

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

12

ČÍSLO 33 (LXI)
PROSINEC 1988
CENA 10 Kčs
ISSN 0375-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚĚLSTVÍ

Řídí redakční rada: akademik Jaroslav Otto Vrtiak (předseda), akademik Koloman Boďa, prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., ing. MVDr. Radomír Hromádko, prof. MVDr. Jozef Hrušovský, DrSc., prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., doc. MVDr. Evžen Jurák, DrSc., MVDr. Jaroslav Palásek, CSc., prof. MVDr. Mikuláš Pješčák, CSc., MVDr. Jozef Sokol, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Za vedení časopisu odpovídá akademik Jaroslav Otto Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková

OBSAH

Neumann J.: Sedmdesát let Vysoké školy veterinární v Brně	705
Dvořák R., Jagoš P., Hradilová M., Vospěl B., Branžovský F.: Vybrané ukazatele vnitřního prostředí vysokoprodukčních dojníc se zaměřením na energetický metabolismus při použití antiketogenního preparátu na bázi polyolů Liuos Asetona	709
Machatková M., Petelíková J., Horký F., Bílek R., Priesnitz J., Jokešová E.: Dlouhodobá kultivace dělených embryí skotu <i>in vitro</i>	721
Laurinčík J., Pivko J., Grafenau P., Oberfranc M.: Získávání oocytov aspiracíou preovulačních folikulov jalovic	727
Pástorová B., Arendarčík J.: Vplyv protrahovanej expozície gama-žiarenia (6,7 Gy) na aktivitu monoamínooxidázy v hypotalame oviec v anestrickom období	735
Jurajda V., Halouzka R.: Izolace patogenního viru Markovy nemoci z hejna kuřic vakcinovaných krůti herpetickou vakcínou	741

СОДЕРЖАНИЕ

Дворжак Р., Ягош П., Градилова М., Воспел Б., Бранжовски Ф.: Выбранные показатели внутренней среды высокопроизводительных дойных коров с направлением на энергетический метаболизм при применении антикетогенного препарата на базе полиолов Liuos Asetona	709
Махаткова М., Петеликова Й., Горки Ф., Билек Р., Присниц Й., Йокешова Э.: Длительная культивация разделенных эмбрионов коров <i>in vitro</i>	721
Лауринчик Й., Пивко Ю., Графенау П., Оберфранц М.: Получение ооцитов путем аспирации доовуляционных фолликулов телок	727
Пасторова Б., Арендарчик Й.: Влияние продленной экспозиции гамма-облучения (6,7 Gy) на активность моноаминоксидазы в гипоталамусе овец в анестрическом периоде	735
Юрайда В., Галоузка Р.: Изоляция патогенного вируса болезни Марека из стада кур, вакцинированных герпетической индийской вакциной	741

Sedmdesát let Vysoké školy veterinární v Brně

Sedmdesát let v životě člověka představuje prakticky jeho naplnění, v životě vědecké, školské nebo kulturní instituce je pouze úsekem historie, kterou již můžeme zodpovědně hodnotit, ale ve které lze také dále předpokládat růst a další vývoj.

Veterinární medicína se formuje jako ucelený studijní obor teprve v průběhu osmnáctého a na začátku devatenáctého století. Osmnácté století ukazuje na posláním zvěrolékařství — je věnována pozornost obrovským ztrátám zvířat v důsledku infekčních chorob a v armádě i v civilní dopravě narůstá význam koně jako dopravního a bojového prostředku. Kolébkou tvorby veterinárního, tehdy zvěrolékařského studia se stává Evropa. Vývoj jde v podstatě dvěma cestami. Buď vytvářením samostatných zvěrolékařských škol, často v návaznosti na vojenské jezdecké akademie nebo podkovářská učiliště již existující, nebo přednášením zvěrolékařství v neucelené formě v rámci výuky jiných vysokých škol, nejčastěji ve vazbě na studium lékařských fakult. Všeobecně se za první zvěrolékařskou školu na světě považuje škola založená v roce 1762 v Lyonu; na ni pak navazovala škola v Alfortu (1765), ve Vídni (1767) a v rychlém sledu následovaly školy další (Budapešť, Drážďany — dnešní Lipsko, Hannover, Milán aj.).

Pro vývoj naší veterinární medicíny nelze opomenout význam výuky zvěrolékařství na Univerzitě Karlově v Praze, kde byl v roce 1784 zaveden nový studijní řád, v jehož rámci se jednou z devíti disciplín přednášených na lékařské fakultě stalo i zvěrolékařství.

Na začátku devatenáctého století začala podobná výuka i na univerzitě v Olomouci. Tento systém zůstal v podstatě zachován až do vzniku samostatné Vysoké školy zvěrolékařské v Brně. Vídeňský systém dovozoval poměrně snadno absolvovat zvěrolékařská studia absolventům lékařských fakult, kteří se také často s problematikou nemoci zvířat setkávali ve vlastní kurativní praxi. Pro formování veterinární medicíny jako uceleného a samostatného oboru však podmínky vytvořeny nebyly. Zájemci o studium zvěrolékařství z českých zemí a ze Slovenska neměli vlastní vysokou školu a studovali převážně ve Vídni, v Budapešti a z menší části i na později zřízené škole ve Lvově. Vzhledem k rozsahu a vyspělosti našeho zemědělství to nebyla otázka zanedbatelná. Uvádí se, že na začátku dvacátého století bylo jen ve Vídni zapsáno 166 studentů Čechů. Závěrečná léta devatenáctého století a období začátku století dvacátého byla ve znamení stupňujícího se úsilí o vytvoření samostatné vysoké školy zvěrolékařské v českých zemích. Většina návrhů byla přímo zaměřena na její zřízení v Praze. Přes všechno úsilí byly jednotlivé požadavky vídeňskými úřady odmítány. Rychlý obrat nastal až po vyhlášení Československé republiky a rozpadu rakousko-uherské monarchie v roce 1918. Vyhlášením samostatné Československé republiky se naši studenti ve Vídni stali cizími státními občany a jako příslušníci národa často označovaného za viníka prohrané války byli hosty nežádoucími. Tuto skutečnost ještě zvyšovaly potíže hospodářské, rozvrat zásobování a stoupání nacionálního šovinismu, což vrcholilo začátkem prosince 1918, kdy byl českým, jihoslovanským a židovským studentům zastaven přístup na půdu školy.

12. prosince 1918 se na druhé pracovní schůzi usneslo Národní shromáždění na zákoně č. 76 o zřízení Vysoké školy zvěrolékařské v Brně. Byla to první vysoká škola zřízená v nové Československé republice a po technice druhá česká vysoká škola v Brně. Škola dostala do vínku budovy jezdeckých kasáren, z nichž mnohé měly význam spíše historický, a budovu zemské vychovatelny, na druhé straně však řadu nadšených a vynikajících učitelů — členů nového pedagogického sboru. Umístění školy v Brně bylo do jisté míry překvapující, snad rozhodla centrální poloha Brna v novém státním útvaru, ale přes všechny ještě dlouhou dobu uplatňované námitky lze tuto volbu v návaznosti na zemědělské podmínky označit za správnou. Již v listopadu 1919 se v aule české techniky schází profesorský sbor školy, aby zahájil její činnost. Rektorem byl zvolen prof. MUDr. E. Babák, vynikající fyziolog, organizátor a nadšený budovatel školy. Na novou školu, která zahájila svoji výuku 17. listopadu 1919, bylo zapsáno téměř 400 posluchačů. Škola si velmi rychle získala pevné postavení a plné uznání mezi ostatními vysokými školami a intenzivně se rozvíjela i mezinárodní spolupráce. Studovali na ní i mnozí zahraniční studenti, zejména Bulhaři, Jihoslované a Poláci. Při příležitosti léčení v Karlových Varech přednášel na škole již v roce 1924 charkovský mikrobiolog prof. Dědulin o sovětském veterinárním školství, navštěvovali ji zahraniční odborníci z Polska, Švédska, Francie, Jugoslávie a v roce 1933 rektor vídeňské školy prof. Wirth. Naopak profesori brněnské školy navštěvovali v tomto období téměř všechny evropské státy i zámoří (prof. Příbýl a Lenfeld USA, Bečka Kanadu), rozvíjely se studentské výměny do Francie, Polska, Rumunska, Jugoslávie a Bulharska. V roce 1936 organizovala mladá generace veterinárních lékařů v čele s profesory Vrtišem a Vackem zájezd do Moskvy, Leningradu, Charkova a Kyjeva.

Významným mezníkem vývoje a orientace školy je rok 1936, kdy byl vládním nařízením č. 114 Sb. vydán nový studijní a zkušební řád školy. Tehdy se poprvé objevil termín Vysoká škola veterinární. Škola je školou univerzitního směru a platí pro ni závazné předpisy platné pro fakulty univerzit. V té době však došlo i k vyhrocení mezinárodní situace, krátce potom k mobilizaci, Mnichovu a v březnu 1939 k obsazení našeho státu. Mezi prvními byl zatčen prof. Lenfeld, který na následky věznění a vyšetřování zemřel v květnu roku 1939 jako vůbec první oběť z řad učitelů brněnských vysokých škol.

Situace v okupovaném území pak vrcholila za několik měsíců tragickými událostmi v listopadu 1939, kdy došlo k uzavření českých vysokých škol, popravám a deportacím českých studentů a spolu s nimi pak k persekuci vysokoškolských učitelů a zaměstnanců, z nichž mnozí se již nikdy na svoji školu ke svému studiu ani k práci nevrátili.

V roce 1942 umírají v nacistickém koncentračním táboře Mathausen prof. Bečka a prof. Vacek. V koncentračních táborech zemřelo také sedm studentů — veterinárních ineditů — a zaměstnanci Havlíček a Šilhánek. Část budov VŠV byla v době protektorátu uzavřena, část byla ponechána ve funkci nemocnice a diagnostického zařízení. Po osvobození sloužily krátce objekty školy jako sběrný zajatecký tábor.

Škola, jejíž činnost trvala přesně 20 let, tj. od 17. listopadu 1919 do 17. listopadu 1939, se ihned po osvobození města Brna Sovětskou armádou vrátila k obnově. Ještě v dubnových dnech pověřil Národní výbor pro Brno profesory Vrtiše a Příbyla, aby zahájili jednání a přípravu

k obnovení činnosti Vysoké školy veterinární v Brně. K 1. červnu 1945 byl jmenován prvním poválečným rektorem prof. Hykeš. Úkoly kladené na vedení školy byly nesnadné. Vysoké stavy posluchačů po šestiletém násilném přerušení studia, nutnost řešit urychlené dokončení studia u těch, jejichž studium bylo přerušeno válkou, rekonstrukce a zajištění základního vybavení zničeného válkou jsou jen malým výčtem z nepřehledné řady úkolů, na jejichž plnění obnova školy závisela. K 31. prosinci 1945 měla škola 9 profesorů, 5 docentů, 4 suplenty, 17 asistentů, 8 úředníků, 48 zřízenců a 20 pomocných sil. Velké potíže s rekonstrukcí, pomalý postup v dobudovávání pedagogického sboru a další problémy vedly k tomu, že znovu přicházely návrhy řízené zejména ze Zvěrolékařské komory v Praze, aby škola byla převedena do Prahy jako fakulta a připojena k Univerzitě Karlově. Tento názor, který podpořily i další instituce, se však nesetkal s kladným ohlasem na Univerzitě Karlově samé. Naproti tomu se v pozdějších letech ucházela různá města o zřízení další vysoké školy veterinární. Reálná situace se vytvořila na Slovensku, kde byl již v roce 1947 ustaven přípravný výbor pro zřízení Vysoké školy veterinářské v Košicích. Zákonem Slovenské národní rady z 16. prosince 1949 byla zřízena sesterská vysoká škola v Košicích; svoji činnost zahájila od školního roku 1949/50. Únor 1948, IX. sjezd KSČ a úkoly spojené s budováním socialismu na vesnici cestou přeměny dosavadní zemědělské malovýroby na socialistickou velkovýrobu postavily obě vysoké školy veterinární před plnění nových, kvalitativně odlišných úloh. Je třeba si uvědomit, že např. v roce 1950 ukončilo studium na VŠV v Brně 175 absolventů, v roce 1951 210 a v roce 1952 dokonce 246. Tedy počty, které nikdy dříve neměla a na které nebyla kapacitně vybavena. K tomu přistupují reformy a úpravy studia, které muselo zabezpečit přípravu veterinárních lékařů v nových podmínkách.

Vzniká státní veterinární služba a škola se již v padesátých letech aktivně podílí na zavádění prvních forem postgraduálního studia. Upravila se návlň jednotlivých výukových předmětů a vznikly nové předměty odpovídající charakteru a potřebám školy. I řízení vysokých škol se změnilo. Od školního roku 1952/53 byla škola jako fakulta přičleněna k Vysoké škole zemědělské v Brně, a tím pak od 1. ledna 1953 přešla jako všechny školy zemědělského směru pod řízení ministerstva zemědělství, lesů a dřevařského průmyslu. Toto roztržité řízení vysokých škol podle resortních ministerstev se neosvědčilo a po třech letech se zemědělské školství vrátilo do řízení ministerstva školství a kultury. Přestože šlo o změny podstatné, působnost a zaměření školy ve výuce i výzkumu zůstala i nadále orientována na řešení nejzávažnější problematiky nových forem živočišné výroby. Spolu se státní veterinární službou se aktivně podílela na likvidaci nebezpečných nákaz, především tuberkulózy a brucelózy, a na rozvoji preventivně léčebné veterinární péče opírající se o moderní diagnostiku a o využívání nejúčinnějších biopreparátů a léčiv. Likvidace nebezpečných nákaz spolu s budováním moderního systému veterinární péče patří mezi největší úspěchy veterinární medicíny šedesátých let.

Na sklonku šedesátých let vyvrcholily snahy o opětné osamostatnění školy. V roce 1969 se znovu stala samostatnou Vysokou školou veterinární a opět byla zařazena mezi školy univerzitního směru. Počátkem sedmdesátých let se stupňovaly snahy o prosazení moderního typu socialistické vysoké školy. Bylo poukázáno na to, že systém státní veteri-

nární služby umožňuje a vývoj vědeckých poznatků spolu s potřebami praxe vyžaduje opustit dosud tradiční zaměření výchovy všestranně orientovaného veterinárního lékaře a přejít k základní specializaci ve dvouoborovém studiu na všeobecné veterinární lékařství a na veterinární lékařství hygieny potravin. Tyto snahy se podařilo prosadit v polovině sedmdesátých let, kdy byla na obou školách — v Brně i v Košicích — vytvořena dvouoborová studia. Škola tím uplatňuje svoji komplexnost zabezpečovat péči o zdraví zvířat a o produkci zdravotně nezávadných a biologicky plnohodnotných potravin živočišného původu od prvovýroby až po jejich zpracování. Pozitivní výsledky práce Vysoké školy veterinární v Brně byly v roce 1976 oceněny udělením Řádu práce. V té době představovala škola vysoce aktivní vysokoškolské učiliště, známé a uznávané na celém světě. Rozvíjely se družební a smluvní styky s veterinární fakultou ve Wroclavi, s Univerzitou veterinárních věd v Budapešti, Univerzitou K. Marxe v Lipsku, Moskevskou veterinární akademií, s Kišiněvem, Sarajevem, s veterinárními fakultami v Havaně a v Bayamo na Kubě, s veterinární fakultou v Bernu a široká spolupráce se školami dalšími.

Školu navštěvují pracovníci vysoké vědecké úrovně a vyslovují se pochvalně o její vědecké a pedagogické úrovni. Učitelé školy pracují jako experti na dlouhodobých i krátkodobých pobytech v mnoha zemích (Kuba, Alžír, Mozambik, Sudán, Mexiko). Zejména vysoké úrovně je dosaženo ve spolupráci s Kubou, kde je pomoc československé veterinární medicíny a veterinárního školství mimořádně kladně ceněna. Škola zřizuje třetí studijní obor — tropickou veterinární medicínu, a podílí se tak na soustavném zkvalitňování přípravy studentů z rozvojových zemí. Počet studentů z těchto zemí každoročně vzrůstá. Škola se stává nositelkou základního výzkumu v oblasti veterinární medicíny a podílí se na výzkumných úkolech v rozvoji vědy a techniky. Výrazně pomáhá praxi v řešení aktuálních problémů i zaváděním nových poznatků zejména v oblasti reprodukce a preventivní diagnostiky. Úzce spolupracuje s podniky potravinářského průmyslu i s dalšími výrobními jednotkami cestou smluvní spolupráce i formou vědeckovýzkumných sdružení.

Významnou úlohu mají školní zemědělské podniky Nový Jičín a Nový Dvůr, budované jako účelová zařízení sloužící vedle plnění výrobních úkolů i jako výuková pracoviště a vědecké základny.

Velká pozornost je věnována soustavné modernizaci výchovně vzdělávacího procesu i modernizaci přístrojové. Do druhé poloviny osmdesátých let vstupuje škola s programem elektronizace při uplatňování výpočetní techniky a nových způsobů řízení ve výuce i ve výzkumu. Jednotlivcům i kolektivům školy byla udělena vysoká státní a resortní významnosti.

Sedmdesáté výročí zastihuje Vysokou školu veterinární v aktivní činnosti zaměřené na plnění úkolů XVII. sjezdu KSČ, na prosazování zásad přestavby naší společnosti s cílem soustavně zkvalitňovat přípravu našich absolventů pro potřeby zemědělsko-potravinářského komplexu a přispívat k dalšímu rozvoji veterinární medicíny tak, jak vyplývá z dlouhodobých prognóz tohoto odvětví.

Prof. MVDr. Jaroslav Neumann, DrSc.
dopisující člen ČSAZ
rektor Vysoké školy veterinární v Brně

VYBRANÉ UKAZATELE VNITŘNÍHO PROSTŘEDÍ VYSOKOPRODUKČNÍCH DOJNIC SE ZAMĚŘENÍM NA ENERGETICKÝ METABOLISMUS PŘI POUŽITÍ ANTI-KETOGENNÍHO PREPARÁTU NA BÁZI POLYOLŮ LIUOS ASETONA

R. Dvořák, P. Jagoš, M. Hradilová, B. Vospěl, F. Branžovský

DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — HRADILOVÁ, M. — VOSPĚL, B. — BRANŽOVSKÝ, F. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Vybrané ukazatele vnitřního prostředí vysokoprodukčních dojníc se zaměřením na energetický metabolismus při použití antiketogenního preparátu na bázi polyolů Liuos Asetona.* Veter Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 709-719.

Ověřovali jsme vliv antiketogenního preparátu Liuos Asetona na vybrané ukazatele vnitřního prostředí u vysokoprodukčních dojníc s napjatou energetickou bilancí. Preparát jsme podávali na konci zimního období a v přechodném období při převádění zvířat na letní krmnou dávku. Dojnice byly rozděleny do tří souborů A, B, C. U souboru A byl preparát aplikován dojnícím po porodu v krátkodobé dynamice 28 dnů v dávce 400 ml na kus a den. U souboru B byl preparát aplikován rovněž v krátkodobé dynamice 28 dnů dojnícím před porodem a po něm v dávce 300 ml na kus a den. Dojnicím v souboru C byla Liuos Asetona podávána před porodem a po něm v dlouhodobé dynamice v dávce 400 ml na kus a den po dobu 78 dnů. Metabolické procesy byly sledovány pomocí vybraných ukazatelů vnitřního prostředí: pH, pCO₂, BE, SB, Hb, hematokrit, celková bílkovina, glukóza, močovina, transaminázy ALT, AST, beta-karotén, vitamín A a E, celkové lipidy, cholesterol, neesterifikované mastné kyseliny (NEMK), ketolátky, triglyceridy. Vliv preparátu se neprojevil signifikantními rozdíly mezi skupinami. Z průměrných hodnot některých sledovaných ukazatelů lze však usuzovat na pozitivní ovlivnění metabolických procesů (vyšší hladina glukózy a nižší hladina NEMK u pokusných skupin v souborech A a B, nižší hladina celkových ketolátek v souboru B a acetonu a kyseliny octové v souboru A a C). Aplikace preparátu v dávce 400 ml na kus a den dojnícím po porodu byla neúčinnější. antiketogenní preparát Liuos Asetona; dojnice; metabolický profil; vnitřní prostředí

Mléčná produkce se za posledních 20 let v chovatelsky vyspělých zemích zvýšila o 25 % (Hibbit, 1979).

Důsledkem zvyšující se užitkovosti jsou však také zdravotní, produkční a reprodukční rizika, vyplývající z přetížení látkového metabolismu vysoce užitkových zvířat. Energetický metabolismus u dojníc je orientován spíše na využití těkavých mastných kyselin vznikajících při bachorové fermentaci, než na vlastní sacharidy resorbované ze střeva. Pouze nepatrné množství glukózy je zajišťováno přímo z potravy. Většina specifických požadavků na glukózu je kryta syntézou z glukogenních prekurzorů, zejména propionátu, glukogenních aminokyselin a laktátu (Hibbit, 1979). Početné studie ukázaly, že acetát není glukogenní

sloučeninou. Kyselina máselná jako třetí hlavní mastná kyselina vznikající při bachorové fermentaci již při přestupu přes bachorovou stěnu je transformována na kyselinu beta-hydroxymáselnou, která je ketogenní (Kanneko a Cornelius, 1970).

Mezi nejčastější poruchy energetického metabolismu dojníc náleží ketózy. Porucha většinou propukne po porodu při rychle se zvyšující laktaci. Na etiologii vzniku se v největším počtu případů uplatňují vlivy metabolicko-hormonální, často spojené přímo nebo nepřímo s nedostatečným přísunem energie, nebo při vysokém přísunu exogenního butyrátu v nekvalitních silážích. V našich podmínkách jsou ketózy dojníc častým onemocněním vyvolávaným krmnými dávkami, které plně nekryjí potřebu živin při dosahované mléčné užitkovosti (Jagoš aj., 1985). Etiologická agens stavů subklinické ketonemie jsou předmětem četných diskusí. Nemalou pozornost je třeba věnovat i nadbytečnému přísunu proteinu při nevyrovnaných krmných dávkách (Schulz, 1968).

Subklinická a klinická ketóza postihuje 11 až 32 % vysokoprodukčních dojníc v prvních dvou měsících laktace (Schäffer, 1976; Dohoo a Martin, 1984).

Opatření, která mohou snížit nebezpečí vzniku poruch energetického metabolismu, zahrnují použití různých glukoplastických látek nebo léčiv na začátku laktace; jsou to např. propionáty, glycerol, propylenglykol, laktát a další prekursor pro syntézu glukózy (Pehrson, 1972).

Před několika lety byl ve Finsku firmou Farmous Group vyvinut preparát na bázi alkoholických cukrů (polyolů) s přídavkem propylenglykolu, propionátu sodného a melasy pod obchodním názvem LIUOS ASE-TONA k prevenci poruch energetického metabolismu (Dvořák aj., 1988).

Úkolem práce, jejíž výsledky předkládáme, bylo posoudit vliv preparátu na průběh metabolických procesů pomocí vybraných ukazatelů vnitřního prostředí.

MATERIÁL A METODY

Charakteristiku a historii vzniku preparátu jsme popsali v dřívější práci (Dvořák aj., 1988).

METODICKÝ POSTUP PŘI REALIZACI POKUSŮ

K pokusu bylo vybráno 40 vysokoprodukčních dojníc, jejichž užitkovost se pohybovala od 3600 do 6800 l mléka za laktaci. V převážné většině se jednalo o zvířata s užitkovostí nad 4800 l mléka. Vybrané dojnice byly rozděleny do tří souborů: A, B, C (Dvořák aj., 1988). V rámci každého souboru byla systémem analogů sestavena pokusná a kontrolní skupina.

Výběr dojníc, odběr vzorků a krmná dávka byly již popsány (Dvořák aj., 1988).

Krmná dávka souborů A a B odpovídala produkci asi 10 l mléka při tučnosti 4,0 až 4,5 %. Použitá krmná dávka u souboru C kryla potřebu živin zhruba na 18 l mléka. U dojníc s vyšší užitkovostí byla potřeba živin kryta individuálním přídavkem jaderné směsi.

Metabolický profil byl sledován se zaměřením na ukazatele energetického metabolismu. Metodika pokusu vycházela z předpokladu, že u vysokoprodukčních dojníc během laktace dojde k negativní energetické bilanci, charakterizované zvýšenou tvorbou ketolátek a změnami dalších parametrů vnitřního prostředí, které budou v určitém rozsahu kompenzovány aplikací antiketogenního přípravku.

Vzorky krve byly odebírány za tři až čtyři hodiny po nakrmení. Ve venózní krvi z *v. jugularis* byly z acidobazických hodnot sledovány: pH krve, pCO₂, BE (base excess — přebytek bázi) a standardní bikarbonát SB. Acidobazické hodnoty v krvi byly stanoveny Astrupovou ekvilibrační metodou na přístroji BME-22 za použití Siggaard-Andersenova nomogramu (Siggaard-Andersen aj., 1960). Transaminázy plazmy ALT (GPT), AST (GOT), celková bílkovina (CB), cholesterol, močovina a triglyceridy byly stanoveny testy firmy Lachema. Neesterifikované mastné kyseliny (NEMK) byly stanoveny testem fy Boehringer. Ketolátky a jejich jednotlivé frakce (aceton, kyselina acetoctová, kyselina beta-hydroxymáselná a celkové ketolátky) byly určovány plynovou chromatografií na přístroji CHROM IV s použitím „Head space“ techniky (Hradecký aj., 1981). Rovněž byl stanoven procentuální poměr ketolátek oxidovaných ke ketolátkám celkovým (O/T). Beta-karoten byl stanoven fotometricky metodou modifikovanou podle Knoblocha (1956). Vitamíny A a E v krevní plazmě byly stanoveny metodou fluorescenční spektrofotometrie. Z hematologických ukazatelů byl stanoven hemoglobin, hematokrit, počet erytrocytů a leukocytů na analyzátoru COULTER COUNTER, model ZP 6, fy Coulter Electronic LTD. Výsledky byly zhodnoceny statisticky T-testem na počítači HP 10.

VÝSLEDKY

Hodnoty ukazatelů acidobazické rovnováhy (pH, pCO₂, BE, SB) nepoukázovaly během pokusu na výrazné poruchy acidobazické homeostázy. pH krve u všech souborů a skupin bylo poněkud snižené, což bývá zjišťováno při zkrmování kyselejších siláží.

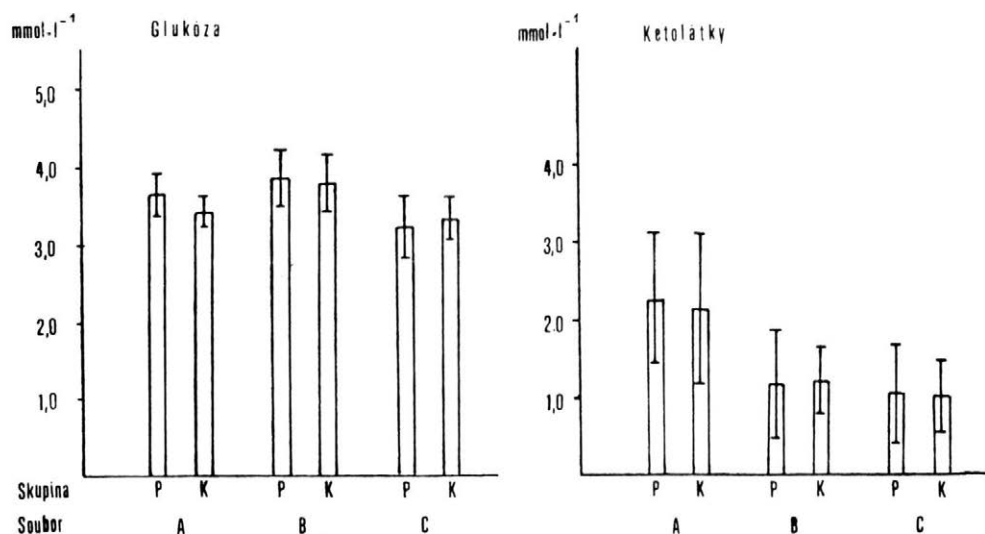
Hemoglobin byl středně snížen u všech souborů a skupin, z toho více u skupiny kontrolní než pokusné. Hodnoty hematokritu se pohybovaly po celé sledované období v rámci referenčních hodnot u všech souborů a skupin. V hladinách celkové bílkoviny, glukózy a močoviny nebyly v průběhu aplikace preparátu zjištěny signifikantní rozdíly mezi skupinou pokusnou a kontrolní, i když pokusná skupina měla hladiny poněkud

I. Průměrné množství ($\bar{x}$) hematokritu a hemoglobinu v krvi, celkové bílkoviny a lipidů v krevní plazmě u jednotlivých souborů a skupin s vymezením směrodatné odchylky (s) — The average amounts ($\bar{x}$) of haematocrit and haemoglobin in the blood, total protein and lipids in the blood plasma in the different sets and groups (with the indication of standard deviation s)

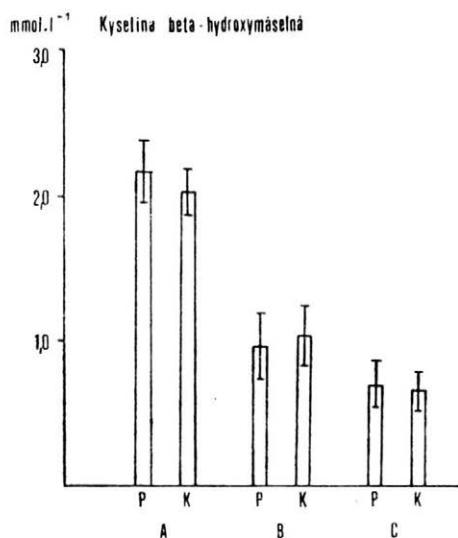
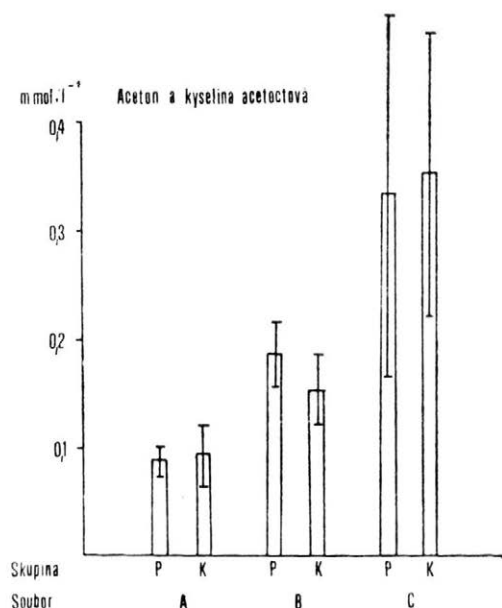
Materiál		Krev, plazma					
Soubor		A		B		C	
Ukazatele		P	K	P	K	P	K
Hematokrit l.l ⁻¹	$\bar{x}$	0,357	0,328	0,370	0,373	0,336	0,328
	s	0,016	0,033	0,030	0,054	0,040	0,040
Hemoglobin g.l ⁻¹	$\bar{x}$	67,96	61,46	67,47	70,73	72,02	70,32
	s	3,20	7,40	14,90	11,50	13,20	5,10
Celková bílkovina g.l ⁻¹	$\bar{x}$	73,22	70,80	79,80	75,00	73,33	70,96
	s	7,54	4,52	7,45	5,10	5,24	7,52
Celkové lipidy g.l ⁻¹	$\bar{x}$	4,64	4,55	4,30	3,54	3,80	3,44
	s	1,20	1,33	0,88	0,79	0,82	0,75

vyšší u souboru A a B. Rovněž nebyly zjištěny změny v aktivitách transamináz ALT a AST, jejichž stanovení bezprostředně nesouvisí s energetickým metabolismem, ale mají vztah k přetížení metabolismu a poškození jater. Beta-karotén ukazoval snížené hodnoty jen u souboru C, a to u obou skupin, což bylo dáno horší kvalitou objemných krmiv. Vitamíny A a E byly u všech souborů a skupin v rozmezí referenčních hodnot. Ani u celkových lipidů a cholesterolu se neprojevovaly výrazné změny. Hodnoty vybraných klinicko-biochemických ukazatelů jsou uvedeny v tab. I. Při sledování hladin celkových ketolátů v krvi jsme nezjistili signifikantní rozdíly mezi skupinou pokusnou a kontrolní. U souboru A se však množství ketolátů zvýšilo nad hranici referenčních hodnot u obou skupin, z toho více u skupiny pokusné, při aplikaci 400 ml na kus a den (obr. 1). Pokud se týká jednotlivých frakcí ketolátů, byly aceton a kyselina acetoctová nesignifikantně nižší u pokusných skupin v souborech A a C, ale naopak kyselina beta-hydroxymáselná byla v těchto souborech u pokusných skupin nesignifikantně vyšší (obr. 2). Hladiny triglyceridů byly zvýšeny u souboru B a C nad referenční rozmezí u obou skupin. U souboru B bylo zvýšení větší u skupiny pokusné, u souboru C tomu bylo naopak. Hodnoty triglyceridů souboru A byly v mezích referenčních hodnot téměř stejné u obou skupin (obr. 3).

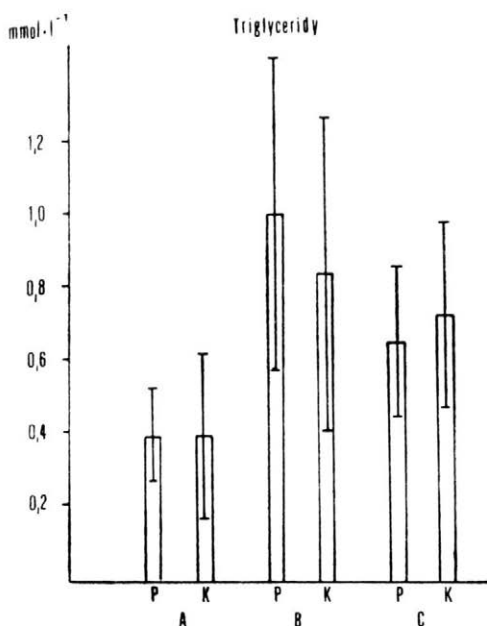
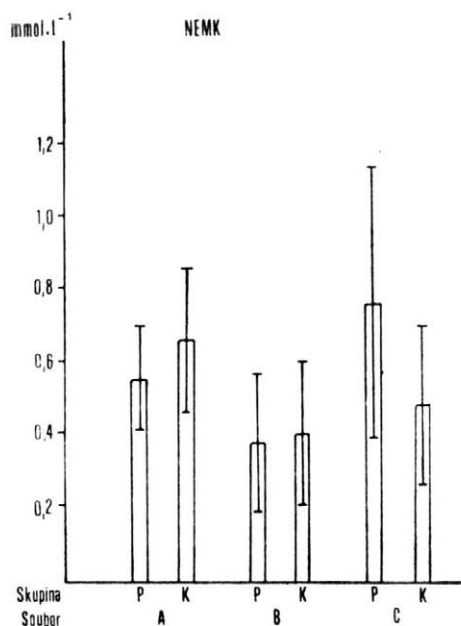
Neesterifikované mastné kyseliny (NEMK) krevní plazmy byly zvýšeny u všech souborů a skupin, z toho u skupiny pokusné souboru A a B byly hodnoty NEMK nižší než u skupin kontrolních, což by svědčilo o jistém vlivu preparátu (obr. 3). Vliv přípravku Liuos Asetona aplikovaného krátkodobě zvířatům po porodu v dávce 400 ml na kus a den u souboru A se zdá být větší než při aplikaci jen 300 ml na kus a den u souboru B. U souboru C v dlouhodobé dynamice při aplikaci 400 ml na kus a den byl pozorován opačný trend a aplikace preparátu hladinu



1. Průměrné množství glukózy a celkových ketolátů v krevní plazmě u jednotlivých souborů a skupin s vymezením směrodatné odchylky — The average amounts of glucose and total ketone bodies in the blood plasma in the different sets and groups (with the indication of standard deviation)



2. Průměrné množství acetonu, kyseliny acetoctové a kyseliny beta-hydroxymáselné v krvi u jednotlivých souborů a skupin s vymezením směrodatné odchylky — The average amounts of acetone, acetoacetic acid and beta-hydroxybutyric acid in the blood of the different sets and groups (with the indication of standard deviation)



3. Průměrné hodnoty neesterifikovaných mastných kyselin (NEMK) a triglyceridů v krevní plazmě u jednotlivých souborů a skupin s vymezením směrodatné odchylky — The average amounts of non-esterified fatty acids (NEFA) and triglycerides in the blood plasma in the different sets and groups (with the indication of standard deviation)

volných mastných kyselin neovlivnila. Zjištěné rozdíly nedosáhly statistické významnosti.

V tabulkách a grafech jsou uvedeny výsledky těch ukazatelů, které mají bezprostřední vztah k energetickému metabolismu nebo jejichž rozdíly mezi pokusnými a kontrolními skupinami dosáhly statistické významnosti.

DISKUSE

Sledovali jsme vliv aplikace antiketogenního preparátu Liuos Asetona na vybrané ukazatele energetického metabolismu vysokoprodukčních dojnic. Ze získaných výsledků je zřejmé, že sledované ukazatele nebyly preparátem signifikantně ovlivněny. Z obr. 1 a 3 je však patrný nevýrazný posun hladin poukazující na vliv antiketogenního preparátu u souboru A a B, kde u pokusných skupin byly zjištěny poněkud vyšší hladiny krevní glukózy a nižší hladiny NEMK. Glukóza sama o sobě není příliš citlivý ukazatel energetického metabolismu. Různý stupeň hypoglykemie je zjišťován teprve tehdy, jedná-li se o spontánní ketózu s klinickými příznaky (Baird aj., 1974). Odchytky glykemie od normálu jsou sice významným diagnostickým znakem, ale interpretace jejich patogeneze a etiologie je složitá a musí být vztažena k dalším biochemickým nálezům a nutričním podmínkám (Lebeda aj., 1983). Glukóza je významným zdrojem pohotové energie zvláště pro dojnice v první fázi laktace, a tím hraje také důležitou roli ve vzniku ketózy. Projevy hypoglykemie nebo tendence k hypoglykémii už lze považovat za projev poruchy metabolismu a objasnění je možné jen komplexním vyšetřením (Kronfeld, 1971). Vliv přídavku polyolů na obsah glukózy v krvi studovali také Mäkinen aj. (1981). Ve srovnávacím experimentu použili krmné dávky s přídavky polyolů, melasy a bez přídavku pohotových prekurzorů glukózy. Ve své studii nezjistili ani tito autoři signifikantní změny v hladinách glukózy mezi jednotlivými sledovanými skupinami dojnic.

Stanovení hladin neesterifikovaných mastných kyselin (NEMK) lze považovat za senzitivní index nutričního stavu (Russell aj., 1967; Lebeda a Přikrylová, 1980). Hladiny NEMK se zvyšují již před vznikem hypoglykemie a hyperketonemie. Bowden (1971) považuje za nejlepší indikátory při zjišťování nutričního stavu hladiny glukózy, NEMK a ketolátek. Hladina NEMK se zvyšuje při nedostatku pohotové glukózy, když organismus je nucen získávat glukózu cestou intenzivní glukoneogenezy. Existuje přirozené denní kolísání, které je zvýrazněno podílem jaderných krmiv v dietě. Nejnížší hodnoty se objevují několik hodin po příjmu krmiva (Radloff, 1966). NEMK jsou uvolňovány do plazmy ze zásobních lipidů a transportovány v reverzibilní vazbě na plazmový albumin (Dale aj., 1979). U zvířat souboru A a B, kterým byl aplikován antiketogenní preparát Liuos Asetona, jsme zjišťovali poněkud nižší hladiny NEMK. Pokles koncentrace NEMK u pokusných dojnic by odpovídal zvýšenému přísunu glukogenních prekurzorů do organismu zvířat v důsledku aplikace antiketogenního preparátu. Kromě dotace energie v krmných dávkách působí na obsah NEMK další produkční, nutriční, hormonální a reprodukční faktory, u březích krav zejména vliv růstového hormonu a ACTH, který stimuluje lipolýzu tukové tkáně, způso-

buje tukovou infiltrací jater, ketózu a negativní dusíkovou bilanci (Campbell aj., 1965). Tyto, popřípadě další faktory mohly ovlivnit hladinu NEMK v neprospěch pokusné skupiny dojnic v souboru C.

V rámci metabolického profilu v průběhu experimentů byla sledována také koncentrace cholesterolu, jejíž zvýšení může signalizovat poškození jater. Podobně jako finští autoři Mäkinen aj. (1981) jsme nezjistili rozdíly mezi pokusnými a kontrolními zvířaty v průběhu experimentu v hladinách cholesterolu v krevním séru.

Triglyceridy krevní plazmy jsou výrazněji ovlivněny letním a zimním typem krmné dávky než fází laktace nebo reprodukčního cyklu. Jejich metabolismus je silně ovlivňován celkovým příjmem energetických živin (Lebeda aj., 1983). Údajů o fyziologických hladinách triglyceridů existuje poměrně málo. Jagoš aj. (1981) uvádějí pro dojnice plemene černostrakaté $0,568 \pm 0,353 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, pro dojnice plemene červenostrakaté $0,512 \pm 0,332 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ a pro býky $0,639 \pm 0,364 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Lebeda aj. (1983) udávají hodnoty pro dojnice v rozmezí $0,342 \pm 0,171 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. U pokusných zvířat souboru A a B zjišťujeme poněkud vyšší hladiny triglyceridů, což by v návaznosti na nižší hladiny NEMK u těchto dojnic svědčilo pro vyšší dotaci pohotové energie v důsledku použití antiketogenního preparátu. U souboru C naopak zjišťujeme u pokusných zvířat nižší hladinu triglyceridů, což je však v nápadné shodě s vyšší koncentrací NEMK u těchto dojnic. K těmto výsledkům je třeba poznamenat, že pokus C probíhal v jiném zemědělském závodě a při poněkud odlišné krmné dávce než v případě souborů A a B. Přestože byla zvířata do skupin vybírána s ohledem na očekávanou produkci a podle délky gravidity, zřejmě v tomto případě jisté individuální rozdíly mezi zvířaty hlouběji ovlivnily úroveň energetického metabolismu.

Také sledování ketolátek v krvi, moči a mléce má cenný diagnostický význam. Jistý stupeň ketonemie je podle některých autorů přirozeným jevem u vysokoprodukčních dojnic a teprve zvíře postižené spontánní ketózou se dostává mimo tento přirozený metabolický rozsah (Baird aj., 1974). Ketózami jsou postiženy především dojnice s vysokou užitkovostí v první fázi laktace. Za horní hranici celkových ketolátek v krvi je považována hladina $1,72 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ (Jagoš aj., 1977). Vrzgula (1980) považuje za fyziologickou hladinu $0,34$ až $1,20 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, Šarabrin aj. (1972) hladinu $0,43$ až $1,29 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$, Hradecký aj. (1981) hladinu $1,24 \pm 0,5 \text{ mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Pokud se týká hladin jednotlivých frakcí ketolátek, zjišťujeme u jednotlivých souborů mezi pokusnými a kontrolními dojnicemi jisté rozdíly v hladinách acetonu a kyseliny acetoctové a rovněž tak u kyseliny beta-hydroxymáselné. Jelikož však trendy v koncentracích uvedených frakcí byly právě opačné, rozdíly v hladinách celkových ketolátek mezi skupinami pokusnými a kontrolními v jednotlivých souborech A, B a C byly nepatrné.

V hladinách jaterních transamináz jsme nezjistili změny, které by bylo možné přičítat vlivu použitého antiketogenního preparátu. Naše výsledky můžeme srovnat s prací autorů Mäkinen aj. (1981), kteří dospěli ke stejným závěrům. V souladu s uvedenými pracovníky jsme nezjistili ani rozdíly koncentrací celkové bílkoviny. Mäkinen aj. (1981) sledovali ještě aminokyselinové spektrum krevního séra. V zastoupení jednotlivých aminokyselin nezjistili signifikantní rozdíly. Podle Mäkinena (1978) však může aplikace xylitolu zvýšit hladiny některých aminokyselin, například glycinu, u zvířat s deficiencí thiaminu.

Vzhledem k tomu, že většina rozdílů hodnot sledovaných ukazatelů mezi skupinou pokusnou a kontrolní nebyla signifikantní, lze konstatovat, že antiketogenní preparát Liuos Asetona sám o sobě nemůže výrazně zasáhnout do energetického metabolismu, jestliže je organismus narušen deficitem nebo špatným živním poměrem v důsledku skutečnosti, že nebyla respektována diferencovaná výživa vysokoprodukčních dojnic podle fáze laktace. Pozitivní vliv preparátu můžeme spatřovat ve vyšších hladinách glukózy, nižších hladinách NEMK a celkových ketolátů v souboru B a acetonu a kyseliny acetové v souboru A a C u pokusných skupin. U pokusných skupin lze rovněž pozorovat příznivější ukazatele acidobazického stavu v krvi, moči a bachu (Dvořák aj., 1987). Z rozdílů výsledků, které nebyly signifikantní, se ukazuje, že krátkodobá aplikace antiketogenního preparátu (28 dnů) v dávce 400 ml na kus a den byla účinnější než v dávce 300 ml a účinnější než dlouhodobá aplikace v dávce 400 ml na kus a den. Ze sledovaných ukazatelů bylo zřejmé, že byly více ovlivňovány zastoupením a poměrem živin v krmné dávce než antiketogenním preparátem.

Použitím antiketogenního preparátu lze krátkodobě řešit napjatou energetickou bilanci u vysokoproduktivních dojnic, nikoliv však nahrazovat zásadní nedostatky v krmné dávce. Chyby ve výživě dojnic v době zaprahnutí často vedou k poruchám energetického metabolismu. U dojnic, které si v době zaprahnutí vytvářejí značné tukové rezervy, se v nastupující laktaci uvolňuje velké množství rozkladných produktů, které zvyšují nároky na metabolismus jater, ale jsou v malé míře přímo využitelné pro syntézu mléka. Zvýšenou oxidací mastných kyselin se zvyšuje produkce a kumulace acetyl-CoA. Acetyl-CoA nemůže být využit v cyklu trikarbonových kyselin v adekvátním množství, což je způsobeno nedostatkem oxalacetátu, a metabolická cesta se uchyluje k tvorbě ketolátů (Baird aj., 1972; Hibbit, 1979). Nadprodukce ketolátů se potom může objevit na začátku laktace i při poměrně nízké dojivosti. Tento stav nelze ztotožňovat s bovinní ketózou, poněvadž hladina glukózy je u těchto zvířat nezměněna. Jde o poruchu označovanou jako adipózohepatální syndrom (Morrow, 1976; Vrzgula, 1980).

Preventivní opatření vedoucí ke snížení výskytu poruch energetického metabolismu směřují k úpravám krmného režimu v období zaprahnutí a nastupující laktace v souladu s požadavky ČSN 46 7070 (1982). Je třeba zabránit ztluštění dojnic a zachovat schopnost přijímat maximální množství živin v období po porodu se zvyšující se laktací. Tato schopnost je u obézních dojnic výrazně snížena. Zvláštní pozornost je třeba věnovat zejména dodržování ČSN 46 7070 (1982) a normovaného poměru živin (Morrow, 1976; Vrzgula aj., 1982; Jagoš aj., 1985).

Literatura

- BAIRD, G. D. — HEITZMAN, R. J. — HIBBIT, K. G.: Effects of starvation on intermediary metabolism in the lactating cow. *Biochem. J.*, 128, 1972, s. 1311-1318.
- BAIRD, G. D. — HEITZMAN, R. J. — HIBBIT, K. G. — HUNTER, G. D.: Bovine ketosis. A review recommendations for control and treatment. *Brit. veter. J.*, 130, 1974, s. 214-220.
- BOWDEN, D. M.: Non esterified fatty acids and ketone bodies in blood as indicators of nutritional status in ruminants. *Can. J. anim. Sci.*, 51, 1971, s. 1-13.
- CAMPBELL, E. J. M. — DICKINSON, C. J. — SLATER, J. D. H.: *Clinical physiology*. Oxford 1965. 605 s.

ČSN 46 7070. Potřeba živin pro hospodářská zvířata. 1982.

- DALE, H. — VIK-MO, L. — FIELLHEIM, P.: A field of fat mobilization and liver function of dairy cows during early lactation. *Nord. Veter.-Med.*, **31**, 1979, s. 97-105.
- DOHOO, I. R. — MARTIN, S. W.: Subclinical ketosis: Prevalence and associations with production and disease. *Can. J. comp. Med.*, **48**, 1984, s. 1-5.
- DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — PŘIKRYLOVÁ, J. — HRADILOVÁ, M. — ZEN-DULKA, I.: Metabolické procesy v bachoru dojníc při použití antiketogenního preparátu na bázi polyolů Liuos Asetona. *Veter. Med. (Praha)*, **33**, 1988, s. 449-458.
- HIBBIT, K. G.: Bovine ketosis and its prevention. *Veter. Rec.*, **105**, 1979, s. 13-15.
- HRADECKÝ, P. — JAGOŠ, P. — JANÁK, J.: Stanovení ketolátů v tělních tekutinách s použitím plynové chromatografie. *Veter. lab. klin. Diagn.*, Pardubice, **1**, 1981, s. 17-24.
- JAGOŠ, P. — ILLEK, J. — BOUDA, J. — DVOŘÁK, R. — HOFÍREK, B. et al.: Metodika provádění a interpretace metabolického testu u skotu. In: *Veterinární péče ve velkochovech skotu*, **3**, 1977, s. 1-33.
- JAGOŠ, P. — DVOŘÁK, R. — ŠLESINGER, L. — ČERNOHOUS, J. — NĚMEČEK, L. et al.: Studium některých ukazatelů energetického metabolismu u přežvýkavců ve vztahu k produkčním chorobám. [Výzkumná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1981, 316 s.
- JAGOŠ, P. et al.: Diagnostika, terapie a prevence nemocí skotu. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1985, 469 s.
- KANEKO, J. J. — CORNELIUS, C. E.: *Clinical biochemistry of domestic animals*. 2. vyd. New York and London, Academic Press 1970, 439 s.
- KNOBLOCH, F.: Fyzikálně chemické metody stanovení vitamínů. Praha, ČSAV 1956, 458 s.
- KRONFELD, D. S.: Hypoglycemia in ketotic cows. *J. Dairy Sci.*, **54**, 1971, č. 5, s. 949-961.
- LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J.: Hladina NEMK v krevní plasmě dojníc při zeleném a zimním krmení v různých fázích reprodukčního cyklu a její vztah ke krytí energetických živin v krmné dávce. *Českoslov. Fyziol.*, **29**, 1980, s. 362.
- LEBEDA, M. — PŘIKRYLOVÁ, J. — BUŠ, A. — KOVARÍK, K.: Energetický metabolismus u dojníc. *Veter. Diet.*, **2**, 1983, 83 s.
- MÄKINEN, K. K.: Biochemical principles of the use of xylitol in medicine and nutrition with special consideration of dental aspects. *Experientia*, suppl., **30**, 1978.
- MÄKINEN, K. K. — HAMALAINEN, M. — TUORI, M. — POUTAINEN, E.: A polyol mixture in the diet of dairy cows. *Nutr. Rep. int.*, **23**, 1981, č. 6, s. 1077-1087.
- MORROW, D. A.: Fat cow syndrome. *J. Dairy Sci.*, **59**, 1976, s. 1625-1629.
- PEHRSON, B.: Effekten av peroralt tillförd glykogen substans hos mjolkkor. I. Na-propionat glycerol och propylenglykol till friska normalud fodrade kor. *Nord. Veter.-Med.*, **24**, 1972, s. 409-416.
- RADLOFF, H. D. — SCHULTZ, L. H. — HOEKSTRA, W. G.: Relationship of plasma free fatty acids to other blood components in ruminants under various physiological conditions. *J. Dairy Sci.*, **49**, 1966, s. 179-182.
- RUSSEL, A. J. F. — DONEY, J. M. — REID, R. L.: Energy requirements of the pregnant ewe. *J. agric. Sci. (Camb.)*, **68**, 1967, s. 359-363.
- SIGGAARD-ANDERSEN, O. — ENGEL, K. — JORGENSEN, K. — ASTRUP, P.: Micromethod for determination of pH, carbon dioxide tension, base excess and standard bicarbonate in capillary blood. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, **12**, 1960, s. 172-176.
- ŠARABRIN, I. G. — ŠIŠKOV, V. P. — VERTINSKIJ, K. I. — LUCKIJ, D. J. — ŽAROV, A. V. et al.: Ketozy — diagnostika, lečenijs i profilaktika u moločnych korov. Moskva 1972, 61 s.
- SCHÄFFER, M.: Zur Problematik subklinischer Erkrankungen am Beispiel Ketose bei Milchkühen. *Mh. Veter.-Med.*, **7**, 1976, s. 262-265.
- SCHULZ, L. H.: Ketosis in dairy cattle. *J. Dairy Sci.*, **51**, 1968, s. 1133-1140.
- VIRKKI, M.: Silážování formaldehydem, alkoholické cukry. Praha 1977, Farmous Group LTD., Finn-Spol. OY. 13 s.
- VRZGULA, L.: Další poznatky k výskytu a prevenci některých produkčních chorob dojníc při spriemyselnovaní chovu. *Veterinářství*, **30**, 1980, s. 54-55.
- VRZGULA, L. et al.: Poruchy látkového metabolismu hospodářských zvířat a ich prevencia. 1. vyd. Bratislava, Príroda 1982, 492 s.

Došlo dne 9. 12. 1987

ДВОРЖАК, Р. — ЯГОШ, П. — ГРАДИЛОВА, М. — ВОСПЕЛ, Б. — БРАНЖОВСКИ, Ф. (Ветеринарный институт, Брно): **Выбранные показатели внутренней среды высокопроизводительных дойных коров с направлением на энергетический метаболизм при применении антикетогенного препарата на базе полиолов *Liuos Asetona*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 709-719.**

Проверяли влияние антикетогенного препарата *Liuos Asetona* на выбранные показатели внутренней среды у высокопроизводительных дойных коров со сложным энергетическим балансом. Препарат подавали в конце зимнего периода и в переходном периоде при переводе животных на летний кормовой рацион. Дойные коровы разделили на три группы А, Б, Ц. У группы А препарат применяли дойным коровам после родов в краткосрочной динамике 28 дней в дозе 400 мл на 1 голову и день. У группы Б препарат также применяли в краткосрочной динамике 28 дней дойным коровам до родов и после них в дозе 300 мл на голову и день. Дойным коровам в группе Ц *Liuos Asetona* подавали до родов и после родов в долгосрочной динамике в дозе 400 мл на голову и день в течении 78 дней. Метаболические процессы изучались при помощи выбранных показателей внутренней среды: рН, рСО₂, ВЕ, СБ, Нб, гематокрит, общий белок, глюкоза, мочевины, трансаминазы АЛТ, АСТ, бетакаротин, витамин А и Е, общие липиды, холестерин, неэфиризированные жирные кислоты (НЭЖК), кетоны, триглицериды. Влияние препарата между группами не проявилось значительными различиями. Из средних значений некоторых изучаемых факторов однако можно судить о положительном действии на метаболические процессы (более высокий уровень глюкозы и более низкий уровень НЭЖК у опытных групп и в субнаборах А и Б низкий уровень общих кетонов в наборе Б и ацетона и уксусной кислоты в группах А и Ц). Применение препарата в дозе 400 мл на голову и день дойным коровам после родов было более эффективным.

антикетогенный препарат *Liuos Asetona*; дойные коровы; метаболическая картина; внутренняя среда

DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — HRADILOVÁ, M. — VOSPĚL, B. — BRANŽOVSKÝ, F. (University of Veterinary Medicine, Brno): ***Selected Parameters of the Internal Environment of the Bodies of Top Milker Cows with respect to Energy Metabolism with the Use of Liuos Asetona Antiketogenic Preparation Based on Polyols*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 709-719.**

Trials were conducted to study the effect of the antiketogenic preparation *Liuos Asetona* on selected parameters of the internal environment of top milker cows with a strained energy balance. The preparation was administered towards the end of the winter feeding season and during the transient period when the summer feed ration was introduced. The animals were divided into three sets: A, B, C. In set A the preparation was administered to cows after calving at the rate of 400 ml per head/day for a short period of 28 days. In set B the preparation was administered at the rate of 300 ml per head/day both before and after calving, but the total time of administration was also short, 28 days. In group C the cows were treated with *Liuos Asetona* at the dose of 400 ml per head/day for the long period of 78 days both before and after calving. The metabolic processes were monitored by means of the following parameters of internal environment: pH, pCO₂, BE, SB, Hb, haematocrit, total protein, glucose, urea, transaminases (ALT, AST), beta-carotene, vitamins A and E, total lipids, cholesterol, non-esterified fatty acids (NEFA), ketone bodies, triglycerides. The influence of the preparation did not cause any significant differences between the groups. However, it can be assumed on the basis of some of the parameters under study that the metabolic processes were influenced positively by the administration of *Liuos Asetona* (higher concentrations of glucose and lower concentration of NEFA in experimental groups A and B, lower concentrations of total ketone bodies in group B and acetone and acetoacetic acid in groups A and C). Treatment with *Liuos Asetona* was the most effective when the preparation was administered at the dose of 400 ml per head/day after calving.

antiketogenic preparation *Liuos Asetona*; dairy cows; metabolic profile; internal environment

DVOŘÁK, R. — JAGOŠ, P. — HRADILOVÁ, M. — VOSPĚL, B. — BRANŽOVSKÝ, F. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Ausgewählte Kennziffern des Innenmilieus von Hochleistungskühen im Hinblick auf den energetischen Stoffwechsel bei Anwendung des antiketogenen Präparats auf der Basis von Polyolen Liuos Asetona*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 709-719.

Wir prüften die Auswirkung des antiketogenen Präparats Liuos Asetona auf ausgewählte Kennziffern des Innenmilieus bei Hochleistungskühen mit angespannter energetischer Bilanz. Das Präparat verabreichten wir am Ende der Winterperiode und im Übergangszeitraum während der Umstellung der Tiere auf die Sommerfütteration. Die Kühe waren in drei Gruppen A, B, C, eingeteilt. In der Gruppe A wurde das Präparat den Kühen in kurzfristiger Dynamik 28 Tage nach dem Abkalben appliziert u. zw. in einer Dosis von 400 ml pro Stück und Tag. In der Gruppe B wurde das Präparat ebenfalls in kurzfristiger Dynamik vor und nach dem Abkalben, in einer Dosis von 300 ml pro Stück und Tag, appliziert. Kühen der Gruppe C wurde Liuos Asetona vor dem Abkalben und danach in langfristiger Dynamik in einer Dosis von 400 ml pro Stück und Tag im Verlauf von 78 Tagen verabreicht. Die Stoffwechselprozesse wurden anhand folgender ausgewählter Kennziffern des Innenmilieus untersucht: pH, pCO₂, BE, SB, Hb, Hämatokritwert, Gesamteiweißstoff, Glukose, Harnstoff, ALT- und AST-Transaminasen, Beta-Karotin, Vitamine A und E, Gesamtlipide, Cholesterin, nichtesterifizierte Fettsäuren (NEFS), Ketonstoffe, Triglyzeride. Es kamen keine, auf die Auswirkung des Präparats zurückzuführende signifikanten Unterschiede zwischen den Gruppen zum Ausdruck. Anhand der Mittelwerte einiger verfolgter Parameter ist jedoch auf eine positive Beeinflussung der Stoffwechselprozesse zu schließen (höheres Glukose- und niedrigeres NEFS-Niveau bei den Versuchsgruppen der Gruppen A und B, ein niedrigeres Niveau der Gesamt-Ketonstoffe in der Gruppe B und des Azetons und der Azetessigsäure in den Gruppen A und C). Am wirksamsten erwies sich die Applikation des Präparats in der Dosis von 400 ml pro Stück und Tag an Kühe nach dem Abkalben.

antiketogenes Präparat Liuos Asetona; Milchkühe; Stoffwechselprofil; Innenmilieu

Adresa autorů:

Doc. MVDr. Rudolf Dvořák, CSc., prof. MVDr. Přemysl Jagoš, CSc., RNDr. Milada Hradilová, ing. Bohumír Vospěl, MVDr. František Branžovský, Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 1/1989 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny příspěvky:

- J. Menšík, F. Pecka, J. Štěpánek, A. Žuffa, E. Salajka: Objektivní zhodnocení imunogenní účinnosti polyvalentní vakcíny proti enterálním infekcím novorozených telat v podmínkách probíhající enzootie
- F. Štěrbá, I. Šulcová: Závažnost výskytu kokciidií *Cryptosporidium* sp. v etiopatogenezi neonatálního diarrhoického syndromu a enteritid telat na základě souběžného histopatologického a parazitologického vyšetření
- A. Bradnová, D. Ryšánek: Funkce potrubičního dojícího zařízení a počet somatických buněk v bazénových vzorcích mléka
- M. Kudweis, Z. Lojda, J. Vítovec, B. Koudela, J. Štěrbá: Poměr enterocytů a pohárkových buněk ve sliznici tenkého střeva při experimentální infekci selat kokciidií *Isospora suis*
- A. Staníková, A. Arendarčík, B. Pástorová: Morfologické a biochemické zmeny v hypotalame u hormonálne stimulovaných oviec
- M. Tokošová: Vplyv stimulátorov rastu na obsah niektorých makroprvkov v organizme kurčiat
- J. Komárek, Z. Wurst: Dermatofyta klinicky zdravých psů a koček

M. Machatková, J. Petelíková, F. Horký, R. Bílek, J. Priesnitz, E. Jokešová

MACHATKOVÁ, M. — PETELÍKOVÁ, J. — HORKÝ, F. — BÍLEK, R. — PRIESNITZ, J. — JOKEŠOVÁ, E. (Krajský plemenářský podnik, Brno; Státní plemenářské podniky, g. ř., Praha): *Dlouhodobá kultivace dělených embryí skotu in vitro*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 721-726.

Pro objektivní hodnocení efektivnosti metod bisekce a zpřesnění prognózy vývoje embryí po mikromanipulaci byla vypracována metoda dlouhodobé kultivace dělených embryí skotu. Kultivace na monolayeru buněčné linie fetálního bovinního endometria prodloužila životaschopnost embryí dělených ve stadiu moruly až časně blastocysty a umožnila jejich další vývoj. Z celkového počtu 45 dělených embryí se po 96hodinové kultivaci vyvíjelo 66,6 %, přičemž nebyly zjištěny podstatné rozdíly mezi dynamikou vývoje těchto embryí a kontrolních embryí nedělených.

bovinní embrya; bisekce; dlouhodobá kultivace

Předpokladem dalšího vývoje v oblasti mikromanipulace, konzervace a determinace pohlaví u raných embryí hospodářských zvířat je zvládnutí metod relativně dlouhodobé kultivace *in vitro*, které by umožnilo vyvinuté postupy za standardních podmínek hodnotit, srovnávat a metodicky je dále rozvíjet.

Jednou z cest, jak prodloužit dobu přežívání obtížně „kultivovatelných“ embryí skotu po bisekci, je metoda kokultivace využívající techniky buněčných nebo tkáňových kultur.

Doposud byly k tomuto účelu použity především tkáňové kultury trofoblastických váčků (Camous aj., 1984; Heyman aj., 1987), sporadicky primární kultury fibroblastů endometria (Voelkel aj., 1984; Wiemer aj., 1987).

Smyslem práce, jejíž výsledky předkládáme, bylo připravit vhodnou buněčnou linii, ověřit její vliv na vývoj dělených embryí skotu a získaných poznatků využít pro vypracování metody jejich dlouhodobé kultivace.

MATERIÁL A METODY

PŘÍPRAVA BUNĚČNÉ LINIE

Buněčná linie byla připravena z fragmentů fetálního bovinního endometria uvolněním buněk pomocí 0,10 % trypsinu a pasážováním kultur po dobu 30 pasáží metodou, kterou popsali Machatková a Rozkošný (1983). Od druhé pasáže byla z kultur průběžně připravována buněčná suspenze o koncentraci 100 000 buněk na mililitr, která byla v množství 0,5 ml nasazena do jamek mikroplotny (multiwell

plate Linbro, Flow Laboratories) a kultivována po dobu 24 hodin. Po opakovaném opláchnutí monolayeru pufrovaným fyziologickým roztokem bylo do každé z jamek přidáno 0,5 ml čerstvého kultivačního média, ve kterém byly buňky kultivovány dalších 48 až 72 hodin, kdy byly použity ke kokultivaci.

PŘÍPRAVA A IZOLACE EMBRYÍ

Embrya byla získána od vyřazených, po reprodukční stránce vhodných prvoetek plemene české strakaté, synchronizovaných dvojnásobnou aplikací Oestrophanu a ošetřených Folictotropinem (Léčiva, n. p., Praha) podle harmonogramu, který již dříve ověřila Petelíková (1984). Sedmý den po inseminaci byly dárkyně zabity a jejich děložní rohy vypláchnuty. Izolovaná embrya byla po krátkodobé kultivaci při pokojové teplotě hodnocena a na základě morfologických vlastností roztríděna.

POUŽITÁ MÉDIA

K výplachu a izolaci embryí byly použity pufrované fyziologické roztoky Dulbecco nebo Krebs-Ringer fosfát, obohacené o 1 % bovinního inaktivovaného séra. Ke krátkodobé kultivaci i k vlastní kokultivaci sloužila média MEM-Eagle nebo Parker 199 (ÚSOL Praha), doplněná antibiotiky (100 mj. PNC, 100 μ g STM. ml⁻¹) a 20 % inaktivovaného bovinního fetálního séra. pH kultivačního média bylo upraveno 7,5 % kyselým uhlíčitánem sodným na hodnotu 7,2 až 7,4 a stabilizováno Hepesem v koncentraci 20 m M. ml⁻¹ média.

PŘÍPRAVA DĚLENÝCH EMBRYÍ

Pro dělení byla vybrána embrya ve stadiu moruly a časně blastocysty s vynikajícími nebo dobrými morfologickými vlastnostmi, zařazená do skupiny jedna a dvě. Embrya třetí skupiny sloužila jako kontrolní. Bisekce byla provedena na mikromanipulátoru fy Leitz (experiment 1) nebo na mikromanipulátoru fy Zeiss starší výroby (experiment 2). V obou případech byla část dělených embryí umístěna zpět do zóny pellucidy, zbývající dělená embrya byla kultivována bez zóny pellucidy.

KOKULTIVACE A HODNOCENÍ VÝVOJE EMBRYÍ

Dělená i kontrolní embrya byla umístěna na buněčný monolayer, na kterém byla čtyři dny kultivována. Kokultivace probíhala při teplotě 37 °C v prostředí s vysokou relativní vzdušnou vlhkostí a s 5 % oxidu uhlíčitého. V pravidelných 24hodinových intervalech byl stanoven podíl vyvíjejících se dělených embryí, u kontrolní skupiny i počet embryí po hatchingu.

VÝSLEDKY

Převážná část bovinních embryí, rozdělených ve stadiu moruly až časně blastocysty a kultivovaných na monolayeru linie bovinního endometria, přeživala po celou dobu kultivace a pokračovala v dalším vývoji. Po 10–20hodinové kultivaci formovala dělená embrya výrazný blastocel, který se v průběhu další kultivace zvětšoval, takže u dělených embryí kultivovaných v zóně pellucidě byl mezi 48 až 72 hodinami kultivace pozorován hatching (obr. 1). Vyvíjející se dělená embrya si uchovávala dobré morfologické vlastnosti po dobu 96 hodin. V průběhu další kultivace tvořily buňky trofoblastu na buňkách endometria vlastní monolayer a došlo k celkové desintegraci dělených embryí.

Výsledky kultivace ukazují, že z celkového počtu 45 dělených embryí se vyvíjelo 30, to je 66,6 %, přičemž nebyly zjištěny významné rozdíly mezi použitou metodou bisekce (tab. I). K největší ztrátě v počtu

1. Dělená časná blastocysta po hatchingu na monolayeru buněk endometria (zvětšeno 80X) — A divided early blastocyst after hatching on endometrial cell monolayer (magnified 80X)



vyvíjejících se dělených embryí došlo za 24 až 48 hodin po bisekci, kdy málo životaschopná embrya ukončila další vývoj a postupně degenerovala. Po 48hodinové kultivaci se relativní počet vyvíjejících se dělených embryí výrazně neměnil, později zůstal konstantní (tab. II).

Z 212 nedělených embryí tvořících kontrolní skupinu dosáhlo po 72 hodinách kultivace stadia expandované až hatchingující blastocysty 177 (83,4 %), z celkového počtu kontrolních embryí ukončilo hatching 146 (68,8 %, tab. III).

Výsledky kultivace nepotvrdily vliv zóny pellucidy na vývoj dělených embryí, podíl vyvíjejících se embryí kultivovaných po dělení bez zóny pellucidy nebo v ní byl shodný. Pouze sporadicky byla u dvojic kultivovaných v jedné zóně pellucidě pozorována spontánní fúze.

DISKUSE

Přesto, že v poslední době byly studovány nutriční požadavky embryí (Kane, 1985, 1987) a byla definována kultivační média pro embrya různých druhů savců (Takeda, 1987; Blum aj., 1987), je zřejmé, že ani jeden z dosud používaných kultivačních systémů není přirozeným podmínkám vyvíjejících se embryí adekvátní. Svědčí o tom i velmi nízký

I. Vývoj dělených embryí po 96hodinové kultivaci — Development of divided embryos after 96 hours of cultivation

Metoda bisekce	Počet dělených embryí	Stadium, morfologické hodnocení	Počet kultivovaných dělených embryí	Počet vyvíjejících se dělených embryí	Procento vyvíjejících se dělených embryí
1	8	morula časná blastocysta 1—2	16	11	68,7
2	15	morula časná blastocysta 1—2	29	19	65,5
Celkem	23		45	30	66,6

II. Vývoj dělených embryí v závislosti na době kultivace — Development of divided embryos as depending on the time of cultivation

Experiment	Počet kultivovaných dělených embryí	Doba kultivace			
		24	48	72	96
		počet vyvíjejících se / procento vyvíjejících se			
1	16	15 / 93,7	12 / 75,0	11 / 68,7	11 / 68,7
2	29	26 / 89,6	21 / 72,4	19 / 65,5	19 / 65,5
Celkem	45	41 / 91,1	33 / 73,3	30 / 66,6	30 / 66,6

podíl dělených embryí, která pokračují v dalším vývoji v podmínkách *in vitro*.

V našem sdělení jsou shrnuty výsledky pokusů o dlouhodobou kultivaci dělených embryí skotu. Linie epitelálních buněk, která byla získána z primárních kultur bovinního endometria, významně stimulovala růst dělených embryí a pozitivně ovlivňovala jejich další vývoj.

K podobným závěrům dospěli i autoři, kteří využili ke kultivaci embryí skotu a ovcí trofoblastické vázky nebo kultury fibroblastů endometria (Camous aj., 1984; Voelkel aj., 1984; Heyman aj., 1987). Rexroad a Powell (1986) a Heyman aj. (1987) prokázali, že vliv kokultivace se projevuje nejen zvýšením procenta vyvíjejících se embryí, ale i v dosaženém vývojovém stadiu. Také naše experimenty potvrdily, že embrya po bisekci kokultivovaná s připravenou linií si uchovala vývojovou dynamiku shodnou s embryi kontrolními. Nižší procento vyvíjejících se dělených embryí (66,6 %) ve srovnání s embryi nedělenými (83,4 %) však dokumentuje, že mikromanipulace může ovlivnit další vývoj embryí a její efektivnost je hodnotitelná až po delší kultivaci.

Mechanismus působení somatických buněk na proliferaci embryonálních buněk zatím není znám.

Některé z dosud publikovaných údajů naznačují, že pozorovaný účinek je druhově specifický (Allen a Wright, 1984; Heyman aj.,

III. Vývoj kontrolních embryí po 96hodinové kultivaci — Development of control embryos after 96 hours of cultivation

Počet kultivovaných embryí	Stadium, morfologické hodnocení	Počet vyvíjejících se embryí	Procento z celkového počtu	Počet embryí po hatchingu	Procento z celkového počtu
114	morula časná blastocysta 3	93	81,5	74	64,9
98	morula časná blastocysta 3	84	85,7	72	73,4
Celkem 212		177	83,4	146	68,8

1987) a na použitém buněčném typu nezávislý (Kuzan a Wright, 1982). V rozporu s tímto předpokladem jsou však zjištěny, že křeččí hepatocyty podporovaly vývoj myších embryí výrazněji než kultury křeččích a myších fibroblastů (Overskei a Cincotta, 1987).

Předpokladem k cílevědomému využití různých buněčných substrátů ke kultivaci raných embryí je proto studium těch faktorů, které embryonální vývoj pozitivně ovlivňují. Objasnění těchto souvislostí by umožnilo nejen kultivační podmínky zdokonalit, ale současně by mohlo významně přispět k řešení některých teoretických i praktických otázek souvisejících s přenosy savčích embryí.

Literatura

- ALLEN, R. L. — WRIGHT, R. W.: *In vitro* development of porcine embryos in coculture with endometrial cell monolayers or culture supernatants. J. anim. Sci., 59, 1984, s. 1657-1661.
- BLUM, B. — HARTMAN, W. — HOLTZ, W.: Culture of porcine embryos in PBS medium supplemented with bovine serum of different origins. Theriogenology, 27, 1987, č. 1, s. 215.
- CAMOUS, S. — HEYMAN, Y. — MEZIOU, W. — MENEZO, Y.: Cleavage beyond the block stage and survival after transfer of early bovine embryos cultured with trophoblastic vesicles. J. Reprod. Fert., 72, 1984, s. 479-485.
- HEYMAN, Y. — MENEZO, Y. — CHESNE, P. — CAMOUS, S. — GARNER, V.: *In vitro* cleavage of bovine and ovine early embryos: improved development using coculture with trophoblastic vesicles. Theriogenology, 27, 1987, č. 1, s. 59-60.
- KANE, M. T.: A low molecular weight extract of serum albumin stimulates rabbit blastocyst cell division and expansion *in vitro*. J. Reprod. Fert., 73, 1985, s. 145-150.
- KANE, M. T.: Culture media and culture of early embryos. Theriogenology, 27, 1987, s. 49-59.
- KUZAN, F. B. — WRIGHT, R. W.: Observation on the development of bovine morulae on various cellular and noncellular substrate. J. anim. Sci., 54, 1982, s. 811-815.
- MACHATKOVÁ, M. — ROZKOŠNÝ, V.: Růstová charakteristika fetálních boviních buněk *in vitro*. Veter. Med. (Praha), 28, 1983, č. 11, s. 699-701.
- OVERSKEI, T. L. — CINCOTTA, A. H.: A new approach to embryo coculture. Theriogenology, 27, 1987, č. 1, s. 266.
- PETELÍKOVÁ, J.: Přenos embryí skotu (technologický postup). Hradištko, Státní plemenářské podniky, g. ř., 1984. 19 s.
- REXROAD, C. E. — POWELL, A. M.: Co-culture of sheep ova and cells from sheep oviduct. Theriogenology, 26, 1986, s. 187.
- TAKEDA, T.: Development of mouse embryos cultured in media supplemented with serum or BSA. Theriogenology, 27, 1987, č. 1, s. 283.
- VOELKEL, S. A. — AMBORSKI, G. F. — HILL, H. G. — GODKE, R. A.: Use of uterine cell monolayer culture system for micromanipulated bovine embryos. Theriogenology, 21, 1984, s. 271.
- WIEMER, K. E. — AMBORSKI, G. F. — DENNISTON, R. S. — WHITE, K. L. — GODKE, R. A.: Use of a hormone treated fetal uterine fibroblast monolayer system for *in vitro* culture of bovine embryos. Theriogenology, 27, 1987, č. 1, s. 294.

Došlo dne 18. 1. 1988

МАХАТКОВА, М. — ПЕТЕЛИКОВА, И. — ГОРКИ, Ф. — БИЛЕК, Р. — ПРИСНИЦ, И. — ЙОКЕШОВА, Э. (Областной племхоз, Брно; Госплемхозы, ген. дир. Прага): Длительная культивация разделенных эмбрионов коров *in vitro*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 721-726.

В интересах объективного определения эффективности методов бисекции и уточнения прогноза развития плода после микроманипуляций разработан метод длитель-

ной культивации разделенных эмбрионов Культивирование эндометрия в монолаере клеточной линии продлило жизнеспособность эмбрионов, разделенных в стадии морулы и ранней бластоцисты, и их дальнейшее развитие. Из общего количества 45 разделенных эмбрионов после 96-часового культивирования развилось 66,6 %, причем заметных различий между динамикой этих и контрольных эмбрионов не отмечено.

эмбрионы к. р. с.; бисекция; длительное культивирование

MACHATKOVÁ, M. — PETELÍKOVÁ, J. — HORKÝ, F. — BÍLEK, R. — PRIESNITZ, J. — JOKEŠOVÁ, E. (Regional Animal-Breeding Enterprise, Brno; State Animal Breeding Enterprises, General Directorate, Praha): *Long-continued in-vitro Cultivation of Divided Bovine Embryos*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 721-726.

A method of long-term cultivation of divided bovine embryos was worked out for an objective evaluation of the methods of bisection and for improving the accuracy of forecasting the development of embryos after micromanipulation. Cultivation on a monolayer of a cell line of foetal bovine endometrium prolonged the viability of embryos divided in the stage of morula to early blastocysts and enabled their further development. Of the total number of 45 divided embryos, 66.6 % continued developing after 96 hours of cultivation, no substantial differences being found in the dynamics of development between these embryos and non-divided control embryos.

bovine embryos; bisection; long-continued cultivation

MACHATKOVÁ, M. — PETELÍKOVÁ, J. — HORKÝ, F. — BÍLEK, R. — PRIESNITZ, J. — JOKEŠOVÁ, E. (Bezirks-Zuchtbetrieb, Brno; Staatliche Zuchtbetriebe, Generaldirektion, Praha): *Langfristige Kultivierung geteilter Rinderembryonen in vitro*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 721-726.

Zur objektiven Auswertung der Effektivität der Bisektionsmethoden und zur Präzisierung der Prognose der Embryonenentwicklung nach Mikromanipulation wurde die Methode einer langfristigen Kultivierung von geteilten bovinen Embryonen erarbeitet. Eine Kultivierung auf Monolayer der Zelllinie des fetalen bovines Endometriums verlängerte die Lebensfähigkeit der im Morula- bis zeitigen Blastozystenstadium geteilten Embryonen und ermöglichte deren weitere Entwicklung. Von der Gesamtzahl der 45 geteilten Embryonen entwickelten sich nach 96stündiger Kultivierung 66,6 % weiter, wobei keine wesentlichen Unterschiede in der Entwicklungsdynamik dieser und der ungeteilten Kontrollembryonen verzeichnet wurden.

bovine Embryonen; Bisektion; langfristige Kultivierung

Adresy autorů:

Ing. Marie Machatková, CSc., ing. František Horký, ing. Jiří Priesnitz, ing. Eva Jokešová, Krajský plemenářský podnik, Optátova 37, 637 00 Brno
Ing. Jiřina Petelíková, CSc., ing. Roman Bílek, Státní plemenářské podniky, g. ř., 252 09 Hradištko pod Medníkem

ZÍSKAVANIE OOCYTOV ASPIRÁCIOU PREOVULAČNÝCH FOLIKULOV JALOVÍC

J. Laurinčík, J. Pivko, P. Grafenau, M. Oberfranc

LAURINČÍK, J. — PIVKO, J. — GRAFENAU, P. — OBERFRANC, M. (Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra): *Získavanie oocytov aspiráciou preovulačných folikulov jalovic*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 727-734.

Na hormonálne synchronizovaných a stimulovaných jaloviciach sme odskúšali možnosti aspirácie preovulačných oocytov. Ako zdroj nasávacieho podtlaku, pri použití aspiračných ihlí o vnútornom priemere 0,7 mm, sme použili automatickú membránovú odsávačku AMO o pracovnom podtlaku 26,0 kPa, pri použití ktorej sa preukazne zvýšil zisk oocytov voči porovnáwanej injekčnej striekačke. Pri rovnakom podtlaku 26,0 kPa, ale aspiračných ihlách o rôznom vnútornom priemere (0,7 mm, 1,5 mm a 1,0 mm), sa štatisticky preukazne zvýšil zisk oocytov u aspiračnej ihly s vnútorným priemerom 1,0 mm. Pri použití tejto ihly po zaoblení jej ostrého konca výrazne poklesla prítomnosť krvného výlevu v individuálnej vzorke aspirovanej folikulárnej tekutiny. Opakované hormonálne stimulačné a endoskopické aspirácie nemali negatívny vplyv na zdravotný stav daryň a na finálny zisk oocytov.

endoskopia; aspirácia; vnútorný priemer ihly; oocyt

Skutočnosť, že samičie pohlavné bunky majú schopnosť po uvoľnení z folikulu vaječníka dozrievať v podmienkach *in vitro* (Pincus a Enzmann, 1935), viedla k uskutočneniu radu pokusov zameraných na štúdium procesu zrenia oocytov a ich oplodnenia mimo organizmu matky (Bracketta a Oliphant, 1975; Shea a i., 1976; Trounson a i., 1977; Lenz a i., 1983; Iritani a i., 1984; Critser a i., 1984; Parrish a i., 1985; Sanbuissho a Threlfall, 1985; Fukushima a Fukui, 1985; Motlík a Fulka, 1986). Oocyty použité pre tieto experimenty boli prevažne získané z vaječníkov zabitých zvierat cestou ich aspirácie z antrálnych folikulov. Avšak ďalší vývoj oocytov oplodnených *in vitro* sa ukazuje byť stále problematický (Fukui a i., 1983), preto sú neustále hľadané nové metódy, ktoré by zefektívnili proces zrenia oocytov, ich následného oplodnenia a postfertilizačnej kultivácie do štádia vhodného na prenos do recipienta.

Ako jedna z možných ciest sa ukazuje získavanie vhodných oocytov od hormonálne stimulovaných zvierat pomocou ovariektomie (Brackett a i., 1982), laparotomie (Shea a i., 1983) alebo laparoskopie (Lambert a i., 1983, Sirard a Lambert, 1985) s ich následnou aspiráciou.

Dôležitým faktorom úspešnosti aspirácie preovulačných oocytov sa ukazuje byť vnútorný priemer aspiračnej ihly a veľkosť podtlaku sacieho zariadenia. Na túto skutočnosť poukazuje viacero prác (Renou a i.,

1981; Feichtinger a i., 1981; Jones a i., 1982; Lenz a Lauritsen, 1982) porovnávajúcich percento zisku po použití aspiračných ihlí odlišných priemerov so zdrojom nasávacieho podtlaku buď vo forme injekčnej striekačky, alebo automatických odsávacích zariadení.

MATERIÁL A METÓDY

PRÍPRAVA ZVIERAT

Do pokusu boli zaradené jalovice slovenského strakatého plemena od 13. do 24. mesiaca veku a o hmotnosti 300 až 550 kg, ktoré boli pred uskutočnením chirurgického zákroku 48 hodín bez krmiva a 12 hodín bez vody.

U jalovic s pravidelným pohlavným cyklom sme po vyšetrení vaječníkov a po diagnostike funkčného žltého telieska aplikovali PGF₂alfa v prípravku Oestrophan inj. a. u. v. (Spofa) v dávke 3 ml i. m. v 7. až 17. dni cyklu. V 8. až 12. dni od prvých príznakov ruje sme zvieratá ošetrili pomocou PMSG v prípravku Antex (Leo) v jednorazovej dávke 3000 m. j. (Shea a i., 1983). O 48 hodín neskôr sme injikovali PGF₂alfa (Peters, 1986) v prípravku Oestrophan inj. a. u. v. (Spofa) v jednorazovej dávke 3 ml i. m. Po uplynutí 50 hodín boli jalovice ošetrované pomocou HCG (Sirard a i., 1985) v prípravku Praedyn (Spofa) v dávke 3000 m. j. i. v. V čase od 18 do 22 hodín po HCG sme aspirovali oocyty z preovulačných folikulov.

Zvieratá určené na aspiráciu preovulačných oocytov boli po uplynutí šesť- až osemtyždňového intervalu medzi hormonálnym ošetrením opakovane zaradené do pokusu.

LAPAROSKOPIA

Pred operáciou sme zvieratám intramuskulárne aplikovali Uterusrelaxans (WDT) v dávke 3 ml na 100 kg ž. h.

Operačný zákrok, ktorý sme uskutočnili v celkovej anestézii, pozostával z dvoch punkcií brušnej steny: 2 cm kraniálne od mliečnej žľazy a 5 až 7 cm laterálne od *linea alba*. V obidvoch prípadoch bola koža incidovaná skalpelom. Do jedného otvoru sme zaviedli trokar pre endoskop (28 cm X 1,5 cm) a kaudálnodorzálnym smerom sme perforovali svalstvo a pobrušnicu. Potom sme trokar vytiahli, do puzdra sme zasunuli endoskop a uskutočnili obhliadku brušnej dutiny a vaječníkov. Do druhého otvoru sme zaviedli trokar (25 cm X 0,8 cm) pre fixačné kliešte. Pod kontrolou endoskopom (MLW, 28 cm X 1,5 cm) sme po vytiahnutí trokara zaviedli kliešte (55 cm X 0,6 cm) pre fixáciu vaječníkov (Laurinčík, 1987b), ktoré sme po prichytení za *mesovarium distale* pritiahli do vzdialenosti 3 až 7 cm pred zorné pole endoskopu. Po zhodnotení dozrievajúcich folikulov sme cez puzdro trokaru pre endoskop zasúvali aspiračnú ihlu napojenú cez zbernú skúmavku na príslušný zdroj podtlaku.

ASPIRÁCIA OOCYTOV

Ihly pre aspiráciu preovulačných oocytov (Laurinčík, 1987a) boli 55 cm dlhé, s vnútorným prievitom 0,7 mm (typ A), 1,5 mm (typ B) a 1,0 mm (typ C). Bodná plocha všetkých typov zvierala so základňou uhol 45°. U typu C boli vyhotovené dva varianty: s ostrou bodnou plochou (C/a) a so zaoblenou bodnou plochou (C/b). Na konci ihly typu A/1 bola umiestnená koncovka pre injekčnú striekačku Luer, do ktorej bol aspirovaný obsah folikulu. U ostatných typov (A/2, B, C/a, C/b) ihla pokračovala so olivou v dĺžke 2 cm. Na túto časť sme pripevnili teflonovú hadičku, ktorá ústila do zbernej skúmavky; na skúmavku bola napojená ako zdroj sacieho podtlaku automatická membránová odsávačka AMO (Chirana) o pracovnom podtlaku 26,0 kPa. Pred aspiráciou bola ihla prepláchnutá roztokom Ham's F 10 s prídavkom 5 m. j. heparínu na jeden mililiter.

Výsledky pri získavaní oocytov sme porovnávali pomocou μ -testu, a to porovnaním dvoch pravdepodobností; v prípade $k \geq 2$ sme použili χ^2 test v kombinácii s μ -testom.

Skupina číslo	Počet zvierat	Počet operácií	Vnútorný priemer [mm]	Podtlak [kPa]	Punktované folikuly		Zisk oocytov			Významné porovnania
					celkový počet	$\bar{x}$	celkový počet	$\bar{x}$	%	
1	4	6	0,7	striekačka	35	5,8	5	0,8	14	1 : 2 $P < 0,01$
2	5	6	0,7	26,0	39	6,5	18	3,0	46	2 : 4 $P < 0,01$
3	5	6	1,5	26,0	40	6,6	12	2,0	30	3 : 4 $P < 0,00$
4	4	6	1,0	26,0	56	9,3	42	7,0	75	

$\bar{x}$ — vzhľadom na operácie

% — vzhľadom na počet punktovaných folikulov (zaokrúhlene)

VÝSLEDKY

NASÁVANIE S VYTVORENÍM PODTLAKU POMOCOU INJEKČNEJ STRIEKAČKY ALEBO AUTOMATICKEJ MEMBRÁNOVEJ ODSÁVAČKY AMO

V tomto prípade boli použité aspiračné ihly s vnútorným priemerom 0,7 mm napojené na injekčnú striekačku typ Luer (ihla typ A/1) alebo také isté ihly napojené cestou teflonovej hadičky cez zbernú skúmavku (typ A/2) na automatickú membránovú odsávačku AMO. Pri aspirácii s použitím injekčnej striekačky sme začali odsávať ešte pred punkciou folikulu. Počas perforácie steny folikulu bolo nasávanie zintenzívnené, po kolabovaní jeho steny bolo skončené. Výsledkom tohto spôsobu bol zisk piatich oocytov po aspirácii 35 folikulov (tab. I).

V ďalšom prípade bola injekčná striekačka nahradená automatickou membránovou odsávačkou AMO, ktorá bola už pred punkciou steny folikulu zapnutá a nastavená na vytvorenie podtlaku o výške 26,0 kPa počas odsávania folikulárnej tekutiny. Po aspirácii tejto tekutiny a kolabovaní folikulárnej steny bolo sanie automaticky vypnuté. Výsledkom odsávania bol zisk 18 oocytov po punkcii 39 folikulov (tab. I).

ASPIRÁCIA OOCYTOV S POUŽITÍM IHIEL S RÔZNYM VNÚTORNÝM PRIEMEROM

Počas experimentov bola pre vytvorenie nasávacieho podtlaku použitá u všetkých typov ihliel automatická membránová odsávačka AMO, nastavená na podtlak 26,0 kPa. V každom prípade bola odsávačka ešte pred punkciou steny folikulu zapnutá na odsávanie. Pre aspiráciu prevovulačných oocytov sme odskúšali ihly s týmto vnútorným priemerom:

- a — 0,7 mm (typ A/2),
- b — 1,5 mm (typ B),
- c — 1,0 mm (typ C).

Po aspirácii folikulárnej tekutiny a kolabovaní steny folikulu sa odsávacie zariadenie automaticky vyplo. Pri odskúšaní aspiračných ihliel o odlišnom vnútornom priemere, ale pri rovnakom sacom podtlaku,

II. Prítomnosť výlevu krvi vo folikulárnej tekutine po punkcii preovulačných folikulov — The presence of blood in the follicular fluid after the puncture of pre-ovulation follicles

Počet zvierat	Počet operácií	Vnútorňý priemer ihly [mm] zakončenie hrotu ihly	Podtlak [kPa]	Počet punkto- vaných folikulov	Prítomnosť krvi vo folikulárnej tekutine	
					počet individuálnych vzoriek s prí- tomnosťou krvi	%
3	5	1,0/ostre	26,0	44	23	52
4	6	1,0/zaoblené	26,0	56	12	21 $P < 0,01$

% — vzhľadom na počet punktovaných folikulov (zaokrúhlene)

boli dosiahnuté tieto výsledky: typ A/2 — 18 oocytov po punkcii 39 folikulov, typ B — 12 oocytov po aspirácii 40 folikulov a typ C — 42 oocytov po aspirácii 56 folikulov (tab. I).

ASPIRÁCIA OOCYTOV S POUŽITÍM IHIEL S ODLIŠNÝM HROTOM

Pri aspirácii boli použité ihly s vnútorným priemerom 1,0 mm, u ktorých bol hrot ostrý (typ C/a) alebo zaoblený (typ C/b). Obidva varianty boli napojené na automatickú membránovú odsávačku AMO s použitím rovnakého nasávacieho podtlaku 26,0 kPa. Spôsob punkcie a aspirácie bol rovnaký ako v predošlých prípadoch. Po odskúšaní obidvoch typov sme mohli konštatovať, že po aspirácii s ihlou typu C/a, teda ostrou, bola v aspirovanej folikulárnej tekutine po punkcii 44 folikulov krv v 23 prípadoch, po aspirácii s ihlou typu C/b, zaoblenou, bola prítomnosť krvi zistená v 12 prípadoch po punkcii 56 folikulov (tab. II).

ZISK OOCYTOV PO OPAKOVANEJ ASPIRÁCII U TOHO ISTÉHO ZVIERATA

Po uplynutí šesť- až osemtyždňového intervalu od hormonálneho ošetrovania boli niektoré jalovice do pokusu zaradené opakovane. Pre aspiráciu preovulačných oocytov sme použili ihlu o vnútornom priemere 1,0 mm a ako zdroj pracovného podtlaku 26,0 kPa automatickú membránovú odsávačku AMO. Po trojnásobnej laparoskopii a punkcii 140 folikulov sme celkove získali 100 oocytov (tab. III).

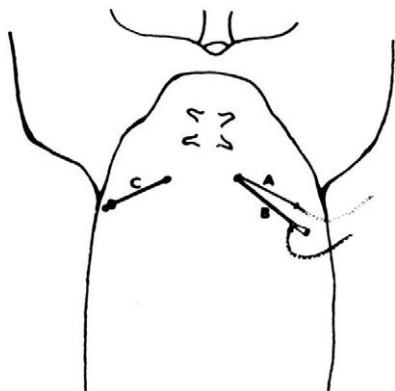
III. Zisk oocytov po tretej laparoskopii — Oocyte recovery after the third laparoscopy

Počet zvierat	Počet lapar- skopii	Vnútorňý priemer ihly [mm]	Podtlak [kPa]	Punktované folikuly		Zisk oocytov		
				celkový počet	$\bar{x}$	celkový počet	$\bar{x}$	%
5	15	1,0	26,0	140	9,3	100	6,6	71

% — vzhľadom na počet punktovaných folikulov (zaokrúhlene)

1. Schématické znázornenie zavedenia inštrumentária do brušnej dutiny jalovice pri endoskopickej aspirácii preovulačných oocytov — The scheme of introducing instruments into the abdominal cavity of a heifer at the endoscopic aspiration of pre-ovulation oocytes

A — aspiračná ihla
B — endoskop
C — fixačné kliešte



DISKUSIA

Počas rozpracovávanía techniky aspirácie oocytov sme hľadali optimálny spôsob ich získavania odsávaním z preovulačných folikulov. Pri tom sme nadviazali na práce z oblasti humánnej (Renou a i., 1981; Feichtinger a i., 1981; Jones a i., 1982; Lenz a Lauritsen, 1982) a veterinárskej (Lambert a i., 1983) medicíny. Výsledky po odskúšaní dvoch zdrojov podtlaku pri sukci (injekčná striekačka a automatická membránová odsávačka AMO) poukazujú na to, že zvolená výška podtlaku 26,0 kPa (približne 200 mm Hg), použitá podľa autorov Feichtinger a i. (1981), bola správna. Zisk 46 % oocytov oproti 14 % po nasávaní pomocou injekčnej striekačky (tab. I) je porovnateľný s výsledkami, ktoré uverejnili Lambert a i. (1983). Tu treba tiež povedať, že ešte pred punkciou folikulu je dôležité zahájiť sanie a po aspirácii je nutné odsávanie zastaviť, aby nedošlo k prípadnej iritácii steny folikulu a k vyvolaniu krvácania. K týmto účelom sa plne osvedčila automatická membránová odsávačka AMO.

Pri odskúšaní aspiračných ihl o rôznom vnútornom priemere sa pre naše účely ukázal byť najvhodnejší vnútorný priemer 1,0 mm. Na túto skutočnosť taktiež poukazujú výsledky rôznych autorov (napr. Renou a i., 1981; Feichtinger a i., 1981; Lambert a i., 1983). Celkový zisk s ihlou o tomto priemere a aspiračnom podtlaku 26,0 kPa je v porovnaní s ihlami odlišných vnútorných priemerov štatisticky významný (tab. I).

Pri vyhodnocovaní týchto experimentov bolo v niektorých prípadoch vyhľadávanie oocytov komplikované prítomnosťou krvi vo folikulárnej tekutine, hoci táto bola riedená prieplachovým roztokom s prídavkom heparínu. To nás viedlo k odskúšaniu aspiračných ihl so zaoblenou bodnou plochou. Po použití týchto ihl sa počet vzoriek s obsahom krvi signifikantne znížil (tab. II).

Po opakovanom použití jalovic sme u niektorých pozorovali adhezívne procesy, ktoré však nikdy neinterferovali s možnosťou získať preovulačné oocyty technikou endoskopickje aspirácie. Ako príklad možno uviesť skutočnosť dokumentovanú v tab. III, že ani po treťom hormonálnom ošetrení a následnej aspirácii sa finálny zisk oocytov neznížil. Na základe dosiahnutých výsledkov teda možno usudzovať, že uvedená technika aspirácie oocytov sa ukazuje byť vhodná na získavanie samičích pohlavných buniek pre štúdium problematiky oplodnenia *in vitro*.

Literatúra

- BRACKETT, B. G. — OLIPHANT, G.: Capacitation of rabbit spermatozoa *in vitro*. Biol. Reprod., 12, 1975, s. 260-274.
- BRACKETT, B. G. — BOSQUET, D. — BOICE, M. L. — DONAWICK, W. J. — EVANS, J. F. — DRESSEL, M. A.: Normal development following *in vitro* fertilization in the cow. Biol. Reprod., 27, 1982, s. 147-158.
- CRITSER, E. S. — LEIBFRIED, M. L. — FIRST, N. L.: The effect of semen extension, c AMP and caffeine on *in vitro* fertilization of bovine oocytes. Theriogenology, 21, 1984, s. 625-631.
- FEICHTINGER, W. — SZALAY, S. — BECK, A. — KEMETER, P. — JANISCH, H.: Results of laparoscopic recovery of preovulatory human oocytes from nonstimulated ovaries in an ongoing *in vitro* fertilization program. Fertil. Steril., 36, 1981, s. 707-711.
- FUKUI, Y. — FUKUSHIMA, M. — ONO, H.: Fertilization *in vitro* of bovine oocytes after various sperm procedures. Theriogenology, 20, 1983, s. 651-660.
- FUKUSHIMA, M. — FUKUI, Y.: Effects of gonadotropins and steroids on the subsequent fertilizability of extrafollicular bovine oocytes cultured *in vitro*. Anim. Reprod. Sci., 9, 1985, s. 323-332.
- IRITANI, A. — KASAI, M. — NIWA, K. — SONG, H. B.: Fertilization *in vitro* of cattle follicular oocytes with ejaculated spermatozoa capacitated in a chemically defined medium. J. Reprod. Fertil., 70, 1984, s. 487-492.
- JONES, H. W. — ACOSTA, A. — GARCIA, J.: A technique for the aspiration of oocytes from human ovarian follicles. Fertil. Steril., 37, 1982, s. 26-29.
- LAMBERT, R. D. — BERNARD, C. — RIOUX, J. E. — BÉLAND, R. — D'AMOURS, D. — MONTREUIL, A.: Endoscopy in cattle by the paralumbar route: technique for ovarian examination and follicular aspiration. Theriogenology, 20, 1983, s. 149-161.
- LAURINČÍK, J.: Ihly pre endoskopickú punkciu oocytov. [Tematická úloha.] Nitra, Výskumný ústav živočíšnej výroby 1987a.
- LAURINČÍK, J.: Kliešte pre endoskopickú fixáciu vaječníkov. [Tematická úloha.] Nitra, Výskumný ústav živočíšnej výroby 1987b.
- LENZ, S. — LAURITSEN, J. G.: Ultrasonically guided percutaneous aspiration of human follicles under local anesthesia: a new method of collecting oocytes for *in vitro* fertilization. Fertil. Steril., 38, 1982, s. 673-677.
- LENZ, R. W. — BALL, G. D. — LEIBFRIED, M. L. — AX, R. L. — FIRST, N. L.: *In vitro* maturation and fertilization of bovine oocytes are temperature dependent processes. Biol. Reprod., 29, 1983, s. 173-179.
- MOTLIK, J. — FULKA, J.: Factors affecting meiotic competence in pig oocytes. Theriogenology, 25, 1986, s. 87-96.
- PARRISH, J. — SUSKO-PARRISH, J. L. — FIRST, N. L.: *In vitro* fertilization of bovine oocytes using heparin treated and swim up separated frozen thawed bovine semen is repeatable and results in high frequencies of fertilization. Theriogenology, 23, 1985, s. 216.
- PETERS, A. R.: Hormonal control of the bovine oestrous cycle. II. Pharmacological principles. Brit. veter. J., 142, 1986, s. 20-29.
- PINCUS, G. — ENZMANN, E. V., 1935. In: TROUNSON, A. O. — WILLADSEN, S. M. — ROWSON, L. E. A.: Fertilization and development capability of bovine follicular oocytes matured *in vitro* and *in vivo* and transferred to the oviducts of rabbits and cows. J. Reprod. Fertil., 51, 1977.
- RENOU, P. — TROUNSON, A. O. — WOOD, C. — LEETON, J. F.: The collection of human oocytes for *in vitro* fertilization. I. An instrument for maximizing oocyte recovery rate. Fertil. Steril., 35, 1981, s. 409-412.
- SANBUISSHO, A. — THRELFALL, W. R.: The effects of estrous cow serum on the maturation and fertilization of the bovine follicular oocyte *in vitro*. Theriogenology, 23, 1985, s. 226.
- SHEA, B. F. — JANZEN, R. E. — MC ALISTER, R.: Recovery and fertilization of bovine follicular oocytes. Theriogenology, 19, 1983, s. 385-390.
- SHEA, B. F. — LATOUR, J. P. A. — BEDIRIAN, K. N. — BAKER, R. D.: Maturation *in vitro* and subsequent penetrability of bovine follicular oocytes. J. anim. Sci., 45, 1976, s. 809-815.
- SIRARD, M. A. — LAMBERT, R. D.: *In vitro* fertilization of bovine follicular oocytes obtained by laparoscopy. Biol. Reprod., 33, 1985, s. 487-494.
- SIRARD, M. A. — LAMBERT, R. D. — MÉNARD, D. P. — BEDOYA, M.:

Pregnancies after *in-vitro* fertilization of cow follicular oocytes, their incubation in rabbit oviduct and their transfer to the cow uterus. *J. Reprod. Fertil.*, 75, 1985, s. 551-556.

TROUNSON, A. O. — WILLADSEN, S. M. — ROWSON, L. E. A.: Fertilization and development capability of bovine follicular oocytes matured *in vitro* and *in vivo* and transferred to the oviducts of rabbits and cows. *J. Reprod. Fertil.*, 51, 1977, s. 321-327.

Došlo dňa 11. 4. 1988

ЛАУРИНЧИК, Й. — ПИВКО, Ю. — ГРАФЕНАУ, П. — ОБЕРФРАНЦ, М. (Научно-исследовательский институт животноводства, Нитра): *Получение ооцитов путем аспирации доовуляционных фолликулов телок*. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (12) : 727-734.

На гормонально синхронизированных и стимулированных телках испытывали аспирацию доовулирующих ооцитов. В качестве источника всасывающего вакуума (с помощью аспирационных игл с внутренним диаметром 0,7 мм) служил автоматический мембранный аспиратор АМО с рабочим вакуумом 26,0 кПа, который помог увеличить получение ооцитов в сравнении со шприцем. При одинаковом разрежении 26,0 кПа, но с применением игл разного внутреннего диаметра (0,7 мм, 1,5 мм и 1,0 мм) достоверно повышается выход ооцитов при диаметре 1,0 мм. Благодаря закруглению острого конца иглы добились понижения кровоизлияния в индивидуальном образце аспирированной фолликулярной жидкости. Повторные гормональные стимулирования и эндоскопическая аспирация не ухудшали состояния доноров и финальной прибыли ооцитов.

эндоскопия; аспирация; внутренний диаметр иглы; ооцит

LAURINČÍK, J. — PIVKO, J. — GRAFENAU, P. — OBERFRANC, M. (Research Institute for Animal Production, Nitra): *Oocyte Recovery by Aspiration of the Preovulatory Follicles of Heifers*. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (12) : 727-734.

In hormonally synchronized and stimulated heifers the possibility was tested of the aspiration of pre-ovulation oocytes. As a source of the suction vacuum, at the application of aspiration needles with 0.7 mm inside diameter, the automatic membrane suction bottle — AMO with the working underpressure 26.0 kPa was used, which increased significantly the number of recovered oocytes, in comparison to the use of the hypodermic syringe. At the same underpressure of 26.0 kPa but aspiration needles with different inside diameters (0.7 mm, 1.5 mm and 1.0 mm) the number of recovered oocytes increased significantly with the use of the aspiration needle with 1.0 mm inside diameter. At the application of this needle and after blunting the sharp end, a significant decrease occurred in the presence of blood in the individual sample of the aspired follicular fluid. The repeated hormonal stimulations and endoscopic aspirations had no negative effect on the health condition of donors and on the final recovery of oocytes.

endoscopy; aspiration; inside diameter of needle; oocyte

LAURINČÍK, J. — PIVKO, J. — GRAFENAU, P. — OBERFRANC, M. (Forschungsinstitut für Tierproduktion, Nitra): *Oozytengewinnung mittels Aspiration der Praeovulationsfollikel von Färsen*. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (12) : 727-734.

An hormonell synchronisierten und stimulierten Färsen prüften wir Möglichkeiten einer Gewinnung von Praeovulationsoozyten mittels Aspiration. Als Quelle des Ansaugunterdrucks, unter Anwendung von Aspirationsnadeln mit einem Innendurchmesser von 0,7 mm, wandten wir einen automatischen Membranabsauger — AMO — von 26,0 kPa Arbeitsunterdruck an, bei dessen Anwendung der Gewinn der Oozyten gegenüber der zu vergleichenden Injektionsspritze signifikant anstieg. Bei demselben Unterdruck der 26,0 kPa, jedoch mit Aspirationsnadeln unterschiedlichen Innendurchmessers (0,7 mm, 1,5 mm und 1,0 mm) erhöhte sich statistisch sig-

nifikant der Oozytengewinn bei der Aspirationsnadel mit 1,0 mm Innendurchmesser. Beim Einsatz dieser Nadel und nach einer Abrundung ihres spitzen Endes kam es zu einem markanten Rückgang des Vorhandenseins von Blutergüssen in den individuellen Proben der aspirierten Follikularflüssigkeit. Wiederholte Hormonalstimulationen sowie endoskopische Aspirationen hatten keinen negativen Einfluß u. zw. weder auf den Gesundheitszustand der Spenderinnen noch auf den Finalgewinn der Oozyten.

Endoskopie; Aspiration; Innendurchmesser der Nadel; Oozyt

Adresa autorov:

MVDr. Jozef Laurinčík, MVDr. Juraj Pivko, DrSc., MVDr. Peter Grafenau, MVDr. Miroslav Oberfranc, Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra

VPLYV PROTRAHOVANEJ EXPOZÍCIE GAMA-ŽIARENIA (6,7 Gy) NA AKTIVITU MONOAMÍNOOXIDÁZY V HYPOTALAME OVIEC V ANESTRICKOM OBDOBÍ

B. Pástorová, J. Arendarčík

PÁSTOROVÁ, B. — ARENDARČÍK, J. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Vplyv protahovanej expozície gama-žiarenia (6,7 Gy) na aktivitu monoamín-oxidázy v hypotalame oviec v anestríckom období*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 735-740.

Študovali sme zmeny aktivity MAO v hypotalame a hypofýze oviec v anestríckom období po celotelovom ožarovaní ^{60}Co celkovou dávkou 6,7 Gy po dobu 7 dní. Hodinový expozičný prikon gama-žiarenia bol 0,039 Gy. Aktivitu monoamínoxidázy (MAO) sme stanovili rádiochemickou metódou, ako substrát sme použili ^{14}C -tryptamín. MAO vykazuje rozdielnú aktivitu v skúmaných oblastiach hypotalamu kontrolnej skupiny oviec. Jej najvyššiu aktivitu sme stanovili v rostrálnom hypotalame ($1100 \text{ pmol} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{min}^{-1}$). V kaudálnej časti hypotalamu je aktivita MAO najnižšia (550 pmol). Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že celotelová expozícia gama-žiarenia v celkovej dávke 6,7 Gy spôsobuje štatisticky významný vzostup ($P < 0,001$) aktivity MAO v kaudálnom hypotalame oviec. V rostrálnom a mediálnom hypotalame zostáva na úrovni kontrolnej skupiny, alebo nesignifikantne stúpa. V hypofýze sme zaznamenali jej signifikantné zníženie ($P < 0,05$). Je možné predpokladať, že zvýšená degradácia katecholamínov pôsobením MAO je jedným z mechanizmov zodpovedných za pokles koncentrácie katecholamínov v hypotalame oviec po ožarení.

ovce; gama-žiarenie; monoamínoxidáza; ^{60}Co ; hypotalamus; hypofýza

Ionizujúce žiarenie významne mení hladiny katecholamínov a serotonínu v hypotalame, celom mozgu, srdci a v nadobličkách ožiarených zvierat (Prignitz a i., 1976; Stepanovic a i., 1981; Pástorová a i., 1988) a poškodzuje mechanizmy hromadenia a spätného vychytávania katecholamínov v adrenergných neurónoch (Stepanovic a i., 1981). Znížené hladiny katecholamínov pretrvávajú i v postiradičných obdobiach a len ťažko sa upravujú na pôvodné hodnoty (Prokudina a Bazanova, 1982). Hypotalamické katecholamíny sa podieľajú na regulácii viacerých neuroendokrínologických procesov: na riadení neurosekrécie (Kvetňanský, 1981), na regulácii reprodukčných cyklov (Sawyer, 1979) a osi hypofýza — nadoblička v adrenokortikálnej stresovej odozve (Ganong, 1975).

Jedným z faktorov, ktoré majú vplyv na zmenu koncentrácie katecholamínov po expozícii gama-žiarenia, je poškodenie mechanizmov ich syntézy a degradácie (Hudson a i., 1974). Mitochondriálna MAO je enzým, ktorý má významnú úlohu pri degradácii katecholamínov a serotonínu v CNS, a to tým, že katalyzuje ich oxidatívnu deamináciu (Collins a i., 1970). Monoamínoxidáza je lokalizovaná na vonkajších

membránach synaptických vezikúl obsahujúcich norepinefrín a pravdepodobne je zodpovedná za jeho intraneuronálny metabolizmus (Nagatsu a i., 1970).

V našich predchádzajúcich prácach sme zistili (Pástorová a i., 1985, 1988), že kontinuálne ožarovanie oviec gama-žiarením v dávke 6,7 Gy znižuje koncentrácie katecholamínov a prekursora pre ich syntézu L-DOPA v hypotalame a hypofýze oviec. V tejto práci sme sa zamerali na štúdium zmien aktivity ich degradačného enzýmu MAO v hypotalame a hypofýze oviec za rovnakých pokusných podmienok.

MATERIÁL A METÓDY

V pokuse sme použili 12 oviec plemena slovenské merino o priemernej ž. h. 40 kg, vo veku dva až tri roky, v anestríckom období (máj). Šesť oviec bolo kontrolných. Ovce pokusnej skupiny ($n = 6$) sme kontinuálne ožarovali po dobu siedmich dní celkovou dávkou 6,7 Gy. Hodinový príkon zdroja žiarenia bol 0,039 Gy. Ovce boli umiestnené v klietkach vzdialených od zdroja žiarenia 4,6 m. Po skončení ožarovania sme ovce usmrtili vykrvením a urýchlene odobrali vzorky z hypotalamu a hypofýzy. Hypotalamus sme rozdelili na časť rostrálnu, mediálnu a kaudálnu a do spracovania udržiavali v kvapalnom dusíku. Tkanivo sme homogenizovali v Potter-Elvehjemových sklených homogenizátoroch vo vychladnutej sacharóze o koncentrácii $c = 0,25 \text{ mol.l}^{-1}$. Na stanovenie aktivity MAO a bielkovín sme použili 25 μl homogenátu. Aktivitu MAO sme stanovili v tkanivových homogenátoch rádiochemickou metódou podľa autorov Wurtman a Axelrodt (1963). Ako substrát sme použili ^{14}C -tryptamín o špecifickej aktivite $18,5 \cdot 10^{-7} \text{ Bq.nmol}^{-1}$. Na jednu vzorku sme použili 6,25 nmol ^{14}C -tryptamínu. Bielkoviny sme v tkanivových homogenátoch stanovili metódou podľa autorov Lowry a i. (1951). Výsledky sme vyjadrovali v pmol MAO produkovanej miligramom bielkovín za minútu a štatisticky spracovali Studentovým t -testom.

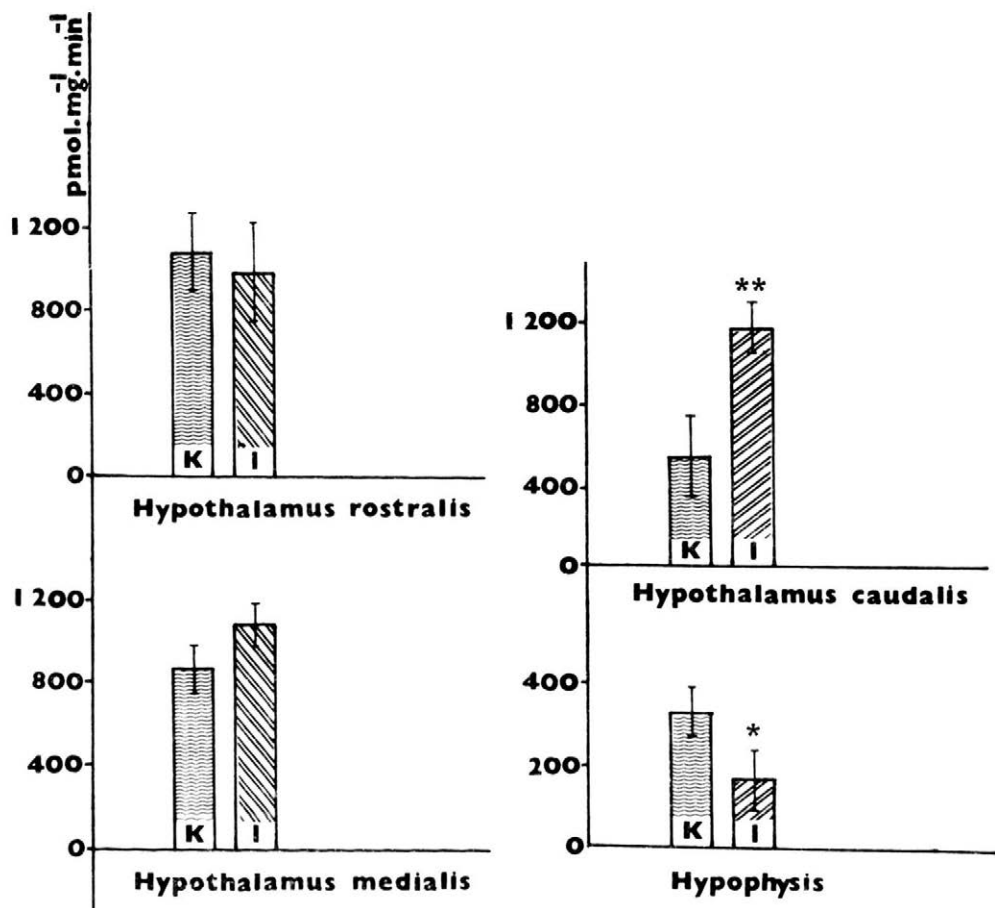
VÝSLEDKY

Z dosiahnutých výsledkov vyplýva, že aktivita MAO (obr. 1) je v skúmaných oblastiach hypotalamu oviec rozdielna. V rostrálnej oblasti hypotalamu oviec v anestríckom období je aktivita MAO $1100 \pm 10,1 \text{ pmol.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$, v mediálnej oblasti $850 \pm 7,6 \text{ pmol.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$ a v kaudálnej oblasti dosahuje hodnotu $550 \pm 3,13 \text{ pmol.mg}^{-1}.\text{min}^{-1}$.

Sedemdnňové kontinuálne celotelové ožarovanie oviec dávkou 6,7 Gy spôsobuje vzostup aktivity MAO v kaudálnom hypotalame oviec (v porovnaní s kontrolnou intaktnou skupinou oviec o 110 %). V mediálnom hypotalame oviec sme zaznamenali nesignifikantný vzostup aktivity (o 20,9 %). V rostrálnom hypotalame oviec (obr. 1) nedochádza v rámci štatistickej významnosti k zmenám aktivity MAO (obr. 1). Ionizačné žiarenie v dávke 6,7 Gy spôsobuje signifikantné zníženie ($P < 0,05$) aktivity MAO v hypofýze oviec (obr. 1).

DISKUSIA

Intraneuronálna MAO má významné miesto v regulácii funkčne aktívneho poolu katecholamínov v CNS a pravdepodobne je podstatná i pri udržiavaní ich cytoplazmatickej koncentrácie na najnižšom bode neurónu (Houslay a i., 1976). Elektroforetickým delením bol potvrdený výskyt MAO A a MAO B. Tieto dve formy enzýmu sa od seba odlišujú substrátovou špecifitou a afinitou k rôznym inhibítorm (Collins a i.,



1. Aktivita monoamínooxidázy (MAO) — The activity of monoamineoxidase (MAO)
 K — kontrola 1 — 6,7 Gy

1970). Typ enzýmu MAO A v mozgu potkanov uprednostňuje deamináciu serotonínu noradrenalínu a dopamínu a je inhibovaný clorgylínom a harmalínom. Fenyletylamín, benzylamín a dopamín sú preferenčnými substrátmi MAO B, ktorá je silne inhibovaná deprenylom a pargylínom. Na základe dosiahnutých vedeckých poznatkov sa predpokladá, že v hypothalamu potkanov je pomer MAO A ku MAO B vyrovnaný (Kvetňanský, 1981). Typ substrátu ^{14}C -tryptamín, ktorý sme použili v našom experimente, je degradovaný obidvoma formami enzýmu.

Po jednorazovom celotelovom ožiarení zvierat ^{60}Co dochádza k výrazným metabolickým poruchám v organizme, vrátane zmien koncentrácie katecholamínov, serotínu a acetylcholínu, ktoré boli popísané v mozgu, srdci a nadobličkách laboratórnych zvierat (Bazanová a Prokudina, 1985).

Niektorí autori (Pausescu a i., 1973, 1976; Prokudina a Bazanová, 1982) zistili, že žiarenie spôsobuje i zmeny aktivít enzýmov podieľajúcich sa na syntéze a degradácii katecholamínov. Naše výsledky môžeme porovnať len s údajmi získanými na laboratórnych zvieratách. Po celotelovej protrahovanej expozícii gama-žiarenia v cel-

kovej dávke 6,7 Gy sme v porovnaní s kontrolnou skupinou zaznamenali štatisticky významný vzostup aktivity MAO ($P < 0,001$). V mediálnej oblasti hypotalamu vzrástla po expozícii 6,7 Gy aktivita MAO o 20,9 %, ale tento vzostup nie je štatisticky významný. V rostrálnom hypotalame sa aktivita MAO v porovnaní s kontrolnou skupinou nemení. P a u s e s c u a i. (1976) zistili v nediferencovanom mozgu králikov po jednorazovej celotelovej expozícii gama-žiarenia v dávke 400 R vzostup aktivity MAO o 655 %. Iní autori (B o r g e s a D r u j a n, 1971; P r i g n i t z a i., 1976; A d o l f s o n a i., 1977) zistili po lokálnej expozícii gama-žiarenia v dávke 250 až 6000 R po 30 minútach od ukončenia ožiarovania v srdciach morčiat a myši štatisticky nezmenenú aktivitu MAO. Rozdiely uvedené v literárnych údajoch môžu súvisieť i so zistením, že ionizačné žiarenie aplikované lokálne a jednorazovo nevyvoláva také výrazné zmeny koncentrácie katecholamínov a aktivity MAO, ako keď je rovnaká dávka žiarenia exponovaná celotelovo a protiahovane (C a t r a v a s a H a l l e, 1974; G e r b e r a i., 1976; P r i g n i t z a i., 1976).

V našej predchádzajúcej práci sme zistili (P á s t o r o v á a i. 1985), že kontinuálne ožiarovanie v dávke 6,7 Gy po dobu siedmich dní štatisticky významne znižuje koncentrácie katecholamínov (norepinefrínu, epinefrínu, dopamínu), ako i prekursora pre ich syntézu l-DOPA v hypotalame oviec. V kaudálnom hypotalame, v ktorom sme zaznamenali najvýraznejší vzostup aktivity MAO, sme pozorovali pokles koncentrácie norepinefrínu (o 40 %), dopamínu (o 60 %) a epinefrínu (o 62 %). Pokles koncentrácií katecholamínov v kaudálnom hypotalame oviec je v korelácii so vzostupom aktivity MAO. V hypofýze poklesla po expozícii gama-žiarenia koncentrácia katecholamínov (P á s t o r o v á a i., 1985) i aktivita MAO. Súvisí to pravdepodobne s tým, že degradácia katecholamínov v hypofýze v prevažnej miere prebieha prostredníctvom katechol-o-metyltransferázy (C i a r a n e l l o a B a r c h a s, 1973) a len časť katecholamínov je degradovaná MAO.

Pokles koncentrácie katecholamínov v hypotalame a hypofýze ožiarovaných oviec môže súvisieť s porušením metabolických procesov v organizme, s poškodením endotelu ciev, znížením, resp. obmedzením syntézy katecholamínov (S t e p a n o v i c a i., 1981), s poklesom ich periférnych zdrojov a so vzostupom aktivity MAO, enzýmu, ktorý sa spoločne s katechol-o-metyltransferázou výraznou mierou podieľa na degradácii katecholamínov v CNS.

Literatúra

- ADOLFSON, R. — ECKERT, B. — GOTTFRIENS, C. G. — ORELAND, I. — WIBERG, A. — WINBLAND, B.: Monoamineoxidase activity in gamma-irradiated rat brain. *Strahlentherapie*, 153, 1977, s. 431-432.
- BAZANOVA, N. V. — PROKUDINA, E. A.: Sdvigi v balance katecholaminov gipotalamusu krys v pozdnij period posle lokalnogo oblučeniya i ego korekcii etimizolom. *Radiobiologia*, 25, 1985, s. 88-91.
- BORGES, J. M. — DRUJAN, B. D.: The effect of gamma-irradiation upon monoamineoxidase activity. *Radiat. Res.*, 45, 1971, s. 589-597.
- CATRAVAS, C. N. — MC HALLE, C. G.: Radiation induced changes in the activity of brain enzymes involved in the neurotransmitter metabolism. *Radiat. Res.*, 45, 1971, s. 589-597.
- CIARANELLO, D. R. — BARCHAS, D. J.: Catecholamines in the pituitary. Origin and fate. In: *Progress in brain research*. RALL, J. E. — KOPIN, I. (Eds). Amsterdam, Elsevier Sci. Publ. Comp., 39, 1973, s. 218-223.

- COLLINS, C. C. G. — SANDLER, M. — WILLIAMS, E. D. — YODIN, M. B. Y.: Multiple form of human brain mitochondria monoaminooxidase. *Nature*, 225, 1970, s. 815-819.
- GANONG, W. F.: Brain amines and control of ACTH and growth hormone secretion. In: *Hypothalamic hormones*. New York, Acad. Press 1975, s. 250-270.
- GERBER, G. B. — DERRO, J. — BESSEMAN, B. — REINHOLD, H. S. — VERWEY-VERSTEEG, A. A. C.: Late effect in the central nervous system. A study of biochemical alterations after local exposure of the rat brain to 2C krd. *Strahlentherapie*, 151, 1976, s. 530-540.
- HOUSLAY, M. D. — TIPTON, K. F. — YODIN, M. B.: Multiple form of monoaminooxidase. Fact and artefact. *Life Sci.*, 19, 1976, s. 467-478.
- HUDSON, D. — VALCANA, T. — TIMINAS, P. D.: Effect of α -irradiation on monoamine metabolism in the developing rat brain. *Radiat. Res.*, 59, 1974, s. 278-279.
- KVETŇANSKÝ, R.: Recent progress in catecholamine under stress. In: *Catecholamines and stress*. Recent Advances. USDIN, E. — KVETŇANSKÝ, R. — KOPIN, I. J. (Eds). New York, Amsterdam, Oxford, Elsevier North Holland 1981, s. 11-18.
- LOWRY, O. — ROSENBROUGHT, N. — FARR, A. — RANDALL, R.: Protein measurement with the folin phenol reagent. *J. biol. Chem.*, 194, 1951, s. 265-275.
- NAGATSU, T. — YAMATO, T. — NAGATSU, I.: Purification and properties of human brain mitochondrial monoaminooxidase. *Enzymologia*, 29, 1970, s. 15-17.
- PAUSESCU, E. — CIRVASIE, T. — TEODOSIU, T. — LUGOJAN, R. — MUNTIU, K.: Early effect of ^{60}Co radiation on cerebral catecholamines, serotonin and related compounds. *Strahlentherapie*, 145, 1973, s. 76-82.
- PAUSESCU, E. — POPESCU, M. — PAUN, M. — TEODOSIU, T.: Dynamics of changes in the tissual levels of cyclic AMP after ^{60}Co gamma-irradiation. *Strahlentherapie*, 151, 1976, s. 165-171.
- PÁSTOROVÁ, B. — ARENDARČÍK, J. — MOLNÁROVÁ, M.: Hladiny katecholaminů v hypotalame, hypofýze a nadobličkách ovíec po celotelové expozici gama-žáření. *Veter. Med. (Praha)*, 30, 1985, s. 485-492.
- PÁSTOROVÁ, B. — ARENDARČÍK, J. — MOLNÁROVÁ, M.: Vplyv hormonálnej stimulácie Folistimonom a protahovanej expozície gama-žáření (2,46 Gy) na hladiny katecholaminů v hypotalame a hypofýze ovíec. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988, s. 209-214.
- PRIGNITZ, R. — SAUBIER, B. — HOFFMEISTER, M.: Untersuchungen über den Einfluss vom Röntgenstrahlen auf Elektrolytverschiebungen und Stoffwechsel des Herzmuskels. *Strahlentherapie*, 151, 1976, s. 53-60.
- PROKUDINA, E. A. — BAZANOVA, N. V.: O roli katechol-o-metyltransferazi v preobrazení katecholaminů v gipotalamuse krysa v oddaleni period posle oblučeni. *Radiobiologia*, 22, 1982, s. 672-674.
- SAWYER, R. C. H.: Brain amines and pituitary gonadotrophin secretion. Seventh J. A. Stevenson Memorial Lecture. *Can. J. Physiol. Pharmacol.*, 57, 1979, s. 667-680.
- STEPANOVIC, S. R. — NIKOLIC, J. V. — VARAGIC, V. M.: The effect of l-DOPA and benserazide on corpus striatum of α -irradiated rats. In: *Catecholamines and stress*. Recent Advances. USDIN, E. — KVETŇANSKÝ, R. — KOPIN, I. J. (Eds). New York, Amsterdam, Oxford, Elsevier North Holland 1981, s. 95-97.
- WURTMAN, J. — AXELRODT, J.: A sensitive and specific assay for estimation of monoamine oxidase. *Biochem. Pharmacol.*, 12, 1963, s. 1439-1441.

Došlo dňa 9. 3. 1988

ПАСТОРОВА, Б. — АРЕНДАРЧИК, Й. (Институт ветеринарии, Кошице): Влияние продленной экспозиции гамма-облучения (6,7 Gy) на активность моноаминоксидазы в гипоталамусе овец в анестрическом периоде. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988 (12): 735-740.

Определяли изменения в активности МАО в гипоталамусе и гипофизе овец в период анестра после общего их облучения ^{60}Co суммарной дозой 6,7 Gy в течение 7 дней. Часовая мощность экспозиции гамма-облучения 0,039 Gy. Активность моноаминоксидазы (МАО) определяли с помощью радиохимического метода, а в качестве субстрата служил ^{14}C -триптамин. МАО показывает неодинаковую активность в частях гипоталамуса в контрольной группе: она максимальная в роstralном гипоталамусе (1100 пмол. $\cdot \text{мг}^{-1} \cdot \text{мин.}^{-1}$) и минимальная в каудальной его части (550 пмол.). Как видно, упомянутое облучение ведет к значительному росту ($P < 0,001$) активности МАО в каудале, тогда как в роstralной и медиальной частях она остается на уровне контроля или

незначимо растёт. В гипофизе же она значимо падает ($P < 0,05$). Очевидно, усиленная деградация катехоламинов под влиянием MAO — один из механизмов, ответственных за понижение концентрации катехоламинов в гипоталамусе овец после облучения. овцы; гамма-облучение; моноаминооксидаза; ^{60}Co ; гипоталамус; гипофиз

PÁSTOROVÁ, B. — ARENDARČÍK, J. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The Effect of Protracted Exposure to Gamma Radiation (6.7 Gy) on the Activity of Monoaminoxidase in the Hypothalamus of Ewes in the Anoestral Period*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 735-740.

The changes of MAO activity in the hypothalamus and hypophysis of ewes in the anoestral period after exposure of the whole body to the total dose of 6.7 Gy of ^{60}Co radiation for the period of 7 days were studied. The exposition input of gamma radiation was 0.039 Gy per one hour. The activity of monoaminoxidase (MAO) was determined with the help of radiochemical method and ^{14}C -tryptamine was used as a substrate. A different activity of MAO in the observed regions of hypothalamus in the control group of ewes was recorded. The highest activity was determined in the rostral hypothalamus (1100 pmol.mg $^{-1}$.min $^{-1}$). The activity of MAO is at the lowest in the caudal region of hypothalamus (550 pmol). It follows from the results that exposure of the whole body to gamma radiation in the total dose of 6.7 Gy statistically significantly increases ($P < 0.001$) the activity of MAO in the caudal hypothalamus of ewes. It remains at the level of control group in the rostral and medial hypothalamus or it increases insignificantly. A significant decrease ($P < 0.05$) was recorded in the hypophysis. It is possible to presume that an increased degradation of catecholamines caused by MAO is one of the mechanisms responsible for a decreased concentration of catecholamines in the hypothalamus of ewes after irradiation.

ewes; gamma radiation; monoaminoxidase; ^{60}Co ; hypothalamus; hypophysis

PÁSTOROVÁ, B. — ARENDARČÍK, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Einfluß protrahierter Exposition der Gamma-Strahlung (6,7 Gy) auf die Aktivität der Monoaminoxidase im Hypothalamus von Schafen im Anöstrus*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 735-740.

Wir studierten Veränderungen der Monoaminoxidase- (MAO-) Aktivität im Hypothalamus und in der Hypophyse von Schafen in der Anöstrus-Period nach ^{60}Co -Gesamtkörperbestrahlung durch eine Gesamtdosis von 6,7 Gy im Verlauf von 7 Tagen. Die Stundenexpositionsdosisleistung betrug 0,039 Gy. Die MAO-Aktivität ermittelten wir anhand der radiochemischen Methode, als Substrat wurde ^{14}C -Tryptamin eingesetzt. Die MAO weist eine unterschiedliche Aktivität in den untersuchten Hypothalamusregionen der Kontrollschafe auf. Die höchste Aktivität ermittelten wir im rostralen Hypothalamus (1100 pmol.mg $^{-1}$.min $^{-1}$). Im kaudalen Teil des Hypothalamus ist die MAO-Aktivität am geringsten (550 pmol.mg $^{-1}$.min $^{-1}$). Aus den ermittelten Ergebnissen geht hervor, daß eine Gesamtkörperexposition der Gamma-Strahlung von 6,7 Gy Gesamtdosis einen statistisch signifikanten Anstieg ($P < 0,001$) der MAO-Aktivität im kaudalen Hypothalamus der Schafe verursacht. Im rostralen und medialen Hypothalamus bleibt die Aktivität auf dem Niveau der Kontrollgruppe, evtl. steigt sie unsignifikant an. In der Hypophyse verzeichneten wir ihren signifikanten Rückgang ($P < 0,05$). Es kann vorausgesetzt werden, daß die infolge der MAO-Wirkung hervorgerufene erhöhte Degradation der Katecholamine einer der für den Rückgang der Katecholaminekonzentration im Hypothalamus der Schafe nach Bestrahlung verantwortlichen Mechanismen ist.

Schaf; Gamma-Strahlung; Monoaminoxidase; ^{60}Co ; Hypothalamus; Hypophyse

Adresa autorov:

RNDr. Bernádetta Pástorová, CSc., prof. MVDr. Jozef, Arendarčík, DrSc., Vysoká škola veterinárská, Komenského 73, 041 81 Košice

IZOLACE PATOGENNÍHO VIRU MARKOVY NEMOCI Z HEJNA KUŘIC VAKCINOVANÝCH KRŮTÍ HERPETICKOU VAKCÍNOU

V. Jurajda, R. Halouzka

JURAJDA, V. — HALOUZKA, R. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Izolace patogenního viru Markovy nemoci z hejna kuřic vakcinovaných krůtí herpetickou vakcínou*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 741-746.

V laboratorních podmínkách byla sledována chráněnost vakcinovaných kuřat vůči terénnímu kmenu viru Markovy nemoci (VUB-83), izolovanému v roce 1983 z rozmnožovacího hejna kuřic masného typu ROSS. Kuřice byly vakcinovány v první den věku krůtí herpetickou vakcínou (Riemsere Marekvakzin — NDR) a postiženy ve 20. týdnu věku vysokým výskytem akutní formy Markovy nemoci. Čtyři skupiny kuřat nosného typu Hisex bílý po 20 kusech byly v první den věku vakcinovány vakcínou MARVAK (Bioveta, n. p., Nitra); další čtyři skupiny (kontrolní) zůstaly nevakinovány. Všechna kuřata byla čelenžována v 1., 5., 12. a 20. den věku izolátem VUB-83 a sledována po dobu 15 týdnů. U vakcinovaných kuřat čelenžovaných v 1., 5. a 12. dnu věku byla mortalita nižší než mortalita odpovídající kontrolní skupiny. U kuřat čelenžovaných ve 20. dnu věku nebyl tento rozdíl pozorován. Výskyt Markovy nemoci, diagnostikovaný na základě přítomnosti viscerálních lymfoidních nádorů, byl v porovnání s kontrolními skupinami nižší pouze u vakcinovaných kuřat čelenžovaných v pátém dnu věku. Přes tyto zjištěné rozdíly byla protektivní účinnost vakcíny MARVAK vůči izolátu VUB-83 nedostačující.

krůtí herpetická vakcína; protektivní index; vysoce virulentní kmeny viru Markovy nemoci

Jedním ze tří základních způsobů prevence Markovy nemoci (MD), ekonomicky závažného lymfoproliferativního onemocnění drůbeže vyvolávaného herpesvirem, je specifická imunoprophylaxe. Protože protektivní účinek vakcín proti MD není kompletní, může se i ve vakcinovaných chovech drůbeže občas a ojediněle onemocnění vyskytnout. Někdy však v terénních podmínkách deklarovaná účinnost vakcíny selhává tak, jako kdyby šlo o chov nevakinovaný.

Zatím známé příčiny vzniku nedostatečné chráněnosti kuřat po vakcinaci se rozdělují do dvou hlavních skupin — první skupina příčin souvisí s účinností vakcíny samé, druhou skupinu příčin představují faktory hostitelské a ekologické (Jurajda, 1982).

Mezi nejzávažnější ekologické příčiny se zařazuje existence vysoce virulentních variant nebo patotypů viru Markovy nemoci (vvMDV) v populaci drůbeže. Jejich základní charakteristikou je, že proti nim nechrání potentní vakcína z krůtího herpetického viru (HVT). Kmeny viru těchto vlastností byly doposud izolovány a popsány v USA (Eidson aj., 1978, 1981; Witter a Fadly, 1980; Witter aj., 1980; Schat aj., 1982) a v Itálii (Powell a Lombardini, 1986).

Předmětem naší práce bylo zjistit chráněnost kuřat vakcinovaných vakcínou MARVAK vůči terénnímu kmenu viru MD, izolovanému z hejna kuřic vakcinovaného HVT a postiženého akutní formou Markovy nemoci.

MATERIÁL A METODY

Virus použitý k čelení infekci byl izolován v roce 1983 z rozmnožovacího hejna 20 týdenních kuřic masného typu ROSS, které byly v prvním dnu věku vakcinovány HVT-vakcínou (Riemsers Marekvakzin — NDR). V době vyšetření bylo hejno postiženo vysokým výskytem akutní formy MD. Virus byl udržován v laboratoři buď opakovaným pasážováním na kuřatech, nebo v tekutém dusíku ve formě extraktu péroových folikulů od experimentálních kuřat s viscerálními lymfoidními nádory.

Komerční kuřata nosného typu (Hisex bílý) byla jako jednodenní vakcinována vakcínou MARVAK (Bioveta, n. p., Nitra) v doporučené dávce, tj. 100 plakotvorných jednotek (PFU) v 0,2 ml inokula intramuskulárně. Kuřata byla rozdělena do čtyř skupin po 20 kusech a odděleně ustájena. Ke každé skupině byla postavena odpovídající skupina nevakuinovaných (kontrolních) kuřat.

Jednotlivé skupiny kuřat vakcinovaných i kontrolních byly čelenžovány terénním izolátem (označeným jako VUB-83) ve formě bezbuněčného inokula (cell-free), připraveného extrakcí péroových pochev od pozitivních experimentálních kuřat v dávce 0,1 ml i. m. ve věku jeden, pět, dvanáct nebo dvacet dní. Pozorovací období bylo 15 týdnů. Kuřata uhynulá během pozorovacího období byla pitvána a vyšetřována na přítomnost viscerálních lymfoidních nádorů, které byly evidovány. Přezívající kuřata byla ve 105. dnu utracena a stejným způsobem vyšetřena.

Protektivní index (PI) byl vypočítán podle vzorce:

$$\frac{\text{procento MD u vakcinovaných kuřat} - \text{procento MD u kontrolních kuřat}}{\text{procento MD u kontrolních kuřat}} \times 100$$

Výsledky se statisticky vyhodnocovaly χ^2 testem pro tabulku 2×2 podle Reisenauera (1965).

VÝSLEDKY A DISKUSE

Výsledky pokusu jsou shrnuty v tab. I a znázorněny na obr. 1.

Skupiny kuřat vakcinovaných a čelenžovaných v prvním, pátém a dvanáctém dnu věku vykazovaly celkovou mortalitu v rozmezí od 25 do 50 %. Úhyny u těchto skupin byly signifikantně nižší než u odpovídajících kontrolních skupin, u kterých se mortalita pohybovala od 70 do 85 %. Tento rozdíl však již nebyl detekovatelný mezi skupinou kuřat čelenžovanou ve věku 20 dnů (uhynulo 22,2 % kuřat) a skupinou kontrolní (úhyn 31,6 %).

Celkově klesala mortalita úměrně se zvětšujícím se rozdílem mezi dobou vakcinace a čelenže — nejvyšší byla u skupiny kuřat čelenžované v prvním dnu věku a nejnižší u skupiny kuřat čelenžované ve 20. dnu věku. V porovnání s ostatními kontrolními skupinami byla mortalita nejnižší u kontrolní skupiny kuřat infikovaných ve 20. dnu věku.

Výskyt viscerálních lymfoidních nádorů měl klesající tendenci jak u skupin kuřat vakcinovaných, tak u skupin kuřat kontrolních. Signifikantně odlišný výskyt nádorů Markovy nemoci byl pozorován pouze u kuřat čelenžovaných v pátém dnu věku, kdy u kuřat vakcinovaných mělo 15 % kuřat nádory, a u kontrolních 50 % kuřat. Protektivní index (PI) byl však i u této skupiny nedostačující. U ostatních skupin byl PI nulový nebo nedosahoval požadovaného minima 75 až 78 %.

I. Mortalita a výskyt nádorů Markovy nemoci (MD) u kuřat čelenžovaných izolátem VUB-83 v různém věku po vakcinaci krůtí herpetickou vakcínou (HVT) a u kuřat nevakcinovaných — Mortality and occurrence of tumors in Marek's disease in chickens challenged by the VUB-83 isolate at different age after vaccination by the turkey herpes vaccine (HVT) and in non-vaccinated chickens

Čelenž (den)	Mortalita			MD — nádory			
	vakcinovaná	ne- vakcinovaná	$P < ^1)$	vakcinovaná	ne- vakcinovaná	$P < ^2)$	PI ²⁾
1.	10/20 50,0 ³⁾	17/20 85,0	0,05	11/20 55,0	11/20 55,0	—	—
5.	5/20 25,0	15/20 75,0	0,01	3/20 15,0	10/20 50,0	0,05	70,0
12.	8/19 42,1	14/20 70,0	0,05	5/19 26,3	7/20 35,0	—	24,8
20.	4/18 22,2	6/19 31,6	—	2/18 11,1	7/19 36,8	—	69,8

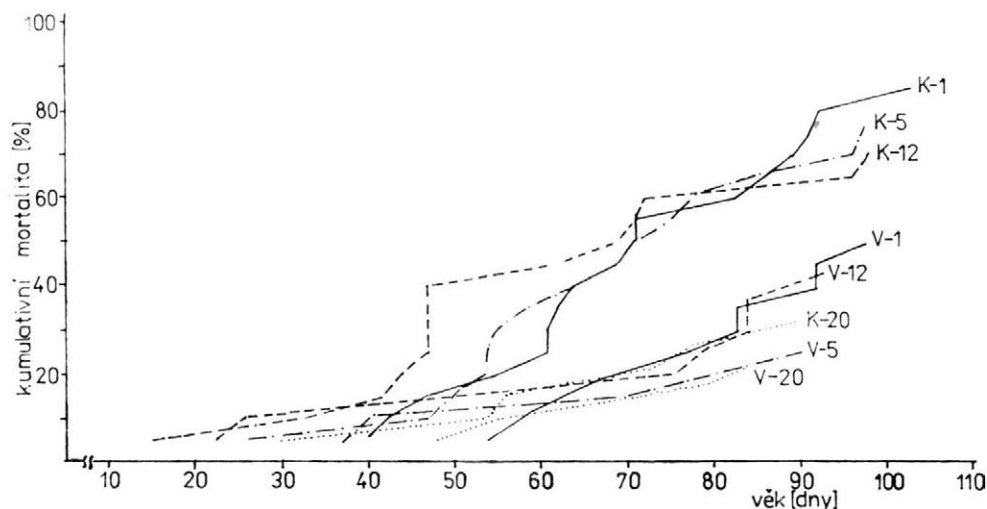
Testovací období 15 týdnů; vakcinace HVT v první den věku (MARVAK, Bioveta, n. p., Nitra)

¹⁾ signifikantnost rozdílu mezi skupinou vakcinovanou a nevakcinovanou

²⁾ protektivní index

³⁾ počet pozitivních / počet vyšetřovaných; v procentech

Z výsledků lze soudit, že vakcinace vakcínou MARVAK nechránila kuřata po infekci terénním izolátem VUB-83 před vznikem nádorů, i když byla kuřata čelenžována až za 20 dní po vakcinaci, tedy po dostatečně dlouhém čase potřebném k vytvoření účinné imunity. Na druhé straně však vakcinace snižovala procento mortality u kuřat čelenžovaných v prvním, pátém a dvanáctém dnu věku. Tento ochranný efekt však vymizel, jestliže byla kuřata čelenžována ve 20. dnu věku, kdy v podstatě nebyl rozdíl mezi skupinou vakcinovanou a skupinou kontrolní. Jako by se zde již spíše projevoval vliv přirozené věkové rezistence než vliv vakcinace.



1. Mortalita u kuřat vakcinovaných (V) a nevakcinovaných (kontrolních — K) krůtí herpetickou vakcínou a čelenžovaných izolátem VUB-83 v 1., 5., 12. a 20. den věku — Mortality in chickens vaccinated (V) and non-vaccinated (control — K) by the turkey herpes vaccine and challenged by the VUB-83 isolate on 1st, 5th, 12th and 20th day of age

Zajímavé jsou i výsledky dosažené u skupiny kuřat vakcinovaných a čelenžovaných v pátém dnu věku. Mortalita byla u této skupiny kuřat nižší než u kuřat kontrolních a také výskyt viscerálních lymfoidních nádorů byl nízký. Podobné výsledky by se spíše předpokládaly u skupin kuřat čelenžovaných v pozdějším věku. Exaktní vysvětlení této skutečnosti však nemáme.

Vysoce virulentní kmeny MDV patří do stejného sárotypu jako konvenční patogenní kmeny MDV (Bülow a Biggs, 1975; Lee aj., 1983). Liší se však od nich vyšší onkogenitou jak pro HVT-vakcinovaná i nevakcinovaná kuřata, tak i pro vnímavé či rezistentní linie kuřat (Eidson aj., 1978, 1981; Witter aj., 1980; Schat aj., 1981, 1982; Witter, 1982). Jejich další charakteristikou je, že působí silně imunosupresivně a způsobují vysoký úhyn kuřat v prvních dvou až třech týdnech života, tzv. syndrom rané mortality (Witter aj., 1980). Bülow aj. (1986a, b) se však domnívají, že za imunosupresivní účinek i syndrom rané mortality je odpovědný virus infekční anemie kuřat, který může kontaminovat terénní kmeny MDV.

V našem případě kuřata vakcinovaná krůtí herpetickou vakcínou (MARVAK) nebyla dostatečně chráněna před infekcí izolátem VUB-83, který byl vysoce patogenní pro vakcinovaná i nevakcinovaná kuřata. Jeho imunosupresivní působení nebo syndrom rané mortality u experimentálních kuřat jsme nepozorovali. V biologické charakterizaci izolátu budeme pokračovat.

Literatura

- BÜLOW, V. — BIGGS, P. M.: Differentiation between strains of Marek's disease virus and turkey herpesvirus by immunofluorescence assays. *Avian Pathol.*, **4**, 1975, s. 133-146.
- BÜLOW, V. — FUCHS, B.: Atenuierung des Erregers der aviären infektiösen Anämie (CAA) durch Serienpassagen in Zellkulturen. *Zbl. Veter.-Med., R. B.*, **33**, 1986a, s. 568-573.
- BÜLOW, V. — RUDOLPH, R. — FUCHS, B.: Folgen der Doppelinfektion von Küken mit Adenovirus oder Reovirus und dem Erreger der aviären infektiösen Anämie (CAA). *Zbl. Veter.-Med., R. B.*, **33**, 1986b, s. 717-726.
- EIDSON, C. S. — PAGE, R. K. — KLEVEN, S. H.: Effectiveness of cell-free or cell-associated turkey herpesvirus vaccine against Marek's disease in chickens as influenced by maternal antibody, vaccine dose, and time of exposure to Marek's disease virus. *Avian Diseases*, **22**, 1978, s. 583-597.
- EIDSON, C. S. — ELLIS, M. N. — KLEVEN, S. H.: Reduced vaccinal protection of turkey herpesvirus against field strains of Marek's disease herpesvirus. *Poult. Sci.*, **60**, 1981, s. 317-322.
- JURAJDA, V.: Problematika specifické imunoprophylaxe u Markovy nemoci drůbeže. *Imunoprophylaxia*, 1982, č. 4, s. 37-44.
- LEE, L. F. — LIU, X. — WITTER, R. L.: Monoclonal antibodies with specificity for three different serotypes of Marek's disease viruses in chickens. *J. Immunol.*, **130**, 1983, s. 1003-1006.
- POWELL, P. C. — LOMBARDINI, F.: Isolation of very virulent pathotypes of Marek's disease virus from vaccinated chickens in Europe. *Veter. Rec.*, **118**, 1986, s. 688-691.
- REISENAUER, R.: Metody matematické statistiky a jejich aplikace. Praha, SNTL — Práce 1965. 208 s.
- SCHAT, K. A. — CALNEK, B. W. — FABRICANT, J.: Characterization of two highly oncogenic strains of Marek's disease virus. *Avian Pathol.*, **11**, 1982, s. 593-605.

SCHAT, K. A. — CALNEK, B. W. — FABRICANT, J. — ABPLANALP, H.: Influence of oncogenicity of Marek's disease virus on evaluation of genetic resistance. Poultry Sci., 60, 1981, s. 2559-2566.

WITTER, R. L.: Protection by attenuated and polyvalent vaccines against highly virulent strains of Marek's disease virus. Avian Pathol., 11, 1982, s. 49-62.

WITTER, R. L. — FADLY, A. M.: Characteristics of some selected Marek's disease virus field isolates. In: Resistance and Immunity to Marek's disease. Ed. BIGGS, P. M., Luxembourg, Comm. Europ. Commun., 1980, s. 181.

WITTER, R. L. — SHARMA, J. M. — FADLY, A. M.: Pathogenicity of variant Marek's disease virus isolates in vaccinated and unvaccinated chickens. Avian Dis., 24, 1980, s. 210-232.

Došlo dne 8. 3. 1988

ЮРАЙДА, В. — ГАЛОУЗКА, Р. (Институт ветеринарии, Брно): **Изоляция патогенного вируса болезни Марека из стада кур, вакцинированных герпетической индийской вакциной.** Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 741-746.

В лабораторных условиях определяли защищенность вакцинированных цыплят от местного штамма вируса Болезни Марека (VUB-83), изолированного в 1983 г. из племенного стада кур мясного типа РОСС. Молодок вакцинировали на первый же день возраста индийской герпес-вакциной (Римсер Мареквакцин — ГДР), на 20-й день эта болезнь у них вспыхнула в острой форме. Четыре группы цыплят ноского типа Гисекс вакцинировали по 20 цыплят на первый же день жизни вакциной MAPBAK (Биовета — Нитра); еще 4 группы (контрольные) не вакцинировали. Всех цыплят целенжировали на 1-й, 5-й, 12-й и 20-й день изолятом VUB-83 и контролировали 15 недель. В первых трех случаях смертность была меньше, чем в контроле, а у вакцинированных на 20-й день разницы не отмечено. Болезнь Марека, диагностированная на основе наличия висцеральных лимфоидных опухолей, распространилась в меньшей мере, чем в контроле, лишь у цыплят с челенжем на 5-й день. Несмотря на эти различия, защитное действие MAPBAK представляется недостаточным.

индийская герпетическая вакцина; защитный индекс; высоковирулентные штаммы болезни Марека

JURAJDA, V. — HALOUZKA, R. (University of Veterinary Medicine, Brno): **Isolation of the Pathogenic Virus of Marek's Disease from the Flock of Chickens Vaccinated by the Turkey Herpes Vaccine.** Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 741-746.

In laboratory conditions the protective index was investigated in chickens vaccinated against the field strain of Marek's disease (VUB-83), isolated from the breeding flock of pullets of ROSS meat type in 1983. The pullets were vaccinated on the first day of age by the turkey herpes vaccine (Riemser Marekvakzine — GDR) and in 20th week of age exposed to a high occurrence of the acute form of Marek's disease. Four groups of chickens of the Hisex White laying type at 20 chickens each were vaccinated on 1st day of age by the MARVAK vaccine (Bioveta, Nitra); other four groups (control) were not vaccinated. All chickens were challenged on 1st, 5th, 12th and 20th day of age by the VUB-83 isolate and observed for the period of 15 weeks. In the vaccinated chickens challenged on 1st, 5th and 12th day of age the mortality was lower than in the control groups. In the chickens challenged on 20th day of age this difference was not observed. The occurrence of Marek's disease, diagnosed on the basis of the presence of visceral lymphoid tumors, was compared with control groups, lower only in the vaccinated chickens challenged on the fifth day of age. In spite of these differences, the protective index of MARVAK vaccine against the VUB-83 isolate was not sufficient.

turkey herpes vaccine; protective index; highly virulent strains of the virus of Marek's disease

JURAJDA, V. — HALOUZKA, R. (Veterinärmedizinische Hochschule, Brno): *Isolierung des pathogenen Virus der Marekschen Krankheit aus einer durch Puten-Herpesvirus-Vakzine vakzinieren Junghennenzucht*. Veter. Med. (Praha), 33, 1988 (12) : 741-746.

Unter Laborbedingungen untersuchten wir die Absicherung vakzinierter Küken gegenüber dem 1983 aus einer Vermehrungsschar von Hennenküken des Fleischtyps ROSS isolierten Terrain-Virusstamm (VUB-83). Die Hennenküken wurden am ersten Lebenstag mittels der Puten-Herpesvakzine (Riemsere Marekvakzin — DDR) vakzinieren und in der 20. Woche des Alters wurden sie durch ein hohes Vorkommen der akuten Form der Marekschen Krankheit betroffen. Vier Gruppen von Küken des Fleischtyps weiße Hisex von jeweils 20 Stück wurden am ersten Lebenstag mittels der MARVAK-Vakzine (Bioveta, Nitra) vakzinieren; weitere vier Gruppen (Kontrollgruppen) blieben unvakzinieren. Sämtliche Küken wurden am 1., 5., 12. und 20. Tag des Alters einem Immunitätstest (Challenge) durch das Isolat VUB-83 unterworfen und im Verlauf der folgenden 15 Wochen verfolgt. Bei den vakzinieren, am 1., 5. und 12. Lebenstag immungeprüften Küken lag die Mortalität niedriger als bei der entsprechenden Kontrollgruppe. Bei den am 20. Lebenstag immungeprüften Küken war dieser Unterschied nicht zu verzeichnen. Die Inzidenz der Marekschen Krankheit, anhand des Vorhandenseins viszeraler lymphoider Geschwülste diagnostiziert, war im Vergleich mit den Kontrollgruppen nur bei vakzinieren, am 5. Lebenstag immungeprüften Küken niedriger. Ungeachtet dieser ermittelten Unterschiede war die protektive Wirkung der Vakzine MARVAK gegen das Isolat VUB-83 unzureichend.

Puten-Herpesvirus-Vakzine; Schutzwirkungsindex; hoch virulente Virusstämme der Marekschen Krankheit

Adresa autorů:

MVDr. Vladimír Jurajda, CSc., MVDr. Roman Halouzka, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

CONTENTS

Dvořák R., Jagoš P., Hradilová M., Vospěl B., Branžovský F.: Selected Parameters of the Internal Environment of the Bodies of Top Milker Cows with respect to Energy Metabolism with the Use of Liuos Asetona Antiketogenic Preparation Based on Polyols	709
Machatková M., Petelíková J., Horký F., Bílek R., Priesnitz J., Jokešová E.: Long-continued <i>in vitro</i> Cultivation of Divided Bovine Embryos	721
Laurinčík J., Pivko J., Grafenau P., Oberfranc M.: Oocyte Recovery by Aspiration of the Preovulatory Follicles of Heifers	727
Pástorová B., Arendarčík J.: The Effect of Protracted Exposure to Gamma Radiation (6.7 Gy) on the Activity of Monoaminooxidase in the Hypothalamus of Ewes in the Anoestral Period	735
Jurajda V., Halouzka R.: Isolation of the Pathogenic Virus of Marek's Disease from the Flock of Chickens Vaccinated by the Turkey Herpes Vaccine	741

INHALT

Dvořák R., Jagoš P., Hradilová M., Vospěl B., Branžovský F.: Ausgewählte Kennziffern des Innenmilieus von Hochleistungskühen im Hinblick auf den energetischen Stoffwechsel bei Anwendung des antiketogenen Präparats auf der Basis von Polyolen Liuos Asetona	709
Machatková M., Petelíková J., Horký F., Bílek R., Priesnitz J., Jokešová E.: Langfristige Kultivierung geteilter Rinderembryonen <i>in vitro</i>	721
Laurinčík J., Pivko J., Grafenau P., Oberfranc M.: Oozytengewinnung mittels Aspiration der Praeovulationsfollikel von Färsen	727
Pástorová B., Arendarčík J.: Einfluß protrahierter Exposition der Gamma-Strahlung (6,7 Gy) auf die Aktivität der Monoaminooxidase im Hypothalamus von Schafen im Anöstrus	735
Jurajda V., Halouzka R.: Isolierung des pathogenen Virus der Marekschen Krankheit aus einer durch Puter-Herpesvirus-Vakzine vakzinierten Junghennenzucht	741



Rukopisy odevzdány k tisku 18. 8. 1988 — Podepsáno k tisku 8. 11. 1988

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Jovanka Václavíčková • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 257541 • Vytiskl MÍR, Novinářské závody, n. p., závod 6, tř. Lidových milicí 22, 120 00 Praha 2 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1988

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podává a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, závod 01 — AOT, Kafkova 19, 160 00 Praha 6; PNS-ÚED Praha, závod 02, Obránců míru 2, 656 07 Brno; PNS-ÚED Praha, závod 03, Gottwaldova tř. 206, 709 90 Ostrava 9. Objednávky do zahraničí vyřizuje PNS — ústřední expedice a dovoz tisku Praha, závod 01, administrace vývozu tisku, Kafkova 19, 160 00 Praha 6.