7,5.$$

Polarografické reakce byly provedeny metodou a zařízením popsaným v práci Janečka, Neumana a spol. (4). Při přípravě vzorků nealkalizovaného séra bylo postupováno tak, že hydroxyd draselný byl nahrazen stejným množstvím fyziologického roztoku kuchyňské soli.

Výsledky byly vyhodnoceny ve vztahu jednak k časovému průběhu pokusu, jednak k morfologickým změnám jaterní tkáně. Kritéria hodnocení povahy a intenzity patologicko-histologických změn jsou podrobně popsána v naší předchozí práci (11).

V ý s l e d k y

Výsledky polarografického vyšetření krevního séra pokusných morčat po jednorázové podkožní aplikaci 0,2 ml CCl_4 na 100 g ž. v. ve vztahu k časovému průběhu pokusu jsou sestaveny do přehledné tabulky I. Z ní je patrné, že průměrná výška katalytické dvojvlny nefiltrátové reakce alkalizovaného (D_A) a nealkalizovaného séra (D_B) pokusných zvířat je proti očekávání převážně snížena.

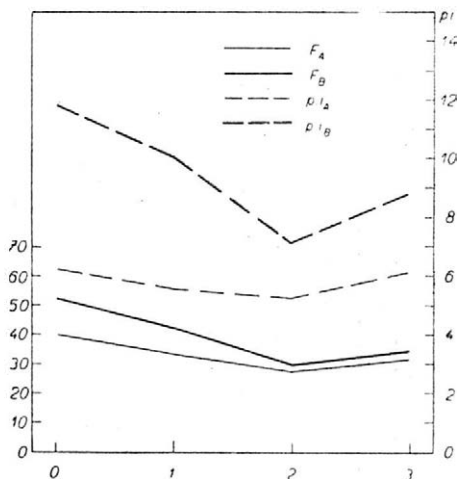
I. Výsledky polarografického vyšetření séra pokusných morčat po aplikaci 0,2 ml $\text{CCl}_4/100$ g ž. v.

Trvání pokusu v hod.	Výška dvojvlny v mm		P. I. A	Výška dvojvlny v mm		P. I. B
	D_A	F_A		D_B	F_B	
24	$48,0 \pm 5,2$	$33,0 \pm 3,0$	$5,5 \pm 0,9$	$32,5 \pm 2,7$	$42,5 \pm 4,1$	$10,0 \pm 1,9$
48	$42,2 \pm 5,1$	$27,5 \pm 4,5$	$5,2 \pm 0,8$	$30,7 \pm 2,6$	$29,7 \pm 6,7$	$7,1 \pm 0,4$
72	$42,5 \pm 7,1$	$32,0 \pm 4,5$	$6,1 \pm 1,0$	$29,6 \pm 2,2$	$34,7 \pm 6,2$	$8,8 \pm 1,0$
Kontrolní skupina	$53,4 \pm 7,4$	$40,1 \pm 4,5$	$6,2 \pm 0,8$	$31,3 \pm 2,7$	$53,5 \pm 3,9$	$11,8 \pm 1,8$

Časový průběh filtrátové reakce alkalizovaného a nealkalizovaného séra a odpovídajícího proteinového indexu je znázorněn na grafu 1. Tvar křivky ukazující průběh změn proteinového indexu je vcelku podobný křivce změn odpovídající filtrátové reakci. Stupeň snížení hodnoty proteinového indexu zejména alkalizovaného séra neodpovídá však poklesu výšky bílkovinné dvojvlny odpovídající filtrátové reakci. Zatímco nejnižší hodnota filtrátové reakce alkalizovaného séra pokusných morčat je proti kontrolním zvířatům nižší o 31,5 %, je proteinový index těchto pokusných zvířat snížen pouze o 16,2 % a toto snížení proteinového indexu je statisticky nevýznamné ($P > 0,3$).

Mnohem lepší je korelace mezi proteinovým indexem nealkalizovaného séra a odpovídající filtrátovou reakcí. Nejnižší proteinový index a filtrátová reakce byly zaznamenány po 48 hodinách od aplikace CCl_4 . V tomto časovém intervalu byla filtrátová reakce nealkalizovaného séra snížena o 44,2 %, odpovídající proteinový index o 40 % a toto snížení indexu je statisticky vysoce významné ($P < 0,01$).

Tyto výsledky nasvědčují tomu, že snížený proteinový index je především podmíněn snížením výšky dvojvlny odpovídající filtrátové reakce. To znamená, že sníženému proteinovému indexu vždy odpovídá snížená filtrátová reakce; nižší filtrátové reakci nemusí však naopak vždy odpovídat snížený proteinový index. Nesoulad mezi proteinovým indexem a filtrátovou reakcí, který je zvlášť



Graf. 1. Proteinový index a filtrátová reakce alkalizovaného a nealkalizovaného séra morčat po aplikaci 0,2 ml $\text{CCl}_4/100$ g ž. v.

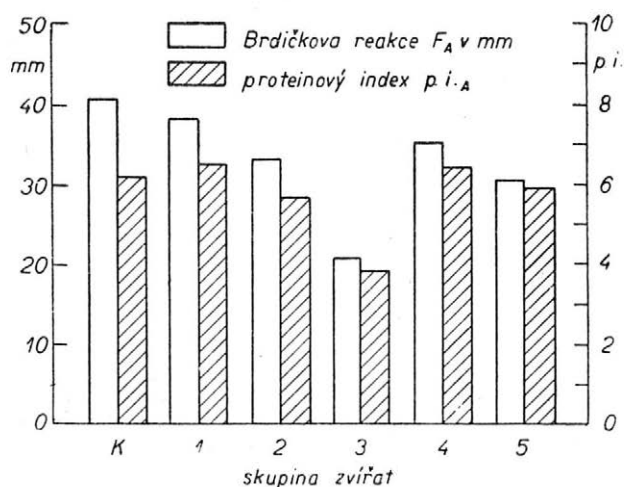
patrný u alkalizovaného séra, je způsoben tím, že u pokusných zvířat byla proti očekávání snížena také výška bílkovinné dvojvlny odpovídající nefiltrátové reakci DA. U nealkalizovaného séra jsou naproti tomu změny nefiltrátové reakce jen zcela nepatrné, a proto i korelace mezi filtrátovou reakcí a proteinovým indexem nealkalizovaného séra je lepší než u séra alkalizovaného.

II. Výsledky polarografického vyšetření séra pokusných morčat po aplikaci 0,2 ml CCl₄/100 g ž. v. ve vztahu k povaze histologických změn jater

Skupina zvířat číslo	Výška dvojvlny v mm		P. I. _A	Výška dvojvlny v mm		P. I. _B
	DA	FA		DB	FB	
1	46,0±6,8	38,2±4,0	6,5±0,8	27,0±3,4	50,8±1,3	12,9±0,9
2	44,0±4,8	33,0±3,0	5,6±0,4	44,0±2,3	40,0±2,9	7,2±0,3
3	49,0±6,2	20,7±2,3	3,8±1,1	30,5±2,6	22,7±2,6	5,5±1,2
4	40,5±9,5	25,0±3,2	6,4±0,8	30,0±3,9	31,0±2,3	7,6±0,2
5	41,3±8,9	30,6±2,8	5,9±1,3	30,1±2,3	37,6±2,0	9,4±1,2
Kontrolní skupina	53,4±7,4	40,1±4,5	6,2±0,8	31,3±2,7	53,5±3,9	11,8±1,8

V tabulce II jsou výsledky polarografické analýzy krevního séra pokusných zvířat sestaveny se zřetelem k povaze a intenzitě histologických změn jaterní tkáně a na grafu 2 a 3 je ze stejného hlediska schématicky znázorněno vzájemné srovnání hodnot filtrátové reakce a proteinového indexu alkalizovaného (graf 2) a nealkalizovaného séra (graf 3).

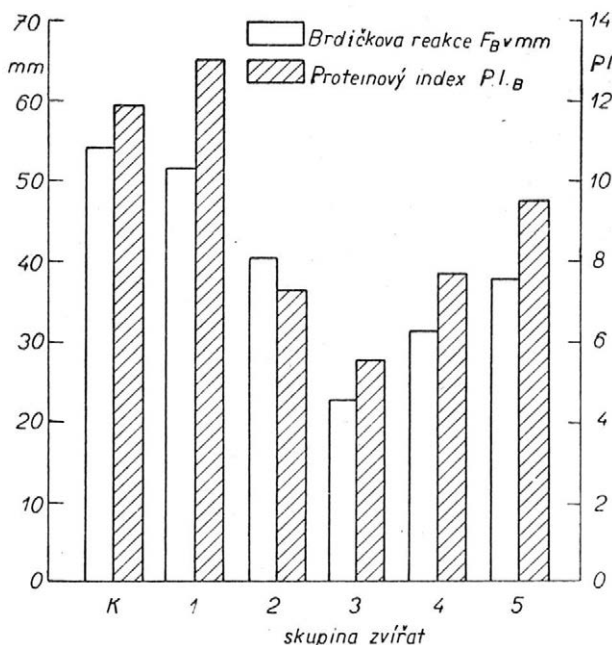
Velká většina pokusných zvířat utracených za 24 hodin od aplikace CCl₄ patří do první a druhé skupiny. U zvířat první skupiny, která je charakterizována počínající fází nekrobiotických změn, je výška dvojvlny Brdičkovy reakce (FA) prakticky nezměněna, avšak proteinový index alkalizovaného séra (P. I._A) je přesto zcela nepatrně zvýšen. U zvířat druhé a třetí skupiny, u nichž jsou nekrobiotické pochody jater na postupu nebo vrcholí, je filtrátová reakce alkalizovaného séra ve srovnání s hodnotou této reakce u zvířat kontrolní skupiny statisticky vý-



Graf 2. Brdičková reakce a proteinový index nealkalizovaného séra morčat po aplikaci 0,2 ml CCl₄/100 g ž. v. ve vztahu k histologickým změnám jater.

znamně snížena ($P < 0,01$). Největší pokles je u zvířat třetí skupiny a to o 48,4 %. Odpovídající proteinový index těchto zvířat je rovněž snížen, avšak ani největší průměrný pokles o 38,7 % zjištěný u zvířat této skupiny není signifikantní. U zvířat čtvrté a páté skupiny nabývají převahy reaktivní pochody a jejich filtrátová reakce a proteinový index alkalizovaného séra se rychle upravují k normě.

Výsledky polarografické analýzy nealkalizovaného séra mají v celku podobný průběh. U první skupiny pokusných zvířat je proteinový index poněkud zvýšen přesto, že filtrátová reakce je naopak nepatrně snížena. U druhé a třetí skupiny jsou obě hodnoty signifikantně sníženy ($P < 0,01$). Maximální pokles je také zde u zvířat třetí skupiny, u nichž převažují nekrobiotické pochody; filtrátová reakce nealkalizovaného séra je snížena o 57,6 % a odpovídající proteinový index o 52,6 % hodnoty kontrolních zvířat. U páté skupiny je sice již výrazně naznačen návrat k normě, přesto však filtrátová reakce je stále ještě signifikantně snížena; snížení proteinového indexu je naproti tomu statisticky nevýznamné. Snížení filtrátové reakce a proteinového indexu nealkalizovaného séra je absolutně a relativně větší a rovněž korelace mezi oběma hodnotami je u nealkalizovaného séra těsnější než u séra alkalizovaného.



Graf 3. Filtrátová reakce a proteinový index alkalizovaného séra morčat po aplikaci 0,2 ml $\text{CCl}_4/100$ g ž. v. ve vztahu k histologickým změnám jater.

Diskuse

Polarografickou aktivitu bílkovin krevního séra při experimentální toxické hepatitidě vyvolané aplikací chloridu uhličitého studoval L a m m (10). Cílem jeho práce bylo ověřit, zda i v těchto pokusných podmínkách se poškození jater projevuje snížením proteinového indexu, které již dříve zjistil u pacientů s virovou hepatitidou. Pokusné krysy utrácely po 24 hodinách od aplikace CCl_4 a analyzoval krevní sérum předem denaturované louhem. U všech zvířat zaznamenal vždy

jen zvýšený proteinový index a také filtrátová reakce byla přitom nejčastěji zvýšena.

Výsledky této práce zčásti objasňují příčiny neúspěšného pokusu uvedeného autora. Také v našem uspořádání práce u velké části zvířat, utracených po 24 hodinách od aplikace látky, byl totiž proteinový index alkalizovaného séra poněkud zvýšen, i když odpovídající filtrátová reakce se v průměru prakticky nezměnila (graf 2, skup. 1). U dalších zvířat byl proteinový index snížen pouze nevýznamně, ačkoliv filtrátová reakce byla signifikantně snížena (graf 2, skup. 2) a pouze u malého počtu zvířat utracených za 24 hodin byla filtrátová reakce velmi významně snížena. Je tedy zřejmé, že k významnému snížení filtrátové reakce alkalizovaného séra pokusných zvířat došlo převážně teprve po 48–72 hodinách od aplikace CCl_4 . U některých zvířat, utracených v tomto časovém rozmezí, byl sice snížen také proteinový index, ale u celé této skupiny nebylo toto snížení signifikantní. To proto, že proti očekávání byla snížena také výška dvojnásobně nefiltrátové reakce.

Naproti tomu proteinový index nealkalizovaného séra byl u první skupiny zvířat poněkud zvýšen, avšak u zvířat utracených za 48–72 hodin od aplikace CCl_4 , respektive u zvířat druhé až čtvrté skupiny (graf 3) byl v průměru statisticky významně snížen. Ani v těchto podmínkách však nebyly prokázány předpokládané přednosti proteinového indexu, zejména pokud jde o zvýšení rozlišovací schopnosti mezi séry zdravých a nemocných jedinců.

U rakovinných sér a také u sér při četných jiných nemocech, při nichž je filtrátová reakce zvýšena, je totiž nefiltrátová reakce zpravidla snížena. V těchto případech výsledný proteinový index citlivě odráží rozdíly mezi séry zdravých a nemocných jedinců. Předpoklad, že při jaterních chorobách bude snížená dvojnásobně filtrátové reakce vždy korespondovat zvýšená dvojnásobně nefiltrátové reakce, nebyl výsledky pokusu potvrzen. Takový stav byl totiž zjištěn pouze u druhé skupiny zvířat, u nichž výška dvojnásobně nefiltrátové reakce (D_B) byla zvýšena, kdežto u většiny zvířat byla naopak rovněž snížena. V pokuse se tak ukázalo, že podmínkou nízkého proteinového indexu je především nízká filtrátová reakce. Stanovení proteinového indexu u sledovaného typu hepatitid není proto přínosem pro diagnostiku a stejným, ne-li lepším testem je určení polarografické aktivity sulfo-salicylového filtrátu krevního séra. To vyplývá i ze vzájemného porovnání hodnot proteinového indexu a odpovídající filtrátové reakce U alkalizovaného séra byla nejnížší hodnota filtrátové reakce pokusných zvířat snížena proti kontrolám o 31,5 %, avšak proteinový index pouze o 16,2 %. Těsnější vztah byl mezi filtrátovou reakcí a proteinovým indexem nealkalizovaného séra. Tak např. u zvířat utracených po 48 hodinách od aplikace CCl_4 byla filtrátová reakce F_B snížena o 44,2 %, odpovídající proteinový index o 40 %. Skutečnost, že v některých případech nižší filtrátové reakci korespondoval vyšší proteinový index (jako důsledek snížení také nefiltrátové reakce), jen podtrhuje nevýhodu indexu při sledovaném typu hepatitid. Tento závěr je konečně v souladu s výsledky práce K o c e n t a (12), který prokázal úzkou korelaci mezi standardní Brdičkovou reakcí a proteinovým indexem rakovinných sér.

Pokud jde o vztah mezi hodnotou proteinového indexu a morfologickými změnami jaterní tkáně, je tento v podstatě stejný jako u samotné filtrátové reakce a byl již popsán v našem dřívějším sdělení (11). Také zde se ukazuje, že předpokladem sníženého proteinového indexu je určitý stupeň nekrobiotických změn jaterního parenchymu, který se u pokusných zvířat vyvinul převážně za 48–72 hodin od aplikace CCl_4 . Také tím lze vysvětlit již citované výsledky Lamma (10) i zdánlivou nesrovnatelnost údajů, uvedených v práci B o d i (8), který u některých jaterních chorob krav zjistil zvýšený proteinový index.

С о у х р н

У морчат по одноразовой подкожной инъекции 0,2 мл $\text{CCl}_4/100$ г ж. в. были следованы изменения протеинового индекса в поровнянии с изменениями Брдиčky фильтратовой реакции алкализованого и неалкализованого сыворотки в отношении к морфологическим изменениям тканей.

Максимальный спад протеинового индекса и высоты двойной волны фильтратовой реакции алкализованого и неалкализованого сыворотки был чаще всего найден у животных умерших через 48 часов от инъекции CCl_4 . Снижение протеинового индекса алкализованого сыворотки не было статистически значимым.

Предполагаемые преимущества протеинового индекса для диагностики заболеваний печени, особенно различия способности между сыворотками здоровых и больных особей. Дело в том, что у большинства животных имело место снижение высоты двойной волны не только фильтратовой реакции, но, вопреки ожиданию, и нефилтратовой реакции сыворотки.

По сравнению с результатами фильтратовой реакции Брдиčky алкализованной и неалкализованной сыворотки не является поэтому определение протеинового индекса вкладом в диагностику наблюдаемого типа гепатитов.

Л и т е р а т у р а

1. Müller O. H.; Davis J. S. Jr.: J. Biol. Chem. 159, 667, 1945. — 2. Müller O. H., Davis J. S. Jr.: Arch. Biochem. 15, 39, 1947. — 3. Müller O. H., Davis J. S. Jr.: J. Med. Sci. 220, 298, 1950. — 4. Janeček A., Neuman V., Hruška K., Piskač A.: Sborník ČSAZV - Vet. med. 29, 407, 1956. — 5. Timar M., Ster L.: Acta Chim. Acad. Sci. Hungar. 9, 451, 1956. — 6. Ster L.: Acta Chim. Acad. Sci. Hungar. 9, 443, 1956. — 7. Janeček A., Neuman V., Piskač A., Hruška K.: Předneseno na věd. konferenci vet. fakulty VŠZ v Brně, 1956. — 8. Boďa K.: Trudy Moskovskoj veter. akad. 21, 147, 1957. — 9. Neuman V., Piskač A., Hruška K.: Veterinářství 6, 17, 1956. — 10. Lamm Gy.: Acta Chim. Acad. Sci. Hungar. 9, 311, 1956. — 11. Neuman V., Zendulka M.: Vet. med. 7 (XXXV), 819, 1962. — 12. Kočent A.: Neoplasma 5, 396, 1958.

Протеиновый индекс и фильтратная реакция Брдиčky при экспериментальном повреждении печени

У морских свинок после разового подкожного введения 0,2 мл $\text{CCl}_4/100$ г ж. в. наблюдались изменения протеинового индекса по сравнению с изменениями фильтратной реакции Брдиčky алкализованной и неалкализованной сыворотки в отношении к морфологическим изменениям тканей печени.

Максимальное понижение протеинового индекса и высоты двойной волны фильтратной реакции алкализованной и неалкализованной сыворотки чаще всего было установлено у животных, умерших через 48 часов после введения CCl_4 . Снижение протеинового индекса алкализованной сыворотки не было, однако, статистически значимым.

Предполагаемые преимущества протеинового индекса не были для диагностики болезней печени достоверно установлены, в особенности относительно отличительной способности между сыворотками здоровых и больных особей. Дело в том, что у большинства животных имело место снижение высоты двойной волны не только фильтратной реакции, но, вопреки ожиданию, и нефилтратной реакции сыворотки.

По сравнению с результатами фильтратной реакции Брдиčky алкализованной и неалкализованной сыворотки не является поэтому определение протеинового индекса вкладом в диагностику наблюдаемого типа гепатитов.

L'indice protéinique et la réaction à filtrate d'après Brdička lors d'un endommagement expérimental du foie

Chez les cobayes on a observé après unique application de 0,2 ml $\text{CCl}_4/100$ g p. v. les changements de l'indice protéinique en comparaison avec les changements de la réaction à filtrate d'après Brdička du sérum alcalisé et non alcalisé en relation avec les changements morphologiques du tissu du foie.

Un abaissement maximal de l'indice protéinique et de la hauteur de la double onde de réaction à filtrate du sérum alcalisé et non alcalisé a été observé plus souvent chez des animaux abattus 48 heures après l'application du CCl_4 . Mais l'abaissement de l'indice protéinique du sérum alcalisé n'a pas été statistiquement significatif.

Les avantages supposées de l'indice protéinique pour le diagnostic des maladies du foie, spécialement relatif à l'augmentation du discernement entre les séras des individus sains et malades n'ont été affirmées. C'est que chez la plupart des animaux un abaissement de la hauteur de double onde pas seulement apparait de la réaction à filtrate, mais aussi de la réaction sérologique sans filtrate.

En comparaison avec les résultats de la réaction à filtrate d'après Brdička du sérum alcalisé et surtout non alcalisé l'établissement de l'indice protéinique n'est pas une méthode plus efficace pour le diagnostic des hépatites du type suivi.

Reakce séra s kyselinou pikrovou

II. Reakce séra s kyselinou pikrovou za některých patologických stavů u koní*)

Реакция сыворотки крови с пикровой кислотой.

II. Реакция сыворотки крови с пикровой кислотой при некоторых патологических состояниях лошадей

Seroreaktion mit Pikrinsäure — II. Seroreaktion mit Pikrinsäure bei einigen pathologischen Zuständen der Pferde

La séro-réaction avec acide picrique. II. La séro-réaction avec acide picrique chez quelques états pathologiques des chevaux

Antonín JANEČEK, Dobroslav ŽERNÍČEK

Katedra lékařské chemie, fyziky a toxikologie veterinární fakulty VŠZ v Brně, vedoucí katedry prof. MVDr. A. Janeček

Ú v o d

Metodou, uvedenou v první části práce (1), jsme vyšetřili séra celkem 55 koní s různými chorobami. Z toho počtu bylo 33 koní s prokázanou jaterní chorobou a 22 koní s jinými chorobami, nepostihujícími převážně játra. Vyšetřovaná krevní séra pocházela z klinik veterinární fakulty v Brně a z Krajské veterinární nemocnice v Pardubicích, odtud převážně séra koní s jaterní chorobou.

Klinické diagnózy byly stanoveny jmenovanými klinikami a uvádíme je včetně pitevních nálezů v tabulce. Hodnoty reakce jsme sestavili do tabulky a provedli jsme statistické zhodnocení a výpočet průměrů a rozmezí získaných hodnot.

U koní s jinými chorobami, u nichž nebylo klinicky ani biopsií prokázáno poškození jater, vazby kyseliny pikrové (dále KP) na sérum ani její uvolnění z vazby se neliší nápadně od průměru zdravých koní a jen slabě přesahuje rozmezí normálních hodnot.

*) Předneseno na semináři skupiny základních biologických oborů ve veterinárním lékařství Vědecké společnosti čs. zootechniků a veterinárních lékařů dne 19. září 1958 v Brně, dále na vědecké konferenci veterinární fakulty VŠZ v Brně dne 19. května 1959 a na II. celostátním biochemickém sjezdu v Praze v září 1960, otištěno ve Sborníku thesí II. celostátního biochemického sjezdu 1960 jako ref. č. 188 a 189. První část otištěna ve Sborníku ČSAZV, Veterinární medicína č. 2 roč. 1962.

Tab. 1. Hodnoty zdravých a nemocných koní vázaná KP (%)

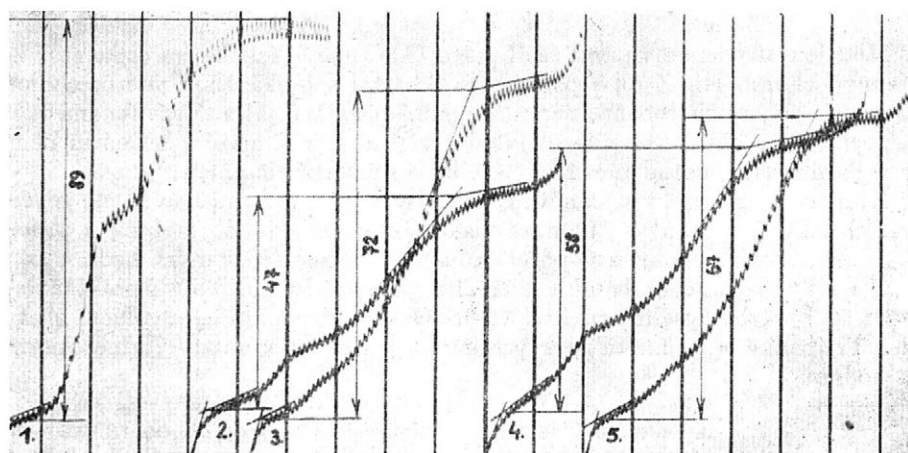
	PRŮMĚR	ROZMEŽÍ	10	20	30	40	50
ZDRAVÍ	44	37-52					
JINÉ CHOROBY	42	30-54					
JATERNÍ CHOROBY	38	22-51					

Etanolem neuvolněná KP (%)

	PRŮMĚR	ROZMEŽÍ	10	20	30	40	50	60	70
ZDRAVÍ	12	0-21							
JINÉ CHOROBY	19	4-27							
JATERNÍ CHOROBY	46	30-68							

Proti tomu u koní s prokázanou jaterní chorobou, zařazených v tabulce II, byly nalezeny statisticky významné rozdíly v etanolem neuvolněné KP proti hodnotám u zdravých koní. Podobně i vazba KP je u většiny případů snížena, nejvíce u případů letálních. Etanolem neuvolněná KP jeví proti hodnotám zdravých koní největší rozdíly a nejvyšších hodnot dosahuje před exitem zvířete a je spolu s vázanou KP v přímé závislosti na stadiu choroby. Z těchto důvodů byla etanolem neuvolněná KP zvolena za hlavní kritérium celé reakce.

Podle dosažených výsledků je reakce séra s KP pozitivní u jaterních chorob, zatímco u dosud vyšetřených jiných chorob, u nichž prokazatelně nedošlo k poškození jater, je v rozmezí normálních hodnot nebo jen slabě zvýšena. U několika případů následných stavů po poškození jater jsme našli hodnoty etanolem neuvolněné KP nad 20 %. Z tohoto důvodu jsme určili rozmezí 20–30 % etano-



Vlna 1. Standart KP. — Vlna 2. Záznam A, vázaná KP = 47 %. — Vlna 3. Záznam B, neuvolněná KP = 40 %. — Vlna 4. Záznam A, vázaná KP = 35 %. — Vlna 5. Záznam B, neuvolněná KP = 70 %. — Vlny 2. a 3.: *hepatitis chronica*. Vlny 4. a 5.: *hepatodystrofie* (letální)

II. Hodnoty reakce u koní s jaterními chorobami

Diagnóza	Vázaná KP v %	Neuvolněná KP v %	Poznámka
<i>Hepatitis toxica</i>	33	32	
za 28 dní	42	19	uzdraven
<i>Hepatitis</i> (bez bližší specifikace)	35	40	
za 9 dní	37	22	uzdraven
<i>Hepatodystrofia enzootica</i>	39	61	exitus, potvrzeno histologicky
<i>Leptospirosis sejrö</i>	40	41	potvrzeno serologicky
<i>Fibrosis hepatis</i>	47	44	potvrzeno histologicky
<i>Leptospirosis sejrö</i>	35	50	exitus, degenerace jater
<i>Leptospirosis equorum</i> (<i>icterus gravis</i>)	44	50	potvrzeno sérologicky
<i>Hepatitis toxica</i>	31	51	poražen, potvrzeno histologicky
<i>Leptospirosis sejrö</i>	41	54	potvrzeno biopsií jater
za 5 dní	42	54	
<i>Hepatitis + peritonitis</i>	36	45	
za 3 dny	31	48	
za 11 dní	25	52	exitus, potvrzeno
za 17 dní	30	58	histologicky
<i>Atrofia hepatis flava</i>	26	55	
za 2 dny	25	53	
za 8 dní	29	60	exitus, potvrzeno
za 13 dní	22	68	histologicky
<i>Hepatitis toxica</i>	36	61	potvrzeno klinicky
<i>Hepatitis dystrofica</i>	37	68	potvrzeno klinicky
Před aplikací chloralhydrátu	43	14	
po aplikaci za 1 hod.	43	37	
po aplikaci za 2 hod.	43	49	

lem neuvolněné KP jako rozmezí hodnot podezřelých a hodnoty od 30 % výše jako pozitivní hodnoty reakce u jaterních chorob.

Za pozitivní výsledek reakce séra s KP při diagnostice jaterních chorob pokládáme snížení hodnot vázané KP pod spodní mez normálních hodnot a zvýšení hodnot etanolem neuvolněné KP nad horní mez, zjištěnou u případů podezřelých z jaterní choroby. U prognosticky nepříznivých případů se stále zvyšují hodnoty etanolem neuvolněné KP za současného klesání hodnot vázané KP.

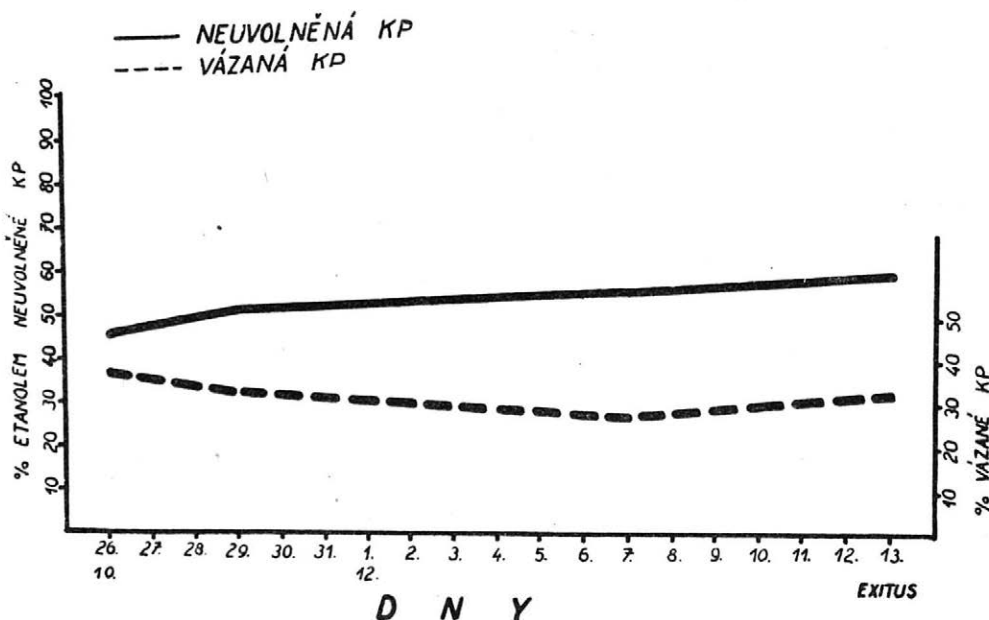
U letálních případů jaterních chorob je reakce tak silně pozitivní, že rozdíly jsou patrné již na první pohled po pořízení polarografického záznamu obou nádobek. Názorný příklad uvádíme na obrázku 1.

Na obrázku 2 a 3 uvádíme graficky průběh reakce u dvou letálních případů jaterní choroby, sledovaných až do exitu.

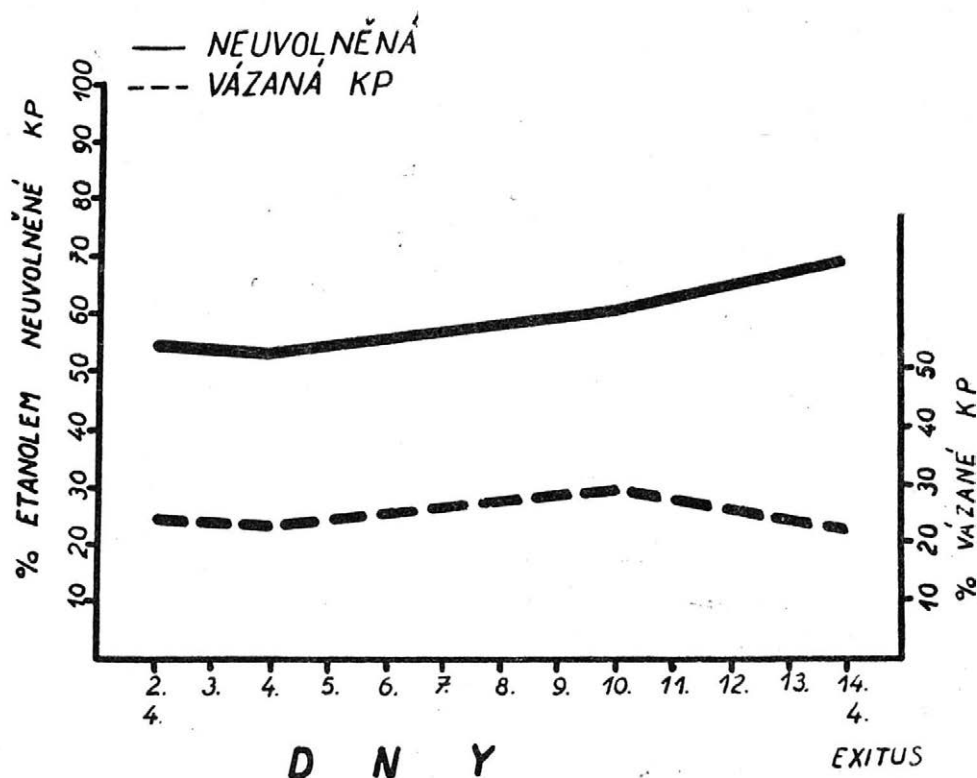
Podobných kladných výsledků s touto reakcí jsme dosáhli při orientačním vyšetření menšího počtu humánních případů jaterních chorob. Tento materiál nám byl ochotně poskytnut infekční nemocnicí KÜNZ v Bohunicích. Na tomto místě děkujeme za ochotu a laskavé poskytnutí vyšetřovaného materiálu a klinických údajů dr. Z. Sovovi z KNV v Pardubicích a I. interní klinice VF VŠZ v Brně.

Diskuse

Výsledky reakce se séry koní s různými chorobami svědčí pro to, že tato reakce je použitelná v diagnostice jaterních chorob lidí i zvířat. U ostatních dosud vyšetřených chorob, prokazatelně nepoškozujících játra, jsou výsledky reakce negativní.



Obr. 2. Průběh choroby koně č. 54. — Diagnóza: *Hepatitis*, toxické poškození jater



Obr. 3. Průběh choroby koně č. 138. — Diagnóza: *Atrofia hepat. flava*

Podobně jako u sér zdravých koní, tak i u sér koní s jaterními chorobami, nebyl nalezen vztah mezi pozitivitou reakce a hodnotou celkových bílkovin, případně SA v séru, zjišťovanou papírovou elektroforézou a stejně tak mezi hladinou bilirubinu v séru. Nenalezli jsme též vztah k hodnotám proteinového indexu a k hladině cholesterolu v séru. Výsledek reakce je však ve shodě s klinickou diagnózou a případným pitevním a histologickým nálezem.

Orientačně byla zjištěna určitá shoda s hodnotami prokainesterázy a cholinesterázy séra, tedy s enzymy albuminového typu (3), závislými na neporušené syntéze SA v jaterních buňkách (2). Podle Kunkela a Warda (4) je defekt v esterázách séra paralelní s defektem syntézy SA a současně paralelní k poruše jater.

Výsledek reakce je podle našeho předpokladu závislý na kvalitě SA, která je právě u jaterních chorob změněna, a to ihned v první fázi onemocnění. U zman (5) zjistil, že k tvorbě abnormálního jaterního proteinu dochází ještě před viditelným vznikem cirhózy. Granati a spoluautoři (6) prokázali, že u experimentálního poškození jater je krevní protein mnohem dříve a ve větší míře ovlivněn poškozeným metabolismem jaterních buněk než dojde k jejich zjištěitelné lesi. Ke kvalitativním změnám SA může dojít i tím, že u poškozených jater je SA obíhající v krvi nasycen jinými látkami, jak se domnívali již Šantavý a Koutná (7), a nemocná játra ztratila schopnost tyto látky z SA odbourávat. Vedle toho bylo do-

kázáno, že současně snižená a abnormální syntéza SA v poškozených játrech vede k tomu (8), že do krevního oběhu není vyplavován čerstvý a hodnotný SA s plnou fyziologickou funkcí. Welin (9) prokázal přímý vztah mezi SA a intenzitou změn parenchymu jater, podobný vztah však nezjistil u globulinů.

Podle Flaschentrağra (8) je u nemocných jater vedle syntézy bílkovin v játrech vždy poškozena i schopnost jater bílkoviny odbourávat. Poškozená játra produkují do krevního oběhu abnormálně stavěné bílkoviny, změněné kvantitativně i kvalitativně, takže SA je v mnoha směrech defektní, především po stránce své kvality a své funkce v organismu jako nosné substance pro různé látky, což potvrdil i Worthington a další (10).

U experimentálně poškozených jater obsahuje SA až 20krát méně síry než SA u zdravých zvířat (8) a jeví kvantitativní změny ve vestavěných aminokyselinách, jak prokázali Müting a Wortman (11). Podle těchto autorů (11) a Breyera a Baura (12) má takový kvalitativně změněný SA u jaterních chorob sniženou kapacitu k vazbě mnoha látek, včetně barviv. Bennhold, Ott a Kallee (13) zjistili, že snížení kapacity SA k vazbě látek je mnohem vyšší než odpovídá případně snížené koncentraci SA, čili je zaviněno kvalitativní změnou jeho molekuly.

Narasinga Rao a Hira Lal (14) zjistili, že vazba Co^{++} závisí také na kontiguračních změnách v molekule SA. Podle Schneidera (15) závisí clearance kongočerveně na kvalitativních změnách a podobně i Goll (16) a Kuntz (17) prokázali, že bromsulfaleinová clearance závisí především na kvalitativních změnách SA, ke kterým dochází u jaterních chorob a takový patologický SA označují již jako „hepatitisalbumin“. Také Delrieu (18, 19) prokázal, že počet bazických skupin v molekule SA u hepatitid klesá a poškozená játra se stávají více zdrojem globulinů než SA (20).

Guidotti a Clerici (21, 22) zjistili, že v regenerující části jater po parciální hepatektomii je sice zvýšena produkce SA, ale je omezen jeho přechod do krevního oběhu. U regenerujících jater je současně zvýšena vestavba glycinu- C^{14} do bílkovin. Vztah kvalitativních změn SA k poškození jater je podrobněji popsán v souborném referátu Žerníčka (23).

Podle výsledků reakce KP se séry koní i lidí s jinými chorobami soudíme, že u chorob, u kterých nedochází ani sekundárně k poškození jater nebo k ovlivnění jejich funkce, bude výsledek reakce vždy negativní. U mnoha chorob, např. u nefrózy (24), karcinomu a podobně, dochází sice ke ztrátám nebo inaktivaci SA a ke snížení jeho poločasu života, ale játra jsou při tom podněcována ke zvýšené tvorbě bílkovin a ke zvýšené produkci SA, takže jeho ztráty jsou zcela kryty (25, 26, 27). Podle Reisse (28) dochází u infekcí pravděpodobně k mobilizaci aminokyselin ze svalů k játrům, aby se v játrech udržela v plné míře syntéza bílkovin. Podobně i při ztrátách krve vyplavují játra do krevního oběhu velká množství bílkovin (8, 29). Dojde-li u některé choroby k sekundárnímu poškození jater, např. toxemií, septikemií, podvýživou a podobně, očekáváme, že pak bude i reakce séra s PK pozitivní.

Slabě pozitivní reakci séra s KP jsme našli i u některých klinicky zdravých koní, u nichž byla provedena několikrát pokusně narkóza, což svědčí pro citlivost reakce. U koní, jejichž séra byla vyšetřována několikrát, bylo možno podle výsledků reakce sledovat průběh jaterního onemocnění a usuzovat na prognózu choroby. Výsledek reakce lze pokládat za přímo závislý na stavu jater a stadiu choroby jater. Tento náš poznatek plně odpovídá literárním údajům o vztahu SA k funkci jaterního parenchymu (2, 4, 9, 16).

Prozatím lze říci, že reakce nám indikuje pouze poškození jater vůbec a po-

dle jejího výsledku lze usuzovat na rozsah nebo závažnost tohoto poškození. Reakci však nelze dosud odlišit charakter poškození jater. Reakci pokládáme za citlivou pro diagnostiku jaterních chorob a očekáváme, že s její pomocí bude možno zachytit poškození jater již v samém počátku choroby, jak jsme se přesvědčili při experimentálních narkózách chloralhydrátem u koní (30).

Poněvadž je nutno, především u masožravců, počítat s vlivem potravy na játra, resp. se zatížením funkce jater odbouráváním produktů rozpadu živočišných bílkovin (8), je nutno používat k reakci krevních sér, odebíraných na lačno. Pro tento závěr svědčí i fakt, že SA je funkčně zapojen do detoxikačních pochodů v organismu a 99 % všech metabolitů se váže na SA (31). Také chylózní séra dávají vyšší hodnoty reakce, pravděpodobně má též určitý vliv na reakci změna v SA, na který se vázaly chylózní substance (32).

V dalších částech práce bude použitelnost této reakce ověřena na experimentálních hepatitidách a bude provedeno podrobné hodnocení jejího významu u klinických případů jaterních a jiných chorob.

Souhrn

1. Výsledky reakce séra s KP jeví statisticky signifikantní rozdíly v etanolem neuvolněné KP mezi séry zdravých koní a séry koní s jaterními chorobami. Rozdíl ve vázané KP je výrazný hlavně u letálních případů. Etanolem neuvolněná KP byla vzata za hlavní kritérium pro hodnocení reakce u jaterních chorob. Výsledky reakce jsou u jednotlivých případů v souhlasu s klinickým průběhem choroby, případně s pitevním nálezem a lze podle nich usuzovat na stupeň poškození jater a sledovat průběh choroby. Reakce má tedy diagnostický i prognostický význam.

2. Autoři předpokládají, že pomocí reakce séra s PK bude možno prokazovat sekundární poškození jater i při různých primárních chorobách.

3. Na základě našich výsledků a literárních údajů se domníváme, že reakce séra s KP závisí na kvalitě SA, k jejíž změně dochází při poškození funkce jaterních buněk a takový SA byl již před námi označen jako „hepatitisalbumin“.

4. Podle výsledků této práce i výsledků dalších prací, připravených k tisku, lze očekávat, že reakci séra a KP bude možno používat k včasné diagnostice poškození jater toxickými i infekčními noxami. Další možnost použití reakce se naskýtá při zavádění nových léčebných přípravků ke zjištění jejich případného toxického účinku na játra.

5. Reakce byla v našem ústavě úspěšně zavedena do běžné diagnostiky jaterních chorob zvířat.

Došlo dne 20. 4. 1961

Literatura

1. Janeček A., D. Žerníček, 1961: Reakce séra s kyselinou pikrovou, I. Metodika a normální hodnoty zdravých lidí a zvířat, Veterinární medicína 2. r. 1962. — 2. Richterich R., 1958: Enzymopathologie, Berlin. — 3. Sherlock Sheila, 1958: Diseases of the Liver and Biliary System, Oxford. — 4. Kunkel

G. H., S. M. Ward, 1947: J. Exptl. Med., 86, 325. — 5. Uzman L. L., 1957: A. M. A. Arch. Pathol., 64, 464. — 6. Granati A., D. Scavo, B. De Maria, 1958: Folia Med. (Naples), 41, 154). — 7. Šantavý F., D. Koutná, 1948: Čas. lék. českých, 89, 1189. — 8. Flaschenträger F., 1954-5: Physiologie Chemie, Bd. I. a II/2b, Springer Verlag, Berlin. — 9. Welin G., 1952: Acta med. Scand., Suppl. 268, 23. — 10. Worthington G. S., M. Schreiber, M. B. Leslie, B. A. Portin, R. E. G. Mesmer, J. D. Stewart, 1958: Ann. Surg., 148, 401. — 11. Mütting D., Wortmann V., 1956: Dtsch. Med. Wschr. 81, 1853. — 12. Breyer B., H. H. Bauer, 1953: Austral J. Chem., 6, 332. — 13. Bennhold H., H. Ott, E. Kallee, 1951: H. S. Ztschr. f. phys. Chem., 287, 185. — 14. Narasinga Rao, Hira Lal, 1954: J. Amer. Chem. Soc., 76, 4867. — 15. Schneider J. A., 1947: Ztschr. ges. inn. Med., 2, 531. — 16. Goll K. H., 1960: Ztschr. ges. inn. Med. u. ihre Grenzgeb., 15, 305. — 17. Kuntz E., 1957: Klin. Wschr., 35, 722. — 18. Delrieu P., 1957: Ann. biol. chim. (Paris), 15, 11. — 19. Delrieu P., 1957: Ann. biol. chim. (Paris), 15, 28. — 20. Robert S., A. White, 1949: J. Biol. Chem., 180, 505. — 21. Guidotti G., E. Clerici, 1958: Experientia (Basel), 14, 341. — 22. Guidotti G., E. Clerici, G. Sambo, E. Bazzano, 1959: Experientia (Basel), 15, 55. — 23. Žerníček D., 1961: Kvalitativní změny sérového albuminu u jaterních chorob, zkráceně předneseno na semináři Vědecké společnosti čs. zootech. a vet. lék. 16. 12. 1960 v Brně (v tisku). — 24. Blahd W. H., M. Fields, R. Goldmann, 1955: J. Lab. Clin. Med., 46, 747. — 25. Hiller E., Schah H., 1954: Münch. Med. Wschr., 96, 1511. — 26. Karte H., E. Kröger, 1955: Dtsch. Med. Wschr., 80, 420. — 27. Martin V. H., D. J. Perkins, 1954: Biochem. J., 642. — 28. Reiss E., 1957: J. Lab. Clin. Med., 50, 944. — 29. Rodionov V. M., V. D. Uspenskaja, O. G. Zamyjatkina, T. P. Grunt, V. V. Poljakova, 1957: Voprosy med. chim., 3, 255. — 30. Piskač A., D. Žerníček, 1961: Reakce séra s kyselinou pikrovou, IV. Vliv některých narkotik na jaterní činnost koní, předneseno na vědecké konferenci veter. fak. VŠZ v Brně 17. 5. 1959 (v tisku). — 31. The Proteins, Tom II/B, Acad. Press, New York 1954. — 32. Robinson E., J. E. French, 1955: Quartl. J. Exptl. Physiol., 38, 233.

Реакция сыворотки крови с пикровой кислотой.

II. Реакция сыворотки крови с пикровой кислотой при некоторых патологических состояниях лошадей

1. Результаты реакции сыворотки крови с пикровой кислотой показывают статистически достоверные различия между сывороткой крови здоровых лошадей и лошадей, страдающих от болезней печени, в пикровой кислоте, не освобожденной из комплекса этиловым спиртом. Разница в связанной пикровой кислоте значительна, главным образом, в летальных случаях. Этиловым спиртом неосвобожденная пикровая кислота представляла собой главный критерий в оценке реакции при болезнях печени, тогда как связанная пикровая кислота послужила для вспомогательной оценки, в особенности, в прогностических целях. В отдельных случаях результаты реакции соответствуют клиническому течению болезни, а также результатам вскрытия, и можно по ним судить

о степени повреждения печени и следить за течением болезни. Следовательно, реакция имеет диагностическое и прогностическое значение.

2. Авторы предполагают, что реакция сыворотки крови с пикровой кислотой предоставит возможность обнаружить вторичное повреждение печени также и при разных первичных заболеваниях.

3. Исходя из собственных результатов и из литературных данных, авторы пришли к заключению, что реакция сыворотки крови с пикровой кислотой зависит только от качества сывороточного альбумина. Качественно измененный сывороточный альбумин возникает при расстройстве функции печеночных клеток; он несет название «гепатитис-альбумин».

4. Согласно результатам указанной и других работ, подготовленных для печати, можно предполагать, что реакцию сыворотки крови с пикровой кислотой можно будет использовать для своевременной диагностики повреждения печени токсическими и инфекционными ноксами. В дальнейшем можно использовать эту реакцию также при введении новых лечебных препаратов для установления их возможного токсического воздействия на печень.

5. На нашей кафедре вышеуказанная реакция была с успехом введена в систему обычной диагностики печеночных заболеваний животных.

Seroreaktion mit Pikrinsäure — II. Seroreaktion mit Pikrinsäure bei einigen pathologischen Zuständen der Pferde

1. Die Serumreaktion mit Pikrinsäure weist statistisch bedeutsame Unterschiede in der durch Ethanol nicht frei gewordenen Pikrinsäure bei gesunden und leberkranken Pferden auf. Bei letalen Fällen ist ein Unterschied auch in der Bindung der Pikrinsäure ausgeprägt. Bei Bewertung der Reaktion bei Leberkrankheiten wurde die durch Ethanol nicht frei gewordene Pikrinsäure als Hauptkriterium angesehen. Die Reaktionsergebnisse entsprechen dem klinischen Verlauf der Erkrankung, bzw. dem Sektionsbefund. Sie ermöglichen den Grad der Leberschädigung zu beurteilen und den Verlauf der Erkrankung zu verfolgen; die Reaktion hat also eine diagnostische und prognostische Bedeutung.

2. Man kann voraussetzen, daß mittels der Seroreaktion mit Pikrinsäure auch sekundäre Leberschädigungen nachzuweisen sind.

3. Auf Grund unserer Ergebnisse und der Literaturangaben kamen wir zur Überzeugung, daß die Seroreaktion mit Pikrinsäure ausschließlich von der Qualität des Serumalbumins abhängt. Ein qualitativ verändertes Serumalbumin entsteht infolge der Schädigung der Funktion der Leberzellen und wurde bereits als „Hepatitisalbumin“ bezeichnet.

4. Nach den Ergebnissen dieser und anderer druckfertiger Arbeiten kann man erwarten, daß die Seroreaktion mit Pikrinsäure zur Frühdiagnostik toxischer und infektiöser Leberschädigungen dienen wird. Ein weiteres Anwendungsgebiet gewinnt die Reaktion bei der Untersuchung eventueller die Leber schädigender Wirkungen neuer Heilmittel.

5. In unserem Institut wurde die Seroreaktion mit Pikrinsäure mit Erfolg in die übliche Diagnostik der Lebererkrankungen eingeführt.

La séro-réaction avec acide picrique. II. La séro-réaction avec acide picrique chez quelques états pathologiques des chevaux

1. La séro-réaction avec acide picrique diffère statistiquement significamment quant à l'acide picrique non libéré par l'éthanol chez les chevaux sains et chez eux avec maladie du foie. Chez les cas létaux la différence concerne aussi la liaison de l'acide picrique. En évaluant la réaction chez les maladies du foie l'acide picrique non libéré par l'éthanol a été le critère principal. Les résultats des réactions correspondent au cours clinique de la maladie, respectivement au résultat de l'autopsie. Ils nous permettent de juger le degré du dommage du foie et de suivre le cours de la maladie; la réaction a de même une importance diagnostique et pronostique.

2. On peut supposer, qu'à l'aide de la séro-réaction avec acide picrique il sera possible de prouver aussi les dommages du foie secondaires.

3. À la base de nos expériences et des données de la littérature nous sommes convaincues, que la séro-réaction avec acide picrique dépend seulement de la qualité du sérumalbumin. Un changement de la qualité du sérumalbumin résulte d'une altération de la fonction des cellules du foie et il a été déjà nommé comme albumin hépatitique.

4. D'après ce travail et autres travaux jusqu'à ici non publiés on peut attendre, que la séro-réaction avec acide picrique servira pour un diagnostic que précoce des dommages du foie toxiques et infectieuses. Une autre possibilité est l'emploi de la réaction en examinant les éventuels effets nuisibles des nouvelles médicaments pour le foie.

5. Nous avons employé la séro-réaction avec acide picrique dans notre institut avec succès dans le diagnostic routinier des maladies du foie des animaux.

O nervovém typu a činnosti u plemenných býků a beranů

O типе нервной системы и ее деятельности у племенных быков и баранов

Der Nerventyp und die Nervenfunktion von Zuchtbullen und -Widern

On Nervous Type and Function in Bulls and Rams for Breeding

Le type nerveux et la fonction nerveuse chez les taureaux et des béliers d'élevage

M. PARASKIVESCU a T. FEREDYAN

Výzkumný ústav živočišné výroby, Bukurešť

Úvod

Značné rozšíření technické inseminace a neustálá snaha po maximálním využití plemenů, vyžaduje v praxi uplatňování všech aktuálních poznatků o reprodukčních procesech.

Ve fyziologii těchto procesů má zejména význam činnost centrální nervové soustavy, která koordinuje veškeré funkce organismu. Nervový typ, vyjadřující souhrn této činnosti, může poskytnout cenné poznatky o reprodukční schopnosti samců a možnosti jejich využití.

Avšak zkoumání a bádání v oblasti nervové činnosti je neobyčejně obtížné. I. P. Pavlov na základě podmíněných reflexů zjistil čtyři nervové typy u psů, a to: typ lenivý, klidný, sangvinistický a typ nervózní (přiliš živý). Základem této klasifikace byla nervová činnost, rovnováha mezi procesem vzruchu a útlumu, měnlivost nervových pochodů (1).

Použitím metody podmíněných reflexů a porovnáním získaných výsledků s projevy přirozených podmíněných reflexů, které vznikají při využívání plemenů, podařilo se Smirnovovi - Ugrjumovovi (2, 3), Rodinovi (4), Karlovovi (5), Gamčíkovovi a Sakalovi (6) objasnit některé stránky chování plemenů podle nervového typu, k němuž přísluší.

Vlastní výzkumy

Na základě pokusů a pozorování shora uvedených autorů a našich vlastních pozorování vzniku a upevnění přirozených podmíněných reflexů, souvisejících s odběrem semene a pozorování různých typů pohlavního útlumu, bylo vypracováno schéma klasifikace plemenů podle jejich nervové soustavy.

Podle uvedeného schématu klasifikovali jsme 19 býků různých plemen a 40 be-

ranů merino a analyzovali jejich chování při jejich používání v inseminačních stanicích pokud jde o vlastnosti semene a práce v místnosti pro odběr semene.

Charakteristika nervových typů plemenů

a) Typ lenivý — zvířata s konstitučními nedostatky, skleslá, bázlíivá, která se nesnadno přizpůsobují novým podmínkám.

Pohlavní chování: nesnadno se vzruší, příprava ke skoku trvá dlouho. Projevují silný vedlejší útlum, okolní prostředí je však nezajímá. Na krátkou dobu se objevuje útlum ospalosti. Nesnadno reagují na nové podněty (střídání atrapy, místa odběru semene apod.).

b) Typ klidný — silná a hrubá zvířata, klidná, mírná, dobře přizpůsobená k životním podmínkám inseminační stanice.

Pohlavní chování: nesnadno si navykají na odběr semene pomocí umělé vaginy nebo na změny při práci. Mohou projevovat útlumy při změně místa odběru semene, atrapy, změně osoby odebírající semeno apod. Pohlavní reflexy jsou pomalé, projevují se však nepřetržitě. Vedlejší útlum je méně výrazný a stav ospalosti se dostavuje pozdě. Vlivem značné stálosti vzniklých podmíněných reflexů jsou tyto plemeno náročnější, protože vyžadují určité výhody nebo lépe řečeno podmínky, na které přivykli.

c) Typ živý — zvířata se silnou nebo s jemnou konstitucí, mohutná, pohyblivá, s výraznou fysiognomií. Rychle se přizpůsobují novým životním podmínkám.

Pohlavní chování: snadno si navykají na odběr semene pomocí umělé vaginy nebo na změny v pracovním programu. Změny místnosti pro odběr semene a vůbec okolního prostředí mohou vyvolat jen krátkodobý útlum, po kterém mohou nastat intenzivnější reflexy. Stálé změny pracovního programu vedou k intenzifikaci reflexů. Reflexy jsou silné a výrazné. Skok plemeno ná je velmi spolehlivý. Trvalý útlum se dostavuje obtížně, nezávisle na tom, jakého je druhu. Plemeno ná nepotřebují zvláštních podmínek a mohou být využíváni v dobrém postředí.

d) Typ nervózní — zvířata mají často jemnou stavbu těla a jsou citlivá ke všemu co se děje kolem, mají vyvinutý obranný pud, snadno se znepokojí a snadno projevují umíněnost.

Pohlavní chování: snadno si navykou na odběr semene s použitím umělé vaginy a na změnu v místnosti pro odběr semene. Změny způsobu odběru semene na ně málo působí. Pohlavní reflexy jsou neobyčejně silné. Příprava ke skoku je krátká a skok je prudký. Ejakulace nastává i když je umělá pochva studená. Někdy se semeno vyroní na plano. Někdy se vyroní jen plemeno ná plazma. Vedlejší útlum se projevuje málokdy. Útlum ospalosti vzniká brzy. Používání těchto plemenů vyžaduje, aby pracovník odebírající semeno pracoval pečlivě a obratně.

Tyto typy nejsou absolutně vyhraněné a někteří jedinci jsou více méně shodní s typy jim podobnými.

Shodnost nervových typů u plemenů

Výsledky rozdělení plemenů podle nervových typů (tabulka I) ukazují relativní shodnost v početnosti nervových typů u těchto dvou druhů hospodářských zvířat.

Uvedené údaje ukazují výsledky porovnání při klasifikaci býků a beránek podle nervových typů. Rozdíly zjištěné ve skupině nemohou být v rozporu se shora

I. Rozdělení plemeníků podle nervových typů

Číslo skup.	Druh a kategorie	Počet zvířat	Typ							
			lenivý		klidný		živý		nervózní	
			počet	%	počet	%	počet	%	počet	%
1.	Býci	19	3	15,8	6	31,6	8	42,1	2	10,5
2.	Dospělí berani	12	—	—	1	8,3	9	75,0	2	16,7
3.	Beránci	28	3	10,7	9	32,7	13	46,4	3	10,7

uvedenými údaji, protože v této skupině jde o zvláštní situaci. Nepřítomnost lenivého typu a malá početnost klidného typu u dospělých beranů se vysvětluje jednak tím, že v minulém roce byli z chovu vyřazeni berani, kteří si nemohli zvyknout na odběr semene (jak tomu bývá u těchto dvou typů) a jednak značnou shodností mezi živým typem a klidným typem v stálých neměnných pracovních podmínkách a po předchozí výchově. V tomto směru I. P. Pavlov poukazuje na to, že vrozený nervový typ zvířete se může měnit podle životních podmínek a podle přizpůsobivosti k vnějšímu prostředí a že tento typ je obtížné zjistit (1). Je zcela možné, že část dospělých beranů, o kterých se předpokládá, že náleží k živému typu, náleží ve skutečnosti ke klidnému typu a že to není možné zjistit v běžných pracovních podmínkách.

Většina zvířat náleží k živému a klidnému typu, tj. k mohutné a vyrovnané soustavě typů.

Mezi těmito dvěma druhy zjišťujeme malý rozdíl v nervové činnosti, která je výraznější u beranů. Tento rozdíl, i když je velmi nepatrný, musí být připisován způsobu chovu, příznačnému pro tyto dva druhy. Zejména chov ovcí na pastvinách přispívá k intenzivnější činnosti nervové soustavy.

Základní vlastnosti semene býků různých nervových typů

Při rozboru základních vlastností spermatu (objem ejakulátu, koncentrace a motilita spermií) na podkladě průměrných hodnot vypočtených pro každý nervový typ (tabulka II) konstatujeme, že je dosti úzká souvislost mezi těmito středními hodnotami a nervovým typem, pro který byla stanoveny.

II. Základní vlastnosti semene býků podle nervového typu

Poř. číslo	Nervový typ plemeníka	Počet	Objem ejakulátu		Koncentrace		Pohyblivost	
			počet ejakul.	prům. objem	počet ejakul.	prům. objem	počet ejakul.	prům. objem
1.	Lenivý typ	3	119	3,75	77	0,87	116	0,83
2.	Klidný typ	6	334	5,87	303	0,85	327	0,81
3.	Živý typ	8	699	6,44	596	0,96	693	0,85
4.	Nervózní typ	2	223	5,59	183	0,86	222	0,76

Z tabulky II je především zřejmá lepší kvalita semene plemeníků živého typu, kteří nesporně musí být pokládáni za nejlepší. Po nich následuje klidný typ.

U nezkrotného typu, zejména pokud jde o motilitu, jsou nedostatky a u lenivého typu — pokud jde o objem ejakulátu.

Za nejméně vhodný nutno pokládat lenivý typ, který má kromě středního objemu ejakulátu, který činí jen 58,2 % průměrného ejakulátu u živého typu, ještě další nedostatek, že způsobuje potíže při odběru semene. Protože býci tohoto typu se obtížně vzrušují a dlouho se připravují ke skoku a někdy dokonce odmítají skočit, je nutno neustále dbát na to, aby se u nich podnítily reflexy.

U nervózního typu je kromě nedostatku, pokud jde o motilitu spermií, i riziko, které pramení ze sklonu těchto býků k bujnosti.

U beranů se zjišťoval průměrný objem ejakulátu, motilita spermií a intenzita využití (vyjádřena průměrným počtem odběru semene za den).

Z rozboru středních hodnot (tabulka III) je zřejmé, že i u tohoto druhu hospodářských zvířat jsou nejvhodnější plemenci živého nervového typu. Obdobné vlastnosti semene mají i berani klidného a nervózního typu.

III. Hlavní vlastnosti semene beranů v souvislosti se stářím a nervovým typem

Kategorie beranů	Analyz. ukazatel	Typ								
		lenivý		klidný		živý		nervózní		pozn.
Beránci	objem motilita stupeň využití	85	1,06	259	0,89	492	1,01	81	1,05	vyř. 3 kusy klidného typu
		82	0,83	224	0,86	537	0,87	78	0,83	
		—	0,41	—	0,90	—	0,92	—	0,95	
Dospělí berani	objem motilita stupeň využití	—	—	32	1,10	462	1,25	88	1,17	vyř. 1 kus klidného typu
		—	—	28	0,89	438	0,87	78	0,87	
		—	—	—	0,76	—	0,87	—	0,72	

Velkým nedostatkem klidného a nervózního typu je vznik negativních podmíněných pohlavních reflexů, které v několika případech znemožnily používání plemeníků. Ze zvířat klidného nervového typu nebylo možné použít ve středisku tři mladé berany (po odběru 1—3 ejakulátů) a jednoho dospělého berana (po odběru 32 ejakulátů). U dvou mladých beranů nastal negativní podmíněný reflex v místnosti, kde se odebíraly ejakuláty, a u třetího, na rozdíl od prvních dvou, když byl zařazen do stáda, kde se ho používalo po několik dní jako zkušáka. Nastanou-li již tyto reflexy, je těžké je odstranit. Jen u jednoho z prvních dvou beranů se podařilo za měsíc vytvořit pozitivní reflex na místnost, kde se odebíralo semeno a odebírat mu ejakulát za dobrých podmínek. U dospělého berana nastal útlum zřejmě vlivem nemocné zadní končetiny a nepodařilo se jej odstranit ani když kulhavost ustala.

Ze zvířat nervózního typu nebylo možné použít jednoho berana po odběru tří ejakulátů pro nadměrné porušení rovnováhy mezi podnětem a útlumem. Tato nerovnováha byla podmíněna naprostou nekoordinovaností všech pohlavních reflexů. Když bylo provedeno mnoho skoků bez ejakulace, odmítl beran nakonec skok na atrapu.

U zvířat lenivého typu byla hlavním недостатком velmi malá intezita, kterou obvykle vykazují plemeniči tohoto typu. Berani nemohli splnit ani provozní požadavek v průměru jeden ejakulát za dva dny. K odběru 1—2 ejakulátů za den s další dvoudenní přestávkou musely být téměř každý den posilovány jejich pohlavní reflexy (odběrem ejakulátu ve výběhu, odběrem na rujné ovce, přirozeným připouštěním apod.) nebo dokonce jsme přerušovali odběr ejakulátů na 4—5 dní.

Souhrn

Údaje této práce se týkají 16 býků různých plemen a 40 beranů plemene merino. Všichni tito plemeniči byli používáni v obvyklých podmínkách inseminačních stanic.

Na základě provedených prací dospěli jsme k tomuto závěru:

1. Znalost nervových typů zvířat umožňuje hodnotit v praxi nervové typy plemeníků používaných k umělému osemenování a řídit jejich využití.

2. U plemeníků se nejčastěji vyskytují tyto nervové typy: živý typ a klidný typ. Tyto typy tvořily 42,1 % a 31,6 % u býků a 46,4 % u beranů. V porovnání s nervózním a lenivým typem vyznačují se tyto typy lepšími vlastnostmi semene.

3. Nervózní typ může být používán k umělému osemenování kromě těch případů, kdy nerovnováha mezi procesy podnětu a útlumu je natolik značná, že porušuje koordinovanost všech pohlavních reflexů.

4. Nejméně vhodný typ plemeníků je lenivý typ, kterého lze využívat jen v malé míře a který vyžaduje speciální opatření v době jeho využívání.

Došlo dne 5. 4. 1962

Literatura

1. I. P. Pavlov: Akademiya nauk SSSR, sv. IV., Moskva 1951 - Leningrad. — 2. S. V. Smirnov-Ugrjumov: Ješčo o nervno-reflektornom režime bykov proizvodiťel' Novoe v biologii razmnoženija sel'skochozjaistvennyh životnyh, Selchozgiz - 1951. — 4. I. I. Rodin: Regulirovanie polovych reflexov u bykov i baranov bromom i kofeinom. Novoe v biologii razmnoženija sel'skochozjaistvennyh životnyh, Selchozgiz - 1951. — 5. V. N. Karlov: Vlijaniye uslovných reflexov na polovuju aktivnost' plemenných žerebcov. Novoe v biologii razmnoženija sel'skochozjaistvennyh životnyh, Selchozgiz - 1951. — 6. Gamčík, Sakala: Sterilita hovädzieho dobytka S.V.P.L. Bratislava 1960.

О типе нервной системы и ее деятельности у племенных быков и баранов

Результаты, приведенные в этой работе, относятся к 16 быкам разной породы и к 40 баранам породы меринос. Все эти племенные быки и бараны были использованы в обычных условиях в станциях искусственного осеменения.

На основании проведенной работы мы пришли к следующим заключениям:

1. Значение типов нервной системы животных дает возможность проводить на практике оценку типов нервной системы производителей, применяемых для искусственного осеменения, и руководить их использованием.

2. У производителей чаще всего встречаются следующие типы нервной системы: живой тип и спокойный тип. Эти типы составляли 42,1 %, 31,6 % у быков и 46,4 % у баранов. В сравнении с нервным и ленивым типами эти типы отличаются лучшими свойствами семени.

3. Нервный тип может быть использован для искусственного осеменения кроме тех случаев, когда неравновесие между процессами возбуждения и торможения настолько резко, что нарушает координированность всех половых рефлексов.

4. Менее пригодным типом производителей является ленивый тип, который можно использовать только в меньшей мере и который нуждается в специальных мероприятиях во время его использования.

Der Nerventyp und die Nervenfunktion von Zuchtbullen und -Widdern

Die in der vorliegenden Arbeit angeführten Daten betreffen 16 Bullen verschiedener Rassen und 40 Widder der Merinorasse. Alle diese Tiere wurden zur Insemination unter in den Stationen üblichen Bedingungen benützt.

Auf Grund unserer Untersuchungen gelangten wir zu folgenden Schlüssen:

1. Die Kenntnis der Nerventypen bei Tieren ermöglicht die Bewertung von männlichen Zuchttieren in der Insemination mit Hinsicht auf den geeigneten Nerventypus und zum Zwecke einer Regelung der Ausnützung dieser Tiere.

2. Bei den männlichen Zuchttieren (Bullen und Widdern) treten am häufigsten der lebhaft und der ruhige Nerventyp auf. Diese Typen wurden bei 42,1 % bzw. 31,6 % der untersuchten Bullen und bei 46,4 % bzw. 32,7 % der Widder vorgefunden. In Vergleich mit den beiden anderen Typen zeichnen sich Tiere dieser beiden Typen durch bessere Samenqualität aus.

3. Tiere des unbeherrschbaren Typs können zur künstlichen Besamung benützt werden, mit Ausnahme von Fällen, wo die Gleichgewichtsstörung zwischen den Prozessen der Erregung und Dämpfung so bedeutend ist, daß sie die Koordination aller sexuellen Reflexe unterbindet.

4. Der am wenigsten geeignete Nerventyp ist der träge Typ, der nur in geringem Ausmaße benützt werden kann und besondere Maßnahme bei der Samenabnahme erfordert.

On Nervous Type and Function in Bulls and Rams for Breeding

The statements of this paper concern 16 bulls of different breeds and 40 merino rams. All have been employed under conditions usual in insemination stations.

The examinations performed led to the following conclusions:

1. The knowledge of the nervous types of animals enables to evaluate in practice the nervous types of male animals employed in artificial insemination and to direct their utilisation.

2. Among male animals are the most frequent nervous types: the vivacious type and the calm type. Both together are present among bulls in 42,1 % et 31,6 %, among rams in 46,4 %. These types show a better quality of the sperm contrary to the nervous and the idle type.

3. The nervous type may be employed for artificial insemination with the exception, when the equilibrium between the processes of stimulation and damping is altered in such a grade, that the coordination of all genital reflexes is in disorder.

4. The least suitable type of male animals is the idle one, which can be employed only in a restricted measure and requires special precautions during employment.

Le type nerveux et la fonction nerveuse chez les taureaux et des béliers d'élevage

Les données de ce travail concernent 16 taureaux de races différentes et 40 béliers de la race mérino. Tous les mâles ont été utilisés dans les conditions usuelles des stations d'insémination.

A la base des travaux exécutés nous sommes arrivé aux conclusions suivantes:

1. La connaissance des types nerveux des animaux rend possible l'évaluation en pratique des types nerveux des mâles, utilisés pour l'insémination artificielle et diriger leur utilisation. 2. Chez les animaux mâles on trouve le plus souvent les types nerveux suivants: le type vif et le type tranquille. Ces types forment 42,1 %, 31,6 % chez les taureaux et 46,4 % chez les béliers. En comparaison avec le type nerveux et paresseux (indolent) ces types montrent les meilleurs qualités du sperme. 3. Le type nerveux peut être utilisé pour l'insémination artificielle outre les cas, où le manque d'équilibre entre les procès de stimulation et l'assourdissement est tellement considérable, qu'il altère la coordination de tous les reflets génitaux. 4. Le type le moins approprié des animaux mâles est le type indolent, qu'on peut exploiter seulement en petite mesure et qui exige des mesures spéciales durant son emploi.

Metody morfologického vyšetření spermatu býků při sledování patologických změn a jejich význam z hlediska dědičnosti

Методы морфологического исследования спермы быков при изучении
патологических изменений и их значение с точки зрения наследственности

Methoden der morphologischen Untersuchung des Spermas von Bullen bei Verfolgung
der pathologischen Veränderungen und ihrer Bedeutung vom Standpunkt der Erb-
lichkeit

Methods of the Morphological Examination of the Sperm of Bulls in Following the
Pathological Changes and their Importance from the Viewpoint of Heredity

Les méthodes d'examen morphologique du sperme des taureaux en suivant les
changements pathologiques et leur importance vu la hérédité

MVDr. Oldřich ROB a kolektiv

*Oddělení fyziologie a patologie rozmnožování veterinární nemocnice v Pardubicích,
vedoucí MVDr. M. Ryšánek*

Úvod a přehled literatury

Při sledování dědičných vlivů na spermiogenezi a plodnost plemeníků vedle změn zjistitelných klinicky, patologicko-anatomicky nebo histologickým vyšetřením je nutno věnovat stále větší pozornost morfologickému vyšetření spermatu.

Morfologické vyšetření spermatu vedle toho, že bývá jedním z prvních ukazatelů patologických změn probíhajících ve varlatech nebo nadvarletním traktu, může při volbě správných barvicích metod odhalit i některé morfologické změny dědičného charakteru.

Blanko (cit. Gamčík, Sakala, 1960) tvrdí, že zúžení hlaviček a stočení bičků může být dědičné. Hancock (1953) pozoroval u skupiny býků abnormální akrosomy dědičného charakteru. Gamčík a Sakala (1960) uvádějí, že podle Lagerlöfa délka hlavičky spermie je v určitém vztahu k plodnosti a je ovlivňována dědičnými faktory. Rovněž Rollinson a Bonadonna (cit. Sakala, 1959) sledovali změny akrosomů z genetického hlediska a předpokládají, že tyto změny jsou dědičné a že jsou ve vztahu ke snížené fertilitě. Jaškovski a Romaniuk (1959) popisují výskyt anomálií na hlavičkách spermií býka jako hluboko zbarvenou plochu na předním okraji hlavičky. Žádná z inseminovaných krav nezabřezla a nebyla zjištěna žádná infekce pohlavních orgánů býka ani krav inseminovaných jeho semenem. Ostatní hodnoty spermatu byly normální. Wohlfarth (1961) uvádí, že v posledním desetiletí byly pozorovány akrosomové defekty jako příčiny neplodnosti býků v Anglii, Dánsku,

Holandsku a Německu. Dále uvádí, že autoři jako L i e s s a K r a u s e pozorovali tyto změny u kanců. W o h l f a r t h (1961) pozoroval u čtyř sterilních mladých kanců vysoké procento akrosomových defektů a jasně prokazuje genetické faktory jako příčinu této abnormality.

Protože při výše popisovaných změnách, často spojených s infertilitou, bývá ostatní vyšetření spermatu bez odchylek a dosud u nás v praxi používanými barvicími metodami nebylo možné tyto změny hlavně na akrosomech sledovat, snažili jsme se nalézt nejvhodnější metodu pro morfologické vyšetření spermatu, která by umožňovala posouzení celkového tvaru spermie a pomohla by odhalovat i intaktnost akrosomu, respektive změny na akrosomu. Domácí i zahraniční literatura uvádí desítky fixačních roztoků a barvicích metod pro morfologické posouzení spermatu. P o l á k (1961) doporučuje použití alkoholického roztoku methylenové violeti po fixaci roztěru plamenem nebo alkoholem, dále barvení podle W i l l i a m s e karbolfuchsinem a lihovým roztokem methylenové modři po fixaci plamenem a lázni v 0,5% ním chloraminu aj. E i b l (1959) doporučuje metodu podle K a r r a s e metachromovou žlutí a Viktoriánskou modří po zaschnutí preparátu bez fixace, dále rychlou metodu podle B r e n d a n a T. F a r e l l y h o anilinovou modří a genciánovou violetí. Dále jsou doporučovány různými autory použití bengálské červení, M a y - G r ü n w a l d o v a barvení a řady dalších metod. V a n D u i j n j n r. (1961) doporučuje akridinovou oranž a používá ji i ke stanovení živých spermií stejně tak diazinové zeleně (1961). H a n c o c k (1952) používá k morfologickým studiím spermií řadu barvicích metod jako pufrovaného roztoku Giemsy, Heidenheinova železitého hematoxylinu, PAS metody a jiných. K ö r d e l (1959) používá modifikované metody podle K a r r a s e s Viktoriánskou modří a metachromovou žlutí. W a l e s (1959) používá konžské červeně a nigrosinu rovněž pro diferenciální barvení. Kromě toho je popisována řada cytochemických metod (W o o s s m a n n, 1960 aj.), kterými jsme se však v této práci nezabývali.

Materiál a metody

V naší laboratoři jsme provedli 1432 vyšetření ejakulátů od býků s normální i porušenou plodností z plemenářských stanic Východočeského kraje a od býků léčených pro poruchu plodnosti v našem zařízení. Ve své práci jsme se snažili najít co nejvhodnější fixační roztok a barvicí metodu, která by umožnila co nejdokonalější posouzení zhotovených roztěrů. Vyzkoušeli jsme postupně řadu fixačních roztoků a barvicích metod, postupně jsme vylučovali nevhodné metody. Zaměřili jsme se na techniku zhotovení roztěru (roztěr jako krevní filmy, stékání volné kapky, valení kapky za pipetou aj.), dále na metodu ředění (fyzilogický roztok, destilovaná voda, 4,5procentní roztok natrium citrátu, odstředěné semenné plazmy, Ringerova roztoku), metodu fixace (plamenem, pozvolným zaschnutím na vzduchu, zaschnutím na vyhřívací desce mikroskopu značky Boëtius, pětiprocentním formalinem a různými formalinovými roztoky, alkoholem, alkohol-éterem), barvicí metody podle Hancocka, Karrase, Kördela a jejich modifikace, dále jsme přezkoušeli použití eosinu Giesmy-Romanovského, metody podle Löfflera, Mayeroва hematoxylinu a 0,5% ního vodního roztoku eosinu, cytologické barvicí metody podle Pappenheima a klasické metody podle Papanicolauova).

Výsledky práce

Výsledky přezkoušených fixačních a barvicích metod, poznatky získané při technice zhotovení preparátu, jeho posouzení a uchování můžeme shrnout následovně:

1. Technika zhotovení preparátu

Základní podmínkou správného zhotovení roztěru je dobře připravené podložní sklíčko. Užíváme tenkých sklíček, o síle 0,1 cm. Při ošetření nových sklíček se nám nejvíce osvědčil následující postup: umytí mýdlem, opláchnutí vodovodní vodou, přelití destilovanou vodou, uchování v nádobě s alkoholem. Z této nádoby je vyjímáme asi 24 hodin před použitím, osušíme plátěným hadříkem a až do použití ukládáme do termostatu. Veškeré utensilie používané při zhotovení roztěrů musí být předebrány na přibližně stejnou teplotu jako vyšetřované sperma, protože se shodujeme v našich pozorováních s údaji Hancocka (1952), že náhlý teplotný rozdíl 10° C vyvolá ireversibilní změny v aktivitě a někdy i v tvaru spermií.

Shodujeme se s názory Götzeho (1949), Karrase (1950) aj., že býčí sperma je nutno naředit, aby bylo možno dobře diferencovat jednotlivé buňky. Ředění provádíme podle hustoty spermatu, a to tím způsobem, že sperma husté ředíme v poměru 1 : 15–20, středně husté 1 : 10–15, řídké 1 : 1–5. K ředění u býčího spermatu podle našich pozorování je nejlépe použít fyziologického roztoku nebo téže čerstvě odstředěné semenné plazmy. Jiná ředidla, jako 4,5% ní roztok natrium citrátu, nelze doporučit, jednak pro změny, které vytváří na tvaru buňky, jednak pro tvorbu výrazných krystalických květů, které se sice po opláchnutí ztratí, ale odplaví sebou mnoho spermií, nebo destilované vody, která zase působí rychlé bobtnání akrosomů.

Sperma naředíme na předebratém hodinovém sklíčku, dobře promícháme kolebavým pohybem a pipetou nebo skleněnou tyčinkou nanese jednu kapku ředěného spermatu na podložní sklíčko, které jsme před tím na okraji druhé strany označili pořadovým číslem barevnou tužkou na sklo. Ze způsobu zhotovení roztěrů nejvíce vyhovuje zhotovení roztěru sklíčkem se zabroušenou hranou tak, že kapku semene táhneme za sklíčkem položeným v úhlu 45°, avšak ani nepatrná část spermatu se nesmí dostat před sklíčko, jinak dojde k četným arteficiálním změnám. Vyloučit tyto artefakty od skutečných abnormalit lze tím způsobem, že kapku naředěného spermatu necháme volně stéci na sklíčku svisle postaveném. Dále jsme v našich pozorováních přišli na to, že všechny laboratorní pomůcky musí být dokonale suché, beze stop destilované vody po čištění skel, protože přítomnost destilované vody i v malém množství vyvolává bobtnání akrosomů. Musí se pracovat s co nejčerstvějším semenem, protože s postupujícím stářím semene bez konzervace dochází rychle k poklesu hodnoty pH na stranu kyselou a s postupujícím odumíráním některých spermií i k morfologickým změnám, což by mohlo zkreslit výsledek vyšetření. Proto je nutno dbát, aby roztěry byly zhotoveny do 20 minut po provedení odběru. Jakmile se provedené roztěry stanou matnými, přistoupíme k fixaci. Roztěry ponecháváme volně zaschnout při laboratorní teplotě, nebo je pokládáme na výhřevnou desku mikroskopu zn. Boëtius, kterou jsme vyregulovali na potřebnou teplotu kolem 37° C. Zaschnutí roztěrů trvá 1 až 3 minuty.

2. Fixační metody

Při volbě fixační metody jsme vybírali takovou, při níž je co nejméně poškozena buňka, aby po fixaci bylo co nejkontrastnější vybarvení a aby zhotovené rozvěry mohly být co nejdéle uchovány.

Fixace roztěrů teplem nad plamenem se neosvědčila, protože po této fixaci dochází na povrchu roztěrů k tvorbě krystalických květinových útvarů z fyziologického roztoku a semenné plazmy, které překrývají na mnoha místech roztěr nebo se zachycují kolem spermií a tak je ztěženo jejich posouzení. Spermie se při tom stávají velmi fragilními a dochází k oddělení hlaviček od bičíků a akrosom není obarven rovnoměrně, ale je mapovitý. V některých případech hlavičky spermií jeví při použití této fixační metody akrosomovou hmotu kondenzovanou k přednímu okraji a tak i znatelný hrboletý obrys při okraji hlavičky, což je nejvýrazněji znát v roztěrech obarvených modifikovanou metodou podle Karrase.

Při krátkodobé fixaci pouze na vzduchu při laboratorní teplotě se roztěry celkem dobře barví, ale barví se i mnoho krystalických útvarů, které ztěžují posouzení roztěrů. Při použití modifikované metody podle Karrase stačí zaschnutí na vzduchu po dobu 24 hodin, ale takové preparáty jsou nevhodné pro uchování, protože časem vyblednou. Je tedy možno této metody použít jen pro vlastní posouzení, které však musí být provedeno co nejdříve.

Z chemických fixačních roztoků lze podle našich zkušeností nejlépe doporučit 5% ní formalin ve vodovodní vodě (ne destilované) nebo ještě lépe fixační roztok následujícího složení:

<i>Formalini</i>	125	ml
<i>NaCl</i>	10	g
<i>NaHCO₃</i>	0,5	g
<i>Aquae fontis ad</i>	1000,0	ml

Po fixaci v tomto roztoku jsou roztěry velmi čisté, mají dlouhou trvanlivost a nedochází k vyblednutí barev při uchování preparátu. Méně dobré výsledky dává fixace v alkoholeteru nebo metanolu, protože preparáty nejsou tak jasné a velmi slabě barví. Nejvhodnější doba fixace je 30 až 45 minut. Potom preparáty důkladně opláchneme destilovanou vodou. Mezilázeň v 0,5% ním chloraminu doporučovaná některými autory se neosvědčila, nepůsobí žádné zlepšení roztěrů, naopak, slabší výraznost obarvených preparátů.

3. Barvicí metody

Při volbě nejvhodnější barvicí metody pro morfologické vyšetření spermatu jsme vycházeli z následujících požadavků: aby barvicí metoda kromě zřetelného celkového zbarvení celé spermie dávala zřetelné kontrastní obarvení akrosomu, aby byla zřetelně odlišena akrosomová část hlavičky, equatoriální segment a zadní část hlavičky a na akrosomu samém aby byly zřetelné pozorovatelné vnitřní změny jako primární akrosomové defekty, kondenzace akrosomové hmoty, výskyt vakuol, dále aby byly jasné poznatelné změny jako bobtnání nebo svlečení akrosomu. Dalšími požadavky bylo, aby barvení bylo co nejjednodušší a co nejméně nákladné. Tyto požadavky splňují pouze dvě z řady přezkoušených barvicích metod.

a) Nejlépe všem těmto požadavkům vyhovuje modifikovaná metoda podle

H a n c o c k a (1952). Při této metodě provádíme barvení v kyvetách v roztoku následujícího složení:

Giemsa	6,0
Sörensenův fosfátový pufr pH 7,0	4,0
Aq. destil.	70,0

Doba barvení udávaná Hancockem 1½ hodiny je naprosto nedostačující a je ji nutno prodloužit na 6 až 12 hodin, nejlépe ponechat přes noc. Obarvené roztěry je nutno důkladně opláchnout destilovanou vodou a po zaschnutí montovat do kanadského balsámu. Akrosom se při této metodě barví modrofialově, jeho zadní část tvoříci poloměsíčitý útvar potom kontrastněji světleji a zadní polovina hlavičky vykazuje jen světlý barevný nádech.

Dobře zhotovené roztěry touto metodou splňují všechny požadavky kladené na morfologické vyšetření spermatu, zejména ve vztahu ke kontrole změn na akrosomu, které mohou být — jak bylo v úvodu sděleno — i hereditárního původu.

b) Za druhou nejlepší metodu lze považovat modifikovanou metodu podle Karrase. Původní Karrasova metoda (K a r r a s, 1958) nedává tak zřetelný obraz jako modifikace této metody podle K ö r d e l a (1959). Nevyhovuje však plně použití fixace pouhým zaschnutím na vzduchu po dobu 24 hodin, jak oba autoři, udávají, mnohem lépe vyhovuje fixace v 5% ním formalinu po dobu 30 minut.

Roztěry barvíme v barvivu složeném z osmi dílů vodního nasyceného roztoku metachromové žlutě a 1,5 dílu metanolu. Dobu barvení však proti údajům autora z 90 vteřin prodlužujeme na 3 až 5 minut. Potom oplachujeme destilovanou vodou, pokud se filtrační papír stékající vodou barví žlutě. Následuje mezilázeň z dubové kůry, kterou připravíme z jednoho dílu dubové kůry a devíti dílů vody, přefiltrujeme a uchováváme v lednici. Kontrastní barvení provádíme barvivem složeným z jednoho dílu tříprocentního methylokoholického roztoku viktoriánské modře a čtyř dílů destilované vody. Dobu barvení prodlužujeme z 15 vteřin na 5 až 7 minut. Důkladně opláchneme destilovanou vodou, dokud se filtrační papír stékající vodou barví modře. Je nutno zdůraznit, že obě připravená barviva uchováváme v tmavých láhvích a že je nutno je před použitím ponechat jeden měsíc vyžrát a před barvením filtrovat.

Akrosom spermií se při této metodě barví blankytně modře, equatoriální segment světle modře a zadní polovina hlavičky světle žlutě. Preparáty fixované pouze na vzduchu brzy vyblednou a nemá význam je tedy montovat do kanadského balsámu; montujeme je do něj jedině tehdy, jsou-li fixovány formalínem. Barvicí roztoky je nutno míchat vždy před použitím a opakovaně je nepoužívat.

c) Zbývající metody nelze k morfologickému vyšetření ve vztahu ke změnám hereditárního původu doporučit.

Barvení pětiprocentním eosinem se hodí velmi dobře k diferenciaci živých a mrtvých spermií, ale pro vlastní morfologii je nepoužitelné, protože nediferencuje akrosomy. Mnoho neúspěchů při barvení na živé a mrtvé spermie bylo způsobeno nedodržením stejné teploty všech utensilií a nesprávným způsobem zaschnutí roztěrů. Pro diagnostiku počtu živých spermií je tato metoda však velmi cenná, postupujeme-li následujícím způsobem: jednu kapku čerstvého spermatu nanese na předeřháté podložní sklíčko, přidáme jednu kapku barviva o složení:

Eosin Y (žlutavý)	0,2
Natrium citricum	0,3
Aq. destil.	10,0

	Výhody	Nevýhody	Zbarvení				Nejvýhodnější fixace
			akrosomu	eq. segmentu	<i>pars posterior</i>	báze hlavičky	
Pufrovaný roztok Giemsy	diferencuje akrosom, eq. segment a <i>pars posterior</i> hlavičky	nezvýrazňuje bázi hlavičky	sytě modrofialové	světle modrofialové	světle červenomodré	nevýrazná	5% formalín nebo formalinový roztok s NaCl a NaHCO ₃
Modifikovaná metoda podle Karrase	diferencuje akrosom, eq. segment a <i>pars posterior</i> hlavičky	nezvýrazňuje bázi hlavičky	blankytně modré	světle modré	světle žluté	nevýrazná	5% formalín nebo zaschnutí na vzduchu 24 hodin
Mayerův hematoxylin a 0,5% eosin	znázorňuje bázi hlavičky	nediferencuje akrosom a jeho změny	nezvýrazňuje			dobře zřetelná	5% formalín
5% eosin	diferencuje živé a mrtvé spermie	nediferencuje akrosom a jeho změny	nezvýrazňuje			nevýrazná	zaschnutí při teplotě 37° C
Metoda podle Loefflera	barví bakterie, epitheliální buňky a leukocyty	nediferencuje akrosom a jeho změny	nezvýrazňuje			nevýrazná	5% formalín
Metoda podle Pappenheima	zvýrazňuje hlavní a spojovací část bičíku	nediferencuje akrosom a jeho změny a intenzita zbarvení podléhá pH spermatu	nezvýrazňuje			dobře zřetelná	5% formalín
Metoda podle Papanicolaoua		nediferencuje akrosom a jeho změny	nezvýrazňuje			dobře zřetelná	5% formalín

II. Přehled fixačních roztoků

	Výhody	Nevýhody	Vhodná doba fixace	Vhodná pro barvení
Plamenem	—	porušuje vnitřní strukturu spermií	—	ne
Zaschnutí na vzduchu krátkodobě	jasné obarvení	rychlé vyblednutí, tvorba krystalových útvarů, ztížené posouzení	10 minut	pouze pro modifikovanou metodu podle Karrase
Zaschnutí na vzduchu 24 hodin	jasné obarvení	postupné vyblednutí roztěrů	24 hodin	pouze pro modifikovanou metodu podle Karrase
Formalín 5%	trvalé a dobré zbarvení	—	30—45 minut	Giemsa a modifikovaná metoda podle Karrase
Formalínový roztok s NaCl a NaHCO ₃	trvalé a velmi dobré zbarvení	—	30—45 minut	Giemsa a modifikovaná metoda podle Karrase
Alkohol-éter	—	slabé obarvení	—	ne
Methanol	—	slabé obarvení	—	ne

Necháme po promíchání asi 30 vteřin působit, provedeme roztěr, který ihned pokládáme na zahřátou desku mikroskopu Boëtius, jejíž teplotu vyregulujeme na 37° C. Mrtvé spermie mají červeně zbarvené hlavičky, živé spermie mají hlavičky neobarvené. Při fixaci nad plamenem nebo jiných metodách, kde působí teplota vyšší než 50° C, není toto vyšetření objektivní.

Barvení Mayerovým hematoxylinem a 0,5% ním vodním roztokem eosinu má tu výhodu, že proti ostatním metodám znázorňuje velmi dobře bázi hlavičky, na které mohou být nejruznější patologické odchylky, dále dobře zvýrazňuje rozvázání spirály spojovací části bičíku, avšak nediferencuje akrosom na hlavičce spermie. K obarvení bylo použito klasické histologické metody Wolf (1954).

Barvicí metoda metylenovou modří podle Loëfflera (Luksch, 1953) je ze stejného důvodu pro účely kontroly hereditárních změn na spermiích nevhodná, ale dobře znázorňuje rozdělení spojovací a hlavní části bičíku, dobře diferencuje jádra leukocytů při zánětlivých procesech. Akrosom není diferencován, protože jde o metodu monochromatickou. V buňkách cizích přímíšenin ke spermatu barví plazmu světle až tmavě modře, jádra tmavě modře až černě a stejně barví i bakterie.

Řadu nevýhod má i barvení metodou Pappenheimovou (Luksch, 1953). Je to sice metoda panchromatická, kde používáme roztoku May-Grünwalda a Giemsy-Romanovského, ale nedává dobré kontrasty akrosomu, dále zbarvuje silně modře hlenovité a krystalické látky, které mohou překrýt velké úseky zorného pole a intenzita zbarvení kolísá podle pH spermatu.

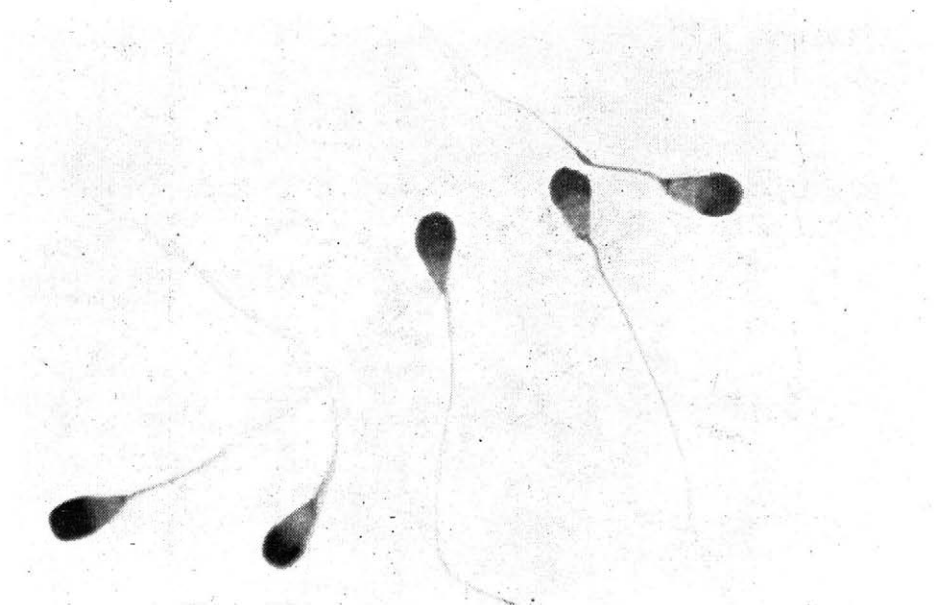
Původní metoda Papanicolaoua s Ehrlichovým hematoxylinem, 0,5procentním vodním roztokem eosinu a 0,5procentním vodním roztokem vodné modře nedává k našim účelům uspokojivé výsledky, znázorňuje dobře bázi hlavičky a nejlépe epitheliální buňky přímíšené k spermatu, neznázorňuje však opět akrosom, na kterém nám nejvíce při našich sledováních záleží.

4. Způsob posouzení

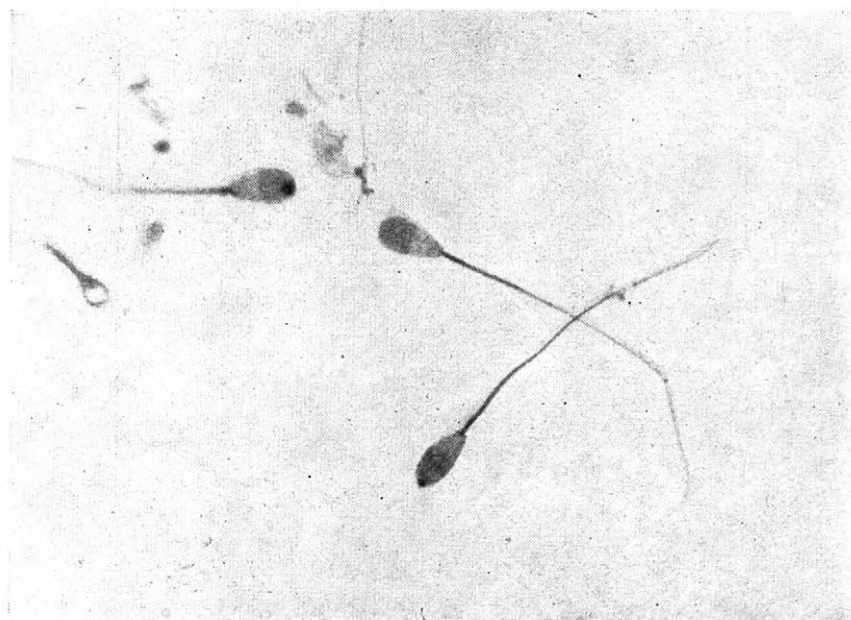
Při posouzení musíme použít zvětšení nejméně 1000krát až 1500krát při použití olejové imerse. Posuzování při menších zvětšeních je naprosto bezcenné. Počítáme 400 spermií, kdy dosáhneme již poměrně přesných výsledků. Při počítání pouze 100 až 200 buněk můžeme při větším procentu patologických spermií dosáhnout i 5–10% chyby při více počítáních. Při počítání 400 spermií nejvyšší rozdíl byly 3–5%. Při počítání normálních spermií doporučujeme použití ručního počítáče, patologické spermie značit podle počtu a druhu na papír. K posouzení se osvědčuje použití žlutozeleného nebo zeleného filtru. Při posouzení se nikdy nesmíme spokojit s jednorázovým vyšetřením, ale musíme vyšetřit několik opakovaných roztěrů z různých odběrů.

5. Měření velikostí spermií

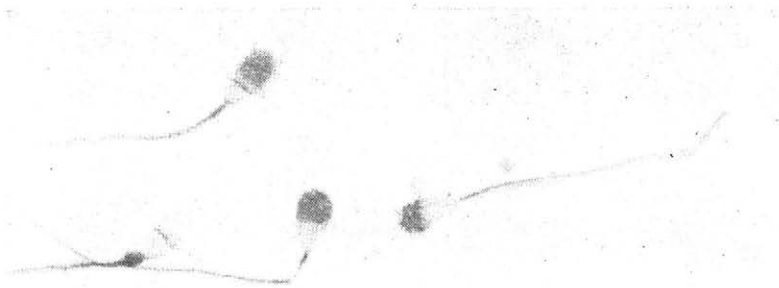
Vzhledem k tomu, že někteří autoři (jako Lagerlöff) uvádějí, že délky hlaviček spermií jsou v určitém vztahu k plodnosti a že jsou ovlivňovány dědičnými faktory, nutno se v budoucnosti při kontrole dědičnosti plodnosti zaměřit i na sledování rozměrů hlaviček. Van Duijn (1960) stanovil průměrnou normální délku hlaviček $10,2 \pm 0,5 \mu$, průměrnou šířku v bodě maximálního vyklenutí $5,4 \pm 0,35 \mu$. V našich pozorováních se pohybovala velikost hlaviček v rozmezí $9,5 - 10,3 \mu$ a šířka $5 - 5,5 \mu$. K posouzení postačí použití okulárového mikrometru a metody popisované Wolfe (1954). Měření provádíme u obar-



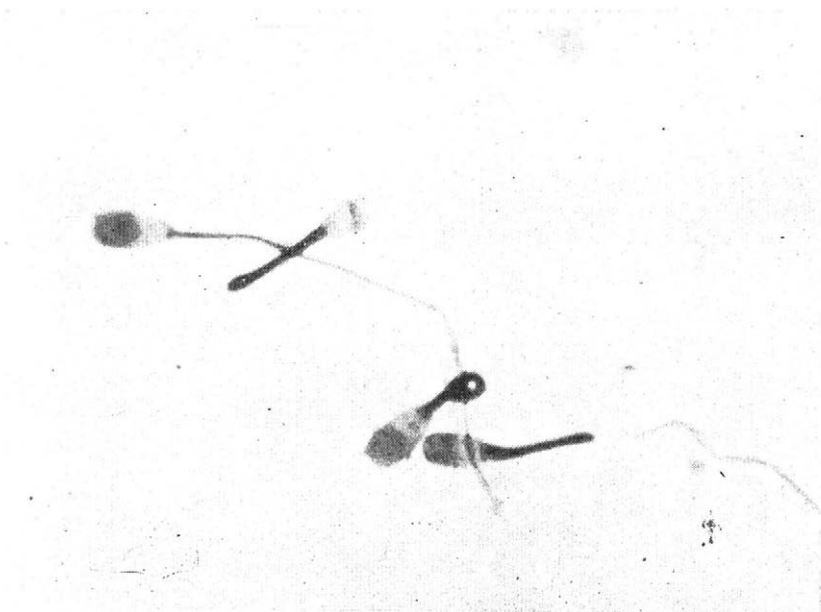
1. Spermie býka produkujícího spermie s abnormálním tvarem hlavičky a abaxiálním upevněním bičíku



2. Na předním okraji 2 spermíí primární akrosomové defekty



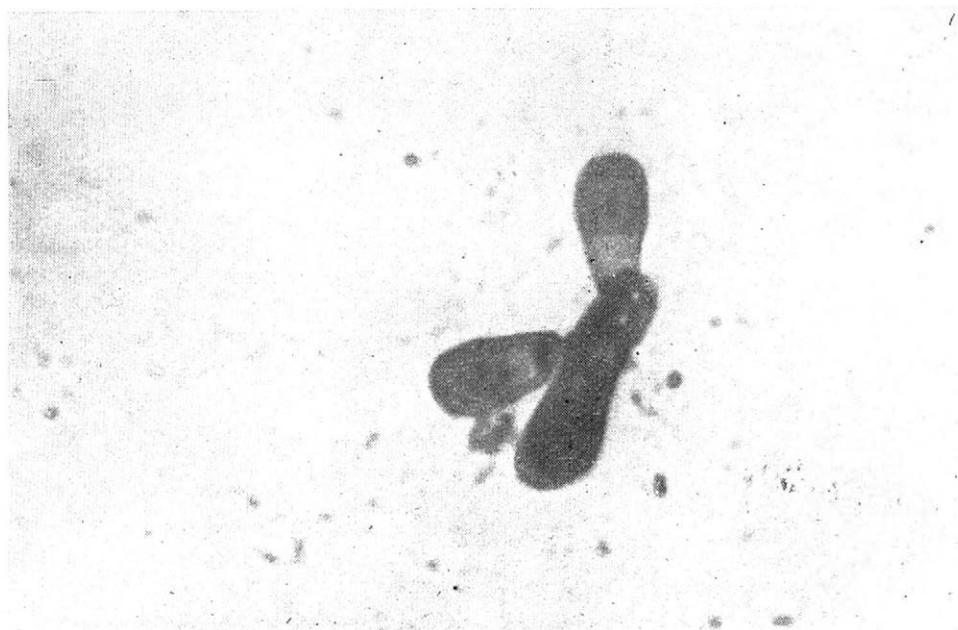
3. Spermie se svlečeným akrosomem (vlevo dole) a s přerušovou spojovací částí bičíku, kde probíhá pouze holé osové vlákno (uprostřed dole)



4. Abnormálně vyvinuté bičíky a svlečený akrosom



5. Degenerativní forma spermie se zadržanou protoplasmatickou kapkou na spojovací části bičíku



6. Abnormálně velké spermie s abnormálně vyvinutým bičkem

vených hlaviček modifikovanou metodou podle H a n c o c k a, lze však použít i jiných metod, například Mayerova hematoxylinu a 0,5procentního vodního roztoku eosinu, která například velmi dobře znázorňuje obrys předního okraje a bázi hlavičky. Sčítají se rozměry 100 spermií a vydělením dosáhneme průměrné hodnoty.

Diskuse

Vzhledem k tomu, že u nás přistupujeme v širším měřítku ke kontrole dědičnosti zdraví a plodnosti, je třeba abychom jako jednu z používaných metod uplatňovali i kontrolu dědičných změn v tvaru a velikosti spermií. Od každého býka při zařazení do plemenitby by měl být pořízen a uchován morfologický roztěr spermatu, který by později sloužil jako základ k diferenciaci vrozených nebo získaných změn. Každému plemeníku zařazenému do plemenitby by se mělo pravidelně a opakovaně morfologicky vyšetřovat semeno, aby bylo možno včas sledovat poruchy spermiogeneze, tyto včas vyšetřit a učinit příslušná opatření, aby tito plemeníci až do vyšetření plodnosti v terénu za další tři měsíce nepůsobili zbytečné národohospodářské ztráty a mohli být včas vyřazeni. A hlavně proto, aby i jejich potomstvo mohlo být včas sledováno a nepřipuštěno do plemenitby. Po této stránce máme ještě mnoho co dohánět. Není dosud objektivní a vědecky zpracované statistiky o příčinách vyřazení plemenných býků z chovu. V poslední době se věnuje alespoň pozornost histologickému vyšetřování zásluhou dr. Vě ž n í k a a jeho spolupracovníků. Vůbec však není věnována pozornost příčinám neplodnosti mladých býků. Projeví-li mladí plemeníci po zařazení do plemenitby sníženou plodnost nebo úplnou infertilitu, jsou automaticky vyřazeni z plemenitby, aniž by se pátralo po objektivních příčinách vědeckými metodami moderní andrologie. Z tohoto důvodu a zejména proto, že není jednotné evidence příčin vyřazení mladých býků z plemenitby, nedalo se dosud u nás mluvit o vlivu hereditárních příčin neplodnosti a sledování těchto vztahů v našem chovu. Stejnou pozornost bude nutno věnovat i plemeníkům dováženým ze zahraničí, zejména ze zemí, kde hereditární faktory byly již prokázány. Proto vedle klinických vyšetření, měření velikosti varlat, patologicko-anatomických a histologických vyšetření je nutno věnovat zvýšenou pozornost i morfologickému vyšetření spermií býků pomocí moderních vyšetřovacích metod. Z výše uvedených důvodů vyplývá, že právě morfologické vyšetření může ukázat objektivní příčinu i tam, kde ostatní metody selhaly nebo výsledky vyšetření byly negativní. Bude tedy nutné, aby veterinární gynekologové zavedli tyto metody do provozu plemenářských stanic a v případech vyřazení plemeníků, zejména mladých, zasílali vyšetřujícím ústavům nejen pohlavní orgány, ale i čerstvé sperma nebo roztěry připravené k morfologickému vyšetření, protože dosavadní metody, používané v praxi na plemenářských stanicích, neodpovídají požadavkům moderní andrologie. Neblahé následky pozdního odhalení výskytu hereditárních příčin infertility v řadě zemí, zejména ve Švédsku, nám musí být dostatečnou varováním a poučením.

Souhrn

V této práci jsou sledovány metody morfologického vyšetření spermatu býků ve vztahu ke kontrole anomálií hereditárního původu. Sperma nutno zpracovat do 20 minut po odběru. K ředění spermatu se doporučuje fyziologický roztok nebo

odstředěná semenná plazma. Jako fixační roztoky se nejlépe osvědčil pětiprocentní roztok formalínu ve vodovodní vodě nebo roztok složený z formalínu, NaCl, NaHCO_3 a vodovodní vody. Nedoporučuje se zejména fixace nad plamenem. Nejvhodnější fixační doba je 30 až 40 minut. Z barvicích metod se nejlépe osvědčilo použití barviva o složení Giemsa 6,0, Sörensenův fosfátový pufr o pH 7,0 *Aqua destil.* 70,0. Doba barvení 6 až 12 hodin. Tato metoda a modifikovaná metoda podle Karrase vyhovují nejlépe zejména proto, že diferencují akrosom a změny, které se na něm vyskytují. Pro posouzení je nutno použít zvětšení nejméně 1000krát, olejové imerse a zeleného filtru. Počítat je nutno alespoň 400 spermií. Vyšetření je nutno doplnit o měření velikosti hlaviček. Při vyřazování plemenů zejména mladých pro infertilitu, je nutno kromě histologického vyšetření provést i morfologické vyšetření spermatu, které může dát pozitivní výsledek i tehdy, kdy ostatní vyšetřovací metody selhaly. Doporučuje se zavedení těchto vyšetřovacích metod do provozu plemenářských stanic, aby bylo možno včas předcházet zbytečným národohospodářským ztrátám a provádět centrální evidenci o příčinách vyřazení plemenů pro infertilitu, aby bylo možno sledovat hereditární vztahy.

Došlo dne 5. 4. 1962

Literatura

1. C. van Duijn jnr.: Effects of Light and Optical Sensitization by Akridine-Orange on Living Bull Spermatozoa. *Nature* 1961 (189) 76-78. — 2. Mensuration of the Heads of Bull Spermatozoa. *Mikroskopie*, 1960 (9-10) 265-276. — 3. Photodynamic Effects of Vital Staining with Diazin Green (Janua Green) on Living Bull Spermatozoa. *Exp. Cell Research*, 1961 25) 120-130. — 4. Eibl K.: *Lehrbuch der Rinderbesamung*, Berlin-Hamburg 1959. — 5. Gamčík - Sakala: Sterilita hovädzieho dobytku. Bratislava 1960. — 6. Hancock J.: The Morphology of Bull Spermatozoa. *Jour. Exp. Biol.* 1952 (5) 445-453. — 7. Jaškowski L., Romaniuk J.: Rzádká anomalia plemenikow zwiezana z zupelna nieplodnoscia u buhaja. - *Med. Wet.* 1959 (12) 762-763. — 8. Karras W.: *Spermastudien*. 1. Mitteilung. Eine Methode zur färberischen Darstellung der Kopfkappen und des Kolloidüberzugs der Spermien. *M Schr. prakt. Tierhk.* 1950 (2) 162-167. — 9. *Spermastudien*. 7. Mitteilung. Über eine Methode zur färberischen Darstellung der Doppelkultur der galea capitis der Bullenspermien. *Berl. Münch. tierärztl. Wschr.* 1958 (71) 45-47. — 10. Kördel J.: Untersuchungen über die Morphologie der Bullenspermien bei Anwendung der Kopfkappenfärbemethoden nach Karras. *Diss. Hannover* 1959. — 11. Luksch F.: Úvod do poševní cytologie. Praha 1953. — 12. Polák L.: *Inseminace skotu*. Praha 1961. — 13. Sakala J.: Poruchy spermiogenese býků nealimentární etiologie. *Veterinářství* 1959, 258-262. — 14. Waller R. G.: The Differential Staining of Human and Dog Spermatozoa. *Austr. J. Exp. Biol.* 1959 (37) 433-440. — 15. Wohlfahrt E.: Beitrag zum Akrosom-Defekt im Ebersperma. *Zuchthygiene* 1961 (4) 268-274. — 16. Wolf J.: *Mikroskopická technika*. Praha 1954. — 17. Woosmann H.: *Cytochemische Untersuchungen an Bullensperma*. *Zuchthygiene* 1960 (6) 397-407.

Методы морфологического исследования спермы быков при изучении патологических изменений и их значение с точки зрения наследственности

В настоящей работе изучались методы морфологического исследования спермы быков по отношению к контролю ненормальности наследственного происхождения. Сперму необходимо обрабатывать до 20 минут после садки. Для разбавления спермы рекомендуется физиологический раствор или сепарированная семенная плазма. В качестве фиксирующих растворов лучше всего себя оправдали 5%-ный раствор формалина в водопроводной воде или раствор, состоящий из формалина, NaCl, NaHCO_3 и водопроводной воды. Не рекомендуется главным образом фиксация над пламенем. Наиболее подходящая продолжительность фиксации 30—45 минут. Из окрашивающих методов

лучше всего себя оправдало применение красителя с составом Гимса 6,0, фосфатного буфера Соренсена с pH 7,0 Aq. destil. 70,0. Продолжительность окрашивания 6—12 час. Этот метод и модифицированный метод Карраса удовлетворяют лучше всего главным образом потому, что они отчетливо дифференцируют акросому и изменения, появляющиеся в ней. Для оценки необходимо применять 1000-кратное увеличение, масляную иммерсию и зеленый фильтр. Необходимо подсчитать хотя бы 400 спермиев. Исследование необходимо дополнить измерением размеров головок. При выбраковке быков-производителей, главным образом молодых по бесплодию, помимо гистологического исследования необходимо проводить и морфологическое исследование спермы, которое может дать положительный результат даже в том случае, когда остальные методы исследования были неудачными. Рекомендуется внедрение этих методов исследования в работу племенных станций с тем, чтобы можно было своевременно предупредить лишние народнохозяйственные потери и проводить центральный учет причин выбраковки быков-производителей по бесплодию с тем, чтобы можно было изучать наследственные отношения.

Methoden der morphologischen Untersuchung des Spermas von Bullen bei Verfolgung der pathologischen Veränderungen und ihrer Bedeutung vom Standpunkt der Erbllichkeit

Die Arbeit handelt von morphologischen Untersuchungsmethoden des Bullenspermas in Beziehung zur Kontrolle erblicher Anomalien. Das Sperma muß innerhalb von 20 Minuten nach Entnahme verarbeitet werden. Zur Verdünnung des Spermas wird physiologische Kochsalzlösung oder zentrifugiertes Samenplasma empfohlen. Zur Fixation bewährte sich am besten eine 5% wässrige Formalinlösung oder eine Mischung von Formalin, NaCl, NaHCO₃ und Leitungswasser. Die Fixation mittels Flamme hat sich nicht bewährt. Dauer der Fixation 30—45 Minuten. Unter den Färbemethoden hat sich am besten bewährt eine Mischung von 6,0 Giemsa-Lösung, die Phosphatpufferlösung nach Sörensen (pH 7,0) und 70,0 destilliertes Wasser. Färbezeit 8 bis 12 Stunden. Diese Methode und die modifizierte Methode nach Karras entsprechen deshalb, weil sie deutlich das Akrosom und die an ihm sichtbaren Veränderungen differenzieren. Zur Beurteilung empfiehlt sich eine Vergrößerung von 1000X, die Ölimmersion und ein Grünfilter anzuwenden. Man muß wenigstens 400 Spermien zählen. Die Untersuchung ist zu ergänzen durch eine Messung der Kopfgröße der Spermien. Bei Ausmerzung von Zuchtbullen, besonders von jungen Tieren, wegen Unfruchtbarkeit ist außer der histologischen Untersuchung noch die morphologische Untersuchung des Spermas angezeigt, die auch dann noch positive Ergebnisse liefern kann, wenn die übrigen Methoden versagt haben. Es empfiehlt sich, diese Untersuchungsmethoden in die Praxis der Besamungsstationen einzuführen, um rechtzeitig überflüssige volkswirtschaftliche Verluste zu verhindern und eine zentrale Evidenz der Ursachen der Ausmerzung von Zuchtbullen wegen Unfruchtbarkeit zu ermöglichen sowie auch ein Verfolgen der erblicher Zusammenhänge.

Methods of the Morphological Examination of the Sperm of Bulls in Following the Pathological Changes and their Importance from the Viewpoint of Heredity

The paper is an essay on methods of morphological examinations of the sperm in relation to the control of hereditary anomalies. The sperm must be prepared between 20 minutes after taking the sample. For the dilution one recommends the physiological solution or the centrifugated semen plasma. As a solution for fixation the best results gave a 5 % aqueous solution of formalin or a solution composed of formalin, NaCl, NaHCO₃ in water. The fixation by flame is not recommended. The most suitable time for the fixation is 30—45 minutes. Among the staining methods the best results gave the composition: 6,0 of Giemsa's solution, Sörensen's phosphate-buffer (pH 7,0) and 70,0 of distilled water. The staining demands a time of 8—12 hours. This method and the method modified by Karras are the most suitable ones, because they distinctly differentiate the acrosom and the changes upon it. In examining a magnifying 1000X, the oil immersion and a green filter should be used. At least 400 spermia should be counted. The examination is to be completed by

measurement of the spermia heads. In eliminating of bulls from breeding, especially young ones, one should beside the histological examination perform also a morphological examination of the sperm, which may give positive results, even when the other methods have failed. These methods are recommended for the breeding stations to prevent in time economic losses and enable a central evidence on the causes of eliminations of male animals showing a low fertility and to study the hereditary relations.

Les méthodes d'examination morphologique du sperme des taureaux en suivant les changements pathologiques et leur importance vu la hérédité

Dans ce travail on a suivi les méthodes d'examination morphologique du sperme des taureaux vu le contrôle des anomalies d'origine héréditaire. Le sperme doit être examiné jusqu'à 20 minutes après prélèvement. Pour la dilution on recommande la solution physiologique ou le plasma centrifugé du sperme. Comme solution fixative les meilleurs résultats a donné la solution de 5% de la formaline aqueuse ou bien une solution composée de formaline, NaCl, NaHCO_3 et l'eau. La fixation par flamme n'est pas recommandée. Le temps de la fixation le plus favorable est 30—45 minutes. Des méthodes colorantes la meilleure a été une solution composée de 6,0 de la solution Giemsa, de la solution phosphatique de Sörensen pH 7,0 et 70,0 de l'eau distillée. La durée de la coloration: 8—12 heures. Cette méthode ainsi que la méthode modifiée d'après Karras ont eu le meilleur résultat pour cela, qu'elles différencient distinctement l'acrosom et les changements apparents sur lui. Pour l'évaluation il est nécessaire d'user l'agrandissement 1000X, de l'immersion d'huile et du filtre vert. Il faut compter au moins 400 spermatozoïdes. L'examination doit être complétée par la mesurage de la grandeur des têtes. En excluant les taureaux pour l'infertilité, spécialement les jeunes, il faut outre l'examination histologique exécuter l'examination morphologique du sperme, qui peut donner un résultat positif même quand les autres méthodes ont failli. On recommande ces méthodes d'examination pour les stations d'insémination, pour pouvoir en temps prévenir aux pertes économiques superflues et suivre les relations héréditaires.

Změny v činnosti štítné žlázy u zvířat pod vlivem stilbestrolu

Изменения деятельности щитовидной железы у животных, вызванные стилбестролом
Veränderungen in der Aktivität der Schilddrüse bei Tieren unter dem Einfluß von
Stilböstrol

Les changements de la fonction du corps thyroïde chez les animaux sous
l'influence du stilboestrol

Z. EWY a A. SLEBODZINSKI

Katedra fyziologie zvířat WSR v Krakově, přednosta: prof. dr. Z. Ewy

Úvod

V poslední době bylo ve veterinární medicíně a zootechnice věnováno mnoho práce výzkumu použitelnosti hormonálních látek. V těchto pracích se zdůrazňují přednosti použití hormonů při léčení zvířat též z ekonomického hlediska, avšak malá pozornost je věnována studiu změn, způsobovaných umělou dishormonózou.

V případech použití hormonů vaječníků nebo syntetických preparátů podobného účinku, je zvlášť důležité rozpoznání fyziologického mechanismu procesu, a to z těchto důvodů:

- a) se zřetelem na časté použití přirozených a umělých estrogenů ve veterinární praxi;
- b) se zřetelem na metabolický účinek hormonů vaječníků, který zůstává nejčastěji nepovšimnut, zatímco se přikládá největší význam jejich říjí povzbuzujícímu účinku;
- c) se zřetelem na dnes aktuální problém intrasekretární korelace u plemenných zvířat. V daném případě jde tu o účinek aplikovaných estrogenů spolu s metabolickým účinkem hormonů štítné žlázy.

Studium této důležité kapitoly z fyziologie a endokrinologie plemenných zvířat naráželo dříve na velké potíže. Teprve použití izotopů umožnilo dalekosáhlý výzkum organických funkcí *in vivo*.

Cílem předložené práce je výzkum činnosti štítné žlázy u zvířat, jimž byl podáván syntetický preparát estrogenu — stilbestrol, a to pomocí izotopů radioaktivního jodu.

Dosavadní, s laboratorními zvířaty provedené pokusy (Feldman, 1956, Noack, 1955, Soliman a Reinecke, 1958), neposkytují jednoznačný obraz účinku podávaných estrogenů na činnost štítné žlázy. Uvedení autoři konečně sami uznali potřebu dalších výzkumů na tomto úseku bádání.

Z mála pokusů provedených na hospodářských zvířatech se jen v jednom případě (Pipes aj., 1958) poukazuje na spojitost účinku parenterálně podaného

stilbestrolu s účinností štítné žlázy odhadovanou pomocí metody radioizotopů. V našich výzkumech jsme se rozhodli použít býložravců (ovcí a králíků) a stilbestrolu se zřetelem na časté uplatnění tohoto preparátu ve veterinární a zootechnické praxi.

Protože se při použití metody izotopů u ovcí dosud uvedený problém nesledoval, bylo nezbytně nutné provést další zkoumání, umožňující přiblížení hlavního tématu v dalším pořadí. To se týká prací o odhadování rychlosti spotřeby hormonů štítné žlázy a rychlosti sekrece, vyžadujících předběžného zjištění dávky metylotiouracylu potřebného k brzdění akumulativní činnosti štítné žlázy.

Materiál a metoda

V pokusu bylo použito 22 dospělých dvouletých až čtyřletých ovcí a 34 králíků ve stáří 4, 7 a 10 měsíců. Zvířata dostávala podkožní a intravenózní injekce diagnostických dávek roztoků NaJ^{131} nebo L-J^{131} (carrierfree). Impulzy byly vypočteny pomocí Geiger-Müllerova přístroje pro beta-paprsky a elektronového přepočítáče. Hrubé výsledky měření byly korigovány se zřetelem na aktivitu počítáče a vliv pracovního prostoru, jakož i fyzický rozpad radioaktivního jodu v časové jednotce. Konečné výsledky byly vyjádřeny v procentech použitých dávek.

K odhadování činnosti štítné žlázy byla provedena tato měření:

- a) měření nahromadění radioaktivního jodu ve štítné žláze (měření radioaktivity nad štítnou žlázou *in vivo*);
- b) měření rychlosti konverze jodu v hormonový jod (měření radioaktivity jodu bílkoviny krevního plazmatu v poměru k radioaktivitě jodu v čisté krvi);
- c) měření rychlosti hormonální sekrece (měření rychlosti úbytku radioaktivity nad štítnou žlázou);
- d) měření rychlosti exogenního tyroxinu v krvi (měření úbytku radioaktivního tyroxinu v krevním plazmatu při brzděné činnosti štítné žlázy pomocí metylotiouracylu).

Výsledky diskuse

V dodatečných pokusech k zjišťování pro jodid potřebného množství metylotiouracylu k brzdění akumulativní činnosti štítné žlázy bylo prokázáno, že nejmenší dávka (*per os*) pro dospělé ovce je 0,02 mg MTU (váha v kg/den).

Podkožní injekce stilbestrolu v dávkách po 250 mg na ovci po dobu pěti dnů a jednorázová dávka 1 mg na jednoho králíka způsobily výskyt diferencí ve stupni nahromadění radioaktivního jodu v pokusných zvířatech v porovnání s kontrolními zvířaty. Statisticky významné rozdíly byly však zjištěny jen u králíků.

Stupeň konverze jodidu v organický jod (Clarkův test) byl význačnější u estrogeních zvířat, a to jak ovcí, tak králíků. Ve skupině kontrolních ovcí byla hodnota konverze (CR) za 24 hodiny po injekci radioaktivního jodu $7,9 \pm 2,9 \%$, u ovcí, které obdržely estrogen, $13 \pm 3,1 \%$ ($p = 0,05$). Injekce stilbestrolu způsobily změnu rychlosti sekrece štítné žlázy o 8 %, při čemž byl pomocí současně použitého metylotiouracylu přibrzděn reutilizační proces radioaktivního jodu.

V době před podáváním metylotouracylu (kontrolní perioda) byla pozorována u zvířat, která obdržela stilbestrol, sekrece o 60 % větší v porovnání se zvířaty kontrolními.

Uvedené výsledky poukazují na to, že krátkodobé podávání stilbestrolu ovčím nebo králíkům vede k zvětšení jednotlivých parametrů zobrazujících povzbuzenou činnost žláz.

Pokusy s registrovaným tyroxinem byly provedeny s ovci, které obdržely po dobu 40 ndl injekce stilbestrolu o dávkách 250 mg/den. Měření radioaktivity v řadě za sebou odebraných vzorků krve prokázalo, že obsah exogenního tyroxinu se exponencionálně k době snižuje. Vypočtený úbytek radioaktivního tyroxinu v krvi ovčí pokusné skupiny byl 1,7 % za hodinu, u kontrolních ovcí 2 % za hodinu.

Tento rozdíl je ve vzájemném vztahu k zjištěnému vzrůstu biologického podílu radiotyroxinu v krvi, a to z 34 na 40,9 hod. ($p = 0,05$).

Souhrn

Výsledky měření s registrovaným tyroxinem u ovcí ukazují, že dlouhodobé podávání estrogenů vede k snížení periferní spotřeby hormonů štítné žlázy. Lze se domnívat, že tímto mechanismem periferního účinku estrogenů by bylo možno zčásti vysvětlit výhodnou změnu metabolismu u zvířat, která z chovatelských důvodů obdržela stilbestrol.

Došlo dne 5. 2. 1962

Literatura

1. Feldman J. D., 1956: Am. J. Physiol., 184 : 369. — 2. Noack E. L., 1955: Acta Endocr., 127, 139. — 3. Soliman F. A., Reinecke E. P., 1958: Acta Endocr., 27 : 385. — 4. Pipes C. W., Premachandra B. N., Turner C. W., 1958: J. Dairy Sc., 41 : 1387.

Изменения деятельности щитовидной железы у животных, вызванные стилбестролом

Результаты измерений, полученные при применении меченного тироксина у овец, показывают, что долговременное применение эстрогенов ведет к понижению периферического потребления гормонов щитовидной железы. Можно предполагать, что этим механизмом периферического действия эстрогенов можно было бы отчасти объяснить благоприятное изменение метаболизма у животных, которым давали стилбестрол для улучшения выращивания.

Veränderungen in der Aktivität der Schilddrüse bei Tieren unter dem Einfluß von Stilböstrol

Die Ergebnisse der Messungen mittels bezeichneten Thyroxin bei Schafen weisen darauf hin, daß eine langdauernde Applikation von Östrogenen zu einer Senkung des peripheren Verbrauchs der Schilddrüsenhormone führt. Es ist anzunehmen, daß dieser Mechanismus der peripheren Wirksamkeit der Östrogene wenigstens zum Teil die vorteilhafte Änderung des Metabolismus erklären könnte, die sich bei Tieren einstellt, die aus züchterischen Gründen Stilböstrol erhalten haben.

Les changements de la fonction du corps thyroïde chez les animaux sous l'influence du stilboestrol

Tous les méseurements avec thyroxine enregistré chez les brébis démontrent, qu'une application prolongée des oestrogènes cause un abaissement des exigeances périphères quant aux hormones du corps thyroïde. On peut supposer, que par ce mécanisme de l'effet périphère des oestrogènes on peut partiellement expliquer le changement favorable du métabolisme chez les animaux, qui ont été traités avec stilboestrol à cause de l'élevage.

Příspěvek k onemocnění koní Weilovou chorobou

К вопросу заболевания лошадей гемолитической желтухой *Icterus infectiosus*

Beitrag zur Forschung der Weilschen Krankheit bei Pferden

MVDr. Zdeněk SOVA C. Sc.

Veterinární nemocnice, vnitřní a infekční oddělení, Pardubice

Úvod

Řada prací ve světovém veterinárním písemnictví jednoznačně prokázala význam koní v epidemiologii leptospiróz. Vedle *Leptospira pomony*, běžně uváděné za původce leptospirozy u koní, je to i *Leptospira icterohemorrhagiae*, která hraje svou roli v onemocnění koní leptospirami. U lidí může mít onemocnění *Leptospirou icterohemorrhagiae* velmi vážný průběh, a proto je nutné studovat epidemiologické souvislosti především u této leptospiry. Předložené sdělení je příspěvkem k této problematice.

Literární přehled

Původce Weilovy choroby, *Leptospira icterohemorrhagiae*, je patogenní nejen pro člověka, ale mohou jí onemocnět vedle psů a prasat i skot, ovce a koně (Morse 1958) i řada dalších druhů. U skotu zjistil v našich podmínkách v roce 1952 Genčev Genča největší procento pozitivních séroreagentů (6,5 %) právě s *L. icterohemorrhagiae*. U prasat prokázal u nás poprvé Weilovu chorobu Jelínek (1948) podle klinického průběhu i patologicko-anatomického nálezu z uhynulých vepřů, nemocných infekčním iktérem. Zbývajícím vepřím v zamořené stáji dávali pozitivní reakce s *L. icterohemorrhagiae* ve 45 % případů. Velký význam v epidemiologii Weilovy choroby přísluší psům, kteří patří k prvním zvířatům, u nichž byla shledána vnímavost k Weilově žlutence. V našich podmínkách v provozu vnitřního oddělení se s případy onemocnění psů Weilovou chorobou běžně setkáváme. U koček se Plačkoví (1956) podařila experimentální infekce s akutním průběhem a letálním koncem pouze u koťat do stáří 4 týdnů, starší kočky neonemocněly.

U koní můžeme celou problematiku rozdělit do čtyř variant:

1. Koně s klinickým onemocněním. Hupka a Behrens (1951) vyšetřili sérologicky 124 koní s různými klinickými příznaky, pozitivně

na leptospiry reagovalo 58 koní, z toho 9 s *L. icterohemorrhagiae*. Gaspardis (1952) popsal dva případy onemocnění s vysokou teplotou, ikterem a ICCH; jeden měl titr 1 : 10 000, druhý 1 : 100 000 s *L. icterohemorrhagiae*. V roce 1956 popsal v Jugoslávii akutní infekce u koní Trbič, Turulatovič a Tamín; za etiologickou příčinu choroby uvádějí *L. icterohemorrhagiae* a *L. pomona*, nepodařilo se jim však izolovat původce. V roce 1960 popisují Schulz a Rauch v NDR onemocnění u koně s počáteční vysokou teplotou 41,4° C, inapetenci a ikterem. Po několikadenním průběhu, kdy se teplota pohybovala od 39,8 do 40,2° C, došlo k poruše sensibility, ke křečím, k ataxii, k otokům v *regio umbilicalis* a posléze k exitu zvířete. Příklad byl uzavřen jako Weilova choroba. V témže roce referují o akutní leptospiroze Nedjalkov a Stojanov. Onemocnění propuklo ve stáji sérových koní, zeslabených jednak imunizací, jednak enteritidou po vadném plesnivém ovse. Čtyři zvířata onemocněla vysokou teplotou, ikterem, tachykardií a příznaky dyspnoe. Za stejných příznaků onemocněl i další kůň, který nebyl imunizován. Dva z pěti pokusných koní museli být odporaženi; v jejich ledvinkách byly nalezeny útvary odpovídající leptospirám. Vzhledem k histologickým nálezům bylo sérologicky vyšetřeno 35 koní, z nichž pouze u šesti byly titry vyšší než 1 : 200. Během popsaného hromadného onemocnění došlo k výrazným vzestupům titrů, které setrvaly na vysokém stupni po 113 dní. Onemocnění proběhlo u některých koní klinicky, u některých subklinicky. Autoři uzavírají, že katarálně hemoragická *gastroenteritis* zeslabených sérových koní, vyvolaná zaplísňeným ovsem, umožnila leptospirozní infekci. Zdrojem infekce byly krysy, u nichž byly leptospiry prokázány v ledvinách. Sérologicky byly prokázány především *L. icterohemorrhagiae* (titry 1 : 400—1 : 12 800) a několik dalších sérotypů.

2. Pozitivní titry s *L. icterohemorrhagiae* u koní bez klinických příznaků onemocnění popsal v ČSSR Hilner (1951), Tomáš (1952) a Polách (1953), ve Francii Rossi a Kolochine-Erber (1953), v Německu Kathe et al. (1952), Chemnitz (1953), v Argentíně Vagni, Mascaro a Villegas (1954), v Polsku Zwierz (1955), v USA Bryans (1955), v Bulharsku Angelov a Kujumdžijev (1958), v Jugoslávii Zaharija et al. (1959). Trawinski (1958) zdůrazňuje výskyt *L. icterohemorrhagiae* kromě u psa a stříbrné lišky též u koně.

3. Pozitivní titry s *L. icterohemorrhagiae* při jiných chorobách koní. V roce 1949 oznámil Pokorný, že z 210 koní z distriktů žďárské choroby reagovalo pozitivně na leptospiry 124, z toho nejvíce s *L. icterohemorrhagiae*. Tyto poznatky vedly Šobru (1956) k přezkoušení případné leptospirozní etiologie žďárské choroby. Šobra došel k poznatku, že *L. icterohemorrhagiae* nemůže vyvolat žďárskou chorobu. Autorovi se nezdařilo ani experimentální onemocnění uvedeným sérotypem. Experimentální infekce hřiběte *L. icterohemorrhagiae* se zdařila Nieschulzovi (cit. Zaharija 1953). Pozitivní titry s *L. icterohemorrhagiae* při bornaské chorobě zjistili Krüger (1954) i Kathke (1943), při infekční anémii koní Lipanowicz a Zwierchowski (1958). V obou posledních případech nemají titry souvislost s původním onemocněním.

4. Pozitivní titry s *L. icterohemorrhagiae* při *iridocyklochorioiditis*. Podle současných poznatků lze říci, že leptospirozy jsou u koní nejčastějším původcem ICCH (*iridocyklochorioiditis*). Seer (1958) udává význam *L. icterohemorrhagiae* pro uveu u lidí. U koní se na onemocnění podílí vedle *L. grippotyphosa* a *L. pomona* i *L. icterohemorrhagiae* [Schmitt (1950), Rossi a Kolochine Erber (1953) a Caporale (1955)].

Vlastní práce

Na našem pracovišti se otázkou leptospiróz u koní zabýváme od roku 1955. Za uvedenou dobu bylo z 3459 koní, vyšetřených při provozu oddělení, sérologicky ve spolupráci s ÚEI Bratislava a SVVÚ Praha vyšetřeno 785 koní 1109krát aglutinino-lysinovou reakcí na leptospiry. Pozitivita titrů s jednotlivými sérotypy je vyjádřena v tabulce I:

I.

Nejnižší pozit. titr	Celkem vyšetřeno koní	Podle jednotlivých sérotypů reagovalo									Počet koní	%
		<i>L. ictrh.</i>	<i>grip.</i>	<i>sejřo</i>	<i>sorx.</i>	<i>pom.</i>	<i>austr.</i>	<i>can.</i>	<i>mit.</i>	<i>ball.</i>		
1 : 800	785	34	58	61	4	1	12	9	1	6	186	23,8
1 : 1600	785	10	40	37	1	1	9	1		1	100	12,6

Protilátky vůči *L. icterohemorrhagiae* byly v naší sestavě při nejnižším pozitivním titru 1 : 800 ve 4,3 %, při nejnižším pozitivním titru 1 : 1600 v 1,3 %.

Z celkového počtu vyšetřených koní jen u osmnácti z nich byla stanovena diagnóza: akutní leptospiróza. Pokud jde o jednotlivé sérotypy, podílely se na onemocnění *L. grippotyphosa* devětkrát, *L. sejřo* šestkrát, *L. icterohemorrhagiae* dvakrát a *L. ballum* jednou. Diagnóza byla stanovena na základě opakovaného sérologického vyšetření, za akutní leptospirózy byly při odpovídajících klinických příznacích považovány ty případy, u nichž došlo z původně negativních či nespecifických titrů počínaje 5.—11. dnem od počátku onemocnění k signifikantnímu, dlouhotrvajícímu vzestupu titrů až na 1 : 3200—1 : 50 000.

Klinický průběh akutní leptospirózy ikterohemorrhagického typu u dvou koní byl tento:

Hříbě Lump 507/59 t m. R./H. 8 měsíců, majitel JZD D. Hříbě přivezeno s diagnózou *tetanus susp.* Klinickým vyšetřením zjištěna t 41,8, P 74, p 12, subikterus 2,78 mg % bilirubinu, hyperaesthesie, zleněná peristaltika. Diagnóza z terénu nebyla potvrzena. Pro nejasnou etiologii choroby byl kůň opakovaně sérologicky vyšetřován na leptospiry. Kůň byl léčen po 4 dny penicilinem a teplota rychle klesala k normě, jeden den po ukončení penicilinoterapie opětovný vzestup teploty na 40,2, proto byl nasazen streptomycin po 6 dní. Již třetí den streptomycinové terapie teplota v normě. Pátý den po ukončení streptomycinoterapie opět vzestup teploty na 39,2—39,5, pak delší čas subfebrilní teploty do 39, kůň byl nadále léčen kalciumboroglukonátem, febricerem a chemocerem. Úplné uzdravení po šesti týdnech. Při vyšetření nálezové situace zjištěn v hospodářství značný výskyt potkanů.

II. Hematologické vyšetření:

den	Sedimentace					BK	ČK	Mo	L	Ba	N	T
	5'	10'	15'	30'	24 h							
2. den	14	50	100	130	156	6 600	8,700 000	1	19		80	
6. den	5	18	40	71	143							
35. den	4	15	32	80	140	12 500	8,400 000	1	22	1	76	1

III. Serologické vyšetření na leptospiry:

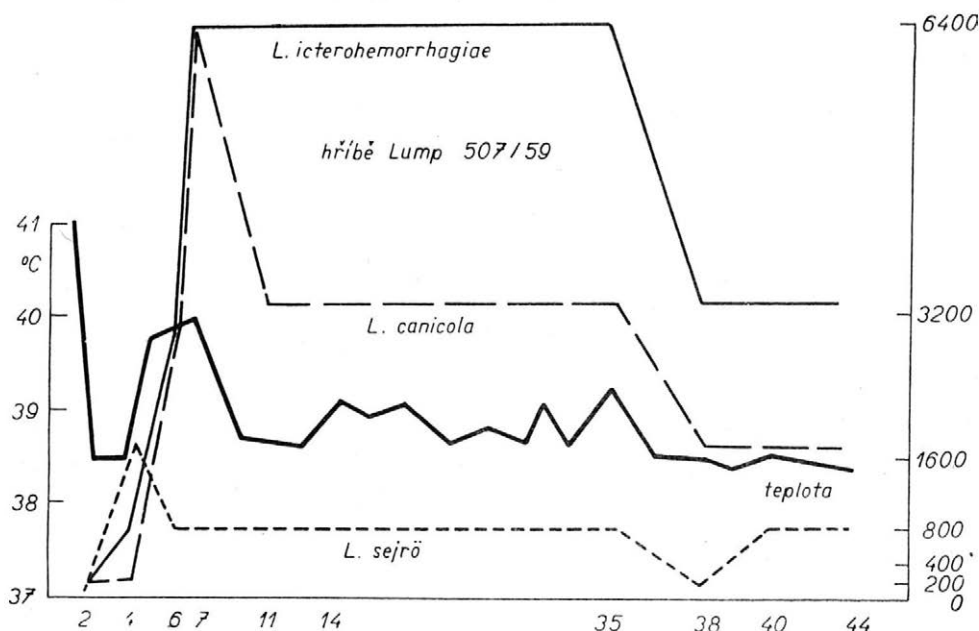
dne:	<i>L. ictrh.</i>	<i>grip.</i>	<i>sjr.</i>	<i>sorx.</i>	<i>pom.</i>	<i>can.</i>	<i>aust.</i>	<i>bov.</i>	<i>mit.</i>	<i>ball.</i>	<i>batv.</i>
2.	200	100	neg	neg	neg	100	neg	neg	neg	neg	neg
4.	800	1600	1600	800	neg	200	100	neg	100	200	neg
6.	3200	800	800	200	100	3200	neg	200	100	neg	neg
7.	6400	neg	800	1600	neg	6400	1600	neg	neg	neg	neg
11.	6400	neg	800	3200	neg	3200	1600	neg	neg	neg	neg
14.	6400	neg	800	3200	100	3200	1600	neg	neg	neg	neg
35.	6400	100	800	1600	neg	3200	1600	neg	neg	neg	neg
38.	3200	100	200	1600	100	1600	400	neg	neg	neg	neg
40.	3200	100	800	1600	neg	1600	200	neg	neg	neg	neg
44.	3200	neg	800	1600	neg	800	200	neg	neg	neg	neg
365.	3200	neg	400	800	neg	400	200	neg	100	neg	neg

Moč: opakované vyšetření 2., 5., 11. den bylo negativní jak na patologické příměsi, tak zástinem na leptospiry.

Trus: v trusu vajíčka strongylů a *Parascaris equi* (odčervováno helmirazinem a phenothiazinem).

Při kontrole, provedené po jednom roce od počátku onemocnění, byly zjištěny příznaky ICCH na levém oku; kůň je jinak klinicky zcela zdrav.

Grafy teploty a leptospirózních titrů



Zhodnocení případu: Na základě sledování dynamiky titrů usouzeno na leptospirózní etiologii choroby. Příklad byl uzavřen jako vzácný případ spontánní infekce Weilovou leptospirosou u koně.

K ů ň P u d l 335/59 t m. H d, v 7 let, majitel JZD V. Zvíře bylo přivezeno s touto anamnézou: kůň 4 dny před příchodem umokl a od té doby nepřijímá

potravu; druhý den onemocnění měl kůň t 39,9, další den se objevují na kůži ekzémy. Při příchodu zjištěna silná přecitlivělost, velmi zvýšené obranné reflexy, subikterus, v krajině sedlové i níže jsou rozsáhlé ekzematózní změny, nepravidelně rozložené, v sedlové krajině se ztrátou srsti a s mokváním. Trias je již v normě. Parazitologické vyšetření kůže bylo negativní, v trusu zjištěna silná invaze měchovců. Zvíře bylo léčeno penicilinem, kalciovými infúzemi, perorálně Murnilem, kožní změny též lokálně žlutým pyoctaninem a polysanem. Po měsíční hospitalizaci se stav zvířete upravil a kůň byl propuštěn jako rekonvalescent.

IV. Hematologické vyšetření.

Dne	Sedimentace					BK	ČK	Hb	HK	Mo	L	Eo	N	T
	5'	10'	15'	30'	24h									
2. den po příchodu	3	35	45	100	153	11 200	5,430 000	54	31	—	37	4	59	—
8. den	8	25	42	83	143	10 600	6,900 000	62	42	2	36	4	57	1

V. Zákalové reakce a bilirubin.

Den:	Wlt.	Gr. m. D.	Kd	F.
2. den	VIII	13	neg	+
8. den	IX	10	neg	—

VI. Sérologické vyšetření na leptospiry.

Den	<i>L. ictrh.</i>	<i>grip.</i>	<i>sjr.</i>	<i>sorx.</i>	<i>pom.</i>	<i>can.</i>	<i>austr.</i>	<i>bov.</i>	<i>ball.</i>	<i>sal.</i>
2.	100	100	100	100	neg	neg	neg	100	neg	100
4.	400	800	200	200	neg	200	neg	400	200	neg
8.	1600	800	200	200	100	100	100	400	100	neg
310.	3200	400	neg	100	200	200	1600	400	800	200

Vyšetření moči 6. a 8. dne po příchodu do veterinární nemocnice bylo negativní na patologické příměsi i zástinem na leptospiry. Při kontrole koně po 10 měsících uvádí chovatel, že asi 6 týdnů po návratu z veterinární nemocnice se u koně objevily vlevo příznaky ICCH, po dalším čtvrt roce došlo k recidivě těchto očních změn. V téže době dochází opakovaně k výskytu ekzematózních změn, které se však do deseti dnů samy upravily bez léčení.

Při opakovaném vyšetření téměř po roční přestávce stoupl dále titr s *L. icterohemorrhagiae* až na 1 : 3200.

Na leptospirózní etiologii onemocnění lze usuzovat podle komplikace choroby měsíční slepotou a sledování dynamiky titrů se vzestupem na 1 : 3200. Předpokládám, že zeslabujícím vlivem, podmiňujícím propuknutí akutní Weilovy choroby, bylo v anamnéze uváděné nachlazení.

Diskuse

Akutní leptospirozu u koní, vyvolanou Weilovou leptospirou, popisují Gaspardis (1952), Trbič et al. (1956) i Schulz a Rauch (1960). Umělá infekce hřiběte *L. icterhemorrhagiae* zdařila se Nieschulzovi (cit. Zaharija 1953), nezdařila se Šobrovi (1956). Vysoké pozitivní titry u akutně nemocných koní zjistili Nedjalkov a Stojanov (1960).

U žádného z obou našich koní nepodařilo se nám prokázat leptospiurii, u obou koní však došlo k příznakům *iridocyklochorioiditis* jako projevu po přechované leptospiroze, obdobně, jako tomu bylo i v případě Gaspardisově (1952).

U onemocnění koní Weilovou chorobou předpokládám podobně jako i u onemocnění s *Leptospira grippotyphosa* shodně s příznaky Nedjalkova a Stojanova (1960) nějaký vyvolávající predispoziční faktor (dietetická závada, nachlazení apod.). K infekci koní Weilovou leptospirou dochází pravděpodobně nejčastěji krmivem znečištěným močí infikovaných potkanů.

Z hlediska epidemiologického je důležité, že onemocnění může ve většině případů proběhnout i subklinicky, pouze u zeslabených organismů (nachlazení, dietetická závada) a pravděpodobně i za dalších, dosud nezjištěných okolností probíhá onemocnění v akutní, klinicky zjevné formě. Naše pozorování ukázalo, že vedle potkanů, psů a prasat je i kuň zvířetem, s nímž je nutno v epidemiologii Weilovy choroby počítat.

Souhrn

V předložené práci je zhodnocena otázka možnosti onemocnění koní Weilovou chorobou na podkladě dostupné literatury.

Sérologickým vyšetřením 785 koní v letech 1955–1960 byl zjištěn nejnižší pozitivní titr 1 : 800 s *Leptospira icterohemorrhagiae* u 34 koní (4,3 %), v nejnižším pozitivním titru 1 : 1600 reagovalo s tímž sérotypem 10 koní (1,3 %).

Pouze ve dvou případech, jejichž klinický obraz byl v práci podrobně popsán, bylo na základě sledování dynamiky titrů a klinického obrazu usouzeno na akutní, klinicky probíhající Weilovu chorobu. U obou koní došlo v pozdním stadiu choroby k příznakům *iridocyklochorioiditis*. Ve všech ostatních případech proběhlo onemocnění subklinicky.

Literatura

1. Angelov S. T., Kujumdžijev I.: Leptospiroze u člověka i zvířete a nas s ogled na predizvikvasčite gi leptospiri. Izvest na mikrobiol. inst., kniga VI, 3-10, 1955. — 2. Bryans J. T.: Studies on Equine Leptospirosis. Cornell. Vet. 45, 16, 38, 1955. — 3. Caporale G.: Les leptospiroses du bétail, en Italie. Bull. Off. Int. Epizoot. 43, 1-2, 159-165, 1955. — 4. Gaspardis D.: Contributo eziologico alle forme cliniche del cavallo. Epatite itterogena ed oftalmite recidivante. Giornale di Mal. Inf. e Parasit. 4, 6, 351-354, 1952. — 5. Genčev Genča: Příspěvek k průzkumu leptospiros u ovcí. Diss. Brno, 1952. — 6. Hilner J.: Příspěvek k zjišťování výskytu leptospiros u koní. Diss. Brno, 1951. — 7. Hupka H., Behrens H.: Untersuchun-

gen über die Leptospirose des Pferdes. D. T. W. 58, 245-248, 1951. — 8. Chemnitz H.: Serologische Untersuchungen von Haustiere auf Leptospirose. Z. Immun. Forsch. 110, 395-404, 1953. — 9. Jelínek V., Jelínek M.: Rozšíření leptospir v různých oblastech ČSR. Sborník ČSAZV B, 27, 6, 721-730, 1954. — 10. Kathe J.: Infektionen mit Leptospira grippotyphosa bei Tieren und ihre Bedeutung für die Epidemiologie des Schlämm-Feldfiebers. Z. Immun. Forsch. 103, 60-73, 1943. — 11. Kathe J., Engelhardt K., Greve G.: Allergische Erkrankungen nach Leptospirose. Zbl. f. Bakt., Parasit. Inf. H., 158, 333-337, 1952. — 12. Krüger H.: Studien zur Aetiologie der ansteckenden Gehirn-Rückenmark-Entzündung des Pferdes (Bornasche Krankheit). M. f. V. M. 9, 73-77, 1954. — 13. Lipanowitz I., Zwirchowski I.: Badania nad obecnością przeciwciał leptospirycznych w ogniskach niedokrwiistości zakaźnej koni. Seszyty Naukowe WSR we Wrocławiu, Weterynaria IV, 47-68, 1958. — 14. Morse E.V.: Current Diagnostic Problems in Leptospirosis. Reprinted f. 62 nd. Annual Proceed. U. S. L. S. A. 11, 1958. — 15. Nedjalkov St., Stojanov D.: Durch Futtermittelvergiftungen komplizierte Leptospirose bei Serum-Pferden. M. f. V. M. 7, 234-237, 1960. — 16. Pláček L.: Příspěvek k výskytu leptospir u koček. Vet. Med. XXIX, 4, 575-594, 1956. — 17. Pokorný B.: Serologická vyšetřování koní stížených žďárskou chorobou. a: Č. L. C. 87, 687, 1948, b: Č. Č. Vet. 4, 345, 1949. — 18. Polách M.: Příspěvek k průzkumu leptospir u koní. Diss. Brno, 1953. — 19. Rossi P., Kolochine-Erber B.: Leptospiroses des grandes animaux domestiques. Bull. de l'Soc. Sci. Vét., d. Lyon, 54-55, 211-227, 1952/1953. — 20. Serr H.: Lehrbuch und Atlas der Augenheilkunde, 1958. — 21. Schmitt G.: Contribution à l'étude des Leptospiroses animales. Diss. 1950, Paris. — 22. Schulz J. A., Rauch H.: Zur Frage der akuten Leptospirose des Pferdes. Mhft. f. V. M., 15, 1, 22-24, 1960. — 23. Sova Z.: Klinická a serologická pozorování při leptospirose u koní. Vet. časopis, V, 6, 449-460, 1956. — 24. Sova Z.: Příspěvek ke klinické a serologické diagnostice leptospir u koní v našich hospodářských podmínkách. Kandidátská disertační práce 1960. — 25. Šobra K.: Leptospiroza a žďárská choroba u koní. Vet. Med., 10, 757-782, 1956. — 26. Tomáš J.: Priespevok k prieskumu leptospir u koní z oblasti Michalovce aglutinino-lysinovou reakciou. Diss. Brno, 1952. — 27. Trawinski A.: XXVI. Sesja Office International des Epizooties w Paryżu. Med. Weter. 14, 10, 577-586, 1958. — 28. Trbič B., Turulatovič R., Tamin B.: Jedna enzootija leptospire konja u P. R. Srbiji. Acta Vet. Jug. 6, 37-42, 1956. — 29. Vagni O., Mascaro L. A., Villegas C.: Relación de causa entre la infección leptospirica y la irido-coriditis de los caballos. Rev. Vet. Mil. 188-195, 1954. — 30. Zaharija I., Premzl D.: Leptospiroza i periodska oftalmija u konja Kotara Križevci. Vet. Arh. 29, 5-6, 117-131, 1959. — 31. Zaharija I.: Klinički podaci o Leptospirosis pomona u konja. Vet. Arh. 23, 11-12, 318-326, 1953. — 32. Zwierz J.: Leptospirozy zwierząt w Polsce. Med. Weter. 11, 521-526, 1955.

К вопросу заболевания лошадей гемолитической желтухой *Icterus infectiosus*

В представленной работе дается оценка вопроса возможности заболевания лошадей гемолитической желтухой *Icterus infectiosus* (болезнью Вейля) на основе доступной литературы.

Путем серологического исследования 785 лошадей в период 1955—1960 годов был установлен самый низкий позитивный титр 1:800 с *Leptospira icterohaemorrhagiae* у 34 лошадей (4,3 %); в самом низком позитивном титре 1:1600 реагировало с тем же серотипом 10 лошадей (1,3 %).

Только в двух случаях, клиническая картина которых была в данной работе подробно описана, на основании изучения динамики титров и клинической картины была установлена острая форма клинически протекающей гемолитической желтухи (болезни Вейля). У обеих лошадей в поздней стадии заболевания появились признаки лунной слепоты *iridocyklochorioditis*. Во всех остальных случаях заболевание имело неклинический характер.

Beitrag zur Forschung der Weilschen Krankheit bei Pferden

Auf Grund der zugänglichen Literatur wird die Frage der Entstehung der Weilschen Krankheit bei Pferden bewertet.

Mittels der serologischen Untersuchung von 785 Pferden in den Jahren 1955-60 wurde der niedrigste positive Titer 1 : 800 mit *Leptospira icterohaemorrhagiae* bei 34 Pferden (4,3 %) festgestellt; bei niedrigstem positiven Titer 1 : 1600 reagierten mit demselben Serotyp 10 Pferde (1,3 %).

Nur in zwei Fällen, deren klinisches Bild in der Arbeit eingehend beschrieben wurde, konnte man auf Grund der Verfolgung der Titerdynamik und des klinischen Bildes auf akute, klinisch verlaufende Weilsche Krankheit schließen. In spätem Stadium der Krankheit kamen Symptome der Iridocyklochorioiditis zum Vorschein. In sämtlichen übrigen Fällen war der Verlauf der Krankheit subklinisch.

Ewy Z., Slobodzinski A.: Změny v činnosti štítné žlázy u zvířat pod vlivem stilbestrolu Изменения деятельности щитовидной железы у животных, вызванные стилбестролом Veränderungen in der Aktivität der Schilddrüse bei Tieren unter dem Einfluß von Stilböstrol Les changements de la fonction du corps thyroïde chez les animaux sous l'influence du stilboestrol	855
Sova Z.: Příspěvek k onemocnění koní Weilovou chorobou К вопросу заболевания лошадей гемолитической желтухой <i>Icterus infectiosus</i> Beitrag zur Forschung der Weilschen Krankheit bei Pferden	859

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu v oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědeckotechnických informací ministerstva zemědělství, lesního a vodního hospodářství. Vychází měsíčně. Celoroční předplatné 120 Kčs. Redakce: Praha 2, Slezská 7, telefon 544-51, 575-41. Rozšiřuje Poštovní novinová služba. Objednávky a předplatné přijímá Poštovní novinový úřad, ústřední administrace PNS, třída Obránců míru 2, Brno. Lze též objednat u každého poštovního úřadu a doručovatele. Objednávky do zahraničí vyřizuje Poštovní novinový úřad, vývoz tisku, Jindřišská 14, Praha 1. Vytiskl Mír, novinářské závody, n. p. závod 2, provozovna 22, Legerova 22, Praha 2.

A-02*21717

ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ MZLVH

shromažďuje a zpracovává

novinky naší i zahraniční zemědělské literatury

a zveřejňuje je v těchto referátových a bibliografických časopisech:

Přehled zemědělské literatury

je měsíčník v rozsahu 144 stran. Přináší obsahy vybraných článků a knih z celého světa a ze všech zemědělských a příbuzných věd.

Dodatky k Přehledu zemědělské literatury

obsahují bibliografické a zkrácené anotované záznamy, které pro nedostatek místa nemohly být uveřejněny v Přehledu.

Přehled lesnické a myslivecké literatury

je měsíčník o rozsahu 32 stran. Každé číslo obsahuje kolem 250 anotovaných záznamů ze všech oborů lesnictví a myslivosti, uspořádaných podle Oxfordského systému pro lesnictví.

Dodatky k Přehledu lesnické a myslivecké literatury

vycházejí rozmnožené cyklostylem 12× ročně; v každém čísle je 160 záznamů.

Výběr československé zemědělské dokumentace

je dvoměsíčník, který informuje o novinkách české a slovenské zemědělské literatury.

Informační zprávy patentové a normalizační

jsou měsíčník o rozsahu 45 stran. Informují o nové patentové a normalizační světové literatuře v oblasti zemědělství.

Studijní informace

přinášejí obšírné studijní zprávy a překlady k nejnovějším aktuálním otázkám. Souborné referáty jsou doplněny bibliografiemi. Tento studijní materiál je určen vědeckovýzkumným pracovníkům. Zatím je zasílán zdarma na objednávku jednotlivým organizacím a institucím.

Světové aktuality zemědělství a lesnictví

cyklostylem rozmnožený časopis pro vedoucí a odborné pracovníky v zemědělství.

Metodiky pro zavádění výsledků výzkumu do praxe

rozesílá ÚVTI MZLVH zdarma přímo do výrobních závodů, zejména do těch, při nichž byly zřízeny pobočky okresních zemědělsko-lesnických společností.

Ústav vědeckotechnických informací MZLVH slouží svou publicistickou činností potřebám zemědělského výzkumu a praxe. Využívejte časopisů ÚVTI MZLVH ve své praxi a při svém studiu!

Informace podá a objednávky vyřídí

Studijně dokumentační středisko

Ústavu vědeckotechnických informací MZLVH

Praha 2, Slezská 7

