

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

11

ROČNÍK 11 (XXXIX)
PRAHA,
LISTOPAD 1966
CENA 10 Kčs

ÚSTAV
VĚDECKOTECHNICKÝCH
INFORMACÍ MZLH

Řídí redakční rada

Prof. MVDr. Emanuel Král, (předseda), člen korespondent ČSAV akademik Ivan Brauner, doc. MVDr. Jan Čarvaš, CSc., prof. MVDr. Jaroslav Dražan, CSc., prof. MVDr. Tomáš Gdovin, MVDr. Martin Lis, MVDr. Andrej Mačička, MVDr. Ladislav Polák, CSc., doc. MVDr. Oldřich Svoboda, doc. MVDr. inž. Jan Vlček, pplk. MVDr. Miroslav Vojáček, prof. MVDr. Jaroslav Vrtiak, CSc., MVDr. Ladislav Zima, MVDr. Alojz Žuffa, CSc.

Vedoucí redaktor František Němec

© Ústav vědeckotechnických informací MZLH, Praha 1966

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA uveřejňuje studie, rozbor a vědecká pojednání o vyřešených úkolech výzkumu z oboru veterinární medicíny. Vydává Ústav vědeckotechnických informací ministerstva zemědělství a lesního hospodářství. Vychází měsíčně. Redakce: Praha 2, Slezská 7, telefon 257541. Celoroční předplatné Kčs 120,—

Научный журнал VETERINÁRNÍ MEDICÍNA публикует обзоры, анализы и научные статьи о разрешенных заданиях по научному исследованию в области ветеринарной медицины. Издаёт Институт научно-технической информации Министерства сельского и лесного хозяйства. Выход в свет ежемесячно. Редакция Прага 2, Слезская 7

The scientific journal VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publishes studies, analyses and scientific treatises about the solved research tasks in the line of the veterinary medicine. Published by the Institute of Scientific and Technical Information of the Ministry of Agriculture and Forestry Management. Issued monthly. Editorial office Prague 2, Slezská 7

Die wissenschaftliche Zeitschrift VETERINÁRNÍ MEDICÍNA veröffentlicht Studien, Analysen und wissenschaftliche Abhandlungen über die gelösten Forschungsaufgaben auf dem Gebiete der Veterinärmedizin. Herausgegeben vom Institut für wissenschaftlich-technische Informationen des Ministeriums für Land- und Fortswirtschaft. Erscheint monatlich. Redaktion Praha 2, Slezská 7

Le journal scientifique VETERINÁRNÍ MEDICÍNA publie les études, analyses et traités scientifiques concernant les tâches de recherches résous dans la domaine de médecine vétérinaire. Publié par l'Institut des renseignements scientifiques et techniques du Ministère de l'agriculture et des forêts. Paraît une fois par mois. Rédaction Prague 2, Slezská 7

■ Okrem biologickej už klasickej metódy na stanovenie oxytocinázy v krvnom sére boli v poslednej dobe pre určenie tohto enzýmu použité chemické metódy založené na aplikácii „chromogenných substrátov“. S úspechom sa použilo napr. pre stanovenie oxytocinázy ako substrátu L-cystin-di-beta-naftylamidu (W. Müller - Hartburg, H. Nesvatba a H. Tuppy 1959) a L-cystin-bis-p-nitroanilidu (H. Tuppy, U. Wiesbauer, E. Wintersberger 1962).

LITERÁRNY PREHĽAD

Polarografickým štúdiom oxytocínu sa zaoberal Hiroshi Sunahara, Darrel N. Ward a A. Clark Griffin (1960). Títo autori zisťujú a popisujú polarografické krivky oxytocínu v amoniakálnych roztokoch kobalt-natých a kobaltitých solí. Polarografické vlny oxytocínu za prítomnosti kobaltitých iónov sú vyššie ako v roztokoch solí dvojmocného kobaltu. Tvar polarografickej krivky oxytocínu sa s koncentráciou amoniaku a teda s pH mení. J. Cikán (1962) zistil u oxytocínu tiež dobre vyvinutú redukčnú vlnu disulfidov v amonnom pufrí o pH 9,5.

Zistili sme, že v amoniakálnych roztokoch solí trojmocného kobaltu poskytuje polarografickú vlnu i prírodný oxytocínový preparát pituitrín (SPOFA). Zistili sme ďalej, že výška vlny pituitrínu v kobaltitej solúcii po inkubácii so sérom gravidných žien klesá, t.j. že štepy oxytocinázou hydrolyzovaného pituitrínu (teda i oxytocínu) prestávajú byť za daných analytických podmienok polarograficky aktívnymi. Týchto skutočností sme využili pre polarografické stanovenie oxytocinázy v sére.

MATERIÁL A METODIKA

Použité chemikálie, krvné séra a prístroje. Keďže nám z technických príčin nebol dostupný syntetický oxytocín, použili sme ako substrát pre určenie aktivity oxytocinázy pituitrín (SPOFA) s obsahom 6 m. j. v 1 ml. Hlavnou účinnou zložkou pituitrínu je hormón oxytocín vo vodnom bezbielkovinnom roztoku. Vedľa oxytocínu však pituitrín obsahuje aj bližšie neudané stopy vazopresínu. Pre prípravu Brdičkovej kobaltitej solúcie [10^{-3} M $\text{Co}(\text{NH}_3)_6\text{Cl}_3$, 1 N NH_4OH , 0,1 N NH_4Cl] sa použil chlorid hexamkobaltitý p. a. (B. D. London). Kyselina sulfosalicylová bola čistoty puriss (SPOLEK).

Chemikálie ku príprave pufovaných roztokov ($\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12 \text{H}_2\text{O}$ a $\text{NaH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$) boli čistoty p. a. domácej výroby.

Polarografické krivky boli registrované na Heyrovského polarografe LP-55 zapojenom na zapisovač EZ 2. Citlivosť polarografu bola nastavená na hodnotu 1:500. Použila sa Kalcuskova nádobka s referentnou nasýtenou kalcimelovou elektródou. Konštanty kapiláry: $m = 1,7 \text{ mg s}^{-1}$, $t = 4,3 \text{ s}$, pri spojení elektród na krátko v 10^{-3} M roztoku KCl a $h = 50 \text{ cm}$.

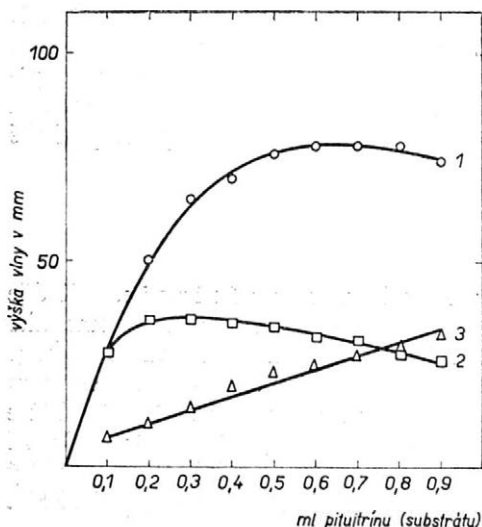
Stanovenie oxytocinázy (vlastne stanovenie cystinaminopeptidázovej aktivity) prevádzali sme tiež za použitia L-cystin-di-beta-naitylamidu ako substrátu metodikou ako navrhli W. Müller-Hartburg, H. Nesvatba a H. Tuppy (1959).

Krvné séra boli získané z krvi gravidných a negravidných žien hospitalizovaných na pôrodníckej klinike fakultnej nemocnice, séra zvierat pochádzali z kliník veterinárskej fakulty. Séra boli spracované vždy buď v deň odberu alebo najviac behom dvoch dní za uskladnenia v chladničke pri $2-5^\circ \text{C}$.

VYSLEDKY

Prešetrenie podmienok analýzy. Princíp metódy polarografického stanovenia oxytocinázy spočíva v určení pôvodného a ostávajúceho pituitrínu pred a po inkubácii so sérom pri 38°C . Pituitrín sa temer nezráža kyselinou sulfosalicylovou a možno tento po odfiltrovaní zrazeniny sérových bielkovín polarograficky stanoviť v sulfosalicylovom filtráte. Takto získané vlny sa skladajú jednak z filtrátovej vlny sérových bielkovín, rozpustených v kyseline sulfosalicylovej a z vlny pituitrínu.

Z polarografického hladiska predovšetkým bolo potrebné prešetriť závislosť výšky vlny na koncentrácii samotného pituitrínu a závislosť výšky vlny na koncentrácii pituitrínu pri štandardnom prídavku tchože množstva séra. Ako je z grafu 1 zrejmé, má spracovanie vzorky a súčasná prítomnosť bielkovín v sulfosalicylovom filtráte značný vplyv na výšku vlny pituitrínu a tým i na priebeh kalibračnej krivky. Vzhľadom na požiadavku, aby sa obdržala približne lineárna kalibračná krivka, bolo potrebné voliť kompromis medzi množ-



Gr. 1: Závislosť výšky vlny na koncentrácii pituitrínu pri rôznom spracovaní vzorky.

Krivka č. 1: V 1 ml roztoku ($\text{pH} = 7,0$) s obsahom 0,1 ml 0,5 % želatíny a 0,05 g kyseliny sulfosalicylovej je postupne obsadené 0,1–0,9 ml pituitrínu. 0,5 ml roztoku pridávané ku 2,5 ml kobaltitej solúcie.

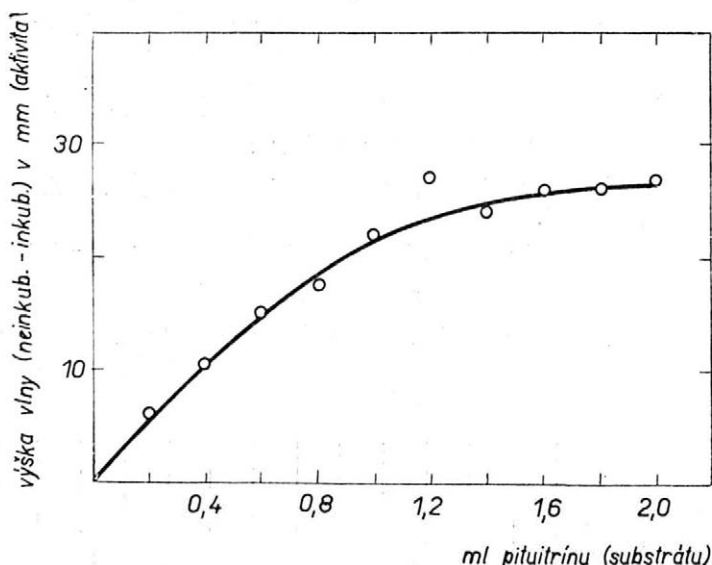
Krivka č. 2: Výšky vln týchže roztokov ako u krivky č. 1 po odcentrifugovaní zrazeniny pituitrínu. Ku kobaltitej solúcii pridávaný bol čirý roztok.

Krivka č. 3: Výšky vln týchže koncentrácií pituitrínu ako u krivky č. 1. Miesto 0,1 ml želatíny však každá vzorka obsahovala 0,1 ml séra. Ku kobaltitej solúcii pridávaný čirý roztok po odcentrifugovaní bielkov. zrazeniny.

stvom séra (ako fermentu) a množstvom pituitrínu (ako substrátu). Pre zisťovanie enzymatickej aktivity, najmä ak sa má vyhovieť podmienkam pre $V_{\max} = k E$, je potrebné, aby v enzymatickom roztoku boli pomerne vysoké koncentrácie pituitrínu (substrátu). Vyššie koncentrácie pituitrínu sú však nevýhodné z hľadiska polarografickej analýzy, pretože závislosť, katalytických vln v kobaltitých roztokoch na koncentracii tohto polypeptidu nie je lineárna, ale má charakter adsorpčnej izotermy. Táto protichodnosť požiadaviek zo strany enzymatickej a polarografickej analýzy dala sa však pomerne uspokojivo vyriešiť aj vzhľadom na sériovú analýzu použitím experimentálne zisteného pomeru 1 ml pituitrínu ku 0,1 ml séra pre analyzovaný vzorok. Množstvo substrátu potrebné pre dosiahnutie maximálnej rýchlosti hydrolýzy pituitrínu je za uvedených podmienok taktiež z analytického hľadiska prijateľné (gr. 2). Pri zachovaní týchto podmienok dostávame vo väčšine prípadov i priamu závislosť aktivity na množstve enzýmu (gr. 3). Vhodná doba inkubácie sú približne 2 hodiny (gr. 4).

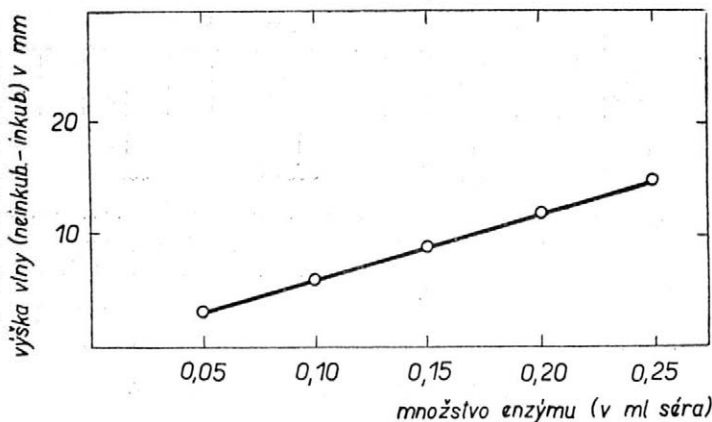
Gr. 2: Závislosť aktivity oxotocinázy na koncentrácii pituitrínu.

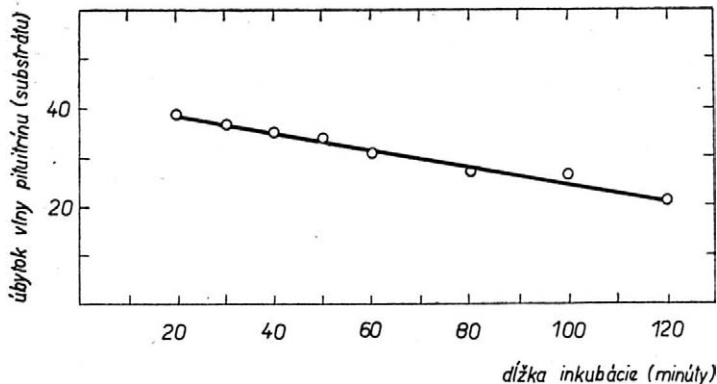
2,25 ml roztoku (pH = 7,0) s obsahom 0,25 ml grav. séra obsahoval postupne 0–2,0 ml pituitrínu. Inkub. 2 hod. Mierou aktivity je rozdiel výšok vln neinkubovanej a inkubovanej vzorky.



Gr. 3: Hydrolýza pituitrínu v závislosti na množstve oxytocinázy (ml aktívneho séra)

Ku 2 ml pufrovaného pituitrínu (pH = 7,0) pridané postupne 0,05 až 0,25 ml grav. séra a 0,20–0,05 ml tohože inaktivovaného séra. (Inaktivácia 2 hod. pri 56° C.) Ku kobaltitej solúcii pridávaný filtrát po vyzrážaní kyselinou sulfosalicylovou. Stupeň hydrolýzy pituitrínu vyjadruje rozdiel výšok vln neinkubovanej a inkubovanej vzorky.





Gr. 4: Úbytok výšky vlny pituitrínu v závislosti na dobe inkubácie (sérum od ženy v 10. mesiaci grav.).

Návrh metodiky. Z ampuliek odlejeme množstvo pituitrínu, ktoré behom 1–3 dní mienime spotrebovať pre analýzy. pH pituitrínu upravíme na hodnotu 7,0–7,2 pridaním naváženého množstva primárneho a sekundárneho fosforečnanu sodného v substancii. pH pufovaného pituitrínu prekontrolujeme pH-metrom. Nespotrebovaný pufovaný pituitrín uskladňujeme v chladničke. (Oxytocín v zásaditých roztokoch nie je stály.) (O. H a n č, 1959.)

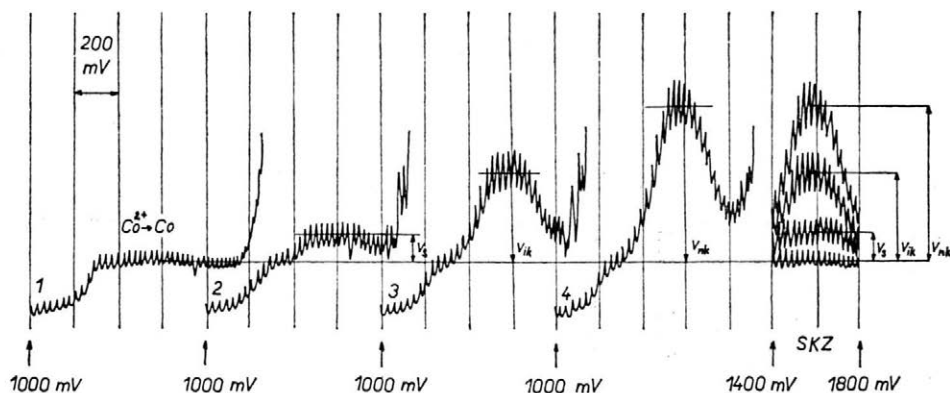
Do štyroch skúmaviek pridáme:

Skúmavka č. 1 obsahuje: 0,2 ml 0,5 % želatiny + 2 ml fosfátový pufer pH 7,0.

Skúmavka č. 2 obsahuje: 0,2 ml séra + 2 ml fosfátový pufer o pH 7,0.

Skúmavka č. 3 a 4 obsahuje: 0,2 ml séra + 2 ml pufovaný pituitrín.

Skúmavku č. 3 vložíme do termostatu ku inkubovaniu na 2 hodiny pri 37° C. Skúmavku č. 4 odložíme na tú istú dobu do chladničky. Pctom do všetkých štyroch skúmaviek pridáme 0,1 g kyseliny sulfosalicylovej v substancii



Gr. 5: Polarografické stanovenie oxytocinázy v sére. Krivka č. 1: kobaltitá solúcia so želatinou; krivka č. 2: kobaltitá solúcia + sérum; krivka č. 3: kobaltitá solúcia + sérum + pituitrín po inkubácii; krivka č. 4: kobaltitá solúcia + sérum + pituitrín pred inkubáciou.

SKZ: Skráteneý spôsob záznamu polarografických kriviek.

Skratky: V_s = výška vlny bielkovín samotného séra;

V_{ik} = výška vlny inkubovanej vzorky;

V_{nk} = výška vlny neinkubovanej vzorky.

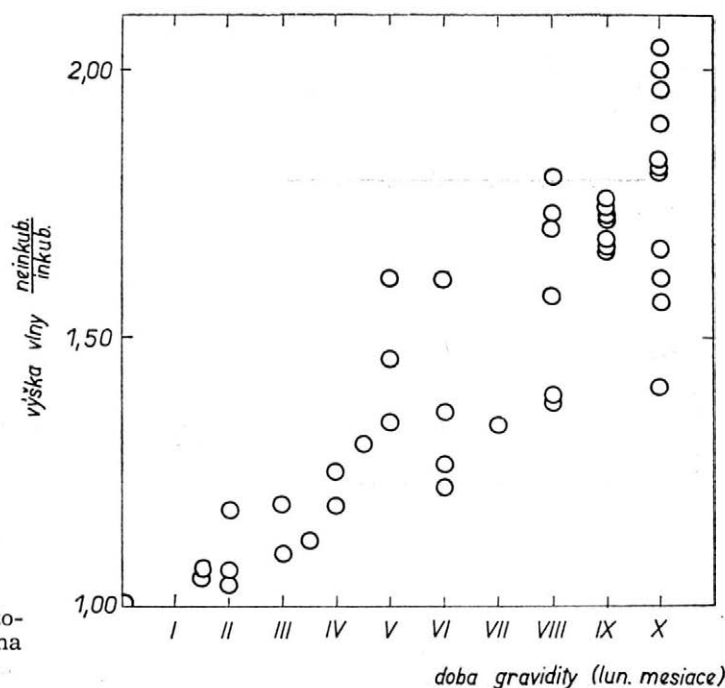
a dobre premiešame. Necháme 10 min. stáť. Obsah skúmaviek, do ktorých sme pridali sérum, prefiltrujeme cez tvrdý filter (napr. Sch. Sch. 602 h). Z posledných 3 skúmaviek po 0,5 ml filtrátu a z prvej 0,5 ml roztoku pridáme ku 2,5 ml kobaltitej Brdickovej solúcie. Polarografické krivky zaznamenáme buď bežným spôsobom za sebou od 1000 mV, alebo úspornejšie a názornejšie nad sebou, ako je to prevedené na polarograme (gr. 5). Pri sériových analýzach stačí pripraviť a registrovať iba krivky zo skúmaviek č. 3 a 4.

Aktivitu oxytocinázy vyjadrenú úbytkom pituitrínu, udáva rozdiel výšok vln zo vzorky neinkubovanej (skúmavka č. 4) a inkubovanej (skúmavka č. 3). Keďže ale spracovanie vzorky a množstvo bielkovín rozpustených v kyseline sulfosalicylovej ovplyvňuje výšku vlny pituitrínu, bude výhodnejšie pre porovnanie vyjadriť oxytocinázovú aktivitu indexom, ktorý predstavuje jednoduchý pomer výšok vln zo vzoriek pred a po inkubácii. U sér bez oxytocinázy takto dostávame index rovný jednej. Hodnotíme i stotiny indexu.

Pre dosiahnutie porovnateľných výsledkov je nutné použiť pre všetky analýzy vždy tej istej výrobnéj šarže pituitrínu.

PRAKTICKÁ APLIKÁCIA

Stanovenie aktivity oxytocinázy v sérach gravidných žien. Uvedenou metodikou prešetrili sme na aktivitu oxytocinázy 44 sér od gravidných žien a kvôli kontrole i od 30 zvierat (ovce, kravy, kone), ktoré — ako je známe z literatúry a z ďalšej kapitoly tejto práce — v sére oxytocinázu ani za gravidity nemajú. U zvierat v prevažnej väčšine sme obdržali index rovný 1,00. O hodnote indexu negravidných žien nemožno sa zatiaľ pre malý počet vyšetrení (12) presne vyjadriť. Tento však v našom súbore len v ojedinelých prípadoch o niekoľko málo stotín prekročil hodnotu 1,00, čo sa mohlo stať i vplyvom chyby pri prevádzaní analýzy, pretože z dôvodov šetrenia s krvou jednalo sa vždy iba o jednorázové stanovenie. Gr. 6 predstavuje výsledky z analýz od 44 gravidných



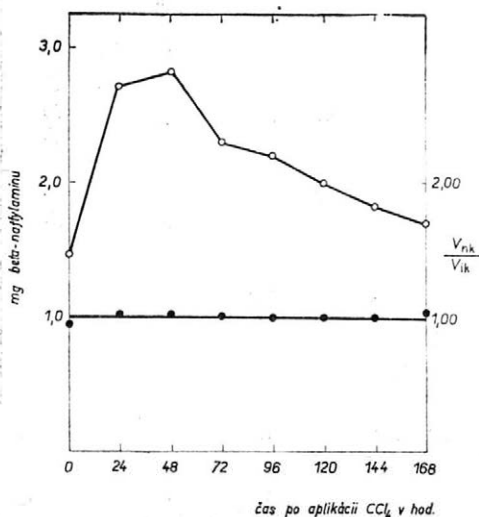
Gr. 6: Aktivita oxytocinázy v závislosti na dĺžke gravidity.

žien. Index s dĺžkou gravidity vzrastá, ale jednotlivé prípady i v tejže dobe tehotenstva javia zreteľný rozptyl, čo odpovedá i stanoveniam W. Müllera - Hartburga a spol. (1959) kolorimetrickou metódou.

Metodika môže slúžiť tiež ako pomerne jednoduchý, rýchly a lacný test na určenie gravidity. Zvýšenie oxytocinázy v sére pri pečlivom prevedení analýzy možno zistiť popísanou metodikou už od 2-3 mesiaca tehotenstva.

Príspevok ku charakteristike aminopeptidáz v krvných sérach hospodárskych zvierat. Z literatúry (W. Müller-Hartburg, M. Nesvatba a H. Tuppy, 1959, G. Döderlein a E. Rimbach, 1962, M. B. Glendening, M. A. Titus, S. A. Schroeder, G. Mohun, E. Page, 1965) je známe, že kolorimetrické metódy na stanovenie aktivity oxytocinázy za použitia chromogenných substrátov, ako je L-cystin-di-beta-naftylamid apod. (M. B. Glendening, M. A. Titus, S. A. Schroeder, G. Mohun, E. Page 1965), nie sú pre stanovenie oxytocinázy v sérach gravidných žien reakciami špecifickými. Výsledky získané takýmito metodami bývajú ovplyvnené aj prítomnosťou iných sérových aminopeptidáz než je oxytocináza samotná. Z týchto dôvodov boli zaznamenané vyššie hodnoty aktivity sérovej „oxytocinázy“ určené metódami kolorimetrickými aj napr. pri chorobách pečene (W. Müller - Hartburg, H. Nesvatba a H. Tuppy, 1959) u bezpečne negravidných osôb. Je logické, že v takýchto prípadoch (kde bol použitý L-cystin-di-beta-naftylamid ako substrát), nejednalo sa potom o zvýšenie aktivity vlastnej oxytocinázy, ale o zvrast aktivity cystinaminopeptidázy v dôsledku poškodenia pečeneového tkaniva.

V krvných sérach zvierat nebol zatiaľ zistený biologickými metódami enzým, ktorý by hydrolyzoval oxytocín ani za gravidity (G. Döderlein a E. Rimbach, 1962). V našom laboratóriu sme zistili (M. Bartík, E. Michnová, 1966) kolorimetrickou metódou na stanovenie oxytocinázy, že i krvné séra zdravých negravidných zvierat hydrolyzujú L-cystin-di-beta-naftylamid, čo by teda mohlo imitovať oxytocinázovú aktivitu. Táto aktivita sa zvyšovala u oviec, ktorých pečene bola atakovaná chloridom uhličitým (CCl_4). Ak sme však oxytocinázovú aktivitu sledovali u týchže zvierat aj našou polarografickou metódou, v žiadnom prípade (ani u oviec s poškodenou pečťou) oxytocinázová aktivita zaznamenaná nebola. (Vid' graf 7). Z týchto výsledkov možno dedukovať nasledujúce závery: Metodikami na stanovenie oxytocinázy, ktoré používajú chromogenné syntetické substráty v žiadnom prípade sa v krvných sérach zvierat (ovce, hovädzí dobytok, kone) nezisťuje oxytocináza, ale stanovuje sa len aktivita iných aminopeptidáz. Aminopeptidázy zistené v krvných sérach zvierat nehydrolyzujú totiž pituitárin a teda ani natívny oxytocín a to ani v prípade ich množenia v krvnom sére pri poškodení pečene oviec chloridom uhličitým.



Gr. 7: Stanovenie aktivity oxytocinázy v krvnom sére ovce s poškodenou pečťou po jednorázovom perorálnom podaní CCl_4 v množstve 0,5 ml/kg ž. v. metódou kolorimetrickou a polarografickou. Aktivita je udaná v mg beta-naftylaminu, uvoľneného zo substrátu 100 ml séra za 1 hodinu pri 37°C . Pri polarografickej metóde mierou aktivity je index z pomeru neinkubovanej a inkubovanej vzorky.

Hoci sme experimenty s polarografickým stanovovaním oxytocinázy prevádzali len u 10 oviec, 10 kráv a 10 koní (pri poškodenej pečeni u 3 negravidných oviec), predsa si dovoľujeme naše poznatky zovšeobecniť aj na ostatné hospodárske zvieratá, pretože polarografická metodika svojou špecifitou sa vyrovná v danom prípade metodikám biologickým a týmito sa tiež oxytocináza v krvných sérach zvierat zistiť nedala.

DISKUSIA

J. Homolka (1964) popisuje pri polarografickom sledovaní hydrolýzy sérových bielkovín účinkom pepsínu alebo katepsínu zvyšovanie výšok vln po inkubácii. V tomto prípade sa zrejme hydrolýzou (hlavne albumínov) uvoľnilo väčšie množstvo v kobaltitej solúcii polarograficky stanoviteľných polypeptidov, ktoré prechádzajú do sulfosalicylového filtrátu. Pri našej metodike a postupe sa jedná o prípad opačný — po inkubácii pituitrínu so sérom sa vlna znižuje. Zníženie polarografickej vlny pituitrínu v kobaltitej solúcii vo vzorkách po inkubácii s gravidným sérom možno pripísať najpravdepodobnejšie úbytku oxytocínu na úkor vzniku nízkomolekulárnych štepov (H. Tuppy a H. Nesvatba 1957, I. Sjöholm 1964) obsahujúcich síru, ktoré sa za daných podmienok analýzy v amoniakálnych kobaltitých roztokoch polarograficky buď vôbec neprejavujú, alebo dávajú merateľné vlny iba pri vyšších koncentráciách. Ako je však štiepený oxytocín obsažený v pituitríne za našich konkrétnych podmienok a teda aké štepy sa v polarografickom roztoku skutočne nachádzajú, zatiaľ nevieme. O tom by nás mohli informovať špeciálne zamerané experimenty, ktoré však neboli nateraz cieľom tejto práce.

Špecifita metodiky a jej pomerne vysoká citlivosť umožní uplatniť sa nie len pri štúdiu aktivity sérovej oxytocinázy v humánnej medicíne, ale aj pri hľadaní tkání, kde se oxytocín u zvierat inaktivuje.

SÚHRN

1. Bola navrhnutá a popísaná polarografická metóda na stanovenie aktivity oxytocinázy v krvnom sére. Ako substrát bol použitý prírodný oxytocínový preparát pituitrín (SPOFA). Metodika sa vyznačuje špecifitou a umožňuje stanoviť oxytocinázovú aktivitu i za prítomnosti iných aminopeptidáz. Princíp metódy: Pituitrín poskytuje v amoniakálnych roztokoch trojmocného kobaltu vlnu. Vlna sa po inkubácii pituitrínu so sérom následkom hydrolýzy hormónu znižuje. Mierou aktivity sérovej oxytocinázy je buď rozdiel výšok vln neinkubovanej a inkubovanej vzorky alebo index vyjadrený podielom výšok vln vzoriek pred inkubáciou a po inkubácii.

2. Polarografickú metodiku je možné použiť na určenie gravidity žien; tehotenstvo sa dá takto zistiť asi od 2—3 mesiacov gravidity.

3. Krvné séra zvierat obsahujú aminopeptidázy zistiteľné kolorimetrickými metodikami na stanovenie oxytocinázy na podklade chromogenných substrátov, odvodených od beta-naftylaminu. Aktivita týchto aminopeptidáz v séru, špeciálne cystinaminopeptidázy, po poškodení pečene oviec po aplikovaní CCl_4 vzrastá. Sérové aminopeptidázy zvierat v žiadnom prípade nespôsobovali polarograficky zistiteľnú hydrolýzu pituitrínu. Hydrolýza pituitrínu nenastala ani v tom prípade, keď sa cystinaminopeptidáza v sére oviec zmnožila následkom poškodenia pečene tetrachlormetanom.

Došlo dňa 11. 5. 1966

Literatúra

1. W. MÜLLER - HARTBURG, H. NESVATBA a H. TUPPY = „Archiv für Gynäkologie“, 191, 442, (1959). — 2. H. TUPPY, U. WIESBAUER und E. WINTERSBERGER = „Hoppe-Seyler's Zeitschrift für Physiologische Chemie“, 329, 278, (1962). — 3. HIROSHI SUNAHARA, DARREL N. WARD and A. CLARCK GRIFFIN = „Journal of the American Chemical Society“, 82, 6017, (1960). — 4. HIROSHI SUNAHARA, DARREL N. WARD and A. CLARCK GRIFFIN = „Journal of the American Chemical Society“, 82, 6023, (1960). — 5. J. CIKÁN: Polarografické chování některých štěpů insulinu získaných chemickými modifikacemi a proteolysou. Kandidátská dizertační práce, Praha, (1962). — 6. O. HANČ: Hormone, Jena, (1959). — 7. J. HOMOLKA: Polarografie bílkovin a její klinické využití, Praha, (1964). — 8. H. TUPPY and H. NESVATBA = „Monatsh.“, 88, 977, (1957). — 9. I. SJÖHOLM = „Acta Chemica Scandinavica“, 18, 889, (1964). — 10. G. DÖDERLEIN und E. RIMBACH: Grundlagen der Enzymologie der Geburtshilfe, Leipzig, (1962). — 11. M. B. GLENDENING, M. A. TITUS, S. A. SCHROEDER, G. MOHUN, E. PAGE = Am. J. of Obstetrics and Gynecology, 92, 814, (1965). — 12. M. BARTÍK, E. MICHNOVÁ: Aktivita cystinaminopeptidázy v krvných sérech zvířat (1966). Zatiaľ nepublikované.

Полярографическое определение окситоциназы и характеристика аминопептидаз

1. Был предложен и описан полярографический метод определения активности окситоциназы в сыворотке крови. В качестве субстрата применялся природный окситоциновый препарат питуитрин (СПО-ФА). Методика специфична и дает возможность определить окситоциназовую активность и при наличии других аминопептидаз. Принцип метода: Питуитрин вызывает в аммиачных растворах трехвалентного кобальта волну. Волна после инкубации питуитрина с сывороткой в результате гидролиза гормона понижается. Мерой активности сывороточной окситоциназы является или разность высот волн неинкубационного и инкубационного образца, или индекс, выраженный долей высот волн до и после инкубации.

2. Полярографическую методику можно применить для определения беременности женщин; беременность можно таким образом установить приблизительно уже на 2—3 месяце.

3. Сыворотка крови животных содержит аминопептидазы, определяемые колориметрическими методами по установлению окситоциназы на основе хромогенных субстратов, выведенных от бета-нафтиламина. Активность этих аминопептидаз в сыворотке, в особенности цистинаминопептидазы, после повреждения печени овец в результате применения CCl_4 возрастает. Сывороточные аминопептидазы животных ни в одном случае не вызвали полярографически определяемого гидролиза питуитрина. Гидролиз питуитрина не произошел даже в том случае, когда цистинаминопептидаза в сыворотке овец повысилась в результате повреждения печени тетрахлорметаном.

Polarographic Determination of Oxytocinase and a Contribution to the Characteristics of Aminopeptidases

1. A polarographic method for the determination of the oxytocinase activity in the blood-serum was proposed and described. A natural oxytocine-preparation, pituitrin (SPOFA) was used as the substrate. The methodology is quite specific and enables to determine the oxytocinase activity even if other aminopeptidases are present. The principle of this method is as follows: Pituitrin renders a wave in ammoniacal solutions of the trivalent cobalt. The wave is lowering after the incubation of the pituitrin with the serum due to the hydrolysis of the hormone. Either the differences in the wave-height of the non-incubated and the incubated specimen, or the index expressed by the ratio of the wave-heights of specimens before the incubation and after it can be used as the measure of the serum oxytocinase activity.

2. The polarographic methodology may be used for the determination of pregnancy in women; pregnancy may be ascertained in this way starting from about the second or the third month of the gravidity.

3. The blood-sera of animals contain aminopeptidases that can be determined with the help of colorimetric methods used for the determination of oxytocinase

on the basis of chromogenous substrates derived from beta-naphthylamine. The activity of these aminopeptidases in the serum, especially of cystinaminopeptidase, increases after damaging the liver of sheep after the application of CCl_4 . The serum-aminopeptidases of animals did not cause in any case hydrolysis of pituitrin which could have been determined polarographically. Neither did hydrolysis of pituitrin set in even when cystinaminopeptidase in the serum of sheep had augmented due to the damage of the liver with tetrachlormethan.

Polarographische Bestimmung der Oxytozinase und Beitrag zur Charakteristik der Aminopeptidase

1. Es wurde die polarographische Methode zur Bestimmung der Oxytozinase-aktivität im Blutserum vorgeschlagen und beschrieben. Als Substrat wurde das Naturoxytozin-Präparat Pituitrin (SPOFA) benützt. Die Methodik weist eine Spezifität auf und ermöglicht die Oxytozinase-Aktivität auch während der Anwesenheit anderer Aminopeptidasen. Der Prinzip der Methode: Pituitrin bietet in den Ammoniak-Lösungen des dreiwertigen Kobalt eine Welle. Nach der Pituitrininkubation mit dem Serum infolge der Hormonhydrolyse wird die Welle herabgesetzt. Das Maß der Aktivität der Serum-Oxytozinase ist entweder ein Unterschied zwischen der Höhe der Wellen bei den nicht inkubierten und inkubierten Proben oder der Index, der das Anteil der Wellenhöhe der Proben vor der Inkubation und nach der Inkubation ausdrückt.

2. Die polarographische Methodik kann zur Feststellung der Gravidität bei Frauen benützt werden; Schwangerschaft kann man ungefähr vom 2.-3. Monate der Gravidität feststellen.

3. Im Blutserum der Tiere sind Aminopeptidasen, die man mittels der kolorimetrischen Methodiken zur Feststellung der Oxytozinase auf Grund der Chromogene-Substraten, die vom Beta-Naphtylamin abgeleitet sind, feststellen kann. Die Aktivität dieser Aminopeptidasen im Serum, speziell Zystinaminopeptidasen, nach der Beschädigung der Schafleber nach der CCl_4 -Applikation, erhöht sich. Die Serum-Aminopeptidasen bei Tieren haben in keinem Fall die polarographisch festzustellende Hydrolyse des Pituitrins verursacht. Die Hydrolyse des Pituitrins ist nichtmal in dem Falle eingetreten, wenn sich die Zystinaminopeptidase im Serum der Schafe infolge der Leberbeschädigung, mittels des Tetrachlormethans, vermehrt hat.

Adresa autorov:

Prof. MVDr. Michal Bartík, Eva Michnová, prom. vet. lek.,
VŠP, veterinárská fakulta, katedra chémie, biochémie a toxikológie,
Košice, Komenského 71

■ Zimní krmná dávka pro hospodářská zvířata, zejména skot, je v dnešní době nemyslitelná bez používání siláží.

Při přípravě a skladování siláží se dosud velmi často setkáváme s chybami, které jsou příčinou značných ztrát, jak na živinách, tak i na jejich biologické hodnotě.

Tato studie je zaměřena k problematice vitamínu C v různých druzích siláží.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Mnoho autorů ve svých publikacích vychází ze skutečnosti, že rostliny v době vegetace jsou bohatým zdrojem vitamínu C, který i v průběhu konzervace silážováním není zásadně ve své biologické hodnotě rušen (Zubrilin 1953, Nehring 1955, Kábrt, Labuda 1958).

S uvedeným názorem lze souhlasit pouze potud, pokud při silážování nenarůstá teplota přes 40° C. Silážování je pak výborným prostředkem k zachování vitamínu C v silážní hmotě. Probíhá-li ale silážování za vyšších teplot, jsou ztráty na obsahu vitamínu C výrazné. Vyplývá z toho, že příprava siláže tzv. způsobem „studeným“ je optimální k zajištění její biologické hodnoty (Zubrilin, Zafren 1951, Jambor 1955).

Ammon a Dirscherlem (1948) silážím v prevenci skorbutu nepřikládají větší význam, považují je spíše za krmiva vitamínem C chudá.

Jelikož další bližší údaje o obsahu vitamínu C a jeho kolísání v silážované hmotě jsou neucelené, bez souborného zpracování, předkládáme tuto práci.

MATERIÁL A METODIKA

Ke zjišťování obsahu vitamínu C v siláži bylo použito celkem dvanácti druhů krmiv, a to řepné cukrovarské řízky; řepné skrojky; řízky cukrovnické; kukuřice; kukuřice se slunečnicí; kukuřice se slunečnicí a peluškou; kukuřice se slunečnicí, jetelem a bramborami; zimní směska (vikev, pšenice, žito); řepné skrojky; řepné řízky se skrojky a kukuřičnou slámou; brambory s jetelem; bramborová siláž z pařených brambor.

Jednotlivé vzorky siláže byly odebírány v různých zemědělských závodech v příměstské oblasti brněnské, jednak z hloubky, přímo ze silážních jam, jednak z povrchové vrstvy. Vzorky k laboratornímu vyšetření byly odebírány nejdříve

za 6 týdnů po jejím uložení. V den odběru byly vzorky bezprostředně laboratorně zpracovány. Dále byl předmětem zájmu obsah kyseliny askorbové v siláži po 24 hodinách stání na vzduchu.

Vyšetřovaný materiál, před laboratorním zpracováním, byl smyslově posouzen a stanoveno potenciometricky pH. Podle výsledku smyslového vyšetření a hodnoty pH siláže byly jednotlivé vzorky zařazovány do pěti tříd jakosti, a to:

- Siláž velmi dobrá.
- Siláž dobrá.
- Siláž průměrná.
- Siláž špatná.
- Siláž nevhodná ke krmení.

Vlastní vyšetření obsahu kyseliny askorbové bylo provedeno titrační metodou s 2,6 dichlorfenolindofenolem uvedené v „J. A.M.“ čís. 4, vydaných MPP 2. 12. 1963; výsledky jsou uvedeny v mg %. Přesnost výsledku činí $\pm 10\%$. Bylo provedeno celkem 110 měření, opakovaně u každého vzorku pětkrát.

VÝSLEDKY

Dosažené výsledky jsou uvedeny v tabulkách I, II a III.

DISKUSE

Z výsledků je patrné, že nejvíce vitamínu C bylo zjištěno ve vzorcích siláže z řepných skrojků (9,02–11,98 mg %), z bramborů pařených s jetelem (9,13 mg %), z kukuřičné siláže se slunečnicí, bramborami a jetelem (7,19

I.
(Vzorky odebrány z vnitřní vrstvy)

Druh siláže	pH	Smyslové posouzení	KA v mg % od – do	průměrné množství KA v mg %
Řepné skrojky	4,38	průměrná	11,18 – 12,32	11,98
Řepné skrojky z řepy cukr.	4,40	průměrná	8,85 – 9,21	9,02
Řepné skrojky + řízky cukr.	4,62	průměrná	3,92 – 4,35	4,10
Řepné řízky cukr. + kukuřičná sláma + skrojky	4,10	dobrá	4,25 – 5,06	4,55
Řepné řízky cukr.	4,60	průměrné	1,21 – 1,32	1,24
Brambory pařené	4,64	dobré	3,97 – 4,32	4,17
Brambory pařené + jetel	4,35	dobré	8,56 – 9,84	9,13
Kukuřice	4,58	průměrná	2,84 – 3,02	2,93
Kukuřice + slunečnice	4,48	dobrá	3,86 – 4,12	3,94
Kukuřice + slunečnice + peluška	5,08	průměrná	3,08 – 3,48	3,25
Kukuřice + slunečnice + jetel + + brambory	4,16	velmi dobrá	6,98 – 7,32	7,19
Zimní směska (vikev + pšenice + žito)	4,30	průměrná	3,23 – 3,56	3,38

II.

(Vzorky z povrchové vrstvy)

Druh siláže	pH	Smyslové posouzení	KA v mg % od — do	Průměrné množství KA v mg %
Řepné skrojky z řepy cukrové	6,32	nezpůsobilá	0,97 — 1,25	1,13
Brambory pařené + jetel	4,76	nezpůsobilá	1,39 — 1,97	1,80
Kukuřice	6,25	nezpůsobilá	0,76 — 1,05	0,89
Kukuřice + slunečnice	6,62	nezpůsobilá	0,70 — 0,95	0,83
Kukuřice + slunečnice + jetel + + brambory	6,18	nezpůsobilá	1,83 — 2,12	2,00

III.

(Vzorky zpracovány po 24 hodinách stání při pokojové teplotě)

Druh siláže	pH	Smyslové posouzení	KA v mg % od — do	Průměrné množství KA v mg %
Řepné skrojky	4,38	průměrná	11,22 — 11,85	11,48
Skrojky z řepy cukrovky	4,38	průměrná	7,78 — 8,29	8,15
Kukuřice + slunečnice	4,93	průměrná	3,76 — 3,98	3,84
Zimní směska (vikev + pšenice + žito)	5,18	průměrná	2,75 — 2,91	2,81
Kukuřice	4,98	průměrná	2,61 — 2,88	2,72

mg %). Do skupiny chudé vitamínem C náleží především řepné řízky cukrovarnické (1,24 mg %), kukuřičná siláž (2,93 mg %), siláž ze směsi kukuřice, slunečnice a peluška s obsahem 3,25 mg % a siláže zimní směsky (3,38 mg %). Porovnáme-li kvalitu jednotlivých siláží je zřejmé, že se u jednotlivých vzorků jednalo o hodnotu průměrnou.

Souhlasně se Zubrilinem (1953), Nehringem (1955), Kábrtem a spol. (1958) je třeba na základě našich měření zdůraznit, že podstatný vliv na obsah vitamínu C v silážované hmotě má již základní plodina, z níž je siláž připravena, a také i řada faktorů dalších, jako je půdní složení, stáří rostliny, klimatické poměry a podobně. Jistý význam má i to, zda byla plodina silážována ihned po kosení, nebo zda došlo k zavadnutí zelené hmoty.

Zvláště výrazně se projevuje ztráta vitamínu C v silážní hmotě vedle druhové podmíněnosti vlivem oxidační aktivity, především v povrchových vrstvách, kde ve srovnání s hmotou z nitra silážní jámy úbytek představuje až 87,5 %. Průměrné C-vitamínové znehodnocení představuje v povrchových vrstvách ztrátu 77,7 %. Spolu s tímto ukazatelem je patrné i celkové znehodnocení, takže vzorky nebylo možno posoudit jako způsobilé ke krmení. Tato skutečnost je pravděpodobně výslednicí velmi pronikavého uplatnění — vedle oxydoredukčních vlivů fyzikálních — i vlivů biologických, jak o tom referují Zubrilin, Zafren (1951), Jambor (1955).

Dokladem pro toto konstatování je i třetí část našich pozorování, při kterých byl sledován vliv manipulace se silážní hmotou na ztrátu vitamínu C, která činí po 24hodinovém stání rozložené siláže na vzduchu pouze 8,2 %.

Z uvedeného je zřejmé, že především kvalitní silážovací proces je hlavním činitelem v zachování C-vitaminové hodnoty siláže, jak o tom referují Zubrilin, Zafren (1951). Rovněž lze po dalším hlubším propracování uvažovat o vitamínu C jako o indikátoru biologické hodnoty tohoto typu krmiva.

Z A V E R

Byl sledován obsah vitamínu C v různých druzích siláží s přihlédnutím ke ztrátám tohoto vitamínu, vzniklým při uložení.

Bylo zjištěno, že v průměrně kvalitních silážích se pohybuje obsah kyseliny askorbové od 1,24—11,98 mg %. Tento rozdíl je podmíněn především druhem silážované hmoty. Kvalitnější ze sledovaného hlediska se jeví hlavně siláže připravené z mladé zelené píce.

Nevhodné podmínky silážovacího procesu vedou ke snížení obsahu kyseliny askorbové až o 87,5 %.

Manipulace při přípravě siláže má rovněž vliv na ztrátu obsahu vitamínu C. V našem případě po 24 hodinách došlo ke snížení obsahu kyseliny askorbové o 8,2 %.

Došlo dne 28. 2. 1956

L i t e r a t u r a

AMMON R. - DIRSCHERL W.: Fermente. Hormone, Vitamine. Leipzig, str. 875, 1948. — JAMBOR V.: Siláže a jejich závady. Veterinářství, 1, 14, 1955. — KÁBRT J. - LABUDA J.: Výživa a zdraví hospodářských zvířat. 247 str., Slov. vyd. půdohosp. Bratislava, 1958. — NEHRING K.: Výživa zvířat a náuka o krmivách, 460 str., SVPL, Bratislava, 1955. — ZUBRILIN A. A. - ZAFREN S. J.: Vitaminy v živočišné výrobě, 48 str., Brázda, Praha 1951. — ZUBRILIN A. A.: Vědecké základy konserrování zelené píce, 311 str., SZN, Praha, 1953.

В и т а м и н С в некоторых видах силоса

Изучалось содержание витамина С в разных видах силоса с учетом потерь этого витамина, возникших при хранении силоса. Было установлено, что в среднечастотных силосах содержание аскорбиновой кислоты колеблется от 1,24 до 11,98 мг %. Эта вариантность вызвана прежде всего видом силосуемой массы. Более качественным силосом с точки зрения содержания витамина С оказался главным образом силос, приготовленный из молодого зеленого корма.

Неподходящие условия процесса силосования приводят к понижению содержания аскорбиновой кислоты даже на 87,5 %.

Манипуляция при приготовлении силоса также влияет на потери витамина С. В нашем случае спустя 24 часа содержание аскорбиновой кислоты понизилось на 8,2 %.

Vitamin C in Some Sorts of Ensilage

The content of vitamin C in different sorts of ensilages was investigated with regard to the losses of this vitamin resulting from the storing. The content of ascorbic acid was ascertained to vary in ensilages of average quality between 1.24 and 11.98 mg%; this difference is dependent, above all, on the kind of the ensilaged mass. From the following point of view, mainly the ensilages prepared from young grass appear to be of better quality.

Unfavourable conditions during the ensilaging process result in diminishing the content of ascorbic acid as much as by 87.5 %. The manipulation in the preparing of the ensilage also influences the losses of vitamin C content. In our experiment the ascorbic acid content was lowered by 8.2 % after 24 hours.

Vitamin C in einigen Silagenarten

Es wurde der Gehalt des Vitamin C in verschiedenen Silagensorten mit Berücksichtigung der Verluste dieses Vitamins, die durch die Aufbewahrung verursacht wurden, verfolgt. Es wurde festgestellt, daß sich in den durchschnittlich guten Silagen der Gehalt an Ascorbinsäure in der Menge von 1,24–11,98 mg% bewegt. Dieser Unterschied ist vor allem durch die Sorte der Silagenmasse bedingt. Vom verfolgten Standpunkt ergibt sich, daß die aus jungem Grünfutter vorbereiteten Silagen eine bessere Qualität aufweisen.

Ungünstige Bedingungen des Silagierungsprozesses führen zur Herabsetzung des Ascorbinsäuregehaltes bis um 87,5 %.

Die Manipulation bei der Vorbereitung der Silage übt ebenfalls einen Einfluß auf die Verluste des Vitamin-C-Gehaltes ein. In unserem Falle kam es nach 24 Stunden zu einer Herabsetzung des Gehaltes an Ascorbinsäure um 8,2 %.

Adresa autorů:

MVDr. Jiří Dvořák, MVDr. Václav Jambor,
VŠZ, veterinární fakulta, katedra výživy a dietetiky,
Brno, Palackého 1-3

■ Sledovanie vnútorného prostredia organizmu má dôležitý význam vo veľkochovoch hospodárskych zvierat. Vnútorné prostredie odzrkadľuje, i keď do určitej miery rozdielne a opoždene, vplyvy vonkajšieho prostredia a následky rôznych chorobných stavov a umožňuje pri jeho systematickom sledovaní odhaliť určité metabolické poruchy pri ochoreniach alebo kvalitatívnej a kvantitatívnej podvýžive.

Predpokladom pre zistenie väčšinou jemnejších úchyliet biochemických ukazateľov v organizme je znalosť fyziologických noriem, ktoré závisia na veku, pohlaví a môžu byť ovplyvnené aj špecifickými faktormi prostredia (lokality), ako sú zloženie pôdy, klimatické vplyvy a pod.

Ak napr. u hovädzieho dobytku je v domácej a zahraničnej literatúre dnes už celý rad správ, sú údaje o hodnotách makroelementov u oviec ešte veľmi skromné a neúplné. Navyše domáce údaje sú získané na malých počtoch zvierat, v dôsledku čoho sa dajú použiť iba orientačne. Údaje literatúry o hodnotách minerálie v krvnom sére u oviec zhrňuje tabuľka I.

Týmto zdeleníím chceme nadviazať na predchádzajúcu prácu (V r z g u l a a kol. 1965), v ktorej boli zhrnuté výsledky štúdia minerálie v krvnom sére jahniat.

MATERIÁL A METODIKA

Pozorovania sa vzťahujú na 326 klinicky zdravých oviec plemena merino, a to 82 jariet, 215 oviec 2—5ročných a 29 baranov 2—4ročných, zo spoločného chovu JRD M. Vyšetrenia boli prevedené v mesiacoch september—október u zvierat ešte na pastve.

Krv k analýzám bola odoberaná v ranných hodinách obvyklým spôsobom z *vena jugularis* a v sére sa stanovoval vápnik a horčík komplexometrickou metódou (V r z g u l a 1960), fosfor kolorimetricky (H o ř e j š í a kol. 1957) a sodík a draslík plameňofotometrickou metódou (V r z g u l a 1961). Štatistické vyhodnotenie výsledkov sa previedlo metódou Studentovho t-testu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Výsledky sú zhrnuté v tabuľke II.

Koncentrácia sodíka u jariet a baranov bola rovnaká (357 mg %) a u oviec o 3 mg % v priemere nižšia (354 mg %); rozdiel nie je štatisticky významný.

I. Hodnoty makroelementov v mg % v krvnom sére oviec podľa jednotlivých autorov

	Na	K	Ca	P	Mg
Příbyl (1933)	195,60 — 304,18	18,11 — 28,30	7,16 — 8,14	2,93 — 9,13	1,00 — 2,74
Malý (1935)					1,74 (1,00 — 2,20)
D'Ans, Lax (1943)	320	20,0	8,0	3,2	2,5
Becker, Smith (1950)			11,5 ± 0,17		
Crookshank a kol. (1952)			11,26 ± 0,57		
Ionov a kol. (1952)			11,7		
Ewans (1957)			18,6		
Hackett a kol (1957)			12,16		
Kaiser, Cummings (1958)					
Clark (1959)	338	15,6			
	331,3	18,8			
	(317,3 — 344,8)	(16,0 — 21,5)			
Šimek (1959)	381	26,9	11,1		
	(352 — 407)	(21,4 — 34,8)	(8,5 — 13,0)		
Charton a kol. (1960)			10,0	5,8	2,9
Begovic, Prolic (1961)			9,9 ± 0,62		
Glenn a kol. (1963)	342	20,1	10,23	6,63	
	(272 — 383)	(15,6 — 23,8)	(8,9 — 11,4)	(4,0 — 8,8)	
Juszkiewicz (1964)	358,39 ± 2,80	28,87 ± 0,64	12,03 ± 0,13	7,15 ± 0,12	2,69 ± 0,05
Vrzgula a kol. (1965)	379	21,4	10,22	4,6	2,42
	(284 — 440)	(17,1 — 27,0)	(8,88 — 11,52)	(2,9 — 7,4)	(1,94 — 3,01)

II. Hodnoty minerálií v mg % v krvnom sére oviec

		Na	K	Ca	P	Mg
ovce 2—5 ročné 215 kusov	$\bar{x}$	354	22,2	10,80	5,35	2,55
	$s \pm$	20,51	2,01	0,735	1,090	0,353
	$s\bar{x} \pm$	1,419	0,137	0,050	0,076	0,028
	min.	284	18,5	8,40	3,1	1,55
	max.	396	29,5	12,96	8,7	3,62
jarky 10 mesačné 82 kusov	$\bar{x}$	357	23,1	10,80	5,86	2,61
	$s \pm$	15,13	1,73	0,697	1,003	0,215
	$s\bar{x} \pm$	1,671	0,191	0,077	0,111	0,024
	min.	304	19,6	9,60	3,8	1,60
	max.	382	26,7	12,60	8,8	3,28
barany 2—4 ročné 29 kusov	$\bar{x}$	357	22,6	10,60	6,30	2,24
	$s \pm$	23,73	2,29	0,752	0,740	0,514
	$s\bar{x} \pm$	4,410	0,425	0,140	0,332	0,230
	min.	312	18,7	9,60	5,6	1,74
	max.	392	27,8	12,30	7,4	2,91

Hladina draslíka bola najvyššia u jariet (23,1 mg %), nižšia u baranov (22,6 mg %) a najnižšia u oviec (22,2 mg %). Rozdiel hodnôt obsahu draslíka u jariet a oviec je signifikantný ($p > 0,005$).

U vápnika boli zaznamenané v podstate rovnaké hodnoty u oviec, jariet (10,80 mg %) a baranov (10,60 mg %).

Obsah fosforu bol najvyšší u baranov (6,3 mg %), potom u jariet (5,86 mg %) a najnižší u oviec (5,35 mg %). Štatistická priekaznosť hodnôt bola zistená u oviec a baranov ($p > 0,05$) a u oviec a jariet ($p > 0,005$).

Najvyššie hodnoty horčíka sme zistili u jariet (2,61 mg %), nižšie u oviec (2,55 mg %) a najnižšie u baranov (2,24 mg %); rozdiel je štatistický významný len u hodnôt jariet a baranov ($p > 0,005$).

Literárne údaje o hodnotách minerálií v krvnom sére oviec sa vzťahujú u nás na malý počet vyšetrení a treba ich pokladať za orientačné. Napr. Pribyl (1933) uvádza hodnoty od 8. a Malý (1935) dokonca len od 5. kusov oviec. Hodnoty u 15. oviec, získané z pravidelných mesačných odberov počas 1,5 roka sme uviedli v predchádzajúcej práci (Vrzgula a kol. 1965) a sú až na sodík a fosfor veľmi blízke hodnotám uvádzaným v tabuľke II. Menšie rozdiely vyplývajú azda z rozdielného spôsobu výživy (suché krmivo, pastva). Podstatnejšie rozdiely v obsahu sodíka a draslíka však v závislosti na skladbe krmnej dávky, prípadne ročného obdobia nezaznamenal tiež Clark (1959). Nami zistené hodnoty vápnika a fosforu sa skoro zhodujú s hodnotami uvádzanými Chartonom a kol. (1950) a Millom a Begliominom (1960).

Výsledky vyšetrení ukazujú, že hladiny minerálií v krvnom sére až na fosfor sú u jariet vyššie než u oviec a baranov, aj keď všetky rozdiely nie sú štatisticky priekazné. Vyššie hladiny u jahniat než u dospelých oviec zaznamenali tiež

Ziborova (1964), Vrzgula a kol. (1965) a Charton a kol. (1950, 1961), ktorí okrem toho zistili aj vyššie hodnoty horčika u jahniat počas pastvy. Či a do akej miery vplýva pohlavný dimorfizmus na hladiny minerálie v krvnom sére oviec bude vyžadovať ešte ďalšieho štúdia.

SÚHRN

V práci sa uvádzajú hladiny sodíka, draslíka, vápnika, fosforu a horčika v krvnom sére 215 dospelých oviec, 82 jariet a 29 plemenných baranov plemena merino počas pastvy. Číselné výsledky obsahuje tabuľka II.

Došlo dňa 9. 3. 1966

Literatúra

1. BECKER D. E., SMITH S. E.: Chemical and morphological study of normal sheep blood. = "Cornell Vet." 40, 1950 : 350-356. — 2. BEGOVIC S., PROLIC I.: Content of phosphorus and calcium in the serum of Hereford calves and cows as well as of lambs and sheep bread on the Region of Rilic. = "Vet. (Sarajevo)". 10, 1961 : 25-23. — 3. CLARK R.: A study of the plasma sodium and potassium levels in normal merino sheep. = "Onderstepoort J. Vet. Res." 28, 1959 : 229-235. — 4. CROOKSHANK H. R., CALIHAM M. R., GALVIN M. R.: Serum alkaline phosphatase activity in cows and ewes on winter wheat pastures. = "J. Anim. Sci.", 11, 1952 : 560-565. — 5. D'ANS J., LAX E.: Taschenbuch für Chemiker und Physiker. Berlin, 1943, 1743 s. — 6. EWANS J. W.: The stability of the potassium concentration in the erythrocytes of individual sheep compared with the variability between different sheep. = "J. Physiol." 136, 1957 : 41-59. — 7. GLENN T., HOUSHOLDER B. S., DOLLAHITE J. W., DONALD L.: West Texas Range Sheep: Some normal blood constituents. = "Reprint from the Southwestern Veterinarian" 16, 1963 : 1-4. — 8. HACKETT P. L., GAYLOR D. W., BUSTARD L. K.: Blood constituents in Suffolk ewes and lambs. = "Am. J. Vet. Res." 18, 1957 : 338-341. — 9. HOŘEJŠÍ J., KANDRÁČ M., MICHALEC Č., SLAVÍK K.: Základy chemického vyšetřování v lékařství. Praha, 1957, 366 s. — 10. CHARTON A., FAYE P., HERVY A., LEFRANCOIS C.: = "Réc. Méd. vét." 136, 1960 : 143-159. — 11. CHARTON A., FAYE P., HERVY A.: Etude comparative, entre "agneaux d'herbe", des taux de quelques constituants-minéraux du sérum, de la naissance à l'âge de six mois. = "Rec. Méd. vét." 137, 1961 : 813-833. — 12. IONOV N. S., MUCHIN V. G., FEDOTOV A. J., ŠARABRIN I. G.: Laboratornyje issledovaniya v veterinarnoj kliničeskoj diagnostike. Moskva, 1952, 95 s. — 13. JUSZKIEWICZ T.: Niektóre wskaźniki biochemiczne u dorosłych owiec. = "Med. Wet." 20, 1964 : 558-559. — 14. KAISER I. H., CUMMINGS J. N.: Plasma electrolytes of the pregnant ewe and fetal lamb. = "Am. J. Physiol." 193, 1958 : 627-633. — 15. MALÝ F.: Obsah magnesia v krevním séru skotu, ovcí a vepřů za poměru fyziologických a patologických. = "Klinické spisy Vysoké školy zvěrolékařské", 12, 1935 : 39-80. — 16. MILLO A., BEGLIOMINI A.: Il rapporto tra calcio del liquor e calcio totale dal siero di pecora. Influenza del parahormone della vitamina D₂ del diutrotachisterolo e degli estrogeni. = "Arch. veterin. ital." 11, 1960 : 199-204. — 17. PŘIBYL E.: Obsah elektrolytů v krevním séru ovcí a koz a v krevním séru krav při některých chorobách, zejména chorobách v době gravidity a puerperia. = "Zvláštní otisk ze Zvěrolékařských rozprav" 7, 1933 : 7-15. — 18. ŠIMEK M.: Hladiny Na, K, Ca v krvnom sére oviec pri kŕmení objemovými hospodárskymi krmivami. Diplomová práca. Košice, 1959. — 19. VRZGULA L.: Komplexometrické stanovenie vápnika a horčika v krvnom sére domácich zvierat pomocou nového indikátora — metyltymolovej modrej. = "Vet. časopis" 9, 1960 : 432-438. — 20. VRZGULA L.: Sodík, draslík a vápník v krvnom sére klinicky zdravého hovädzieho dobytku. Kand. diz. práca. Košice, 1961, 73 s. — 21. VRZGULA L., GDOVIN T., BARTKO P., MIKLÚŠIČÁK R.: Niektoré biochemické ukazovatele v krvnom sére a krvný obraz jahniat. = "Živočišná výroba" 10, 1965 : 631-638. — 22. ZIBOROVA V. P.: Nekotorye biochemičeskie pokazateli krovi merinosovyh podsosnyh jagnijat. = "Veterinarija" 41, 1964 : 74-76.

Содержание натрия, калия, кальция, фосфора и магния в сыворотке крови у овец

В работе приводится уровень натрия, калия, кальция, фосфора и магния в сыворотке крови 215 взрослых овец, 82 ярок и 29 баранов-производителей породы мериносов в период пастбы. Цифровые результаты содержатся в таблице II.

Content of Na, K, Ca, P, and Mg in the Blood-Serum of Sheep

In the present paper there are being given the levels of Na, K, Ca, P, and Mg in the blood-serum of 215 mature sheep, of 82 gimmers, and of 29 breeding rams of the merino breed, during the grazing season. The numeral results are shown in table No. II.

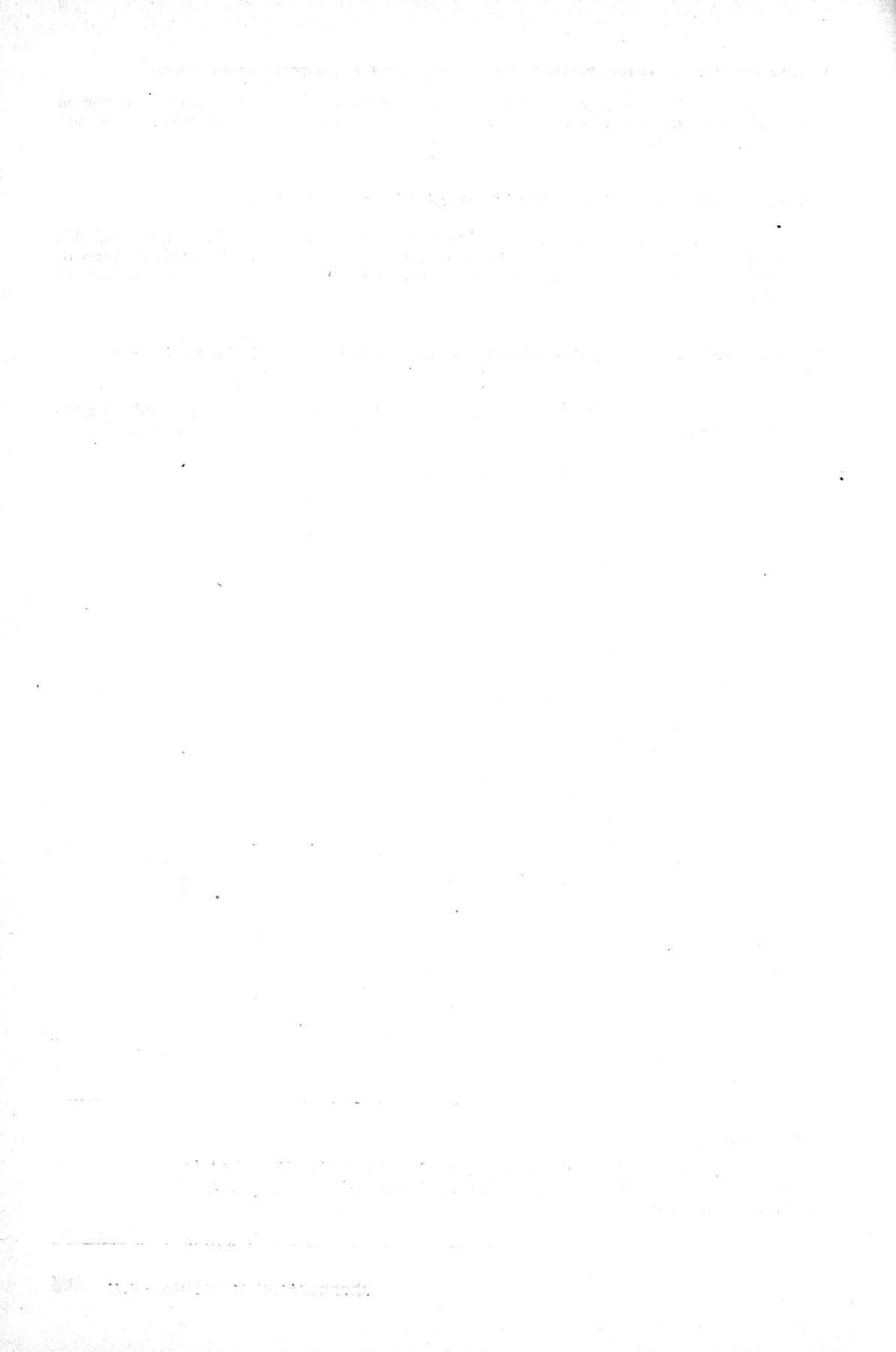
Der Natrium-, Kalium-, Kalk-, Phosphor- und Magnesiumgehalt im Blutserum der Schafe

In der Arbeit wurde das Natrium-, Kalium-, Kalk-, Phosphor- und Magnesium-Niveau im Blutserum bei 215 erwachsenen Schafen, 82 Lämmern und 29 Zuchtschafböcken der Merino-Rasse während der Weide angeführt.

Die numerischen Ergebnisse enthält die Tabelle II.

Adresa autorov:

Doc. MVDr. Leopold Vrzgula, CSc., prof. MVDr. Tomáš Gdovin,
VŠP, veter. fakulta, katedra vnútorných chorob párnokopytníkov,
Košice, Komenského 71



■ Potreba presne definovať podmienky pokusu nevyhnutne vyžaduje kŕmenie experimentálnych zvierat stravou o známom zložení. Úroveň dnešného výskumu sotva dovolí výskumnému pracovníkovi voľne kŕmiť obilím a zeleninou. Pre pokusy v oblasti látkovej premeny nestačí ani prirodzená strava o známom zložení (Larsenova pre krysy [napr. 21], Lundeho pre morčatá [napr. 7] a rôzne iné [9, 12, 10, 23, 13, 22]). Obsah účinných látok i v takýchto typoch potravy je vystavený značným výkyvom.

Syntetická, chemicky presne definovateľná potrava najlepšie vyhovuje nutričným a metabolickým pokusom, ktoré majú sledovať vplyv nedostatku alebo nadbytku niektorých živín. Takáto strava umožňuje jednoduchú manipuláciu pri potrebných presunoch množstva živín v experimente. Použitie niektorého z typov syntetickej stravy, známych z prác zahraničných autorov, naráža v našich podmienkach na nedostatok niektorých chemikálií (najmä vzácnejších vitamínov zo skupiny B). Veľkovýroba odborne pripravovaných rozličných druhov peletizovanej potravy pre pokusné zvieratá nie je u nás ešte zavedená.

Na základe údajov odbornej literatúry zostavili sme dva typy polosyntetickej stravy, pre krysy a morčatá. V tejto potrave sme nahradili niektoré u nás ťažko dostupné vitamíny skupiny B sušenými kvasnicami. Jedinou ťažko definovateľnou zložkou takejto potravy sú kvasnice, ktoré však pri krátkodobých pokusoch možno vypustiť.

Predkladáme zloženie nami používaných a osvedčených typov polosyntetickej stravy, ako i výsledky pokusu s dlhodobým kŕmením krýs a morčiat touto potravou.

METODICKÁ ČASŤ

Pre pokusy na krysách používali sme potravu následovného zloženia a kalorickej hodnoty:

Substrát	a		
	Váh. podiel	Kalor. podiel	% kaloric. hodnoty
kazein	200 g	678 Kal	20,28 %
fortifikovaný škrob	640	2080	62,20
fortif. slnečnicový olej	60	521	15,58
solná zmes	40	—	—
mletá celulóza	40	—	—
sušené kvasnice	20	65	1,94
spolu	1000 g	3344 Kal/1000 g	100,0 %

Fortifikácia škrobu: príslušné množstvo zemiakového alebo kukuričného škrobu dokonale rozmiešať s piatimi rozdrvenými draže B-komplexu Spofa, s 0,01 g kyseliny p-aminobenzoovej, s 3 mg kyseliny listovej a s 0,75 g cholinu.

Fortifikácia slnečnicového oleja: príslušné množstvo slnečnicového oleja sa zmieša s 0,5 ml Vitamínu AD Spofa, jednou ampulkou Vitamínu K Spofa (1 ml 1% roztoku) a 2 ml Erevitu Spofa (50 mg v 1 ml).

Zloženie soľnej zmesi Osborne (9):

b					
CaCO ₃	134,8	K Al(SO ₄) ₂	0,024 g	H ₃ PO ₄ : 60%	103,20 g
MgCO ₃	24,2	K ₂ CO ₃	143,30	H ₂ SO ₄ : 96%	9,20
Na ₂ CO ₃	34,2	HCl 36%	53,40	kys. citro- nová	111,10
KJ	0,02	MnSO ₄	0,08	citronan	
NaF	0,024			železitý	6,34

Soľnú zmes vzniklú zmiešaním uvedených látok treba pred priemiešaním do stravy zhomogenizovať na jemný prášok. Pri nedostatku citronanu železitého možno použiť chlorid železitý v príslušnom prepočte.

Ako zdroj celulózy nám slúžila chemicky čistá papierová vata, jemne pomletá. Pivovarské kvasnice sme sušili na väčšej ploche pri teplote asi 60° C. Výhodnejšie je použiť vákuovú sušiareň.

Pri príprave stravy najprv miešame s kazeinom fortifikovaný olej, potom fortifikovaný škrob, práškované suché kvasnice, soľnú zmes a až napokon mletú celulózu. Dôkladné rozmiešanie stravy je nevyhnutnou podmienkou.

Podľa prepočtu takto pripravená strava obsahuje približne 0,01 g vitamínu B₁, 0,01 g vitamínu B₂, 0,005 g pyridoxínu, 0,015 g kalcium pantotenátu, 0,1 g nikotínamidu, 25 000 m. j. vitamínu A, 5 000 m. j. vitamínu D, 0,01 g vitamínu K a 0,1 g vitamínu E. Dávky kyseliny p-aminobenzoovej, listovej a cholinu sú uvedené v rozpise stravy. Živiny dodané kvasnicami nie sú započítané. Obsah vitamínov plne kryje nároky, aké sa udávajú i pre rastúce krysy (25). Dennú spotrebu potravy možno približne odhadnúť z kalorickej hodnoty potravy na základe dennej kalorickej potreby krýs, ktorá predstavuje u dospelých zvierat v pokojnom stave 110–140 Kal na kilogram telesnej váhy (24).

Pre pokusy na morčatách používame túto stravu:

c			
Substrát	Váh. podiel	Kalor. podiel	% kaloric. hodnoty
kazein	300 g	1017 Kal	35,35 %
škrob	300	975	33,89
fortifikovaný prášk. cukor	118	472	16,41
celulóza mletá	150	—	—
fortifikovaný slnečný olej	40	348	12,10
soľná zmes	40	—	—
sušené kvasnice	20	65	2,25
octan draselný	25	—	—
kysličník horečnatý	5	—	—
cholin	2	—	—
spolu	1000 g	2877 Kal/1000 g	100,0 %

Za účelom zaistenia nutného prívodu vitamínu C sondovali sme denne morčatám vodný roztok, obsahujúci 5 mg vitamínu C pre jedno zviera.

Fortifikácia cukru: práškový cukor pred pridaním ku ostatnej zmesi dôkladne rozmiešať s 10 rozdrvenými dražé B-komplexu Spofa. K množstvu cukru, uvedenému v tabuľke sa ďalej primieša 0,1 g kyseliny p-aminobenzoovej, 6 mg kyseliny listovej a 8 rozdrvených tabliet Vitamínu B₁₂ Spofa.

Fortifikácia zásobného množstva slnečnicového oleja: ku 400 g čerstvého slnečnicového oleja primiešame 0,12 g Beta karoténu (Hoffman — La Roche), dve ampulky Vitamínu K Spofa (2 ml 1% roztoku), 5 ml Erevitu forte Spofa (1250 mg) a 10 ml Vitamínu AD Spofa. Uskladňujeme v tme a v chladničke.

Pre morčatá použili sme Wessonovu modifikáciu Osborne-Mendelovej soľnej zmesi (8):

d

CaCO ₃	21,0 g	FePO ₄	1,47 g
KH ₂ PO ₄	31,0	MnSO ₄ (bezvodý)	0,02
Ca ₃ (PO ₄) ₂	14,9	CuSO ₄ · 5 H ₂ O	0,039
K Cl	12,0	Na F	0,057
NaCl	10,5	K Al(SO ₄) ₂	0,009
MgSO ₄ (bezvodý)	9,0	K J	0,005

Príprava kvasníc, celulózy ako i postup pri miešaní stravy sú obdobné ako u stravy pre krysy.

Hotová strava pre morčatá obsahuje v 1000 g približne dvojnásobné množstvá faktorov B-komplexu, než to isté množstvo krysej stravy. Ďalej obsahuje 40 gama vitamínu B₁₂, 500 000 m. j. vitamínu A, 100 000 m. j. vitamínu D, 1250 mg vitamínu E a 0,02 g vitamínu K. Dávky kyseliny p-aminobenzoovej a listovej sú uvedené v rozpise stravy. Živiny dodané kvasnicami nie sú započítané. Sušina pripravenej nenavlhčenej stravy je približne 95 %.

Dennú spotrebu potravy pre morčatá možno približne odhadnúť z kalorickej hodnoty potravy na základe dennej kalorickej potreby morčiat, ktorá je u dospelých zvierat v pokojnom stave 60—80 Kal/kg váhy (24). V bilančnom pokuse sme zistili, že denná spotreba uvedenej stravy u morčiat 300 g ťažkých kolísala medzi 20—25 g na jedno zviera.

Sypkú stravu možno pred podaním mierne navlhčiť, alebo vzniklú cestovitú hmotu vyvaľkať do vrstvy asi 1 cm hrubej a usušiť po rozrezaní na štvorce (približne 50° C po dobu 24 hodín). Takto získame tvrdé pelety, ktoré sú pre výživu hlodavcov výhodnejšie, než cestovitá hmota.

Nutričnú hodnotu príslušnej stravy sledovali sme kŕmením bielych krýs výlučne touto stravou po celý čas v priebehu troch generácií. Každá generácia predstavovala na začiatku desať zvierat (samce ku samiciam 1 : 1). V prvej generácii začali sme pokus s trojmesačnými krysami. V druhej a tretej generácii sledovali sme váhovú krivku od 50. dňa života. V každej generácii zaznamenávali sme po dobu 182 dní každý týždeň váhové krivky, ďalej počet narodených mláďat. Ako kontrolná skupina slúžili krysy chované v identických podmienkach tzv. Larsenovou stravou, ktorú sme pripravovali podľa tohto predpisu:

e

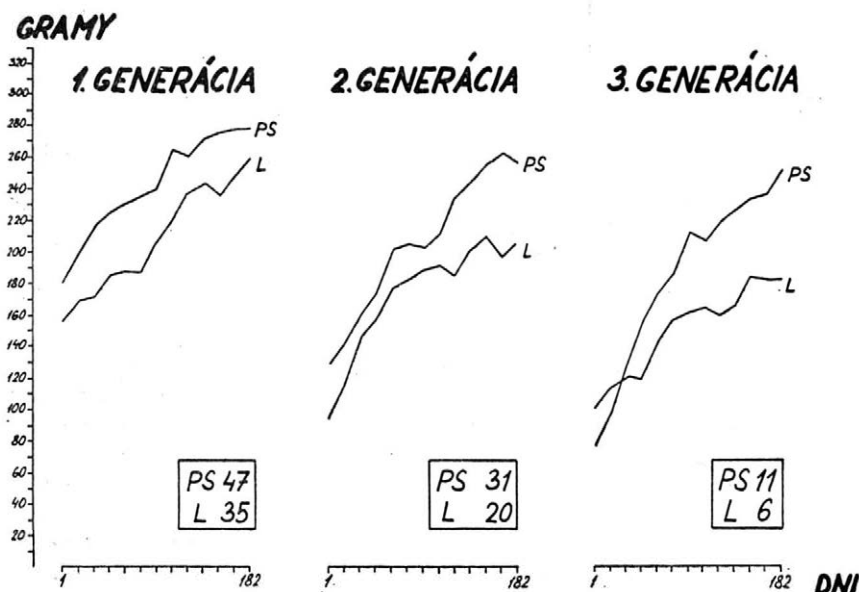
pšeničný šrot	57,14 %	CaCO ₃	1,47 %
sušené mlieko	17,51	margarín	4,61
kazein	15,67	rybí tuk	0,65
lucerna	2,77	NaCl	0,18
		spolu	100,0 %

Do pokusu sme nasadzovali u oboch typov stravy zvieratá rovnako staré. Stravu a vodu dostávali zvieratá *ad libitum*. Váhovú krivku uvádzame v priemeroch z dvoch po sebe nasledujúcich vážení.

Polosyntetickú stravu pre morčatá, ktorú uvádzame vyššie, sledovali sme po dobu 8–9 mesiacov v porovnaní s Lundeho diétou, obohatenou C vitamínom. Vzhľadom na nedostatok ustajňovacieho priestoru sme generačný pokus u morčiat nepreviedli.

VÝSLEDKY

Graf 1 znázorňuje priebeh váhových kriviek u krýs chovaných polosyntetickou a prirodzenou stravou po tri generácie. Úhrnom reprezentuje pokus trvajúci takmer jeden a pol roka.



Graf 1.

Priebeh váhových kriviek u krýs na polosyntetickej (PS) a prirodzenej, tzv. Larse-ovej (L) strave po tri generácie. V rámikoch uvedený počet živonarodených mláďat v priebehu pokusu.

Vo všetkých troch generáciách váhová krivka krýs chovaných polosyntetickou stravou je vyššia, má strmší a pravidelnejší priebeh. Rozdiel váhových kriviek medzi krysami na prirodzenej a polosyntetickej strave na konci pokusu je štatisticky významný v druhej ($P < 0,05$) a v tretej generácii ($P < 0,01$), v prvej generácii nie je preukazný. Nižšie počiatkové hodnoty váhovej krivky v druhej a tretej generácii boli spôsobené tým, že váhovou krivku uvádzame od mladších zvierat, než v prvej generácii. I napriek tomu však krysy na polosyntetickej strave ku koncu pokusu takmer dosiahli váhu starších zvierat prvej generácie. Pozoruhodný je prudký rast prezrádzaný strmou váhovou krivkou krýs tretej generácie, ktoré dostávali polosyntetickú stravu.

Údaje vyznačené na grafe v rámkoch uvádzajú počet živonarodených mláďat u zvierat každej generácie v priebehu polročného pokusu. Uvádzame príslušnú generáciu zvierat (rímska číslica), za ňou v zátvorke počet mláďat na jeden vrh:

Polosyntetická strava:

- I. (9, 12, 7, 13, 6)
- II. (7, 10, 5, 9)
- III. (3, 8)

Larsenova strava:

- I. (10, 4, 6, 10, 5)
- II. (11, 9)
- III. (6)

Z uvedených hodnôt je zrejmä lepšia plodnosť zvierat chovaných polosyntetickou stravou. Postupný pokles plodnosti u ďalších generácií zvierat na oboch sledovaných typoch stravy si vysvetľujeme chovnými podmienkami. Zvieratá nevykazovali žiadne známky nutričnej karence, ani iné odchylky pri pitvách, v biochemických alebo histologických analýzach. Hynutie kryš v priebehu pokusu bolo veľmi malého rozsahu (maximálne jedno zviera z desaťčlennej generácie — väčšinou vzájomne spôsobené poranenia) a jeho výskyt u oboch typov stravy približne rovnaký.

Polosyntetická strava pre morčatá sa nám plne osvedčila v pokusoch trvajúcich približne tri štvrté roka. Na konci pokusného obdobia dosahovali morčatá chované touto stravou váhu 700—1000 gramov. Váhové krivky morčiat na tejto strave boli vyrovnané a mali taký priebeh, ako u morčiat na prirodzenom type stravy. Zvieratá boli normálne čo do zjavu i telesnej aktivity. U morčiat kŕmených touto stravou sme nezistili žiadne biochemické alebo histologické odchylky od normy, ktoré by bolo možno pripísať strave.

Výsledky nášho pokusu potvrdzujú vyššiu biologickú hodnotu polosyntetickej stravy pre krysy, než má bežne užívaná tzv. Larsenova strava. I domáce práce uvádzajú, že Larsenovou stravou možno dosiahnuť optimálne výsledky až po jej umelej fortifikácii vitamínmi a solnými zmesami.

DISKÚSIA

Väčšina literatúrou popisovaných stráv obsahuje kazein ako zdroj aminokyselín, rastlinný olej o vyššom jódovom čísle ako zdroj esenciálnych mastných kyselín a škrob ako glycidovú zložku. Nie je dosiaľ bezpečne zistené, či pokusné zvieratá majú diferencované nároky i čo na druhy prijímaných glycidov. U morčiat sa nám lepšie osvedčilo, ak sme časť sacharózy v glycidovej dávke nahradili škrobom. Podávať cukor ako jediný zdroj glycidov považujeme za neprirodzené.

Dávka kazeinu v množstve 30 % potravy považuje sa pre krysy a morčatá za dostačujúcu (Reid, M. E., Briggs, G. M. 1953). Ak klesne prívod kazeinu pod 12 %, objavujú sa u krysy príznaky deficitu aminokyselín (napr. strata srsti). Pre cilivejšie vitaminologické a endokrinologické pokusy treba kazein zbaviť i minimálneho množstva vitamínov a extrahovať ho horúcim alkoholom.

Prívod dostatočného množstva esenciálnych mastných kyselín stravou je nevyhnutný, pretože inak sa dostavia príznaky z nedostatku týchto látok (napr. spomalenie rastu, vypadávanie srsti, *dermatitis* — Reid, M. E. 1954, Reid M. A., Martin, M. G. 1959). Ak sa kryje potreba esenciálnych mastných kyselín, zdá sa, že krysy dobre prosperujú i bez tuku v strave.

Väčšmi sa rozchádzajú údaje týkajúce sa ostatných zložiek potravy. Popisujú sa rôzne typy solných zmesí (Wesson, Hegsted, Hawk Oser, Mc Collum, Hubbel a Mendel), líšiac sa pomerným zastúpením minerálnych látok. Vo výžive morčiat veľký význam sa pripisuje draslíku a horčičku (Roine, P. A., Booth, A. N. 1949). Pokusné zvieratá nevyhnutne potrebujú dostatočný prívod sodíka, vápnika, fosforu a chloridov.

Zdá sa byť pravdepodobné, že potreba rôznych druhov vitamínov kolíše podľa druhu pokusných zvierat (Reid, M. E., Briggs, G. M. 1953). Morčatá sú chúlitivejšie na dostatočný prívod vitamínu A než krysy, pretože ich tkanivové depoty

nevedia tento vitamín tak účinne skladovať. Potreba beta-karoténu u dospelých krýs sa uvádza 0,01 mg/kg váhy (Albritton, E. G. 1954). U morčiat na prirodzenej strave potreba vitamínu A býva dostatočne krytá prívodom karoténu. Umelá strava morčiat musí zaistiť prísun vitamínu A (2–6 mg na kg váhy denne – Bentley, L. S., Morgan, A. F. 1945). Prepočet: jedna m. j. = 0,344 gama vitamínu A acetátu. Potrebu vitamínu E pre dospelé morčatá uvádzajú rozni autori ako 3 mg denne, pre krysy 1,5 mg na kg váhy denne (Albritton, E. G. 1954). Dávka vitamínu K, potrebná pre morčatá a krysy, nie je ešte známa.

Morčatá odlišujú sa od krýs i v potrebe vitamínu C, ktorý si nevedia (až na ojedinelé výnimky – Ginter, E. 1958) syntetizovať. Ako ochranná antiskorbútická dávka uvádza sa obvykle 0,5–1,0 mg askorbovej kyseliny na morča denne, niektorí autori však odporúčajú dennú dávku 2 až 20 mg na 100 g váhy denne. Ak sa vitamín C nepodáva morčatám sondou *per os*, odporúčame aspoň 2 g askorbovej kyseliny na 1000 g stravy.

Dávky tiamínu, riboflavínu, pyridoxínu, pantotenovej kyseliny a nikotinamidu v nami použitých stravách zodpovedajú potrebe krýs a morčiat, ktorú stanovili rozni autori pomocou karenčných príznakov, vyvolaných deficitnými diétami. Mladé morčatá potrebujú vyšší prívod pantotenovej kyseliny (15–20 mg na kg potravy), staršie zvieratá si asi čast pantotenovej kyseliny syntetizujú v tráviacom trakte (Reid, M. E., Briggs, G. M. 1954). Na rozdiel od krýs sú morčatá, najmä v mladom veku, citlivé na nedostatok listovej kyseliny, ktorej chýbanie môže v krátkom čase vyvolať chorobné príznaky (Reid, M. E., Martin, M. G. 1959). Krysy, ktoré majú dostatočný príjem bielkovín, údajne listovú kyselinu nepotrebujú (Kornberg, A., Daft, F. S. 1946). Aby sa predišlo chorobným zmenám, má strava morčiat obsahovať 3 až 6 mg listovej kyseliny na kilogram stravy.

Hoci sa vyskytujú údaje, že morča potrebuje menej cholinu v potrave, než krysa (Handler, P. 1949), dávka cholinu pre morčatá uvádza sa 1 až 1,5 g na kg potravy (Reid, M. E. 1955) a rovnako sa udáva i potreba cholinu pre krysy (Griffith, W. H. 1954). Nie je dosiaľ isté, či morčatá a krysy potrebujú biotin, inositol a vitamín B₁₂. Predpokladá sa, že v podmienkach primeranej výživy tieto látky sa syntetizujú v tráviacom trakte činnosťou prítomných mikroorganizmov.

Krysám a morčatám sa darí lepšie, ak podávaná strava obsahuje inertnú ťažko stravitelnú zložku. Niektorí autori podávajú arabskú gumu, želatínu alebo agar. Tieto látky majú však nevýhodu menšej chemickej čistoty a ľahšej stravitelnosti. Iné zostavy používajú celofánové tyčinky (Reid, M. E., Briggs, G. M. 1953). Ako inertnú zložku podávali sme mletú celulózu. Optimálne množstvo inertného materiálu v potrave morčiat je asi 15 %, u krýs 4–5 %.

V presne špecifikovaných diétach možno ich zložky pre potreby pokusu s výhodou obmeňovať, ako to napr. uvádza Fábry v prácach s prirodzenými diétami (Fábry, P. 1959, Fábry, P. 1961). Na podklade vyššie opísaných polosyntetických diét vypracovali sme pre krysy diétu vitamín E – deficitnú (Šimko, V. 1963) a aterogénu (Šimko, V., Babala, J. 1964), v súčasnosti si overujeme účinok nami zostavenej magnézie – deficitnej diéty.

Osvedčené typy syntetických diét môžu byť podkladom ku priemyselnej veľkovýrobe celostátne jednotných druhov diét pre laboratórne zvieratá. Približujú možnosť vypracovanie tekutých syntetických diét, ktoré majú celý rad výhod (mimo známeho chemického zloženia i možnosť presného dávkovania, sterilizovania filtráciou, použitie u výskumu porúch trávenia atď.).

SÚHRN

V práci sa detailne popisuje zloženie a príprava polosyntetickej stravy pre pokusy na krysách a morčatách. Oba typy stravy sa nám plne osvedčili i v dlhodobých pokusoch na krysách a morčatách. Krysy sledované v priebehu troch generácií vykazovali po kŕmení polosyntetickou stravou lepšie váhové krivky a lepšiu plodnosť, než krysy na obvyklej tzv. Larsenovej strave. Strava, ktorú je možno presne chemicky definovať, je nevyhnutná pre pokusy najmä v oblasti výživy a látkovej premeny.

*

Za technickú spoluprácu treba vysloviť vďaka J. Slaničkovej z VÚVL, Bratislava.

Došlo dňa 22. 10. 1966

Literatúra

1. BENTLEY, L. S., MORGAN, A. F.: Vitamin A and Carotene in the Nutrition of the Guinea Pigs. = „J. Nutr.“, 30, 1945, 159-163. — 2. Biological Test Diets and Salt Mixtures. Nutritional Biochemical Corporation, Cleveland USA, 1964. — 3. DAFT, F. S.: Effect of Vitamin C on Panthotenic Acid Deficient Rats = „Fed. Proc.“, 10, 1951, 380-385. — 4. GINTER, E.: Syntéza l-askorbovej kyseliny u morčiat. = „Biológia“, 13, 1958, 8:601-612. — 5. GRIFFITH, W. H.: Effects of Choline Deficiency. The Vitamins, Vol. I Academic Press, New York, 1954. — 6. HANDLER, P.: Response of Guinea Pigs to Diets Deficient in Choline = „Proc. Soc. Exp. Biol.“ (New York), 70, 1949, 70-82. — 7. HANKE, H.: Vitamine und Chirurgie. Thieme, Leipzig, 1943. — 8. HROMÁDKOVÁ, V., VOKAČ, V.: Aktivita sérových transamináz u jaterní steatózy. = „Čsl. Gastroent. Výž.“, 14, 1960, 6:426. — 9. CHURÝ, J.: Malá laboratorní zvířata. Lék. a knihkup. naklad., Praha, 1948. — 10. JUNG, S.: Zucht und Haltung der wichtigsten Laboratoriumsversuchstiere. Fischer, Jena, 1958. — 11. KORNBERG, A., DAFT, F. S.: Granulocytopenia and Anemia in Rats Fed Diets of Low Casein Content. = „Science“, 103, 1946, 646. — 12. KOVALEVSKIJ, K. L.: Laboratornoe životnovodstvo. Medgiz, Moskva, 1958. — 13. Laboratory Animals Bureau Collected Papers. The Nutrition of Laboratory Animals. Laboratory Animal Bureau, London, 1956. — 14. REID, M. E.: Production and Counteraction of a Fatty Acid Deficiency in the Guinea Pig. = „Proc. Soc. Exp. Biol.“ (New York), 86, 1954, 708. — 15. REID, M. E.: Nutritional Studies with the Guinea Pig. Choline. = „J. Nutr.“, 56, 1955, 2:215-221. — 16. REID, M. E., BRIGGS, G. M.: Development of a Semisynthetic Diet for Young Guinea Pigs. = „J. Nutr.“, 51, 1953, 3:341-350. — 17. REID, M. E., BRIGGS, G. M.: Nutritional Studies with the Guinea Pig. Pantothenic Acid. = „J. Nutr.“, 52, 1954, 4:507. — 18. REID, M. E., MARTIN, M. G.: Folic Acid. = „J. Nutr.“, 59, 1956, 1:103. — 19. REID, M. A., MARTIN, M. G.: Effects of Deficiency of Fat or Unsaturated Fatty Acids in Guinea Pigs. = „J. Nutr.“, 67, 1959, 611. — 20. ROINE, P. A., BOOTH, A. N.: Importance of K and Mg in the Nutrition of Guinea Pig. = „Proc. Soc. Exp. Biol.“ (New York), 71, 1949, 90. — 21. SOBEK, V.: Růstový účinek chlortetracyklinu. = „Čas. Lék. čes.“, 97, 1958, 43:1365-1367. — 22. WAYNE DIETS. Allied Mills Inc., Chicago. — 23. WORDEN, A. N., LANE - PETER, W.: The UWAF Handbook on the Care and Management of Laboratory Animals. UWAF, London, 1957. — 24. ALBRITTON, E. G.: Standard Values in Nutrition and Metabolism. Saunders, Philadelphia, 1954. — 25. BALONOVÁ, T.: Vplyv obohacenia Larsenovej stravy na rast a vývoj laboratórnej krysy. Biológia, 12, 1962, 9:668-673. — 26. FÁBRY, P.: Jednoduchý systém standardních laboratorních diet s různým podílem hlavních živin. = „Čsl. Fysiol.“, 8, 1959, 529-535. — 27. FÁBRY, P.: Některé modifikace laboratorních diet s různým podílem hlavních živin. = „Čsl. Fysiol.“, 10, 1961, 2:164-168. — 28. REINAUD, S.: Effect of dietary protein level on Cholesterolemia, Thrombosis, Atherosclerosis, and Hypertension in Rat. = „J. Nutr.“, 83, 1964, 2:149-155. — 29. ŠIMKO, V.: Pokusná dietetická hypovitaminóza E u krys. = „Čsl. Fysiol.“ 12, 1963, 6:417-421. — 30. ŠIMKO, V., BABALA, J.: Physical Activity and the Fat Metabolism in Rats. = „Med. exp.“, 10, 1964, 5:286-290.

Полусинтетическая пища для опытов с крысами и морскими свинками

В работе подробно описывается состав и приготовление полусинтетической пищи, применяемой при опытах на крысах и морских свинках. Оба типа этой пищи полностью себя оправдали при долговременных опытах на крысах и морских свинках. Изучаемые в течение трех поколений крысы после их содержания на полусинтетическом питании имели лучшие весовые кривые и лучшую плодовитость, чем крысы, содержащиеся на обычном, так наз. питании Ларсена. Пища, которую можно точно химически идентифицировать, неизбежна особенно для опытов в области питания и обмена веществ.

Semi-Synthetic Diet for Experiments in Rats and Guinea-Pigs

Composition and the preparing of a semi-synthetic diet for experiments in rats and guinea-pigs are being described in detail in this work. Both types of the diet proved to be completely right even in long-term experiments in rats and guinea-

pigs. The rats followed in the course of three generations showed after feeding on semi-synthetic diet better weight-curves and better fertility than rats fed on the standard, so called Larsen diet. The diet that can be precisely chemically defined is inevitable for experiments especially in the field of nutrition and metabolism of substances.

Halbsynthetische Nahrung bei Versuchen mit Ratten und Meerschweinchen

In der vorliegenden Arbeit wird die Zusammensetzung und Zubereitung einer halbsynthetischen Nahrung für Versuche mit Ratten und Meerschweinchen beschrieben. Beide angeführten Nahrungstypen bewährten sich in langfristigen Versuchen mit Ratten und Meerschweinchen. Die im Verlaufe von drei Generationen verfolgten Ratten wiesen nach Fütterung mit halbsynthetischer Nahrung bessere Gewichtskurven und eine bessere Fruchtbarkeit als die mit der üblichen, sogenannten Larsen'schen Diät gefütterten Ratten auf. Eine chemisch genau definierbare Nahrung ist für Versuche insbesondere auf dem Gebiete der Ernährung und des Stoffwechsels unerlässlich.

Adresa autora:

Dr. Vladimír Šimko, CSc., Výskumný ústav výživy Iudu, Bratislava, Nám.
4. apríla 7

■ Vývoj schopnosti tvorby protilátek u mláďat hospodářských zvířat má nejen teoretický, nýbrž i značný praktický význam. Toto téma bylo zpracováno mnoha autory, jak u laboratorních, tak i hospodářsky významných zvířat. Převážná většina literárních pramenů se však zabývala především schopností mláďat vstřebávat makromolekuly bílkovin či schopností samostatné produkce gama-globulinů, jako nosičů protilátek (Sokol aj., 1956, Nordbring, Olson 1957, McCance, Widdowson 1959, Olson 1959b a řada jiných).

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Vlastní problematika aktivní tvorby protilátek u selat byla již studována v menším měřítku. Staub a Boguth (1956) zjistili, že selata s přísným mateřského kolostra produkovala protilátky 5.—6. týden, zatímco u selat živých zcela uměle se objevily až v 10. týdnu po narození. Hoerlein (1957) naproti tomu zjistil, že selata při normální výživě kolostrum, byť neimunním, reagovala tvorbou protilátek již při aplikaci antigenu ve 3 týdnech. Avšak selata ve věku 8 týdnů bez příjmu kolostra podle autora neprodukovala měřitelné množství sérových protilátek. Brown aj. (1961) rovněž považují stáří 3 týdnů za kritické pro schopnost tvorby protilátek. Serge a Kaerberle (1962b) se domnívají, že selata zbavená kolostra zřejmě postrádají faktor nebo faktory obsažené v kolostru, které se zúčastňují procesu tvorby protilátek.

Olson (1959) tento proces zrání vysvětluje tím, že je zřejmě odrazem vývoje metabolismu imunního globulinu, kdy vlastní schopnost jeho tvorby postupně převládá nad katabolismem imunního globulinu od matky. Na souvislost delší induktivní fáze tvorby protilátek se sníženou intenzitou tvorby sérových bílkovin u selat upozornil i Šterzl (1960). Olson (1959a) ve svých pokusech prokázal první protilátkovou odpověď u všech selat po vakcinaci *Salmonellou paratyphi* A ve 4. týdnu života, zatímco vakcinace 1. týden po narození měla za následek jen slabou a nepravidelnou tvorbu sérových protilátek. Miller aj. (1962) na větším počtu selat upřesnili předchozí nálezy po vakcinaci *Salmonellou pullorum* v tom smyslu, že slabá tvorba protilátek počala po vakcinaci ve věku 3 týdnů, zatímco po vakcinaci v 5 týdnech byly titry dvacetinásobně vyšší. Autoři rovněž potvrdili již uvedený fakt, že pro schopnost aktivní tvorby protilátek u selat je nezbytně nutný přísun globulinů kolostrum, neboť u uměle živých selat se rovněž projevila zpomalená schop-

nost tvorby bílkovin se sníženou tvorbou protilátek. Serge a Kaeberle (1962a) mimoto prokázali, že pro tvorbu protilátek ve 3. týdnu života selat může být významným kromě kolostra i přísun specifických protilátek podaných v séru společně s antigenem. Zcela odlišný údaj podávají Wellmann a Liebke (1960), kteří při pokusech s imunizací proti července prasat mohli sérologicky detekovat aktivně produkované protilátky u selat odchovávaných uměle bez kolostra před uplynutím 2. týdne jejich života. Při hodnocení intervalu nutného pro vznik protilátek po vakcinaci došel Olson (1959a) k závěru, že se jeho délka zkracuje s přibývajícím věkem selat.

Vycházejíce z nálezů na laboratorních zvířatech, sledovali Serge aj. (1963) aktivitu a význam brzlíku pro protilátkovou odezvu selat a zjistili, že extrakt z brzlíku stimuloval tvorbu protilátek až ve stáří 3 týdnů. Rovněž se ukázalo, že brzlík je neaktivnější právě v době zrání imunogenní potence. Z rámce dosavadních údajů o schopnosti tvorby protilátek u selat se vymykají výsledky Menšíka a Žerníčka (1963), kteří zjistili, že u selat po aplikaci virového antigenu 1.—4. den po narození byly prokázány sérové protilátky již ve věku 7—10 dní. V podaném literárním přehledu se nám nepodařilo najít údaje o případné tvorbě inkompletních protilátek u selat během jejich ontogenetického vývoje, i když tato otázka není jistě bez významu. Proto byl v této práci učiněn pokus o detailnější rozbor protilátek, při němž by bylo dosaženo odstranění případné inhibice aglutinační reakce; k tomu účelu byl použit postup podle Coombse. Obecně nutno poznamenat, že v této práci nešlo o zjišťování tvorby absolutních hodnot protilátek, nýbrž o odpověď na otázku, kdy jsou selata nejdříve schopna za normálních podmínek tvorby protilátek.

METODIKA

Protilátková odpověď byla sledována na 30 selatech pocházejících ze tří vrhů od prasnic — sester, připuštěných stejným kancem. Vakcinace selat v 1., 2., 3., 4., 5., 6., 7. a 8. týdnu života byla prováděna formou umrtvenou kulturou *Salmonella cholerae suis* s lipidním adjuvans do předkolenní řasy tak, aby v jedné dávce bylo cca 50 miliard zárodků. Odběry krve u selat k sérologickým vyšetřením byly prováděny pravidelně ve 3—4denních intervalech, od prasnic byla krev odebírána před započítím pokusu a pak dvakrát v průběhu pokusu.

Hladina sérových protilátek byla sledována pomocí pomalé zkumavkové aglutinace s H a O antigenem získaným z kultury *Salmonella cholerae suis*. Další vyšetření sér bylo prováděno reakcí podle Coombse k průkazu inkompletních protilátek. K provedení vyšetření tohoto druhu bylo použito antiprasečí sérum z králíků (precipitační titr 1 : 100 000) v pracovním ředění 1 : 50.

Výchozí ředění sér bylo v obou případech 1 : 10. Hodnoty uvedené v přehledných tabulkách a grafech jsou průměrnými hodnotami titrů jednotlivých skupin po 3 selatech; v úvahu jsou brány pouze reakce na + + + + a + + +.

VÝSLEDKY

Vyšetření prasnic před i během celého průběhu pokusu dávalo trvale negativní výsledky. Podobně nebyly prokázány ani protilátky v sérech selat před jejich vakcinací, a to ani pomalou zkumavkovou aglutinací, ani vyšetřením podle Coombse.

I. Srovnání dynamiky počátku tvorby aglutininů a inkompletních protilátek po vakcinaci selat ve stáří 1—8 týdnů (uvedeny průměrné titry aglutinace/Coombs; H. antigen)

Stáří selat dny	Titry protilátek po vakcinaci							
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
6.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
7.	vacc.	—	—	—	—	—	—	—
9.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
13.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
16.	0/10	0/0	—	—	—	—	—	—
17.	—	vacc.	—	—	—	—	—	—
20.	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
23.	0/10	0/20	—	—	—	—	—	—
24.	—	—	vacc.	—	—	—	—	—
27.	0/10	0/40	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
30.	320/320	160/320	40/80	—	—	—	—	—
31.	—	—	—	vacc.	—	—	—	—
34.	160/640	80/320	60/80	0/0	0/0	0/0	0/0	0/0
37.	640/640	480/640	40/160	12/80	—	—	—	—

Zhodnocením souhrnné tabulky I bylo možno konstatovat, že schopnost tvorby aglutininů se vyvíjí v závislosti na stáří očkování selete. Ukázalo se, že kritickým obdobím pro tuto aktivitu jsou první 2 týdny života, neboť během nich nedošlo u žádného selete k protilátkové odpovědi dříve než ve stáří 30 dní. Vakcinace v 1. týdnu života měla za následek počáteční tvorby protilátek 30. den (tj. za 23 dní), podobně jako vakcinace ve 2. týdnu, kdy se doba vzniku protilátek zkrátila na 13 dní. Vakcinace ve 3. týdnu života rovněž vyprovokovala organismus selete ke tvorbě aglutininů až ve stáří 30 dní (tj. za 6 dní).

Stáří 3 týdnů se stalo jakousi hranicí reaktivity mladého organismu selat. Počinaje tímto obdobím totiž rozsah mezi aplikací vakciny a průkazem sérových protilátek se ustálil trvale okolo 6 dní (viz tab. II). Rozdíly v tomto případě byly shledány pouze ve stupni reakce, tj. ve výši prokázaného titru. Nutno poznamenat, že za pozitivní protilátkovou odpověď byly brány v případě aglutinací titry vyšší než 1 : 10.

Výsledky nalezené při sledování aglutininů byly zcela potvrzeny i průkazem inkompletních protilátek po provedení reakce podle Coombse (tab. I). Rovněž v tomto případě bylo shledáno, že hranicí aktivní tvorby protilátek je

Tabulka č. I — pokračování

Stáří selat dny	Titry protilátek po vakcinaci							
	1.	2.	3.	4.	5.	6.	7.	8.
38.		—	—	—	vakc.	—	—	—
41.		320/640	100/160	40/60	0/0	0/0	0/0	0/0
44.			100/320	40/20	30/60	—	—	—
45.				—	—	vakc.	—	—
48.				25/80	80/160	0/0	0/0	0/0
51.				160/2560	160/1280	240/460	—	—
52.					—	—	vakc.	—
55.					240/640	400/2560	0/0	0/0
58.						400/640	80/480	—
59.							—	vakc.
63.							240/640	0/0
65.							640/1280	15/80
69.								80/240
72.								320/320
76.								640/2560

stáří selat 30 dní. Tento mezník nijak neovlivnila doba aplikace antigenu v rozsahu 1.—3. týdne po porodu. Počínaje 3. týdnem aplikace antigenu bylo možno shodně aglutinacemi potvrdit, že reakční doba byla vždy 6 dní do prvního průkazu protilátek. Rovněž i zde jediným kolísavým ukazatelem byl stupeň sledování reakce; v případě reakcí podle Coombse byl brán jako pozitivní průkaz protilátek titer vyšší než 1 : 40. Touto sérologickou reakcí se sice podařilo v ojedinělých případech prokázat inkompletní protilátky dříve než aglutininy, avšak posuzováno uvedeným způsobem byla zjištěna časová shoda v tvorbě obou druhů protilátek (viz tab. II).

Grafickým vyhodnocením získaných nálezů bylo možno mimo uvedená fakta zjistit ještě jeden nápadný zjev: prakticky ve všech případech při hodnocení výsledků obou použitých sérologických reakcí se ukázalo, že pro dosažení výrazné hladiny protilátek bylo potřeba okolo 10 dní, a to bez ohledu na dobu aplikace antigenu. Důkazem toho jsou dostatečně strmé křivky na grafech při aplikaci antigenu v 1., 2., 5., 6., 7. a 8. týdnu života. Výjimku bylo možno konstatovat pouze v případě vakcinace ve stáří 3 a 4 týdnů, kdy tvorba protilátek sice začala v popsaném již termínu 6 dní, avšak k dosažení výrazných titerů

II. Počátek tvorby protilátek ve vztahu k vakcinaci v různém stáří selat

Skupina	Stáří ve dnech při vakcinaci	Počátek tvorby protilátek					
		aglutinace			Coombs		
		den	za dní po vakcinaci	titr	den	za dní po vakcinaci	titr
I.	7	30	23	1 : 160	30	23	1 : 320
II.	17	30	13	1 : 160	30	13	1 : 320
III.	24	30	6	1 : 40	30	6	1 : 80
IV.	31	37	6	1 : 20	37	6	1 : 80
V.	38	44	6	1 : 20	44	6	1 : 80
VI.	45	51	6	1 : 160	51	6	1 : 320
VII.	52	58	6	1 : 80	58	6	1 : 320
VIII.	59	65	6	1 : 20	65	6	1 : 80
		hodnoceny titry počínaje 1 : 10			hodnoceny titry počínaje 1 : 40		

bylo potřebí v obou případech přibližně dvojnásobně doby asi 20 dnů. Příslušné křivky těchto popisovaných případů mají oproti ostatním skutečně mírný a povlovně stoupající průběh.

Souhrnné zhodnocení serologických reakcí s O antigenem příslušného kmene není v této práci uvedeno, neboť titry v jednotlivých případech ležely hluboko pod úrovní titrů získaných s H antigenem. Podobně tomu bylo i v případě průkazu inkompletních protilátek. Zásadně je však možno říci, že hladina O aglutininů se objevovala ve stejných časových údobích jako tomu bylo u uvedených reakcí.

DISKUSE

V práci předložené výsledky jsou doplňujícím materiálem dosud publikovaných a vpředu uvedených prací, a to jak ve smyslu systematického sledování významu stáří selat pro aktivní tvorbu protilátek, tak i vzhledem k použití citlivějších vyšetřovacích metod. Novým aspektem řešení problematiky ontogeneze selat a jejich imunitní schopnosti bylo sledování inkompletních sérových protilátek. Shodně s ostatními autory bylo možno konstatovat, že rozhodující pro protilátkovou odpověď selat na aplikovaný bakteriální antigen je jejich stáří 3–4 týdnů. Je zřejmé, že efektivnost tvorby protilátek závisí na systému, který není pravděpodobně v době narození plně vyvinut, který však získává svou funkční zralost v poměrně krátké době v časném stádiu života selat (Olson 1959). Předpoklad tohoto systému, který by měl význam pro plnou imunitní zralost organismu selete po aplikaci bakteriálních antigenů, však nepotvrdili Menšík a Žerníček (1963) po aplikaci antigenu virového. Vakcinací selat ve stáří 1–4 dní prokázali aktivní tvorbu protilátek již ve věku 7–10 dní a domnívají se, že tvorba těchto látek není závislá na vlastní schopnosti tvorby gamaglobulinu.

Je známo, že kritické údobí života selat je saturováno dostatečným přísunem globulinů, ať již nespecifických nebo ve formě specifických protilátek, v kolostru kojících matek. Na obecný význam kolostrálních globulinů pro schopnost tvorby protilátek již bylo poukázáno v literárním přehledu (Miller aj., 1962, Serge a Kaerberle 1962a). Závěr Olsona (1959a), že interval tvorby protilátek se zkracuje s přibývajícím věkem selat, nutno doplnit v tom smyslu, že platí právě jen do kritického období stáří 3–4 týdnů. Náš nálezný zjištění tvorby protilátek 30. den (tj. 23. den po vakcinaci) se prakticky shoduje s nálezem Šterzla (1960), který po použití brucelózního antigenu zjistil protilátky 26. den života (tj. za 20 dní).

Mimoto je z našich výsledků zřejmé, že po dosažení imunitní zralosti ve věku 3–4 týdnů zůstává interval nadále okolo 6 dnů, bez ohledu na zvyšující se stáří selat. Zatímco indukční fáze protilátkové odpovědi se od 3. týdne vakcinace neměnila, bylo možno konstatovat, že věková hranice tvorby protilátek se zpočátku odlišovala od starších selat zpomalenou protilátkovou odezvou. Lze tedy uvést, že zatímco imunitní reaktivita selat počíná ve 3.–4. týdnu života, jejich imunitní zralost nastupuje až v 5. týdnu.

Podrobné sledování hladiny inkompletních sérových protilátek ukázalo jejich shodnost s průběhem dynamiky tvorby aglutininů. Nepodařilo se tudíž prokázat případný dřívější výskyt průkazných titrů inkompletních protilátek v období indukční fáze tvorby běžných protilátek. Přísnější kritérium pro titry inkompletních protilátek bylo bráno proto, že se ojediněle mohou zejména titry 1:10 vyskytovat i u kusů kontrolních nevakcinovaných. Vzhledem k tomu, že tato práce řeší pouze zásadní otázku schopnosti tvorby protilátek, nejsou uvedeny výsledky provedených reakcí s O antigenem. Obecně však možno říci, že intenzita těchto reakcí byla nižší než s H antigenem, stejně tak jako O aglutininy se neobjevily nikdy dříve než H aglutininy.

Značný výskyt průmů a snížený růst selat s hromadnou zvýšenou mortalitou ve stáří 3–4 týdnů je možno uvést do úzké souvislosti se získanými výsledky. Miller aj. (1962) se dokonce domnívají, že tento fakt je možno přímo přičítat stavu nízké imunitní kapacity selat. Pro tento stav není jisté bez významu změna aktivity brzlíku, zaznamenaná u selat právě ve stáří 3 týdnů (Serge aj. 1963). Není však mimoto pochyb o tom, že pro zmíněné kritické období 3.–4. týdne, které se vyznačuje snížením obranyschopnosti selat, má svůj význam i dříve popsaná leukopenie v periferní krvi jako výraz nápadného oslabení jedné z částí RES (Procházka 1957).

ZÁVĚR

Studium tvorby protilátek u selat během jejich ontogenetického vývoje za fyziologických podmínek bylo doplněno o sledování vztahu tvorby aglutininů a inkompletních protilátek po aplikaci antigenu *Salmonella cholerae suis*. Z hlediska časového byla shledána shoda co do vzniku obou druhů protilátek, které selata počínají tvořit po vakcinaci ve 3.–4. týdnu života. V tomto období byla však ještě tvorba výrazných titrů protilátek zpomalená. K plnohodnotné tvorbě protilátek docházelo až po vakcinaci ve stáří 5 týdnů.

Došlo dne 25. 11. 1965

Literatura

1. BROWN, H. - SPEER, V. C. - WUINN, L. Y. - HAYS, V. W. - CARTON, D. V.: Studies on colostrum-acquired immunity and active antibody production in baby pigs. = „J. Anim. Sci.“ 20, 1961, 323-328. — 2. HOERLEIN, A. B.: The influence of colostrum on antibody response in baby pigs. = „J. Immunol.“ 78, 1957: 112-117. — 3. McCANCE, R. A. - WIDDOWSON, E. M.: The influence of colostrum on the composition and volume of plasma in newborn piglets. = „Brit. J. Physiol.“ 145, 1959: 547-550. — 4. MENŠÍK, J. - ŽERNÍČEK, D.: Aktivní tvorba protilátek u selat v raném postnatálním období. = „Věd. práce VÚV“ III, 1963: 133-140. — 5. MILLER, E. R. - HARMON, B. G. - ULLREY, D. E. - SCHMIDT, D. A. - LUECKE, R. W. - HOEFER, J. A.: Antibody absorption, retention and production by the baby pig. = „J. Anim. Sci.“ 21, 1962: 309-314. — 6. NORDBRING, F. - OLSON, B.: Elec-

trophoretic and immunologic studies with piglet sera. = „Acta Soc. Med. Uppsal.“ 63, 1957 : 25-41. — 7. OLSON, B.: Studies on the formation and absorption of antibodies and immune globulins in piglets. = „Nordisk. Veterinaarmed.“ 11, 1959a : 250-273. — 8. OLSON, B.: The intestinal absorption of antibodies and immune globulins by newborn piglets after the administration of bovine colostrum. = „Nordisk. Veterinaarmed.“ 11, 1959b : 375-390. — 9. PROCHÁZKA, Z.: Změny krevního obrazu selat během ontogenetického vývoje. = „Vet. Med. (Praha)“ 30, 1957 : 93-104. — 10. SERGE, D. - KAEBERLE, M. L.: Antibody production in baby pigs. = „Fed. Proc.“ 21, 2, 1962a : 31. — 11. SERGE, D. - KAEBERLE, M. L.: The immunologic behaviour of baby pigs. = „J. Immunol.“ 89, 1962b : 782-789. — 12. SERGE, D. - MYERS, W. L.: Enhancement of antibody formation in baby pigs by normal globulin and by thymus extracts. = „Fed. Proc.“ 22, 1963 : 266. — 13. SOKOL, A. - MISTRÍK, V.: Sú novorodené prasatá schopné produkovať gamaglobulín? = „Fol. vet. (Košice)“ 1, 1956 : 63-79. — 14. STAUB, H. - BOGUTH, W.: Gamma-globulin und Antikörperbildung in Säuglingalter beim Schwein. = „Zbl. Veterinärhyg.“ 3, 1956 : 653. — 15. STERZL, J.: První stupně tvorby protilátek. = Praha, 1960. — 16. WELLMANN, G. - LIEBKE, H.: The ability of baby pigs to develop immunity to erysipelas. = „Zbl. Bakter. I. Orig.“ 177, 1960 : 394-402.

Изучение образования полносоставных и неполносоставных антител у поросят *Salmonella cholerae suis* в ходе их онтогенетического развития

Изучалась динамика образования полносоставных и неполносоставных антител у поросят в отношении к их возрасту. Поросятам давали бактериальный антиген на 1—8-ой неделе их жизни. Для подкожной вакцинации служила инактивированная формолом культура *Salmonella cholerae suis* с липоидным добавлением. Антитела сыворотки изучались путем медленной пробирочной агглютинации, дополненной исследованием по Кумбсу. Результаты можно свести к следующим пунктам:

1. Активное образование антител у поросят при нормальном питании материнским молоком имело место лишь в возрасте 30 дней независимо от того, применялся ли антиген за 1, 2 или 3 недели после рождения. Начиная вакцинацию на 3 неделе и позже поросята реагировали образованием антител регулярно в продолжение примерно 6 дней.

2. Хотя 3—4 неделя и казалась пределом активного образования антител, в действительности его рост характеризовался замедленным ходом; высокие титры в этот период были достигнуты в течение приблизительно 20 дней.

В противоположность этому, полноценное образование антител, отличающееся как их усиленным ростом, так и коротким интервалом достижения высоких титров (около 10 дней), наблюдалось в регулярном порядке, начиная с вакцинации в возрасте 5 недель.

3. При сравнении результатов, полученных при помощи медленной пробирочной агглютинации и реакции для установления наличия неполносоставных антител по Кумбсу, за исключением величины уровня титров не было отмечено различий в динамике образования антител у поросят в течение первого времени после их рождения.

Study of the Production of Complete and Incomplete Antibodies against *Salmonella cholerae suis* in Piglets during their Ontogenetic Development

The dynamics of the production of complete and incomplete antibodies was investigated in piglets in relation to their age; the piglets received bacterial antigen from the 1st to the 8th week of their life. A formaldehyde-inactivated culture of *Salmonella cholerae suis* with a lipoid adjuvant was used for subcutaneous vaccination. The serum-antibodies were followed by means of the slow test-tube agglutination, the examination being completed with the Coombs-test. The results may be summarized into the following items:

1. Active antibody production in piglets fed normally on mother milk appeared as late as at the age of 30 days without regard whether the antigen was applied in the 1st, the 2nd or the 3rd week after birth.

Beginning with the vaccination in the 3rd week and later on, the piglets showed already a regular antibody production in the course of about 6 days.

2. Although the 3rd to the 4th week appeared to be the limit of active antibody production, its increase, however, showed a retarded course; marked titres in this period were obtained within about 20 days. On the other hand, the full-value anti-

body production characterized both by their intense increase and by achieving marked titres in a short interval (about 10 days) appeared regularly beginning with the vaccination at the age of 5 weeks.

3. When comparing the results obtained by means of the slow test-tube agglutination with the reaction after Coombs for the demonstration of incomplete antibodies, no other differences in the antibody production dynamics in piglets were found during their postnatal period, except the height of titre-levels.

Studium der Bildung der kompletten und inkompletten Antikörper bei Ferkeln gegen die *Salmonella cholerae suis* während ihrer ontogenetischen Entwicklung

Es wurde die Dynamik der Bildung der kompletten und inkompletten Antikörper bei Ferkeln in Beziehung zu ihrem Alter festgestellt, an welche das bakterielle Antigen in 1.—8. Woche ihres Lebens appliziert wurde. Zur subkutanen Vakzination diente die mit Formalin inaktivierte Kultur von *Salmonella cholerae suis* mit lipoidem Adjuvans. Die Serumantikörper wurden mittels der langsamen Reagenzglas-Agglutination, die durch die Untersuchung nach Coombs ergänzt war, verfolgt.

Die Ergebnisse können in folgende Punkte zusammengefaßt werden:

1. Die aktive Bildung der Antikörper bei Ferkeln bei normaler Ernährung mit Muttermilch kam erst im Alter von 30 Tagen zum Vorschein ohne Rücksicht darauf, ob das Antigen in der 1., 2. oder 3. Woche nach der Geburt appliziert wurde.

Beginnend mit der Vakzination in der 3. Woche und später haben die Ferkel durch die Bildung von Antikörpern schon regelmäßig während zirka 6 Tagen reagiert.

2. Die 3.—4. Woche hat sich zwar als eine Grenze der aktiven Bildung der Antikörper merkbar gemacht; ihr Wachstum zeichnete sich jedoch durch einen verlangsamten Verlauf aus. In diesem Zeitabschnitt erreichte man ausgeprägte Titer im Laufe von cca 20 Tagen. Demgegenüber trat eine vollwertige Bildung der Antikörper, die sowohl durch ein sehr starkes Wachstum, wie auch durch einen kurzen Intervall der Erreichung von ausgeprägten Titern (cca 10 Tage) charakterisiert war, regelmäßig ein, u. zw. vom Anfang der Vakzination im Alter von 5 Wochen.

3. Beim Vergleich der Ergebnisse, die mit der langsamen Reagenzglas-Agglutination und Reaktion zum Nachweis der inkompletten Antikörper nach Coombs gewonnen wurden, wurden ausgenommen die Höhe der Titerniveaus keine Unterschiede in der Dynamik der Antikörperbildung bei Ferkeln während ihres frühen postnatalen Zeitabschnitt gefunden.

Adresa autora:

MVDr. Zdeněk Procházka, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno-Medlánky

■ Fyziologické korelace v prenatálním životě zvířat tvoří komplexní problém. Naznačují, jak dochází k zapojování funkčních mechanismů a jejich význam pro růst a vývin plodů. Dnes je známo, že hormony se vřazují do těchto mechanismů v několika etapách:

1. Organogeneza žlázy, která určuje období, v němž začíná syntéza specifických hormonů.
2. Uvolňování hormonů do oběhu krevního, jako první podmínka funkční aktivity.
3. Počátek diferenciacie tkáně, nebo reakčních systémů (Dieterlen — Lièvre [1963]).

Odpověď na úlohu žláz v prenatálním období, může dát pouze podrobná znalost těchto mechanismů. Proto při studiu fetální funkce štítné žlázy se využívá: histogeneza normální žlázy a v kultuře, koncentrace radioaktivního jodu ve žláze, jeho začleňování do organických sloučenin, účinku chemických strumigenních látek, thyreoektomie a vyřazení řídicích center, jakož i aplikace exogenních hormonálních sloučenin.

LITERÁRNÍ PŘEHLED

Diferenciaci štítné žlázy a objevení se koloidu pozoroval Aron (1931) u tříměsíčních fetů skotu. První známky diferenciacie u plodů skotu popisují Abbott a Prendergast (1937) již ve dvou měsících intrauterinního života. V tomto období zjistil Mac Chairulo (1930) hormonální složky ve štítné žláze.

První objevení se jodu ve štítné žláze zárodků skotu určili Artěmov a Valédinskaja (1938) ve stáří dvou a půl měsíce. Pro období 53–70 dní udává Koneff a spol. (1949) u zárodků telat kolem 3 mg% thyroxinu a 17% celkového jodu ve štítných žlázách, což je desetkrát více, než koncentrace jodu v játrech. Naproti tomu starší práce Fenger (1912), Hogben a Grew (1923), Abelin (1927) referují o organické vazbě jodu a tvorbě thyroïdních sloučenin zárodků skotu 4 měsíce starých. Ve štítných žlázách 3–4 měsíčních plodů skotu, byl biologickým testem zjištěn thyroxin (Dajneko 1938).

Již Wolff a spol. (1949) pozorovali, že koncentrace jodu a thyroxinu ve fetální štítné žláze skotu má exponenciální vztah k věku plodu, jeho délce a stáří. Podle autorů se stářím přibývá ve štítné žláze schopnost pro ukládání zásob jodu. Koneff a spol. (1949) sledovali vývoj organicky vázaného jodu ve štítné žláze fetů skotu a udávají, že od 75–118 dní nepozorovali výrazné zvýšení jodu ve štítné žláze. U plodů mezi 4 až 7 měsícem stáří je velmi pomalé zvýšení obsahu organické

kého jodu. Značné zvýšení jodu bylo pozorováno v posledním období březosti, kdy histologický obraz ukázal zvýšenou funkční aktivitu epithelu folikulů.

Po aplikaci radioaktivního jodu zjistili Gorbman a spol. (1952), že fetální štítné žlázy telat vykazovaly 6–7krát vyšší koncentraci jodu, než žlázy matek. Bylo zjištěno, že více než 1/50 radioaktivity patří nově se tvořícímu thyroxinu. Štítné žlázy matek obsahovaly malé množství, nebo žádný značkováný thyroxin. Období „fyziologické hyperthyreozy“ bylo zjištěno u plodů většiny savců – u krys [Gelosso (1956)], u kočky [Verain a Verain–Pinoy (1960)], u telete [Gorbman a spol. (1951)].

Jak je patrné z literárních údajů, štítná žláza zahajuje svou funkční aktivitu již v prenatalním období. Její význam pro metabolismus fetu není dosud podrobně prozkoumán. Pouze Weiss a Noback (1949) popisují při poruše její funkce u plodů krys opožděný vznik osifikačních center. Jost a spol. (1960) zaznamenali i nižší průměrnou váhu fetů a zvýšení obsahu lipidů v těle. Při snížení funkční aktivity štítné žlázy není však zabráněno zahájení funkce glykogenu v játrech Jost a spol. (1958).

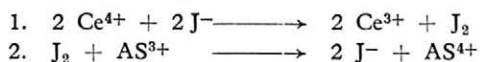
Předložená práce sleduje vývoj funkční aktivity štítné žlázy telat v prenatalním období, ve vztahu k věku těla, stáří a pohlaví. Navazuje na předešlá sdělení, neboť hladina PBI (Protein-bound Iodine) udává do určité míry stupeň uvolňování organického jodu ze štítné žlázy plodů.

MATERIÁL A METODIKA

Sledování bylo provedeno na 28 fetech, které jsme získali na sanitních jatkách v Uhřetěvsi od ledna do května 1964. Fety jsme odebírali od krav, které byly odporaženy pro nenakažlivé onemocnění, abychom vyloučili vliv tohoto faktoru na endokrinní žlázy. Z celkového počtu odporažených matek bylo u 20 kusů nalezeno cizí těleso, u 4 kusů fraktura končetin, u 2 kusů fraktura páneve a 2 kusy bez uvedeného patologickoanatomického nálezu s intravitální diagnózou „cizí těleso“. U poražených matek jsme zjišťovali dobu posledního připuštění (nebyla-li zjištěna, byl zárodek vyloučen). Současně jsme se snažili určit u matek stáří a užitkovost. Tyto dva faktory jsme zjistili pouze u 1/3 sledovaných zvířat, proto nebyly při dalším zpracování uvažovány.

Po vybavení fetu z plodových obalů byl podvázán pupeční provazec, plod osušen a zvážen. Po zvážení jsme vypreparovali *vena jugularis* a pomocí injekční stříkačky jsme odebrali 10 cm krve. U malých zárodků jsme krev získávali jak z *vena jugularis*, tak i z pupeční žíly. Stříkačky jsme používali proto, abychom předešli zbytečnému znečištění krve plodovými vodami.

Stanovování PBI bylo prováděno z krevního séra metodou Barkera a spol. (1951). Princip této metody spočívá v alkalické mineralizaci organického materiálu, kdy je získán elementární jod. Jeho fotometrické určení je založeno na katalytické vlastnosti, která byla poprvé popsána Standellem a Kolthoffem (1937). Probíhá podle následující reakce:



Výpočet jodu byl proveden podle následující rovnice

$$\mu\text{g } \% \text{ J} = \frac{0,04 \times t_2}{t_1 - t_2}$$

t_1 = čas v minutách obdržení při rychlosti odbarvované zkumavky neobsahující žádný jod

t_2 = čas v minutách obdržení při rychlosti odbarvování zkumavky obsahující přídáný jod.

Jak je patrné z rovnice, je rychlost reakce odvislá od množství jodu a času. Proto známe-li rychlost reakce při známé koncentraci jodu, můžeme si snadno vypočítat jakoukoliv neznámou koncentraci. Výsledky jsou pak uvedeny na 100 ccm séra a vyjadřovány v $\mu\text{g} \%$.

VÝSLEDKY SLEDOVÁNÍ

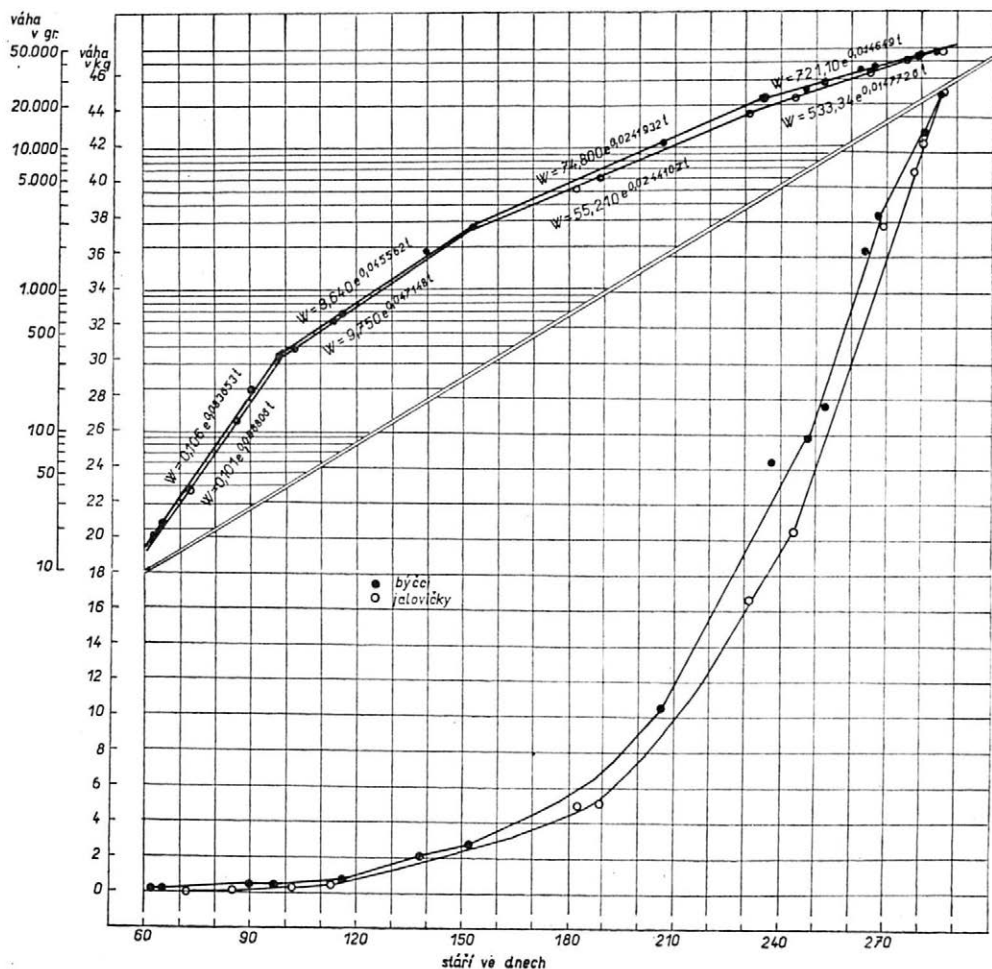
a) VÁHOVÝ RŮST FETŮ

Údaje o stáří plodů podle pohlaví jsou patrné z tabulky I. Průměrné stáří u býčků činilo 170,73 dne, zatímco u jaloviček bylo 183,92 dne. Nejmladší zárodek u pohlaví samčího byl 62 dnů a vážil 19 gr a nejstarší 284 dnů a váha činila 43 kg. U pohlaví samičího jsme získali nejmladší zárodek v 65 dnech s váhou 21 gr a nejstarší 286 dní, který vážil 45,5 kg. Z tohoto důvodu byla průměrná váha plodů u pohlaví samčího pouze 14,162 kg, kdežto u samičího 16,595 kg.

I. Údaje o stáří plodů u skotu

Býčci			Jalovičky		
pořadové číslo	stáří plodu ve dnech	váha plodu v kg	pořadové číslo	stáří plodu ve dnech	váha plodu v kg
1	62	0,019	16	65	0,021
2	65	0,024	17	72	0,046
3	90	0,199	18	85	0,123
4	90	0,218	19	102	0,350
5	97	0,325	20	113	0,602
6	116	0,628	21	182	5,000
7	138	2,083	22	189	5,100
8	152	2,700	23	231	16,500
9	206	10,500	24	244	20,500
10	234	24,500	25	266	38,000
11	247	25,750	26	276	42,500
12	252	27,500	27	280	42,500
13	262	36,500	28	286	45,500
14	266	38,500			
15	284	43,000			
Sx	2561	212,446	Sx	2391	216,742
$\bar{x}$	170,73	14,162	$\bar{x}$	183,92	16,595

Váhový růst fetů podle pohlaví a měsíců stáří je znázorněn na grafu 1. Protože váhy u plodů podléhají velké variabilitě, byly v grafu zaznamenány již opravené hodnoty regresní rovnice.



Gr. 1.: Váhový růst plodů

Jak je patrné z grafu, rozdíly mezi pohlavím se projevují od 150 dní stáří a trvají do 275 dní. V devátém měsíci stáří vykazuje pohlaví samičí vyšší růstovou intenzitu, proto rozdíly ve stáří 285 dní jsou pouze kolem kilogramu.

Růst zárodků se rozpadá do čtyř růstových fází, které mají různou délku podle pohlaví. První růstová fáze končí v období mezi 100–110 dny (delší je u pohlaví samčího), druhá kolem 155 dnů, třetí fáze končí u býčků při 246 a u jaloviček při 241 dnech a poslední – čtvrtá fáze probíhá až do konce prenatálního života.

Protože jak stáří, tak i váhy fetů jsou rozdílné podle pohlaví, provedli jsme statistické ověření rozdílů analýzou variancí a kovariancí. Výsledky potvrdily ($F = 0,211$), že rozdílné stáří ve sledovaném souboru mělo neprůkazný vliv na váhu plodů. Podrobné zpracování vah fetů a vah jejich endokrinních žláz a vzájemné korelační závislosti jsou uvedeny v práci Pícha, Píchová (1965).

b) OBSAH PBI U PLODŮ SKOTU

Máme-li hodnotit obsah PBI u zvířat, je nutno mít na zřeteli všechny faktory, které na něj působí. Výsledky jsou podle jednotlivých zvířat uvedeny v tabulce II.

II. Obsah PBI/100 ml séra

Býčci		Jalovičky	
pořadové číslo	% PBI/100 ml sera	pořadové číslo	% PBI/100 ml sera
2	0,9 +	17	—
3	2,3	18	1,2 +
4	2,7	19	3,3
5	2,1	20	1,3
6	1,4	21	7,4
7	4,2	22	7,9
8	3,3	23	12,4
9	6,6	24	12,9
10	16,3	25	19,3
11	12,3	26	14,7
12	5,6	27	9,8
13	14,2	28	8,0
14	11,4		
15	16,4		
Sx	99,70	Sx	98,2
$\bar{x}$	7,12	$\bar{x}$	8,92

+ — rozbor proveden z 0,5 cm krevní plasmy.

U fetů č. 2 a č. 18 bylo provedeno stanovení PBI ve 100 ml krevní plasmy. K tomuto jsme přistoupili proto, že tyto malé plody měly velmi málo krve. Srovnávání s ostatními fety provádíme na základě údajů Barkera a spol. (1951), neboť není rozdíl mezi obsahem PBI v krevním séru a plazmě.

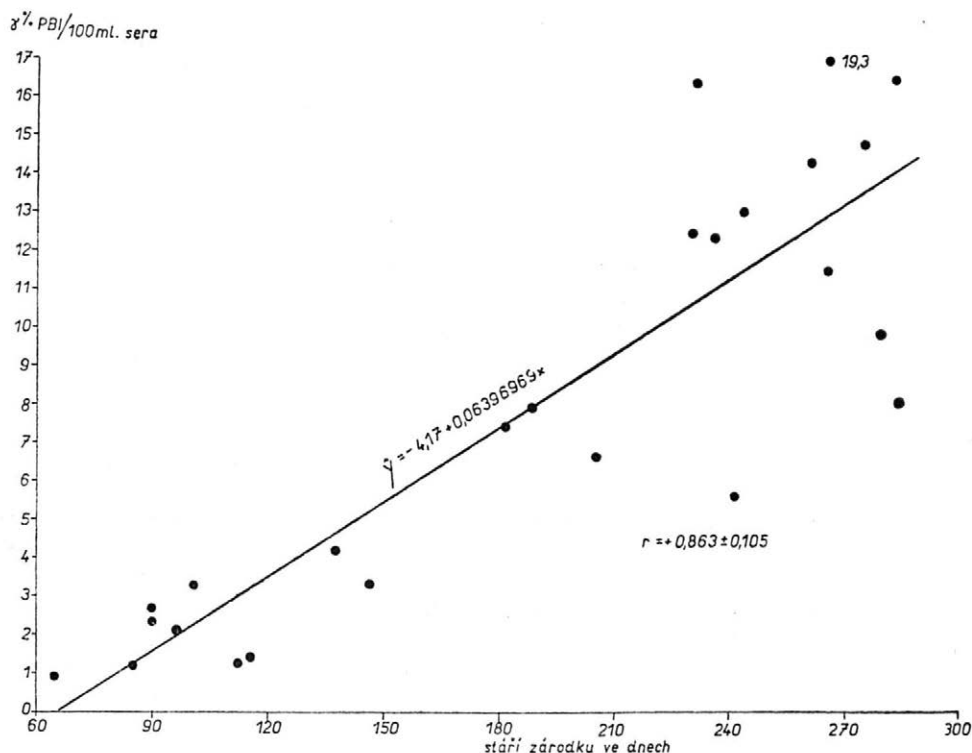
Provedeme-li porovnání obsahu PBI podle stáří zjistíme, že údaje velmi kolísají. Příčinou je pravděpodobně různá funkční aktivita štítné žlázy u matek, výživa a snad i roční rytmus, kterému žláza podléhá. Tyto faktory by vyžadovaly samostatného sledování.

Abychom mohli provést porovnání vývoje obsahu PBI podle stáří, vzali jsme hodnotu 0,9 γ% za základ a k ní srovnáváme průměrné hodnoty ostatních měsíců. Ve třetím měsíci stáří stoupá PBI 2,6X a ve čtvrtém měsíci jsme zjistili zvýšení pouze 1,8X. Obdobně je tomu ve stáří od 120 do 180 dní, kdy průměrné zvýšení obsahu jodproteinu činilo 4,1X.

Výrazné zvýšení PBI jsme zaznamenali ve stáří od 181 do 210 dnů, kdy průměrná hodnota dosáhla osminásobku. Největší zvýšení hladiny PBI jsme zjistili ve stáří 8 měsíců: 15X a ve stáří 9 měsíců dokonce 15,7 X. V posled-

ních dnech intrauterinního života jsme zjistili pokles hladiny PBI, takže zvýšení k výchozí hodnotě činilo 13,6×. Toto snížení může být právě specifické pro náš sledovaný soubor (neboť výraznější pokles PBI je patrný u fetů č. 27 a 28). Z údajů je patrné, že nejvyšší zvýšení obsahu PBI v séru krevním u fetů skotu je ve stáří 8 a 9 měsíce, v posledních dnech intrauterinního života však nastává stagnace a u některých plodů i jeho pokles.

Příčina poklesu funkce může být způsobena tím, že štítná žláza v době intrauterinního života řídí kvantitativní růst plodu a v tomto období se projevuje nějaký brzdící faktor, který vyvolává pokles funkční činnosti thyroidey; nebo se ve štítné žláze vytváří rezervy thyreoglobulinu, kterého pak organismus využívá v prvních dnech života, jakožto zásobní látku hormonu štítné žlázy.



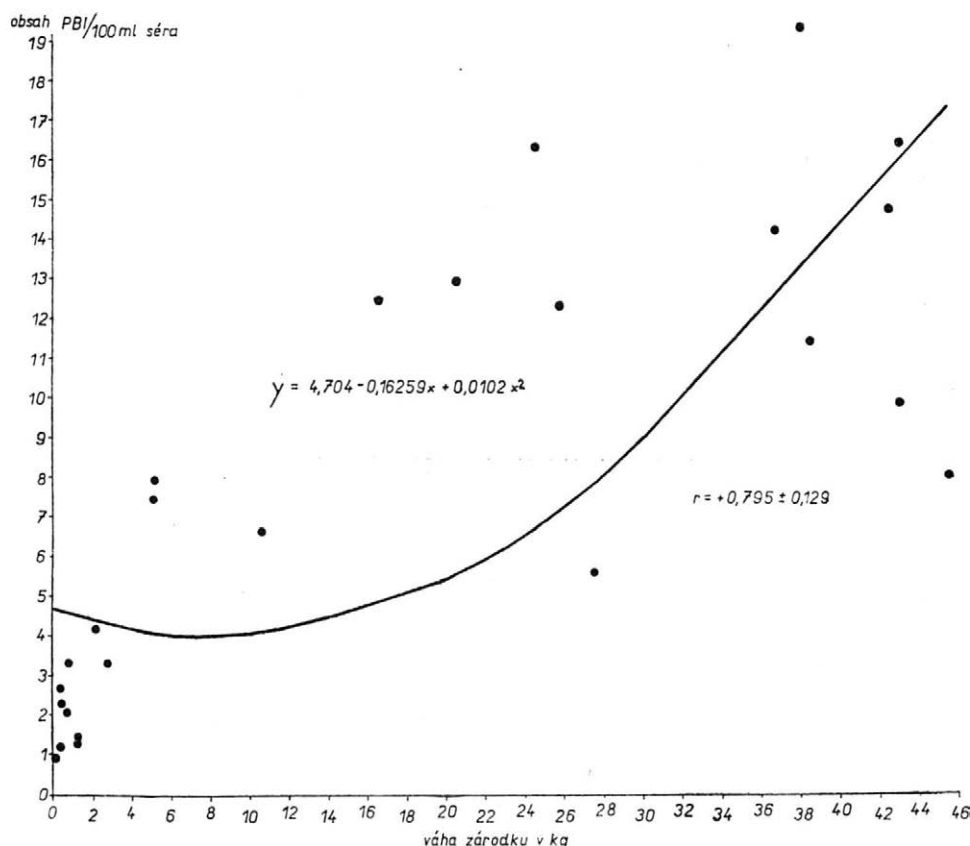
Gr. 2.: Vztah mezi stářím zárodku a obsahem PBI

Porovnáme-li průměrný obsah PBI podle pohlaví, činí u býčků 7,12 γ%/100 ml séra, kdežto u jaloviček 8,93 γ%. Zde však má vliv průměrné stáří plodů (u býčků činí 170,7 dne, u jaloviček 184 dnů) a zárodek č. 25. Analýzou variancí jsme zjistili F počítané 0,61 — což je ku sledovanému stupni vlnosti bezvýznamné.

Korelační závislost mezi stářím plodů a obsahem PBI byla zjištěna u býčků $r = +0,889 \pm 0,122$, u jaloviček $r = +0,821 \pm 0,190$. Statistické ověření korelačních koeficientů ukázalo, že $dz = 0,24$, zatímco $sd = 0,464$. Tato bezvýznamnost rozdílu v korelační těsnosti nám umožnila graficky zpracovat tuto závislost bez ohledu na pohlaví (graf 2).

c) ZÁVISLOST MEZI OBSAHEM PBI A INTRAUTERINNÍM RŮSTEM PLODŮ

Zvyšování obsahu jodproteinu v krvi fetů není stejnoměrné podle měsíců stáří. Obdobné poměry naznačují růstová křivka. Proto jsme propočítali závislost mezi obsahem PBI/100 ml séra a váhou plodu — $r = +0,795 \pm 0,129$. Tato průkazná korelace (graf 3), ukazuje, že se štítná žláza v době prenatalního života zúčastňuje na růstu a vývinu fetu. Je zcela pochopitelné, že nás zajímalo, odpovídá-li zvyšování váhy (absolutního přírůstku) zvyšujícím se PBI. Jako

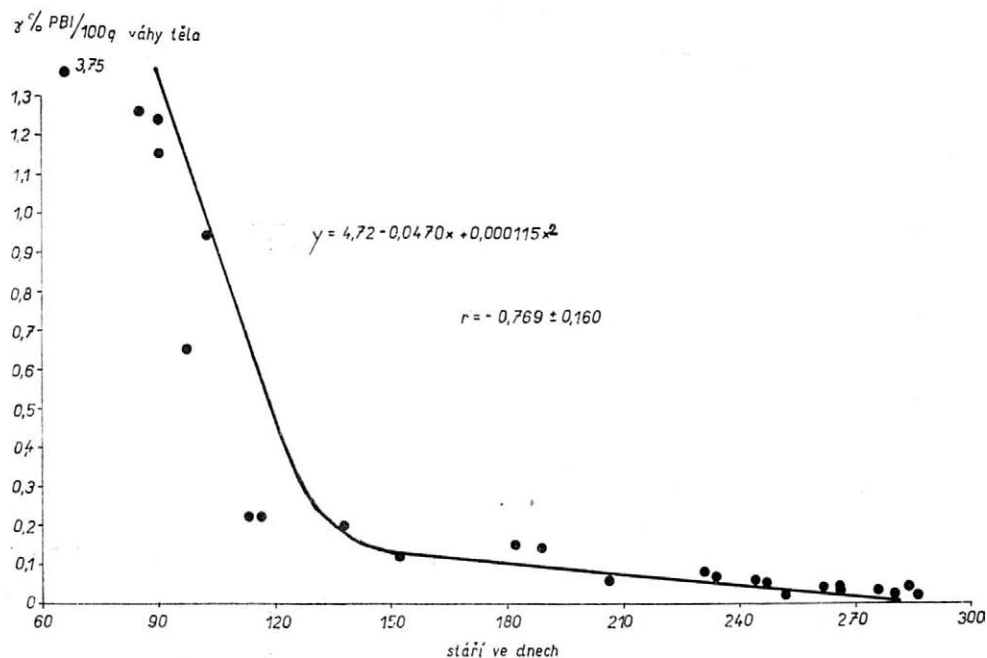
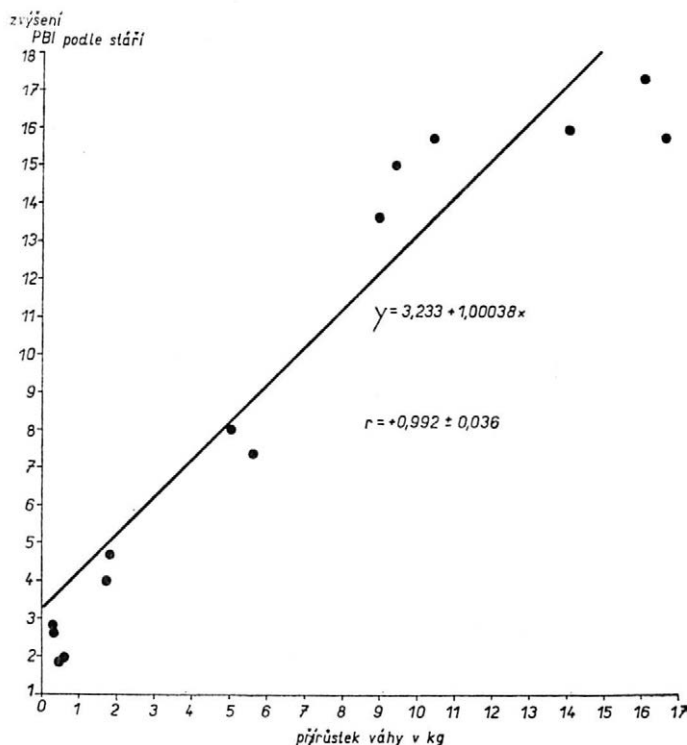


Gr. 3.: Vztah mezi váhou plodů a obsahem PBI

ukazatel zvyšování organického jodu v krvi jsme použili poměru PBI podle měsíců stáří a u váhového růstu absolutních přírůstků v kg. Z těchto hodnot byla vypočtena vysoká průkazná korelace $r = +0,992 \pm 0,036$, která je znázorněna na grafu 4. Můžeme tedy předpokládat, že váhový přírůstek fetů v době intrauterinního života, je absolutní funkcí krevního jodproteinu.

Jak je patrné z grafů 2 a 3, jsou tyto závislosti většinou nelineární, přičemž větší variabilitě podléhají hodnoty v druhé polovině intrauterinního života. Tuto variabilitu by bylo možno přisuzovat již vlastní funkci endokrinních žláz plodů. Je tedy pravděpodobné, že v tomto období také spolupůsobí i genetické faktory.

Gr. 4.: Vztah mezi váhovým přírůstkem a zvýšením PBI



Gr. 5.: Vztah mezi stářím plodu a obsahem PBI/100 gr váhy těla

Protože na stáří je závislá váha plodu i váha štítné žlázy, přepočítali jsme obsah PBI ve 100 ml séra na 100 g váhy těla. Korelační koeficient mezi procentickým obsahem PBI/100 gr váhy a stářím fetů je vyšší u jaloviček $r = -0,815 \pm 0,160$ a u býčků je neprůkazně nižší $r = -0,672 \pm 0,193$ (příčemž $dz = 0,326$). Regresní koeficienty opět potvrdily, že větší funkční aktivita je u býčků $b_{xy} = 0,0090726$ zatímco u jaloviček je pouze $b_{xy} = 0,0045223$ x. Tato závislost bez ohledu na pohlaví je znázorněna na grafu 5.

DISKUSE

Jak je patrné z grafu 1, vykazují býčci vyšší váhový růst do stáří osmi měsíců, kdežto v posledním období se rozdíl mezi pohlavími vyrovnává. Tyto rozdíly jsou neprůkazné, což potvrzují údaje Cicvářka (1954), Kulikovské (1964) a starší Ecclése (1928), Kislovski — Larchina (1931) i Drakina (1954).

Váhový růst se rozpadá do čtyř růstových fází, na které upozornil již Cicvářek (1954). Jejich délka kolísá podle pohlaví, je však zde řada faktorů, které tyto hodnoty mohou ovlivňovat Brody (1945).

Obsah jodu vázaného na krevní bílkoviny byl zjištěn ve stáří kolem 65 dnů. Sledujeme-li graf 2 a 3, zvyšuje se hladina jodproteinu do stáří 220 dní velmi pomalu. Naproti tomu od stáří 220 do 270 dnů nastává prudký vzestup hladiny PBI. Porovnat tyto údaje je možné s nálezy obsahu jodu ve štítné žláze u plodů, kdy výrazné zvýšení jodu zaznamenal Artěmov a spol. (1938) ve stáří 6,5–8 měsíců, Koneff a spol. (1949) od 7. měsíce do 9. a pak nastal pokles. Rozdíly podle autorů jsou pravděpodobně způsobeny různými plemeny. Vliv plemene na hladinu jodu ve štítné žláze a v krvi byl zpracován v literárním přehledu (Píchová, Pícha [1964]).

Že štítná žláza fetů vykazuje vyšší aktivitu než štítná žláza matek (Gorberman a spol. [1952]) — potvrzují hladiny PBI. Korelační koeficienty mezi váhou těla a hladinou PBI ve 100 ml séra $r = +0,795 \pm 0,129$, rovněž tak poměr PBI k absolutnímu přírůstku váhy těla podle měsíců stáří $r = +0,992 \pm 0,036$ — ukazují na význam fetální štítné žlázy. O podobných závislostech u krys referoval Jost a spol. (1960).

Relativní hodnoty PBI/100 gr váhy těla (graf 4) vykazují obdobný trend, jako růstová křivka plodů. Při přesnějším sledování zjistíme i fáze, které odpovídají růstovým, což v období postnatálním zjistil Bard a spol. (1952), Nalbandov (1963).

ZÁVĚR

Vývoj obsahu PBI v krevním séru fetů skotu, byl sledován od stáří 65 dnů do 286 dnů intrauterinního života. Obsah jodproteinu do stáří 5–6 měsíců se zvyšuje velmi pomalu. Výrazné zvýšení jeho hladiny jsme zaznamenali v osmém a devátém fetálním měsíci.

Mezi stářím fetů a hladinou PBI ve 100 ml séra jsme zjistili průkaznou korelační závislost $r = +0,863 \pm 0,105$ (graf 2). Že se štítná žláza v prenatálním období podílí na růstu fetu, potvrzují následující korelační koeficienty: váha plodu a obsah PBI ve 100 ml séra $r = +0,795 \pm 0,129$; relativní poměr PBI k absolutnímu přírůstku váhy těla podle měsíců stáří $r = +0,992 \pm 0,036$.

Relativní hodnota PBI (PBI/100 gr váhy těla) ke stáří fetů vykazuje zápornou korelační závislost $r = -0,769 \pm 0,160$, přičemž úseky v křivce jsou souhlasné s růstovými fázemi.

Došlo dne 25. 11. 1965

Literatura

- ABELIN, I.: Über den Jodgehalt von Kröpfen in Vergleich zu ihrer histologischen Struktur und ihrer Wirkung im Kaulquappenversuch. = „Arch. für exper. Prakt.“, 124:1-40, 1927. — 2. ABBOTT, A. C., PRENDERGAST, J.: Histological variations in foetal calves thyroids and a comparison with maternal thyroids. = „Canad. med. Assoc. J.“ 36:228, 1937. — 3. ARON, M.: Recherches histophysiologiques sur la fonctionnement et les corrélations des glandes endocrines embryonnaires chez les vertébrés. = „Bull. biol. France et Belg.“ 65:438, 1937. — 4. ARTEMOV, N. M., VALEDISKAJA, L. K.: Issledovanija po razvitiju gormonalnej funkcii na rannich stadijach ontogeneza. Sobošč. II. o soderžanii tiroidnogo gormona i ioda v ščitovidnoj železe embrionov korovy. = „Bjull. Mosk. ob-va instit. prirody otd. biol.“ 42 (2):188, 1938. — 5. BAIRD, D. M., NALBANDOV, A. V., NORTON, H. W.: Some physiological causes of genetically different rates of growth in swine. = „J. Animal Sci.“ 11:292, 1952. — 6. BARKER, S. B., HUMPREY, M. J., SOLEY, M. H.: The clinical determination of Protein-bound Iodine. = „J. of clinical Investigation XXX“, 1:55, 1951. — 7. BRODY, S.: Bioenergetics and growth. Reinhold Publishing Corp. New York, 1945. — 8. CICVÁREK, A.: Výzkum zákonitosti růstu a vývoje u skotu. I. Váhový růst červenostrakatého skotu v prenatálním období. Záv. zpráva ÚVÚŽV Uhřetěves, 1954. — 9. DAJNEKO, L. N.: Gormonalnaja aktivnost ščitovidnoj železy u embrionov selskochozjajstvennych životnych. = „Bull. eksp. biol. i med.“ 6:98, 1938. — 10. DIETERLEN - LIÈVRE, F.: Le Role de la Thyroïde dans le Développement Embryonnaire des Oiseaux et des Mammifères. = „L'Armée Biologique“ 2 (1-2):17-33, 1963. — 11. DRÄKIN, A.: O napravlenom vyraščivaniji molodnjaka. = „Trudy vzes. nauč.-issl. instit. život“ XX, 1952. — 12. FENGER, F.: On the presence of active principles in the thyroid and suprarenal glands before and after birth. = „J. Biol. chem.“ 11:489-492, 1912. — 13. GÉLOSO, J. P.: Recherches sur le métabolisme de l'iode radioactif par la thyroïde du fœtus de Rat. = „C. R. Soc. Biol.“, 150:2140, 1956. — 14. GORBMAN, A., LISSITZKY, S., MICHEL, O., MICHEL, R., ROCHE, J.: Métabolisme du radioiode par le fœtus de boeuf au voisinage du terme. = „C. R. Soc. Biol.“ 145:1642-1644, 1951. — 15. GORBMAN, A., LISSITZKY, S., MICHEL, O., MICHEL, R., ROCHE, J.: Metabolism of radioiodine by the nearterm bovine fetus. = „Endocrinol.“ 51:546-561, 1952. — 16. HOGBEN, L. T., CREW, F. A. E.: Studies on internal secretions. Endocrine activity in fetal and embryonic life. = „Brit. J. Exp. Biol.“ 7:1-13, 1923. — 17. JOST, A., PICON, L., JACQUOT, R.: Influence de la thyroïdectomie du fœtus de Lapin sur sa croissance et sur la teneur de son foie en lipides et en glycogène. = „f.J. de Physiol.“ 50:335-338, 1958. — 18. JOST, A., MOREAU, G., FOURNIER, C.: Date et ordre d'apparition des premiers centres d'ossification chez le fœtus de Rat normal ou soumis au propylthiouracile. = „Arch. Anat. micr. Morph. exp.“ 49:341-457, 1960. — 19. KISLOVSKI - LARCHIN: The periods of embryonic growth in cattle. = „J. of Agr. Sci.“ 14:476, 1931. — 20. KONEFF, A. A., NICHOLS, C. W., WOLF, G., CHAIKOFF, I. L.: The fetal bovine thyroid: Morphogenesis as related to iodine accumulation. = „Endocrinol.“, 45:282-244, 1949. — 21. KULIKOVA, V. A.: Anatomičeskije osobennosti nekotorych endokrinnich željaz u krupnogo rogatogo skota i ovec v svjazi s vozrastom. = „Vologda, Trudy“ 44:167, 1961. — 22. MAC CHAIRULO, H.: Sull'azione morfogenetica della tiroide embrionale. = „Boll. Soc. Ital. Biol. Sper.“ 5:942, 1930. — 23. NALBANDOV, A. V.: Symposium on growth endocrine causes of growth and growth stasis. = „J. Anim. Sci.“ 22 (2):558, 1963. — 24. PÍCHOVÁ D., PÍCHA J.: Štítná žláza a její funkční aktivita u domácích zvířat. = „Studijní informace UVTI“, „Veterinářství“ 1-2:3-88, 1964. — 25. PÍCHA J., PÍCHOVÁ D.: Váhový růst endokrinních žláz v prenatálním období u skotu. Nepublikováno. — 26. — SANDELL, E. B., KOLTHOFF, I. M.: Microdetermination of iodine by a catalytic method. = „Mikrochim. Acta“, 50:9, 1937. — 27. VERAÏN, A., VERAÏN - PINOY, M. A.: Métabolisme du radioiode par le fœtus de chat au voisinage du terme. = „C. R. Acad. Sc. F.“, 251:3079-3081, 1960. — 28. WEISS, R. M., NOBACK, C. R.: The effects of

thyroxin and thiouracil on the time of appearance of ossification centers of rat fetuses. = „Endocrinol.“ 45 : 389-395. — 1949. — 29. WOLFF, J. L., NICHOLS, C. W.: The accumulation of thyroxine-like and other iodine compounds in the fetal bovine thyroid. = „Endocrinol.“, 44 : 510-519, 1949.

Изменения содержания йодпротеина во внутриутробный период у крупного рогатого скота

Развитие содержания PBI в кровяной сыворотке плода крупного рогатого скота изучалось в возрасте от 65 до 286 дней внутриутробной жизни. До возраста 5—6 месяцев йодпротеин увеличивается очень медленно. Значительное повышение его уровня было отмечено на восьмом и десятом месяце развития плода.

Между возрастом эмбрионов и уровнем PBI в 100 мл сыворотки была установлена достоверная корреляционная зависимость $r = +0,863 \pm 0,105$ (диагр. № 2). Участие щитовидной железы в росте плода в период внутриутробного развития подтверждается следующими корреляционными коэффициентами: вес плода и содержание PBI в 100 мл сыворотки $r = +0,795 \pm 0,219$; сравнительное отношение PBI к абсолютному привесу в зависимости от возраста в месяцах $r = +0,992 \pm 0,036$.

Относительная величина PBI (PBI/100 г веса теля) к возрасту эмбрионов показывает отрицательную корреляционную зависимость $r = 0,769 \pm 0,160$, причем отрезки кривой отвечают фазам роста.

Changes of the Iodprotein Content during the Praenatal Period in Cattle

The development of the PBI content in the blood-serum of a bovine foetus was followed from the age of 65 days of intrauterine life. Iodprotein increases very slowly up to the age of 5—6 months. A marked increase of its level was recorded in the 8th and 9th foetal months.

A significant correlation-dependence $r = +0,863 \pm 0,105$ (graph No 2) was found between the age of the foetuses and the level of PBI in 100 ml of the serum. The following correlation-coefficients confirm that the thyroid gland takes part in the growth of the foetus in the praenatal period: the weight of the foetus and the content of PBI in 100 ml of serum $r = +0,795 \pm 0,129$; the relative ratio between PBI and absolute body weight increase according to the months of age $r = +0,992 \pm 0,036$.

The relative value of PBI (PBI : 100 g of body weight) compared with the age of foetuses shows a negative correlation-dependence $r = -0,769 \pm 0,160$, the sectors in the curve being in accordance with the growth-phases.

Veränderungen des Jodproteingehaltes im pränatalen Zeitabschnitt beim Rind

Die Entwicklung des PBI-Gehaltes im Blutserum des Rindfetus wurde im Alter von 65 bis 286 Tagen des intrauterinen Lebens verfolgt. Der Gehalt an Jodprotein erhöht sich bis zum Alter von 5—6 Monaten sehr langsam. Eine bedeutende Erhöhung seines Niveaus haben wir im achten und neunten Fetalmonate festgestellt.

Zwischen dem Fetusalter und dem PBI-Niveau in 100 ml Serum haben wir eine signifikante Korrelationsabhängigkeit $r = +0,863 \pm 0,105$ (graph. Darstellung Nr. 2) ermittelt. Die Beteiligung der Schilddrüse an dem Wachstum des Fetus im pränatalen Zeitabschnitt bestätigen die folgenden Korrelationskoeffizienten: das Fetusgewicht und PBI-Gehalt in 100 ml Serum $r = +0,795 \pm 0,129$; das relative Verhältnis des PBI zur absoluten Körpergewichtszunahme nach den Monaten des Alters $r = +0,992 \pm 0,036$.

Der relative Wert des PBI (PBI : 100 g Körpergewicht) zum Alter der Fetusse weist eine negative Korrelations-Abhängigkeit $r = -0,769 \pm 0,160$ auf, wobei die Abschnitte der Kurve mit den Wachstumsphasen übereinstimmend sind.

Adresy autorů:

Ing. Josef Pícha, MVDr. Drahomíra Píchová,
Ústřední výzkumný ústav živočišné výroby, Uhřetěves

OBSAH

Bartík M., Michnová E.: Polarografické stanovenie oxytocinázy a príspevok ku charakteristike aminopeptidáz	645
Dvořák J., Jambor V.: Vitamin C v některých druhích siláží	655
Vrzgula L., Gdovin T.: Obsah sodíka, draslíka, vápníka, fosforu a horčíka v krvnom sére u oviec	661
Šimko V.: Polosyntetická strava pre pokusy na krysách a morčatách	667
Procházka Z.: Studium tvorby kompletních a inkompletních protilátek u selat na <i>Salmonella cholerae suis</i> během jejich ontogenetického vývoje	675
Pícha J., Píchová D.: Změny v obsahu jodproteinu v prenatalním období u skotu	683

СОДЕРЖАНИЕ

Бартик М., Михнова Е.: Полярграфическое определение окситоциназы и характеристика аминопептидаз (652). — Дворжак Й., Ямбор В.: Витамин С в некоторых видах силоса (658). — Врзгула Л., Гдовин Т.: Содержание натрия, калия, фосфора и магния в сыворотке крови у овец (665). — Шимко В.: Полусинтетическая пища для опытов с крысами и морскими свинками (673). — Прохазка З.: Изучение образования полносоставных и неполносоставных антител у поросят <i>Salmonella cholerae suis</i> в ходе их онтогенетического развития (681). — Пиха Й., Пихова Д.: Изменения содержания йодпротеина во внутриутробный период у крупного рогатого скота (639).
--

CONTENT

Bartík M., Michnová E.: Polarographic Determination of Oxytocinase and a Contribution to the Characteristics of Aminopeptidases (652). — Dvořák J., Jambor V.: Vitamin C in Some Sorts of Ensilage (658). — Vrzgula L., Gdovin T.: Content of Na, K, Ca, P, and Mg in the Blood-Serum of Sheep (665). — Šimko V.: Semi-Synthetic Diet for Experiments in Rats and Guinea-Pigs (673). — Procházka Z.: Study of the Production of Complete and Incomplete Antibodies against <i>Salmonella cholerae suis</i> in Piglets during their Ontogenetic Development (681). — Pícha J., Píchová D.: Changes of the Iodoprotein Content during the Praenatal Period in Cattle (693).

INHALT

Bartík M., Michnová E.: Polarographische Bestimmung der Oxytozinase und Beitrag zur Charakteristik der Aminopeptidase (653). — Dvořák J., Jambor V.: Vitamin C in einigen Silagenarten (659). — Vrzgula L., Gdovin T.: Der Natrium-, Kalium-, Kalk-, Phosphor- und Magnesiumgehalt im Blutserum der Schafe (665). — Šimko V.: Halbsynthetische Nahrung bei Versuchen mit Ratten und Meerschweinchen (674). — Procházka Z.: Studium der Bildung der kompletten und inkompletten Antikörper bei Ferkeln gegen die <i>Salmonella cholerae suis</i> während ihrer ontogenetischen Entwicklung (682). — Pícha J., Píchová D.: Veränderungen des Jodproteingehaltes im pränatalen Zeitabschnitt beim Rind (693).
--

Bartík M., Michnová E.: Détermination polarographique de l'oxytocinase et contribution à la caractéristique des aminopeptases (res. An/652, Al/653). — Dvořák J., Jambor V.: Vitamine C dans certaines espèces d'ensilages (res. An/658, Al/659). Vrzgula L., Gdovin T.: Teneur en sodium, potassium, calcium, phosphore et magnésium dans le sérum sanguin des brebis (res. An/665, Al/665). Šimko V.: Nourriture semi-synthétique, destinée aux essais sur les rats et les cobayes (res. An/673, Al/674). — Procházka Z.: Etude de la formation des anticorps complets et incomplets chez les porcelets, contre *Salmonella cholerae* suis, au cours de leur développement ontologique (res. An/681, Al/682). — Pícha J., Píchová D.: Modifications de la teneur en protéine d'iode dans la période prénatale des bovins (res. An/693, Al/693).