

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

6

ROČNÍK 34 (LXII)
PRAHA
ČERVEN 1989
CENA 10 Kčs
CS ISSN 0372-8427

ČESKOSLOVENSKÁ AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÁ
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

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

Za vedení časopisu odpovídá akademik Jaroslav Otto Vrtiak

Redaktorka ing. Jovanka Václavičková

OBSAH

Paulík Š., Vrzgula L.: Možnost použití dinitrofluorobenzénu k preukázání buněčné imunitní odpovědi u teliat	321
Muška M., Steiner J.: Vliv insekticidních ušních destiček na mléčnou užitkovost dojníc chovaných pastevním způsobem	329
Molnářová M., Przala J., Arendarčík J., Molnár P.: Vplyv synchronizácie a stimulácie ovárií oviec na trypsin inhibičné aktivity (TIA) krvnej plazmy a folikulárne populácie	335
Lukeš Š., Holasová E.: Vývoj cirkulujících protilátek u králíků při primární experimentální invazi <i>Strongyloides papillosus</i> (Wendl, 1856) z ovčí	349
Jakubička I., Barta M.: Vplyv sekretu semenných vachkov na niektoré kvalitatívne ukazovatele ejakulátu samcov nutrii	355
Krajčovičová-Kudláčková M., Dibák O.: Utilizácia bielkovín a vysoký príjem tukov a sacharidov u potkanov vo veku 30 až 150 dní	361
Neuschl J.: Vplyv odstupňovaných dávok niektorých tetracyklínov na ich sérové hladiny a koncentrácie v mäkkých tkanivách	371

RECENZE

Kaman J.: Tehver J. T. — Gistologija lokomotornoj sistemy domašnich životnyh	381
--	-----

СОДЕРЖАНИЕ

Паулик Ш., Врзгула Л.: Использование динитрофлуорбензена для доказательства ответа клеточного иммунитета у телят	321
Мушка М., Штейнер Й.: Влияние инсектицидных ушных плиток на молочную продукцию дойных коров разводимых пастбищным способом	329
Молнарова М., Прзала Я., Арендарчик Й., Молнар П.: Влияние синхронизации и стимуляции овариов овец на трипсин ингибирующие активности (TIA) плазмы крови и популяции фолликулов	335
Лукеш Ш., Голасова Е.: Развитие циркулирующих антител у кроликов при первом экспериментальном нападении <i>Strongyloides papillosus</i> (Wedl, 1856) из овец	349
Якубичка И., Барта М.: Влияние выделения семенных пузырьков на некоторые качественные показатели эякулята самцов нутрий	355
Крайчовичова-Кудлачкова М., Дибак О.: Утилизация белков и высокое потребление жиров и сахаридов у пасюков в возрасте 30—150 дней	361
Неушл Й.: Влияние ступенчатых доз некоторых тетрациклинов на их серумные уровни и концентрации в мягких тканях	371

MOŽNOSŤ POUŽITIA DINITROFLUOROBENZÉNU K PREUKÁZANIU BUNEČNEJ IMUNITNEJ ODPOVEDE U TELIAT

Š. Paulík, L. Vrzgula

PAULÍK, Š. — VRZGULA, L. — (Mestská veterinárna správa, Košice; Vysoká škola veterinárska, Košice): *Možnosť použitia dinitrofluorobenzénu k preukázaniu bunečnej imunitnej odpovede u teliat*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 321-328.

Práca sa zaoberá využitím dinitrofluorobenzénu k zisťovaniu bunečnej imunitnej odpovede u teliat. Úroveň oneskorenej precitlivelostnej reakcie testovanej prostredníctvom kožného testu sme sledovali v závislosti od spôsobu podania a dávky senzibilizátora, veku teliat a časového termínu odčítania reakcie. Výsledky lokálneho zdurenia kože (LZK = rozdiel medzi hrúbkou kože pred aplikáciou a po nej) sú vyjadrené v hodnote $10^{-2} \text{ cm} \pm \text{s}$. Najzreteľnejšiu odozvu sme zistili u teliat, ktorým bol dinitrofluorobenzén aplikovaný pri senzibilizujúcej dávke intradermálne (*i.d.*) a pri čelení perkutánne (*p.k.*) v množstve 0,2 ml (LZK = $16,4 \pm 2,07$, $P < 0,001$). Po dávke 0,1 ml pri tom istom spôsobe aplikácie nebola reakcia štatisticky preukazná (LZK = $11,4 \pm 5,89$, $P > 0,05$), zatiaľ čo po dávke 0,2 ml aplikovanej pri oboch podaniach *p.k.* bola signifikantnosť zistená (LZK = $15,4 \pm 2,3$, $P < 0,001$). Stupeň kožnej reakcie sa štatisticky nelíšil u teliat vo veku šesť a pol (LZK = $16,4 \pm 2,07$) a osem ($24,5 \pm 8,24$) týždňov, ale bol signifikantne vyšší ($P < 0,05$) u jalovičiek priemerného veku 11 mesiacov (LZK = $50,0 \pm 19,08$). Hodnoty kožnej reakcie sledované u dvoch skupín teliat boli pri odčítaní v 48. hodine po aplikácii nižšie ($23,0 \pm 8,05$, resp. $33,3 \pm 8,62$) než v 24. hodine ($24,5 \pm 8,24$, resp. $50,0 \pm 19,08$).

kožný test; bunkou sprostredkovaná imunita; dinitrofluorobenzén

Kožné testy sú používané k zisťovaniu bunkou sprostredkovanej imunity *in vivo*. V humánnej medicíne sa nimi hodnotí imunologická reaktivita pacientov, u ktorých je podozrenie na primárnu alebo sekundárnu imunodeficienciu. Za tým účelom sú používané rôzne chemické senzibilizujúce látky alebo špecifické antigény (Procházková a i., 1986). V poslednom čase sú kožné testy často používané k testovaniu bunkou sprostredkovanej imunity najmä u laboratórnych zvierat v závislosti od rôznej úrovne vitamínov (Smith a i., 1987), mikroelementov (Fraker a i., 1982; Jones, 1984), alebo pri vyvolaní imunosupresie (Hansbrough a i., 1983; Fujimaki a i., 1983).

Cieľom práce bolo preskúšať možnosť použitia dinitrofluorobenzénu (DNFB), kožného senzibilizátora, k preukazu bunkou sprostredkovanej imunity (CMI) *in vivo* u teliat prostredníctvom kožného testu.

MATERIÁL A METÓDA

V experimente bolo použitých 29 zvierat, ktoré boli rozdelené (bez akéhokoľvek vyšetrenia v smere imunitného stavu) do piatich pokusných skupín a jednej skupiny kontrolnej. Okrem piatej skupiny (pozorovanie uskutočnené na klinike) boli ostatné teľatá sledované za bežných podmienok v telatniku.

Vek a počet teliat v skupinách sú uvedené v tab. I.

I. Úroveň oneskorenej hypersenzitívnej reakcie po aplikácii dinitrofluorobenzénu v rôznych závislostiach (x_1 = hodnotené za 24 h po čelení; x_2 = hodnotené za 48 h po čelení; x_3 = *Pt*-test = *t*-test pre párované hodnoty; x_4 = *St*-test = Studentov *t*-test; hodnotený za 24 h po čelení; porovnanie uvedené len k skupinám so štatistickou preukaznosťou) — The intensity of delayed hypersensitive responses after dinitrofluorobenzene implantation expressed as various dependences (x_1 = evaluated in 24 h after challenge; x_2 = evaluated in 48 h after challenge; x_3 = *Pt*-test = *t*-test of paired values; x_4 = *St*-test = Student's *t*-test; evaluated in 24 h after challenge; the comparisons are referred only to the groups with statistical significance)

Skupina	Vek a počet	Lokálne zdureníe kože ($\times 10^{-2}$ cm $\pm$ s)	Signifikantnosť	
			<i>Pt</i> -test x_3	<i>St</i> -test x_4
1.	5,7 týždne $n = 5$	$11,4 \pm 5,89^{x_1}$	$P > 0,05$	4. a 5. skupina $P < 0,05$ kontrola $P < 0,01$
2.	6,5 týždne $n = 5$	$16,4 \pm 2,07$	$P < 0,001$	5. skupina $P < 0,05$ kontrola $P < 0,001$
3.	5,5 týždne $n = 5$	$15,4 \pm 2,30$	$P < 0,001$	5. skupina $P < 0,05$ kontrola $P < 0,001$
4.	8,0 týždne $n = 6$	$24,5 \pm 8,24^{x_1}$ $23,0 \pm 8,05^{x_2}$	$P < 0,001$ $P < 0,001$	1. a 5. skupina $P < 0,05$ kontrola $P < 0,001$
5.	11 mesiacov $n = 3$	$50,0 \pm 19,08$ $33,3 \pm 8,62$	$P < 0,05$ $P < 0,01$	1. až 4. skupina $P < 0,05$ kontrola $P < 0,001$
Kontrola	5,5 týždne $n = 5$	$0,60 \pm 0,55$	$P > 0,05$	1. až 5. skupina $P < 0,01 - 0,001$

Dávka roztoku DNFB v rámci jednotlivých skupín pri oboch podaniach bola rovnaká, a to buď 0,1 ml (u prvej skupiny), alebo 0,2 ml (u ostatných skupín teliat).

Pri senzibilizácii (prvá dávka) bol roztok DNFB aplikovaný u teliat tretej skupiny perkutánne (*p.k.*), u ostatných skupín intradermálne (*i.d.*). Čelenž (druhá aplikácia) bola robená u každej skupiny teliat *p.k.*

DNFB (2,4-dinitro-1-fluoro-benzol) bol použitý v roztoku acetón-olivového oleja (4:1) v 0,5% (senzibilizácia) a 0,1% (čelenž) koncentrácii. Kontrolným teľatám bol pri čelení podaný roztok acetón-olivového oleja (4:1).

Senzibilizácia bola prevezená tuberkulínovou striekačkou na vystrihanej ploche v krčnej oblasti. V 14. dni po tejto aplikácii bola na druhej strane krku srst ostrihaná a zmeraná hrúbka kože. Čelenž bola prevezená nakvapkaním roztoku na túto plochu kože.

Reakcia bola odčítaná za 24 (u všetkých skupín), resp. za 48 (u teliat 4. a 5. skupiny) hodín po čelení, a to zmeraním hrúbky kože mikrometrom. Rozdiel

hrúbky kože pred čelenžom a po čelenži vyjadrujeme ako lokálne zdureníe kože (LZK) v hodnotách 10^{-2} cm, t.j. vyjadrením, ktoré uviedli Hansbrough a i. (1983). Hodnota LZK charakterizuje stupeň oneskorenej precitlivostnej reakcie.

V práci sme sledovali kožnú odozvu na aplikáciu roztoku DNFB v závislosti od spôsobu podania, dávky, veku a od termínu odčítania reakcie po čelenži.

Štatistické hodnotenie: *t*-test pre párované hodnoty (*Pt*-test) a Studentov *t*-test (*St*-test) (Poláček, 1984).

VÝSLEDKY

V tab. I sú uvedené výsledky úrovne oneskorenej reakcie (precitlivosti) v závislosti od spôsobu a množstva podania DNFB, veku a termínu odčítania.

V rámci prvých troch skupín (približne rovnaký vek) sme sledovali prvé dva uvedené parametre, t.j. spôsob a množstvo aplikácie. Najvýraznejšiu odozvu (LZK = 16,4; $P < 0,001$) sme zaznamenali u teliat, ktorým bol roztok DNFB aplikovaný pri senzibilizujúcej dávke *i. d.* a pri čelenži *p. k.* v množstve 0,2 ml (2. skupina). Pri tom istom spôsobe podania, ale pri dávke 0,1 ml (1. skupina teliat) sme *Pt*-testom nezaznamenali pri hodnote LZK = 11,4 signifikantnosť, t.j. zhrubnutie kože po čelenži nepreukázalo štatistickú významnosť. U teliat tretej skupiny (obidve podania roztoku DNFB boli urobené *p. k.*) bola pri hodnote LZK = 15,4 zistená taktiež vysoko preukazná signifikantnosť ($P < 0,001$). Vzájomné porovnanie hodnôt LZK uvedených troch skupín teliat *St*-testom nepotvrdilo štatistickú významnosť. U kontrolnej skupiny teliat bol rozdiel hrúbky kože pred čelenžom a po čelenži takmer nezmenený, na čo poukazuje hodnota LZK = $0,6 \pm 0,55$; ($P > 0,05$). *St*-test preukázal pri porovnaní hodnoty LZK kontrolnej skupiny s LZK hodnotami prvej ($P < 0,01$), druhej ($P < 0,001$) a tretej ($P < 0,001$) skupiny vysokú signifikantnosť.

V závislosti od veku porovnávame tri skupiny (2., 4. a 5.). Teľatám týchto skupín bol roztok DNFB aplikovaný rovnakým spôsobom a v rovnakom množstve. V rámci každej skupiny bola kožná reakcia po čelenži signifikantne zvýraznená (2. skupina — $P < 0,001$; 4. skupina — $P < 0,001$; 5. skupina — $P < 0,05$). Pri porovnaní týchto skupín navzájom sme zaznamenali štatistickú významnosť len u teliat piatej skupiny ($P < 0,05$). Hodnoty LZK teliat druhej a štvrtej skupiny nepreukázali *St*-testom signifikantný rozdiel. Hodnoty LZK uvedených skupín teliat boli signifikantne rozdielne voči hodnote LZK kontrolnej skupiny ($P < 0,001$).

U dvoch skupín (4. a 5.) sme porovnávali vhodnosť odčítania reakcie v 24. a 48. hodine po druhom podaní roztoku DNFB. U obidvoch skupín teliat bola úroveň kožnej reakcie v 48. hodine nižšia (4. skupina — LZK = $23,0 \pm 8,05$; 5. skupina — LZK = $33,3 \pm 8,62$) v porovnaní s hodnotou v 24. hodine (4. skupina — LZK = $24,5 \pm 8,24$; 5. skupina — LZK = $50,0 \pm 19,08$). Aj keď odpoveď na aplikáciu roztoku DNFB bola v rámci obidvoch skupín v 24. a 48. hodine signifikantná (24. hodina: 4. skupina — $P < 0,001$, 5. skupina — $P < 0,05$; 48. hodina: 4. skupina — $P < 0,001$, 5. skupina — $P < 0,01$), navzájom sa hodnoty LZK v týchto časových termínoch odčítania signifikantne neodlišovali.

Štatistické zhodnotenie získaných výsledkov je uvedené v tab. I.

Pri *St*-teste je uvedené porovnanie len s tými skupinami, u ktorých rozdiel hodnôt LZK bol štatisticky preukazný.

DISKUSIA

Študovali sme bunkou sprostredkovanú imunitu za použitia testu, ktorý odzrkadľuje indukciu kontaktnej senzitivity k dinitrofluorobenzénu (DNFB). Lokálne zdurenie kože pri použití uvedenej látky je citlivým a kvantifikovateľným meradlom bunečnej imunity *in vivo* (Hansbrough a i., 1983; Smith a i., 1987). Cudzí antigén, ktorý sa dostáva do organizmu kožou, senzibilizuje *T* lymfocyty za vzniku pamäťových buniek. Po opätovnom styku primovaných *T* lymfocytov s tým istým antigénom dochádza k ich proliferácii a uvoľňovaniu solubilných faktorov (lymfokínov), následkom čoho je hypersenzitívna odpoveď dosahujúca maxima za 24 až 48 hodín. Zdurenie kože je výsledkom infiltrácie tvorenej mononukleárnymi fagocytami a lymfocytami. Oneskorený typ precitlivlosti sa nedá preniesť zo senzibilizovaného jedinca na jedinca nesenzibilizovaného sérovými protilátkami, ale iba lymfoidnými bunkami, hlavne *T* lymfocytami (Roitt, 1981). K zisťovaniu úrovne bunkou sprostredkovanej imunity sa z ďalších testov využívajú metódy *in vitro*, najmä metóda inhibície migrácie makrofágov, metóda blastической transformácie lymfocytov a priama metóda cytotoxickosti sprostredkovanej bunkami.

V práci, ktorej výsledky predkladáme, neboli použité zvieratá súčasne vyšetrované na iné imunitné ukazovatele. Neboli vyšetrované ani parametre, u ktorých je známe, že ich rozdielna úroveň môže ovplyvniť bunečnú imunitu. Napr. vitamín A (Butera a Krakowka, 1986; Smith a i., 1987), vitamín E (Davey a Dock, 1982; Reddy a i., 1986), selén (Scheffy a Schultz, 1979), zinok (Gross a i., 1979; Chandra a Dayton, 1982; Fraker a i., 1982; Hildebrant a i., 1982; Chandra, 1984), horčík (Gunter a Averdunk, 1979), meď (Jones, 1984), kadmium (Fujimaki a i., 1983).

Pri použití DNFB k indukcii oneskorenej precitlivlosti ako merítka bunkou sprostredkovanej imunity *in vivo* považujeme za vhodnejšiu dávku 0,2 ml pri aplikácii *i. d.* (senzibilizácia) a *p. k.* (čelenž). Vyplýva to z výraznejšej úrovne kožnej reakcie hodnotenej *Pt*-testom ako u teliat po dávke 0,1 ml podanej tým istým spôsobom. Sangret a i. (1985) pri použití dinitrochlórbenzénu použili v obidvoch aplikáciách dávku 0,5 ml perkutánnym spôsobom. V popise (súhrn v zborníku) však neuvádzajú stupeň kožnej reakcie ani jeho štatistickú významnosť. U sledovaných teliat (3. skupina), ktorým bol DNFB aplikovaný v dávke 0,2 ml pri obidvoch podaniach perkutánne, sme *Pt*-testom zaznamenali signifikantnosť. Hodnota LZK bola u nich len o niečo nižšia než u teliat (2. skupina) približne rovnakého veku, ktorým bol roztok DNFB aplikovaný v tom istom množstve, avšak pri prvom podaní intradermálne. Porovnanie hodnôt LZK *St*-testom medzi uvedenými skupinami nepoukázalo na štatisticky významnú rozdielnosť.

Termín odčítania kožnej reakcie sa zdá výhodnejší v 24. hodine po čelenži ako v 48. hodine, pretože v tomto čase sme už zaznamenali po-

kles úrovne oneskorenej reakcie — precitlivosti. Okrem toho sa tento termín zhoduje s časom používaným aj inými autormi pri aplikácii tohto kožného senzibilizátora (Hansbrough a i., 1983; Sangret a i., 1985; Smith a i., 1987).

Pri sledovaní vekovej závislosti od stupňa kožnej oneskorenej precitlivosti sme *St*-testom nezaznamenali signifikantný rozdiel v hodnotách LZK medzi teľatami približne šesťtýždňovými a osemťtýždňovými, hoci táto hodnota bola u staršej vekovej kategórie vyššia. Zistili sme však štatisticky preukazný rozdiel v hodnote LZK medzi jalovicami priemerného veku 11 mesiacov a nad uvedenými vekovými kategóriami teliat. Vplyv veku na úroveň bunkou sprostredkovanej imunity u teliat uvádzajú aj Woodard a i. (1980) a Barta a Oyekan (1981) pri použití testu blastickéj transformácie lymfocytov. Na rozdiel od týchto zistení Woodard a i. (1979) poukazujú, že pri použití kožného testu k odpovedi na purifikovaný proteínový derivát *Mycobacterium bovis* sú novorodené teľatá rovnako kompetentné ako dospelé zvieratá.

V našom experimente sme použili DNFB v 0,5% koncentrácii pri senzibilizácii a v 0,1% koncentrácii pri čelenži. Sangret a i. (1985) pri týchto aplikáciách použili 2% a 0,5% roztok dinitrochlórbenzénu v acetóne a oleji (4:1). Naše pozorovania pri overovaní DNFB preukázali, že koncentrácia vyššia než 0,5% (preskúšovali sme 1%) a v niektorých prípadoch aj 0,5% roztok spôsobovali nekrózu povrchových vrstiev kože. Tým sa v mieste aplikácie tvorilo netypické zhrubnutie, čo sťažuje odčítanie kožnej reakcie. Použitie 0,1% koncentrácie DNFB pri čelenži síce u mladších vekových kategórií teliat vyvolalo miernu reakciu (u starších teliat zreteľnejšiu, LZK = 2,5 až 5,0 mm), ale aj tak bola táto reakcia zjavná v porovnaní s kožou v okolí a zreteľne palpovateľná a merateľná mikrometrom. Ani v jednom prípade perkutánne aplikovaný DNFB v tejto koncentrácii nevyvolal zmeny v povrchových vrstvách kože, čo umožňovalo presne zistiť hodnotu lokálneho zdurenia.

Úroveň bunkou sprostredkovanej imunity závisí aj od iných faktorov, než bolo uvedené (vitamíny, zinok atď.). Clover a Zarkower (1980) popisujú supresiu mitogenézy *T* lymfocytov u teliat napojených kolostrom v porovnaní s teľatami napájanými mliekom. Aj neadekvátna kŕmna dávka u dojnic môže ovplyvniť stupeň bunkou sprostredkovanej imunity u ich potomstva. Zatiaľ čo znížený obsah bielkovín nespôsobil u teliat zmenu v oneskorenej reakcii — precitlivosti v porovnaní s kontrolou (Woodard a i., 1981), pri zníženom kalorickom obsahu bola pozorovaná redukcia mitogénnej odpovede (Woodard a i., 1980). Okrem toho je pri testovaní bunečnej imunity nutné brať ohľad aj na použitú diagnostickú metódu, pretože nie v každom prípade je korelácia medzi výsledkami získanými *in vivo* a *in vitro*.

Literatúra

- BARTA, O. — OYEKAN, P. P.: Lymphocyte transformation test in veterinary clinical immunology. Comp. Immun. Microbiol. infect. Dis., 4, 1981, s. 209-221.
BUTERA, S. T. — KRAKOWKA, S.: Assessment of lymphocyte function during vitamin A deficiency. Amer. J. veter. Res., 47, 1986, s. 850-855.
CLOVER, C. K. — ZARKOWER, A.: Immunologic responses in colostrum-fed and colostrum-deprived calves. Amer. J. veter. Res., 41, 1980, s. 1002-1007.

- DAVEY, F. R. — DOCK, N. L.: Effects of vitamin E on mixed lymphocyte cultures. *Ann. Nutr. Metab.*, 26, 1982, s. 171—177.
- FRAKER, P. J. — ZWICKI, C. M. — LUECKE, R. W.: Delayed type hypersensitivity in zinc deficient adult mice impairment and restoration of responsivity to dinitrofluorobenzene. *J. Nutr.*, 112, 1982, s. 309—313.
- FUJIMAKI, H. — SCHIMIZU, F. — KAWAMURA, R. — KUBOTA, K.: Inhibition of delayed hypersensitivity reaction in mice by cadmium. *Toxicol. Lett.*, 19, 1983, s. 241—245.
- GROSS, R. L. — OSDIN, N. — FONG, L. — NEWBERNE, P. M.: Depressed immunological function in zinc-deficient rats as measured by mitogen response of spleen, thymus and peripheral blood. *Amer. J. clin. Nutr.*, 32, 1979, s. 1260—1265.
- GUNTHER, T. — AVERDUNK, R.: Reduced lection stimulation of lymphocytes from magnesium deficient rats. *J. clin. Chem. clin. Biochem.*, 17, 1979, s. 51—55.
- HANSBROUGH, J. F. — PETERSON, V. — KORTZ, E. — PIACENTINE, J.: Post-burn immunosuppression in an animal model: monocyte dysfunction induced by burned tissue. *Surgery*, 93, 1983, s. 415—423.
- HILDEBRANT, K. M. — LUECKE, R. W. — FRAKER, P. J.: Effects of maternal dietary zinc on growth and mitogenic responsiveness in suckling mice. *J. Nutr.*, 112, 1982, s. 1931—1938.
- CHANDRA, R. K.: Excessive intake of zinc impairs immuno responses. *J. Amer. Med. Assoc.*, 252, 1984, s. 1443—1446.
- CHANDRA, R. K. — DAYTON, D. H.: Trace element regulation of immunity and infection. *Nutr. Res.*, 2, 1982, s. 721—733.
- JONES, D. G.: Effects of dietary copper depletion on acute and delayed inflammatory responses in mice. *Res. veter. Sci.*, 37, 1984, s. 205—210.
- POLÁČEK, M.: Základy biometrie pre veterinárnych lekárov. Bratislava, Príroda 1984, 100 s.
- PROCHÁZKOVÁ, J. et al.: Vybrané diagnostické metódy lekárskej imunológie. Praha, Avicenum 1986. 368 s.
- REDDY, P. O. — MORRILL, J. L. — MINOCHA, H. O.: Effect of supplemental vitamin E on the immune system of calves. *J. Dairy Sci.*, 69, 1986, s. 164—171.
- ROITT, I. M.: Základy imunológie. Martin, Osveta 1981. 315 s.
- SANGRET, M. — BUBNÁR, M. — VILČEK, Š.: Sledovania stupňa bunečnej imunity pri HD pomocou 2,4-dinitrochlórbenzénu. In: Zbor. IV. Konf. Imun., Nitra 1985, s. 159.
- SCHEFFY, B. E. — SCHULTZ, R. D.: Influence of vitamin E and selenium on immune response mechanisms. *Fed. Proc.*, 38, 1979, s. 2139—2142.
- SMITH, S. M. — LEVY, N. S. — HAYES, C. E.: Impaired immunity in vitamin A — deficient mice. *J. Nutr.*, 117, 1987, s. 857—865.
- WOODARD, L. F. — ECKBLAD, W. P. — OLSON, D. P.: Antibody and delayed hypersensitivity responses of neonatal calves delivered from protein-restricted dams. *Amer. J. veter. Res.*, 42, 1981, s. 222—224.
- WOODARD, L. F. — RENSHAW, H. W. — BURGER, D.: Cell-mediated immune responses of neonatal calves and adult cattle following inoculation with PPD of *Mycobacterium bovis* associated with a mycobacterial immunopotentiating glycolipid and oil droplets. *Amer. J. veter. Res.*, 40, 1979, s. 636—644.
- WOODARD, L. F. — ECKBLAD, W. P. — OLSON, D. P. — BULL, R. C. — EVERSON, D. O.: Effects of maternal protein-energy malnutrition on lymphoblastogenic responses of bovine neonates subjected to cold stress. *Amer. J. veter. Res.*, 41, 1980, s. 561—563.

Došlo dňa 4. 7. 1988

ПАУЛИК, Ш. — ВРЗГУЛА, Л. (Городское ветеринарное управление, Кошице; Ветеринарный институт, Кошице): Использование динитрофлуоробензена для доказательства ответа клеточного иммунитета у телят. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (6) : 321-328.

Работа касается использования динитрофлуоробензена для установления ответа клеточного иммунитета у телят. Уровень запоздалой реакции излишней чувствительности аттестированной посредством кожного теста изучали в зависимости от способа подачи и дозы сензибилизатора, возраста телят и временного интервала отсчета реакции.

Результаты локального вздутия кожи (ЛВК = локальное вздутие кожи — это разница между толщиной кожи до применения и после применения) они выражаются в значении 10^{-2} см $\pm$ с. Самый отчетливый ответ установили у телят, которым динитрофлуоробензен применяли при сенсibilизирующей дозе внутрикожно и при челендже всасыванием в кожу в количестве 0,2 мл (ЛВК = $16,4 \pm 2,07$, $P < 0,001$). После дозы 0,1 мл при одинаковом способе применения реакция не была статистически доказуема (ЛВК = $11,4 \pm 5,89$, $P > 0,05$), в то время как после дозы 0,2 мл примененной при обеих подачах всасыванием в кожу сигнификантно установили (ЛВК = $15,4 \pm 2,3$, $P < 0,001$). Степень кожной реакции статистически не отличался у телят в возрасте шесть с половиной (ЛВК = $16,4 \pm 2,07$), в возрасте восемь (24,5 $\pm$ 8,24) недель, эта степень была сигнификантно большей ($P < 0,05$) у нетелей среднего возраста 11 месяцев (ЛВК = $50,0 \pm 19,08$). Значение кожной реакции изучаемое у двух групп телят были при отсчете на 48 часу после применения более низкие (23,0 $\pm$ 8,05, т. е. 33,3 $\pm$ 8,62) чем на 24 часу (24,5 $\pm$ 8,24, т. е. 50,0 $\pm$ 19,08).

тест проводимый на коже; клеткой обусловленный иммунитет; динитрофлуоробензен

PAULÍK, Š. — VRZGULA, L. (Municipal Veterinary Administration, Košice; University of Agriculture, Košice): *The Use of Dinitrofluorobenzene to Prove Cell Immunological Responses in Calves*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 321-328.

Dinitrofluorobenzene was used to detect cell immunological responses in calves. The intensity of delayed hypersensitive response verified by a dermal test was studied in dependence on the way of implantation and on the dose of sensibilizator, calf age and time of response reading. The results of the local swelling of skin (LSS = difference in the skin thickness before and after implantation) are expressed by the value 10^{-2} cm $\pm$ s. The clearest response was observed in calves to which the sensibilizator dose of dinitrofluorobenzene was implanted intradermally (i.d.) and when the challenge dose of dinitrofluorobenzene was implanted percutaneously (p.c.) at an amount of 0.2 ml (LSS = 16.4 ± 2.07 , $P < 0.001$). If the dose of 0.1 ml was implanted in the same way, the response was not statically significant (LSS = 11.4 ± 5.89 , $P > 0.05$); if the dose of 0.2 ml was implanted both intradermally and percutaneously, significant responses were recorded (LSS = 15.4 ± 2.3 , $P < 0.001$). The intensity of dermal response was not statistically different in calves at the age of six and a half weeks (LSS = 16.4 ± 2.07) and eight weeks (24.5 $\pm$ 8.24), but it was significantly higher ($P < 0.05$) in heifers at the average age of 11 months (LSS = 50.0 ± 19.8). The values of dermal response investigated in both groups of calves were after dinitrofluorobenzene implantation lower if read in the 48th hour (23.0 $\pm$ 8.05, or 33.3 $\pm$ 8.62) than those read in the 24th hour (24.5 $\pm$ 8.24, or 50.0 $\pm$ 19.08).

dermal test; cell-mediated immunity; dinitrofluorobenzene

PAULÍK, Š. — VRZGULA, L. (Städtische Veterinärverwaltung, Košice; Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Einsatz von Dinitrofluorbenzol zum Nachweis der Zellimmunreaktion bei Kälbern*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 321-328.

Die Arbeit befaßt sich mit der Ausnutzung von Dinitrofluorbenzol zur Ermittlung der Zellimmunreaktion bei Kälbern. Das Niveau der verzögerten, durch Hauttests getesteten Überempfindlichkeitsreaktion untersuchten wir in bezug auf die Applikationsweise und die Sensibilisierungsdosis sowie auf das Alter der Kälber und den Ablesezeitpunkt der Reaktion. Die Ergebnisse lokaler Hautanschwellungen (LZK = Unterschied zwischen der Hautdicke vor und nach der Applikation) werden in Werten von 10^{-2} cm $\pm$ s ausgedrückt. Die ausgeprägteste Reaktion stellten wir bei Kälbern fest, denen das Dinitrofluorbenzol in der Sensibilisierungsdosis intradermal (i.d.) und beim Hervorrufen der Immunreaktion (Challenge) perkutan (p.k.) appliziert wurde u.zw. in einer Menge von 0,2 ml (LZK = $16,4 \pm 2,07$; $P < 0,001$). Nach einer Dosis von 0,1 ml bei derselben Applikationsweise war die Reaktion statistisch unsignifikant (LZK = $11,4 \pm 5,89$; $P > 0,05$), während nach den beiden p.k. — Applikationen der Dosis 0,2 ml die Signifikanz erreicht wurde (LZK = $15,4 \pm 2,3$; $P < 0,001$). Der Grad der Hautreaktion bei Kälbern im Alter von sechseinhalb (LZK = $16,4 \pm 2,07$) und acht Wochen (LZK = $24,5 \pm 8,24$) war sta-

tistisch nicht unterschiedlich, war jedoch signifikant höher ($P < 0,05$) bei Jungfärsen mit einem durchschnittlichen Alter von 11 Monaten ($LZK = 50,0 \pm 19,08$). Die bei zwei Kälbergruppen verfolgten Werte der Hautreaktion waren beim AbleSEN in der 48. Stunde nach der Applikation niedriger ($23,0 \pm 8,05$ bzw. $33,3 \pm 8,62$) als in der 24. Stunde ($24,5 \pm 8,24$ bzw. $50 \pm 19,08$).

Hauttest; durch Zellen übermittelte Immunität; Dinitrofluorbenzol

Adresy autorov:

MVDr. Štefan Paulík, CSc., Mestská veterinárna správa, Komenského 73, 041 81 Košice

Prof. MVDr. Leopold Vrzgula, DrSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

VLIV INSEKTICIDNÍCH UŠNÍCH DESTIČEK NA MLÉČNOU UŽITKOVOST DOJNIC CHOVANÝCH PASTEVNÍM ZPŮSOBEM

M. Muška, J. Steiner

MUŠKA, M. — STEINER, J. (Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice; Okresní veterinární správa v Tachově, veterinární středisko, Stříbro): *Vliv insekticidních ušních destiček na mléčnou užitkovost dojníc chovaných pastevním způsobem*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 329-334.

OVĚŘovali jsme účinnost insekticidních ušních destiček (Flectron-Shell Chemie) obsahujících účinnou látku cypermethrin. Pokus trval celé pastevní období a sledovali jsme při něm, do jaké míry se odrazí použití těchto destiček na mléčné produkci v našich chovech. V západních Čechách, ve stáji při obci Vysočany patřící pod Státní statky, OP, Tachov, jsme na jaře roku 1987 aplikovali 60 paseným dojnícím plemene české strakaté insekticidní ušní destičky. Jako kontrolní stádo jsme zvolili stáj při obci Lužná (vzdálenou 3 km), v níž je obdobným způsobem chováno rovněž 60 dojníc. Pokusné stádo mělo produkci mléka za pastevní období o 24,8 % vyšší než stádo kontrolní (v roce 1986 činil tento rozdíl 8,3 %). Ve srovnání s pastevní sezónou 1986 byla produkce mléka u ošetřeného stáda o 10,3 % vyšší. V množství mléčného tuku nebyly zaznamenány výraznější rozdíly.

cypermethrin; pastevní období; hematofágní a sekretofágní hmyz

Jedním z činitelů, který negativně ovlivňuje ekonomiku pastevního chovu dobytka v některých oblastech, je hojný výskyt dvoukrídleho hematofágního a sekretofágního hmyzu. U našich chovů přicházejí v úvahu zejména ovádi (*Tabanidae*), muchničky (*Simuliidae*), komáři (*Culicidae*), pakomárci (*Ceratopogonidae*), synbovilní mouchy (*Muscidae*) a v některých oblastech střechci (*Hypodermatidae*). Jejich škodlivost spočívá především v přenosu některých infekčních onemocnění. Přenos se uskutečňuje buď pouhým mechanickým přenosem — jako například infekční keratokonjunktivitida skotu (dále IKKS) (Dusábek aj., 1982; Gregor a Dusábek, 1982) či letní mastitidy skotu (Hillerton aj., 1983) — nebo přímým zanesením zárodků do krevního oběhu (Künast aj., 1983; Buxton aj., 1985). Podílejí se na přenosu některých ektoparazitů (Muška a Máca, 1988). Negativní vlivy na užitkovost má rovněž neustálé zneklidňování zvířat během pastvy a při odpočinku. Není zanedbatelná ani ztráta krve a toxiny vylučované hmyzem. U kusů silně pobodaných muchničkami dochází k alergickým reakcím, které mohou být i smrtelné (Minář a Kubeček, 1968). To vše se odráží ve zvýšených nákladech vynaložených na léčbu zvířat, zvýšené brakaci a ve snížené mléčné užitkovosti i v nižších přírůstcích živé hmotnosti. Mončadskij aj. (1964) uvádějí možné snížení doji-

vosti o 10 až 40 % a hmotnostních přírůstků o 20 až 45 %. V podmínkách našich chovů prokázali Říha aj. (1979) a Minář aj. (1979), že po ošetření pasených dojnic 10% vodní emulzí dietyltoluamidu se zvyšuje dojivost o 6,23 % a tučnost mléka o 11,81 %. Po ošetření tímto repelentem byly prokázány i vyšší hmotnostní přírůstky (Říha aj., 1981). Po ošetření dojnic směsí repelentů 2-fenyl propandiol 1,3 a N,N'-diethyl-m-toluamid v poměru 1:1 se zvýšila dojivost o 4,53 % a tučnost o 4,7 % (Říha aj., 1987). V pokusech uskutečněných v SSSR prokázali Minář aj. (1987) zvýšení mléčné užitkovosti po ošetření pasených krav repelentem Oxamát. Repelenty se ve všech případech aplikují formou postřiku celého těla zvířat v intervalech 48 hodin.

V posledních letech se v zahraničí v boji s dvoukřídlým hmyzem používají insekticidní ušní destičky. Jde o plastikové destičky impregnované insekticidy ze skupiny pyrethroidů, které se pozvolným únikem z destiček usazují na jejich povrchu. Účinnost těchto destiček je pět měsíců, což pokrývá celé pastevní období. Při použití destiček s permethrinem byly za pastevní období přírůstky o 5,6 kg na kus vyšší než u kontrolního stáda bez destiček (Quisenberry aj., 1984). Fenvalerátové ušní destičky redukovaly mouchy *Musca autumnalis* z 90 % po 21týdenním období (Knapp a Herald, 1981). Ušní destičky lze rovněž úspěšně použít v lokalitách se zvýšeným výskytem IKKS a letní mastitidy. Použití ušních destiček u pasených krav mělo za následek snížení výskytu letních mastitid z 13 % na 0,5 % (Hofmann, 1985). Jelikož se insekticidní ušní destičky v našich chovech dosud nepoužívali, rozhodli jsme se ověřit jejich účinnost a vliv na mléčnou užitkovost pasených krav.

MATERIÁL A METODY

Pokus jsme uskutečnili v západních Čechách v lokalitě Vysočany, patřící pod Státní statky OP Tachov. Tato lokalita nejlépe vyhovovala našim požadavkům na uskutečnění našich sledování. Ve vzdálenosti 3 km jsou zde dvě starší stáje s 60 dojniciemi plemene české strakaté (Vysočany, Lužná). Dojnice jsou od května do září pravidelně vyháněny na nedaleké pastviny oseté trvalou pastevní směsí. Podle mléčné užitkovosti se jednotlivým kusům přidává jaderné krmivo DOG. Jádro je dávkováno, ručně. Dojnice v obou stájích byly převážně ve druhé až třetí laktaci. Stádo ve Vysočanech jsme použili jako pokusné a stádo v Lužné jako kontrolní.

29. dubna 1987 před vyhnáním dojnic na první pastvu jsme speciálními kleštěmi aplikovali 60 insekticidních ušních destiček (Flectron-Shell Chemie), u nichž účinnou látkou je cypermethrin (jedna destička obsahuje 1,07 g insekticidního cypermethrinu). Destičky byly umístěny na vnitřní plochu levého ucha. Aplikaci zvládli bez problémů tři lidé za dvě hodiny 30 minut. V době pokusu jsme na obou lokalitách uskutečnili několik odchytů dvoukřídlého hmyzu za účelem orientačního vyjasnění druhového složení a jeho množství, a to ve stájích entomologickou sítkou a na pastvinách formou celodenních sběrů pomocí Skufinova lapáku.

VÝSLEDKY A DISKUSE

Druhové složení a celkové množství dvoukřídlého hmyzu bylo na obou lokalitách přibližně shodné. Ve stájích se vyskytovaly synbovilní mouchy tohoto druhového složení: 50 až 55 % krev sající bodalka stájo-

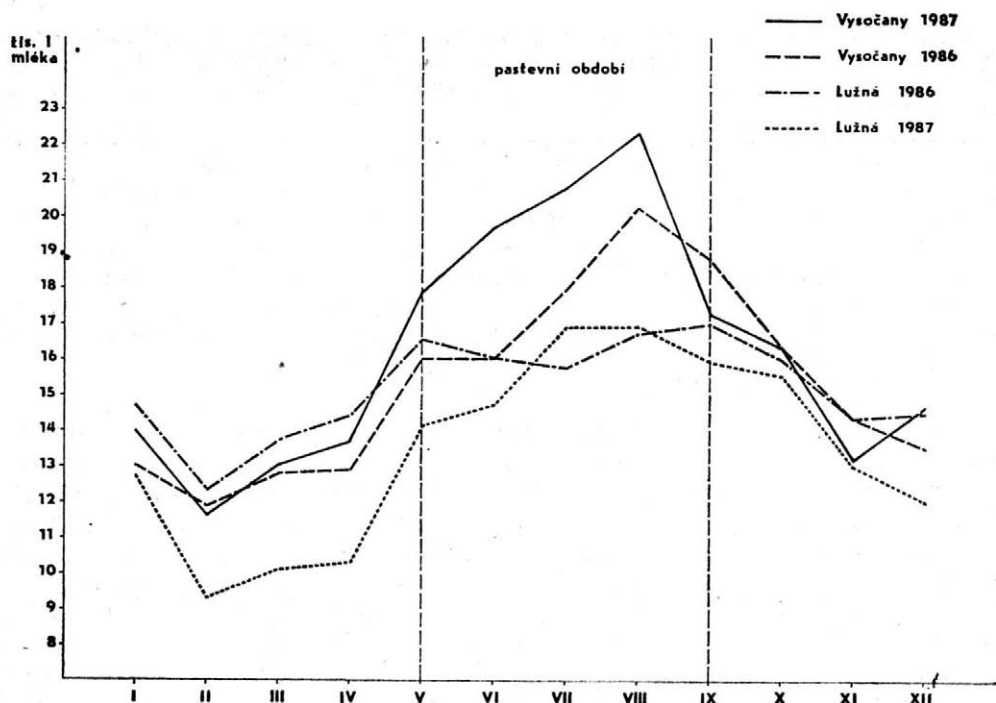
I. Přehled o množství vyprodukovaného mléka a jeho tučnosti za jednotlivé měsíce v letech 1986 a 1987 ve stájích Vysočany a Lužná — A survey of milk production and milk fat content in the months of the years 1986 and 1987 in the barns at Vysočany and Lužná

Měsíc	Vysočany				Lužná			
	1986		1987		1986		1987	
	l mléka	tučnost %	l mléka	tučnost %	l mléka	tučnost %	l mléka	tučnost %
I.	13 020	4,01	14 035	3,82	14 710	4,03	12 695	3,97
II.	11 920	3,88	11 610	3,70	12 270	4,03	9 295	3,96
III.	12 755	3,80	12 930	3,87	13 695	3,98	10 140	3,81
IV.	12 860	3,56	13 675	3,90	14 430	3,78	10 370	3,72
V.	15 950	3,79	17 925	3,80	16 500	3,91	14 120	3,86
VI.	15 915	3,85	19 665	3,75	15 970	3,94	14 680	3,82
VII.	17 890	3,81	20 655	3,67	15 770	3,65	16 855	3,68
VIII.	20 205	3,77	17 290	3,73	16 710	3,77	15 865	3,64
IX.	18 765	3,87	22 300	3,68	16 985	3,82	16 850	3,58
X.	16 305	3,94	16 280	3,83	15 980	3,95	15 470	3,72
XI.	14 035	3,93	13 165	3,81	14 435	3,93	13 030	3,66
XII.	13 520	3,93	14 830	3,81	14 450	3,85	12 025	3,71

vá — *Stomoxys calcitrans* (L.), 30 až 35 % *Musca domestica* L., zbytek tvořily druhy *Fannia canicularis* (L.), *Fannia scalaris* (Fabr.). V okolí žlabů byl velký počet octomilek druhu *Drosophila repleta*. Do lapáku denně nalétalo 200 až 400 synbovilních much. Nejpočetněji byl zastoupen druh *Musca autumnalis* Degeer — až 60 %, pak následující druhy *Morellia hortorum* (Fl.), *Hydrotaea irritans* (Fl.), *Haematobosca stimulans* (Mg.), *Hydrotaea meteorica* (L.) a *Stomoxys calcitrans* (L.), pět až dvacet ovádů a větší množství muchniček.

Během pastevní sezóny byla ve stáji Vysočany nutně poražena jedna dojnice. Po aplikaci destiček byly ve dvou případech zaznamenány lehké zánětlivé reakce v okolí místa vpichu. V krátké době se stav zcela normalizoval. Po celé pastevní období nedošlo ani k jednomu případu ztráty ušní destičky. Pozorovali jsme, že v okolí ošetřených dojnic, zvláště pak u jejich očí, se nevyskytovalo takové množství dvoukřídleho hmyzu jako u neošetřovaných zvířat.

Sledovali jsme celkové množství vyprodukovaného mléka z obou stájí a jeho tučnost za jednotlivé měsíce v letech 1986 a 1987 (tab. I). Celkové množství mléka v jednotlivých měsících jsme graficky znázornili (obr. 1). Zatímco před pastvou a po ní nebyly rozdíly v mléčné produkci jednotlivých stájí za léta 1986 a 1987 výraznější, v pastevní sezóně 1987 byla u pokusného stáda ve Vysočanech výrazně vyšší mléčná užitkovost než u kontrolního stáda v Lužné a než v předešlé sezóně. Celková produkce mléka za pastevní sezónu byla o 24,8 % vyšší než u kontrolního stáda a o 10,3 % vyšší než v předešlé pastevní sezóně. V produkci mléčného tuku nebyly zaznamenány rozdíly mezi pokusným



1. Množství mléka vyprodukovaného za jednotlivé měsíce v letech 1986 a 1987 ve stájích Vysočany a Lužná — Milk production over the months in the years 1986 and 1987 in the barns at Vysočany and Lužná

a kontrolním stádem. Jelikož celkové množství a aktivita dvoukřídlého hmyzu jsou závislé na povětrnostních vlivech, přikládáme údaje o průměrné teplotě vzduchu a množství srážek za jednotlivé měsíce v pastevních sezónách 1986 a 1987 (tab. II).

Z uvedených výsledků je patrné, že po aplikaci ušních insekticidních destiček jsou zvířata daleko méně obtěžována hmyzem, během pastvy

II. Údaje o průměrné teplotě vzduchu (Stříbro) a množství srážek (Bor u Tachova) za jednotlivé měsíce pastevních sezón 1986 — 1987 — Average air temperatures (Stříbro) and precipitation sums (Bor near Tachov) in the months of the grazing seasons 1986 and 1987

Měsíc	Množství srážek [mm]			Průměrná teplota vzduchu [°C]		
	1986	1987	50letý průměr	1986	1987	50letý průměr
V.	164,9	83,0	58,0	14,4	9,8	12,5
VI.	20,1	66,5	66,0	15,8	14,7	15,4
VII.	66,3	76,0	76,0	16,2	17,4	17,4
VIII.	77,4	55,1	63,0	16,3	15,1	16,3
IX.	24,6	43,8	43,0	11,2	14,4	12,4

Za poskytnuté údaje děkuji pracovníkům ČHMÚ Plzeň

a odpočinku jsou klidnější, což se vedle lepšího celkového zdravotního stavu odráží i ve zvýšené užitkovosti. Další předností této metody je malá pracnost a dlouhodobá účinnost destiček, pokrývající celé pastevní období. Proto lze tento způsob ochrany skotu na pastvě doporučit zvláště v oblastech s hromadným výskytem dvoukřídleho hmyzu a v ohniscích s IKKS.

Literatura

- BUXTON, B. A. — HINKLE, N. G. — SCHULTZ, R. D.: Role of insects in the transmission of bovine leucosis virus. Potential for transmission by stable flies, bomb flies, and tabanids. J. veter. Res., 46, 1985, s. 123—126.
- DUSBÁBEK, F. — SOUKUPOVÁ, A. — GREGOR, F. — KREJČÍ, J.: The role of *Hydrotaea armipes* Fall. (Diptera, Muscidae) in the transmission of infection of bovine keratoconjunctivitis. Folia parazit. (Praha), 29, 1982, s. 79—83.
- GREGOR, F. — DUSBÁBEK, F.: Diurnal flying activity and nutrition ecology of *Hydrotaea armipes* (Diptera, Muscidae). Folia parazit. (Praha), 29, 1982, s. 69—78.
- HILLERTON, J. E. — BRAMLEY, A. J. — BROOM, D. M.: *Hydrotaea irritans* and summer mastitis in calves. Veter. Rec., 113, 1983, s. 88.
- HOFMANN, W.: Erfahrungen mit dem Einsatz von insektizidhaltigen Ohrmarken zur Fliegenabwehr bei Weiderindern. Dtsch. tierärztl. Wschr., 92, 1985, s. 345—348.
- KNAPP, F. W. — HERALD, F.: Face fly and horn fly reduction on cattle with fenvalerate ear tags. J. econ. Ent., 74, 1981, s. 295—296.
- KÜNST, C. — SCHÖFER, B. — SCHMELZ, H. — SCHAH-ZEIDI, M.: Untersuchungen über die Kontrolle von Dipteren an Weidevieh in Süddeutschland durch cypermethrinhaltige Ohrmarken. Berl. Münch. tierärztl. Wschr., 96, 1983, s. 131—134.
- MINÁŘ, J. — KUBEC, J.: Fatal cases of cattle intoxication due to bites of black flies *Odagmia ornata* (Diptera, Simuliidae). Folia parazit. (Praha), 15, 1968, s. 106.
- MINÁŘ, J. — KOSTENKO, L. A. — ŘÍHA, J.: Ztráty na doživosti krav působené dvoukřídlym hmyzem sajícím krev a ochrana skotu repelentem Oxamát v Leninogradské oblasti. Veter. Med. (Praha), 32, 1987, s. 355—363.
- MINÁŘ, J. — ŘÍHA, J. — LAMATOVÁ, Z.: Losses in milking qualities of dairy cattle caused by mosquitoes and horseflies and reduction of such losses due to use of diethyltoluamide repellent. Folia parazit. (Praha), 26, 1979, s. 285—288.
- MONČADSKIJ, A. S. — BREEV, K. A. — GUCEVIČ, A. V.: Problemy borby s krovososučimi dvukrylymi nasekomymi v SSSR. Probl. Veter. (Moskva), 1964, s. 269—278.
- MUŠKA, M. — MÁČA, J.: Forézie *Bovicola bovis* (Mallophaga) na mouchách čeledi Muscidae. Veter. Med. (Praha), 33, 1988, s. 381—384.
- ŘÍHA, J. — MINÁŘ, J. — KRÁLÍK, O.: Vliv dvoukřídleho hmyzu sajícího krev na hmotnost pasených jalovic. Veter. Med. (Praha), 26, 1981, s. 321—328.
- ŘÍHA, J. — MINÁŘ, J. — LAMATOVÁ, Z. — MATOUŠKOVÁ, O.: Ekonomický význam prevence ztrát působených dvoukřídlym hmyzem sajícím krev u pasených dojníc. Veter. Med. (Praha), 24, 1979, s. 275—283.
- ŘÍHA, J. — MINÁŘ, J. — JANEŠ, K. — VLČEK, A. — RENDA, V.: Fenylpropanediol a dietyltoluamid, nový repelentní přípravek k ochraně hospodářských zvířat. Veter. Med. (Praha), 32, 1987, s. 429—434.
- QUISENBERRY, S. S.: Horn fly (*Diptera: Muscidae*) control of beef cows with permethrin-impregnated ear tags and effects on subsequent calf weight gains. J. econ. Ent., 77, 1984, s. 422—424.

Došlo dne 22. 7. 1988

МУШКА, М. — СТЕИНЕР, Й. (Институт паразитологии ЧСАН, Чешске Будейовице; Райветуправление в Тахове, ветеринарный центр, Стржибро): Влияние инсектицидных ушных плиток на молочную продукцию дойных коров разводимых пастбищным способом. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 329-334.

Аттестировали эффективность инсектицидных ушных плиток (Флектрон-Шелл Шеми), содержащее действующее вещество циперметрин. Опыт длился весь пастбищный период и изучали во время его прохождения до какой меры отразится использование данных плиток на молочную продукцию в наших разведениях. В Западной Чехии в ко-

ровнике, расположенном вблизи деревни Высоцаны, который принадлежит к Государственному хозяйству, отраслевому предприятию Тахов, в 1987 году весной пасущимся дойным коровам породы чешское пестрое применяли инсектицидные ушные плитки. В качестве контрольного стада выбрали коровник, расположенный вблизи деревни Лужна (расстояние 3 км), в котором разводят одинаковым способом 60 дойных коров. Опытное стадо давало продукцию молока за период пастбы на 24,8 % большую чем контрольное стадо (в 1986 году эта разница составляла 8,3 %). В сравнении с пастбищным сезоном 1986 года продукция молока у обрабатываемого стада была на 10,3 % большей. По количеству молочного жира не было установлено более значительных разниц.

цыперметрин; пастбищный период; гематофагные и секретофагные насекомые

MUŠKA, M. — STEINER, J. (Institute of Parasitology of the Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice; District Veterinary Administration in Tachov, Veterinary Centre, Stříbro): *The Influence of Insecticide-Treated Ear Tags on the Milk Efficiency of Dairy Cows Reared in Pasture*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (3) : 329-334.

The effectiveness was tested of insecticide-treated ear tags (Flectron-Shell Chemie) containing the effective substance cypermethrin. The trial lasted the whole grazing season; the influence of these ear tags on milk production in Czechoslovak herds was investigated. In Western Bohemia, in a barn situated in the Vysočany village affiliated to the State Farms, Tachov Sectorial Enterprise, sixty dairy cows of the Bohemian Pied breed, reared in pasture, were given insecticide-treated ear tags. A barn situated in the Lužná village (at a distance of 3 km from Vysočany) was selected as a control barn where the herd of 60 dairy cows are kept in a similar way. Over a grazing season the cows of the test herd had the milk production by 24.8 % higher than the control herd (in 1986 the difference made 8.3 %). In comparison with the grazing season in 1986, the milk production of the tagged herd was by 10.3 % higher. No greater differences were recorded in milk fat content.

cypermethrin; grazing season; hematophagous and secretophagous insects

MUŠKA, M. — STEINER, J. (Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, České Budějovice; Kreis-Veterinärverwaltung Tachov, Tierklinik Stříbro): *Einfluß von Insektizid-Ohrmarken auf die Milchleistung von Kühen bei Weidehaltung*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 329-334.

Wir testeten die Wirksamkeit von Insektizid-Ohrmarken (Flectron-Shell Chemie) mit dem Wirkstoff Cypermethrin. Der Versuch dauerte die gesamte Weideperiode und wir untersuchten dabei, inwieweit die Anwendung dieser Plättchen in der Milchproduktion in unseren Zuchten zum Ausdruck kommen wird. In Westböhmen, in einer zum Staatsgut Tachov zugehörigen Milchviehanlage in der Gemeinde Vysočany applizierten wir im Frühjahr 1987 bei 60 auf Weiden gehaltenen Kühen der Rasse Böhmisches Fleckvieh Insektizid-Ohrmarken. Als Kontrollherde nahmen wir einen Milchviehstall in der Nähe der Gemeinde Lužná (etwa 3 km entfernt), wo auf ähnliche Weise ebenfalls 60 Kühe gehalten werden. Die Versuchsherde wies im Zeitraum der Weideperiode eine um 24,8 % höhere Milchproduktion auf als die Kontrollherde (im Jahre 1986 betrug dieser Unterschied 8,3 %). Im Vergleich mit der Weidesaison 1986 war die Milchproduktion der behandelten Herde um 10,3 % höher. In bezug auf die Milchfettmenge wurden keine signifikanten Unterschiede festgestellt.

Cypermethrin; Weideperiode; hämatophage und sekretophage Insekten

Adresy autorů:

MVDr. Miroslav Muška, Parazitologický ústav ČSAV, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

MVDr. Josef Steiner ml., Okresní veterinární správa v Tachově, veterinární středisko Stříbro, Revoluční 1010, 349 01 Stříbro

VPLYV SYNCHRONIZÁCIE A STIMULÁCIE OVÁRIÍ OVIEC NA TRYPSÍN INHIBIČNÉ AKTIVITY (TIA) KRVNEJ PLAZMY A FOLIKULÁRNE POPULÁCIE

M. Molnárová, J. Przala, J. Arendarčík, P. Molnár

MOLNÁROVÁ, M. — PRZALA, J. — ARENDARČÍK, J. — MOLNÁR, P. (Vysoká škola veterinárská, Košice; Akademia Rolniczo-Techniczna, Olsztyn-Kortowo, PLR): *Vplyv synchronizácie a stimulácie ovárií oviec na trypsin inhibičné aktivity (TIA) krvnej plazmy a folikulárne populácie*. Veter. Med. (Praha), 34, 1939 (6) : 335-348.

Kontrola proteolytických aktivít v tkanivách sa primárne vykonáva plazmatickými inhibítormi. Synchronizácia ruje (Agelínové vaginálne hubky, Galea, Komárov — 20 mg chlórsuperlutínu na kus) a stimulácia ovárií k superovuláciám rozdielnymi hormonálnymi preparátmi (FSH — Folistiman, NDR; PMSG — Antex Leo, Dánsko; HCG — Praedyn, Spofa) vedie k nerovnováhe na rôznych úrovniach. Priemerné hodnoty trypín inhibičnej aktivity (TIA) krvnej plazmy oviec sa po 11dňovej synchronizácii agelínovými hubkami zvýšili ($P < 0,05$) zo $70,8 \pm 17,0$ ‰ na $84,1 \pm 12,0$ ‰. Po vybratí hubiek sme zaznamenali v priemere pokles na pôvodné hodnoty, v deň očakávanej ovulácie boli hodnoty vyššie. Hodnoty TIA po stimulácii FSH+HCG (I. skupina) a PMSG+HCG (II. skupina) boli oproti kontrolným hodnotám počas celého pokusu znížené ($P < 0,1$) na $89,5$ ‰ a $95,2$ ‰, po stimuláciách PMSG (III. skupina) a PMSG+HCG (IV. skupina) boli zvýšené ($P < 0,05$) na $111,0$ ‰ a $107,8$ ‰. Folikulárna tekutina z 26 väčších folikulov (0,7—1,4 cm) analyzovaná na obsah steroidných hormónov vykazovala vo folikuloch menších než 10 mm pomer koncentrácií 17-beta estradiolu a súčtu koncentrácií progesterónu a androstendiónu približne štyrikrát až päťkrát vyšší ako vo folikuloch nad 10 mm. Pomer atretických (A) folikulov ku neatretickým (N) folikulom sa v kategórii primárnych a sekundárnych folikulov po jednorazovej stimulácii zvyšoval, po dvojnásobnej stimulácii sa znižoval. V kategórii terciárnych folikulov značne pokleslo zastúpenie neatretických folikulov po jednej stimulácii (I. skupina) FSH+HCG (A/N = 124), následná stimulácia (II. skupina) PMSG+HCG tento A/N signifikantne znížila (A/N = 18,2). Priemerné počty ovulácií boli najvyššie ($13,0 + 4,7$) v prvej skupine po jednorazovej stimulácii FSH+HCG.

ovulácia; folikuly; plazmatické inhibítory

Kontrola proteolytických aktivít v tkanivách je primárne vykonávaná plazmatickými inhibítormi, ktorých funkciou je rýchlo inaktivovať špecifické cieľové proteínázy. Táto skupina proteínov reprezentuje približne 10 ‰ celkových proteínov plazmy a okrem albumínov a imunoglobulínov je najväčšou, funkčne jednotnou triedou v tejto tekutine (Travis, 1986). Alfa-1-proteinázový inhibítor (alfa-1-PI), pôvodne nazývaný alfa-1-antitrypsín, je efektívny pri kontrole celého radu serínových proteínáz v tkanivách. Bagdasarjan a i. (1981) izolovali

a charakterizovali alfa-1-PI buniek ováriálnej strómy, ktorý mal zjavne podobné vlastnosti ako plazmatický alfa-1-PI. Jeho pravdepodobnou funkciou je inhibovať tkanivové proteázy zahrňujúce trypsin, chymotrypsín, elastázu, kolagenázu a renín. Ichikawa a i. (1983) dokázali antiovulačný efekt rozličných proteázových inhibítorov. Predpokladajú, že najmenej tri skupiny proteináz (serínové, metalo-proteinázy a alfa-mikrobiálnym proteinázovým inhibítorom — alfa MAPI — inhibované proteínázy, napr. chymotrypsín, papaín, katepsín B) sa zúčastňujú pri ovulačnom procese ovárií chŕčkov. Ako prvé pôsobia serínové proteázy, metaloproteinázy, potom degradujú kolagénovú matrix folikulárnej steny a alfa MAPI inhibované proteínázy pôsobia na ďalšie komponenty folikulárnej steny pred ruptúrou. Pri štúdiách krysích ovárií zaznamenali Reich a i. (1985a, b) preovulačné zvýšenie plazminogénového aktivátora a kolagenolýzy. Preovulačná vlna gonadotropínov zvyšuje cirkuláciu krvi a permeabilitu folikulárnych kapilár. Roma i. (1987) zistili prítomnosť plazmatického alfa-2-makroglobulínu (alfa-2-M) vo folikulárnej tekutine preovulačných folikulov. Za normálnych okolností nie je alfa-2-M vo folikulárnej tekutine detekovateľný. Zvýšenou infiltráciou s blížiacou sa ovuláciou môže byť tento plazmatický glykoproteín zahrnutý do procesov regulácie proteolýzy pri ruptúre folikulu, lebo inhibuje proteázy všetkých štyroch hlavných tried. Imoedemhe a Shaw (1986) používajú stanovenie obsahu alfa-1-PI vo folikulárnej tekutine na určovanie oplodnenia schopných oocytov *in vitro* u žien. Zvýšené koncentrácie alfa-1-antitrypsínu (alfa-1-PI) v krvnej plazme a genitálnych sekrétoch dáva Ashley (1987) do súvisu so zníženou plodnosťou u žien. V našich predchádzajúcich prácach (Arendarčík a i., 1987; Molnárová a Arendarčík, 1987, 1988; Molnárová a i., 1988) sme sledovali vplyv synchronizácie a stimulácie ovárií rôznymi preparátmi na trypsin inhibičné aktivity (TIA) krvnej plazmy a cervikálneho hlienu oviec a porovnávali s počtami ovulácií a s folikulárnymi populáciami. V predkladanej práci porovnávame vplyv PMSG, FSH a HCG podaných v jednom alebo dvoch po sebe nasledujúcich ováriálnych cykloch na priemerné hodnoty TIA krvnej plazmy, počty ovulácií a pomer steroidných hormónov vo folikulárnej tekutine vybraných folikulov.

MATERIÁL A METÓDA

V pokuse sme použili bahnice zemskeho plemena slovenské merino, $40,7 \pm 6,78$ kg ž. h. 15 oviec bolo rozdelených do kontrolnej a štyroch pokusných skupín ($n = 3$). V období fyziologického estru (október—december) boli ovce synchronizované agelínovými vaginálnymi hubkami (20 mg chlórsuperlutínu, Galena, Komárov). Po 11 dňoch boli hubky vybraté a ovce stimulované (tab. I) FSH (Folistiman, NDR); prvá dávka im bola podaná 5. 11. o 11.00 h, druhá o 17.00 h, tretia 6. 11. o 8.00 h, štvrtá o 16.00 h, piata 7. 11. o 8.00 h a šiesta o 16.00 h. Spolu s piatou a šiestou dávkou FSH bola podaná prvá a druhá dávka HCG (Praedyn, Spofa) ovciam prvej a druhej skupiny. Prvá dávka PMSG (Antex Leo, Dánsko) bola podaná ovciam tretej a štvrtej skupiny 5. 11. o 17.00 h, druhá 6. 11. o 8.00 h, tretia o 16.00 h. Ovce tretej skupiny boli usmrtené 144 hodín od vybratia hubiek a 115 hodín od ukončenia stimulácie PMSG, ovce prvej skupiny 168 hodín od vybratia hubiek a 115 hodín od ukončenia stimulácie FSH+HCG. Ovce druhej skupiny boli 33., 34. a 35. deň pokusu stimulované o 8.00 h 750 I. U. PMSG+750 I. U. HCG, ovce štvrtej skupiny boli stimulované v tých istých dňoch odlišnými dávkami

I. Usporiadanie pokusu (október—december) — Experiment layout (October—December)

Skupina	n	Agelín (20 mg)	FSH (450 I. U.)		HCG (1000 I. U.)		PMSG (1500 I. U.)		PMSG ($\frac{750}{1000}$ I. U.)		HCG ($\frac{500}{750}$ I. U.)	
			deň	I. U.	deň	I. U.	deň	I. U.	deň	I. U.	deň	I. U.
K	3	1. — 11. deň +		—		—		—		—		—
I.	3	+	11. 12. 13.	2×100 2×75 2×50	13.	2×500						
II.	3	+	11. 12. 13.	2×100 2×75 2×50	13.	2×500			33. 34.	1×500 1×250	34. 35.	1×250 1×500
III.	3	+					11. 12.	1×500 2×500				
IV.	3	+					11. 12.	1×500 2×500	33. 34.	1×500 1×500	35.	1×500

II. Krížové reakcie antiséra na stanovenie androstendiónu (Anti-A) — Cross reactions of the antiserum to the assays of androstendion (Anti-A)

Steroid	Krížové reakcie (%)
Androstendión	100,00
5-alfa-pregnan-3,20-dion	0,00
5-alfa-pregnan-3-alfa-ol-20-on	0,00
5-alfa-pregnan-3-beta-ol-20-on	< 0,01
Pregnenolón	< 0,01
Progesterón	< 0,01
17-hydroxyprogesterón	< 0,01
4-pregnen-20-alfa-ol-3-on	< 0,01
4-pregnen-20-beta-ol-3-on	< 0,01
Kortizol	< 0,01
Kortikosterón	< 0,01
Dezoxykortikosterón	< 0,01
5-alfa-androstan-3-alfa,17-beta-diol	58,00
Androsterón	9,14
5-alfa-dihydroxytestosterón	0,45
Epiandrosterón	< 0,01
5-alfa-androstan-3-beta-17-beta-diol	< 0,01
5-alfa-androstan-3-alfa,17-beta-diol	< 0,01
5-beta-androstan-3,17-diol	16,00
5-beta-androstan-3-alfa-ol-17-ol	3,20
5-beta-androstan-3-alfa-17-beta-diol	0,00
Testosterón	0,45
4-androsten-3-beta,17-beta-diol	0,00
4-androsten-6-beta-ol,3,20-dien	17,77
4-androsten-11-beta-ol,3,17-diol	1,82
Dehydroepiandrosterón	1,60
Estrón	< 0,01
Estradiol-17-beta	0,00
Estriol	0,00

PMSG+HCG (1000+500 I. U.). Ovce boli usmrtené: druhá skupina 40. deň pokusu, cca 100 hodín od ukončenia stimulácie, štvrtá skupina 42. deň pokusu, cca 124 hodín od ukončenia stimulácie.

Krv bola odoberaná ráno pred 8.00 hodinou z *v. jugularis* na heparín a plazma bola až do stanovenia trypsin inhibičných aktivít (TIA) uchovávaná pri teplote -25°C . Folikulárna tekutina bola odoberaná injekčnou striekačkou do 10 minút od usmrtenia a až do spracovania uložená pri teplote -25°C . TIA krvnej plazmy boli stanovené upravenou metodikou podľa Bartíka a i. (1974) zo spomalenia hydrolýzy syntetického nízkomolekulového chromogénneho substrátu, N-alfa-tosyl-p-nitroanilidu (TAPA) hovädzím trypsinom. Koncentrácie steroidných hormónov vo folikulárnej tekutine boli stanovené metodikami RIA: androstendión podľa Dziatkowicza a i. (1982) (tab. II), estradiol podľa Hotchkisa a i. (1971)

III. Krížové reakcie antiséra na stanovenie 17-beta estradiolu (Anti E₂) — Cross reactions of the antiserum to the assays of 17-beta oestradiol (Anti E₂)

Steroid	Krížové reakcie (%)
Estradiol-17-beta	100,00
Estron	1,00
Estriol	0,125
Equilin	< 0,10
17-beta-dihydro-equilin	7,04
Estradiol-17-beta-3-sulfát	0,11
Estradiol-17-beta-3D glucuronid	0,18
Estradiol-17-beta-glucuronid-17-sulfát	< 0,10
16-Ketoestradiol-17-alfa	< 0,10
Testosterón	< 0,10
Dehydroepandrosterón	< 0,10
5-alfa-dihydrotestosterón	< 0,10
Pregnenolon	< 0,10
Progesterón	< 0,10

IV. Krížové reakcie antiséra na stanovenie progesterónu (Anti-P₄) — Cross reactions of the antiserum to the assays of progesterone (Anti-P₄)

Steroid	Krížové reakcie (%)
Progesterón	100,00
5-alfa-Pregnan-3,20-dion	14,10
5-alfa-Pregnan-3-alfa-ol-20-on	0,01
5-alfa-Pregnan-3-beta-ol-20-on	0,01
5-beta-Pregnan-3,20-dion	3,75
4-Pregnen-20-alfa-ol-3-on	4,36
4-Pregnen-20-beta-ol-3-on	0,01
17-Hydroxyprogesterón	0,01
Pregnenolon	0,01
Kortizol	0,01
Kortikosterón	0,01
Dezoxykortikosterón	2,82
5-alfa-Androsten-3,17-dion	0,01
Androstendion (4-androsten-3,17-dion)	0,01
Testosterón	0,01
Estradiol-17-beta	0,01

(tab. III) a progesterón podľa Abrahama a i. (1971) (tab. IV, V) — (Przala a i. 1985, 1986). Vaječníky na histologické hodnotenie sme odobrali do 10 minút po usmrtení oviec a spracovali sme ich bežnou metodikou. 7 µm parafínové rezy sme ofarbili hematoxylin-eozinom. Vaječníky sme rezali celé kaskádovite, vyhodnocovali sme každý 10. rez (percentuálne zastúpenie folikulov primárnych, sekundárnych, terciárnych, atretických, neatretických). Atréziu primárnych folikulov sme hodnotili podľa pyknózy jadra oocyту, vakuolizácie cytoplazmy oocyту, zmeny tvaru oocyту, degenerácie buniek *membrana granulosa*. Atréziu sekundárnych folikulov sme rozdelili do troch kategórií: atréziu buniek *membrana granulosa* (AB), atréziu oocyту (AO) a atréziu oocytu i buniek *membrana granulosa* (AOB). Atrézie terciárnych folikulov sme vyhodnotili podľa Mariona a i. (1968). Štatistické vyhodnotenia sme robili Studentovým t-testom.

V. Charakteristiky radioimunoanalýz progesterónu (P₄), 17-beta estradiolu (E₂) a androstendiónu (A) — Characteristics of the radioimmunoanalyses of progesterone (P₄), 17-beta oestradiol (E₂) and androstendion (A)

Steroid	Spätný zisk ("recovery") [%]	Citlivosť [pg.ml ⁻¹]	Variačný koeficient [%]
P ₄	90,4	106,8	4,20
E ₂	93,6	7,0	4,15
A	96,9	11,3	9,70

VI. Trypsín inhibičná aktivita krvnej plazmy oviec (synchronizácia, stimulácia, chronization, stimulation, oestrus period)

Skupina	n	$\bar{x}_O$	$\bar{x}_A$	x_1	%
K	3	70,84 ± 17,46	84,13 ± 12,50	70,30 ± 10,50	100
I.	3				
II.	3			70,03 ± 14,50	99,50
III.	3			79,92 ± 17,34	113,68
IV.	3			—	—

x_O — priemerné hodnoty v 0. dni

x_A — priemerné hodnoty v 11. dni (po vybratí Agelínu)

$\bar{x}_1$ — priemerné hodnoty v 0., 11., 14., 17. a 18. dni pokusu (1. ruja)

$\bar{x}_2$ — priemerné hodnoty v 33., 34., 35., 39., 40. a 41. dni pokusu (2. ruja)

$\bar{x}_3$ — priemerné hodnoty v 0. až 40. dni pokusu (1. + 2. ruja)

$\bar{x}_{ov}$ — priemerné počty ovulácií na jednu ovcu

$\bar{x}_F$ — priemerné počty folikulov > 1 cm na jeden vaječník

VÝSLEDKY

Priemerné hodnoty TIA krvnej plazmy oviec sa menia podľa druhu použitého hormonálneho preparátu (tab. VI).

Synchronizácia ruje oviec — bahníc ($n = 15$) agelínovými hubkami zvýšila ($P < 0,05$) hodnoty TIA krvnej plazmy z počiatkových 70,84 ± 17,46 % na 84,13 ± 12,50 % v 11. dni. Vybratie agelínových hubiek spôsobilo v 14., 17. a 18. dni pokles ($P < 0,01$) na 70,12 ± 10,75, aj keď v 17. dni pokusu (deň očakávanej ovulácie) boli hodnoty najvyššie (80,33 ± 4,04 %).

Stimulácia 1500 I.G. PMSG (III. skupina) spôsobila pokles ($P < 0,02$) v 14., 17. a 18. dni na 77,21 ± 18 %, pričom aj tu boli hodnoty v 17. dni najvyššie — 89,66 ± 8,6 %. Stimulácia 450 I.U. FSH + 1000 I.U. HCG (prvá skupina) spôsobila pokles ($P < 0,1$) hodnôt TIA krvnej plazmy v 14., 17. a 18. dni na 66,61 ± 11,9 %, v 17. dni boli hodnoty 70,0 ± 14,16 %. Priemerné hodnoty TIA krvnej plazmy sa počas druhej synchronizovanej a stimulovanej ruje znižovali. V 33. až 35. a 39. až 41. dni pokusu boli priemerné hodnoty TIA oviec len synchronizovaných (K) 67,4 ± 6,8 %; oviec stimulovaných v prvej ruji (druhá skupina) nižšie ($P < 0,1$) 60,3 ± 14,9 % a oviec štvrtej skupiny vyššie ($P < 0,05$) 74,8 ± 6,5 %. V 39. dni pokusu (deň očakávanej ruje) boli u stimulovaných oviec hodnoty nesignifikantne vyššie ako priemerné. Priemerné počty ovulácií boli najvyššie v prvej skupine (jedna stimulovaná ruja — FSH + HCG) 13,0 ± 4,7. Tu sme zistili aj najvyšší priemerný počet veľkých terciárnych folikulov (> 10 mm) 4,6 ± 3,4 na vaječník. Ovce tretej skupiny (jedna stimulovaná ruja — PMSG) mali v priemere 5,0 ± 2,0 ovulácií na ovcu a 1,83 ± 1,5 veľkých folikulov vo vaječníku. Tieto hodnoty signifikantne ($P < 0,02$; $P < 0,1$) prevyšovali priemerné počty ovulácií oviec stimulovaných v dvoch po sebe nasledujúcich ovariálnych cykloch, ale aj priemerné počty veľkých terciárnych folikulov druhej skupiny ($P < 0,05$); u tretej skupiny bolo prevýšenie nesignifikantné.

x_2	%	x_3	%	x_{ov}	$\bar{x}_F$
$67,4 \pm 6,8$	100,0	$69,10 \pm 9,3$	100,0	$0,33 \pm 0,5$	0
—	—	—	—	$13,00 \pm 4,7$	$4,66 \pm 3,44$
$60,3 \pm 14,9$	89,5	$65,80 \pm 15,6$	95,2	$1,33 \pm 1,5$	$1,00 \pm 0,80$
—	—	—	—	$5,00 \pm 2,0$	$1,83 \pm 1,46$
$74,8 \pm 6,5$	111,0	$74,53 \pm 12,3$	107,8	$1,00 \pm 1,7$	$0,66 \pm 0,74$

VII. Hodnoty koncentrácií progesterónu (P_4), 17-beta estradiolu (E_2) a androstendiónu (A) vo folikulárnej tekutine ovárií oviec po synchronizácii agelínom a stimulácii 1500 I. U. PMSG v estrickom období (III. skupina) — Values of the concentrations of progesterone (P_4), 17-beta oestradiol (E_2) and androstendion (A) in the follicular fluid of the ovaries of ewes after synchronization with agelline and stimulation with 1500 I. U. PMSG during the oestrus period (group III)

Veľkosť folikulov [cm]					
0,75–1,0			1,01–1,4		
P_4	E_2	A	P_4	E_2	A
55,80	—	30,80	35,40	620,60	3,41
53,10	—	8,60	137,30	5564,00	12,32
168,30	—	1,90	106,30	4815,00	5,23
168,30	13 696,0	30,70	442,80	6206,00	7,92
15,60	2 097,0	4,50			
23,00	11 128,0	6,90			
88,60	—	13,30			
74,40	7 918,0	11,00			
—	9 630,0	7,60			
88,70	14 124,0	20,20			
81,75	9 775,8	13,55	180,45	4301,32	7,22
$\pm 52,12$	$\pm 4 047,9$	$\pm 9,81$	$\pm 155,90$	$\pm 2181,63$	$\pm 3,35$
	$E/P+A = 102,57$			$E/P+A = 22,91$	

P_4 [ng.ml⁻¹] E_2 [pg.ml⁻¹] A [ng.ml⁻¹]

Hodnoty TIA po stimulácii FSH v kombinácii s HCG a PMSG + HCG (prvá a druhá skupina) boli oproti hodnotám kontrolným počas celého pokusu znížené na 89,5 % a 95,2 %, hodnoty TIA po stimuláciách PMSG a PMSG + HCG (tretia a štvrtá skupina) boli zvýšené na 111,0 % a 107,8 %.

VIII. Hodnoty koncentrácií progesterónu (P₄), 17-beta estradiolu (E₂) a androstendiónu (A) vo folikulárnej tekutine ovárií oviec po synchronizácii agelínom, stimulácii 1500 I. U. PMSG, 1000 I. U. PMSG + 500 I. U. HCG (IV. skupina) a 450 I. U. FSH + 1000 I. U. HCG, 750 I. U. PMSG + 750 I. U. HCG (II. skupina) v estrickom období — The concentrations of progesterone (P₄), 17-beta oestradiol (E₂) and androstendion (A) in the follicular fluid of the ovaries of ewes after synchronization with agelline and stimulation with 1500 I. U. PMSG, 1000 I. U. PMSG + 500 I. U. HCG (group IV) and 450 I. U. FSH + 1000 I. U. HCG, 750 I. U. PMSG + 750 I. U. HCG (group II) during oestrus period

Skupina	Veľkosť folikulov [cm]					
	0,75 – 1,0			1,01 – 1,4		
	P ₄	E ₂	A	P ₄	E ₂	A
IV.	—	—	6,93	354,20	—	1,96
	—	4173,00	7,48	203,70	556,40	2,16
	72,60	—	8,36	—	—	—
II.	371,90	224,70	3,30	83,20	109,10	1,94
	—	2889,00	3,74	256,80	175,50	2,86
	309,90	823,90	0,79	39,80	—	2,15
	—	149,80	—	—	—	—
$\bar{x}$	251,46	2027,25	5,10	187,54	280,20	2,21
$\pm$	$\pm 128,98$	$\pm 1585,00$	$\pm 2,70$	$\pm 114,50$	$\pm 196,89$	$\pm 0,33$
		$E/P+A = 6,72$			$E/P+A = 1,47$	

P₄ [ng.ml⁻¹] E₂ [p.ml⁻¹] A [ng.ml⁻¹]

Folikulárna tekutina z 26 väčších folikulov bola analyzovaná na obsah steroidných hormónov (progesterón, androstendión a 17-beta estradiol). V skupine oviec stimulovaných po synchronizácii Agelínom, 1500 I. U. PMSG (tretia skupina) (tab. VII), bolo vyšetrených desať folikulov menších ako 1 cm a štyri folikuly väčšie ako 1 cm. Po rozdelení jednotlivých folikulov do veľkostných kategórií 0,75 až 1,0 cm a 1,1 až 1,4 cm sme zistili, že folikuly menšie ako 1 cm v priemere mali pomer koncentrácií 17-beta estradiolu a súčtu koncentrácií progesterónu a androstendiónu približne štyrikrát až päťkrát väčší ako folikuly kategórie nad 1 cm, pričom priemerné hodnoty estradiolu boli nižšie po dvojnásobnej stimulácii v oboch veľkostných kategóriách folikulov. Priemerné hodnoty progesterónu boli vyššie v kategórii folikulov nad 1 cm po jednej stimulácii (tretia skupina), ale po dvoch stimuláciách boli vyššie v kategórii folikulov menších ako 1 cm (druhá skupina) (tab. VIII). Priemerné hodnoty androstendiónu boli bez ohľadu na počet stimulácií takmer dvojnásobné v kategórii folikulov do 1 cm. Pri charakterizovaní jednotlivých folikulov sme u ovce tretej pokusnej skupiny [ktorá mala najnižší počet ovulácií v skupine (3), najvyšší počet veľkých folikulov (15), žiadne CL] zistili, že ľavý vaječník o veľkosti 1,5 × 2,6 × 1,45 cm mal hmotnosť 4,17 g, V/g = 0,09454 a obsahoval päť veľkých folikulov,

z toho jeden ovulovaný; z troch analyzovaných mali menšie folikuly $2,5 \times$ vyšší pomer $E/P + A$. Pravý vaječník o veľkosti $2,5 \times 3,5 \times 2,0$ cm mal hmotnosť 9,1 g, $V/g = 1,033$ a obsahoval desať veľkých folikulov a dva folikuly ovulované ($4 f > 1$ cm, $6 f < 1$ cm). V troch vyšetrovaných folikuloch pomer $E/P + A$ s rastúcou veľkosťou klesal. Priemerné hodnoty TIA krvnej plazmy počas celého pokusu boli 123,7 % z priemeru skupiny a 152,1 % z priemeru plazmatických TIA oviec nestimulovaných.

Pri vyčíslení pomeru atretických (A) ku neatretickým (N) folikulom jednotlivých kategórií folikulov bol pomer pre primárne folikuly oviec po synchronizácii Agelínom $A/N = 0,52$. Po následnej stimulácii PMSG (tretia skupina) sa oproti nestimulovaným zvýšil tento pomer na $A/N = 1,9$ (365 %). Stimulácia FSH + HCG (prvá skupina) zvyšovala pomer viacej: $A/N = 2,70$ (519 %). Keď boli ovce druhej skupiny stimulované v dvoch cykloch, pomer sa znížil: $A/N = 0,35$ (67,3 %).

V kategórii sekundárnych folikulov sa pomer po jednej stimulácii tiež zvýšil u tretej skupiny $A/N = 2,04$ (157 %), u prvej skupiny $A/N = 2,3$ (177,0 %) a po dvojnásobnej stimulácii sa u druhej skupiny znížil na $A/N = 0,72$ (55,4 %), pričom sa menilo percentuálne zastúpenie folikulov s atréziou folikulárných buniek (AB), atréziou oocytov (AO) a atréziou buniek aj oocytov (AOB). Najvyššie zastúpenie sekundárnych folikulov s atréziou folikulárných buniek aj oocytov sme zistili po jednej stimulácii (tretia skupina $AOB = 32,5$ %, prvá skupina $AOB = 42,5$ %). Po dvojnásobnej stimulácii bol tento počet naopak nižší ako u oviec len synchronizovaných ($AOB = 9,5$ % oproti 15,0 %). V kategórii terciárnych folikulov po jednej stimulácii (prvá skupina) značne pokleslo zastúpenie neatretických folikulov ($A/N = 124$) oproti ovciam len synchronizovaným ($A/N = 13,1$), druhá stimulácia (druhá skupina) tieto hodnoty priblížila hodnotám kontrolným ($A/N = 18,2$). Stimulácia PMSG (tretia skupina) zastúpenie neatretických folikulov znížila menej ($A/N = 15,9$). Pri vyhodnocovaní jednotlivých foriem atrézie sme po jednej stimulácii pozorovali zmeny v zastúpení najmä luteinizačnej formy, prvá skupina mala zastúpenie 17,9 % a tretia skupina 5,5 %. Ovce len synchronizované alebo dvakrát stimulované túto formu nevykazovali. Zastúpenie neskorej formy atrézie sa prejavilo u oviec stimulovaných len raz u prvej skupiny v 42,7 %, u tretej skupiny v 40,6 %; u oviec synchronizovaných alebo dvakrát stimulovaných bolo zastúpenie vyššie u kontroly 58,1 %, u druhej skupiny 61,1 %.

DISKUSIA

Regulácia proteolytických aktivít inhibítormi proteínáz zaujíma významné postavenie v procesoch zrážania krvi, ale aj v iných situáciách v živom organizme na rôznych úrovniach. Zmeny proteín-proteínázových aktivít cervikálneho hlienu počas ovariálneho cyklu naznačujú, že aj v oblasti reprodukcie zapadajú do sledu reakcií spojených s dozrievaním ovariálnych folikulov a ich ovulácie. Hormonálne prípravky používané na synchronizáciu ruje a stimuláciu ovárií k superovuláciám menia rovnováhu nielen na hormonálnej úrovni. Moor a i. (1985) zistili, že zloženie proteínov a steroidogenézia je v ovariálnych folikuloch oviec po podaní PMSG značne zmenená. Aktivácia nezrelých germinálnych kom-

partmentov má za následok vznik „starých“ alebo abnormálnych oocytov a „nepriateľský“ reprodukčný trakt. Autori sa snažili zistiť, do akej miery je zmenené poradie vývojových stupňov folikulov stimulovaných exogénnymi gonadotropínmi. Imoedemhe a Shaw (1986) zistili u žien po stimulácii ovárií clomifencitrátom (CLOMID), HCG (PERGONAL) alebo kombináciou oboch, že oocyty získané z folikulov, ktoré mali koncentráciu alfa-1-antitrypsínu (alfa1-AT) $\leq 2,0 \text{ g.l}^{-1}$, boli fertilnejšie ako oocyty získané z folikulov s vyššími koncentraciami alfa1-AT. Alfa1-AT je hlavnou antiproteázou ľudského krvného séra a predstavuje 90 % antiproteázovej aktivity. Bagdasarian a i. (1981) charakterizovali alfa1-proteázový inhibítor, hlavný sérový proteázový inhibítor prítomný v bunkách ovariálnej strómy, a nevylučujú možnosť jeho syntézy v týchto bunkách. Aj keď nie sú dosiaľ úplne jasné funkcie antiproteáz na ovariálnej úrovni, predpokladá sa ich účasť pri proteolytických dejoch spojených s ovuláciou. Rahi a Shrivastava (1984) zistili signifikantne vyššie koncentrácie proteínov a enzýmových aktivít v ováriách, oviduktoch a maternici chrčkov po superovulácii. Harlow a i. (1987) dokázali modulačný účinok glukokortikoidných hormónov na sekreciu plazmigénového aktivátora stimulovanú FSH (PA — je serínová proteáza premieňajúca neaktívny plazminogén na plazmin).

Pri použití hormonálnych preparátov na synchronizáciu ruje a stimuláciu ovárií oviec k superovuláciám je známa individuálna odpoveď, ktorá závisí od stavu folikulárnych populácií a žltých teliesok v jednotlivých ováriách. Regulácia výberu, rastu a degradácie jednotlivých folikulov je nesmierne zložitá a zahŕňa faktory endokrinné aj parakrinné s celou škálou pôsobení od hormonálnych po enzymatické. Presný mechanizmus nie je zatiaľ známy, ale účasť proteolytických enzýmov sa predpokladá pri raste a dozrievaní folikulov (Lobb a Dorrington, 1987). Priemerné hodnoty trypsín inhibičných aktivít (TIA) krvnej plazmy, ako v práci uvádzame, nevystihujú plne dynamiku dejov prebiehajúcich na úrovni proteolýzy počas ovariálneho cyklu; predsa však môžu poskytovať informácie o odpovedi na hormonálne ovplyvnenie ovárií. Koncentrácie inhibítorov proteolytických enzýmov krvnej plazmy môžu ovplyvňovať aj mikroprostredie jednotlivých folikulov, lebo v priebehu ovariálneho cyklu, najmä pred ovuláciou, kedy sa mení priepustnosť folikulárnych kapilár, koncentrácia alfa2-makroglobulínu (alfa2-M) vo folikulárnej tekutine stúpa. Keďže alfa2-M, plazmatický glykoproteín inhibujúci proteázy všetkých štyroch hlavných tried, môže ovplyvňovať kvalitu oocytu, použili Rom a i. (1987) jeho stanovenie ako jedno z kritérií pre vhodnosť použitia oocytu pri oplodnení *in vitro* a pri prenose embryí u žien.

Môžeme uviesť, že účasť proteínov, proteolytických enzýmov a ich inhibítorov na reguláciách pôsobenia hormónov na ováriá sa najnovšie venuje veľa pozornosti (Zerega a i., 1983; Tonetta a i., 1988 a iní). Stanovením koncentrácií trypsín inhibičných aktivít (TIA) v krvnej plazme oviec po synchronizácii ruje a stimulácii ovárií k superovuláciám sme zistili individuálne odpovede na tejto úrovni rozdielne, ako uvádzajú Moor a i. (1985) a Tonetta a i. (1988) podľa preparátu a spôsobu jeho podania. Domnievame sa, že môžu byť závislé od stavu, v akom sú populácie folikulov, a od odpovede na stimuly gonadotropných hormónov.

Literatúra

- ABRAHAM, G. E. — SWERDLOFF, R. — TULCHINSKI, D. — ODELL, W. D.: Radioimmuno assay of plasma progesterone. *V. Clin. Endocrin.*, 32, 1971, s. 619—624.
- ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — STANÍKOVÁ, A.: Vplyv hormonálnej stimulácie na folikulárne populácie ovárií bahnic v estrickom a anestrickom období. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, s. 611—617.
- ARENDARČIK, J. — MOLNÁROVÁ, M. — TOKOŠ, M.: Stimulation of sheep ovaries, production of ova, speed of their displacement and localization in the sexual tract, trypsin inhibiting activity (TIA) in plasma and cervical mucus. *Poľnohospodárstvo*, 29, 1983, č. 12, s. 1092—1103.
- ASHLEY, M. J.: Smoking, Alpha₁-Antitrypsin and decreased fertility in women. *Med. Hypotheses*, 22, 1987, s. 277—285.
- BAGDASARIAN, A. — WHEELER, J. — STEWARD, G. J. — AHMED, S. S. — COLMAN, R. W.: Isolation of alpha₁-protease inhibitor from human normal and malignant ovarian tissue. *J. clin. Invest.*, 67, 1981, s. 281—291.
- BARTÍK, M. — CHAVKO, M. — KASAFÍREK, E.: N-alpha-tosyl-L-arginine-p-nitroanilide as substrate in color test and polarographic test of trypsin. *Clin. chim. Acta*, 56, 1974, s. 23—30.
- DZIATKOWIEC, J. — WARCHOL, A. — REMBIESA, R.: Biosynthesis of estrogens during pregnancy in the rat (biosynteza estrogenów w ciąży w szczura). *Endokryn. pol.*, 33, 1982, s. 169—174.
- HARLOW, C. R. — COOMBS, R. J. — HODGES, J. K. — JENKINS, N.: Modulation of plasminogen activation by glucocorticoid hormones in the rat granulosa cell. *J. Endocrinol.*, 114, 1987, s. 207—212.
- HOTCHKIS, J. — ATKINSON, L. E. — KNOBIL, E.: Time course of serum estrogen and luteinizing hormone (LH) concentration during the menstrual cycle of the rhesus monkey. *Endocrinology*, 89, 1971, s. 177—183.
- ICHIKAWA, S. — MORIOKA, H. — OHTA, M. — ODA, K. — MURAO, S.: Effect of various proteinase inhibitors on ovulation of explanted transfer ovaries. *J. Reprod. Fertil.*, 68, 1983, s. 407—412.
- IMOEDEMHE, D. — SHAW, R. W.: Follicular fluid alpha antitrypsin correlation with fertilizing capacity of oocytes. *Brit. J. Obstet. Gynaecol.*, 93, 1986, s. 863—868.
- LOB, D. K. — DORRINGTON, J. H.: Human granulosa and thecal cells secrete distinct protein profiles. *Fertil. Steril.*, 48, 1987, s. 243—248.
- MARION, G. B. — GIER, H. T. — CHOUDARY, J. B.: Micromorphology of the bovine ovarian follicular system. *J. anim. Sci.*, 27, 1968, s. 451—460.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J.: Zmeny trypsin inhibičných aktivít krvnej plazmy a cervikálneho hlienu oviec po podaní PGF₂ alfa a PMSG v anestri. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, s. 659—668.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J.: Vplyv vitamínu A na trypsin inhibičné aktivity (TIA) krvnej plazmy a cervikálneho hlienu po hormonálnom ovplyvnení ovárií oviec v estrickom období. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988, s. 155—164.
- MOLNÁROVÁ, M. — ARENDARČIK, J. — TOKOŠ, M.: Vplyv PMSG na trypsin inhibičné aktivity (TIA) krvnej plazmy, cervikálneho hlienu a niektoré reprodukčné orgány oviec v anestri. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988, s. 91—100.
- MOOR, R. M. — OSBORN, J. C. — CROSBY, I. M.: Gonadotropin induced abnormalities in sheep oocytes after superovulation. *J. Reprod. Fertil.*, 74, 1985, s. 167—172.
- PRZALA, J. — WIESAK, T. — GRAZUL, A.: Influence of LH, HCG and PRL on steroid release from granulosa cells of early pregnant and pseudopregnant sows. *Endocrin. exp.*, 19, 1986, s. 304—311.
- PRZALA, J. — GRAZUL, A. — WIESAK, T. — MUSZYNSKA, A. — DUSZA, L.: Steroid hormones and prolactin in porcine follicular fluid in estrous cycle and early pregnancy. *Exp. clin. Endocrin.*, 86, 1985, s. 291—296.
- RAHI, H. — SRIVASTAVA, P. N.: Lysosomal hydrolases in reproductive organs during estrous cycle of the hamster. *Gamete Res.*, 10, 1984, s. 57—66.
- REICH, R. — MISKIN, R. — TSAFRIRI, A.: Follicular plasminogen activator involvement in ovulation. *Endocrinology*, 116, 1985a, s. 516—521.

- REICH, R. — TSAFRIRI, A. — MECHANIC, G. L.: The involvement of collagenolysis in ovulation in the rat. *Endocrinology*, 116, 1985b, s. 522—527.
- ROM, E. — REICH, R. — LAUFER, N. — LEWIN, A. — RABINOWITZ, R. — PEVSNER, B. — LANCET, M. — SHENKER, J. G. — MISKIN, R. — ADELMANN-GRILL, B. C. — TSAFRIRI, A.: Follicular fluid contents as predictors of success of *in vitro* fertilization-embryo transfer. *Human Reprod.*, 2, 1987, s. 505-510.
- TRAVIS, J.: Target enzymes for plasma proteinase inhibitors. *Folia histol. cytobiol.*, 24, 1986, s. 117—124.
- TONETTA, S. A. — de VINNA, R. S. — di ZEGERA, G. S.: Effects of follicle regulatory protein on thecal aromatase and 3 beta-hydroxysteroid dehydrogenase activity in medium and large-sized pig follicles. *J. Reprod. Fertil.*, 82, 1988, s. 163-171.
- ZEGERA di, G. S. — MARRS, R. P. — CAMPEAU, J. D. — KLING, O. R.: Human granulosa cell secretion of proteins which suppress follicular response to gonadotropins. *J. clin. Endocrin. Metab.*, 56, 1983, s. 147-155.

Došlo dňa 16. 5. 1988

МОЛНАРОВА, М. — ПРЗАЛА, Я. — АРЕНДАРЧИК, Й. — МОЛНАР, П. (Ветеринарный институт, Кошице; Сельскохозяйственный и технический институт, Олсзтын-Кортово, ПНР): Влияние синхронизации и стимуляции овариев овец на трипсин ингибирующие активности (ТИА) плазмы крови и популяции фолликулов. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (6) : 335-348.

Контроль протеолитических активностей в тканях первично производят плазматическими ингибиторами. Синхронизация течки (агелиновые тампоны влагилица, Галена, Комаров — 20 мг хлорсуперлютина на голову и стимуляция яичников к суперовуляции, различными гормональными препаратами (FSH — Фолистиман, ГДР; PMSG — Антекс Лео, Дания; HCG — Праедын, Спофа) приводит к нарушению равновесия на разных уровнях. Средние значения ингибирующей активности трипсина (ТИА) кровяной плазмы овец после 11-ти дневной синхронизации агелиновыми тампонами увеличили ($P < 0,05$) из $70,8 \pm 17,0\%$ на $84,1 \pm 12,0\%$. После удаления тампонов установили в среднем понижение до исходных значений. В день ожидаемой овуляции значения были выше. Значения ТИА после стимуляции FSH + HCG (I. группа) и PMSG + HCG (II. группа) в противоположность контрольным значениям в течении всего опыта были понижены ($P < 0,1$) на $89,5\%$ и $95,2\%$. После стимуляции PMSG (III. группа) и PMSG + HCG (IV. группа) были повышены ($P < 0,05$) на $111,0\%$ и $107,8\%$. Жидкость фолликулов (0,7—1,4 см) анализированная на содержание стероидных гормонов в фолликулах размеров меньших чем 10 мм показывала соотношение концентраций 17-бета эстрадиола и суммы концентраций прогестерона и андростендиона приблизительно 4—5кратно большие, чем в фолликулах, размер которых больше 10 мм. Соотношение атретических (А) фолликулов и неатретических фолликулов (Н) в категории первичных и вторичных после однократного стимулирования увеличивалось, после двухкратного стимулирования понижалось. В категории фолликулов третьего порядка значительно понизилось представление неатретических фолликулов после одного стимулирования (I. группа) FSH + HCG (A/H = 124). Последующие стимулирование (II. группа) PMSG + HCG данное A/H сигнификантно понизило (A/H = 18,2). Средние количества овуляций были самыми большими $13,0 \pm \pm 4,7$ в первой группе, после однократной стимуляции FSH + HCG.

овуляция; фолликулы; плазматические ингибиторы

MOLNÁROVÁ, J. — PRZALA, J. — ARENDARČIK, J. — MOLNÁR, P. (University of Veterinary Medicine, Košice; Akademia Rolniczo-Techniczna. Olsztyn-Kortowo, Polish People's Republic): The Effect of Synchronization and Stimulation of Ewe Ovaries on the Trypsin Inhibiting Activity (TIA) of the Blood Plasma and Follicular Populations. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (6) : 335-348.

The control of proteolytic activities in tissues is performed first of all by plasma inhibitors. The synchronisation of oestrus (Agelline vaginal tampons, Galena, Komárov — 20 mg chlorsuperlutin per head) and stimulation of ovaries to superovulations by different hormonal preparations (FSH — Folistiman, GDR; PMSG — Antex Leo, Denmark; HCG — Praedyn, Spofa) lead to an imbalance at different levels. The average values of the trypsin inhibiting activity (TIA) in the blood plasma of ewes increased after 11 days of synchronisation by Agelline tampons ($P < 0.05$) from $70.8 \pm 17.0\%$ to $84.1 \pm 12.0\%$. After the removal of tampons a decrease to the starting values was recorded, on the day of the expected ovulation the values were higher. The TIA values decreased to 89.5% after the FSH + HCG (1st group) and PMSG + HCG (2nd group) stimulations compared to control values ($P < 0.1$) for the whole trial and increased to 111.0% and 107.8% ($P < 0.05$) after the PMSG (3rd group) and PMSG + HCG (4th group) stimulations. The follicular fluid of 26 larger follicles (0.7—1.4 cm) was analysed for the contents of steroid hormones; in follicles smaller than 10 mm, the ratio of 17-beta estradiol concentrations and the sum of progesterone and androstendion concentrations was four to five times higher than in the follicles larger than 10 mm. The ratio of atretic (A) and non-atretic (N) follicles increased after a single stimulation in the category of primary and secondary follicles and decreased after a double stimulation. In the category of tertiary follicles the representation of non-atretic follicles decreased significantly after one stimulation (1st group) by FSH + HCG (A/N = 124), the subsequent PMSG + HCG stimulation (2nd group) decreased this A/N ratio significantly (A/N = 18.2). The average number of ovulations was highest (13.0 ± 4.7) in the first group after a single FSH + HCG stimulation.

ovulation; follicles; plasma inhibitors

MOLNÁROVÁ, M. — PRZALA, J. — ARENDARČIK, J. — MOLNÁR, P. (Hochschule für Veterinärmedizin, Košice; Landwirtschaftlich-technische Akademie, Olsztyn-Kortowo, Polen): *Einfluß der Synchronisierung und Stimulierung der Schafovarien auf TIA (Trypsin-Inhibitionsaktivitäten) des Blutplasmas und die Follikelpopulationen*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 335-348.

Die Kontrolle der proteolytischen Aktivitäten im Gewebe wird primär mit Hilfe von plasmatischen Inhibitoren durchgeführt. Die Brunstsynchronisierung (Agelinvaginale Schwämmchen, Galena, Komárov — 20 mg Chlorsuperlutin je Stück) und Stimulierung der Ovarien zu Superovulationen mit unterschiedlichen hormonalen Präparaten (FSH — Folistiman, DDR; PMSG — Antex Leo, Danmark; HCG — Praedyn, Spofa) hat ein Gleichgewicht verschiedenen Niveaus zur Folge. Die durchschnittlichen Werte der Trypsin-Inhibitionsaktivität (TIA) des Schafblutplasmas stiegen nach einer 11-tägigen Synchronisierung mit Agelinschwämmchen von $70,8 \pm 17,0\%$ auf $84,1 \pm 12,0\%$ an ($P < 0,05$). Nach Herausnahme der Schwämmchen verzeichneten wir im Durchschnitt einen Abfall auf ursprüngliche Werte. Am Tage der erwarteten Ovulation waren die Werte höher. Die TIA-Werte nach der Stimulierung mit FSH + HCG (I. Gruppe) und PMSG + HCG (II. Gruppe) waren im Vergleich zu den Kontrollwerten während des gesamten Versuches niedriger ($P < 0,1$) ($89,5\%$ und $95,2\%$), nach der Stimulation mit PMSG (III. Gruppe) und PMSG + HCG (IV. Gruppe) betrugen sie $111,0\%$ und $107,8\%$ ($P < 0,05$). Die folliculäre Flüssigkeit von 26 grösseren Follikeln (0,7—1,4 cm), die auf den Gehalt an steroiden Hormonen analysiert worden war, wies in den Follikeln < 10 mm ein Verhältnis der Konzentrationen von 17-Beta-Östradiol und der Konzentration von Progesteron und Androstendion annähernd 4—5X höher als in den Follikeln > 10 mm auf. Das Verhältnis der atretischen (A) zu den nichtatretischen (N) Follikeln stieg in der Kategorie der primären und sekundären Follikel nach einer einmaligen Stimulierung an, nach einer zweifachen Stimulierung fiel es ab. In der Kategorie der tertiären Follikel fiel die Vertretung der nichtatretischen Follikel nach einer einmaligen Stimulierung (I. Gruppe) mit FSH + HCG (A/N = 124) ab, die nachfolgende Stimulierung (II. Gruppe) mit PMSG + HCG setzte das A/N Ver-

hältnis bedeutend herab ($A/N = 18,2$). Die durchschnittlichen Ovulationszahlen waren in der I. Gruppe nach einer einmaligen Stimulierung mit FSH+HCG am höchsten ($13,0 \pm 4,7$).

Ovulation; Follikel; plasmatische Inhibitoren

Adresy autorov:

Ing. Marie Molnárová, CSc., prof. MVDr. Jozef Arendarčík, DrSc., MVDr. Peter Molnár, Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 041 81 Košice

Prof. dr. habil. Jadwiga Przala, Akademia Rolniczo-Techniczna, Olsztyn-Kortowo, PLR

VÝVOJ CÍRKULUJÍCÍCH PROTILÁTEK U KRÁLÍKŮ PŘI PRIMÁRNÍ EXPERIMENTÁLNÍ INVAZI *STRONGYLOIDES PAPILLOSUS* (WEDL, 1856) Z OVCE

Š. Lukeš, E. Holasová

LUKEŠ, Š. — HOLASOVÁ, E. (Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice): Vývoj cirkulujících protilátek u králíků při primární experimentální invazi *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856) z ovce. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 349-354.

U králíků experimentálně invadovaných různými dávkami larev *Strongyloides papillosus* ovčeho původu (5000 až 100 000) byly specifické protilátky (stanovené metodou ELISA) zjištěny od 11. dne po invazi. Intenzita protilátkové reakce byla individuální a téměř nezávislá na použité invazní dávce. Zvýšená hladina protilátek persistovala do ukončení pokusu 31. den po invazi.

humorální imunitní reakce; dynamika cirkulujících protilátek; metoda ELISA

Rod *Strongyloides* představuje ve veterinární i humánní medicíně závažný parazitologický problém. Ve veterinární medicíně je jeho patogenita výrazná hlavně u mláďat hospodářských zvířat. Mnoho autorů referuje o patogenitě *S. ransomi* u prasat (Ippen, 1953; Stewart aj., 1968 a další), *S. papillosus* u telat a jehňat (např. Buzmakova, 1973), *S. westeri* u hříbat (např. Enigk aj., 1974; Genchi a Malnati, 1976 a další).

Schopnost tohoto rodu přežívat ve formě volně žijící generace ve vnějším prostředí zvyšuje jeho šanci uplatnit se i v měnících se podmínkách současných velkochovů (Kotrlá aj., 1978; Pavlásek, 1981). Jako experimentální modely se často používají *S. ratti* v kryších (Murrell, 1980; Genta aj., 1983) a *S. papillosus* u králíků nebo ovce. Podrobně byly prostudovány otázky antigenní struktury (Sinski, 1975), změny krevního obrazu (Stankiewicz, 1969) a histopatologie (Moczón, 1972). Ani v přirozeném ani v modelovém systému *Strongyloides papillosus*, s výjimkou práce, kterou uveřejnil Geyer (1975), nebyla role humorálních protilátek a jejich dynamika ve vztahu k intenzitě a průběhu invaze hostitele dosud prostudována.

Předkládáme výsledky studia dynamiky tvorby protilátek v závislosti na intenzitě invaze (čtyři stupně) a produkci vajíček v experimentálním systému králík X *Strongyloides papillosus* ovčeho původu.

MATERIÁL A METODY

K pokusu jsme použili králíky plemene činčila velká, o průměrné hmotnosti 2,5 kg (VELAZ, Praha), samice. Králíci byli ustájeni ve skupinách po čtyřech tak, aby bylo možno odebírat vzorky trusu od jednotlivých skupin. Zvířata jsme ozna-

čili individuálně tetováním. Po dobu pokusu byla krmena peletovanou dietou KO 16.

V den 0 jsme všechna pokusná zvířata invadovali subkutánní injekcí suspenze daného počtu larev ve fyziologickém roztoku do kožního záhybu za lopatkou. Použili jsme dávky 5000 larev třetího stadia (skupina P1), dále 10 000, 50 000 a 100 000 larev (skupiny P2, P3 a P4).

Invazní larvy byly připraveny kultivací trusu ovcí experimentálně invadovaných *Strongyloides papillosus*, které slouží jako donoři invazních larev. Larvy jsme purifikovali modifikovanou Baermannovou metodou a propali opakovaně velkým množstvím převařené dechlorované vody, převedli do fyziologického roztoku, stanovili podíl živých larev vykazujících pohyb vpřed a naředěním připravili invazní dávky živých larev. Příprava proběhla bezprostředně před invazí, aby počet živých larev co nejvíce odpovídal stanovené dávce.

Od pokusných zvířat jsme v jednotlivých skupinách odebírali denně vzorek trusu, homogenizovali v rámci skupiny a stanovili počet vajíček v gramu trusu (Wetzel, 1951 — modifikace Zajíček, 1978). Ve 3., 11., 17. a 31. dnu po infekci jsme kardiální punkcí odebrali vzorek krve na stanovení protilátek. Při úhynu během pokusu a po jeho skončení jsme provedli pitvu střeva a ověřili přítomnost adultních červů.

Sérologie: Pro stanovení hladiny protilátek jsme použili metodu ELISA v klasickém uspořádání (Voller aj., 1979) s antigenem připraveným extrakcí somatických antigenů třetího stadia larev po homogenizaci ultrazvukem se skleněnými kuličkami 0,125 mm (MICROSON, 30 W, 3 × 5 minut). Larvy pro přípravu antigenu byly očištěny práním ve velkém nadbytku fyziologického roztoku s antibiotiky k odstranění bakteriální kontaminace.

Antigen jsme purifikovali ultracentrifugací 2 × 30 minut při 15 000 g. Obsah proteinu jsme stanovili biuretovou reakcí a adjustovali pro test na 10 µg proteinu v ml pufru pH 8,6.

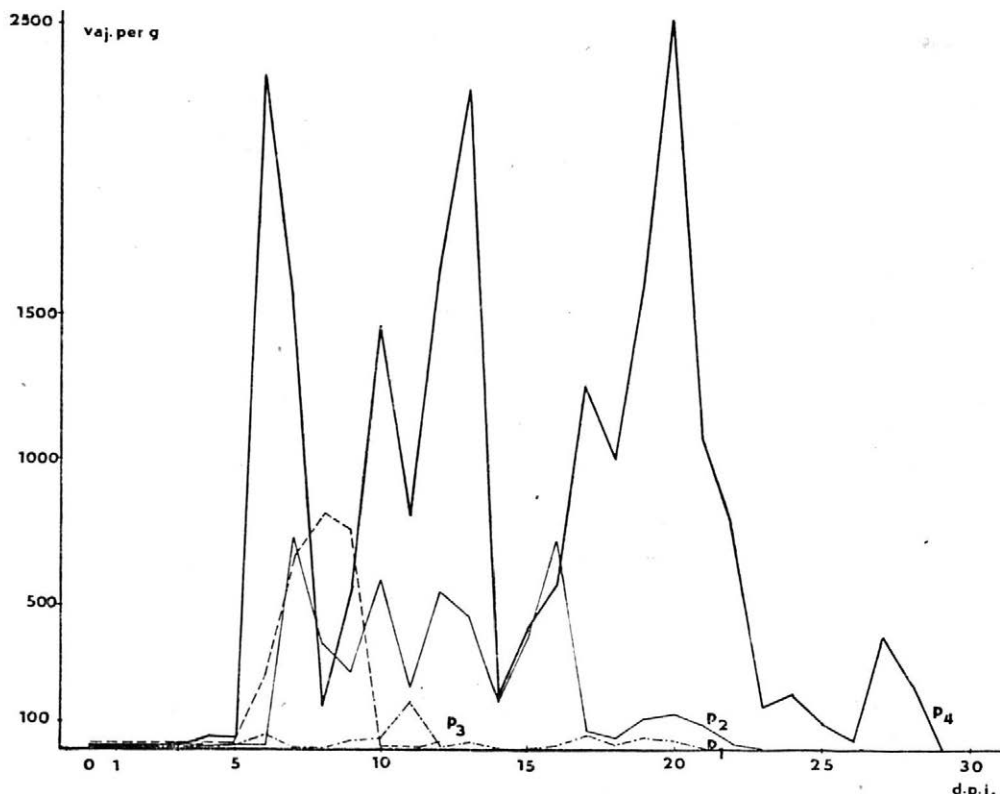
Další parametry testu ELISA: 100 µl antigenu jsme inkubovali dvě hodiny při teplotě 37 °C, přes noc jsme jej uložili v chladniče. Sérum ředěné v poměru 1:100 jsme aplikovali po 50 µl a inkubovali dvě hodiny při teplotě 37 °C. Konjugát SwAR/Px (SEVAC, Praha), ředěný v poměru 1:2000 v PBS-Tween 20, byl aplikován na jednu hodinu při teplotě 37 °C, substrát ortho-fenylendiamin (OPD) 40 mg v 100 ml fosfát-citrátového pufru pH 5,0 s 40 µl peroxidu vodíku (30%) 15 minut při pokojové teplotě; reakce byla zastavena 50 µl kyseliny sírové (c = 2,5 mol.l⁻¹). Výsledek byl odečítán pomocí MR 580 Elisa readeru (Dynatech) připojeného on-line na mikropočítač Apple IIe. Statistické výpočty byly provedeny programem BIOSTAT III pomocí Studentova t-testu.

VÝSLEDKY

U pokusných králíků se po podkožní aplikaci larev vyvinula invaze v různé intenzitě, jak bylo možné sledovat jednak podle produkce vajíček v jednotlivých skupinách (obr. 1), jednak podle produkce specifických protilátek studovaných pomocí testu ELISA (tab. I).

Pokusné skupiny P1, P2 a P4 začaly produkovat vajíčka čtvrtý den po invazi v nízkém počtu (30—40 kusů na gram trusu průměrného vzorku). U skupiny P3 (invadované 50 000 larvami) se objevila ojedinělá vajíčka již třetí den po invazi. Od pátého dne po invazi jejich počet narůstal ve všech skupinách, maximální koncentrace vajíček byla ve skupině P4 (100 000 larev). V této skupině se počet pohyboval mezi 40 až 2520 vajíčky na gram trusu.

Skupina P3 (50 000) měla po celou dobu pokusu produkci vajíček nižší (3—804 na gram trusu), než by odpovídalo předpokládané intenzitě invaze. Ve skupině P1 (invadovaná dávkou 5000 larev) kolísala počet vajíček mezi 3 až 166 kusy v gramu trusu, ve skupině P2 mezi 5 až 734 kusy. Jak je patrné z obr. 1, produkce vajíček ve skupině P3 končila po deseti dnech, ve skupinách P2 a P1 po 21 až 22 dnech a ve skupině P4 po 30 dnech.



1. Průběh vylučování vajíček *Strongyloides papillosus* u pokusných králíků — The curve of elimination of *Strongyloides papillosus* ova in experimental rabbits

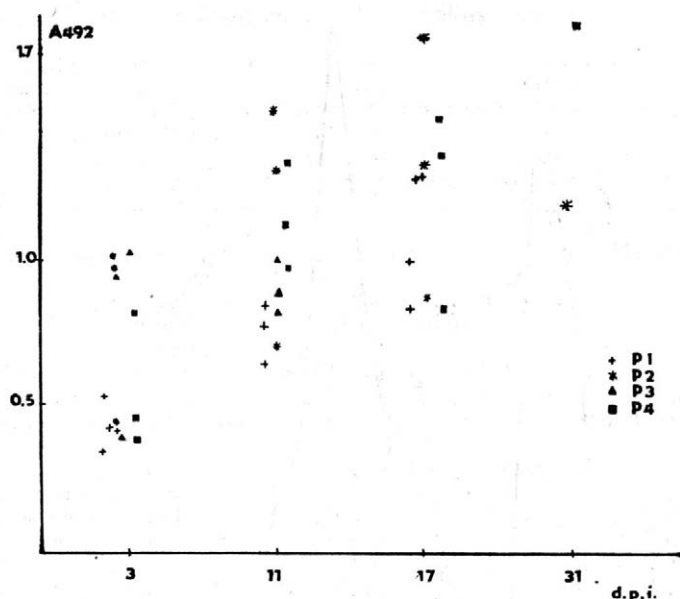
I. Průměrné hodnoty absorbance v jednotlivých skupinách pokusných králíků testovaných metodou ELISA (A 492) — Average absorbance values in the groups of experimental rabbits subjected to ELISA procedure (A 492)

Skupina	Dny po infekci			
	3	11	17	31
P1	0,425	0,749	1,092	NT
P2	0,822	1,169	1,309	1,191
P3	0,870	0,901	NT	NT
P4	0,547	1,138	1,217	1,879

kontrola: průměr 0,364

Pozn.: NT = netestováno

Ve skupině P3 uhynuli po 14 dnech pokusu dva králíci s příznaky prudkého zánětu tenkého střeva, s prosáklou sliznicí a se ztenčením střevní stěny. Zvířata byla tři dny před úhynem vyhublá a bez zájmu o příjem potravy. Při pitvě tenkého střeva bylo v obou zvířatech nalezeno přes 50 adultních samic *Strongyloides papillosus*.



2. Diskrétní hodnoty testu ELISA u jednotlivých králíků po invazi *Strongyloides papillosus* — Discrete values of ELISA procedure in the rabbits after infection by *Strongyloides papillosus*

Sérologické nálezy: Zvířata jsme 3., 11., 17. a 31. den po invazi vyšetřili pomocí imunoenzymatického testu na přítomnost protilátek proti *Strongyloides papillosus*. Pro nedostatek antigenního materiálu jsme museli použít hrubý, nepurifikovaný antigen, připravený z larv třetího stadia z kultury. Hladina protilátek, vyjádřená jako absorbance při 492 nm (pro OPD jako substrát reakce), je vyčíslena v tab. I. Je patrné, že třetí den po invazi nebyl rozdíl mezi kontrolou a ani jednou ze skupin statisticky významný.

Porovnání kontrolních odběrů s odběry od pokusných zvířat třetí den po invazi ukazuje, že rozdíl téměř není stanovitelný a mírné zvýšení hladiny protilátek je nutné přičíst nespecifické reakci dané použitým antigenem.

Teprve po 11. dnu se objevilo statisticky významné zvýšení absorbance, a to ve všech skupinách: P2 na hladině $P < 0,01$, v ostatních na hladině $P < 0,05$, 17. a 31. den po invazi bylo zvýšení absorbance významné ve všech skupinách. Distribuci diskretních hodnot u jednotlivých pokusných zvířat demonstruje obr. 2. Z obrázku je patrné, že hladina protilátek zjištěná testem ELISA je výrazně závislá na čase po infekci, je však velmi individuální a téměř není ovlivněna v jednotlivých případech intenzitou invaze, resp. velikostí invazní dávky. Hladina protilátek stoupá do konce pokusu a je pravděpodobné, že delší dobu přetrvává na zvýšené úrovni i později. V každém případě přesahuje dobu produkce vajíček.

DISKUSE

Pokus s primární invazí králíků larvami *Strongyloides papillosus* z ovcí prokázal, že migrace larev indukuje tvorbu protilátek cirkulujících v krevním oběhu zjištěných metodou ELISA od 11. dne. Tyto protilátky přetrvávají i v době, kdy adultní samice přestaly vajíčka produkovat. Dynamiku tvorby protilátek se pokusil prostudovat Geyer (1965)

ve stejném modelovém systému. K detekci protilátek použil precipitační reakci, kterou prokázal protilátky osmý den po invazi. V experimentálním systému *Strongyloides ratti* — krysa, zjistili Genta aj. (1983) signifikantní zvýšení hodnot testu ELISA mezi 12. až 20. dnem a návrat k normálním hodnotám po 80 až 150 dnech. Reinvaze titry protilátek výrazně zvýšila.

Murrell (1980, 1981) prokázal přenosem imunního séra u krys význam protilátek pro rezistenci proti invazi larvami *Strongyloides ratti*. Separací imunoglobulinů prokázal protektivní aktivitu v IgG frakci séra. To později potvrdili i Dawkins a Grove (1981) u myši invadovaných *S. ratti*. Podrobnější studium protilátkové imunity u ovcí a telat při invazi *S. papillosus* chybí. Lukeš aj. (1987) se zabývali významem jednotlivých antigenů pro iniciaci protilátkové odpovědi u králíků invadovaných *S. papillosus*.

Komplexní studium imunoreaktivity po invazi *S. papillosus* u modelového hostitele je nezbytným předpokladem pro možnost dalšího studia imunoprofylaktických zásahů u přirozených hostitelů *S. papillosus*.

Poděkování

Autoři děkují s. H. Mazákové a M. Kreimové za technickou pomoc a pracovním vivaria ES PaŮ za péči o pokusná zvířata.

Literatura

- BUZMAKOVA, R. A.: Patologičeskije izmenenija v legkich ovec po primarnoj infekcii *Strongyloides papillosus*. Tr. Vsesojuz. Nauč. Konf. Patol. Anatom., Tbilisi, 1973, s. 18—22.
- DAWKINS, H. J. S. — GROVE, D. I.: Kinetics of primary and secondary infections with *Strongyloides ratti* in mice. Int. J. Parasit., 1981, s. 89—96.
- ENIGK, K. — DEY-HAZRA, A. — BATKE, J.: Zur klinischen Bedeutung und Behandlung des gallaktogen erworbenen *Strongyloides*-Befalls der Fohlen. Dtsch. tierärztl. Wschr., 81, 1974, s. 605-607.
- GENCHI, C. — MALNATI, G.: Natural milk-borne transmission of *Strongyloides westeri* from mares to foals. Parasitologia, 18, 1976, s. 41—44.
- GENTA, R. M. — OTTESEN, E. A. — GAM, A. A. — NEVA, F. A.: Immunologic responses to experimental strongyloidiasis in rats. Z. Parasitenkunde, 1983, s. 667-675.
- GEYER, E.: Pathologie und Immunität bei der Strongyloidiasis des Kaninchens. Z. Parasitenkunde, 25, 1965, s. 240-243.
- IPPEN, R.: Zur Pathogenität des *Strongyloides ransomi* unter besonderer Berücksichtigung seines Sitzes in der Schleimhaut der Darmwand. Arch. exp. Veter.-Med., 7, 1953, s. 36-57.
- KOTRLÁ, B. — PAVLÁSEK, I. — BÍLÝ, S.: Helmintózy v nově zavedených velkochovech skotu. Veter. Med. (Praha), 23, 1978, s. 321-326.
- LUKEŠ, S. — HOLASOVÁ, E. — KOPÁČEK, P.: Antigeny v průběhu experimentální strongyloidózy. (Abstrakt.) In: Aktuálne otázky humánnej parazitológie, Bratislava, 11.—12. 6. 1987 (v tisku).
- MOCZON, T.: Histopathological investigations on strongyloidosis in rabbits. Acta parasit. pol., 20, 1972, s. 113-132.
- MURRELL, K. D.: Immunology of strongyloidiasis: *Strongyloides ratti* as a model for pig *S. ransomi* infections. In: Proc. Congr. Internat. Pig Veter. Soc., Copenhagen, Denmark, 1980. 297 s.
- MURRELL, K. D.: Protective role of immunoglobulin G in immunity to *Strongyloides ratti*. J. Parasit., 67, 1981, s. 167-173.
- PAVLÁSEK, I.: Výskyt helmintů u telat ve velkokapacitním teletníku. Veter. Med. (Praha), 26, 1981, s. 7-16.
- SINSKI, E.: Immunodiffusion and electrophoretic analysis of antigens from *Strongyloides papillosus*. Bull. Acad. Pol. Sci., Sér. Sci. biol., 23, 1975, s. 199-202.

STANKIEWICZ, M.: Studies on immunity in experimental strongyloidiasis in sheep. II. Differential leukocyte during successive infections. Acta parasit. pol., 17, 1969, s. 161-173.

STEWART, T. B. — SCHROEDER, W. F. — SHALKOT, W. T. — STONE, W. M.: Strongyloidosis: natural infection of suckling pigs with *Strongyloides ransomi*. Veter. Med., 63, 1968, s. 1145-1150.

VOLLER, A. — BIDWELL, D. E. — BARTLETT, A.: The enzyme linked immunosorbent assay (ELISA). A guide with abstracts of microplate applications. Dynatech Europe, Guernsey, G. B., 1979. 125 s.

ZAJÍČEK, D.: Srovnání efektivnosti dvou kvantitativních ovoskopických metod. Veter. Med. (Praha), 23, 1978, s. 275-282.

Došlo dne 9. 12. 1987

ЛУКЕШ, Ш. — ГОЛАСОВА, Е. (Паразитологический институт ЧСАН, Ческе Будейовице): Развитие циркулирующих антител у кроликов при первичном экспериментальном нападении *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856). Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 349-354.

У кроликов экспериментально заражаемых разными дозами личинок *Strongyloides papillosus* овечьего происхождения (5000—100 000) были специфические антитела (определенные методом ЭЛИСА) установлены после 11 суток нападения. Интенсивность реакции антител была индивидуальной и почти независима от использованной дозы заражения. Повышенный уровень антител продолжался до окончания исследования на 31 сутки после заражения.

гуморальная иммунитетная реакция; динамика циркулирующих антител; метод ЭЛИСА

LUKEŠ, Š. — HOLASOVÁ, E. (Institute of Parasitology, Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice): Development of Circulating Antibodies in Rabbits during Primary Experimental Infection by *Strongyloides papillosus* (Wendl, 1856) of Ovine Origin. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 349-354.

In rabbits experimentally infected by larvae of *Strongyloides papillosus* of ovine origin (various doses of 5000—100 000 larvae) specific antibodies (detected by ELISA procedure) were found since the 11th day after infection. The intensity of antibody reaction was individual and almost independent of the infection dose. The increased concentration of antibodies persisted until termination of the experiment 31st day after infection.

humoral immunity reaction; dynamics of circulating antibodies; ELISA procedure

LUKEŠ, Š. — HOLASOVÁ, E. (Parasitologisches Institut der Tschechoslowakischen Akademie der Wissenschaften, České Budějovice): Entwicklung zirkulierender Antikörper bei Kaninchen bei primärer experimenteller Invasion von *Strongyloides papillosus* (Wedl, 1856) aus Schafen. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 349-354.

Bei durch verschiedene Dosen von Larven des vom Schaf stammenden *Strongyloides papillosus* (5000 bis 100 000 Larven) wurden mit Hilfe der ELISA-Methode bestimmte, spezifische Antikörper vom 11. Tag nach der Invasion an, festgestellt. Die Intensität der Antikörperreaktion war individuell und von der angewandten Invasionosis nahezu unabhängig. Ein erhöhter Antikörperspiegel persistierte bis zur Beendigung des Versuchs am 31. Tag nach der Invasion.

humorale Immunitätsreaktion; Dynamik zirkulierender Antikörper; ELISA-Methode

Adresa autorů:

Ing. Štěpán Lukeš, CSc., RNDr. Eva Holasová, Parazitologický ústav ČSAV, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice

VPLYV SEKRÉTU SEMENNÝCH VAČKOV NA NIEKTORÉ KVALITATÍVNE UKAZOVATELE EJAKULÁTU SAMCOV NUTRIÍ

I. Jakubička, M. Barta

JAKUBIČKA, I. — BARTA, M. (Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra): *Vplyv sekreту semenných vačkov na niektoré kvalitatívne ukazovatele ejakulátu samcov nutrií*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 355-360.

Sledovali sme niektoré kvalitatívne ukazovatele ejakulátu samcov nutrií získaného metódou elektroejakulácie v halothanovej narkóze. Uskutočnilo sa 64 odberov ejakulátu od piatich samcov, ktorým boli exstirpované semenné vačky s týmito priemernými hodnotami: objem $0,87 \pm 0,45$ ml, pohyblivosť spermií $79,06 \pm 1,25$ % a pH $6,81 \pm 0,03$. Ďalej bolo získaných 100 odberov od piatich intaktných samcov s priemernými hodnotami: objem $1,18 \pm 0,05$ ml, pohyblivosť spermií $76,9 \pm 1,31$ % a pH $6,89 \pm 0,01$. Špecifickou vlastnosťou ejakulátu samcov nutrií je jeho rýchla koagulácia. Ejakuláty získané od chirurgicky ošetrovaných samcov mali v porovnaní s ejakulátmi intaktných samcov objem menší a koagulovali pomalšie, avšak exstirpácia semenných vačkov koagulácii nezabránila.

elektroejakulácia; exstirpácia; koagulácia

Sledovali sme niektoré kvalitatívne ukazovatele ejakulátu samcov nutrií získaného metódou elektroejakulácie v halothanovej narkóze. Uskutočnilo sa 64 odberov ejakulátu od piatich samcov. Semenné vačky exstirpované týmto samcom mali tieto priemerné hodnoty: objem $0,87 \pm 0,45$ ml, pohyblivosť spermií $79,06 \pm 1,25$ % a pH $6,81 \pm 0,03$. Ďalej bolo získaných 100 odberov od piatich intaktných samcov; priemerné hodnoty z týchto odberov boli: objem $1,18 \pm 0,05$ ml, pohyblivosť spermií $76,9 \pm 1,31$ % a pH $6,89 \pm 0,01$. Špecifickou vlastnosťou ejakulátu samcov nutrií je jeho rýchla koagulácia. Ejakuláty získané od chirurgicky ošetrovaných samcov mali v porovnaní s ejakulátmi intaktných samcov menší objem a koagulovali pomalšie, avšak exstirpácia semenných vačkov koagulácii nezabránila.

Semenó cicavcov je ejakulované prevažne v tekutej forme. U niektorých druhov (býk, pes, lišiak) ostáva tekuté, zatiaľ čo u iných druhov (myš, krysa, morča) sa podrobuje rýchlemu procesu koagulácie.

Koagulácia ejakulátu je typickou a špecifickou vlastnosťou ejakulátu niektorých živočíšnych druhov (H a d e k, 1977). Hlavný podiel na vytvorení koagulátu majú sekrety prídavných pohlavných žliaz, ktoré sa prechodne formujú do vaginálnej zátky (Parkes, 1926; Scott a Dziuk, 1959; Snyder, 1966; Pang a i., 1979). Do určitej miery koaguluje aj ejakulát mužov. ten však asi po 15 minútach — pravdepodobne účinkom proteolytických enzýmov — nadobúda tekutú formu.

Koagulácia ejakulátu je považovaná za vlastnosť semennej plazmy a je pravdepodobne spôsobená interakciou medzi bielkovinovým substrátom vylučovaným semennými vačkami a katalytickým faktorom, ktorý nie je prítomný samostatne, ale prichádza do styku s koagulačným proteínom v priebehu ejakulácie (Mann a Lutwak — Mann, 1951).

Koagulácia ejakulátu je spôsobená sekrétnymi prídavných pohlavných žliaz. Bolo preto uskutočnených veľa experimentov s cieľom zabrániť uvedenému javu (Scott a Dziuk, 1959; Birnbaum a Hall, 1961; Lawson a Sorenson, 1964; Snyder, 1966; Pang a i., 1979).

U nutrií, podobne ako u niektorých ďalších hlodavcov (Birnbaum a Hall, 1961; Snyder, 1966; Anderson a i., 1983), ejakulát pri získavaní elektrickou stimuláciou koaguluje (Barta a Jakubička, 1983) bezprostredne po odbere a vytvára kompaktnú elastickú hmotu. Táto hmota čiastočne zabraňuje ďalšej manipulácii s ejakulátom. Preto naším cieľom bolo exstirpáciou semenných vačkov spomínanému javu zabrániť a charakterizovať ejakulát nutrií.

MATERIÁL A METÓDY

Sledovania sme uskutočnili na piatich intaktných (kontrolná skupina) a na ôsmich chirurgicky ošetrovaných (pokusná skupina) pohlavne dospelých samcov nutrií. U pokusnej skupiny sme samcom odstránili semenné vačky v blízkosti výustenia semenovodu. Po chirurgickom zákroku boli samci ustajnení v individuálnych klietkach s kŕmením *ad libitum*. Po dvoch mesiacoch (období, ktoré zabezpečovalo regeneráciu celého organizmu) sme náhodne vybrali a zabili troch samcov, aby sme zistili, či nedochádza k regenerácii exstirpovaných žliaz.

Ejakulát sme získavali dvakrát týždenne počas dvoch mesiacov (máj, jún) metódou elektroejakulácie v halothanovej narkóze, ktorú popísal Barta (1982), a bezprostredne po odbere sme hodnotili na základe kvalitatívnych a kvantitatívnych ukazovateľov, ktoré uviedli Gamčík a Kozumplík (1976).

Základné ukazovatele ejakulátu sme charakterizovali základnými variačno-štatistickými parametrami ($\bar{x}$, s , $s\bar{x}$, v). Pre porovnanie rozdielov medzi skupinami sme použili Studentov t -test stredných hodnôt.

VÝSLEDKY

Ejakulát samcov nutrií, získaný metódou elektroejakulácie v halothanovej narkóze, je mliečnej až sivobielej farby, pričom farba ejakulátu závisí od koncentrácie spermií a množstva sekrétov prídavných pohlavných žliaz. V priebehu ejakulácie je ejakulát polotekutý, v priebehu dvoch až troch minút koaguluje. Rýchlosť koagulácie ejakulátu je závislá od množstva sekrétov prídavných pohlavných žliaz.

Ako vyplýva z tab. I, v objeme ejakulátu je vysoko významný rozdiel v prospech intaktných samcov. Túto skutočnosť si možno vysvetliť tým, že sekrét semenných vačkov sa značne podieľa na objeme ejakulátu nutrií, nakoľko u samcov po exstirpácii semenných vačkov sa objem ejakulátu výrazne znížil.

Hustoty ejakulátov sme určovali mikroskopicky odhadom podľa hustoty spermií, podľa ich vzájomného uloženia a podľa intenzity ich vlnitého pohybu, nakoľko sme pri riešení problematiky zistili, že špeci-

I. Základné variačno-štatistické ukazovatele ejakulátu samcov nutrií — Basic variation-statistical characteristics of male coypu ejaculate

Ukazovateľ	Intaktní (n = 100)				Chirurgicky ošetrení (n = 64)				d	t
	$\bar{x}$	s	s $\bar{x}$	v %	$\bar{x}$	s	s $\bar{x}$	v %		
Objem ejakulátu [ml]	1,18	0,52	0,05	44,64	0,87	0,36	0,45	41,53	0,31	4,535 ⁺⁺
Pohyblivosť spermii [%]	76,95	13,14	1,31	17,06	79,06	10,03	12,69	12,69	-2,11	1,162 ⁻
pH ejakulátu	6,89	0,17	0,01	2,55	6,81	0,28	4,06	0,08	0,08	0,015 ⁻

$$t_{0,05}(164) = 1,975$$

$$t_{0,01}(164) = 2,607$$

II. Hodnotenie hustoty ejakulátov nutrií odhadom podľa mikroskopického nálezu — Evaluation of coypu ejaculate density by estimation from a microscopic finding

Stupeň hustoty	Intaktní (n = 100)		Chirurgicky ošetrení (n = 64)	
	počet	%	počet	%
Veľmi hustý	21	21,0	25	39,06
Hustý	30	30,0	18	28,12
Stredne hustý	16	16,0	10	15,63
Riedky	20	20,0	7	10,94
Veľmi riedky	13	13,0	4	6,25

fickou vlastnosťou ejakulátu samcov nutrií je jeho rýchla koagulácia. Táto koagulácia neumožňuje nasávať spermu do kapiláry melanžéra a určiť presný počet spermii hemocytometrom v Bürkerovej komôrke. Hustotu získaných ejakulátov a ich percentuálne zastúpenie uvádzame v tab. II.

Pri riešení problematiky sme zistili, že pri napätí 3 V dochádza k erekčnému reflexu spolu so sekréciou prídavných pohlavných žliaz. Výlučky sú priehľadné a spermie obsahujú len ojedinele. Preto je potrebné v odbere spermy pokračovať zvyšovaním napätia elektrického prúdu postupne o 1 V. Napätie potrebné na dosiahnutie ejakulačného reflexu sa pohybuje od 5 do 12 V a je individuálnou vlastnosťou jednotlivých samcov. Ejakulácia prebieha po kvapkách podľa rytmu dráždenia a k úplnej ejakulácii treba 8 až 12 impulzov.

DISKUSIA

O kvalitatívnych ukazovateľoch a fyzikálno-chemických vlastnostiach ejakulátu samcov nutrií sme v dostupných literárnych prameňoch nezískali žiadne informácie. Gamčík a Kozumplík (1976) uvádzajú, že jedna z možností, ako ejakulát od samcov nutrií získať, je me-

tóda elektroejakulácie. Uvedení autori však neuvádzajú ani metodický postup získania ejakulátu, ani základné hodnoty získaného ejakulátu.

Podobne ako Birnbaum a Hall (1961), Snyder (1966) a Anderson (1983) sme zistili, že všeobecne vyššie napätie elektrického prúdu ako 5 V spôsobuje koaguláciu ejakulátu, zatiaľ čo nižšie napätie tento jav spôsobovať nemusí. Treba však podotknúť, že pri napätí nižšom ako 5 V sme získali riedke ejakuláty, s minimálnym počtom spermíí.

Výsledky našej práce sú v súlade s výsledkami autorov Scott a Dziuk (1959). Títo autori zistili, že pri zvýšení napätia nad 5 V dochádza u krýs pri elektroejakulácii ku koagulácii ejakulátu, spermie sa čiastočne alebo úplne vyskytujú v koagulate a ich pohyblivosť je do značnej miery obmedzovaná hustým prostredím semennej plazmy.

Funkcia sekrečov jednotlivých prídavných žliaz samcov nutrií v procese oplodnenia nie je dostatočne známa. Podobne ako Pang a i. (1979) sme zistili, že sekrecia semenných váčkov nutrií, podobne ako u krýs a myší, značne ovplyvňuje nielen objem ejakulátu, ale najmä koncentráciu spermíí.

Napriek tomu, že sme semenné váčky exstirpovali v blízkosti vyústenia semenovodov a tie neregenerovali, pri zvýšení napätia nad 5 V ejakulát opätovne koaguloval. Treba však poznamenať, že úplné odstránenie semenných váčkov bez poškodenia semenovodov nie je možné.

Koagulácia ejakulátu samcov nutrií nie je spôsobená koagulačnou žľazou ako u myší, krýs a morčiat (Birnbaum a Hall, 1961; Lawson a Sorenson, 1964; Nejedly, 1967; Ventura a i., 1970). Kulíšek a i. (1988) makroskopicky na prídavných pohlavných žľazách ani na sérii mikroskopických rezov prostaty koagulačnú žľazu neidentifikovali.

Literatúra

- ANDERSON, R. A. — OSWALD, C. Jr. — WILLIS, B. R. — ZANEVELD, L. J. D.: Relationship between semen characteristics and fertility in electroejaculated mice. *J. Reprod. Fertil.*, 68, 1983, s. 1—7.
- BARTA, M.: Možnosti využitia usmerňovanej reprodukcie v chove nutrií. In: Zborník prednášok X. odborného seminára pre chovateľov kožušinových zvierat. Hradec Králové, ČSVTS Pardubice 1982, s. 108—110.
- BARTA, M. — JAKUBIČKA, I.: Technika odberu ejakulátu u nutrií a jeho hodnotenie. [Priebežná správa.] Nitra, Výskumný ústav živočíšnej výroby 1983. 22 s.
- BIRNBAUM, D. — HALL, T.: An ejaculation technique for rats. *Anat. Rec.*, 140, 1961, s. 49—50.
- GAMČÍK, P. — KOZUMPLÍK, J.: Umelá inseminácia a andrológia hospodárskych zvierat. Bratislava, Príroda 1976. 344 s.
- HADEK, R.: The vaginal plug. In: *Mammalian fertilization*. New York, Academic Press 1969, s. 59—89.
- KULÍŠEK, V. — BARTA, M. — JAKUBIČKA, I. — ZÁVODNÝ, L. — ZEMANOVIČ, I.: Anatomický opis samčej pohlavnej sústavy nutrií (*Myocastor coypus*). *Polnohospodárstvo*, 34, 1988, č. 8, s. 747—753.
- LAWSON, R. L. — SORENSON, A. M.: Ablation of the coagulating gland and subsequent breeding in the albino rat. *J. Reprod. Fertil.*, 8, 1964, s. 415—417.
- MANN, T.: The biochemistry of semen and of the male reproductive tract. London, Methuen 1954, s. 37—170.
- MANN, T. — LUTWAK-MANN, C.: Secretory function of male accessory organs of reproduction in mammals. *Physiol. Rev.*, 195, 1951, s. 27—55.

NEJEDLÝ, K.: Biologie a soustavná anatomie laboratorních zvířat. Praha, SPN 1968, 636 s.

PANG, S. F. — CHOW, P. H. — WONG, T. M.: The role of seminal vesicle coagulation glands, and prostate glands on the fertility and fecundity of mice. J. Reprod. Fert., 56, 1979, s. 129-132.

PARKES, A. S.: Observation on the oestrus of the albino mouse. Proc. Roy. Soc., Ser. B, 100, 1926, s. 151-197.

SCOTT, J. V. — DZIUK, P. J.: Evaluation of the electroejaculation technique and the spermatozoa thus obtained from rats, mice and guinea pigs. Anat. Rec., 133, 1959, s. 655-664.

SNYDER, R. L.: Collection of mouse semen by electroejaculation. Anat. Rec., 155, 1966, s. 11-14.

VENTURA, W. P. — FREUND, M. — KNAPP, F.: Motility of the vagina and body and horns in the guinea pig. Fertil. Steril., 19, 1970, s. 462-474.

Došlo dňa 27. 4. 1988

ЯКУБИЧКА, И. — БАРТА, М. (Научно-исследовательский институт животноводства, Нитра): Влияние выделения семенных пузырьков на некоторые качественные показатели эякулята самцов нутрий. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 355-360.

Изучали некоторые качественные показатели эякулята самцов нутрий полученного методом электроэякуляции в галотанновом наркозе. Произвели 64 отборов эякулята пяти самцов, которым удалили семенные пузырьки с данными средними значениями: объем $0,87 \pm 0,45$ мл, подвижность спермиев $79,06 \pm 1,25\%$ и pH $6,81 \pm 0,03$. Далее получили 100 отборов от пяти интактных самцов со средними значениями: объем $1,18 \pm 0,05$ мл, подвижность спермиев $76,9 \pm 1,31\%$ и pH $6,89 \pm 0,01$. Специфическим свойством эякулята самцов нутрий является его быстрая коагуляция. Эякуляты полученные от хирургически обработанных самцов имели в сравнении с эякулятами не обработанных самцов более меньший объем и коагулировали более медленно, однако удаление семенных пузырьков коагуляции не препятствовало.

электроэякуляция; удаление; коагуляция

JAKUBIČKA, I. — BARTA, M. (Research Institute of Animal Production, Nitra): *The Influence of Seminal Vesicles Secretion on some Qualitative Characteristics of Male Coypu Ejaculate*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 355-360.

Some qualitative characteristics of male coypu ejaculate were investigated; the ejaculate was recovered by the method of electro-ejaculation in halothane narcosis. Sixty-four ejaculate samples were taken from five male coypus with extirpated seminal vesicles; the ejaculate had these average values: semen volume 0.87 ± 0.45 ml, sperm motility $79.06 \pm 1.25\%$ and pH 6.81 ± 0.03 . 100 ejaculate samples were recovered from five intact males; their average values were as follows: semen volume 1.18 ± 0.05 ml, sperm motility $76.9 \pm 1.31\%$ and pH 6.89 ± 0.01 . Rapid coagulation is a specific property of the male coypu ejaculate. The ejaculates recovered from surgically treated males had smaller volume and coagulated more slowly, in comparison with the ejaculates of intact males; the extirpation of seminal vesicles did not stop coagulation.

electro-ejaculation; extirpation; coagulation

JAKUBIČKA, I. — BARTA, M. (Forschungsinstitut für Tierproduktion, Nitra): *Einfluss des Samenblasensekrets auf einige qualitative Parameter des Ejakulats der Sumpfbiber- (Nutria-) böcke*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 355-360.

Wir untersuchten einige qualitative Parameter des mittels der Methode der Elektroejakulation in Halothannarkose gewonnenen Ejakulats von Nutriaböcken. Es wurden 64 Ejakulatentnahmen von fünf Böcken, denen Samenblasen exstirpiert wurden, durchgeführt u. zw. mit folgenden Mittelwerten: Volumen $0,87 \pm 0,45$ ml, Spermienbeweglichkeit $79,06 \pm 1,25\%$, pH $6,81 \pm 0,03$. Ferner wurden 100 Entnahmen

von unbehandelten Böcken gewonnen, mit folgenden Mittelwerten: Volumen $1,18 \pm 0,05$ ml, Spermienbeweglichkeit $76,9 \pm 1,31$ %, pH $6,89 \pm 0,01$. Eine spezifische Eigenschaft des Ejakulats der Nutriaböcke ist dessen rasche Koagulation. Die von den chirurgisch behandelten Böcken gewonnenen Ejakulate hatten im Vergleich mit dem der intakten Böcke ein geringeres Volumen und koagulierten langsamer, die Exstirpation der Samenblasen vermochte jedoch die Koagulation nicht abzuwenden.

Elektroejakulation; Exstirpation; Koagulation

Adresa autorov:

Ing. Ivor Jakubička, CSc., ing. Milan Barta, Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra

UTILIZÁCIA BIELKOVÍN A VYSOKÝ PRÍJEM TUKOV A SACHARIDOV U POTKANOV VO VEKU 30 AŽ 150 DNÍ

M. Krajčovičová-Kudláčková, O. Dibák

KRAJČOVIČOVÁ-KUDLÁČKOVÁ, M. — DIBÁK, O. (Výskumný ústav výživy ľudu, Bratislava): *Utilizácia bielkovín a vysoký príjem tukov a sacharidov u potkanov vo veku 30 až 150 dní*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 361-370.

Potkanom-samcom sa od veku 30 dní do veku 150 dní podávala *ad libitum* optimálna potrava so zmenou hodnôt živín postupne podľa veku, ďalej potrava vysokotuková (VT) s obsahom tukov 45 až 30 % a vysokosacharidová (VS), ktorá obsahovala 50—70 % sacharidov. Z hodnôt telového dusíka a príjmu dusíka potravou sme stanovili čistú proteínovú utilizáciu NPU, hodnoty telového tuku a špecifickú aktivitu fosfoenolpyruvátkarboxykinázy PEPCK a glukózo-6-fosfátdehydrogenázy G-6-PDH v pečeni. Regresné rovnice závislosti hmotnosti a veku od optimálnej potravy zaraďujú vek 30 až 60 dní do obdobia prudkého rastu — prebieha výstavba organizmu (6,73 g na deň), 75 až 105-dňové zvieratá mali denný prírastok 2,88 g a v tretej etape, vo veku 120 až 150 dní (0,53 g na deň — dospievanie) končí vývoj a nastupuje obdobie nižších potrieb bielkovín na údržbu organizmu. Podľa tohto hodnoty NPU postupne s vekom klesajú vzhľadom na etapy intenzity rastu. Zvýšená aktivita C-6-PDH v pečeni zvierat na VS potrave koreluje so zvýšenými hodnotami telového tuku a hmotnosti. Zvýšená aktivita PEPCK u VT potravy spolu s významne zníženými hodnotami NPU poukazuje na výrazný negatívny účinok vysokého príjmu tukov na metabolizmus bielkovín. Zníženie NPU u VS potravy je polovičné vzhľadom na VT potravu.

optimálna, vysokotuková, vysokosacharidová potrava; čistá proteínová utilizácia; lipogenéza; glukoneogenéza; vek

Je známa zmena pomeru medzi novotvorbou telových bielkovín a procesmi údržby vzhľadom na vek (Bressani a i., 1973; FAO/WHO, 1973; FAO/WHO/UNO, 1985; Krajčovičová — Kudláčková a Dibák, 1986).

Zaujímalo nás, ako sa tento pomer bude meniť vzhľadom na nepretržité podávanie nami jednotlivo pre každý vek zistených optimálnych dávok živín po dobu 30 až 150 dní veku laboratórneho potkana. Okrem overenia optimálnych dávok živín sme sledovali vplyv vysokého príjmu tukov a sacharidov na metabolizmus bielkovín dlhodobejší než 24 dní (Krajčovičová — Kudláčková a Dibák, 1985). Sledovali sme hodnoty čistej proteínovej utilizácie spolu s procesom glukoneogenézy v pečeni a parametrami metabolizmu tukov (aktivita glukózo-6-fosfátdehydrogenázy, telový tuk).

MATERIÁL A METÓDY

Potkanom-samcom o hmotnosti $60,3 \pm 2,0$ g, kmeň Wistar, hneď po odstavení (z chovnej stanice Velaz Praha) sme podávali do 150. dňa potravu s optimálnym

zložením živín a ďalej potravu vysokotukovú a vysokosacharidovú (tab. I). Strava sa menila s vekom tak, ako bolo určené prv pre jednotlivé vekové kategórie v našich experimentoch a ako sme stanovili extrapoláciou pre vekové kategórie, u ktorých sme obsah živín v potrave priamo nezistovali. (Použité skratky: OPT — optimálna potrava, VT — vysokotuková potrava, VS — vysokosacharidová potrava. Od 30 do 45 dní:

OPT: bielkoviny (kazeín) 15 % (Krajčovičová a Dibák, 1980a), tuky (margarín — Palma, Bratislava) 30 % (Krajčovičová a Dibák, 1980b), sacharidy (pšeničný a zemiakový škrob a cukor v pomere 6,4 : 1,0 : 1,2 — Henry, 1965) 36 % (Krajčovičová a Dibák, 1982a), Osbornova soľná zmes (Henry, 1965) 4 %, agar 15 %;

VT: tuky 45 %;

VS: sacharidy (pšeničný a zemiakový škrob a cukor = 6,4 : 1,0 : 1,2) 50 %, agar 1 %.

Od 46 do 75 dní:

OPT: bielkoviny 15 %, tuky 20 %, sacharidy 41 %, soľná zmes 4 %, agar 20 %;

VT: tuky 35 %, agar 5 %;

VS: sacharidy 60 %, agar 1 %.

Od 76 do 90 dní:

OPT: Bielkoviny 12,5 % (Krajčovičová a Dibák, 1980a; Dibák, 1980), tuky 15 % (Krajčovičová a Dibák, 1982b), sacharidy 46 % (Krajčovičová a Dibák, 1982c), soľná zmes 4 %, agar 22,5 %;

VT: tuky 30 %, agar 7,5 %;

VS: sacharidy 65 %, agar 3,5 %.

Od 91 do 120 dní:

OPT: bielkoviny 11,5 % (Krajčovičová a Dibák, 1980a; Dibák, 1980), tuky 11 % (Krajčovičová a Dibák, 1981), sacharidy 51 % (Krajčovičová a Dibák, 1983), soľná zmes 4 %, agar 22,5 %;

VT: tuky 30 %, agar 3,5 %;

VS: sacharidy 70 %, agar 3,5 %.

Od 121 do 150 dní:

OPT: bielkoviny 10 % (Dibák, 1985), tuky 10 %, sacharidy 51 % (Krajčovičová-Kudláčková, 1985), soľná zmes 4 %, agar 25 %;

VT: tuky 30 %, agar 5 %;

VS: sacharidy 70 %, agar 6 %.

Ku všetkým diétam bola pridávaná štandardná vitamínová zmes (Henry, 1965).

Zvieratá (294 ks) boli umiestnené po šiestich v klietkach s mriežkovou podlahou. Každých 15 dní (od 45. dňa do 150. dňa) sme šesť kusov z každej skupiny podľa druhu potravy usmrtili éterovou narkózou, vypitvali pečeň, rýchlo ju schladili a odobrali vzorku na stanovenie enzymatických aktivít. Po vyčistení gastrointestinálneho traktu sme stanovili suchú hmotnosť zvierat (sušením do konštantnej hmotnosti pri teplote 105 °C) a po homogenizácii sme stanovili obsah dusíka a tuku. Potravu aj pitnú vodu dostávali zvieratá *ad libitum*, okrem posledného experimentálneho dňa, kedy sme im 16 hodín pred usmrtením potravu odobrali.

15 dní pred usmrtením sme v každej z troch skupín (OPT, VT, VS) nastavili šesť zvierat na bezdusíkovú potravu, v ktorej sme chýbajúce bielkoviny vyvážili rovnako energetickými sacharidmi. Zvieratá sme usmrtili súčasne so skupinou sledovanou na testovanej potrave a Dumasovou metódou (Vondenhof a Schulte, 1979) sme stanovili obsah telového dusíka, aby bolo možné vypočítať pre každý vek čistú proteínovú utilizáciu NPU (Miller a Bender, 1955):

$$\text{NPU} = \frac{\text{retinovaný dusík}}{\text{príjem dusíka}} \times 100 = \frac{\text{telový dusík zvierat na testovanej potrave [g]} - \text{telový dusík zvierat na bezdusíkovej potrave [g]}}{\text{príjem dusíka [g]}} \times 100$$

Obsah dusíka bol určený aj v kazeíne a diétach. Obsah tuku v margaríne, diétach a vo vzorkách celého tela zvierat bol stanovený extrakčnou metódou Soxhletovej (na automatickom analyzátore tukov Soxtec, firmy Tecator). Obsah sacharidov v škroboch, cukre, kazeíne a diétach bol určený Schoorlovou metódou (Príběla, 1978). Obsah živín v diétach kolísal v prípustných hraniciach.

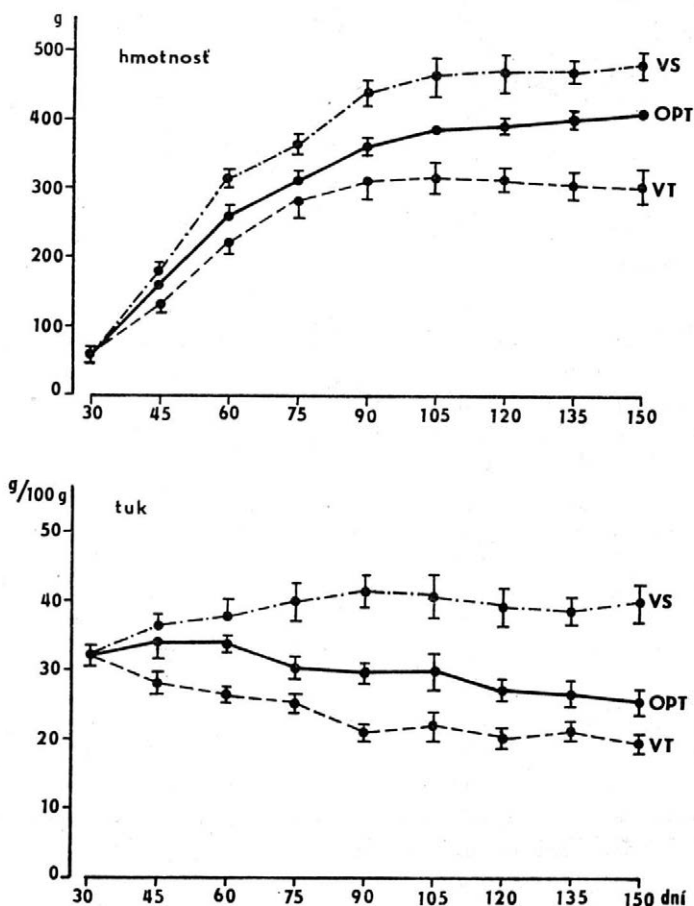
Pre výpočet špecifickej aktivity boli určované bielkoviny v homogenáte pečene biuretovou reakciou (Tomášek, 1959). Aktivita fosfoenolpyruvátkarboxyki-názy PEPCK (E.C.4.1.1.32) bola určená UV-spektrofotometrickou metódou podľa Floresa a Alleyneho (1971) a aktivita glukózo-6-fosfátdehydrogenázy G-6-PDH (E.C.1.1.1.49) metódou, ktorú popísali Löhner a Waller (1970).

Výsledky boli štatisticky spracované Studentovým *t*-testom.

VÝSLEDKY

Krivka hmotnosti zvierat kŕmených optimálnou potravou (tab. I, obr. 1) vykazuje tri lineárne etapy: vek 30 až 60 dní, 75 až 105 dní a 120 až 150 dní. Z regresných rovníc závislosti hmotnosti a veku (1. etapa: $y = 6,7268 x - 141,5955$; $n = 53$; $r = 0,9371$; $P < 0,001$; 2. etapa: $y = 2,8795 x + 91,8236$; $n = 25$; $r = 0,9775$; $P < 0,001$; 3. etapa: $y = 0,5296 x + 329,5539$; $n = 24$; $r = 0,9937$; $P < 0,001$) vyplýva denný prírastok hmotnosti v období najprudšieho rastu 6,73 g, vo vekovej etape 75 až 105 dní 2,88 g a v poslednej etape 0,53 g. Hmotnosť zvierat kŕmených VT potravou je oproti hmotnosti zvierat kŕmených OPT potravou v celej vekovej škále štatisticky významne nižšia. Prírastky hmotnosti zvierat, ktoré dostávali vyšší obsah sacharidov, sú oproti optimálnym hodnotám v každom veku významne vyššie.

1. Hmotnosť (g) — (horná časť obr.) a hodnoty telového tuku (g na 100 g s.h.) — (obrázok dole) potkanov vo veku 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135 a 150 dní na optimálnej (OPT), vysokotukovej (VT) a vysokosacharidovej (VS) potrave — The weight (g) — (upper part of the figure) and the values of body fat (g per 100 g dry matter — lower part of the figure) in Norway rats at the age of 30, 45, 60, 75, 90, 105, 120, 135 and 150 days with the administration of optimum (OPT), high-fat (VT) and high-saccharide (VS) diet



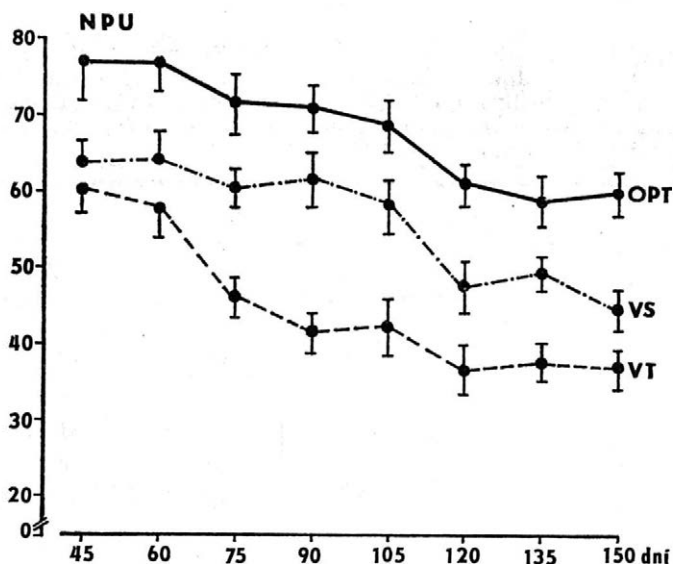
I. Hmotnosť zvierat, obsah telového tuku, čistá proteínová utilizácia NPU a špecifikovín) a glukózo-6-fosfátdehydrogenázy G-6-PDH ($\mu\text{mol G-6-P min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ bielko- (OPT), vysokotukovej (VT) a vysokosacharidovej (VS) — The weight of the ani- phoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) ($\mu\text{mol PEP per min/g of protein}$) and glu- the liver of Norway rats at the age of 30 to 150 days, fed an optimum-nutrient diet

n = 6		Vek (dni)		
		30	45	60
Obsah živín v potrave [$\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1}$]				
bielkoviny	OPT		15	15
tuky	OPT		30	20
sacharidy	OPT		36	41
tuky	VT		45	35
sacharidy	VS		50	60
Hmotnosť [g]	OPT	60,3 $\pm 2,0$	161,7 $\pm 2,6$	260,9 $\pm 4,6$
	VT		139,0*** $\pm 2,8$	220,9** $\pm 8,6$
	VS		174,0* $\pm 3,6$	316,1*** $\pm 5,8$
Telový tuk [$\text{g} \cdot 100 \text{ g}^{-1} \text{ s. h.}$]	OPT	32,4 $\pm 2,8$	34,3 $\pm 3,2$	33,7 $\pm 1,9$
	VT		28,4 $\pm 1,9$	26,7 $\pm 1,7$
	VS		36,1 $\pm 1,8$	37,8 $\pm 3,2$
NPU	OPT	—	78,2 $\pm 7,6$	76,8 $\pm 3,9$
	VT		60,2* $\pm 2,8$	57,7** $\pm 3,7$
	VS		63,9 $\pm 3,9$	64,1 $\pm 3,2$
PEPCK	OPT	18,0 $\pm 0,9$	13,2 $\pm 0,7$	12,7 $\pm 0,7$
	VT		19,1*** $\pm 0,8$	18,7*** $\pm 0,9$
	VS		11,6 $\pm 0,4$	11,3 $\pm 0,3$
G-6-PDH	OPT	10,5 $\pm 0,9$	14,9 $\pm 0,9$	13,8 $\pm 0,8$
	VT		11,1* $\pm 1,1$	9,5** $\pm 1,0$
	VS		19,9* $\pm 1,7$	19,3** $\pm 1,4$

$\pm$ — $S\bar{x}$ — stredná chyba z priemeru; * — $P < 0,05$ ** — $P < 0,01$ *** — $P < 0,001$

fická aktivita fosfoenolpyruvátcarboxykinázy PEPCK ($\mu\text{mol PEP min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ biel-
vín) v pečeni potkanov vo veku 30 až 150 dní na potrave optimálneho zloženia živín
mals, body fat content, net protein utilization (NPU) and specific activity of phos-
cose-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) ($\mu\text{mol G-6-P per min/g of protein}$) in
(OPT), high-fat diet (VT), and high-saccharide diet (VS)

Vek (dni)					
75	90	105	120	135	150
15	12,5	11,5	11,5	10	10
20	15	11	11	10	10
41	47	51	51	51	51
35	30	30	30	30	30
60	65	70	70	70	70
310,4 ± 3,2	361,0 ± 2,1	386,2 ± 4,1	391,9 ± 2,3	400,3 ± 2,5	410,1 ± 3,6
278,1* ± 15,8	308,4** ± 17,2	319,9*** ± 16,2	313,4*** ± 10,1	305,8*** ± 12,8	303,2*** ± 20,2
360,2*** ± 11,4	440,8*** ± 21,2	462,2* ± 30,1	468,2* ± 35,8	470,0** ± 22,1	481,5** ± 27,7
30,1 ± 2,2	29,4 ± 1,9	30,0 ± 2,1	27,2 ± 1,7	26,8 ± 2,0	25,2 ± 2,0
25,2 ± 1,8	21,1* ± 1,9	22,2* ± 2,8	20,3* ± 1,6	21,1 ± 1,7	19,8* ± 1,1
40,1* ± 3,7	41,5** ± 2,9	40,8* ± 3,0	39,1** ± 3,4	38,7** ± 3,1	40,2** ± 3,7
71,3 ± 3,8	70,6 ± 3,2	68,8 ± 3,9	61,1 ± 3,9	58,5 ± 2,1	59,9 ± 2,3
46,2*** ± 2,9	41,5*** ± 3,1	42,2** ± 4,6	36,8** ± 4,2	37,5*** ± 2,9	36,9*** ± 3,1
60,2* ± 2,6	61,8 ± 2,8	58,7* ± 2,1	47,5** ± 2,0	49,5** ± 1,9	44,7** ± 3,2
11,3 ± 0,5	11,7 ± 0,4	11,0 ± 0,4	10,3 ± 0,3	10,3 ± 0,3	9,9 ± 0,4
16,2*** ± 1,0	15,6*** ± 0,8	15,7*** ± 0,6	13,5** ± 0,5	14,3*** ± 0,5	14,0*** ± 0,5
9,7 ± 0,7	9,7* ± 0,6	9,1* ± 0,7	8,2** ± 0,6	7,6*** ± 0,4	7,9*** ± 0,1
12,2 ± 0,6	12,8 ± 0,6	12,1 ± 0,5	9,0 ± 0,4	9,8 ± 0,6	9,7 ± 0,5
8,0** ± 0,8	8,1*** ± 0,5	7,0*** ± 0,2	5,6*** ± 0,3	4,5*** ± 0,3	3,9*** ± 0,1
17,2** ± 1,1	16,9** ± 0,9	16,2** ± 1,2	13,3*** ± 0,5	14,2** ± 0,9	14,0** ± 1,1



2. Čistá proteínová utilizácia NPU u potkanov vo veku 30 až 150 dní kŕmených potravou podľa popisu k obr. 1 — Net protein utilization NPU in Norway rats at the age of 30 to 150 days with the administration of the same feeds as described in Fig. 1

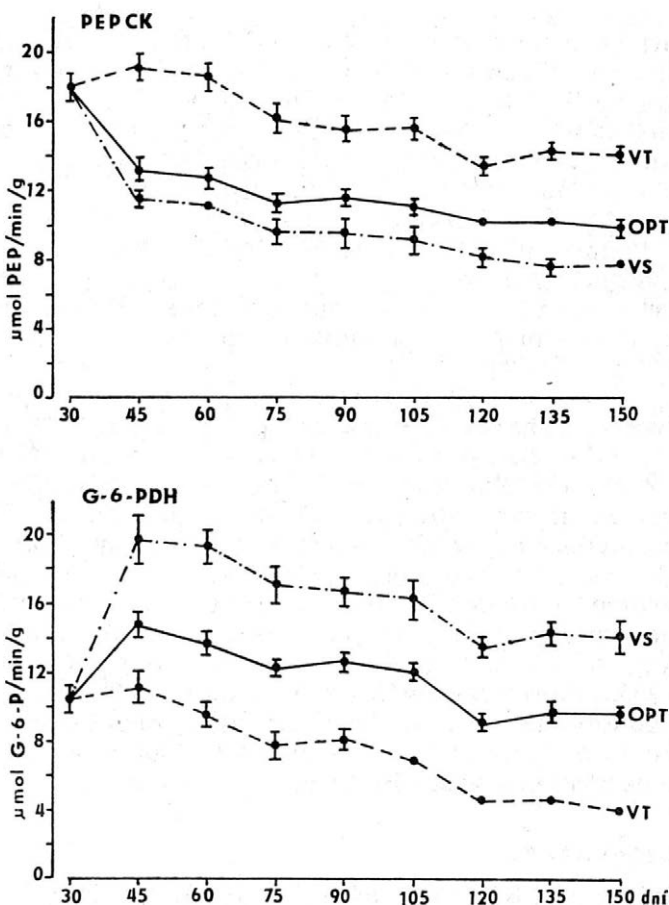
Podobne prebiehajú hodnoty telového tuku, tzn. u zvierat kŕmených VS potravou sú najvyššie, VT potravou najnižšie (obr. 1). Vzhľadom na optimálne hodnoty sú hodnoty telového tuku pri VT potrave nevýznamne nižšie (pre vek 90, 105 a 150 dní na hranici významnosti), u potravy VS je nárast tuku významný od 75. dňa veku. Nepatrný pokles hodnôt telového tuku pri optimálnej potrave je postupný podľa etáp intenzity rastu. I tu sú naznačené skupiny 30 až 60 dní, 75 až 105 dní a 120 až 150 dní. Nárast a pokles telového tuku pri experimentálnych diétach je naznačený po vek 90 až 105 dní, potom vidno ustálenie hodnôt, čo je v korelácii s priebehom hmotnosti.

Na obr. 2 a v tab. I je znázornené, ako sa retinujú bielkoviny prijaté potravou v optimálnom množstve. Hodnoty NPU sú vysoké pre potravu optimálneho zloženia živín s náznakom postupného poklesu podľa etáp intenzity rastu. VS a VT potrava negatívne ovplyvňuje utilizáciu bielkovín, pritom vysoký príjem tukov vo väčšej miere, a to v každom vekovom období. Hodnoty NPU vo VT potrave sú štatisticky vysoko preukazne nižšie oproti optimálnym, VS potrava znižuje utilizáciu bielkovín významne až od 120. dňa veku, teda v tretej etape rastu; v prvých dvoch etapách je zníženie nevýznamné alebo na hranici štatistickej významnosti.

Špecifická aktivita fosfoenolpyruvátcarboxinázy PEPCK (tab. I, obr. 3) v pečeni zvierat kŕmených VT potravou je významne vyššia oproti aktivite pri optimálnej potrave v celom vekovom rozsahu; hodnoty PEPCK pri VS potrave sú oproti hodnotám pri optimálnej potrave znížené významne až od 120. dňa veku, pre vek 45 až 105 dní nevýznamne alebo na hranici významnosti.

Aktivita glukózo-6-fosfátdehydrogenázy G-6-PDH v pečeni zvierat kŕmených VT potravou je štatisticky významne nižšia oproti tejto aktivite pri optimálnej potrave; hodnoty G-6-PDH pre VS potravu sú významne vyššie v celej vekovej stupnici. Aktivity oboch enzýmov a pre každý druh potravy s vekom postupne klesajú, výraznejšie pri G-6-PDH.

3. Špecifická aktivita fosfoenolpyruvát-karboxykinázy PEPCK ($\mu\text{mol PEP} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ bielkovín) — (obr. hore) a glukózo-6-fosfát-dehydrogenázy G-6-PDH ($\mu\text{mol G-6-P} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1}$ bielkovín) — (dolná časť obr.) v pečeni potkanov vo veku 30 až 150 dní kŕmených potravou podľa popisu k obr. 1 — Specific phosphoenolpyruvate carboxykinase (PEPCK) activity ($\mu\text{mol PEP per min/g of protein}$) — upper part of the figure, and glucoso-6-phosphate dehydrogenase (G-6-PDH) activity ($\mu\text{mol G-6-P per min/g of protein}$) (lower part of the figure) in the liver of Norway rats at the age of 30 to 150 days with the administration of the same feeds as described in Fig. 1



DISKUSIA

Hodnoty NPU pri optimálnej potrave, ktoré predstavujú percento retinovaných bielkovín vzhľadom na ich príjem potravou, poukazujú na to, že v období prudkého rastu (6,73 g na deň) sa prijaté bielkoviny používajú na rast a výstavbu organizmu. Vysoké hodnoty NPU (pre kazeín blízke číslu 80) znamenajú vysokú mieru proteosyntézy, ktorá s vekom postupne klesá a vo vekovom období 120 až 150 dní — čo možno označiť za dospievanie (denný prírastok hmotnosti 0,53 g) — sa dokončuje vývoj organizmu a začína použitie bielkovín prevažne na obnovu tkanív a orgánov. Je to zvýraznené nižšími hodnotami NPU; na proteosyntézu, predstavujúcu údržbu organizmu, je treba menšie množstvo bielkovín (Krajčovičová — Kudláčková, 1985; Krajčovičová — Kudláčková a Dibák, 1988).

Krivka hmotnosti potkanov kŕmených nami určenými optimálnymi diétami vzhľadom na vek sa líši od hmotnosti potkanov kŕmených Larse-novou diétou (Krajčovičová — Kudláčková a Dibák, 1988). Pri tejto diéte je vo vekovej etape 30 až 90 dní denný prírastok hmotnosti 3,25 g a vo veku od 90 do 150 dní 1,86 g. Nepatrne klesajúce, teda nevýznamne zmenené hodnoty telového tuku, NPU aj aktivity PEPCK

pri kŕmení našimi optimálnymi diétami vzhľadom na vek poukazujú na správnosť hodnôt živín a naopak zvýšené hodnoty bielkovín v Larsenovej diéte ako aj nedostatočné hodnoty tukov (pre obdobie intenzívneho rastu) poukazujú na disbalančnosť tejto diéty. To sa prejavilo pomalším rastom a ukončením vývoja organizmu až v 150. dni (a nie v 120. dni ako pri použití našej optimálnej potravy).

Aktivity enzýmov lipogenézy a glukoneogenézy dobre korelujú s hodnotami telového tuku a NPU u použitých experimentálnych diét. Zvýšená aktivita G-6-PDH spolu so zvýšenými hodnotami telového tuku pri vysokosacharidovej potrave poukazuje na zvýšenú lipogenézu. Naopak pri príjme vysokotukovej potravy je lipogenéza potlačená (Garza a i., 1977).

Aktivita PEPCK predstavuje proces vyjadrujúci použitie bielkovín na tvorbu sacharidov. Je znížená pri ich vysokom príjme potravou. Znamená to, že bielkoviny sa neodbúravajú, ale sa použijú na proteosyntézu, preto sú hodnoty NPU nie tak znížené oproti optimálnej potrave ako pri optimálnej aj vysokotukovej potrave. Ovšem disbalančnosť potravy sa predsa prejavila v ovplyvnení miery proteosyntézy. Tuky sú efektormi glukoneogenézy (Tarnovskí, 1970). Aktivita PEPCK je významne zvýšená pri príjme vysokého množstva tukov, t. zn. že bielkoviny sa použijú na novotvorbu sacharidov, čo koreluje so sníženými hodnotami NPU (Nakano a i., 1971; Krajčovičová — Kudláčková a Dibák, 1985). Oproti optimálnym hodnotám znižuje vysoký príjem sacharidov hodnoty NPU o 12 až 25 %, vysokotuková potrava znižuje využitiu bielkovín o 23 až 41 % vo vekovom období 30 až 150 dní, teda dvojnásobne v porovnaní s vysokým príjmom sacharidov.

Literatúra

- BRESSANI, R. — VITERI, F. — ELIAS, L. G.: The usefulness of results with human beings in standardizing rat assays. In: PORTER, J. W. C. — ROLLS, A. B.: Protein in human nutrition. London-New York, Academic Press 1973. 560 s.
- DIBÁK, O.: Utilizácia rôznych proteínov a niektoré ukazovatele látkovej premeny pri rôznych nutričných stavoch. Bratislava, Výskumný ústav výživy ľudu 1980. 108 s.
- DIBÁK, O.: Regulácia potreby diétnych bielkovín a ich zmesí za rôznych fyziologických podmienok. Bratislava, Výskumný ústav výživy ľudu 1985. 205 s.
- FAO/WHO. Energy and protein requirements. Rep. joint FAO/WHO ad hoc committee. Geneva, FAO/WHO 1973. 118 s.
- FAO/WHO/UNO: Energy and protein requirements. Rep. joint FAO/WHO/UNO meeting, Tech. Rep. Ser. No. 724. Geneva, WHO 1985.
- FLORES, H. — ALLEYNE, G. A. O.: Phosphoenolpyruvate carboxykinase of kidney. Biochem. J., 123, 1971, s. 35—39.
- GARZA, C. — SCRIMSHAW, N. L. — YOUNG, V. R.: Human protein requirements: evaluation of the 1973 FAO/WHO safe level of protein intake for young men at high energy intakes. Brit. J. Nutr., 37, 1977, s. 403—420.
- HENRY, K. M.: A comparison of biological methods with rats for determining the nutritive value of proteins. Brit. J. Nutr., 19, 1965, s. 125—135.
- KRAJČOVIČOVÁ-KUDLÁČKOVÁ, M.: Metabolické regulačné vzťahy za rôznych nutričných podmienok. Bratislava, Výskumný ústav výživy ľudu 1985. 51 s.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Protein utilization in correlation to protein intake. Physiol. bohemoslov., 29, 1980a, s. 37—47.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Protein utilization in correlation to energy intake. Physiol. bohemoslov., 29, 1980b, s. 233—241.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Determination of optimum fat intake. Physiol. bohemoslov., 30, 1981, s. 55—62.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Determination of the optimum proportion

- of saccharides in the diet of weanling rats. *Physiol. bohemoslov.*, 31, 1982a, s. 549-555.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Determination of the optimum dose of fats in the food of rats of different ages. *Physiol. bohemoslov.*, 31, 1982b, s. 175-181.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Utilizácia bielkovín u potkanov pri rôznom prijíme tukov a sacharidov. *Veter. Med. (Praha)*, 27, 1982c, s. 45-56.
- KRAJČOVIČOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Determination of the optimum proportion of saccharides in the diet of adult rats. *Physiol. bohemoslov.*, 32, 1983, s. 366-373.
- KRAJČOVIČOVÁ-KUDLÁČKOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Influence of the time of intake of a high fat diet on gluconeogenesis. *Physiol. bohemoslov.*, 34, 1985, s. 339-350.
- KRAJČOVIČOVÁ-KUDLÁČKOVÁ, M. — DIBÁK, O.: The relationship between protein retention and energy requirements in rats of different age. *Physiol. bohemoslov.*, 35, 1986, s. 243-250.
- KRAJČOVIČOVÁ-KUDLÁČKOVÁ, M. — DIBÁK, O.: Retencia bielkovín v závislosti od veku. *Veter. Med. (Praha)*, 33, 1988, s. 55-63.
- LÖHR, GL. W. — WALLER, H. D.: Glucose-6-phosphate-Dehydrogenase (559—606). In: BERGMAYER, H. U.: Methoden der enzymatischen Analyse. Berlin, Akademie-Verlag 1970. 2220 s.
- MILLER, D. S. — BENDER, A. E.: The determination of the net utilization of proteins by a shortened method. *Brit. J. Nutr.*, 9, 1955, s. 382-388.
- NAKANO, K. — KURIMOTO, S. — ASHIDA, K.: Effect of previous high fat diet on body protein metabolism in rats. *J. Nutr.*, 101, 1971, s. 895-900.
- PRÍBELA, A.: Analýza prírodných látok v požívatinách. Bratislava, Alfa 1978. 430 s.
- TARNOWSKI, W.: Glukoneogenesis und ihre Steuerung durch Nahrungsbestandteile. *Nutr. Diet.*, 15, 1970, s. 135-156.
- TOMÁŠEK, V.: Biuretová reakcia (488-493). In: KEIL, B. — ŠORMOVÁ, Z.: Laboratorní technika biochemie. Praha, ČSAV 1959. 872 s.
- VONDENHOF, T. — SCHULTE, K.: Bestimmung des Stickstoffs bei Fleischerzeugnissen nach dem Kjeldahl — und dem Dumas-Verfahren. *Dtsch. Lebensm.-Rundsch.*, 75, 1979, s. 187-189.

Došlo dňa 2. 9. 1988

КРАЙЧОВИЧОВА-КУДЛАЧКОВА, М. — ДИБАК, О. (Научно-исследовательский институт питания населения, Братислава): Утилизация белков и высокое потребление жиров и сахаридов у пасюков в возрасте 30—150 дней. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989 (6) : 361-370.

Пасюкам-самцам в возрасте от 30 дней до возраста 150 дней подавали по желанию оптимальную пищу, меняя уровни питательных веществ постепенно, в зависимости от возраста, затем пища, содержащая высокий процент жиров (ВЖ) с содержанием жиров 45—30 % и пища содержащая высокий процент сахаров (ВС) — (50—70 % сахаридов). Из значений азота, содержащегося в теле и потребления азота пищей определили чистую утилизацию белков NPU, значения жира, содержащегося в теле и специфичную активность фосфоенолпируваткарбоксикиназы PEPCK и глюкозо-6-фосфатдегидрогеназы G-6-PDH в печени. Уравнения регрессии зависимости массы и возраста от оптимальной пищи включают возраст 30—60 дней в период быстрого роста — происходит построение организма (6,73 г на день); 75—105 дневные животные имели прирост массы 2,88 г и в третьем этапе, в возрасте 120—150 дней (0,53 г в день — созревании) заканчивается развитие и начинается период более меньшего потребления белковых веществ для поддержания организма. По этим данным значения NPU постепенно с возрастом понижаются по отношению этапов интенсивности роста. Повышенная активность G-6-PDH в печени животных на ВС пищи находится в корреляции с увеличенными значениями жира, содержащегося в теле и массы. Повышенная активность PEPCK на ВЖ пище совместно со значимо пониженными значениями NPU показывает на отчетливый негативный эффект высокого потребления жиров по отношению метаболизма белковых веществ. Понижение NPU на ВС пище половинным по отношению ВЖ пищи.

оптимальная пища, пища содержащая высокий процент жира (ВЖ), пища содержащая высокий процент сахаров (ВС); чистая утилизация белковых веществ; липогенез; глюконеогенез; возраст

KRAJČOVIČOVÁ-KUDLÁČKOVÁ, M. — DIBÁK, O. (Research Institute of Human Nutrition, Bratislava): *The Utilization of Proteins and High Intake of Fats and Saccharides in Norway Rats at the Age from 30 to 150 Days*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 361-370.

Male Norway rats from the age of 30 to 150 days were fed *ad libitum* optimum diets with a gradual change of nutrient values according to age, high-fat (HF) diet with 45 to 30% content of fat and high saccharide diet (HS) with 50 to 70% content of saccharides. From the values of body nitrogen and from the intake of nitrogen in the diet, the net protein utilization NPU was determined, along with the values of body fat and specific activity of the phosphoenol-pyruvate carboxy-kinase PEPCK and glucose-6-phosphate dehydrogenase G-6-PDH in the liver. Regression equations of the relation between weight and age and optimum nutrition determine the age from 30 to 60 days as a period of rapid growth — the building of the organism is in progress (6.73 g per day); in 75—105 days old animals the daily weight gains of 2.88 g were recorded; in the third stage, at 120 to 150 days (0.53 g daily — maturing) the development ends and the period of lower protein intake for the maintenance of the organism starts. The NPU values decrease gradually with age in relation to the stage of growth intensity. The increased C-6-PDH activity in the liver of the animals on a high-saccharide diet correlates with the increased values of the body fat and weight. The increased PEPCK activity in a high-fat diet together with the significantly decreased NPU values point to a significant negative effect of the high intake of fats on the metabolism of proteins. The decrease of NPU in the high-saccharide diet shows half the values compared with the high-fat diet.

optimum, high-fat, high-saccharide diet; net protein utilization; lipogenesis; gluconeogenesis; age

KRAJČOVIČOVÁ-KUDLÁČKOVÁ, M. — DIBÁK, O. (Forschungsinstitut für Volks-ernährung, Bratislava): *Verwertung der Proteine und hohe Fett- und Saccharidenaufnahme bei Wanderratten im Alter von 30 bis 150 Tagen*. Veter. Med. (Praha), 34, 1980 (6) : 361-370.

An Wanderrattenmännchen im Alter von 30 bis 150 Tagen verfütterten wir *ad libitum* eine optimale Nahrung mit einem veränderten Wert der Nährstoffe in Abhängigkeit vom Alter, ferner eine Hochfettnahrung (HF) mit einem Fettgehalt von 45 bis 30 % und eine Nahrung mit einem hohen Gehalt an Sacchariden (HS) (50—70 %). Anhand der Werte des Körperstickstoffs und der Stickstoffaufnahme mit der Nahrung ermittelten wir die reine Proteinverwertung (NPU), die Werte des Körperfettes und die spezifische Aktivität der Phosphoenolpyruvatkarboxykinase PEPCK und der Glukose-6-Phosphatdehydrogenase G-6-PDH in der Leber. Die Regressionsgleichungen der Abhängigkeit des Gewichtes und des Alters von der optimalen Nahrung reihen das Alter von 30 bis 60 Tagen in die Periode eines schnellen Wachstums ein — es verläuft der Aufbau des Organismus (6,73 g/Tag), die Tiere von 75 bis 105 Tagen wiesen eine Tageszunahme von 2,88 g auf und in der dritten Etappe im Alter von 120 bis 150 Tagen (0,53 g/Tag) geht die Entwicklung zu Ende und die Periode des verminderten Bedarfes an Proteinen für die Erhaltung des Organismus bricht an. Dementsprechend fallen die NPU-Werte mit dem Alter in bezug auf die Etappen der Wachstumsintensität allmählich ab. Die erhöhte Aktivität von G-6-PDH in der Leber der mit HS-Nahrung gefütterten Tiere steht in Korrelation mit erhöhten Werten des Körperfettes und des Gewichtes. Die erhöhte Aktivität der PEPCK und HF-Nahrung zusammen mit bedeutend verminderten NPU-Werten deutet auf eine stark negative Wirkung einer hohen Fettaufnahme auf den Proteinmetabolismus hin. Die Verminderung von NPU und HS-Nahrung ist nur halb so groß in Folge der HF-Nahrung.

optimale, Hochfett-, Hochsaccharidennahrung; reine Proteinverwertung; Lipogenese; Glukoneogenese; Alter

Adresa autorov:

Ing. Marica Krajčovičová-Kudláčková, CSc., MUDr. Otokar Dibák, CSc., Výskumný ústav výživy ľudu, Nám. 4. apríla 7, 812 30 Bratislava

VPLYV ODSUPŇOVANÝCH DÁVOK NIEKTORÝCH TETRACYKLÍNŮV NA ICH SÉROVÉ HLADINY A KONCENTRÁCIE V MÄKKÝCH TKANIVÄCH

J. Neuschl

NEUSCHL, J. (Vysoká škola veterinárska, Košice): *Vplyv odstupňovaných dávok niektorých tetracyklínov na ich sérové hladiny a koncentrácie v mäkkých tkanivách*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 371-380.

Na dospelých králikoch plemena kalifornské biele sme sledovali koncentrácie v mäkkých tkanivách, biologický polčas a sérové hladiny týchto tetracyklínov; technický chlór tetracyklín (Aureovit 12 C₄₀ — Spofa), chlorid tetracyklína (Tetramykoin tabl. a. u. v. — Spofa), chlorid chlór tetracyklína (substancia — Fermitalia) a chlorid oxytetracyklína (Oxymykoin pulv. sol. a. u. v. — Spofa) po ich dávke 40 mg . kg⁻¹ ž. hm. Tieto koncentrácie, resp. biologický polčas 3 ml, porovnávali s uvedenými farmakokinetickými parametrami po ich aplikácii v dávke 20 mg . kg⁻¹ ž. hm. Sledované tetracyklíny sme aplikovali jednorazovo perorálne v uvedených liekových formách, ktoré sa pred aplikáciou upravili do roztokov, resp. suspenzie (Aureovit 12 C₄₀). Mali sme tak možnosť ich presne dávkovať sondou. Nie u všetkých sledovaných tetracyklínov sa po zdvojnásobení ich dávky zistili výraznejšie rozdiely v sérových hladinách, koncentráciách v mäkkých tkanivách, resp. v dĺžke ich biologického polčasu oproti uvedeným farmakokinetickým parametrom po ich podaní v dávke 20 mg . kg⁻¹ ž. hm. Sérové hladiny boli najvyššie po chloride tetracyklína a najnižšie po technickom chlór tetracyklíne.

technický chlór tetracyklín; chlorid tetracyklína; chlorid chlór tetracyklína; chlorid oxytetracyklína; resorpčná kapacita

Optimálne sérové koncentrácie tetracyklínových antibiotík sú závislé hlavne od optimálnych terapeutických dávok a od dĺžky intervalu medzi podávaním. Do značnej miery sú ovplyvnené aplikačným spôsobom, použitou látkou, liekovou formou a inými faktormi (Schölkens, 1974; Kunelis a i., 1965 a ďalší).

Literárne údaje o sérových koncentráciách a pretrvávaní tetracyklínových antibiotík v mäkkých tkanivách po rovnakej jednorazovej perorálnej dávke nie sú jednotné. Schatz (1973), Wenke a i. (1984) a ďalší uvádzajú vyššie sérové koncentrácie ako Vonderbank (1956).

Aj na zvyšovanie perorálnych dávok tetracyklínov s cieľom zvýšiť ich sérové koncentrácie nie sú úplne totožné názory. Grove a Randall (1955), Schach von Witternau a Delahunt (1966) a ďalší — opierajúce sa o zistenia, že črevná sliznica má obmedzenú resorpčnú kapacitu pre tetracyklíny — poukazujú na to, že zvyšovaním perorálnych dávok bežných tetracyklínov možno skôr predĺžiť ich účink, ako zvýšiť ich sérové koncentrácie. Welch (1950) uvádza, že obmedzená resorpčná kapacita čreva sa týka chlór tetracyklína. Walter a Heilmayer (1965), Heilmayer a i. (1969), Vesell

(1975) a ďalší uvádzajú, že resorpčná kapacita črevnej sliznice pre tetracyklín nie je tak prísne limitovaná ako pre chlór-tetracyklín.

Vychádzajúc z uvedených údajov, podujali sme sa v predloženej práci zistiť, či sú medzi sledovanými tetracyklínovými antibiotikami kvantitatívne rozdiely v sérových hladinách, koncentráciách v mäkkých tkanivách a v biologickom polčase po ich jednorazovom podaní v dávke 20 a 40 mg.kg⁻¹ ž.hm. Uvedené farmakokinetické parametre sa sledovali pri podmienkach, keď sme sledované tetracyklíny podávali jednorazovo *per os* v rôznych liekových formách, ktoré sme pred aplikáciou upravili do roztokov, resp. suspenzie, aby bolo možné ich presne dávkovať.

MATERIÁL A METÓDY

Na pokusy sme použili králiky plemena kalifornské biele obidvoch pohlaví o hmotnosti 2,90 ± 0,60 kg. Pokusný súbor tvorilo 80 králikov, ktorí boli rozdelení do štyroch skupín. V každej skupine bolo 20 jedincov.

Prvej pokusnej skupine sme podali technický chlór-tetracyklín vo forme prípravku Aureovit 12 C₄₀ (Biotika, n. p., Slovenská Ľupča). Prípravok sme podali vo forme 0,75% suspenzie.

Druhej pokusnej skupine sme podali substanciu chlorid chlór-tetracyklínia (fy Farmitalia Gruppe ERBA), tretej skupine chlorid oxytetracyklínia vo forme prípravku (Oxymykoin pulv. sol. a. u. v. (Spofa — VÚAB) a štvrtej skupine chlorid tetracyklínia vo forme prípravku Tetramykoin tabl. a. u. v. (Léčiva, n. p., Praha). Vo všetkých troch prípadoch sme prípravky, resp. suspenziu podávali vo forme 1% pravého roztoku.

Každá skupina bola rozdelená do dvoch podskupín s počtom desať jedincov. Prvým podskupinám sme sledované látky podali v dávke 20 mg.kg⁻¹, druhým podskupinám v dávke 40 mg.kg⁻¹ ž.hm. jednorazovo *per os* sondou v uvedených koncentráciách.

Pri príprave roztokov sme brali do úvahy rozpustnosť účinných látok. Roztoky, resp. suspenziu sme pripravovali *ad hoc*. Kontrolným králikom sme podali rovnaký objem destilovanej vody.

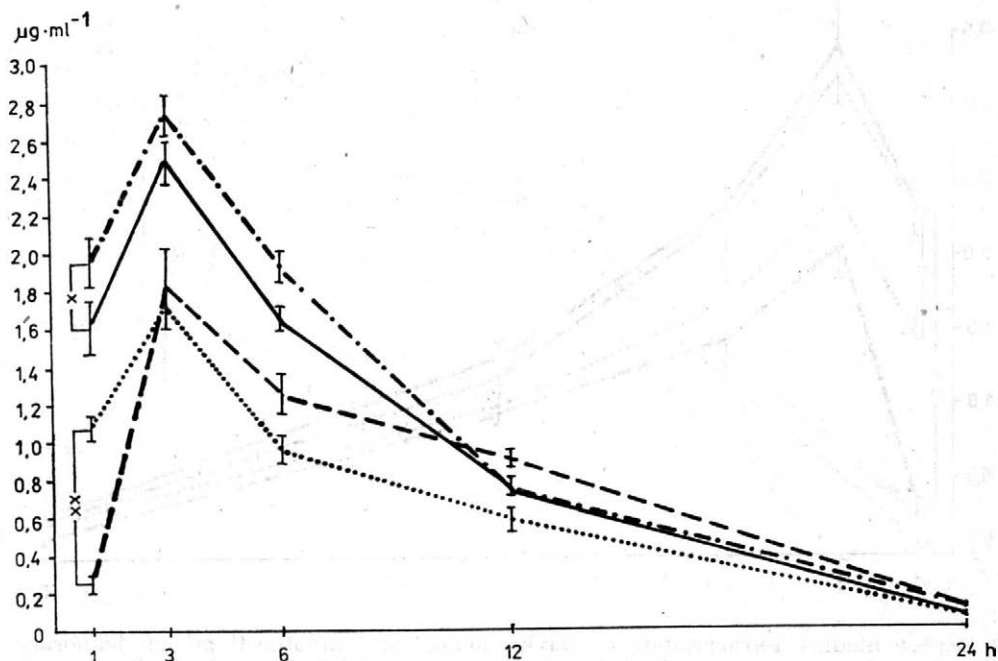
Koncentráciu antibiotík v krvnom sére sme sledovali v časových intervaloch 1, 3, 6, 12 a 24 hodín, kedy sme pokusné a kontrolné zvieratá utratili a odobrali orgány: pečeň, obličky, pľúca, srdce a svalovinu z *musculus gluteatus* za účelom zistenia tetracyklínových reziduí.

Koncentráciu antibiotík sme stanovili fluorometrickou metódou, ako popísali Alykova (1972) a Sakaguchi a Yoshimitsu (1972). Tetracyklíny v krvnom sére a mäkkých tkanivách sme stanovili oproti kontrole na spektrofluometri Hitachi-Perkin-Elmer, model 203, pri vlnovej dĺžke 400/510 nm a fixnej štrbiny s najnižšou merateľnou hodnotou 0,0375 µg.ml⁻¹ séra, resp. 1 g tkaniva. Hodnoty sme odčítali z kalibračných grafov. Koncentráciu tetracyklínov sme udali v µg.ml⁻¹ krvného séra a na gram vlhkej hmotnosti tkaniva. Štatistické hodnotenie sme robili Studentovým *t*-testom. Eliminačné konštanty sme počítali metódou najmenších štvorcov podľa jednokompartimentového farmakokinetického modelu. Eliminačné konštanty zo sérových hladín boli vypočítané zo zostupnej krivky z intervalu 3 až 24 hodín. Biologický polčas bol vypočítaný takto: priemerná eliminačná konštanta λ_n 2.

VÝSLEDKY

Priebeh sérových hladín technického chlór-tetracyklínia, chloridu chlór-tetracyklínia, chloridu oxytetracyklínia a chloridu tetracyklínia po dávke 20 mg.kg⁻¹ ž.hm. uvádzame na obr. 1 a po dávke 40 mg.kg⁻¹ ž.hm. na obr. 2.

Z obr. 2 vyplýva, že po dávke 40 mg.kg⁻¹ ž.hm. dosahujú všetky sledované látky vyššie sérové koncentrácie ako po dávke 20 mg.kg⁻¹



1. Sérové hladiny tetracyklínov po dávke $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ hmotnosti po ich jednorazovom perorálnom podaní u králikov v rôznych liekových formách. Liekové formy boli upravené pred aplikáciou. Koncentrácie sú vynesené v lineárnej stupnici — Serum concentrations of tetracyclines in rabbits after peroral administration of single doses of 20 mg per kg live weight as various kinds of drugs. The different drug forms were prepared into solutions or suspensions before administration. The concentrations are plotted on a linear scale

Obr. 1—4:

Hodnoty $\bar{x} \pm SD$, $N = 10$

 $++p < 0,01$ $+p < 0,05$

— — — — — technický chlortetracyklín (Aureovit 12 C₄₀)

- - - - - chlorid chlortetracyklína (substancia)

..... chlorid oxytetracyklína (Oxymykoin pulv. sol. a. u. v.)

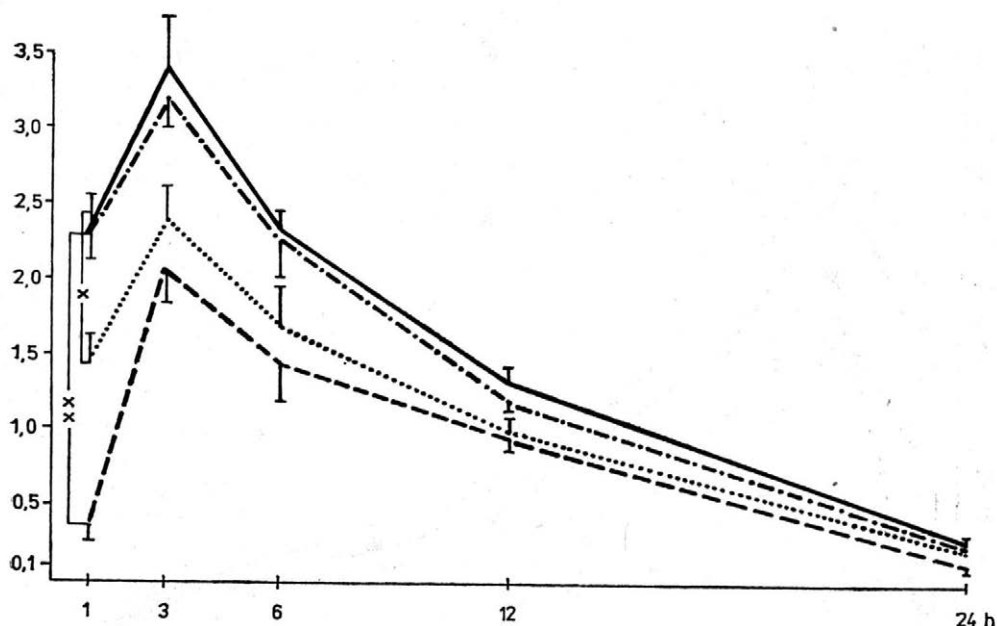
————— chlorid tetracyklína (Tetramykoin tabl. a. u. v.)

(obr. 1). Vyššie sérové koncentrácie možno pozorovať vo všetkých sledovaných časových úsekoch.

Oproti sérovým koncentráciám dosahovaným po dávke $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. sa koncentrácie po dávke $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ najvýraznejšie zvyšujú po chloride tetracyklína ($p < 0,01$) vo všetkých časových úsekoch; nižšie zvýšenie má toto poradie: po chloride oxytetracyklína v prvej hodine ($p < 0,05$), v 3., 6., 12. a 24. hodine ($p < 0,01$) a po chloride chlortetracyklína v 12. a 24. hodine ($p < 0,01$). Po technickom chlortetracyklíne je zvýšenie sérových koncentrácií vo všetkých časových úsekoch len nevýznamné oproti zvýšeniu sérových hladín po dávke $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm.

Z obr. 1 a 2 tiež vyplýva, že z hľadiska výšky sérových hladín sa poradie jednotlivých tetracyklínov mení v závislosti od dávky.

Po dávke $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. (obr. 1) pozorujeme od 12 hodín vyššie koncentrácie po technickom chlortetracyklíne, nižšie po chloride chlortetracyklína, ešte nižšie po chloride tetracyklína a najnižšie po chloride oxytetracyklína.



2. Sérové hladiny tetracyklínov po dávke $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ hmotnosti po ich jednorazovom perorálnom podaní u králikov v rôznych liekových formách. Liekové formy boli upravené pred aplikáciou. Koncentrácie sú vynesené v lineárnej stupnici — Serum concentrations of tetracyclines in rabbits after peroral administration of single doses of 40 mg per kg live weight as various kinds of drugs. The different drug forms were prepared into solutions or suspensions before administration. The concentrations are plotted on a linear scale

Po dávke $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (obr. 2) najvyššie koncentrácie vytvára chlorid tetracyklína, nižšie v tomto poradí: chlorid chlór tetracyklína, chlorid oxytetracyklína a najnižšie technický chlór tetracyklín. Ďalej z obrázkov vyplýva, že po oboch dávkach všetky sledované tetracyklíny vytvárajú najvyššie koncentrácie v tretej hodine po ich podaní.

Obr. 3 a 4 vyjadrujú logaritmicko-lineárne znázornenie priebehu sérových hladín tetracyklínov uvedených na obr. 1 a 2.

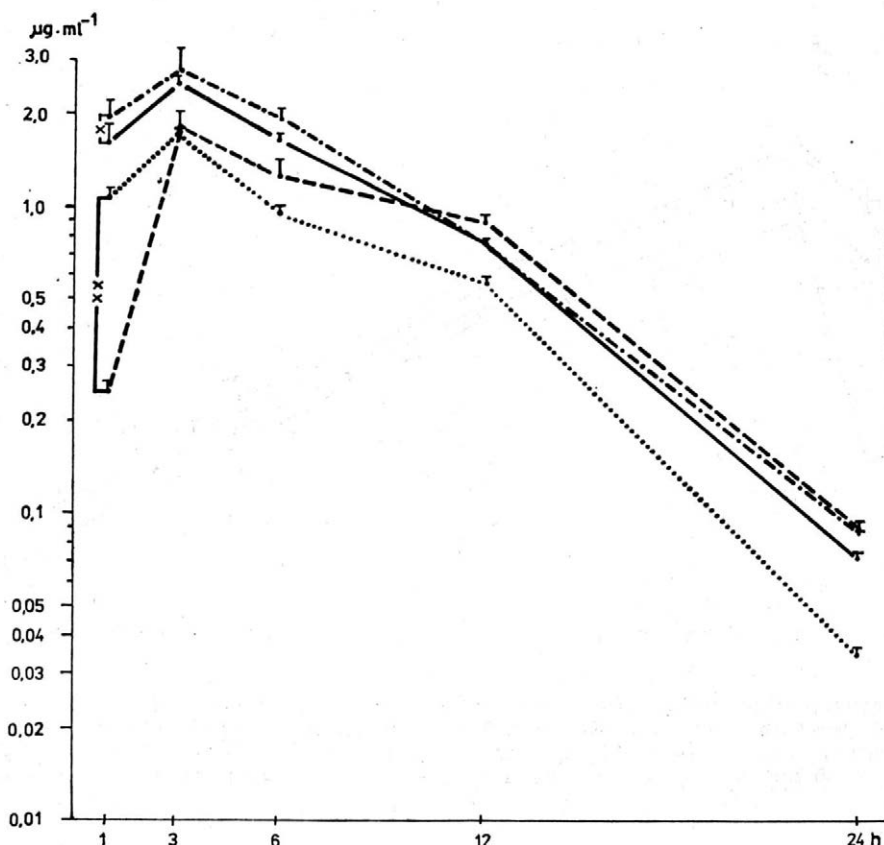
Z logaritmicko-lineárneho znázornenia na obr. 3 (ktoré sa niekedy označuje ako semilogaritmické) vyplýva, že po dávke $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. nejde o zjavný exponenciálny pokles sérových hladín, pretože odchýlky experimentálnych bodov od priamky sú relatívne veľké; demonštruje, že koncentrácia neklesá úplne exponenciálne. Po dávke $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. (obr. 4) možno pozorovať zjavnejší exponenciálny pokles sérových hladín.

V tab. I udávame koncentrácie tetracyklínov v orgánoch a svalovine v 24. hodine po ich jednorazovom perorálnom podaní v odstupňovaných dávkach.

DISKUSIA

Ak vychádzame z poznatkov, ktoré uviedol Brodie (1967), že biochemický a fyzikálny aspekt účinku liečiv má dve stránky, treba okrem samotného pôsobenia liečiv na biologické systémy organizmu brať do úvahy a rešpektovať i vplyv biologických systémov na liečivá.

Od resorpcie liečiva v tráviacej sústave až po dosiahnutie recepto-



3. Sérové hladiny tetracyklínov po dávke $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ hmotnosti po ich jednorázovom perorálnom podaní. Koncentrácie sú vynesené v logaritmickú stupnicu — Serum concentrations of tetracyclines after peroral administration of single doses of 20 mg per kg live weight. The concentrations are plotted on a logarithmic scale

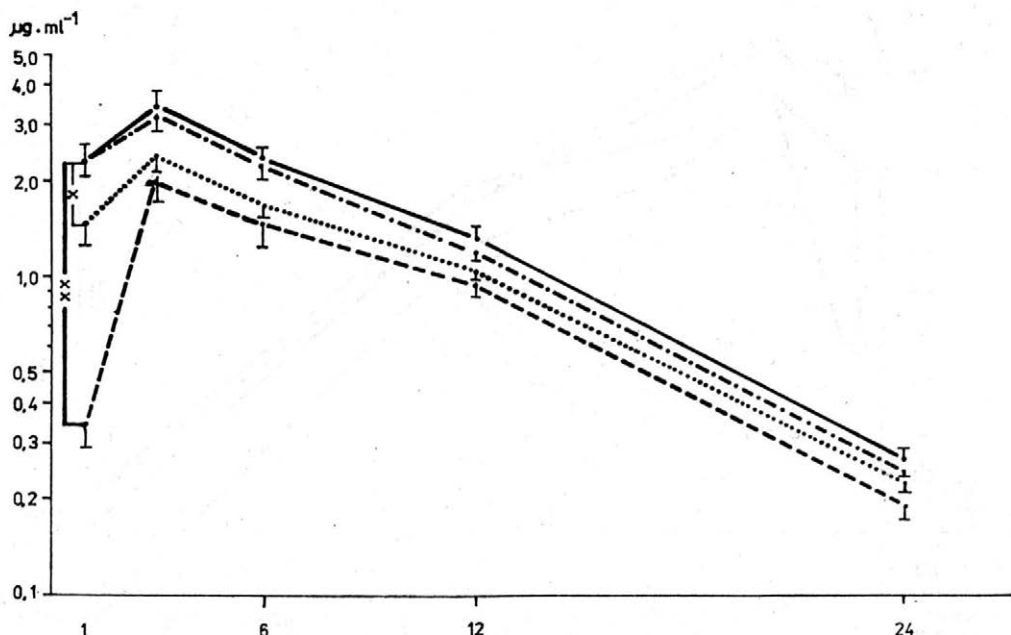
ra môže dôjsť na viacerých úsekoch k interakcii medzi liečivom a biologickými systémami s následnou zmenou biologickej dostupnosti (koncentrácie liečiva v krvi).

Usudzuje sa, že zažívací trakt môže svojimi biologickými systémami podstatne ovplyvniť biologickú dostupnosť tetracyklínov hlavne prostredníctvom obmedzenosti v resorpčnej kapacite črevnej sliznice pre to ktoré tetracyklínové antimikrobikum.

Na enterálne resorpčné pochody tetracyklínových antimikrobík prevládajú názory, že zvyšovaním jednotlivých perorálnych dávok možno skôr predĺžiť ich účinok ako ich koncentráciu v krvi (Grove a Randall, 1955; Schach von Witternau a Delahunt, 1966 a ďalší).

Niektoré štúdie poukazujú na to, že medzi jednotlivými tetracyklínmi sú rozdiely v rýchlosti i v komplexnosti ich enterálnej resorpcie po zvýšení jednotlivých dávok s úmerným dopadom na sérové hladiny.

Welch (1950) uvádza, že neúmerným zvyšovaním jednotlivých dávok chlortetracyklína sa jeho resorpcia úmerne znižuje, jeho neresor-



4. Sérové hladiny tetracyklínov po dávke $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ hmotnosti po ich jednorazovom perorálnom podaní. Koncentrácie sú vynesené v logaritmickú stupnicu — Serum concentrations of tetracyclines after peroral administration at single doses of 40 mg per kg live weight. The concentrations are plotted on a logarithmic scale

bovateľné množstvo v truse vzrastá a krvné hladiny sa výraznejšie nezvyšujú.

Podľa autorov Walter a Heilmayer (1965), Heilmayer a i. (1969), Vesell (1975) a ďalších možno zvyšovaním jednotlivých dávok tetracyklínu výraznejšie zvyšovať jeho hladinu v krvi ako po chlór-tetracyklíne. Uvedení autori uvádzajú, že najvyššie priemerné hodnoty v krvi ($1,0\text{--}1,5 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) po bežnej terapeutickú dávku tetracyklínu sa po 100% zvýšení jednotlivej dávky zvyšujú až na $3,3$ až $3,6 \text{ } \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$, kým po chlór-tetracyklíne sa zvyšujú len o 30 % (Wenke a i., 1984).

Vzhľadom na to, že na možné zvyšovanie sérových koncentrácií tetracyklínov zvyšovaním ich jednotlivých perorálnych dávok nie sú úplne totožné názory, podujali sme sa v predloženej práci zistiť, či sa zvyšovaním jednotlivých perorálnych dávok sledovaných tetracyklínov podaných v upravených liekových formách zvyšujú aj ich sérové hladiny, koncentrácia v mäkkých tkanivách, resp. či sa mení ich biologický polčas.

Z výsledkov vyplýva, že po obidvoch dávkach sú u všetkých sledovaných tetracyklínov sérové hladiny najvyššie v tretej hodine po ich podaní. Z výsledkov tiež vyplýva, že sérové koncentrácie po dávke $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ sa oproti hladinám po dávke $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. zvýšili síce u všetkých sledovaných tetracyklínov a vo všetkých časových intervaloch, zvýšenie však nebolo rovnomerné. Vzostup hladín v sére je najvýraznejší po podaní chloridu tetracyklína ($p < 0,01$).

I. Hladiny tetracyklínov v orgánoch a svalovine za 24 hodín po ich odstupňovanom dávkovaní a jednorazovom perorálnom podaní u králikov v rôznych liekových formách. Liekové formy boli upravené pred aplikáciou — Tetracycline concentrations in the organs and muscles of rabbits in 24 hours after administration of different doses and single peroral administration as various kinds of drugs. The different drug forms were prepared into solutions or suspensions

Dávka [mg. kg ⁻¹]	Aplikovaná látka	Hodnoty v $\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1}$ tkaniva									
		pečeň	P	obličky	P	pľúca	P	srdce	P	svalovina	P
20	technický chlór tetracyklín Aureovit 12 C ₄₀	1,840 ± 0,220		0,450 ± 0,050		/		/		/	
40	technický chlór tetracyklín Aureovit 12 C ₄₀	2,000 ± 0,100		0,550 ± 0,030	×	0,075 ± 0,010	×	0,095 ± 0,015	×	0,065 ± 0,010	×
20	chlorid chlór tetracyklína substancia	1,225 ± 0,128		0,300 ± 0,010		0,0375 ± 0,015		0,0375 0,013		/	
40	chlorid chlór tetracyklína substancia	1,380 ± 0,100		0,450 ± 0,040	×	0,176 ± 0,011	×	0,200 ± 0,010	×	0,090 ± 0,013	×
20	chlorid oxytetracyklína Oxymykoin pulv. sol. a. u. v.	0,425 ± 0,030		0,740 ± 0,055		/		0,0825 ± 0,010		/	
40	chlorid oxytetracyklína Oxymykoin pulv. sol. a. u. v.	0,560 ± 0,025	×	0,890 ± 0,035	×	0,098 ± 0,010	×	0,260 ± 0,043	×	0,075 ± 0,015	×
20	chlorid tetracyklína Tetramykoin tabl. a. u. v.	/		0,350 ± 0,045		0,500 ± 0,060		1,640 ± 0,180		/	
40	chlorid tetracyklína Tetramykoin tabl. a. u. v.	0,250 ± 0,016	×	0,650 ± 0,040	×	0,930 ± 0,043	×	1,840 ± 0,055	×	0,095 ± 0,020	×

Hodnoty $\bar{x} \pm \text{SD} \cdot N = 10$ + $p < 0,05$

K nižšiemu vzostupu dochádza v poradí: po chloride oxytetracyklínu ($p < 0,05$), chloride chlór-tetracyklínu ($p < 0,05$), nevýznamné je zvýšenie po technickom chlór-tetracyklíne. Výraznejší vzostup hladín chloridu tetracyklínu a chloridu oxytetracyklínu v sére po ich vyššom dávkovaní nie je v súlade so zisteniami autorov Schach von Wittenau a Delahunt (1966), ale je zhodný s údajmi, ktoré uviedli Heilmayer a i. (1969), Vesell (1975) a ďalší. Nevýznamný vzostup sérových hladín technického chlór-tetracyklínu po jeho odstupňovanom 100% vyššom dávkovaní je zhodný s údajmi, ktoré uverejnili Grove a Randall (1955), a podporuje údaje autorov Welch (1950) a Wenke a i. (1984), ktorí uvádzajú, že po 100% zvýšení jednotlivjej perorálnej dávky chlór-tetracyklínu sa jeho hladiny v krvi zvyšujú asi o jednu tretinu. Nevýrazný vzostup sérových hladín technického chlór-tetracyklínu po uvedenom odstupňovanom dávkovaní by sa mohol vysvetliť v spojitosti s jeho nedostatočným prechodom z možnej komplexnej väzby (nerozpustná forma) na chlorid (rozpustná forma) v prostredí žalúdočnej šťavy (ako uvádzajú Růžička a Stolejda, 1965), alebo v súvislosti s limitujúcou resorpčnou kapacitou črevnej sliznice s úmerným dopadom na jeho resorpčné pochody (Welch, 1950). Je však najpravdepodobnejšie, že sa obidva uvedené pochody podieľajú súčasne.

Rozdiely medzi sérovými hladinami zistenými u jednotlivých zhodných tetracyklínov po ich podaní v dávke $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. a medzi hladinami po ich dávke $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. podané v upravených liekových formách podporujú údaje, ktoré uverejnili Welch (1950), Walter a Heilmayer (1965), Heilmayer a i. (1969), Vesell (1975) a ďalší, v tom zmysle, že nie u všetkých sledovaných tetracyklínových antimikrobík sa zvyšovaním jednotlivjej perorálnej dávky darí výraznejšie zvyšovať aj ich sérové koncentrácie.

Z hľadiska dosahovania výšky hladín jednotlivých tetracyklínov v sére sa mení aj ich poradie v závislosti od dávky. Po dávke $20 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. vytvára najvyššie koncentrácie (od 12. hodiny) technický chlór-tetracyklín, nižšie v tomto poradí: chlorid chlór-tetracyklínu, chlorid tetracyklínu a chlorid oxytetracyklínu. Po dávke $40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. hm. najvyššie koncentrácie vytvára chlorid tetracyklínu, nižšie v tomto poradí: chlorid chlór-tetracyklínu, chlorid oxytetracyklínu a najnižšie technický chlór-tetracyklín.

Pri porovnávaní výšky hladín sledovaných tetracyklínov v sére po ich podaní v rovnakej dávke musíme brať do úvahy fakt, že môžu byť do určitej miery ovplyvnené tým, že sme ich aplikovali v rôznych liekových formách aj napriek tomu, že sme ich pred aplikáciou upravili.

V súčinnosti so zvyšovaním sérových hladín sledovaných tetracyklínov po ich vyššom dávkovaní sa súčasne predlžil biologický polčas, a to po chloride tetracyklínu z 5,5 až 6,5 na 6,5 až 7,0 hodín, po chloride chlór-tetracyklínu z 6 až 7 na 6,5 až 7 hodín, po chloride oxytetracyklínu z 5 až 6 na 6 hodín. V podstate sa nezmenil po technickom chlór-tetracyklíne — cca 8,5 hodiny.

Po zvýšení dávky sledovaných tetracyklínov sa úmerne zvýšili aj ich koncentrácie v mäkkých tkanivách a registrovali sa vo všetkých sledovaných orgánoch, resp. vo svalovine.

PodĎakovanie

Ďakujem pracovníkom katedry farmakológie LF UPJŠ za láskavé poskytnutie technickej pomoci a odborným pracovníkom podniku Bioveta v Slovenskej Lupti za poskytnutie chloridu chlór tetracyklínu a Aureovitu 12 C₄₀.

Literatúra

- ALYKOVA, T. V.: Fluorometričeskije opredelenija soderžanija tetraciklina v syvotke krovi čeloveka i životnych. Antibiotiki, 17, 1972, č. 4, s. 353-355.
- BRODIE, B. B.: Physiochemical and biochemical aspects of pharmacology. J. Amer. veter. med. Assoc., 202, 1967, č. 7, s. 148-157.
- GROVE, D. C. — RANDALL, W. A.: Assay methods of antibiotics. New York, Medical Encyclopedia 1955.
- HEILMAYER, L. — OTTEN, H. — PLEMPPEL, M.: Antibiotika — Fibel. Stuttgart, G. Thieme Verlag 1969.
- KUNELIS, C. T. — PETERS, J. L. — EDMONSON, H. A.: Fatty liver of pregnancy and its relationship to tetracycline therapy. Amer. J. Med., 38, 1965, s. 359-377.
- RŮŽIČKA, B. — STOLEJDA, J.: Stanovení biologické účinnosti CTC a jeho obsahu v krmném doplňku Aureovit 12. Živoč. Výr., 10, 1965, s. 357-366.
- SAKAGUCHI, T. — YOSHIMITSU, S.: Effect of administration of tetracycline of the contents of nucleotides in liver. J. pharmacol. Soc. Jap., 92, 1972, č. 5, s. 649-651.
- SCHACH VON WITTERNAU, M. — DELAHUNT, C. S.: The distribution of tetracyclines in tissues of dogs after repeated oral administration. J. Pharmacol. exp. Therap., 152, 1966, s. 164-169.
- SCHATZ, F.: Fluorometric determination of tetracycline in serum and urine. Arzneimittelforschung, 23, 1973, č. 3, s. 426-428.
- SCHÖLKENS, B.: Circulatory effect of intravenously administered rolitetracycline and other tetracyclines in animal experiments. Arzneimittelforschung, 24, 1974, č. 3, s. 312-317.
- VESELL, E. S.: Pharmakokinetik. Der individuelle Faktor bei der Reaktion auf Pharmaka. Triangel, 14, 1975, č. 3—4, s. 126-130.
- VONDERBANK, H.: Aureomycin and Achromycin. Arzneimittelforschung, 6, Beiheft, 1956.
- WALTER, A. M. — HEILMAYER, L.: Antibiotika — Fibel. Stuttgart, G. Thieme Verlag 1965.
- WELCH, H.: The clinical application of antibiotics. Ann. J. Acad. Sci., 53, 1950, s. 253.
- WENKE, M. — MRÁZ, M. — HYNIE, S.: Farmakologie pro lékaře II. Praha, Avicenum, Zdravotnické nakladatelství 1984, s. 960.

Došlo dňa 25. 3. 1988

НЕУШЛ, Й. (Ветеринарный институт, Кошице): Влияние ступенчатых доз некоторых тетрациклинов на их серумные уровни и концентрации в мягких тканях. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 371-380.

На взрослых кроликах породы калифорнское белое изучали концентрацию в мягких тканях, биологическое половинное время и серумные уровни ниже приведенных тетрациклинов: технического хлортетрациклина (Ауреовит 12 С₄₀ — Споба), хлорид тетрациклина (Тетрамикон табл. для ветеринарного употребления — Споба), хлорид тетрациклина (субстанция — Фермиталя) и хлорид окситетрациклина (Оксимикин pulv. sol. для ветеринарного употребления — Споба) после их дозы 40 мг·кг⁻¹ живой массы. Данные концентрации сравнивали с приведенным фармакокинетическим параметром после применения в дозе 20 мг·кг⁻¹ живой массы. Изучаемые тетрациклины применяли однократно в рот в приведенных лекарственных формах, которые до применения подготовили в растворы, т.е. суспензии (Ауреовит 12 С₄₀). Нам было возможным их точно дозировать зондом. Не у всех изучаемых тетрациклинов после увеличения их дозы установили выразительные различия в уровнях серума, концентрациях в мягких тканях, т.е. в сроке их биологического половинного времени в противоположность приведенным фармакокинетическим параметрам после их подачи в дозе 20 мг·кг⁻¹ живой массы. Уровни серумов были самыми высокими после хлорида тетрациклина и самыми низкими после технического хлортетрациклина.

технический хлортетрациклин; хлорид тетрациклина; хлорид хлортетрациклина; хлорид окситетрациклина; резорбционная мощность

NEUSCHL, J. (University of Veterinary Medicine, Košice): *The Effect of Differentiated Doses of Some Tetracyclines on their Serum Levels and Concentrations in Soft Tissues*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 371-380.

In adult rabbits of the Californian White breed soft-tissue concentrations, biological half-time and serum concentrations of tetracyclines were investigated as follows: technical chlortetracycline (Aureovit 12 C₄₀ — Spofa), tetracycline chloride (Tetramycin tabl. a. u. v. — Spofa), chlortetracycline chloride (substance — Fermitalia) and oxytetracycline chloride (Oxymycin pulv. sol. a. u. v. — Spofa); tetracycline doses were 40 mg per kg live weight. These concentrations were compared with the mentioned pharmacokinetic parameter after administration of a dose of 20 mg per kg live weight. The tetracyclines were administered at single peroral doses as the abovementioned forms of drugs, which were prepared before administration into solutions or suspensions (Aureovit 12 C₄₀). Therefore they could be administered at precise doses by means of a tube. The administration of double doses of tetracyclines did not induce any larger differences in their serum concentrations, in soft-tissue concentrations, and/or in the biological half-time, in comparison with the mentioned pharmacokinetic parameter after administration of a dose of 20 mg per kg live weight. Serum concentrations were the highest after tetracycline chloride administration and the lowest after technical chlortetracycline.

technical chlortetracycline; tetracycline chloride; chlortetracycline chloride; oxytetracycline chloride; resorption capacity

NEUSCHL, J. (Veterinärmedizinische Hochschule, Košice): *Einfluß abgestufter Dosen einiger Tetrazykline auf deren Serumspiegel und Konzentrationen in weichen Geweben*. Veter. Med. (Praha), 34, 1989 (6) : 371-380.

An reifen Kaninchen der Rasse Weißes Kalifornisches Kaninchen untersuchten wir in den weichen Geweben die biologische Halbwertszeit und die Serumspiegel folgender Tetrazykline: technisches Chlortetrazyklin (Aureovit 12 C₄₀ — Spofa), Tetrazykliniumchlorid (Tetramycin tabl. a. u. v. — Spofa), Chlortetrazykliniumchlorid (substantia — Fermitalia) und Oxytetrazykliniumchlorid (Oxymycin pulv. sol. a. u. v. — Spofa) u. zw. nach einer Dosis dieser Präparate von 40 mg.kg⁻¹ Lebendmasse. Diese Konzentrationen verglichen wir mit dem angeführten pharmakokinetischen Parameter nach einer Applikation in einer Dosis von 20 mg.kg⁻¹ Lebendmasse. Die zu untersuchenden Tetrazykline applizierten wir einmalig peroral in den angeführten Medikamentformen, die vor der Applikation zu Lösungen bzw. zur Suspension (Aureovit 12 C₄₀) aufbereitet wurden. Auf diese Weise war eine genaue Dosierung mittels Sonde gewährleistet. Nicht bei allen getesteten Tetrazyklinen waren nach der Verdoppelung ihrer Dosis markantere Unterschiede in den Serumspiegeln, in den Konzentrationen in den weichen Geweben bzw. in der Länge ihrer biologischen Halbwertszeit gegenüber den angeführten pharmakokinetischen Parametern nach ihrer Verabreichung in einer Dosis von 20 mg.kg⁻¹ Lebendmasse zu verzeichnen. Die Serumspiegel waren am höchsten nach dem Tetrazykliniumchlorid und am niedrigsten nach dem technischen Chlortetrazyklin.

technisches Chlortetrazyklin; Tetrazykliniumchlorid; Chlortetrazykliniumchlorid; Oxytetrazykliniumchlorid; Resorptionskapazität

Adresa autora:

MVDr. Jozef Neuschl, CSc., Vysoká škola veterinárská, Komenského 73, 041 81 Košice

GISTOLOGIJA LOKOMOTORNOJ SISTEMY DOMAŠNICH ŽIVOTNYCH

HISTOLOGIE POHYBOVÉ SOUSTAVY DOMÁCÍCH ZVÍŘAT

J. T. Tehver

Estonkaja seİskochozjajstvennaja akademija, „Valgus“, Tallinn 1988, 100 str., formát 20 X 25 cm.

Histologie pohybové soustavy domácích zvířat je třináctým, závěrečným svazkem *Histologie domácích zvířat*. Dílo vydané profesorem Tehverem v rozmezí let 1965 až 1988 zahrnuje histologii domácích ptáků, histologii urogenitálních orgánů a mléčné žlázy, cévně srdeční soustavy a krevetvorných orgánů, histologii kožního systému, žláz s vnitřní sekrecí, trávicího a dýchacího ústrojí, smyslových orgánů a nervové soustavy.

Samostatný svazek, který by se zabýval pohybovým aparátem, autor původně neplánoval vzhledem k tomu, že problematika je víceméně náplní obecné histologie. Vynutily si jej objektivní faktory. Stále více se prosazující průmyslový charakter chovu hospodářských zvířat, jednostranná selekce na vysokou užitkovost, zejména na extrémní nárůst svaloviny na jedné straně a na subtilní kostru na straně druhé, radikální snížení tukové vrstvy, intenzivní krmení a chov, ale i imbalance hormonálního systému, labilita neurovegetativního systému, nedostatečnost cévně srdečního systému atd., daly v posledních desetiletích vznik různým patomorfologickým postižením především kosterní a svalové soustavy. Současně se neobyčejně zintenzívnily výzkumy v oboru patologie, značně se rozšířily nové poznatky v oblasti optické mikroskopie, ultrastruktury, histochemie a biochemie i v otázkách degenerace, regenerace, věkových změn svalových vláken a jejich typové konverze.

Třináctý díl zahrnuje soustavu kosterní, kloubní a svalovou. Poznatky o kostní tkáni a kostech jsou rozděleny do jedenácti podkapitol a ty jsou dále ještě členěny. Po úvodu, v němž se poukazuje na specifiku lokomoční soupravy, jsou charakterizovány jednotlivé typy kostní tkáně, potom jejich strukturální elementy, blastocyty, osteoklasty a matrix. V poznámkách o chemické skladbě kostní tkáně je věnována pozornost především metabolismu kalcia a jeho rovnováže.

V další části se popisují lamelární systémy, jejich uspořádání v osteony (dřívější Haverské systémy), jsou objasněny nově definované struktury, osteonoidy, demonstrovány druhové i topografické rozdíly mikroskopické struktury diafýzy a specifita mikroskopického obrazu v místech inserce šlach a vazů. Po obecné charakteristice struktury kompakty tubicovitých kostí jsou uvedeny druhové rozdíly u jednotlivých hospodářských zvířat, procentuální podíl organické a neorganické složky v různých kostech, uspořádání oseinových vláken v lamelárním systému osteonů, „mikrotvrdość“ tkáně kompakty ve vztahu k zatížení a rozdílné odolnosti jednotlivých úseků osteonů. Mikrotvrdość se odlišuje od hutnosti kompakty vyjádřené v zátěži na 1 cm³ a výrazně se mění podle věku.

Samostatná kapitola je věnována medulární kosti (*os medullare*), její úloze u snáškových ptáků a jejím morfologickým proměnám ve spojitosti se snáškou vaječ. Otázky krevního zásobení, výživy a inervace kostí jsou řešeny formou základních informací s odkazy na další literaturu. Naopak podstatně více pozornosti je věnováno vývoji kostní tkáně i celých kostí, růstu kostí do tloušťky a do délky, histologickým proměnám při srůstech kostních fraktur a konečně faktorům působícím na rozvoj i strukturu kostí včetně faktorů hormonálních.

Histologie kloubů je soustředěna především na synoviální spojení kostí a na mikroskopii jednotlivých součástí kloubu včetně synovie. *Cellulae synoviales* jsou popisovány jako *synoviocyti phagocytici* a *synoviocyti secretorii*. Ve stati o kloubní chrupavce jsou sice zařazeny některé nejnovější studie, ale vzhledem k častému onemocnění těchto orgánů u hospodářských zvířat by zasluhovala větší pozornost, zaměřené i na subchondrální úseky a růstové chrupavky.

Stručně jsou probrány ostatní způsoby spojení kostí a mikroskopie šlachových pochev. Soupis citované literatury, uzavírající mikroskopii kostry a kloubů, čítá 120 údajů.

Svalová tkáň je rozdělena v *textus muscularis nonstriatus*, *textus striatus scetalis* a *cardiacus*. Její strukturální buněčné elementy označuje autor jako *myocyti nonstriati*, *myocyti scetales*, *cardiaci* a *myosatelitocyti*. Ve dvoustránkové tabulce uvádí základní rozdílnosti mezi uvedenými typy svalové tkáně pokud jde o buněčnou charakteristiku, vznik a vývoj, orgán či strukturu výskytu, ultrastrukturu myocytů, charakter inervace a funkce. Striktně je dodržován pojem myocyt namísto myofibra.

Sval jako orgán je uveden obecnou mikroskopickou charakteristikou. Pokračuje se strukturálním uspořádáním *fasciculí musculares*, pojivových komponent svalu včetně mikroskopie povázek, aponeuróz a šlach, intramuskulárním uspořádáním krevního a nervového systému. Další podkapitoly se zabírají motorickými jednotkami a histologickými rozdílnostmi mezi statickými a dynamickými svaly.

Strukturální jednotka kosterního svalu, mnohojaderná svalová buňka (*myocytus scetalis*), je v dosavadní literatuře pro svůj vzhled většinou označována jako *myofibra transversostriata*. Té je věnováno nejvíce prostoru. V jednotlivých podkapitolách se popisují její kontraktilní orgány až po molekulární stavbu myofilament a ostatní organely myocytů, včetně komplikované struktury myocytární membrány, myosatelitocyty, mechanismus kontraktility myocytů, dále pak jejich morfo-metrie s přihlédnutím k druhovým, plemenným a pohlavním rozdílům, vlivu krmení, zevního prostředí, dynamice prenatálních a postnatálních věkových proměn atd. Po poznámkách o chemické stavbě svalové tkáně jsou zařazeny kapitoly o histochemické charakteristice kosterních svalových vláken a jejich typové diferenciaci. Tato charakteristika poskytuje zcela nové pohledy na vlastnosti a funkce svalů i na jejich využití při selekci zvířat, při zkvalitňování svaloviny, zvyšování přírůstků i zkvalitňování zdraví zvířat. Charakteristika a diferenciatní znaky tří základních typů svalových vláken jsou shrnuty v tabulce.

Závěrečné kapitoly jsou věnovány neméně významným a aktuálním problémům — fyziologické degeneraci kosterních myocytů, intracelulární regeneraci myocytů, posttraumatické regeneraci a trofice svalů. Také ke statí o svalovém systému je připojen seznam citované literatury s téměř 170 údaji.

Podobně jako předchozí svazky *Histologie domácích zvířat* je i tento svazek vybaven rusko-latinsko-anglicko-francouzsko-německým slovníčkem odborných výrazů. Látka je podána velmi srozumitelně, je provázána zdařilými instruktivními obrazy, i když ve srovnání s předchozími svazky poněkud méně početnými.

Histologie domácích zvířat od prof. Tehvera dosáhla posledním svazkem celkového rozsahu 1675 stran velkého formátu se 600 kresbami, 87 tabulemi mikroskopických a více než 3000 literárních citací. Nejen rozsahem, ale i odbornou a zejména didaktickou úrovní nemá v literatuře svého druhu v současné době obdoby. Mimořádnost díla spočívá i v tom, že přes značný nárůst informací bylo sepsáno jediným autorem, že je důsledně uplatňována mezinárodní odborná terminologie a že všechny díly jsou opatřeny pětijazyčným slovníkem odborných termínů. Všechny svazky byly vysoce hodnoceny v mnoha zahraničních časopisech a byly odměněny stříbrnou medailí na Výstavě hospodářských úspěchů SSSR v roce 1968 a Státní premií Estonské SSR v roce 1977.

Jaké úsilí si celé dílo vyžádalo, ví jen autor. Má-li být výsledek tohoto úsilí plně zhodnocen a především využit, je třeba, aby dříve vydané díly byly zaktualizovány a aby celé dílo bylo souborně vydáno nejen v ruštině, ale i v anglické verzi, a tak zpřístupněno co nejširší odborné veřejnosti.

Doc. MVDr. Jiří K a m a n, CSc.,
Vysoká škola veterinární, Brno

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 7/89 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny články:

- M. Granátová, I. Pšikal: Buňkami zprostředkovaná imunita u telat imunizovaných nebo infikovaných virem infekční bovinní rhinotracheitidy
- J. Brouček, D. Gajdošík, K. Kovalčík, V. Brestenský: Zdravotný stav a metabolické ukazovatele u telat napájaných mledzivom a nezrelým mliekom konzervovaným sorbanom draselným a mliečnou kŕmnou zmesou
- V. Lisák, J. Vošta, J. Řeháček: Výskyt *Coxiella burnetti* a *Chlamydia psittaci* u hovädzieho dobytku v južných Čechách
- V. Míčková, J. Lukášová, S. Konečný: *Pseudomonas aeruginosa* v syrovém a pasterovaném mléce
- V. Ostrý, M. Polster: Nálezy kyseliny cyklopiazonové a jejích producentů v poživatinách
- M. Dvořák, A. Láníková, S. Kosková, I. Diblíková: Fluorometrické hodnocení aflatoxinogenity kmenů plísně *Aspergillus flavus* a *Aspergillus parasiticus* po kultivaci v tekutém médiu
- I. Jakubička, M. Barta, P. Babušík: Fertilizačná kapacita ejakulátu nutrií (*Myocastor coypus*) po exstirpácii semenných včkov, zistená testom penetrácie a prirodzeným párením

Upozorňujeme čtenáře, že číslo 9/89 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

má být tematicky zaměřeno na radiobiologii
a mají v něm být uveřejněny články:

- J. Hrušovský, M. Tokošová, P. Mižik: Kontaminácia potravín rádionuklidmi cézia
- J. Choma, J. Hajurka, J. Elečko, A. Jušíková: Rádioimunologické stanovenie progesterónu a rektálna palpácia ovárií pri embryonálnej mortalite kráv
- P. Mižik, J. Hrušovský, M. Tokošová: Vplyv prírodného zeolitu na vylučovanie a distribúciu rádiocézia u potkanov
- I. Maraček, A. Jušíková, V. Hendrichovský, E. Bekeová, M. Krajničáková: Koncentrácia progesterónu a estradiolu krvného séra vo vzťahu k terciárnym folikulom vaječníka oviec v proestre a po podaní gonadoliberínu
- J. Jandl, J. Novosad, J. Francová, H. Procházka: Odstraňování cézia z jeleního masa
- E. Bekeová, J. Elečko, V. Hendrichovský, J. Hajurka, J. Choma, M. Krajničáková: Zabrezávanie dojníc v rôznych ročných obdobiach vo vzťahu ku koncentráciám tyroxínu a trijótýronínu
- H. Procházka, J. Jandl, V. Jirásek, J. Francová, K. Sekera: Aspekty dlouhotrvající ingesce kontaminované potravy u hovězího dobytka a zvěře

CONTENTS

Paulík Š., Vrzgula L.: The Use of Dinitrofluorobenzene to Prove Cell Immunological Responses in Calves	321
Muška M., Steiner J.: The Influence of Insekticide-Treated Ear Tags on the Milk Efficiency of Dairy Cows Reared in Pasture	329
Molnárová M., Przala J., Arendarčík J., Molnár P.: The Effect of Synchronization and Stimulation of Ewe Ovaries on the Trypsin Inhibiting Activity (TIA) of the Blood Plasma and Follicular Populations	335
Lukeš Š., Holasová E.: Development of Circulating Antibodies in Rabbits during Primary Experimental Infection by <i>Strongyloides papillosus</i> (Wedl, 1856) of Ovine Origin	349
Jakubička I., Barta M.: The Influence of Seminal Vesicles Secretion on some Qualitative Characteristics of Male Coypu Ejaculate	355
Krajčovičová-Kudláčková M., Dibák O.: The Utilization of Proteins and High Intake of Fats and Saccharides in Norway Rats at the Age from 30 to 150 Days	361
Neuschl J.: The Effect of Differentiated Doses of Some Tetracyclines on their Serum Levels and Concentrations in Soft Tissues	371

INHALT

Paulík Š., Vrzgula L.: Einsatz von Dinitrofluorbenzol zum Nachweis der Zellimmunreaktion bei Kälbern	321
Muška M., Steiner J.: Einfluß von Insektizid-Ohrmarken auf die Milchleistung von Kühen bei Weidenhaltung	329
Molnárová M., Przala J., Arendarčík J., Molnár P.: Einfluß der Synchronisierung und Stimulierung der Schafovaren auf TIA (Trypsin-Inhibitionsaktivitäten) des Blutplasmas und die Follikelpopulationen	335
Lukeš Š., Holasová E.: Entwicklung zirkulierender Antikörper bei Kaninchen bei primärer experimenteller Invasion von <i>Strongyloides papillosus</i> (Wedl, 1856) aus Schafen	349
Jakubička I., Barta M.: Einfluß des Samenblasensekrets auf einige qualitative Parameter des Ejakulats der Sumpfbiber- (Nutria-) böcke	355
Krajčovičová-Kudláčková M., Dibák O.: Verwertung der Proteine und hohe Fett- und Saccharidenaufnahme bei Wanderratten im Alter von 30 bis 150 Tagen	361
Neuschl J.: Einfluß abgestufter Dosen einiger Tetrazykline auf deren Serumspiegel und Konzentrationen in weichen Geweben	371

Rukopisy odevzdány k tisku 1. 3. 1989 — Podepsáno k tisku 29. 4. 1989

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 1989

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá každá administrace PNS, pošta, doručovatel a PNS-ÚED Praha, ACT, 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, administrace vývozu tisku, Kovpakova 26, 160 00 Praha 6.