

8-10/2x

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

11

ROČNÍK 35 (LXIII)
PRAHA
LISTOPAD 1990
CENA 15 Kčs
CS ISSN 0375-8427

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.

Vedoucí redaktorka ing. Zdeňka Radošová

OBSAH

Lazár L., Elečko J., Maraček J.: Vplyv steroidnej dominance na koncentrácie cAMP, cGMP, progesterónu a 17 beta-estradiolu v tekutine najväčšieho folikulu	641
Slanina L., Slivka P., Struháriková J.: Transmamárny prestup dusičnanov a dusitanov u prežúvavcov a úroveň methemoglobinemie v krvi mláďat a ich matiek	647
Legáth J., Kačmár P., Tomáš J.: Zmena koncentrácií aminokyselín v baktériách adherovaných na epitel bachora oviec po perorálnej záťaži organizmu extrémne nízkymi dávkami ortute	657
Ježková D., Knotková Z., Pleskač Z., Smrčková M.: Změny koncentrace volných aminokyselin v krevní plazmě u prasnic při porodu a u selat v průběhu rození	667
Kudweis M., Juliš I., Lojda Z., Vítovec J., Koudela B.: Denzitometrická analýza aktivity aminopeptidázy M ve sliznici tenkého střeva selat experimentálně infikovaných kokcií <i>Isospora suis</i>	679
Dibák O., Krajčovičová-Kudláčková M.: Fyziologická potreba bielkovín kazeínu a pšeničného gluténu u štvormesačných kryš	695

СОДЕРЖАНИЕ

Лазар Л., Елечко Я., Марачек И.: Влияние стероидной доминантности на концентрацию cAMP, cGMP, прогестерона и 17 бета-эстрадиола в жидкости самого крупного фолликула	645
Сланина Л., Сливка П., Стругарикова Я.: Трансаммарный переход нитратов и нитритов жвачных и уровень метемоглобинемии в крови молодняка и их маток	655
Легат Я., Качмар П., Томаш Я.: Изменение концентраций аминокислот в бактериях, адгерирующих в эпители рубца у овец после пероральной нагрузки организма экстремально низкими дозами ртути	664
Ежкова Д., Плескач З., Смрчкова М., Knotkova Z.: Изменения концентрации свободных аминокислот в кровяной сыворотке у свиноматок во время опороса и у поросят в процессе рождения	676
Кудваис М., Юлиш И., Лойда З., Витовец Й., Коудела Б.: Денситометрический анализ активности аминопептидазы М с слизистой тощей кишки поросят экспериментально зараженных кокцидиями <i>Isospora suis</i>	692
Дивак О., Крайчовичова-Кудлачкова М.: Физиологическая норма белков казеина и пшеничного глютина у четырехмесячных крыс	704

L. Lazár, J. Elečko, I. Maraček

LAZÁR, L. — ELEČKO, J. — MARAČEK, I. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Vplyv steroidnej dominancie na koncentrácie cAMP, cGMP, progesterónu a 17 beta-estradiolu v tekutine najväčšieho folikulu*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (11): 641—646.

Študovali sa koncentrácie a vzájomné korelačné vzťahy cyklického adenosínmonofosfátu (cAMP), guanosínmonofosfátu (cGMP), progesterónu (P_4), 17 beta-estradiolu (E_2) vo folikulárnej tekutine najväčších folikulov kráv v závislosti na steroidnej dominancii — estrogén dominantné (ED), progesterón dominantné (PD) folikuly. Priemerné koncentrácie cAMP a cGMP vo folikulárnej tekutine estrogén dominantných folikulov boli signifikantne vyššie ako v progesterón dominantných folikuloch v oboch prípadoch pri $P < 0,001$. Pri posudzovaní korelačných vzťahov sa zistil významný pozitívny korelačný vzťah medzi cAMP a cGMP pri $P < 0,01$. Koncentrácie cAMP a cGMP boli v signifikantne negatívnej korelácii s koncentraciami P_4 , pri $P < 0,005$, resp. $P < 0,01$, zatiaľ čo s E_2 boli vo významnej pozitívnej korelácii pri $P < 0,05$. Uvedené závislosti poukazujú na úzky vzájomný vzťah medzi cyklickými nukleotidami a E_2 , resp. P_4 pri zmene kvality folikulov.

cAMP; cGMP; 17 beta-estradiol; progesterón; folikulárna tekutina

Zrelý ovariálny folikul je štruktúra schopná rozmanitého komplexu hormonálnych odpovedí. Tonické koncentrácie gonadotropínu indukujú dozrievanie folikulov zahrňujúc proliferáciu a steroidogézu buniek granulózy a téky. Ich interakcia s membránovými receptormi buniek folikulov vyvoláva v prvom rade aktivizáciu membránovej adenylcyklázy, ktoré za prítomnosti iónov Mg^{2+} mení ATP na cAMP a organický fosfát (Schreiber, 1979). Cyklický adenosínmonofosfát ako druhý posol vyvoláva vlastné metabolické reakcie vo vnútri bunky hlavne aktivizáciou bunecných enzýmov steroidogézy (Robinson a i., 1970). Experimentálne sa dokázalo, že väčšina účinkov LH a FSH vo folikuloch sú sprostredkované cAMP (Marsch, 1975; Kolena a Channing, 1972). Toto tvrdenie je založené na indukovanom akútnom zvýšení produkcie cAMP bunkami granulózy folikulov po gonadotropnej stimulácii (Kolena a Channing, 1972). Ovulačná dávka lutropínu alebo HCG stimuluje adenylcyklázový systém, pričom dochádza k veľkému zvýšeniu v produkcii cAMP v tkanive folikulov i k zvýšenému uvoľňovaniu steroidov a to hlavne estradiolu (Marsch a i., 1987).

Vo folikulárnej tekutine rastúcich veľkých folikulov sa zisťujú vysoké koncentrácie estradiolu, zatiaľ čo v atretizujúcich folikuloch sú ich kon-

centrácie nízke, pri zvyšujúcich sa koncentráciách progesterónu. Folikuly s vyššími koncentraciami 17 beta-estradiolu ako progesterónu sa volajú estrogén dominantné, zatiaľ čo progesterón dominantné folikuly majú vyššie koncentrácie progesterónu ako estradiolu (Ireland a Roche, 1983a).

V práci sa sledovali koncentrácie cyklického adenosínmonofosfátu (cAMP) a cyklického guanosínmonofosfátu (cGMP) vo folikulárnej tekutine najväčších folikulov kráv, ako aj 17 beta-estradiolu a progesterónu s cieľom určenia steroidnej dominancie sledovaných folikulov pri posúdení koncentrácií cAMP a cGMP v oboch typoch folikulov ako aj určenia vzájomnej korelácie medzi koncentraciami steroidov a cyklických nukleotidov vo folikulárnej tekutine.

MATERIÁL A METÓDY

Vaječníky sa získavali náhodným výberom pohlavných orgánov na bitútku do 30 min. od zabitia zvierata. Získané vaječníky sa uložili do ľadového fyziologického roztoku až do spracovania. Vaječníky sa odoberali od zdravých a negravídnych zvierat. Do pokusu sa zaradilo 31 párov vaječníkov, na ktorých zo 47 ks najväčších folikulov bola aspirovaná folikulárna tekutina. Táto sa scentrifugovala na chladiacej centrifúge pri otáčkach 3000 G. Supernatant sa oddelil a uložil do mrazničky pri teplote -18°C až do spracovania.

K stanoveniu 17 beta-estradiolu a progesterónu vo folikulárnej tekutine sa použili súpravy z ÚRVJT (Košice) pod typovým označením RIA-test-Estra (SI-125-9), resp. RIA-test-Prog (SI-125-8). Folikulárna tekutina bola riedená 1,5% hovädzím gamaglobulínom. Intra- a inter-assay koeficient variácií použitej metódy spracovania 17 beta-estradiol RIA súpravy bola 10,1 a 13,3 %, pre progesterón RIA súpravy 11,4 a 13,7 %.

Koncentrácie cyklických nukleotidov sa stanovili RIA súpravami z ÚVVVR (Praha). Koeficient variácií intra- a inter-assay zvolenej metódy s použitými súpravami pre cAMP typového označenia cAMP¹²⁵J RIA kit (RIO12) boli 9,1 a 11,4. Koeficient variácií pre súpravy cGMP¹²⁵J RIA kit (RIO42) bol 9,8 a 11,6 %. Na určenie steroidnej dominancie folikulov sa použila metóda autorov Callesen a i. (1986) založená na vyjadrení vzájomného indexu pomeru medzi progesterónom a 17 beta-estradiolom. Folikuly s indexom podielu koncentrácií progesterónu a estradiolu menším ako 0,8 sa považovali za estrogén dominantné od 0,8 až 1,2 za folikuly v prechodnej fáze vývoja a s indexom nad 1,2 za folikuly progesterón dominantné.

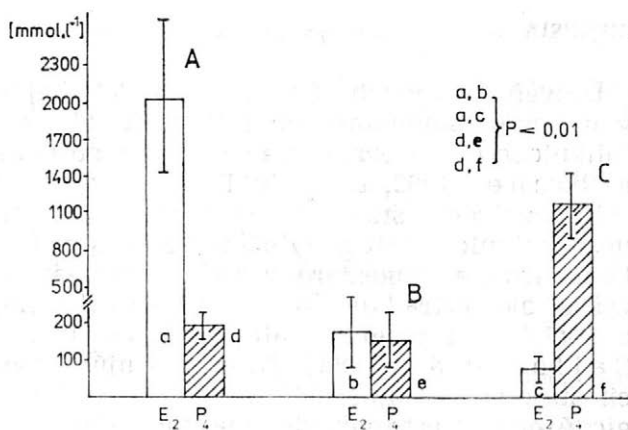
Testovanie významnosti medzi dvoma súbormi hodnôt sa robilo nepárovým Studentovým *t*-testom po predchádzajúcom testovaní významnosti rozdielu medzi smerodajnými odchýlkami pomocou *F*-testu (Sokal a Rohlf, 1969). Štatistická závislosť korelačných vzťahov jednotlivých dvojíc hodnôt sa analyzovala metódou lineárnej korelácie. Samotné štatistické analýzy boli robené na mikropočítači ZX Spectrum štatistickým programom Stat 87. Výsledky sú uvádzané v $\text{nmol.l}^{-1} \pm \text{SEM}$.

VÝSLEDKY

V estrogén dominantných folikuloch sa zistili signifikantne vyššie koncentrácie estradiolu oproti progesterón dominantným a folikulom v prechodnej fáze vývoja pri $P < 0,01$.

Priemerné koncentrácie progesterónu pri estrogén dominantných folikuloch boli signifikantne nižšie pri $P < 0,01$ ako v progesterón dominantných folikuloch. Rovnako významne nižšie boli koncentrácie progesterónu vo folikulárnej tekutine folikulov v prechodnej fáze vývoja pri $P < 0,01$. Rozdiely sú graficky znázornené na obr. 1.

Pri porovnaní priemerných koncentrácií cyklických nukleotidov v závislosti na aktivite steroidov vo folikuloch zistilo sa, že estrogén dominantné folikuly mali signifikantne vyššie priemerné koncentrácie cAMP, cGMP vo folikulárnej tekutine ako progesterón dominantné, v oboch prípadoch pri $P < 0,001$.

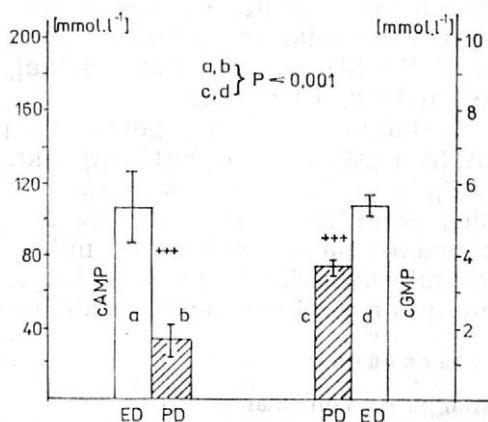


A — estrogen dominantné folikuly ($P:E < 0,8$)
 B — folikuly v prechodnej fáze ($P:E = 0,8-1,2$)
 C — progesterón dominantné folikuly ($P:E > 1,2$)

1. Priemerné koncentrácie 17 beta-estradiolu (E_2) a progesterónu (P_4) vo folikulárnej tekutine najväčšieho folikulu v závislosti od steroidnej dominance — Average 17-beta-estradiol (E_2) and progesterone (P_4) concentrations in the fluid of the largest follicle in dependence on steroid dominance.

Priemerné koncentrácie oboch nukleotidov sú graficky znázornené na obr. 2.

Pri posúdení korelačných vzťahov medzi sledovanými parametrami sme zistili pozitívny korelačný vzťah medzi cAMP a cGMP: $r = 0,50$; $S.V. = 41$ pri $P < 0,001$. Cyklický AMP bol v negatívnej korelácii s koncentraciami progesterónu: $r = -0,35$; $S.V. = 41$ pri $P < 0,05$, podobne v negatívnej korelácii bol aj cGMP: $r = -0,43$; $S.V. = 41$ pri $P < 0,01$. Medzi 17 beta-estradiolom a cAMP sa zistila pozitívna lineárna korelačná závislosť na hranici významnosti medzi 17 beta-estradiolom a cGMP bola pozitívna korelácia: $r = 0,36$; $S.V. = 41$ pri $P < 0,05$.



2. Priemerné koncentrácie cAMP a cGMP vo folikulárnej tekutine estrogen dominantných (ED) a progesterón dominantných (PD) folikuloch — Average cAMP and cGMP concentrations in the follicle fluid of estrogen dominant (ED) and progesterone-dominant follicles.

Úroveň zistených koncentrácií 17 beta-estradiolu a progesterónu v estrogén dominantných folikuloch ako aj progesterón dominantných folikuloch sú porovnateľné s dostupnými údajmi z literatúry (Ireland a Roche, 1982, 1983a, b; Dieleman a i., 1983).

Koncentrácie steroidov vo folikulárnej tekutine poukazujú na schopnosť folikulu tvoriť a vylučovať steroidy (England a i., 1981). Keď koncentrácie progesterónu alebo androgénov vo folikulárnej tekutine sú vyššie ako estradiolu, folikul už stratil schopnosť syntetizovať estradiol a dochádza k zmene kvality folikulu (Ireland a Roche, 1983a; Callesen a i., 1986). To potvrdzujú aj výsledky porovnaní koncentrácií steroidov vo folikulárnej tekutine s histologickými nálezmi. Histologické nálezy estrogén dominantných folikulov sa zhodovali s histologickými nálezmi rastúcich a vyvíjajúcich sa folikulov, zatiaľ čo progesterón dominantných folikulov s atretickými (McNatty a i., 1979; Carson a i., 1981; Webb a England, 1982).

Zistené pozitívne korelácie medzi koncentraciami estradiolu cAMP, cGMP ako aj negatívna korelácia medzi koncentraciami progesterónu a cyklickými nukleotidami podporujú názor o sprostredkujúcej úlohe cAMP pri uplatnení účinku gonadotropínov na steroidogénnu funkciu folikulárnych štruktúr. Tomu nasvedčujú aj signifikantne vyššie rozdiely v koncentráciách cAMP v estrogén dominantných folikuloch v porovnaní s progesterón dominantnými.

Dokázalo sa, že v počiatočnej fáze rastu folikulov, FSH neskôr pri zrejmých LH stimuluje uvoľňovanie cAMP a tým následnú produkciu androgénov a estradiolu bunkami téky interny, resp. granulózy (Ericsson a i., 1986).

Zmeny v citlivosti adenylcyklázového systému a v dôsledku toho v cAMP akumuláčnej schopnosti folikulu zistili vo svojich prácach na chrbkoch Hubbard a Greenwald (1983). Z ich výsledkov vyplýva, že atretické folikuly prudko strácajú svoju schopnosť syntetizovať 17 beta-estradiol a testosterón ako aj cAMP zatiaľ čo produkcia 17 hydroxyprogesterónu a progesterónu klesá pomalšie s postupujúcou atréziou. Podobne Bill (1978) zistil pri atretických folikuloch nárast koncentrácií progesterónu, zatiaľ čo koncentrácie cAMP sa prudko znížili už za 4 h od vyvolania atrézie. Za príčinu tohto stavu sa považuje neschopnosť folikulu pri atrézii reagovať na ďalšiu gonadotropnú stimuláciu v dôsledku trvalej straty citlivosti adenylcyklázového systému k stimulácii s LH, čo sa odráža v nízkej, resp. žiadnej produkcii cAMP a cGMP folikulárnymi bunkami.

Dosiahnuté výsledky poukazujú na to, že zistené koncentrácie E_2 , P_4 , cAMP a cGMP vo folikulárnej tekutine odrážajú úroveň funkčného stavu folikulu a sú vhodnými parametrami pri hodnotení kvality folikulov. Tiež potvrdzujú doterajšie poznatky o úzkom vzájomnom vzťahu medzi koncentraciami cyklických nukleotidov a syntézou 17 beta-estradiolu folikulárnymi bunkami rastúcich folikulov v dôsledku toho aj s kvalitou folikulu a jeho schopnosť produkovať viabilný oocyt.

Literatúra

BILL, C. H.: Follicular atresia in the hamster ovary: Amm endocrinological and morphological study. Ph.D.thesis. University of Kansas, 1978.

- CALLESEN, H. — GREEVE, T. — HYTTTEL, P.: Preovulatory endocrinology and oocyte maturation in superovulated cattle. *Theriogenology* 25, 1986, s. 71—86.
- CARSON, R. S. — FINDLAY, K. J. — CLARKE, I. J. — BURGER, A. G.: Estradiol, testosterone and androstendione in ovine follicular fluid during growth and atresia of ovarian follicles. *Biol. Reprod.*, 24, 1981, s. 105—109.
- DIELEMAN, S. J. — KRUIP, T. H. — FONTIJNE, P. — DE JONG, W. H. — VAN DER WEYDEN, G. C.: Changes in estradiol, progesterone and testosterone concentrations in follicular fluid and in the micromorphology of preovulatory bovine follicles relative to the peak of luteinizing hormone. *J. Endocr.* 97, 1983, s. 31—42.
- ENGLAND, B. G. — WEBB, R. — DAMMER, M. E.: Follicular steroidogenesis and gonadotrophin binding to ovine follicles during the estrous cycle. *Endocrinology* 109, 1981, s. 881—885.
- ERICKSON, G. F.: An analysis of follicle development and ovum maturation. *Seminare in Reprod. Endocrin.*, 4, 1986, s. 233—253.
- HUBBARD, C. J. — GREENWALD, G. S.: *In vitro* effects of luteinizing hormone on induced atretic graafian follicles in the hamster. *Biol. Reprod.*, 28, 1983, s. 849—859.
- IRELAND, J. J. — ROCHE, J. F.: Development and regression of individual ovulatory and monovulatory follicles cattle following prostaglandin induced luteolysis. Changes in steroids in follicular fluid and gonadotrophins receptor. *Endocrinology*, 111, 1982, s. 2077—2083.
- IRELAND, J. J. — ROCHE, J. F.: Growth and differentiation of large antral follicles after spontaneous luteolysis in heifers: Changes in concentrations of hormone in follicular fluid and specific binding of gonadotrophin to follicles. *J. anim. Sci.*, 57, 1983a, s. 157—165.
- IRELAND, J. J. — ROCHE, J. F.: Development of nonovulatory antral follicle in heifers: Changes in steroids in follicular fluid and receptors for gonadotrophins. *Endocrinology*, 112, 1983b, s. 150—157.
- KOLENA, J. — CHANNING, C. P.: Stimulatory effects of LH, FSH and prostaglandins upon cyclic 3,5-AMP levels in porcine granulosa cells. *Endocrinology*, 90, 1972, s. 1543—1550.
- MARSCH, J. M.: The role of cAMP in gonadal functional. *ADV. Cyclic nucleotide research* 6, 1975, s. 137—199.
- MARSCH, J. M. — MILIS, T. M. — Le MAIRE, W. J.: Preovulatory changes in the synthesis of cAMP by rabbit Graafian. *Biochem. Biophys. Acta*, 304, 1987, s. 197—202.
- McNATTY, K. P. — MOORE, SMITH, D. — MAKRI, A. — OSATHAMONOH, R. — RYAN, K. J.: The microenvironment of the human antral follicle, *J. clin. Endocrin., Metab.*, 49, 1979, s. 851.
- ROBINSON, G. A. — BUTCHER, R. W. — SUTHERLAND, E. W.: On the relation of hormone receptors to adenyl cyclase. In: DANIELLE, J. F. — MORAN, J. F. — TRIGGLE, D. J.: *Fundamental concept in drugreceptor interaction*. New York, Academic Press, 1970, s. 59—91.
- SCHREIBER, V.: Hormonální působení prostřednictvím adenylylcyklázového systému. In: *Patologie žláz s vnitřní sekrecí*. Praha, Avicenum 1979, s. 35—39.
- SOKAL, R. R. — ROHLE, F. J.: *Biometry. The principles and practices of statistics in biological research*. Freeman and Co., San Francisco, 1969.
- WEBB, R. — ENGLAND, B. G.: Identification of the ovulatory follicles in theca: Associated changes in follicular size, theca, and granulosa cell luteinizing hormone receptors, antral fluid steroids and circulating hormones during the preovulatory period. *Endocrinology*, 110, 1982, s. 873—881.

Došlo dňa 18. 12. 1989

ЛАЗАР, Л. — ЕЛЕЧКО, Я. — МАРАЧЕК, И. (Институт экспериментальной медицины, Кошице): Влияние стероидной доминантности на концентрацию сАМР, сGMP, прогестерона и 17 бета-эстрадиола в жидкости самого крупного фолликула. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990 (11): 641—646.

Концентрацию и взаимные корреляции циклического аденозинмонофосфата (сАМР), 17 бета-эстрадиола (E_2), кванозинмонофосфата (сGMP), прогестерона (P_4) определяли в фолликулярной жидкости крупнейших фолликулов у коров в зависимости от стероидной доминантности: эстроген-доминантные (ED), прогестерон-доминантные (PD) фолликулы. В обоих случаях средние концентрации сАМР и сGMP у эстроген-доминантных фолликулов выше значимо при $P < 0,001$. Установлена и значимая корреляция между сАМР и сGMP при $P < 0,001$. Концентрации сАМР и сGMP находи-

лись в значимо отрицательной корреляции с концентрациями $P_4 < 0,05$. Эти зависимости свидетельствуют об узкой увязке между нуклеотидами и E_2 или P_4 при изменении качества фолликула.

cAMP; 17 бета эстрадиол; прогестерон; фолликулярная жидкость

LAZÁR, L. — ELEČKO, J. — MAREČEK, I. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *The effect steroid dominance on concentration cAMP, cGMP, progesterone and 17-beta-estradiol in the fluid of the largest follicle*. Veter. Med. [Praha], 35, 1990 [11]: 641—646.

Concentrations and mutual correlations of the cyclic adenosin monophosphate (cAMP), guanosin monophosphate (cGMP), progesterone (P_4) and 17-beta-estradiol (E_2) were studied in the fluid of the largest follicles in cows, in dependence on the steroid dominance: estrogen-dominant (ED), progesterone-dominant (PD) follicles. Mean cAMP and cGMP concentrations in the follicular fluid in the estrogen-dominant follicles were significantly higher than in the progesterone-dominant follicles; in both cases at $P < 0,01$. Significant positive correlation between cAMP and cGMP at $P < 0,001$ was stated in the evaluation of the correlations. The cAMP and cGMP concentrations were in significantly negative correlations with the P_4 concentration at $P < 0,05$, or $P < 0,01$ and in significantly positive correlations with the E_2 , at $P < 0,05$. The stated correlations suggest a close mutual relation between cyclic nucleotid and E_2 , or P_4 when the follicles' quality changes.

cAMP; cGMP; 17-beta-estradiol; progesterone; follicle fluid

LAZÁR, L. — ELEČKO, J. — MARČEK, I. (Institut für experimentelle Veterinärmedizin, Košice): *Einfluss der steroiden Dominanz auf die Konzentration von cAMP, cGMP, Progesteron und 17 Beta-Östradiol in der Flüssigkeit des grössten Follikels*. Veter. Med. [Praha], 35, 1990 [11]: 641—646.

Wir untersuchten die Konzentration und die bestehenden gegenseitigen Korrelationsbeziehungen des zyklischen Adenosinmonophosphats (cAMP), des Guanosinmonophosphates (cGMP), des Progesterons, des 17 Beta-Östradiols (E_2) in der follikularen Flüssigkeit der grössten Follikel der Kühe in Abhängigkeiten von der steroiden Dominanz: östrogen-dominante Follikel (ED), progesteron-dominante Follikel (PD). Die durchschnittlichen Konzentrationen von cAMP und cGMP in der follikularen Flüssigkeit der östrogen-dominanten Follikel waren signifikant höher als in den progesteron-dominanten Follikeln in beiden Fällen bei $P < 0,001$. Bei der Beurteilung der Korrelationsbeziehungen stellten wir eine bedeutende positive Korrelationsbeziehung zwischen dem cAMP und dem cGMP bei $P < 0,001$ fest. Die Konzentrationen von cAMP und cGMP standen in signifikant negativer Korrelation zu den Konzentrationen von P_4 bei $P < 0,05$ bzw. $P < 0,01$, während sie zu E_2 in bedeutend positiver Korrelation bei $P < 0,05$ standen. Die angeführten Abhängigkeiten deuten auf eine enge gegenseitige Beziehung zwischen den zyklischen Nukleotiden und E_2 bzw. P_4 bei veränderter Qualität der Follikel hin.

cAMP; cGMP; 17 Beta-Östradiol; Progesteron; follikuläre Flüssigkeit

Adresa autorov:

MVDr. Ladislav Lazár, CSc., prof. MVDr. Ján Elečko, CSc., MVDr. Imrich Maraček, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1/A, 040 01 Košice

L. Slanina, P. Slivka, J. Struháriková

SLANINA, L. — SLIVKA, P. — STRUHÁRIKOVÁ, J. [Vysoká škola veterinárska, Košice; Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice]: *Transmamárny prestup dusičnanov a dusitanov u prežúvavcov a úroveň methemoglobínémie v krvi mládat a ich matiek*. Veter. Med. [Praha], 35, 1990 [11]: 647—656.

Preverili sme transmamárny prestup dusičnanov u oviec ako modelových zvierat a u dojníc v mliečnom období a krátko po ňom. Bahničiam sme aplikovali *per os* 35 mg $\text{NaNO}_3 \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. dvakrát denne v priebehu piatich dní po pôrode a u dojníc 50 g KNO_3 *pro toto* v priebehu 10 dní po pôrode. Methemoglobínémia u oviec a ich jahniat po aplikácii NaNO_3 vykazovala v podstate zhodnú dynamiku v priebehu celej doby sledovania s mierne vyššími hodnotami u jahniat ako u oviec. Rozdiely priemerov koncentrácií methemoglobínu (MtHb) v krvi boli štatisticky vyššie od štvrtej po 72. hodinu po aplikácii. Koncentrácia NaNO_3 v mlieku výrazne a významne stúpala po prvej aplikácii s následným poklesom v ďalších dňoch do úrovně nevýznamnej oproti východným hodnotám. Prítomnosť NO_2^- iónov nebola zistená v žiadnej vzorke mlieka. Dynamika methemoglobínémie dojníc a teľat bola obdobná ako u oviec s tendenciou pravidelného vzostupu štyri hodiny po aplikácii. Vzostup methemoglobínémie v poslednom dni pokusu bol na hranici významnosti. Obsah NaNO_3 v mlieku výrazne stúpol v 3., 9. a 10. dni aplikácie. Dusičnany v moči vykazovali obdobný trend ako v mlieku s významným vzostupom len v 2. a 10. dni po pôrode. Nález $14,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ NaNO_3 v plodovej vode svedčí o súčasnom transplacentárnom prestupe dusičnanov.

dusičnany; dusitany; krv; mlieko; moč; plodová voda; methemoglobín; prežúvavce; transmamárny prestup

Chemizácia poľnohospodárstva vnáša popri svojich pozitívach aj rad problémov do veterinárnej medicíny v podobe reziduálnych látok a otráv zvierat.

Otravy dusičnanmi a dusitanmi majú svoj pôvod jednak v zámene dusíkatých hnojív s niektorými z neškodných látok, ale predovšetkým v skrmovaní krmív s vysokým obsahom dusičnanov. Tu zohráva veľkú úlohu aj obsah NO_3^- iónov v podzemných vodách, ktoré sú nezriedka jediným zdrojom pitnej vody. Najvyššie koncentrácie dusičnanov v podzemných vodách boli zistené v okolí veľkých miest a osád a v miestach aplikácie hydínového hnoja, resp. pri hydínárňach [Ritter a Chirnside 1987].

Zo zverozdravotného hľadiska má závažnejší dopad chronický prívod subtoxických množstiev dusičnanov. Schulz a Rossow [1975] a Weisbach a Hein [1976] uvádzajú, že subtoxické množstvá chronicky prijímaných dusičnanov vedú k depresii látkovej premeny.

Dusičnany sú prítomné i v mlieku kráv. Samol a Sokolovski (1978) uvádzajú ako normálny výskyt NO_3^- v mlieku od 0,60 do 1,70 mg $\text{NO}_3^- \cdot \text{l}^{-1}$. Sebaugh a i. (1970) stanovili vo vyšetrovanom mlieku priemernú koncentráciu 4,30 mg $\text{NO}_3^- \cdot \text{l}^{-1}$. Obsah dusičnanov v mlieku je však nižší než v krvnej plazme vzhľadom k ochrannnej bariére, zaistovanej činnosťou mliečnej žľazy (Remond, 1975; Nijhuis a i., 1982).

Bouda a i. (1983) stanovili obsah dusičnanov v kolostre pri experimentálne zvýšenom orálnom príjme dusičnanov u dojnic (od 30 do 80 g KNO_3 na kus a deň). Zistili, že hladina NO_3^- v kolostre narastala, nepresahovala však koncentráciu 50 mg $\text{NO}_3^- \cdot \text{l}^{-1}$ kolostra.

Podľa autorov Kühnert a Fuchs (1983) vedie denný príjem 15 g $\text{NO}_3^- \cdot 100 \text{ kg}^{-1}$ ž. h. zvierata k zvýšeniu obsahu dusičnanov v mlieku dojnice až na 25 mg $\text{NO}_3^- \cdot \text{l}^{-1}$.

Lebeda a Kovařík (1978) uvádzajú, že methemoglobinémiu subklinického charakteru zistenú u väčšiny dojnic našich stád sú výsledkom trvalého preťažovania dojnic methemoglobintvornými látkami, predovšetkým dusičnanmi. Methemoglobinémiu sa nepriaznivo odrazí v produkcii mlieka, hmotnosti zvierat, reprodukcií a v celkovej ekonomike využitia živín.

Zámerom práce bolo preveriť transmamárny prestup dusičnanov u oviec po vybahnení, a síce v období mledzivovom a krátko po ňom, so zameraním sa na hodnoty dusičnanov, resp. dusitanov v mlieku a methemoglobínu v krvi.

MATERIÁL A METÓDY

K pokusom sme použili päť oviec plemena slovenské merino a ich jahňatá v kolostrálnom období a krátko po ňom a jednu ovcu s dvomi jahňatami 12. deň po vybahnení. Ovce boli kŕmené bežnou kŕmnom dávkou (BAK, seno) a jahňatá mali voľný prístup k cicaniu.

Dávku 35 mg $\text{NaNO}_3 \cdot \text{kg}^{-1}$ ž. h. sme ovciam aplikovali v náleve dvakrát denne, ráno a večer. Prvý odber vzoriek bol vždy tesne pred prvou aplikáciou NaNO_3 , ďalší odber bol štyri hodiny po prvej aplikácii NaNO_3 a nasledujúce vždy ráno v čase podávania dusičnanu soďného. Posledný odber bol prevádzaný vždy 12 hodín po poslednej aplikácii NaNO_3 .

Ovciam a jahňatám sme odoberali krv z *vena jugularis* na vyšetrenie obsahu methemoglobínu zisťovaného fotokolorimetrickou metódou za pomoci kyanidu draselného (Veterinárne laboratórne vyšetrovacie metodiky, 1983). Krv bola vyšetrená vždy najneskôr do dvoch hodín po odbere.

Mledzivo (mlieko) bahníc bolo odoberané súčasne s krvou na stanovenie obsahu NO_3^- a NO_2^- . V prípade, že nebolo vyšetrované bezprostredne po odbere, bolo ihneď zmrazené a takto skladované až do doby analýzy.

V jednom pokuse sme použili gravidnú dojnica, ktorej sme štyri hodiny pred pôrodom p. o. podali 50 g KNO_3 ; aplikáciu sme zopakovali ešte v nasledujúce dva dni a po päťdňovej prestávke ešte dvakrát v priebehu dvoch dní. Materiál na vyšetrenie koncentrácie Mthb a dusičnanov, resp. dusitanov (krv, mlieko, moč) sme odoberali vždy v čase aplikácie KNO_3 a štyri hodiny po nej.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

Obsah methemoglobínu v krvi oviec a ich jahniat ako aj obsah dusičnanov v mlieku (mledzive) oviec zaznamenaný v priebehu našich pokusov je uvedený v tab. I a II a na obr. 1.

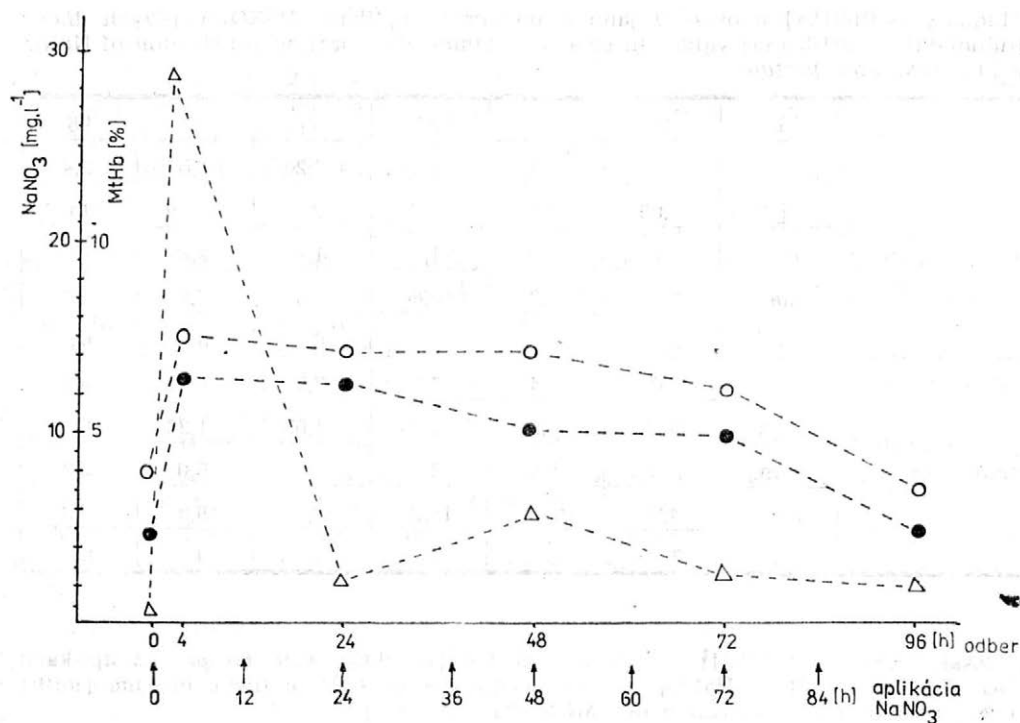
I. Hodnoty Mthb [%] u oviec a jahniat po *per os* aplikácii NaNO_3 v prvých dňoch po uliahnutí — Mthb [%] values in ewes and lambs after oral administration of NaNO_3 the first days *post partum*

	h	0	4	24	48	72	96
Ovce	$\bar{x}$	2,3	6,4	6,2	5,2	5,0	2,4
	$\pm S$	1,09	2,73	3,46	2,57	1,60	1,04
	min.	1,1	4,9	1,8	1,9	2,8	1,6
	max.	3,9	11,3	10,8	8,9	7,2	4,4
	n	6	6	6	6	6	6
Jahňatá	$\bar{x}$	4,0	7,4	7,2	7,2	6,3	3,6
	$\pm S$	0,55	0,95	3,63	1,63	1,36	0,52
	min.	3,3	5,6	2,3	4,8	5,0	2,8
	max.	4,9	8,3	14,2	10,1	8,8	4,3
	n	7	8	9	9	9	8

II. Obsah NaNO_3 a NO_3^- [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$] v mledzive (mlieku) oviec po *per os* aplikácii NaNO_3 [$35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$] — NaNO_3 and NO_3^- content [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$] in the colostrum (milk) in ewes after oral administration of NaNO_3 [$35 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$]

h	0	4	24	48	72	96
$\bar{x}$	0,87	28,65	2,92	5,91	2,93	2,59
$\pm S$	1,10	8,91	1,23	4,08	4,81	2,90
min.	0	19,5	1,85	2,31	0,23	0,18
max.	2,31	36,3	4,91	10,50	11,5	7,52
Obsah NO_3^-	0,59	20,90	2,13	4,31	2,14	1,89
n	4	4	5	4	5	5

Obsah methemoglobínu v krvi oviec (tab. I a obr. 1) vykazoval výrazný vzostup najmä v štvrtej hodine po prvej aplikácii NaNO_3 v porovnaní s nultým odberom ako v individuálnych, tak aj v priemernej hodnote. Vzostup bol štatisticky významný na hladine významnosti 0,05. V nasledujúcich odberoch sa pohybovali hladiny Mthb vždy nad úrovňou hladín z nultého odberu s nevýrazným poklesom hodnôt v odbere 12 hodín po poslednej aplikácii. Priemerná hodnota methemoglobínémie oviec pri odbere pred aplikáciou dusičnanu sodného bola 2,27 %, čo je tesne pod hornou úrovňou normálnej hodnoty (Piskač a Kačmár, 1985), ktorí udávajú ako normálne hodnoty u prežúvavcov do 2,5 % methemoglobínu z celkového hemoglobínu. Pri ďalších odberoch v priebehu aplikácie NaNO_3 bol percentuálny obsah methemoglobínu stále nad normálnou hladinou s následným poklesom pod úroveň 2,5 % pri odbere 12 hodín po poslednej aplikácii NaNO_3 .



- △ NaNO₃ v mledzive — NaNO₃ in colostrum
 ● percento MTHb u oviec — percentage of MTHb in ewes
 ○ percento MTHb u jahniat — percentage of MTHb in lambs

1. Vzájomné vzťahy percenta MTHb z celkového hemoglobínu u bahníc a ich jahniat a koncentrácia NaNO₃ v mlieku po orálnej aplikácii 0,35 mg NaNO₃. kg⁻¹ ž. h. u bahníc (schéma časového rozvrhnutia odberov biologického materiálu je uvedená v dolnej časti obrazu) — Relation of the percentage of MTHb and of the total haemoglobin in ewes and their lambs and NaNO₃ concentration in milk after per os administration of 0,35mg NaNO₃. kg⁻¹ of live weight in ewes (diagram of timetable of sample collection of biological material is given in the lower part of figure)

Obdobná tendencia v individuálnych aj priemernej hodnote obsahu methemoglobínu bola pozorovaná aj u jahniat, pričom vzostup hladiny MTHb v štvrtej hodine po prvej aplikácii bol štatisticky významný na hladine 0,005. Koncentrácia methemoglobínu v ďalších odberoch bola nad úrovňou nultého odberu, stále významná na hladine významnosti 0,05. Hladiny MTHb 12 hodín po poslednej aplikácii boli na úrovni východných hodnôt.

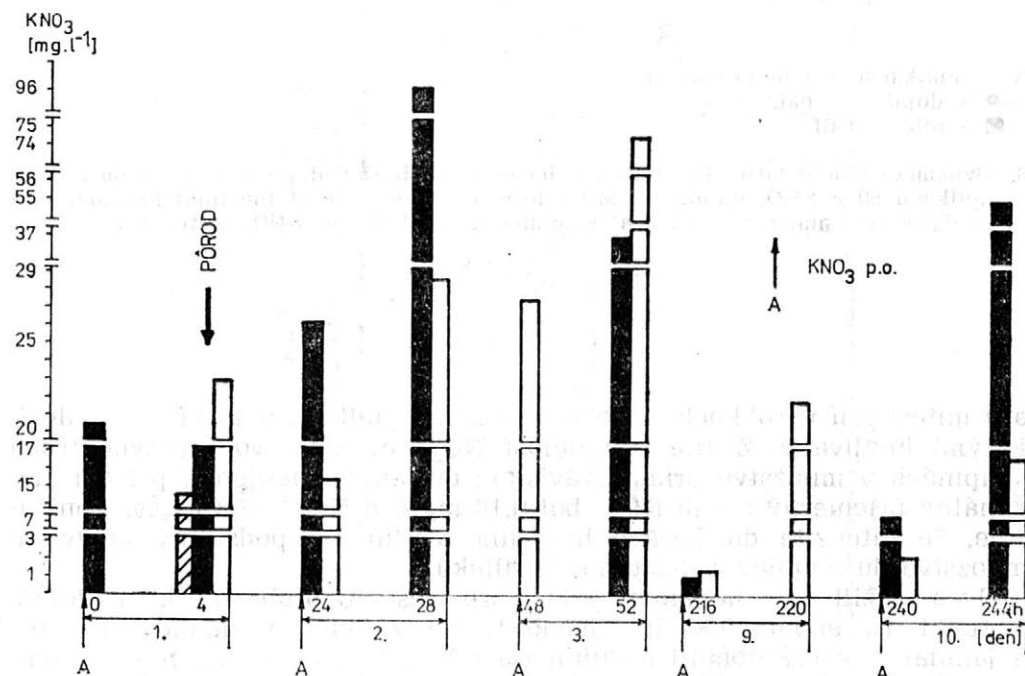
Pri methemoglobínemii jahniat priemerné hodnoty pri nultom (4,01 %) aj poslednom odbere (3,62 %) prekračovali normu. Na inom mieste sa prikláňame k 3% rozhraniu medzi normálnou a patologickou methemoglobínemiou (Slanina a i., 1991).

Obsah NaNO₃ (tab. II a obr. 1) v mledzive (mlieku) oviec zaznamenal výrazný vzostup hladín v štvrtej hodine po prvej aplikácii NaNO₃ oproti nultému odberu (na hladine významnosti 0,01). Tento prvotný výrazný pik je ťažko vysvetliteľný. Jedná sa možno o časovo rozdielnu priepustnosť bariery mliečnej žľazy po pôrode. V priebehu nasledujúceho pozo-

rovania boli zaznamenané výrazné rozdiely v individuálnych ako aj priemerných hodnotách, ktoré však vždy presahovali úroveň nultého odberu; porovnávané rozdiely neboli štatisticky významné.

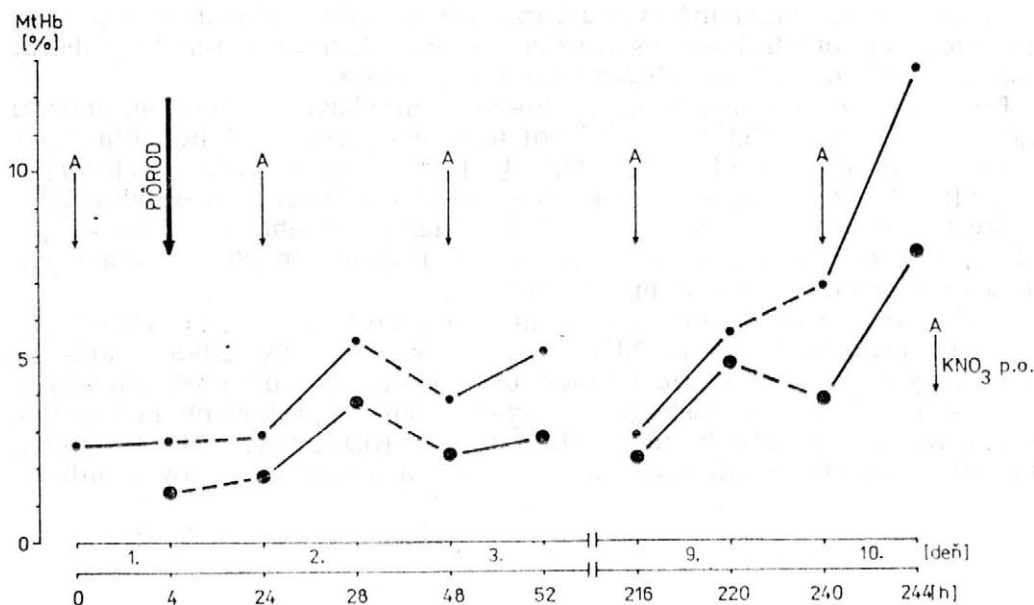
Priemerný obsah dusičnanu sodného v mledzive pri nultom odbere $0,87 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, t. j. $0,59 \text{ NO}_3^- \cdot \text{l}^{-1}$ bol nižší ako priemerná hodnota NO_3^- v kravskom mlieku ($4,3 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{l}^{-1}$) udávaná autormi Sebaugh a i. (1970). Až tridsaťpäťnásobný bol vzostup priemerného obsahu NO_3^- k štvrtej hodine po prvej aplikácii dusičnanu sodného ($20,9 \text{ mg NO}_3^- \cdot \text{l}^{-1}$), pričom však ani v priemerných ani individuálnych hodnotách nebola prekročená úroveň $50 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ mlieka.

V žiadnej vzorke mledziva, resp. mlieka experimentálnych zvierat sme nezistili prítomnosť ionov NO_2^- , čo sa zhoduje s výsledkami autorov Sebaugh a i. (1970). Dusitanové ióny neboli zistené vo vyšetrovaných vzorkách, otázny ale zostáva ich prestup buď v prahových hodnotách, alebo vo forme ďalších metabolitov ako nitrozo-látky. Krelowska (1989) zisťovala obsah dusičnanových a dusitanových ionov v mlieku



A — aplikácia — administration
 ■ moč — urine
 □ mlieko — milk
 /// plodová voda — amniotic fluid

2. Transmamárny, transplacentárny a transrenálny prestup dusičnanov u dojnice po orálnom podaní KNO_3 v dávke 50 g — Transmammary transplacental and transrenal transfer of nitrates in dairy cow after oral administration of KNO_3 at a dose of 50 g



A — aplikácia — administration
 —●— dojnica — dairy cow
 —●— teľa — calf

3. Dynamika hladín MtHb [% z celkového hemoglobínu] u dojnice a teľaťa po orálnej aplikácii 50 g KNO_3 dojnici — MtHb level dynamics [% of the total haemoglobin] in dairy cow and calf after oral administration of 50g of KNO_3 to the cow

a v mliečnych výrobkoch v troch skupinách podľa stupňa hnojenia dusíkatými hnojivami. Zistila prítomnosť NO_3^- aj NO_2^- vo všetkých troch skupinách v množstve priamo závislom od stupňa hnojenia, pričom maximálny priemerný obsah NO_3^- bol 0,18 mg% a NO_2^- 0,03 mg%. Konštatuje, že intenzita dusíkatého hnojenia rastlín má podstatný vplyv na množstvo dusičnanov a dusitanov v mlieku.

Ovce slúžili ako modelový pokus pre riešenie problematiky u dojníc a teliat [z ekonomických dôvodov]. Na základe výsledkov u oviec a jahniat sme uskutočnili u dojnice a teľaťa jeden pokus s p. o. aplikáciou 50 g KNO_3 gravidnej dojnici. Prvá aplikácia dusičnanu bola štyri hodiny pred pôrodom, ďalšie v prvom a druhom dni po pôrode a po päť dňovej prestávke sme opäť v priebehu dvoch dní aplikáciu KNO_3 dojnici zopakovali. Sledovali sme obsah NO_3^- a NO_2^- ionov v moči, mledzive, resp. mlieku a plodovej vode (tab. III, obr. 2), ako aj vývoj methemoglobínémie u dojnice a teľaťa (obr. 3 a tab. III).

Krivka methemoglobínémie mala u dojnice aj teľaťa v podstate zhodnú dynamiku vždy s tendenciou vzostupu štyri hodiny po aplikácii KNO_3 ; vzostup bol v posledný deň pokusu štatisticky významný na hladine významnosti 0,05.

III. Koncentrácia MtHb [%] v krvi dojnice a jej teľaťa a koncentrácia NaNO_3 [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$] v mledzive, moči a plodovej vode plemenice po *per os* podaní KNO_3 [50 g na deň] — MtHb concentration [%] in the blood of the dairy cow and her calf and NaOH_3 [$\text{mg} \cdot \text{l}^{-1}$] concentration in colostrum, urine and amniotic fluid of the dam after oral administration of KNO_3 (50g per day)

			1. deň		2. deň		3. deň		9. deň		10. deň	
			A	pôrod	A		A		A		A	
			0	4 h po A	24 h	28 h	48 h	52 h	216 h	220 h	240 h	244 h
Obsah MtHb	dojnica		2,6	2,7	2,85	5,49	3,81	5,15	2,85	5,65	6,9	12,64
	teľa		—	1,31	1,62	3,71	2,25	2,72	2,2	4,78	3,75	7,8
Koncentrácia NaNO_3 a NO_3^-	mlieko	NaNO_3	x	23,0	15,5	28,6	27,5	74,5	1,42	21,85	2,3	16,72
		NO_3^-	x	16,79	11,31	20,86	20,06	54,35	1,04	15,94	1,68	12,20
	moč	NaNO_3	20,05	17,3	26,2	96,2	—	37,0	1,02	—	7,71	55,5
		NO_3^-	14,96	12,62	19,11	70,18	—	26,99	0,74	—	5,62	40,49
	plodová voda	NaNO_3	—	14,5	—	—	—	—	—	—	—	—
		NO_3^-	—	10,58	—	—	—	—	—	—	—	—

A — aplikácia KNO_3 — KNO_3 administration
 x — namerané hodnoty — unmeasured values

Obsah NaNO_3 v mlieku bol v štvrtnej hodine po aplikácii KNO_3 vyšší ako v čase aplikácie. Rozdiel hladín bol významný na hladine významnosti 0,01 v tretí a desiaty deň. Obsah NaNO_3 v moči druhý a desiaty deň po pôrode vykazoval rovnaký trend ako mlieko. Rozdiely boli na hladine významnosti 0,01. Nález $14,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ NaNO_3 v zmiešanej plodovej vode nasvedčuje na to, že dusičnany prechádzajú aj cez bariéru placenty. Uvedené závislosti je možné posúdiť a porovnať aj na úrovni NO_3^- (tab. III).

Rovnako ako pri ovciach sme ani u dojníc nezistili prítomnosť NO_2^- ionov vo vyšetrovaných vzorkách. Podobne Sebaugh a i. (1970) u dojnic po skrmovaní krmiva s obsahom $30 \text{ g NaNO}_3 \cdot \text{kg}^{-1}$ sušiny po dobu jedného týždňa zistili zvýšený obsah NO_3^- ionov v krvnej plazme [$36,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$], v moči [$173 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$] a v mlieku [$3,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$]. Stopovú prítomnosť dusitanových ionov dokázali len v moči [$0,2 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$].

V súčasnosti ešte nie sú jednoznačné informácie o hornom prípustnom množstve dusičnanov a dusitanov v mlieku. Z doterajšieho výskumu je však zrejmé, že dusičnany prítomné v krmivách prechádzajú do mlieka, pričom ich množstvo kolíše v širokých medziach. Dusičnany prítomné v mlieku sa môžu bakteriálnou redukciou meniť na toxické dusitany.

Literatúra

- BOUDA, J. — JAGOŠ, P. — SKŘIVÁNEK, M. — KLIMEŠ, J.: Problematika dusičnanů v etiopatogenezi onemocnění telat. In: Zbor. Ref., VI. celoštátna konferencia Produkcia a zdravie teliat v priemyselných podmienkach chovu, Bratislava, Ústav veterinárnych informácií a osvetu, 1983, s. 52—57.
- KRELOWSKA, J. — KULAS, M.: Vplyv diferencovaného hnojenia na obsah dusitanov a dusičnanov v mlieku. Náš chov, 1989, č. 2, s. 69—70.
- KÜHNERT, M. — FUCHS, V.: Zur Wicksstoffbelastung der Umwelt am Beispiel der Nitratproblematik und ihrem Einfluss auf das Nutztier und den Menschen. Mh. Veter.-med., 38, 1983, s. 1—4.
- LEBEDA, M. — KOVAŘÍK, K.: Chronická methemoglobinémia dojnic. Veterinářství, 28, 1978, č. 2, s. 62—64.
- PISKAČ, A. — KAČMÁR, P.: Veterinární toxikologie. Praha, SZN a Bratislava, Příroda 1985.
- NIJHUIS, H. von — HEESCHEN, W. — LORENZEN, P. Ch.: Tierexperimentelle Untersuchungen zum Ermittlung der carry over — Rate von Nitrate in die Milch nach oralen Aufnahme beim laktierenden Rind. Milchwissenschaft, 37, 1982, s. 30—32.
- REMOND, D.: La teneur du lait de vache en nitrate. Lait, 55, 1975, s. 390—395.
- RITTER, W. F. — CHIRNSIDE, A. E. M.: Vplyv poľnohospodárskych praktík na obsah nitrátov v hladine spodnej vody. Biol. Wastes, 19, 1987, s. 165—178.
- SAMOL, S. — SOKOLOVSKI, M.: Zatrúcie azotanami i azotynami bydla. Med. veter., 34, 1978, s. 477—478.
- SEBAUGH, T. P. — LANE, A. G. — CAMPBELL, J. R.: Effects of two levels of nitrate and energy on lactating cows receiving urea. J. anim. Sci., 31, 1970, s. 142—144.
- SCHULZ, J. A. — ROSSOW, N.: Lehrbuch der Rinden Krankheiten des Rindes. 1. Aufl., Leipzig, S. Hirzel Verlag 1975, s. 634.
- SLANINA, E. — SLIVKA, P. — STRUHÁŘIKOVÁ, J. — ELBERTOVÁ, A. — CHANDOGA, P.: Methemoglobinemia u teliat najmä vo vzťahu matka—teľa a po experimentálnom ovplyvnení dusičnanmi. Veter. Med. (Praha), 1991 (v tlači).
- Veterinárne laboratórne vyšetrovacie metodiky, Bratislava, 1983.
- WEISSBACH, F. — HEIM, E.: Fütterungsschäden durch Nitrathaltige Futtermittel und ihre Verhütung. Tierzucht, 30, 1976, s. 29—34.

Došlo dňa 9. 1. 1990

СЛАНИНА, Л. — СЛИВКА, П. — СТРУГАРИКОВА, Я. (Институт ветеринарии, Кошице; Институт экспериментальной ветеринарии, Кошице): **Трансмаммарный переход нитратов и нитритов у жвачных и уровень метемоглобинемии в крови молодняка и их маток.** Veter. Med. (Praha), 35, 1990 [11]: 647—656.

Мы контролировали трансмаммарный переход нитратов у овец в качестве модельных животных и у коров в молозивный период и вскоре после его прекращения. Овцам вводили через рот 35 мг $\text{NaNO}_3 \cdot \text{kg}^{-1}$ ж. в. дважды в сутки в течение 6 дней после окота, а коровам — 50 г KNO_3 в течение 10 дней после отела. Метемоглобинемия показывала у овец и их ягнят после введения NaNO_3 по существу ту же динамику весь период обследования и несколько повышенные величины у ягнят. Различия между средними концентрациями метемоглобина (МтНб) в крови статистически выше, начиная с 4-го и по 72-й часы после введения. Концентрация NaNO_3 в молоко отчетливо и знаимо повышалась после первого введения, а в последующие дни падала до уровня незначимости в сравнении с исходными величинами. Наличие NO_2^- ионов не установлено ни в одном образце молока. Динамика метемоглобинемии у коров и телят аналогична с динамикой у овец с тенденцией регулярного повышения через каждые 4 часа после введения. А ее рост в последний день опыта находился на грани значимости. Содержание NaNO_3 в молоке заметно росло на 3-й, 9-й и 10-й дни после введения. Нитраты мочи отличались подобным трендом, как и молока с заметным повышением на 2-й и 10-й дни после родов. Наличие 14,5 мг $\cdot \text{л}^{-1}$ NaNO_3 в плодовой воде свидетельствует об одновременном трансплацентом переходе нитратов.

нитраты; нитриты; кровь; молозиво; молоко; моча; плодовая вода; метемоглобин; жвачные; трансмаммарный переход

SLANINA, L. — SLIVKA, P. — STRUHÁRIKOVÁ, J. (University of Veterinary Medicine, Košice; Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *Transmammary transfer of nitrates and nitrites in ruminants and the level of methaemoglobinaemia in the blood of the young and their mothers.* Veter. Med. (Praha), 35, 1990 [11]: 647—656.

Transmammary transfer of nitrates was studied in ewes as model animals and in a dairy cow during the colostrum period and shortly after it. Ewes were administered *per os* 35 mg $\text{NaNO}_3 \cdot \text{kg}^{-1}$ of live weight twice daily during five days *post partum* and the dairy cow 50g KNO_3 during ten days *post partum*. Methaemoglobinaemia in ewes and their lambs had consistent dynamics during the whole period of study with slightly higher values in lambs than in ewes. Differences in the averages of methaemoglobine (MtHb) concentrations in blood were statistically higher from the fourth till the 72nd hour after administration. NaNO_3 concentration in milk highly and significantly increased after the first administration, with a subsequent decline to an insignificant level during further clays, as compared with the initial data. NO_2 ions were not observed to be present in any milk sample. Dynamics of methaemoglobinaemia in the dairy cow and her calf was the same as in the ewes, with a tendency of regular increasing four hours after administration. The increase in methaemoglobinaemia the last day of the trial was at the limit of significance. NaNO_3 content in milk significantly increased on the 3rd, 9th and 10th day after administration. Nitrates in urine showed similar trend as in milk with a significant increase only on the 2nd and 10th day *post partum*. The finding of 14.5 mg $\cdot \text{l}^{-1}$ NaNO_3 in the amniotic fluid provides evidence of a simultaneous transplacental transfer of nitrates.

nitrates; nitrites; blood; colostrum; milk; urine; amniotic fluid; methaemoglobin; ruminants; transmammary transfer

SLANINA, L. — SLIVKA, P. — STRUHÁRIKOVÁ, J. (Hochschule für Veterinärmedizin, Košice; Forschungsinstitut für experimentelle Veterinärmedizin, Košice): *Durchdringen von Nitraten und Nitriten bei Wiederkäuern durch ihre Milchdrüse und Niveau der Methämoglobinämie im Blut der Jungtiere und deren Mütter.* Veter. Med. (Praha), 35, 1990 [11]: 647—656.

Wir überprüften das Durchdringen von Nitraten bei Schafen als Modelltiere und bei Milchkühen in der sog. Biestmilchperiode und kurz danach durch ihre Milchdrüse. Den Mutterschafen verabreichten wir *per os* 35 mg $\text{NaNO}_3 \cdot \text{kg}^{-1}$ Lebendgewicht 2× täglich während 5 Tage nach der Geburt und den Milchkühen 50 g KNO_3 *pro toto* während 10 Tage nach der Geburt. Die Methämoglobinämie bei Schafen und Lämmern wies nach der Verabreichung von NaNO_3 fast die gleiche Dynamik während der gesamten Untersuchungsdauer mit einigermaßen höheren Werten bei den Lämmern als bei deren Müttern auf. Die auf dem Gebiet der Konzentrationen von Methämoglobin (Mthb) im Blut ermittelten Durchschnittswerte waren ab der 4. bis zur 72. Stunde nach der Verabreichung statistisch höher. Die Konzentration von NaNO_3 in der Milch stieg nach der ersten Verabreichung bedeutend und ausgeprägt an. In den nachfolgenden Tagen fiel sie auf ein unbedeutendes Niveau im Vergleich zum Ausgangswert ab. Die Anwesenheit von NO_2^- Ionen konnte in keiner Milchprobe nachgewiesen werden. Die Methämoglobinämiedynamik der Milchkühen und Kälber entsprach derjenigen der Schafe mit einer bedeutenden Tendenz zum regelmässigen Anstieg vier Stunden nach der Verabreichung. Der Anstieg der Methämoglobinämie am letzten Tag unseres Versuches lag auf der Grenze der Signifikanz. Der Gehalt der Milch an NaNO_3 stieg bedeutend am 3., 9. und am 10. Tag der Verabreichung an. Die im Harn enthaltenen Nitrate wiesen einen ähnlichen Trend wie in der Milch mit einem bedeutendem Anstieg nur am 2. und am 10. Tag nach der Geburt auf. Der Befund von $14,5 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ NaNO_3 im Fruchtwasser zeugt vom gleichzeitigen transplazentaren Durchdringen der Nitrate.

Nitrate; Nitrite; Blut; Kolostrum; Milch; Harn; Fruchtwasser; Methämoglobin- Wiederkäufer; Durchdringen durch die Milchdrüse

Adresy autorov:

Prof. MVDr. Ľudovít Slanina, DrSc., Vysoká škola veterinárska, Komenského 73, 040 01 Košice

MVDr. Peter Slivka, MVDr. Jana Struháriková, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Dukelských hrdinov 1/A, 040 01 Košice

ZMENA KONCENTRÁCIÍ AMINOKYSELÍN V BAKTÉRIÁCH ADHEROVANÝCH NA EPITEL BACHORA OVIEC PO PERORÁLNEJ ZÁŤAŽI ORGANIZMU EXTRÉMNE NÍZKÝMI DÁVKAMI ORTUTE

J. Legáth, P. Kačmár, J. Tomáš

LEGÁTH, J. — KAČMÁR, P. — TOMÁŠ, J. [Vysoká škola veterinárska, Košice]: *Zmena koncentrácií aminokyselín v baktériách adherovaných na epitel bachora oviec po perorálnej záťaži organizmu extrémne nízkymi dávkami ortute*. Veter. Med. [Praha], 35, 1990 [11]: 657—665.

Sledovali sme vplyv nízkych koncentrácií ortute prijímaných diétou (4 mg na kus a deň) na zloženie aminokyselín v bielkovinách bachorových baktérií adherovaných na dorzálnu a ventrálnu časť bachora šiestich oviec. Napriek tomu, že ortuť celkovo neovplyvňuje koncentráciu aminokyselín v hydrolyzátach epimurálnych baktérií, došlo pôsobením nízkych dávok ortute k významným zmenám niektorých aminokyselín v porovnaní s kontrolnou skupinou zvierat. Významne klesli hladiny alanínu, histidínu, treonínu, serínu a glycínu a zároveň významne stúpli hladiny prolínu, valínu, izoleucínu, tyrozínu, lyzínu a fenylalanínu. V našich experimentoch sme zistili, že hladiny alanínu, histidínu a treonínu v hydrolyzátach epimurálnych baktérií bachora významne sa znížili i pri kŕmení oviec s vyváženou kŕmnom dávkou s prídavkom ortute a dusíka podľa normy, i pri kŕmení oviec diétou s nízkym obsahom dusíka. Podobne významne sa zvýšili hladiny prolínu, tyrozínu a fenylalanínu v hydrolyzátach epimurálnych baktérií bachora i pri kŕmení nízkodusíkovou diétou, i pri kŕmení diétou obsahujúcou dusík v norme s prídavkom ortute. Výsledky podnecujú k úvahe, že často sa vyskytujúce poruchy mikrobiálnej syntézy v bachore, pre ktoré nie je primerané vysvetlenie, môžu byť spôsobené dlhodobým skrmovaním kontaminovaného krmiva extrémne nízkymi koncentraciami ťažkých kovov. Dôkladnejšie preskúvanie tohoto problému by si zaslužilo pozornosť v budúcich experimentálnych prácach, zameraných na objasnenie porúch biosyntézy v bachore, ktoré znižujú produkčnú schopnosť prežúvavcov.

bachor; adherentné baktérie; aminokyseliny; ortuť

Problém ortute v životnom prostredí začal narastať začiatkom nášho storočia v dôsledku intenzívneho rozvoja priemyselnej výroby vôbec. Rozvoj chemického a hutného priemyslu, ale najmä produkcie pesticídov obsahujúcich ortuť viedli k introdukcii ortute do životného prostredia a k nárastu výskytu intoxikácií jej zlúčeninami.

Patologickými účinkami organickej ortute na organizmus sa zaoberalo veľa autorov. Najčastejšie sa popisuje jej neurotoxický účinok, prejavujúci sa poruchami chovania, hltania, sluchu, hypersaliváciou (Rice a Gilbert, 1982). Výrazné sú toxické účinky ortute na obličky (Young a i., 1976) a pečeň (Trump a i., 1966). Spôsobuje cytogenetické zmeny v rastúcich a vyvíjajúcich sa bunkách (Ramel, 1969).

Ortuť inhibuje celý rad enzýmov a proteosyntézu [Desnoyers a i., 1973; Chang a i., 1973; Donaldson a Thaxton, 1975], je schopná prenikať cez placentárnu bariéru [Clarkson a i., 1972; Reynolds a Pitkin, 1976] a vylučuje sa mliekom [Ardátová a Bakum, 1976; Várnagy, 1977].

Z uvedeného prehľadu účinku ortute na organizmus vyplýva, že ortuť je významným a aktuálnym kontaminantom životného prostredia. Stále existuje reálne nebezpečenstvo chronického pôsobenia nepatrných koncentrácií ortute na živé organizmy. Je možné predpokladať, že tieto koncentrácie môžu negatívne ovplyvniť i mikrobiálnu proteosyntézu prebiehajúcu v bachore prežúvavcov.

Je všeobecne známe, že vo väčšine dietetických podmienok sú bachorové mikroorganizmy hlavným zdrojom proteínov prístupných pre prežúvavce a výťažok mikrobiálnych proteínov ovplyvňuje celkovú dusíkovú bilanciu organizmu prežúvavcov [Cotta a Russell, 1982]. Mikrobiálna bachorová populácia je v plnej miere schopná produkovať pľnohodnotné bielkoviny.

Proteosyntetická kapacita mikroorganizmov je však limitovaná vzájomnými vzťahmi medzi zdrojmi dusíka, uhlíka, na energiu bohatých látok a v neposlednej miere i závislá na vplyvoch celého komplexu iných faktorov, medzi ktoré patria i chemické cudzorodé látky.

Cieľom našej práce bolo sledovať vplyv toxického účinku ortute vyskytujúcej sa v diéte v extrémne nízkych koncentráciách na zloženie aminokyselín v proteínoch baktérií adherovaných na epitel bachora oviec.

MATERIÁL A METÓDY

Do experimentu bolo zaradených 12 oviec, plemena slovenské merino, o živej hmotnosti 22 až 35 kg.

Pokusná skupina šiestich oviec bola kŕmená zbilancovanou kŕmnou dávkou podľa ČSN 46 7070, do ktorej bola pridaná anorganická ortuť Hg^{2+} v dávke 4 mg na kus a deň. Kŕmna dávka pozostávala zo sena lúčneho priemernej kvality — 0,4 kg a Melasového krmiva M — 0,6 kg, ktoré obsahuje melasu, miagany ovos, pšeničnú kŕmnu múku, pšeničné a ražné otruby a minerálne kŕmne prísady. Kontrolná skupina oviec bola kŕmená kŕmnou dávkou, pozostávajúcou z tých istých komponentov, bez prídavku ortute. Zvieratá boli zaradené do experimentu po dobu 28 dní po predchádzajúcej 21 dňovej adaptácii. Voda bola podávaná *ad libitum*.

Vzorky z ventrálnej a dorzálnej časti bachora, na epiteli ktorého sú adherované nami študované baktérie, o veľkosti 200 až 300 cm² sme odoberali ihneď po usmrtení oviec.

Na získanie baktérií adherovaných na epitel bachora sme použili nami modifikovaný a kvantifikovaný postup (elúciu izotonickým puľovaným roztokom pri teplote 4°C). Výťažnosť metodiky, ktorá bola určená rastrovaciou elektrónovou mikroskópiou, predstavovala 93,3 % [Legáth a i., 1990].

Koncentrát epimurálnych bachorových baktérií, trikrát prepraných v izotonickom puľovom roztoku, sme hydrolyzovali v prostredí 6 M kyseliny chlorovodíkovej v uzavretom prostredí, pri teplote 105°C po dobu 24 hodín. Aminokyseliny v hydrolyzátoch baktérií sme stanovili prístrojom AMINO ACIDS ANALYZER T 339 [Mikrotechna Praha].

Koncentráciu ortute v bachorovom obsahu, odobratom ihneď po usmrtení oviec, sme stanovovali metódou atómovej absorpčnej spektrofotometrie na jednoúčelovom prístroji TMA 254 (Tesla Holešovice).

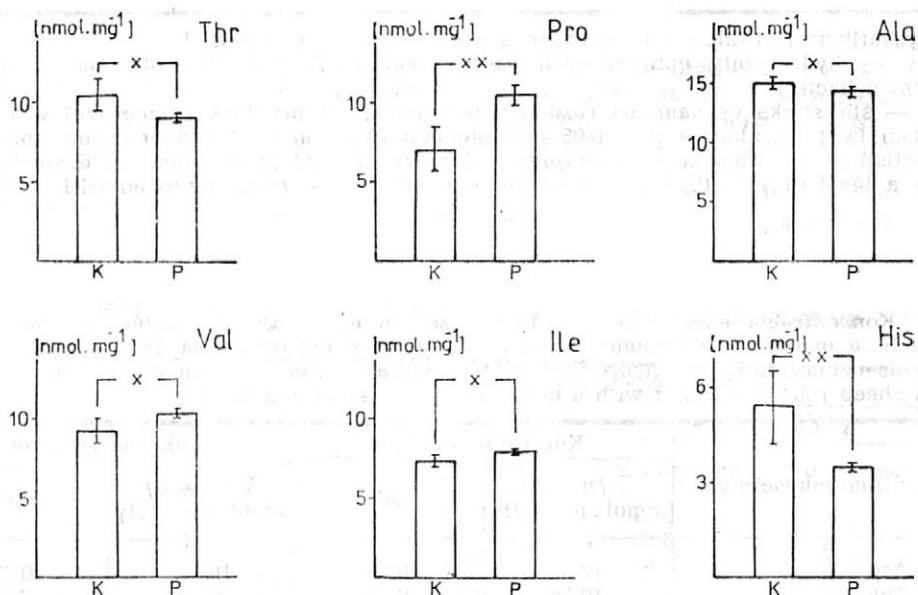
Výsledky jednotlivých analýz boli spracované osobným počítačom Sinclair ZX Spectrum plus s grafickou tlačiarňou Alphacom 32 a nami vypracovaným programom Biostat - d.

Porovnávaním výsledkov analýz hydrolyzátov baktérií adherovaných na ventrálnu časť bachora oviec kontrolnej a pokusnej skupiny oviec, ktorým bola podávaná kŕmna dávka obsahujúca prídavok 4 mg ortute na kus a deň po dobu 28 dní, sme zistili signifikantné zníženie koncentrácie aminokyselín treonínu, alanínu, histidínu a signifikantné zvýšenie prolínu, valínu a izoleucínu (obr. 1).

Pri porovnávaní výsledkov analýz hydrolyzátov epimurálnych baktérií z dorzálnnej časti bachora kontrolnej a pokusnej skupiny oviec, sme zistili signifikantný pokles hladín histidínu, alanínu, serínu a glycínu a signifikantný vzostup hladín prolínu, tyrozínu, lyzínu a fenylalanínu (obr. 2).

Výsledky analýz hydrolyzátov epimurálnych bachorových baktérií ventrálnnej a dorzálnnej časti bachora kontrolnej a pokusnej skupiny oviec (kŕmenej prídavkom ortute) na aminokyseliny sú uvedené v tab. I a II.

Živá hmotnosť oviec pred a po pokuse je uvedená v tab. III. Kontrolná skupina zvýšila svoju hmotnosť počas pokusu o 2,91 kg, pokusná skupina o 2,58 kg.



x - štatistická významnosť na hladine $p < 0,05$

1. Priemerné koncentrácie teonínu, prolínu, alanínu, valínu, izoleucínu a histidínu v 1 mg hydrolyzátov bachorových baktérií adherovaných na ventrálnu časť bachora oviec po perorálnom podávaní 4 mg ortute na kus a deň v kŕmnej dávke po dobu 28 dní — Mean concentrations of threonine, proline, alanine valine, isoleucine and histidine in 1 mg of hydrolyzates of rumen bacteria adhered to the ventral part of rumen in sheep after oral administration of 4 mg of mercury per head and day in feed ration during 28 days

Vysvetlivky k obr. 1—3 — Explanatory notes to Figs. 1—3:

K — kontrolná skupina — control group

P — pokusná skupina — test group

I. Koncentrácia aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií ventrálnej časti bachora oviec [ovce kŕmené diétou obsahujúcou 4 mg ortute na kus a deň] — Amino acids concentrations in hydrolyzates of the epimural bacteria of the ventral part in sheep rumen [sheep fed diet with 4 mg mercury per head and day].

Aminokyseliny	Kontrolná skupina		Pokusná skupina	
	$\bar{x}$ ($n=6$) nmol . mg ⁻¹ Hy	<i>sd</i>	$\bar{x}$ ($n=6$) nmol . mg ⁻¹ Hy	<i>sd</i>
Asp	17,17	1,57	16,33	0,37
Thr	10,38	1,03	9,12*	0,39
Ser	9,18	0,41	9,02	0,23
Glu	19,61	1,10	19,91	0,36
Pro	6,99	1,52	10,33*	0,63
Gly	14,38	1,13	13,84	0,31
Ala	15,03	0,38	14,48*	0,36
Val	9,23	0,86	10,38*	0,16
Ile	7,38	0,38	7,96*	0,07
Leu	13,21	0,88	13,38	0,29
Tyr	11,85	1,65	2,50	0,42
Phe	5,57	0,36	5,62	0,09
His	5,33	1,28	3,71*	0,09
Lys	10,54	0,16	10,80	0,14
Arg	7,10	0,50	7,29	0,94

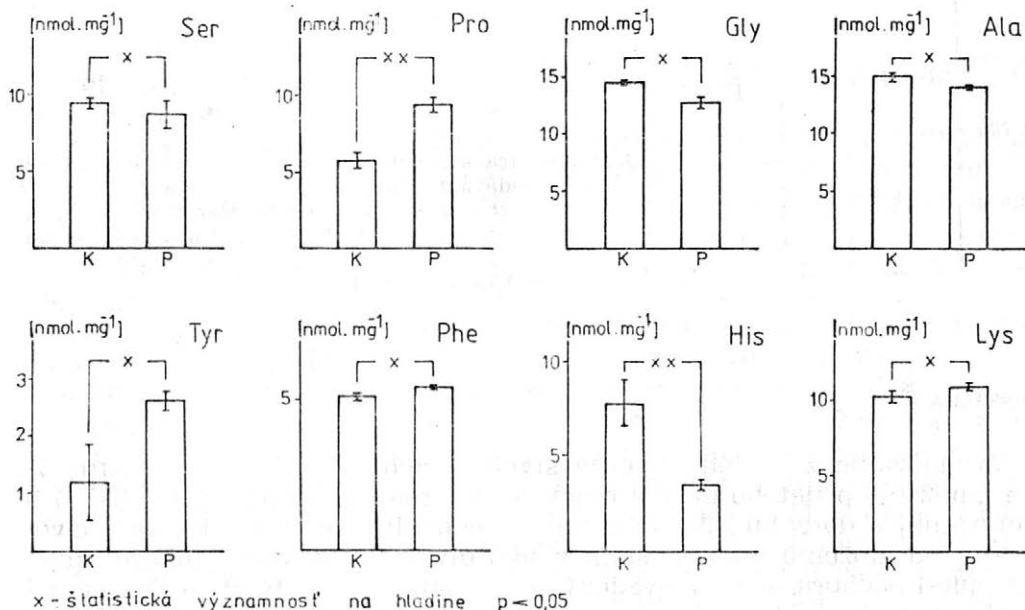
Vysvetlivky pro tab. I a II — Explanatory notes to Tabs. I and II:

Hy — hydrolyzáty epimurálnych bachorových baktérií — hydrolyzates of epimural rumen bacteria

* — štatistická významnosť rozdielov priemerov ($\bar{x}$) pri daných smerodajných odchýlkach (*sd*) na hladine $p < 0,05$ hodnotené nepárovým t — testom oproti kontrole — statistical significance of differences of means ($\bar{x}$) at given standard deviations (*sd*) at a level of $p < 0,05$, evaluated by non paired t — test, compared with the control

II. Koncentrácia aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií dorzálnnej časti bachora oviec [ovce kŕmené diétou obsahujúcou 4 mg ortute na kus a deň] — Amino acids concentration in hydrolyzates of epimural bacteria of the dorsal part of rumen in sheep [sheep fed diet with 4 mg mercury per head and day]

Aminokyseliny	Kontrolná skupina		Pokusná skupina	
	$\bar{x}$ ($n=6$) nmol . mg ⁻¹ Hy	<i>sd</i>	$\bar{x}$ ($n=6$) nmol . mg ⁻¹ Hy	<i>sd</i>
Asp	17,03	0,34	16,29	0,23
Thr	10,26	0,40	9,98	0,52
Ser	9,51	0,30	8,90*	0,92
Glu	19,02	0,37	20,31	0,79
Pro	5,70	0,53	9,37*	0,53
Gly	14,50	0,22	12,86*	0,60
Ala	15,02	0,45	14,16*	0,19
Val	9,58	0,16	9,76	0,31
Ile	7,82	0,14	8,05	0,87
Leu	13,21	0,35	13,89	0,28
Tyr	1,16	0,65	2,71*	0,17
Phe	5,24	0,15	5,57*	0,08
His	7,85	1,22	3,46*	0,23
Lys	10,16	0,31	10,89*	0,19
Arg	7,00	0,62	7,46	0,28

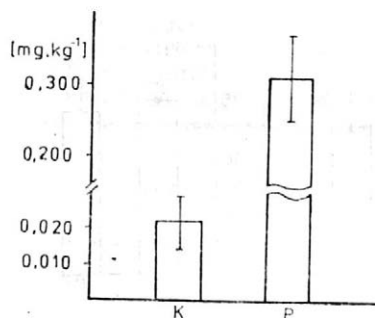


2. Priemerná koncentrácia serínu, prolínu, glycínu, alanínu, tyrozínu, fenylalanínu, histidínu a lyzínu v 1 mg hydrolyzátoch bachorových baktérií adherovaných na ventrálnu časť bachora oviec po perorálnom podávaní 4 mg ortute na kus a deň v kŕmnej dávke po dobu 28 dní — Mean concentrations of serine, proline, glycine, alanine, tyrosine, phenylalanine, histidine and lysine in 1 mg of hydrolyzates of rumen bacteria adherent to the ventral part of rumen in sheep after oral administration of 4 mg of mercury per head and day in feed ration during 28 days

III. Živá hmotnosť oviec pred a po ukončení pokusu — Live weight of sheep before and after termination of the test

Číslo ovce	Živá hmotnosť [kg]			
	kontrolná skupina		pokusná skupina	
	pred pokusom	po pokuse	pred pokusom	po pokuse
1	31,5	34,5	28,0	31,0
2	32,5	35,0	22,0	24,0
3	33,0	35,5	26,0	28,0
4	30,0	33,5	23,5	26,0
5	32,0	35,5	26,0	29,0
6	35,0	37,5	24,0	27,0
$\bar{x}$	32,33	35,24	24,92	27,50
<i>sd</i>	1,66	1,33	2,15	2,42

Priemerná koncentrácia ortute v bachorovom obsahu kontrolnej skupiny oviec je 0,021 mg.kg⁻¹ (0,016 až 0,037 mg.kg⁻¹), v pokusnej skupine oviec, kde denne bola podávaná ortuť v dávke 4 mg na kus a deň, je 0,309 mg.kg⁻¹ (0,250 až 0,389 mg.kg⁻¹), čo je 14,7krát viac ako v kontrolnej skupine oviec (obr. 3).



3. Koncentrácia ortute v bachore oviec po perorálnom podávaní 4 mg ortute na kus a deň v kŕmnej dávke [priemery $\pm$ sd] — Mercury concentration in the rumen of sheep after oral administration of 4 mg of mercury per head and day in the feed ration (means $\pm$ sd)

DISKUSIA

Vychádzajúc z výsledkov predošlých našich prác, kde sme zistili, že na množstvo prijatého dusíka najcitlivejšie reagovali epimurálne baktérie ventrálnej a dorzálnej časti bachora, sledovali sme vplyv nízkych dávok ortute na zloženie aminokyselín v hydrolyzátoch baktérií adherovaných na epitel bachora oviec v uvedených topograficko-anatomických častiach bachora.

Medzi koncentráciou jednotlivých aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií pri diéte s nízkym obsahom dusíka, vysokým obsahom dusíka a obsahom dusíka v norme (Legáth, 1988) a koncentráciou aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií pri skrmovaní diéty s prídavkom ortute sa zistila vysoká korelácia ($r = 0,95$; $p < 0,001$; $r = 0,95$; $p < 0,01$; $r = 0,96$; $p < 0,01$). Z toho vyplýva, že ortuť celkovo významne neovplyvňuje zastúpenie jednotlivých aminokyselín v hydrolyzátoch baktérií adherovaných na epitel bachora vo vzťahu k vysokému, nízkemu, resp. normálnemu obsahu dusíka v diéte.

Avšak, ako zo signifikantného rozdielu medzi koncentraciami niektorých aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych bachorových baktérií u oviec kŕmených diétou obsahujúcou dusík podľa normy a koncentraciou aminokyselín u oviec kŕmených tou istou diétou, ale s prídavkom ortute (4 mg na kus a deň) vyplýva, pôsobením nízkych dávok ortute sa koncentrácia niektorých aminokyselín baktérií adherovaných na epitel bachora výrazne mení. Významne sa zvýšila hladina prolínu, valínu, izoleucínu, tyrozínu, lyzínu a fenylalanínu a znížila sa hladina alanínu, histidínu, treonínu, serínu a glycínu.

Zaujímavé je zistenie, že signifikantný pokles hodnôt u aminokyselín alanínu, histidínu a treonínu v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií ventrálnej a dorzálnej časti sme zaznamenali pri kŕmení diéty s nízkym obsahom dusíka i pri kŕmení oviec s vyváženou kŕmnou dávkou s prídavkom 4 mg ortute. Podobne signifikantný vzostup hodnôt aminokyselín prolínu, tyrozínu a fenylalanínu v hydrolyzátoch epimurálnych bachorových baktérií sme zaznamenali pri skrmovaní nízkodusíkovej diéty i diéty obsahujúcej ortuť.

Zmeny v zastúpení aminokyselín v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií v bachore oviec kŕmených diétou s prídavkom ortute sú, i keď len u šiestich aminokyselín, takmer totožné so zmenami v hydrolyzátoch epimurálnych baktérií bachora oviec, kŕmených nízkodusíkovou diétou,

ktorej vplyv na zastúpenie aminokyselín sme sledovali v našich predošlých prácach.

Zmeny si vysvetľujeme inhibíciou niektorých ciest syntézy aminokyselín v bakteriálnych bunkách (Desnoyers a i., 1973), alebo selektívnym pôsobením ortute na niektoré druhy baktérií adherovaných na epitel bachora oviec.

K inhibícii enzýmov syntézy aminokyselín v bakteriálnych bunkách môže dôjsť dvoma spôsobmi: 1. väzbou Hg^{2+} na SH^- skupiny v aktívnom centre enzýmu; 2. väzbou Hg^{2+} na SH^- skupiny na peptidickom reťazci enzýmu, čo má za následok porušenie terciálnej štruktúry enzýmu s možnou zmenou priestorového usporiadania jeho aktívneho centra.

Chronické pôsobenie ortute na bachorové baktérie u oviec, ako z našich výsledkov vyplýva, by mohlo mať za následok dlhodobú deficienciu niektorých aminokyselín v organizme, čo by sa mohlo odzrkadliť pri tvorbe telových bielkovín. Nepriamo na to poukazujú i naše pokusy, v ktorých podávanie nízkych koncentrácií ortute v krmive sa odrazilo i v hmotnostných prírastkoch. Kontrolná skupina oviec zvýšila svoju priemernú živú hmotnosť počas pokusu o 2,91 kg. V skupine oviec, v ktorej bola podávaná ortuť, sa zvýšila živá hmotnosť o 2,58 kg, čo je o 0,33 kg menej ako v kontrolnej skupine, i keď ovce oboch skupín boli kŕmené zbilancovanou kŕmnom dávkou v rovnakých ustajňovacích podmienkach. Uvedený rozdiel v hmotnostných prírastkoch poukazuje len na možnú tendenciu menej konvergovať krmivo prežúvavcami v dôsledku prítomnosti ortute v kŕmnej dávke.

Literatura

- ARDÁTOVÁ, A. M. — BAKUM, V. V.: Toksičnosť moloka pri intoksikácii svinomatom granozanom. Bjuil. Vsesajuz. Inst. eksp. Veter., 27, 1976, s. 45—46.
- CLARKSON, T. W. — MAGOS, L. — GREENWOOD, M. R.: The transport of elemental mercury in fetal tissues. Biol. Neonat., 21, 1972, s. 239—244.
- COTTA, M. A. — RUSSELL, J. B.: Effect of peptides and amino acids on efficiency of rumen bacterial protein synthesis in continuous culture. J. Dairy Sci., 65, 1982, s. 226—234.
- DESNOYERS, P. A. — CHANG, L. W. — LALICH, J. J.: Pathological changes in hepatocytes after acute mercury intoxication. Fed. Proc., 32, 1973, s. 838—839.
- DONALDSON, W. E. — THAXTON, J. P.: Mercuric chloride effects on the activities of some hepatic enzymes in chicks (Drinking water). Poult. Sci., 54, 1975, s. 1611—1616.
- CHANG, L. W. — DESNOYERS, P. A. — HARTMANN, H. A.: Quantitative cytochemical study of RNA in experimental mercury poisoning. II. Changes in base composition and ration. Acta neuropathol., 23, 1973, s. 77—83.
- LEGÁTH, J. — TIMKOVIČOVÁ, M. — TOMÁŠ, J. — JAVORSKÝ, P. — BELÁK, M.: Elúcia baktérií adherovaných na epitel bachora oviec a ich elektrónovomikroskopický dôkaz. Veter. Med. (Praha), 35, 1990, s. 397—402.
- LEGÁTH, J.: Štúdium aminokyselín v hydrolyzátoch baktérií adherovaných na epitel bachora oviec za rôznych nutričných podmienok. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1988. — Vysoká škola veterinárska.
- RAMEL, C.: Genetic effects of organic mercury compounds. I. Cytological investigation on *Allium roots*. Hereditas, 61, 1969, s. 208—230.
- REYNOLDS, A. — PITKIN, R.: Mercury in ruman maternal and cord blood, Placenta and Milk. Proc. Soc. exp. Biol. Med., 151, 1976, s. 565—567.
- RICE, D. C. — GILBERT, S. G.: Early chronic low — level methylmercury poisoning in monkeys impairs spatial vision. Science 216/4547, 1982, s. 759—761.
- TRUMP, B. F. — GOLDBLATT, P. J. — STOWELL, R. C.: Studies on necrosis of mouse liver *in vitro*: Ultrastructural alterations in the mitochondria of hepatic parenchymal. Cell. Lab. Invest., 14, 1966, s. 343—371.

VÁRNAGY, L.: Peszticidek okozta állatmérgezések és mérgezési veszélyek a külföldi szakirodalom turkébeu. A higanyvegeuletek állategészségügyi és élelmiszerhigiéniai veszélyei. Magy. állatorv. Lap., 32, 1977, s. 255—259.

YOUNG, P. S. — BRAKE, J. — SIKES, C. V.: Mercury toxicity and kidney function in the chicken. Poultry Sci., 55, 1976, s. 1611—1618.

Došlo dňa 19. 1. 1990

ЛЕГАТ, Я. — КАЧМАР, П. — ТОМАШ, Я. (Институт ветеринарии, Кошице): Изменение концентраций аминокислот в бактериях, адгерирующих в эпителий рубца у овец после пероральной нагрузки организма экстремально низкими дозами ртути. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (11): 657—665.

Определяли влияние усвояемой с диетой ртути (4 мг на голову в сутки) на состав аминокислот в белках рубцовых бактерий, адгерирующих в дорзалин и вентральную часть рубца шести овцам. Хотя ртуть в общем не влияет на концентрацию аминокислот в гидролизатах эпимуральных бактерий, под влиянием ее низких дозировок возникли значимые изменения в некоторых аминокислотах в сравнении с контрольной группой. Значительно пали уровни аланина, гистидина, треонина, серина и глицина, а в то же время заметно возросли уровни пролина, валина, изолейцина, тирозина, лизина и фенилаланина. Мы установили, что уровни аланина, гистидина и треонина в гидролизатах эпимуральных бактерий рубца заметно понижаются даже при даче выравненной кормодозы с добавкой ртути и азота по норме или при скормлинии диеты с низким азотным содержанием. Подобным образом заметно возрастают уровни пролина, тирозина и фенилаланина в гидролизатах эпимуральных бактерий и при скормлинии диеты с низким процентом азота или с азотом по норме с добавкой ртути. Результаты наводят на мысль, что частые расстройства микробного синтеза в рубце, не поддающиеся объяснению, могут быть вызваны длительным скормливанием корма, содержащего экстремально низкие концентрации тяжелых металлов. Эта проблема заслуживает тщательного внимания в будущих разработках, направленных на освещение расстройств биосинтеза в рубце, снижающих продуктивность жвачных.

рубец; адгерентные бактерии; аминокислоты; ртуть

LEGÁTH, J. — KAČMÁR, P. — TOMÁŠ, J. (University of Veterinary Medicine, Košice): Changes of amino acid concentrations in bacteria adhering to the rumen epithelium in sheep given extremely low oral doses of mercury. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (11): 657—665.

The effect of low concentrations of mercury taken in the diet (4 mg per a head and day) on the amino acid composition in the proteins of rumen bacteria adhering to the dorsal and ventral parts of the rumen was studied in six sheep. Though the mercury did not influence the amino acid concentration in hydrolyzates of epimural bacteria, low-mercury doses caused significant changes of some amino acids, as compared with the control group of animals. The levels of alanine, histidine, threonine, serine and glycine were significantly decreased and at the same time the levels of proline, valine, isoleucine, tyrosine, lysine and phenylalanine were significantly increased. It was stated in our experiment that the levels of histidine, alanine and threonine in hydrolyzates of epimural bacteria of the rumen were significantly decreased both in the sheep given the balanced feed ration with additions of mercury and nitrogen (according to the standard) and in the sheep given a low-nitrogen diet. Similarly, the levels of proline, tyrosine and phenylalanine in the hydrolyzates of epimural bacteria in rumen were significantly increased both with the low-nitrogen diet and in the normal-nitrogen diet with mercury supplement. The results suggest that unexplained disorders frequently occurring in the microbial synthesis in the rumen might be caused by long-continued administration of feed contaminated with extremely low concentrations of heavy metals. The problem deserves detailed investigation in future studies, oriented to explaining the biosynthesis disorders in rumen, reducing the production ability of ruminants.

rumen; adherent bacteria; amino acids; mercury

LEGÁTH, J. — KAČMÁR, P. — TOMÁŠ, J. (Hochschule für Veterinärmedizin, Košice): *Änderung der Konzentration von Aminosäuren in den auf das Pansenepithel der Schafe nach der peroralen Belastung des Organismus durch extrem niedrige Quecksilbergaben adherierten Bakterien.* Veter. Med. [Praha], 35, 1990 [11]: 657—665.

Wir untersuchten den Einfluss der niedrigen Konzentrationen von Quecksilber (aufgenommen in einer Menge von 4 mg/Tier/Tag) auf die Zusammensetzung der Aminosäuren in Eiweissstoffen der auf den dorsalen und ventralen Teil des Pansens von sechs Schafen adherierten Pansenbakterien. Trotzdem, dass das Quecksilber die Konzentration von Aminosäuren in Hydrolysaten der epimuralen Bakterien keinesfalls beeinflusst, kam es infolge der Wirkung der niedrigen Quecksilbergaben zu signifikanten Umwandlungen einiger Aminosäuren im Vergleich zur Kontrollgruppe. Der Spiegel von Alanin, Histidin, Threonin, Serin und Glyzin fiel bedeutend ab, derjenige von Prolin, Valin, Isoleuzin, Tyrosin, Lysin und Phenylalanin stieg hingegen signifikant an. In unseren Versuchen stellten wir fest, dass der Spiegel von Alanin, Histidin und Threonin in Hydrolysaten der epimuralen Pansenbakterien auch bei der Fütterung der Schafe mit ausgeglichener Futterration mit Zusatz von Quecksilber und Stickstoff entsprechend der Norm oder bei der Fütterung der Schafe mit Diät mit niedrigem Stickstoffgehalt signifikant abgefallen war. Ähnlicherweise signifikant stieg auch der Spiegel von Prolin, Tyrosin, Phenylalanin in Hydrolysaten der epimuralen Pansenbakterien auch bei der Fütterung mit Diät mit niedrigem N-Gehalt wie auch bei der Fütterung mit Diät die den Stickstoff in der Norm mit Zusatz von Quecksilber enthält an. Die ermittelten Ergebnisse deuten darauf hin, dass die so oft auftretenden Störungen der mikrobiellen Synthese im Pansen, für die keine zufriedenstellende Erklärung gegeben werden kann, auf eine langfristige Verfütterung der kontaminierten Futtermittel mit extrem niedrigen Konzentrationen von Schwermetallen zurückzuführen sind. Das Problem bedarf einer höheren Aufmerksamkeit in weiteren experimentellen Arbeiten, die sich mit der Erfassung der Störungen der Biosynthese im Pansen, die das Produktionsvermögen der Wiederkauervermindern, befassen werden.

Pansen; adherante Bakterien; Aminosäuren; Quecksilber

Adresa autorov:

MVDr. Jaroslav Legáth, CSc., doc. MVDr. Peter Kačmár, CSc., prof. MVDr. Ján Tomáš, DrSc., Vysoká škola veterinárská, Komenského 71, 041 81 Košice

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 12/90 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

- V. Tančin, M. Valent, J. Kováčik, A. Traczykowski: Hladina inzulinu a tyroxínu u dojníc v priebehu laktácie počas deväťdňovej hladovky
- B. Havelka: Koaguláza negatívne stafylokoky izolované z dojnic
- V. Skřivanová, T. Svoboda, L. Machaňová: Ověření účinku zkrmování chladného okyseleného mléčného nápoje telatům v provozních podmínkách
- J. Kozumplík, M. Roubal: Vztah termorezistentního testu a přežitelnosti spermií k zabřezávání a plodnosti prasnic
- M. Kudweis, Z. Lojda, I. Juliš: Histochemie vybraných peptidáz sliznice tenkého střeva selat experimentálně infikovaných kokcií *Isospora suis*
- M. Krajničáková, J. Elečko, E. Bekeová, I. Maraček, V. Hendrichovský: Biometrické parametre materskej matice, vajec a koncentrácie 17 beta-estradiolu (E_2) po pôrode oviec

D. Ježková, Z. Pleskač, M. Smrčková, Z. Knotková

JEŽKOVÁ, D. — PLESKAČ, Z. — SMRČKOVÁ, M. — KNOTKOVÁ, Z. (Vysoká škola veterinární, Brno): *Změny koncentrace volných aminokyselin v krevní plazmě u prasnic při porodu a u selat v průběhu rození*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 [11]: 667—678.

U sedmi vysokobřezích prasnic, kříženců plemene bílé ušlechtilé a landrase, v průběhu porodu a u jejich 69 selat během narození byly studovány změny koncentrací celkových i jednotlivých volných aminokyselin v krevní plazmě, a to ve vztahu k době trvání porodu, k pořadí rození selat ve vrhu a k hmotnosti selat při narození. Koncentrace celkových volných aminokyselin v krevní plazmě prasnic těsně před porodem je $2,44 \pm 0,182 \text{ mmol.l}^{-1}$, po narození posledního selate neprůkazně klesá na $2,17 \pm 0,190 \text{ mmol.l}^{-1}$. Koncentrace celkových volných aminokyselin v krevní plazmě u novorozených selat je vždy významně vyšší než u jejich matek ($p < 0,001$) a činí $4,24 \pm 0,109 \text{ mmol.l}^{-1}$. Pořadí selat při narození nemá vliv na výši plazmatické koncentrace celkových volných aminokyselin (u selat narozených jako první činila aminoacidémie $4,03 \pm 0,268 \text{ mmol.l}^{-1}$, u selat narozených jako poslední se nevýznamně mění na $3,99 \pm 0,445 \text{ mmol.l}^{-1}$ krevní plazmy). Rovněž časový faktor porodu není statisticky významný. Avšak difference koncentrace volných aminokyselin v krevní plazmě mezi selaty o nejnižší hmotnosti a selaty o hmotnosti do 1200 a 1500 g jsou statisticky průkazné ($p < 0,02$). Ze 17 sledovaných aminokyselin jsou u vysokobřezích prasnic před porodem v krevní plazmě nejvíce zastoupeny alanin ($0,43 \pm 0,052 \text{ mmol.l}^{-1}$) a glycin ($0,43 \pm 0,063 \text{ mmol.l}^{-1}$). U selat při narození je nápadná vysoká koncentrace tyrozinu ($1,44 \pm 0,035 \text{ mmol.l}^{-1}$), která činí 34 % z celkové aminoacidémie. Koncentrace tyrozinu, histidinu a lyzínu je v krevní plazmě novorozených selat statisticky vysoce významně vyšší ($p < 0,001$) než u matek. Jev šestkrát vyšší tyrozinémie u selat než u prasnic je diskutován v souvislosti s hmotností při narození a s údaji o funkci a koncentraci hormonů štítné žlázy u selat v prvních dnech života.

prasnice; porod; selata; krevní plazma; koncentrace aminokyselin

V našich dřívějších studiích jsme zachytili nápadné změny v koncentraci volných aminokyselin v krevní plazmě březích prasnic, u nichž je v období posledních 40 dnů gravidity aminoacidémie vždy nižší než u zvířat nebřezích (Ježková a Padalíková, 1977a, b). Prokázali jsme, že se podíl koncentrací volných aminokyselin v krevní plazmě plodů prasat a březích matek v průběhu březosti od 74. do 114. dne zvyšuje, zatímco u 74denních fětů činí $0,86 \pm 0,08$, dosahuje u 114denních fětů prasat $1,58 \pm 0,15 \text{ mmol.l}^{-1}$ ($p < 0,001$), (Padalíková a Ježková, 1974).

Perinatálnímu údobí selat a porodnímu údobí prasnic v tomto směru pozornost věnována nebyla. Zaměřili jsme tedy své experimenty k osvětlení těchto dějů a prověřili jsme změny aminoacidémie u rodičích prasnic a jejich mláďat při narození.

MATERIÁL A METODY

Do pokusu jsme zařadili sedm vysokobřezích prasnic — kříženců plemen bílé ušlechtilé a landrasé ve věku dvou až tří let. Prasnice byly drženy v porodnách. Byly krmeny tak, že do 10. dne před porodem dostávaly 3,72 kg kompletní krmné směsi pro březí prasnice (KPB). V posledních 10 dnech březosti jim byla podávána krmná směs pro kojící prasnice (KPK). Vodu přijímaly *ad libitum*. V den očekávaného porodu jim byla odebrána krev z ušní žíly. V krevní plazmě byla stanovena koncentrace volných aminových kyselin postupem sloupcové chromatografie za použití automatického analyzátoru aminokyselin Hd 1200-E ev. T 339 [Ježková a Padalíková, 1977a]. Poté jsme odebrali prasnicím krev po narození posledního selete a v ní rovněž stanovili uvedené komponenty.

Měřili jsme časové intervaly mezi rozením selat a dobu trvání porodu. Na základě toho byla mláďata rozdělena na skupiny:

- a) selata narozená jako prvá ($n=7$), do 45 min po prvním seletu ($n=8$), do 120 min ($n=28$), do 180 min ($n=15$) a selata narozená do 300 min. ($n=11$) po prvním seletu;
- b) selata narozená v pořadí jako čtvrtá ($n=6$), jako osmá ($n=7$), a jako poslední ($n=5$).

Selata po narození byla zvažena a byla jim odebrána krev punkcí ze srdce. V krevní plazmě byla stanovena koncentrace volných aminokyselin postupem výše uvedeným.

Signifikance výsledků byla vyhodnocena výpočtem střední chyby průměru ($\pm$ S. E.) a Studentova *t*-testu.

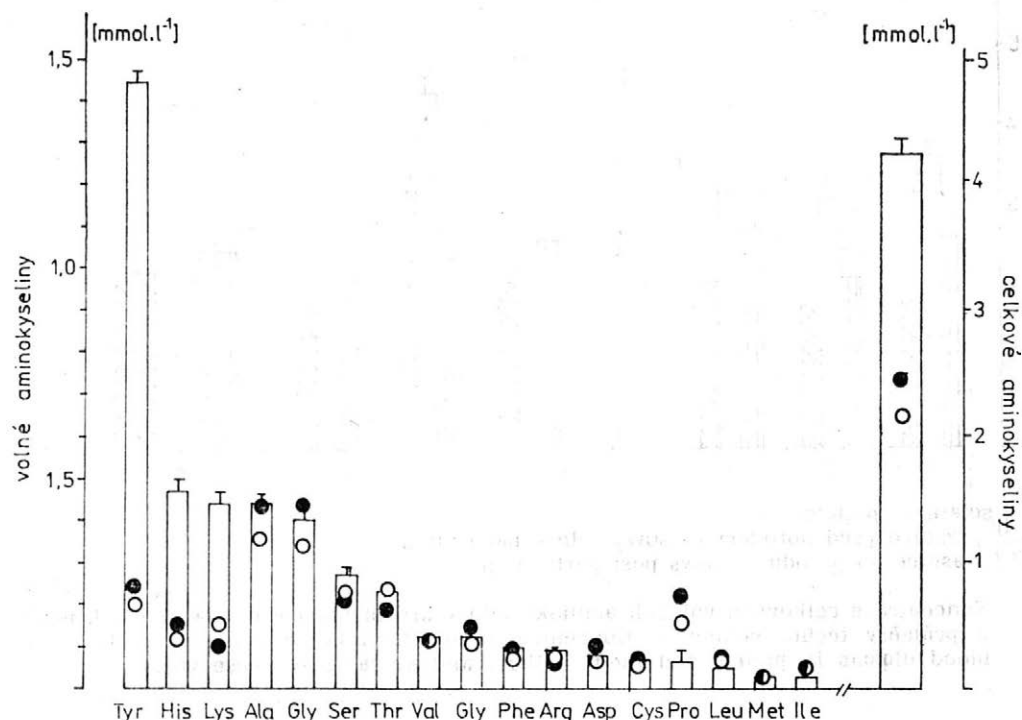
VÝSLEDKY

Koncentrace celkových volných aminokyselin v krevní plazmě prasnic těsně před porodem činí $2,44 \pm 0,182$ mmol.l⁻¹, po narození posledního selete mírně, bez statistické významnosti klesá na $2,17 \pm 0,190$ mmol.l⁻¹. Koncentrace celkových volných aminokyselin u novorozených selat je vždy vyšší než u jejich matek a činí $4,24 \pm 0,109$ mmol.l⁻¹. Diference mezi těmito veličinami u matek a novorozených selat je statisticky vysoce průkazná ($p < 0,001$), (obr. 1).

Poměr mezi koncentrací celkových volných aminokyselin v krevní plazmě novorozených selat a jejich matek, vyjádřený podílem S/M (S = mmol AK.l⁻¹ krevní plazmy u selat; M = mmol AK.l⁻¹ krevní plazmy u matky před porodem), činí $1,82 \pm 0,214$ (obr. 2).

Pořadí selat při narození není funkce, která rozhoduje o velikosti koncentrace celkových volných aminokyselin při narození mláďat. U selat narozených jako prvá činila aminoacidémie $4,03 \pm 0,268$ mmol.l⁻¹, u selat narozených jako čtvrtá se téměř neměnila ($4,09 \pm 0,409$ mmol.l⁻¹), zatímco u selat rozených v pořadí osmém byla mírně vyšší ($4,30 \pm 0,285$ mmol.l⁻¹), u selat narozených jako poslední činila opět $3,99 \pm 0,445$ mmol.l⁻¹ krevní plazmy. Vzájemné difference mezi uvedenými hladinami však nenabývaly statistické significance (obr. 3).

Rozborem významu časového faktoru narození a změn aminoacidémie u selat zjišťujeme sice, že k největšímu vzestupu koncentrace volných



□ selata — piglets

● prasnice před porodem — sows before parturition

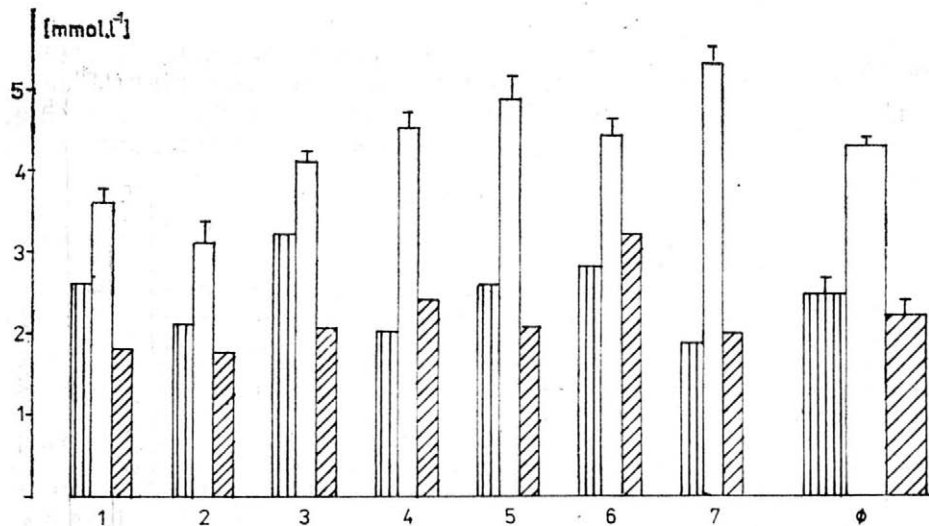
○ prasnice po porodu — sows post parturition

1. Koncentrace volných aminokyselin v krevní plazmě u novorozených selat a jejich matek — Concentration of the free amino acid in the blood plasma in newborn piglets and their mothers

aminokyselin v krevní plazmě dochází u selat narozených do tří hodin ($4,54 \pm 0,196$ mmol.l⁻¹) po seletí prvním, nicméně difference není statisticky významná (obr. 4).

Provedli jsme i rozbor změn tohoto parametru podle hmotnosti selat při narození. Nejnížší aminoacidémii měla selata, u nichž činila hmotnost při narození méně než 800 g ($3,65 \pm 0,269$ mmol.l⁻¹) a u selat, která dosahovala při narození hmotnost nejvyšší ($3,81 \pm 0,261$ mmol.l⁻¹). U selat o hmotnosti do 1000, 1200, popř. do hmotnosti 1500 g se aminoacidémie zvyšuje a činí $4,04 \pm 0,309$; $4,48 \pm 0,151$; popř. $4,49 \pm 0,161$ mmol.l⁻¹. Difference koncentrací volných aminokyselin v krevní plazmě mezi selaty o hmotnosti nejnížší a selaty o hmotnosti do 1200 a 1500 g jsou statisticky průkazné ($p < 0,02$), (obr. 5).

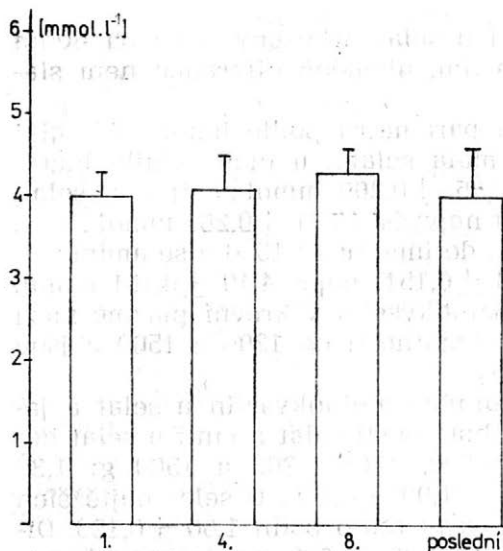
Podíl mezi koncentrací celkových volných aminokyselin u selat a jejich matek se zvětšoval v závislosti na hmotnosti selat a činil u selat dosahujících při narození hmotnosti do 800, 1000, 1200 a 1500 g: $1,36 \pm 0,003$; $1,77 \pm 0,151$; $1,84 \pm 0,126$; popř. $1,99 \pm 0,146$. U selat nejtěžších ve skupině o hmotnosti do 2000 g činil však tento podíl $1,60 \pm 0,123$. Difference těchto veličin mezi selaty o hmotnosti do 800 g a selaty o hmotnosti do 1200 a 1500 g jsou statisticky průkazné ($p < 0,05$), (obr. 6).



- selata — piglets
 ||| prasnice před porodem — sows before parturition
 /// prasnice po porodu — sows post parturition

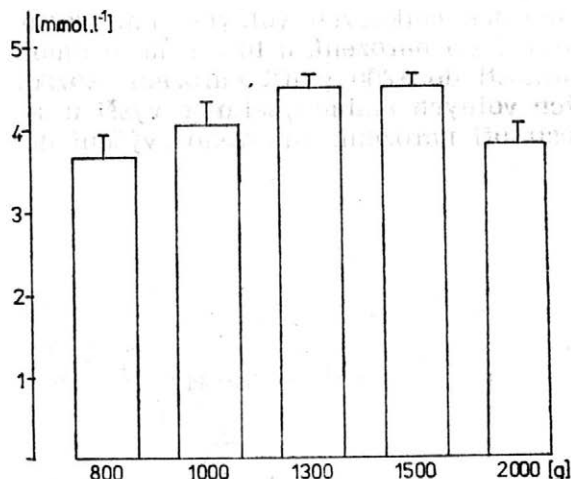
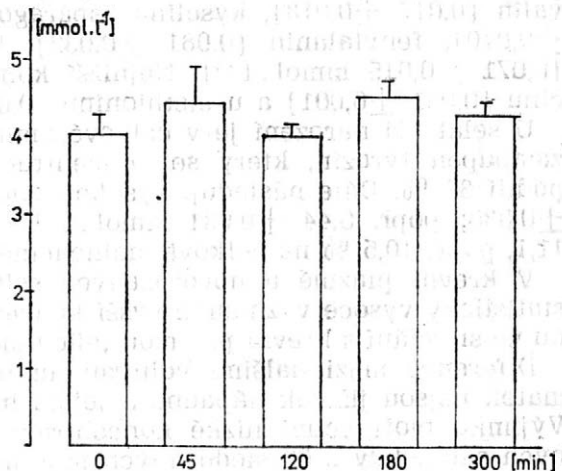
2. Koncentrace celkových volných aminokyselin v krevní plazmě u selat a jejich matek a průměry těchto veličin — Concentration of the total free amino acids in the blood plasma in piglets and their mothers and averages of these values

U vysokobřezích prasnic před porodem jsou ze 17 sledovaných aminokyselin kvantitativně nejvíce zastoupeny alanin ($0,43 \pm 0,052 \text{ mmol.l}^{-1}$) a glycin ($0,43 \pm 0,052 \text{ mmol.l}^{-1}$); asi poloviny jejich koncentrace dosahuje tyrozin ($0,24 \pm 0,028 \text{ mmol.l}^{-1}$), prolin ($0,21 \text{ mmol.l}^{-1}$), serin ($0,21 \pm 0,015 \text{ mmol.l}^{-1}$) a threonin ($0,192 \pm 0,018 \text{ mmol.l}^{-1}$). Dále pak



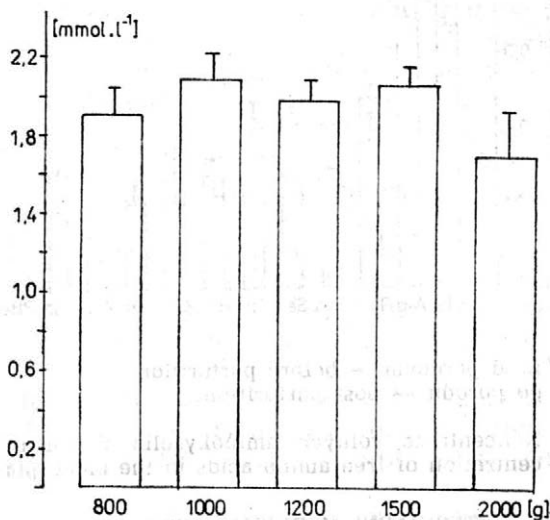
3. Koncentrace celkových volných aminokyselin v krevní plazmě u selat vzhledem k pořadí při narození — Concentration of the total free amino acids in the blood plasma in piglets in relation to the sequence of birth of the piglets in the litter

4. Koncentrace celkových volných
selet vzhledem k době trvání ro-
aminokyselin v krevní plazmě u
zení — Concentration of the to-
tal free amino acids in the blood
plasma in piglets in relation to
the time of duration of the par-
turation



5. Koncentrace celkových volných
aminokyselin u selat různé hmotnosti při naro-
zení — Concentration of the to-
tal free amino acids in the blood
plasma in piglets of different
weights at birth

6. Podíl koncentrace celkových vol-
ných aminokyselin u selat různé
hmotnosti při narození a jejich
matek — Proportions of the con-
centrations of the total free ami-
no acids in piglets of different
weights at birth and in their mo-
thers



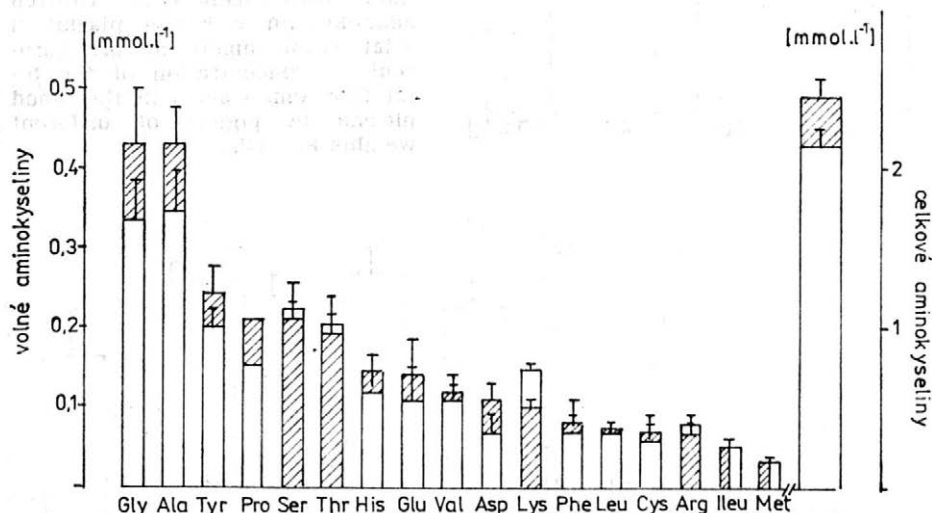
následují histidin ($0,147 \pm 0,022$), kyselina glutamová ($0,143 \pm 0,039$), valin ($0,017 \pm 0,018$), kyselina asparagová ($0,109 \pm 0,019$), lyzín ($0,100 \pm 0,010$), fenylalanin ($0,081 \pm 0,032$), leucin ($0,075 \pm 0,007$) a cystin ($0,071 \pm 0,015 \text{ mmol.l}^{-1}$). Nejnižší koncentrace prokazujeme u isoleucinu ($0,051 \pm 0,001$) a u methioninu ($0,035 \pm 0,002 \text{ mmol.l}^{-1}$), (obr. 7).

U selat při narození je v celkové aminoacidémii kvantitativně nejvíce zastoupen tyrozín, který se koncentrací $1,44 \pm 0,035 \text{ mmol.l}^{-1}$ na ní podílí 34 %. Dále následují vysoké koncentrace histidinu a lyzínu ($0,47 \pm 0,030$; popř. $0,44 \pm 0,031 \text{ mmol.l}^{-1}$). Tyto aminokyseliny se podílejí 11,1, popř. 10,5 % na celkové aminoacidémii mláďat.

V krevní plazmě u novorozených selat prokazujeme tedy výrazně a statisticky výsoce významně vyšší koncentrace tyrozínu, histidinu a lyzínu ve srovnání s krevní plazmou jejich matek ($p < 0,001$).

Diference mezi dalšími volnými aminokyselinami u selat a u jejich matek nejsou již tak nápadné a jejich hladiny se vzájemně téměř kryjí. Výjimku tvoří velmi nízké koncentrace prolinu a cystinu u novorozených selat, kdy z 69 sledovaných mláďat nebyla u 66 prolinémie a u 59 cystinémie měřitelná vůbec (obr. 1).

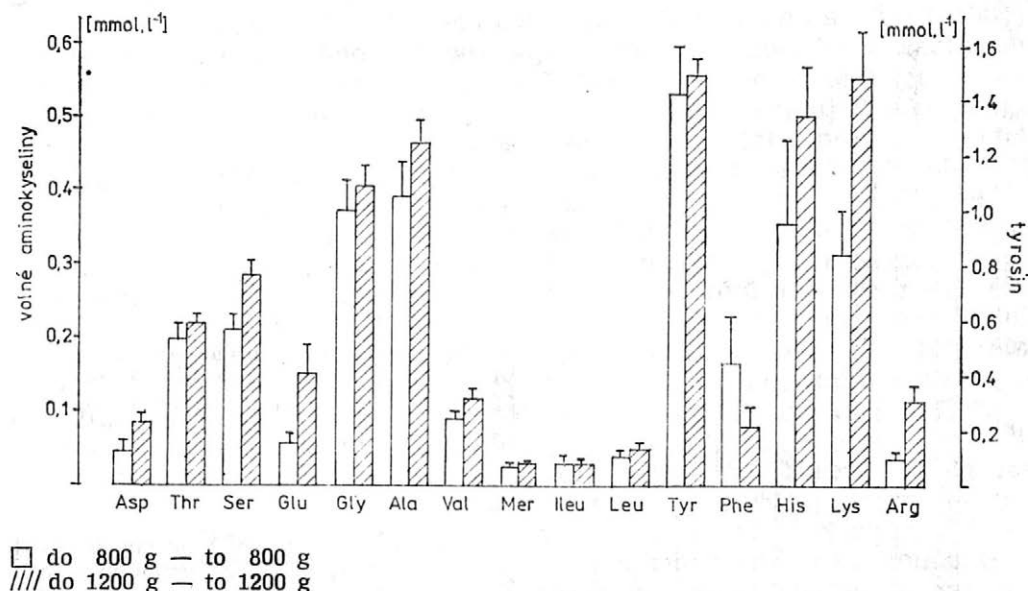
Proměřili jsme i změny koncentrace celkových volných aminokyselin u selat dvou rozdílných hmotností při narození, a to u selat o hmotnosti do 800 g a u selat o hmotnosti do 1200 g při narození. Rozbor ukazuje, že koncentrace celkových volných aminokyselin je vyšší u selat, která dosahují vyšší hmotnosti při narození. Takového zvýšení do-



//// před porodem — before parturition

□ po porodu — post parturition

7. Koncentrace volných aminokyselin v krevní plazmě u rodících prasnic — Concentration of free amino acids in the blood plasma in bearing sows



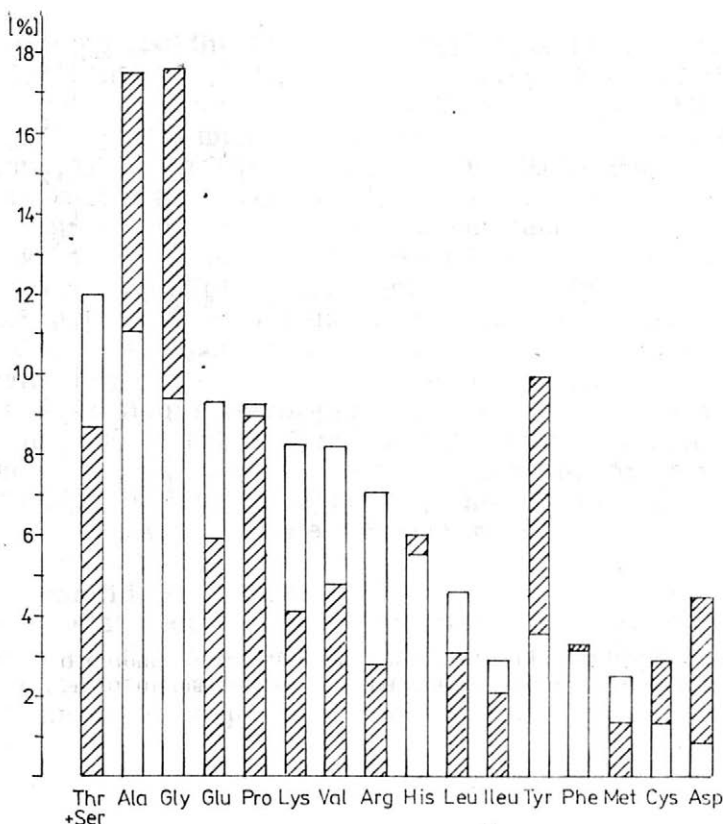
8. Koncentrace volných aminokyselin v krevní plazmě u selat různé hmotnosti při narození — Concentrations of free amino acids in the blood plasma in piglets of various weight at birth

znávají i všechny sledované jednotlivé volné aminokyseliny; statistické průkaznosti dosahují však uvedené difference pouze u kyseliny asparagové ($p < 0,02$), serinu ($p < 0,01$), lyzínu ($p < 0,02$) a u argininu ($p < 0,01$). Výjimku tvoří fenylalanin, jehož koncentrace je u selat o vyšší hmotnosti nižší (obr. 8).

DISKUSE

Trend poklesu koncentrace celkových volných aminokyselin v krevní plazmě, který jsme prokázali v průběhu březosti, pokračuje i v období porodu prasnic. Jejich aminoacidémie je výrazně nižší než u prasnic ve 112. dnu březosti, kdy činí $4,06 \pm 0,260 \text{ mmol.l}^{-1}$ ($p < 0,001$) a je i výrazně nižší než u zvířat nebřezích ($4,15 \pm 0,278 \text{ mmol.l}^{-1}$), ($p < 0,001$), (Ježková a Padáliková, 1977a, b). V porodní fázi matky zachycujeme v celkové aminoacidémii i výrazné změny v procentním zastoupení jednotlivých aminokyselin.

Zatímco se ve 112. dnu březosti na celkové aminoacidémii kvantitativně nejvíce podílejí threonin a serin (11,9 %), alanin (11,1 %), glycin (9,4 %), kyselina glutamová (9,7 %) a prolin (9,3 %), stoupá prudce v porodní fázi prasnice zastoupení glycinu (17,6 %), alaninu (17,5 %), tyrozinu (10,0 %), dále kyseliny asparagové (4,5 %) a cystinu (2,9 %). Procentní zastoupení dalších sledovaných volných aminových kyselin v krevní plazmě rodič matky, tj. threoninu a serinu, kyseliny glutamové, lyzínu, valinu, argininu, leucinu, isoleucinu a methioninu, klesá ve



//// před porodem — before parturition
 □ 112. den březosti — the 112th day of pregnancy

9. Relativní množství volných aminokyselin v krevní plazmě ve 112. dnu březosti a u rodících prasnic — Relative amount of free amino acids in the blood plasma on the 112th day of pregnancy and in the bearing sows

srovnání s prasnicemi 112 dnů březích. Pouze koncentrace prolinu, histidinu, fenylalaninu se u srovnávaných skupin prasnic, tj. u zvířat 112 dnů březích a rodících, nemění (obr. 9).

Pokles celkové aminoacidémie u rodících matek nepřekvapuje a je v soulase i s údaji staršími. Leatham (1964) uvádí pokles aminoacidémie u březích samic do souvislosti se stoupající aktivitou růstového hormonu, Christensen aj. (1957) se zvýšeným renálním vylučováním aminokyselin; my jsme upozornili v souvislosti s uvedenou funkční změnou matek na zvyšující se plazmatický objem prasnic v průběhu březosti (Ježková, Smrčková a Padalíková, 1977, 1978).

Vlastní podstata tohoto jevu však dosud není objasněna. Složitost interpretace této změny u březích i rodících prasnic spočívá především v tom, že při poklesu celkové aminoacidémie dochází i k posunům v koncentraci jednotlivých volných aminokyselin.

Pokles celkové aminoacidémie a změna distribuce jednotlivých volných aminokyselin v údobí porodu matky vede k úvaze o vztahu těchto změn a řídicích mechanismů procesu porodu matky a narození mláďat. Během porodu dochází k poklesu koncentrace 17β -estradiolu v krevní plazmě rodící matky, zatímco se koncentrace progesteronu v průběhu tohoto procesu téměř nemění. Inzulinémie prasnic se rovněž během po-

rodu nemění (Ježková, Smrčková a Knotková, 1988, 1989). Jedná se pravděpodobně i o stoupající selektivní potřebu a zachycení určitých aminokyselin placentou, popř. tkáněmi rodičích se selat z krevního oběhu matky. Tuto úvahu podtrhuje i nález o zvyšujícím se podílu koncentrace celkových volných aminokyselin u fětů prasat a jejich matek, který činí v 74., 84., 104. a 114. dnu gestace $0,86 \pm 0,08$; $1,19 \pm 0,13$; $1,28 \pm 0,16$ a $1,58 \pm 0,15$ (Ježková a Padalíková, 1977a, b). Z těchto studií vyplývá, že u fětů ve věku 74 dnů dosahují vyšší koncentrace v krevní plazmě ve srovnání s matkou pouze serin, prolin a kyselina glutamová. Podíl těchto parametrů u fětů a jejich matek činí v případě serinu 1,68, 1,42 u prolinu a 2,57 u kyseliny glutamové. Celková koncentrace volných aminokyselin, která u 114denních fětů činí $6,36 \pm 0,097 \text{ mmol.l}^{-1}$, je v údobí těsně po narození nižší a činí $4,24 \pm 0,109 \text{ mmol.l}^{-1}$ ($p < 0,001$). Ve fetální krevní plazmě je relativně nejvíce zastoupen alanin (21,41 %), glycin (13,90 %) a threonin (12,44 procenta), dále serin (10,36 %) a prolin (8,80 %). Tyrozín se na celkové aminoacidemii u 114denních fětů podílí 1,86 %. V krevní plazmě u fětů ve věku 114 dnů je však již výrazně vyšší koncentrace deseti volných aminokyselin ve srovnání s jejich matkami. Vyšší koncentraci jsme prokázali u lyzínu, kyseliny asparagové, threoninu, serinu, prolinu, alaninu, cystinu, valinu, tyrozínu a fenylalaninu.

U selat při narození se tato skutečnost ještě více zvyrazňuje a podíl uvedených veličin, tj. celkových volných aminokyselin u novorozených selat a jejich matek, činí $1,82 \pm 0,214$.

Změny koncentrace jednotlivých aminokyselin jsou v průběhu rození mláďat velmi nápadné. V jejich aminoacidemii je nejvíce zastoupen tyrozín, dále lyzín a histidin. Podíl těchto parametrů v krevní plazmě selat a rodičích prasnic je za sledované údobí vůbec nejvyšší a činí 5,94, 4,44 a 3,20.

Přibližně stejnou koncentraci volných aminokyselin v krevní plazmě novorozených selat a jejich matek prokazujeme u threoninu, serinu, kyseliny glutamové, glycinu, alaninu, valinu a methioninu. Podíl veličin S/M u těchto aminokyselin se pohybuje v rozmezí 0,86 až 1,17. Nižší podíl zaznamenáváme u prolinu (0,29), isoleucinu (0,59), leucinu (0,64) a u kyseliny asparagové (0,70).

Téměř šestkrát vyšší koncentrace tyrozínu v krevní plazmě novorozených selat ve srovnání s jejich matkami je jev mimořádně nápadný. Lze jej uvádět do souvislosti s vysokými koncentracemi dialyzovatelných frakcí tyrozínu, jehož koncentrace je u novorozených selat vysoká a svého maxima dosahuje za 6 až 13 hodin po narození (Nowak, 1983). Vyšší tyrozinémií pozorujeme u selat o vyšší hmotnosti při narození. Tento nález, i když nenabyl statistické průkaznosti, je závažný v souvislosti s údaji o nízké koncentraci hormonů štítné žlázy u dětí, které dosahují nízké hmotnosti během prvních dnů po narození (Brock-Jacobsen aj., 1977; Erenberg, 1978; Uhrmann aj., 1978; Sakaguchi aj., 1983). V této souvislosti je nutno respektovat nálezy autorů Dvořák aj. (1986), Dvořák a Neumannová (1986a; b), kteří prokázali u novorozených selat dvojnásobně vyšší tyroxinémii ve srovnání s dospělými prasaty a pozorovali u novorozených selat, starších selat i běhounů, že zvířata s menší tělesnou hmotností měla i nižší koncentraci T_4 než stejně stará zvířata s větší tělesnou hmotností.

Literatura

- BROCK-JACOBSEN, B. — ANDERSEN, H. J. — PETERSEIN, B. — DIGEPETERSEIN, H. HUMMER, L.: Serum levels of thyrotropin, thyroxine, and triiodothyronine in fullterm, small for gestational age and preterm newborn babies. *Acta paediatr. scand.*, 66, 1977, s. 681—687.
- DVOŘÁK, M. — NEUMANNOVÁ, M.: Růst odstavených selat a hladina jódtýroninů v krevním séru při působení tyreooaktivních látek. *Veter. Med.*, (Praha), 31, 1986a, s. 265—275.
- DVOŘÁK, M. — NEUMANNOVÁ, M.: Effects of stimulated adrenocortical activity on the concentration of thyroxine and triiodothyronine in blood serum of piglets. *Exp. clin. Endocrinol.*, 88, 1986b, s. 339—345.
- DVOŘÁK, M. — NEUMANNOVÁ, M. — BURSA, J.: The relationship of serum thyroxine level to body mass of piglets during their postnatal development. *Acta veter.*, (Brno), 55, 1986, s. 11—21.
- CHRISTENSEN, P. J. — DATE, J. W. — SCHONHEUDER, F. — VOLGVARTZ, K.: Amino-acids in blood plasma and urine during pregnancy. *Scand. J. clin. Lab. Invest.*, 9, 1957, s. 54.
- ERENBERG, A.: The effect of perinatal factor on cord thyroxine concentration. *Early Hum. Develop.*, 213, 1978, s. 283—289.
- JEŽKOVÁ, D. — PADALÍKOVÁ, D.: Changes in the blood plasma content of nitrogenous components in pregnant sows and their fetuses. *Acta veter.* (Brno), 46, 1977a, s. 29—45.
- JEŽKOVÁ, D. — PADALÍKOVÁ, D.: Proteins and free amino acids in the blood plasma of sows before breeding, during gestation and after farrowing. *Acta veter.* (Brno), 46, 1977b, s. 217—230.
- JEŽKOVÁ, D. — SMRČKOVÁ, M. — KNOTKOVÁ, Z.: Ontogenetické změny účinku pohlavních hormonů u prasat. [Kontrolovatelná etapa DŮ VII-4-12/08.] Vysoká škola veterinární Brno 1988. 88 s.
- JEŽKOVÁ, D. — SMRČKOVÁ, M. — KNOTKOVÁ, Z.: Změny glukozémie, inzulinémie a koncentrace pohlavních steroidů u selat a jejich matek během rození a porodu. In: Sbor. Ref., XVII. vědecká konference Aktivně zdravie — základ produkcie a reprodukcie zvierat, Košice, 1989, s. 68.
- JEŽKOVÁ, D. — SMRČKOVÁ, M. — PADALÍKOVÁ, D.: Changes in the plasma volume, total blood volume and hematocrit values of pregnant sows. *Acta veter.* (Brno), 46, 1977, s. 203—212.
- JEŽKOVÁ, D. — SMRČKOVÁ, M. — PADALÍKOVÁ, D.: Změny plazmatického objemu a některých komponent krevní plazmy u březích prasnic. *Českoslov. fysiolog.*, 27, 1978, s. 258—259.
- LEATHAM, J. H.: Some aspects of hormone and protein metabolic interrelationships. In: MUNRO, H. N. — ALLISON, J. B.: *Mammalian protein metabolism*. 1. New York-London, Academic Press 1964, s. 366.
- NOWAK, G.: Free Thyroid Hormone Levels during the Postnatal Period in the Pig. *Biol. Neonate*, 43, 1983, s. 164—171.
- PADALÍKOVÁ, D. — JEŽKOVÁ, D.: Výzkum změn chemické skladby plodů prasat v poslední třetině intrauterinního života. [Závěrečná zpráva.] Brno, Vysoká škola veterinární 1974. 90 s.
- SAKAGUCHI, M. — SUZUKI, S. — NAGASHIMA, K. — SHIMANO, S. — UCHIDA, S. — KUROUME, T.: Longitudinal study of free thyroxine in low-birth-weight infants by paper disk method. *J. Pediatr.*, 103, 1983, s. 793—796.
- UHRMANN, S. — MARK, K. H. — MAISELS, M. J. — FRIEDMAN, Z. — MURRAY, F. — KULIN, H. E. — KAPLAN, M. — UTIGER, R.: Thyroid function in the preterm infant: a longitudinal assessment. *J. Pediatr.*, 92, 1978, s. 968—973.

Došlo dne 15. 11. 1989

ЕЖКОВА, Д. — ПЛЕСКАЧ, З. — СМРЧКОВА, М. — КНОТКОВА, З. (Институт ветеринарии, Брно): Изменения концентрации свободных аминокислот в кровяной сыворотке у свиноматок во время спаривания и у поросят в процессе рождения. *Veter. Med.* (Praha), 35, 1990 (11): 667—678.

У семи тяжелосупоросных маток-помесей белой улучшенной и ландрасской пород на опоросе и у их 69 поросят в процессе рождения определяли изменения в кон-

центрации общих и отдельных свободных аминокислот и плазме крови в соотношении со сроком опороса, с очередностью рождения поросят в помете и их весом при рождении. Концентрация общих свободных аминокислот составила у маток перед самым опоросом $2,44 \pm 0,182$ ммол. л⁻¹, а при рождении последнего поросенка пала до $2,17 \pm 0,190$ ммол. л⁻¹, а у новорожденных она каждый раз гораздо выше ($p < 0,001$) и составляет $4,24 \pm 0,109$ ммол. л⁻¹. Очередность рождения не влияет на размер этой концентрации тех же аминокислот (у первороденных поросят аминокислоты = $4,03 \pm 0,268$ ммол. л⁻¹, а у рожденных последними она незначительно меняется: $3,99 \pm 0,445$ ммол. л⁻¹ плазмы). Незначим и фактор срока опороса. Достоверны, однако, различия в концентрации свободных аминокислот в плазме между поросятами самого низкого веса и весом до 1200 и 1500 г ($p < 0,02$). Из 17 прослеживаемых аминокислот и тяжелосупоросных маток до опороса больше всего содержатся в кровяной плазме аланин ($0,43 \pm 0,052$ ммол. л⁻¹), что составляет 34 % от общей аминокислоты. Концентрация же тирозина, гистидина и лизина в кровяной плазме новорожденных значимо выше ($p < 0,001$), чем у маток. То, что тирозинемия поросят в 6 раз больше, чем у маток, обсуждается в связи с весом при рождении и данными по функции и концентрации гормонов щитовидной железы у поросят в первые дни жизни.

свиноматки; опорос; поросята; плазма крови; концентрация аминокислот

JEŽKOVÁ, D. — PLESKÁČ, Z. — SMRČKOVÁ, M. — KNOTKOVÁ, Z. (University of Veterinary Medicine, Brno): *Changes of free amino acids concentration in the blood plasma in sows during parturition and in piglets being born.* Veter. Med. [Praha], 35, 1990 [11]: 667—678.

During the course of parturition seven high pregnant sows, crossbreds of the Large White and Landrace breeds, and their 69 piglets being born, were studied for the changes of the total and separate free amino acids in the blood plasma in relation to the time of duration of the parturition, to the sequence of piglets being born in the litter, and to the birth weight of the piglets. The concentration of the total free amino acids in blood plasma is 2.44 ± 0.182 mmol. l⁻¹ just before parturition; after the birth of the last piglet it decreases insignificantly to 2.17 ± 0.190 mmol. l⁻¹. The concentration of the total free amino acids in the blood plasma of newborn piglets is always significantly higher than in their mothers ($p < 0.001$) and is 4.24 ± 0.109 mmol. l⁻¹. The rank of each piglet in the sequence of births in litter has no influence on the level of plasma concentration of the total free amino acids aminoacidaemia was 4.03 ± 0.268 mmol. l⁻¹ in the piglets born first and insignificantly changed to 3.99 ± 0.445 mmol. l⁻¹ of blood plasma in the last piglets born in the litter. The time factor of parturition is also statistically insignificant. However, the differences in the free 'amino acids' concentration in the blood plasma between the piglets with the lowest weight and the piglets with a weight of up to 1200 and 1500 g are statistically significant ($p < 0.02$). Alanine [0.43 ± 0.052 mmol. l⁻¹] and glycine [0.43 ± 0.063 mmol. l⁻¹] constitute the largest proportions of all the 17 amino acids studied in the blood plasma in the high pregnant sows before parturition. The tyrosine concentration in piglets at birth is remarkably high [1.44 ± 0.035 mmol. l⁻¹]; it represent 34 per cent of the total aminoacidaemia. Tyrosine, histidine and lysine concentration in the blood plasma is statistically highly significantly higher ($p < 0.001$) in newborn piglets than in their mothers. The phenomenon of 6-times higher tyrosinaemia in piglets, compared with the sows is discussed in connection with the weight at birth and with the data on the function and concentration of thyroid hormones in piglets during the first days of their lives.

sows; parturition; piglets; blood plasma; amino acids' concentration

JEŽKOVÁ, D. — PLESKÁČ, Z. — SMRČKOVÁ, M. — KNOTKOVÁ, Z. (Hochschule für Veterinärmedizin, Brno): *Änderungen der Konzentrationen der freien Aminosäuren im Blutplasma bei Sauen bei der Geburt und bei Ferkeln während der Geburt.* Veter. Med., [Praha], 35, 1990 [11]: 667—678.

Bei sieben hochtragenden Sauen, Kreuzungstieren der Rassen Weisses Edelschwein und Landrasse, untersuchten wir während der Geburt und bei ihren 69 Ferkeln eben-

falls während der Geburt Veränderungen der Konzentrationen der gesamten und einzelnen freien Aminosäuren im Blutplasma und dies in Beziehung zur Dauer der verlaufenden Geburt, zur Reihenfolge der zur Welt kommenden Ferkel im Wurf und zum Gewicht der Ferkel bei der Geburt. Die Konzentration der gesamten freien Aminosäuren im Blutplasma der Sauen unmittelbar vor der Geburt beträgt $2,44 \pm 0,182 \text{ mmol.l}^{-1}$, nach der Geburt des letzten Ferkels fällt sie unsignifikant auf $2,17 \pm 0,190 \text{ mmol.l}^{-1}$ ab. Die Konzentration der gesamten freien Aminosäuren im Blutplasma bei neugeborenen Ferkeln ist stets bedeutend höher als bei ihren Müttern ($p < 0,001$) und beträgt $4,24 \pm 0,109 \text{ mmol.l}^{-1}$. Die Reihenfolge der Ferkel der Geburt hat keinen Einfluss auf die Höhe der plasmatischen Konzentration der gesamten freien Aminosäuren (bei den als ersten geborenen Ferkeln betrug die Aminoazidämie $4,03 \pm 0,268 \text{ mmol.l}^{-1}$, bei den als letzten geborenen Ferkeln ändert sie sich auf $3,99 \pm 0,445 \text{ mmol.l}^{-1}$ Blutplasma). Der Zeitfaktor der Geburt ist statistisch unbedeutend. Aber der Unterschied in der Konzentration der freien Aminosäuren im Blutplasma zwischen den Ferkeln mit dem niedrigsten Gewicht und den Ferkeln mit einem Gewicht von 1200 bis 1500 g ist statistisch signifikant ($p < 0,02$). Von 17 untersuchten Aminosäuren sind bei hochtragenden Sauen vor der Geburt im Blutplasma am meisten Alanin ($0,43 \pm 0,052 \text{ mmol.l}^{-1}$) und Glyzin ($0,43 \pm 0,063 \text{ mmol.l}^{-1}$) vertreten. Bei Ferkeln ist bei der Geburt die hohe Konzentration von Tyrosin ($1,44 \pm 0,035 \text{ mmol.l}^{-1}$) auffallend, die 34 % von der Gesamtaminoseidämie beträgt. Die Konzentration von Tyrosin, Histidin und Lysin ist im Blutplasma der neugeborenen Ferkel statistisch hochsignifikant höher ($p < 0,001$) als bei den Müttern. Die 6× höhere Tyrosinämie bei Ferkeln als bei Sauen wird im Zusammenhang mit dem Geburtsgewicht und mit Angaben über die Funktion und die Konzentration der Schilddrüsenhormone bei Ferkeln in den ersten Lebenstagen diskutiert.

Sauen; Geburt; Ferkel; Blutplasma; Konzentration von Aminosäuren

Adresa autorů:

Prof. MVDr. Dagmar Ježková, DrSc., ing. Zdeněk Pleskač, RNDr. Marie Smrčková, MVDr. Zora Knotková, Vysoká škola veterinární, Palackého 1—3, 612 42 Brno

DENZITOMETRICKÁ ANALÝZA AKTIVITY AMINOPEPTIDÁZY M VE SLIZNICI TENKÉHO STŘEVA SELAT EXPERIMENTÁLNĚ INFIKOVANÝCH KOKCIDIÍ *Isospora suis*

M. Kudweis, I. Juliš, Z. Lojda, J. Vítovec, B. Koudela

KUDWEIS, M. — JULIŠ, I. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. (Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice; Laboratoř pro histochemii při lékařské fakultě Univerzity Karlovy, Praha): *Denzitometrická analýza aktivity aminopeptidázy M ve sliznici tenkého střeva selat experimentálně infikovaných kokcií Isospora suis*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (11): 679—694.

U gnotobiotických a konvenčních selat infikovaných první den po porodu (DPP) oocystami kokcie *Isospora suis* jsme provedli denzitometrickou analýzu aktivity aminopeptidázy M (EC. 3.4.11.2.; APM) v oblasti mikrovilózní zóny sliznice tenkého střeva. Selata byla infikována odlišnou dávkou oocyst [100 000 oocyst u selat gnotobiotických a 200 000 oocyst u selat konvenčních]. U gnotobiotických infikovaných selat jsme aktivitu APM studovali v období 3. až 11. den po infekci (DPI) a u infikovaných selat konvenčních v období 2. až 10. DPI. Kontrolní selata, ve skupině gnotobiotických zvířat ve věku dvou až pěti dnů a ve skupině zvířat konvenčních ve věku čtyř až sedmi dnů, mají odlišnou aktivitu APM ve sliznici tenkého střeva. Zjistili jsme, že aktivita APM v mikrovilózní zóně sliznice střevní dosahuje vyšších hodnot u kontrolních selat konvenčních (+7,01 průměrné hodnoty denzity). U infikovaných gnotobiotických selat jsme prokázali pokles intenzity reakčního produktu APM již 3. DPI s dalším výrazným snížením denzity APM 4. DPI v celém tenkém střevě s převahou zachovalé aktivity APM v ileu. Přes nevýrazné zvýšení denzity reakčního produktu APM v období 5. až 7. DPI (s nejvyšším vzestupem denzity APM 6. DPI) jsme prokázali další pokles aktivity 8. a zejména 9. DPI opět v celém tenkém střevě (nejnižší hodnotu denzity jsme zjistili v zadním jejunu), přičemž byla postižena i sliznice ilea. Nepatrně vyšší denzitu reakčního produktu APM jsme zjistili v duodenu. 10. DPI se denzita APM začala upravovat a 11. DPI v duodenu a ve středním jejunu dokonce dosahovala vyšších hodnot ve srovnání s kontrolními údaji. U infikovaných selat konvenčních jsme prokázali některé odlišnosti s porovnáním vývoje aktivity APM ve sliznici tenkého střeva u infikovaných selat gnotobiotických. 3. a 4. DPI je postiženo defektem APM celé tenké střevo za současně převažující denzity APM ve sliznici ilea (shodně jako u skupiny infikovaných selat gnotobiotických). Druhé období poklesu aktivity APM trvá téměř čtyři dny (6. až 9. DPI). Přechodná úprava aktivity APM je však u konvenčních infikovaných selat kratší a trvá pouze jeden den (5. DPI). U obou skupin infikovaných selat jsme současně prokázali ve sliznici tenkého střeva 2. až 10. DPI a 11. DPI u selat gnotobiotických pohárkové buňky se silnou aktivitou APM.

konvenční selata; gnotobiotická selata; aminopeptidáza M; experimentální infekce; denzitometrická analýza; *Isospora suis*

Klinická kokcidióza sajících selat se projevuje vodnatým průjemem u selat ve věku 8 až 10 dnů (Ruzicka a Andrews, 1984).

Patologické změny se při experimentální kokcidióze mohou vyskytovat v celém tenkém střevě, obvykle jsou však těžší ve středním a zadním

jejunu a také v ileu (Harleman a Meyer, 1985). Morfologickým podkladem průjemového onemocnění selat a patologických změn ve sliznici tenkého střeva je experimentálně prokázána různě rozsáhlá atrofie klků a nekróza epitelu tenkého střeva (Harleman a Meyer, 1985).

Patogeneze enterálních změn při experimentální infekci kokcií *I. suis* u konvenčních a gnotobiotických selat probíhá ve dvou fázích s dvojí alternací sliznice tenkého střeva, na kterou plynule navazují dvě fáze reparativních a regeneračních procesů patologických změn (Vítovec a Koudela, 1990).

Aminopeptidáza M (membránová aminopeptidáza; strukturálně vázaná aminopeptidáza; EC. 3.4.11.2.; APM) je metaloenzym, obsahující zinek (Lojda, 1979a).

APM je lokalizována v mikrovilózní zóně enterocytů (Lojda, 1969, 1974, 1983 a také v lysosomální oblasti enterocytů (supranukleárně; Lojda a Papoušek, 1978).

Aktivita APM je ve zdravé sliznici tenkého střeva vysoká. Dokládají to práce Lojdy (1974) provedené na lidských novorozencích, Marcánika (1980) u kuřat a selat, Lojdy aj. (1984) u krysy a miniprasat a Kudweise a Lojdy (1989a, b) u gnotobiotických a konvenčních selat.

Ve sliznici tenkého střeva člověka byl prokázán zřetelný gradient aktivity APM. Její aktivita je rozložena v celém tenkém střevě a maximálních hodnot dosahuje v jejunu (Lojda aj., 1979a). Podobně mají také krysa, morče a miniprase nejvyšší aktivitu APM v enterocytech jejunu (Lojda aj., 1984). U gnotobiotických a konvenčních selat je topografická lokalizace obdobná s maximem aktivity v jejunu (Kudweis a Lojda, 1989a, b). Přímo na vrcholu střevních klků v celém tenkém střevě bývá různý počet enterocytů před deskvamací, v jejichž kartáčovém lemu je aktivita APM nižší (Lojda, 1974).

V aktivitě APM enterocytů duodena, jejunu i ilea krysy je prokázatelný cirkadiánní rytmus s maximem v 18.00 hodin a s minimem v 6.00 hodin ráno (Růžičková aj., 1978). U miniprasat je maximum ve 12.00 hodin (Lojda, 1974; Lojda aj., 1984).

APM ve sliznici střevní katalyzuje odštěpování N-termálních aminokyselin z peptidů, naftylamidů nebo p-nitroanilidů. Odštěpuje postupně všechny aminokyseliny, pokud jsou v L-formě, takže může komplexně hydrolyzovat i velké molekuly peptidů (Lojda, 1979b).

Za různých patologických stavů nastává obvykle pokles aktivity APM, jak to ukazují studie Padykuly aj. (1961), Friče a Lojdy (1964), Lojdy aj. (1970), Marcánika (1980) a Kudweise aj. (1987).

V pohárkových buňkách aktivita APM nebyla ve zdravé sliznici tenkého střeva prokázána. Uvádí to Lojda (1969, 1974) při studiu sliznice tenkého střeva u lidských novorozenců. Marcánik (1980) u selat a kuřat a Kudweis a Lojda (1989a, b, c) u selat. Na nález APM v pohárkových buňkách poprvé upozorňuje Kudweis aj. (1989a) ve sliznici tenkého střeva gnotobiotických selat experimentálně infikovaných kokcií *I. suis*.

Cílem naší práce je doložení fázického obrazu ve vývoji aktivity APM v mikrovilózní zóně enterocytů sliznice tenkého střeva infikovaných

selat a poukázat na některé odlišné aspekty experimentální infekce u obou skupin pokusných zvířat při prioritním použití moderní diagnostické metody.

MATERIÁL A METODA

Přehled selat, jejichž tkáň byla v našem pozorování použita, uvádí tab. I. Provedení infekce a způsob odběru vzorků tenkého střeva jsou již popsány (Kudweis aj., 1989a, b).

Pro průkaz aktivity APM jsme použili materiál fixovaný ve 4% paraformaldehydu, který jsme po zkráceném zalití podle Lojdy a Papouška (1978) použili k detekci APM v pohárových buňkách.

Dále jsme aktivitu APM (pro její průkaz v mikrovilózní zóně enterocytů) studovali na řezech, pořízených na kryostatu (Frigocut, Mod. 2700, fy Reichert — Jung) z hluboko zmrazené tkáně suchým ledem. Řezy pro oba způsoby zpracování nepřesahovaly tloušťku 7 μ m. Použité histochemické metody jsou uvedeny v tab. II.

V naší práci jsme řezy (pro hodnocení mikrovilózní zóny) po provedené reakci hodnotili na počítačem řízeném (SAPI-ZPS-2) skanujícím a integrujícím mikrodenzitometru VICKERS M 86 při standardním použití objektivu 20 $\times$ a clony č. 2 (průměr pole 2 μ m).

I. Přehled zpracovaného materiálu — Survey of the material

Gnotobiotická selata			Konvenční selata		
sele ⁺	DPP _{in} [*]	DPI _u ^{**}	sele ⁺⁺	DPP _{ir}	DPI _u
ISg 4	1	3	IS 22	1	2
ISg 7	1	4	IS 14	1	3
ISg 22	1	5	IS 16	1	4
ISg 25	1	6	IS 20	1	5
ISg 12	1	7	IS 24	1	6
ISg 13	1	8	IS 30	1	7
ISg 14	1	9	IS 33	1	8
ISg 17	1	10	IS 34	1	9
ISg 21	1	11	IS 35	1	10
K1—K4	0	2—5 ⁺⁺	K1—K4	0	4—7 ⁺⁺

+ ISg — *Isospora suis* — gnotobiotické; ++IS — *Isospora suis*

* infekce ve dny po porodu — infection on days *post partum*

** utrácení ve dny po infekci — killing on days *post partum*

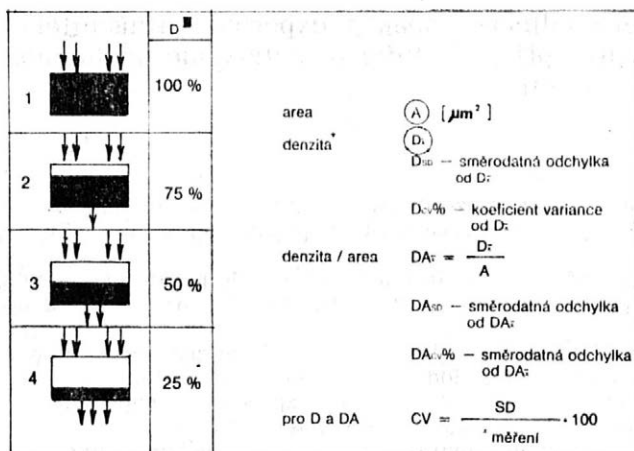
++ věk kontrolních selat gnotobiotických a ++ konvenčních — age of the control gnotobiotical and conventional piglets

II. Použité histochemické metody — The histochemical methods used

A	metoda s L-alanin-4-metoxi-2-naftylamidem (5 mg) a Fast Blue B (10 mg) v 0,1 M kakodylátovém pufru pH 6,5—7,5; inkubace až 12 hodin v ledničce nebo 15—45 minut při 37 °C. Metoda podle Lojdy aj. (1979b), materiál — PT ⁺
B	metoda s L-alanin-2-naftylamidem (3,5 mg) a Fast Blue B (5 mg) v 0,1 M fosfátovém pufru pH 7,2—7,4; inkubace až 1 hodinu při 37 °C. Metoda podle Burstona a Folka (1956) v modifikaci podle Lojdy aj. (1979b), materiál — PF ⁺⁺

+ kryostatový řez, fixovaný 20 minut ve vychlazeném chloroform-acetonu — cryostat slice fixed 20 minutes in the cooled chlorophorm-acetone

++ parafinový řez — paraffin slice



* průměrná hodnota denzity; ○ hodnotící kritéria; ■ denzita;

1. Přehled získaných údajů při použití Vickers M-86 — Review of the data obtained using Vickers M-86

Denzita reakčního produktu byla měřena při vlnové délce 540 nm, která odpovídala při dané konfiguraci přístroje maximální absorpci deponovaného reakčního produktu.

K vyhodnocení denzity reakčního produktu APM v mikrovilózní zóně jsme proměřili denzitu reakčního produktu na každém kliku prohlíženého řezu na 15 až 20 bodech a z těchto údajů jsme stanovili průměrnou hodnotu denzity reakčního produktu ($\bar{D}$).

Údaje, které je možné při denzitometrické analýze statisticky vyhodnotit, jsou uvedeny na obr. 1. Pro naši práci jsme využili údaje, které vyjadřují $\bar{D}$ a poměr denzity na jednotku plochy (DA), vyjadřující koncentraci deponovaného reakčního produktu na měřené ploše. Denzitu reakčního produktu APM v pohárkových buňkách jsme statisticky nevyhodnocovali, ale pouze konstatovali pozitivitu pohárkových buněk na APM.

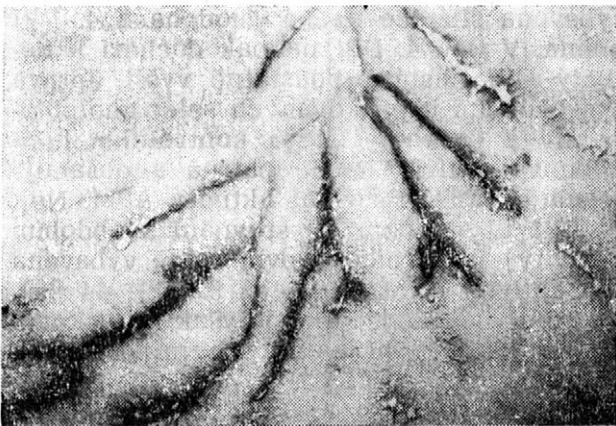
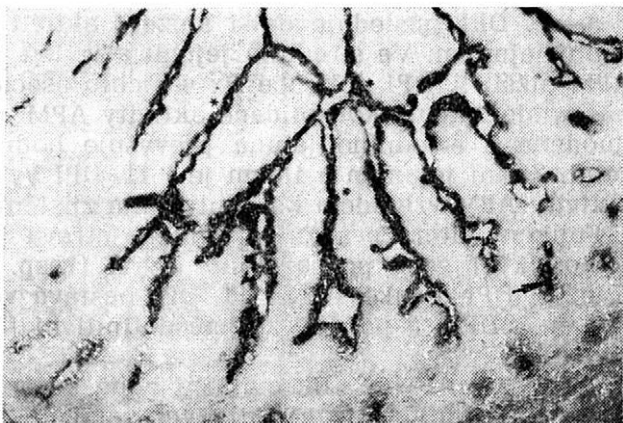
VÝSLEDKY

Prokázali jsme, že v denzitě reakčního produktu APM jsou rozdíly mezi gnotobiotickými a konvenčními kontrolními selaty. Vyšší denzitu APM jsme zjistili v mikrovilózní zóně enterocytů sliznice střevní u kontrolních selat konvenčních (+7,01 ve srovnání s výsledky u kontrolních selat gnotobiotických). Topograficky je APM u obou skupin kontrolních selat nejvíce vybavena sliznice zadního jejunu, méně, ale téměř shodně sliznice středního jejunu a ilea a nejméně duodena. $\bar{D}$ v celém tenkém střevě kontrolních konvenčních selat dosahuje hodnoty 126,28 a u selat gnotobiotických 119,27. Silná aktivita APM je prokazatelná také ve střevních kryptách (obr. 2).

U infikovaných gnotobiotických selat (infekční dávka 100 000 oocyst) jsme zjistili dvě etapy ve vývoji aktivity APM.

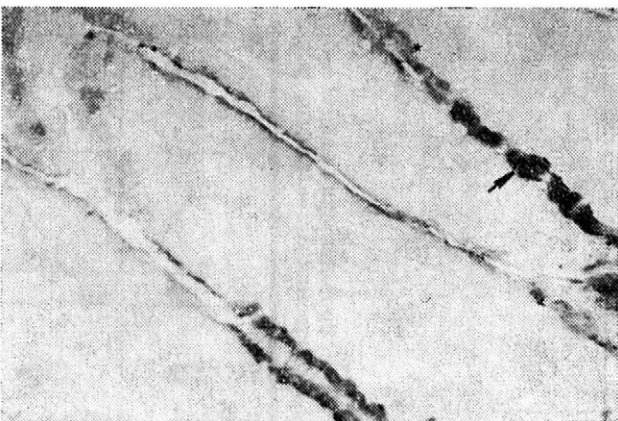
Po snížení $\bar{D}$ již 3. DPI (57,64 v ileu až 64,06 ve středním jejunu) následuje 4. DPI silný pokles denzity APM, který postihuje celé tenké střevo s nepatrně převažující $\bar{D}$ APM v ileu (obr. 3). Následující dny (5. až 7. DPI) nastává částečná úprava aktivity APM, přičemž 7. DPI je nejvyšší $\bar{D}$ APM prokazatelná v duodenu a středním jejunu, nejnižší $\bar{D}$ APM v ileu. Aktivita APM je v tomto období lokalizována zejména v dolní polovině střevních klků (obr. 4).

2. Vysoká reakce APM v mikrovilózní zóně enterocytů sliznice střešní (*), značná reakce je patrná také ve střešních kryptách (→). Kontrolní konvenční sele ve věku šesti dnů; kryostatový řez (zv. 120×) — High APM reaction in the microvillous zone of enterocytes of the intestinal mucous membrane (*), considerable reaction also seen in intestinal crypts (→). Control conventional piglets at the age of 6 days; cryostat slice (magn. 120 times)



3. Výrazný pokles aktivity APM zejména v oblasti horní poloviny střešních klků. Sele ISg 7, ileum; kryostatový řez (zv. 120×) — Significant decrease of APM activity mainly in the area of the upper half of the intestinal villi. ISg 7 piglet, ileum, cryostat slice (magn. 120 times)

4. Přetrvávající deficit APM v horních polovinách střešních klků se zachovalou aktivitou APM (*) a s aktivitou po konsolidaci 7. DPI (→ obnovená aktivita APM). Sele ISg 12, střední jejunum; kryostatový řez (zv. 400×) — Persisting APM deficit in the upper half of the intestinal villi with the preserved APM activity (*) and with activity after consolidation on the 7th DAI (→ resumed APM activity). ISg 12 piglet, middle jejunum, cryostat slice (magn. 400 times)



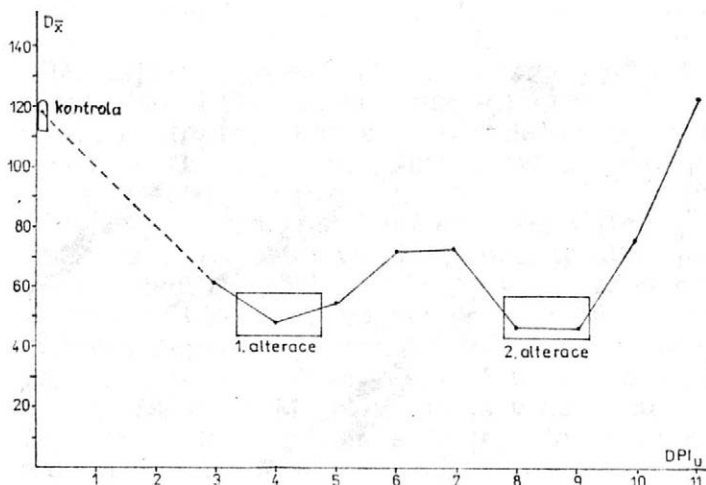
8.—9. DPI následuje další snížení aktivity APM. Nejvíce deficitní je zadní jejunum. Ve středním jejunu a v ileu je intenzita poklesu aktivity APM nižší; 9. DPI dokonce $\bar{Dx}$ v těchto úsecích nepatrně stoupá. 10. DPI následuje značná konsolidace aktivity APM a 11. DPI $\bar{Dx}$ APM ve sliznici duodena a středního jejunu převyšuje hodnoty, zjištěné u kontrolních selat. Zadní jejunum a ileum je i 11. DPI vybaveno sníženým množstvím aktivity APM vzhledem ke kontrolním zjištěním.

Funkční alterace sliznice tenkého střeva je tedy u infikovaných gnotobiotických selat prokazatelná čtvrtý (resp. již třetí) DPI a 8. až 9. DPI. 5. až 7. DPI a také 10. až 11. DPI nastává ve sliznici střevní přechodná (5. až 7. DPI) a později zřejmě definitivní (10. až 11. DPI) úprava aktivity APM.

Vývoj $\bar{Dx}$ APM v mikrovilózní zóně enterocytů sliznice tenkého střeva u infikovaných gnotobiotických selat dokumentuje tab. III a obr. 5.

U infikovaných selat konvenčních (infekční dávka 200 000 oocyst) jsme podobně jako u skupiny infikovaných gnotobiotických selat zjistili dvě fáze ve vývoji aktivity APM ve střevní sliznici.

Po snížení $\bar{Dx}$ APM již 2. DPI se tento pokles prohlubuje 3. a 4. DPI. Třetí DPI je nejméně APM vybavena sliznice ilea a duodena a 4. DPI sliznice zadního jejunu a duodena. V ileu 4. DPI naopak dochází k nepatrnému zvýšení $\bar{Dx}$ APM. Pátý DPI nastává podstatně vyšší úprava $\bar{Dx}$ APM ve srovnání se stejným obdobím u infikovaných selat gnotobiotických, přičemž v duodenu aktivita dosahuje 94 % kontrolních hodnot. V ostatních úsecích je obnova aktivity méně patrná a dosahuje 68 až 69 %. 6. až 9. DPI následuje další snižování aktivity APM. Nejnižších hodnot je dosaženo 9. DPI v duodenu. Ve srovnání s obdobím 3. až 4. DPI (50 % původní aktivity) je sliznice střevní méně vybavena APM v období druhého poklesu aktivity APM (tj. 6. až 9. DPI; 44 %). 10. DPI nastává částečná úprava aktivity APM, která je však u infikovaných konvenčních selat nižší (64 % původní aktivity u infikovaných



5. Vývoj $\bar{Dx}$ ve sliznici tenkého střeva gnotobiotických infikovaných selat — $\bar{Dx}$ development in the small intestine mucous membrane in the infected gnotobiotical piglets

III. Přehled dosažených výsledků (v $D\bar{x}$) — Survey of results obtained (in $D\bar{x}$)

Střevo		DPI 2	DPI 3	DPI 4	DPI 5	DPI 6	DPI 7	DPI 8	DPI 9	DPI 10		K1—K4
A	D		60,87	48,10	54,98	61,76	81,43	53,41	50,21	85,21	129,60	118,76
	J ₁		64,06	48,20	56,35	76,89	76,03	47,34	47,90	73,77	132,27	119,14
	J ₂		58,99	48,20	55,89	74,66	71,86	42,11	39,54	68,53	118,28	120,01
	I		57,64	52,27	55,58	80,03	68,51	44,52	48,47	80,61	114,66	119,54
	$\bar{x}$		60,39	49,19	55,70	73,33	74,45	46,84	46,53	76,98	123,71	119,27
B	D	85,19	62,49	54,95	110,57	80,09	59,94	53,73	39,06	57,73		117,41
	J ₁	72,45	71,97	61,32	87,68	62,43	54,05	49,46	49,14	56,98		127,15
	J ₂	70,44	70,11	54,53	91,26	82,16	46,18	51,97	42,93	57,48		130,79
	I	68,85	61,08	66,11	89,39	81,62	55,12	51,54	42,21	54,91		129,78
	$\bar{x}$	74,23	66,41	59,23	94,91	76,57	53,82	51,67	43,34	56,77		126,28

D — duodenum; J₁ — střední jejunum — middle jejunum; J₂ — zadní jejunum — rear jejunum; I — ileum;

A — gnotobiotická selata — gnotobiotical piglets; B — konvenční selata — conventional piglets

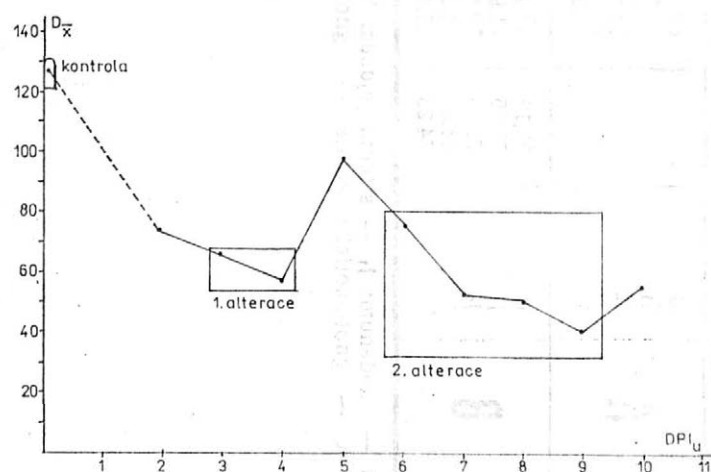
selat gnotobiotických; 45 % u infikovaných selat konvenčních). Vývoj aktivity ve sliznici tenkého střeva experimentálně infikovaných konvenčních selat je uveden v tab. III a znázorněn na obr. 6.

Lze shrnout, že srovnáním výsledků denzitometrické analýzy sliznice tenkého střeva s reakčním produktem APM jsme prokázali, že u obou skupin experimentálně infikovaných selat probíhají dvě etapy ve vývoji aktivity APM. První etapa probíhá u infikovaných selat gnotobiotických čtvrtý (resp. již třetí) DPI a druhá fáze poklesu aktivity APM 8. až 9. DPI. K obnově aktivity APM ve sliznici tenkého střeva dochází 5. až 7. DPI a dále 10. až 11. DPI.

Poněkud odlišná situace je u infikovaných selat konvenčních. První fáze snižování aktivity APM je prokazatelná shodně 3. a 4. DPI a druhá fáze 6. až 9. DPI. Druhý pokles aktivity APM probíhá tedy s předstihem dvou dnů. Tím se první etapa obnovy aktivity zužuje pouze na 5. DPI. Druhou fází pouze částečné konsolidace aktivity APM jsme zjistili pouze 10. DPI.

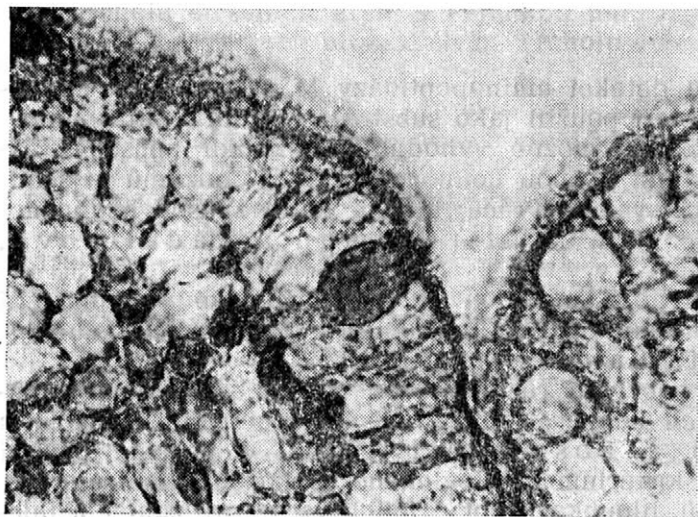
U obou skupin experimentálně infikovaných selat jsme spolu s poklesem aktivity APM ve výše uvedených dnech po infekci zaznamenali také odpovídající snížení koncentrace reakčního produktu na jednotku plochy ($DA\bar{x}$). Při srovnání výsledků, podávajících informaci o $D\bar{x}$ a $DA\bar{x}$ jsme zjistili, že objektivnost obou údajů pro posouzení funkčního stavu sliznice střevní je totožná, proto ve výsledcích samostatně hodnotu, udávající koncentraci reakčního produktu na jednotku plochy ($DA\bar{x}$) nekomentujeme.

V souvislosti se studiem aktivity APM ve sliznici tenkého střeva experimentálně infikovaných selat považujeme za závažný nález pohárkové buňky silně pozitivní na reakční produkt APM (obr. 7, 8). U kontrolních skupin jsme tyto pozitivní pohárkové buňky nezjistili (obr. 9). Pohárkové buňky s reakčním produktem APM jsme u infikovaných selat gnotobiotických i konvenčních nacházeli po celé sledované období, tzn. 3. až 11. (resp. 2. až 10.) DPI s jejich převahou v celém jejunu a ileu. V duodenu jsme tyto buňky nenalezli.



6. Vývoj $D\bar{x}$ ve sliznici tenkého střeva konvenčních infikovaných selat — $D\bar{x}$ development in the small intestine mucous membrane in the infected conventional piglets

7. Reakční produkt APM v pohárkové buňce středního jejunu (→ pohárková buňka s pozitivitou APM). Sele IS 14; parafinový řez (zv. 400X) — APM reaction product in the goblet cell of the middle jejunum (→ goblet cell with APM positivity) IS 14 piglet, paraffin slice (magn. 400 times)

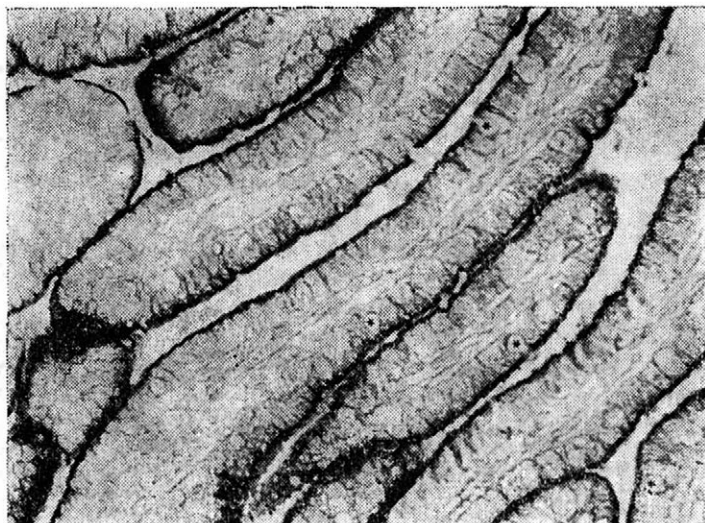


8. Reakční produkt APM v pohárkové buňce ilea. Sele IS 33; parafinový řez (zv. 400 krát) — APM reaction product in the goblet cell of the ileum. IS 33 piglet, paraffin slice (magn. 400 times)

DISKUSE

Enterocyty vznikají, stejně jako ostatní buňky sliznice střevní, z enteroblastu. Enteroblast je nediferencovaná buňka krypt (Lojda, 1974).

Při posunu enteroblastu na klky dochází k jeho diferenciaci, která je ukončena při přechodu z krypty na bázi klku (Lojda, 1969, 1983). Dochází při ní k řadě morfologických a biochemických změn, což je provázáno objevením aktivity alkalické fosfatázy, aminopeptidázy M a jiných enzymů (Lojda, 1974, 1983).



9. Pohárkové buňky ve zdravé sliznici tenkého střeva bez reakčního produktu APM (*). Kontrolní gnotobiotické sele ve věku tří dnů; parafínový řez [zv. 200×] — Goblet cells in the healthy small intestine mucous membrane without APM reaction product (*). Control gnotobiotical piglet at the age of 3 days paraffin slice (magn. 200 times)

První histochemickou detekci aminopeptidázy M provedli Burstone a Folk (1956), kteří použili jako substrát L-alanin-2-naftylamid.

Enzymatickou aktivitu je možné vyhodnotit několika způsoby. Základní a současně nejstarší formou hodnocení aktivity enzymů je semikvantitativní (křížkový) systém. Práce, kde je tento způsob hodnocení uplatněn pocházejí již z 50. a 60. let (Holman a Padalíková, 1964).

Modernější a objektivnější metodou je morfometrické vyhodnocení obrazu. Hojně se užívá okulárového mikrometru, jako velice jednoduchého měřicího zařízení (Landsverk, 1981).

V poslední době se používají různé morfometrické přístroje s odlišným spektrem získaných údajů. Často se užívá Morphomat 10 fy Zeiss (Stiglmair-Herb a Pospischil, 1986). V případě použití tohoto zařízení se jako kritérium patologického poškození sliznice střevní stanovuje výška klků, hloubka krypt a jejich vzájemný poměr a také mitotický index (počet mitóz na určený počet buněk). Často se uvádí i počet intraepiteliálních lymfocytů jako ukazatel aktivity zánětlivého procesu v postižené tkáni (Pospischil aj., 1986).

Při vyhodnocování enzymatické aktivity se používají také moderní obrazové analyzátory. Jejich užití je v našich podmínkách, ale i jinde omezené. Studie, kde byl obrazový analyzátor použit, se zabývají morfologickou analýzou ortopedických onemocnění (Skřivánková aj., 1986), popřípadě nádorů (Juliš aj., 1988a). Prioritně byl u nás a ve veterinární patologii vůbec, využit obrazový analyzátor při studiu sliznice tenkého střeva experimentálně infikovaných selat vybraným druhem enteropatogenního protozoa (Kudweis aj., 1990b).

V naší práci jsme použili zařízení, které se při diagnostice histochemického nálezu v tkáních používá ještě méně, než je tomu v případě obrazového analyzátoru.

Přednosti počítačem řízených přístrojových komplexů a široké možnosti využití této techniky uvádějí Juliš aj. (1988b). Ve veterinární patologii denzitometrie užita dosud nebyla.

Jestliže porovnáme objektivnost obou technik (analýzy obrazu a skanující denzitometrie), zjistíme, že je podobná a maximální, ale doposud zejména ve veterinární patologii nevyužítá.

V případě obrazové analýzy se výsledky opírají o stanovené délky aktivního pole, jejího procentového podílu na celkové délce měřeného úseku (% LAac) a o stanovení šířky (W) zóny deponovaného reakčního produktu.

Ve skanující denzitometrii se hodnotí průměrná denzita ($D\bar{x}$) deponovaného reakčního produktu (tj. jeho koncentrace) a dále se může jako kritérium uplatnit hodnota průměrné denzity na jednotku plochy — area ($DA\bar{x}$).

APM je enzym mikrovilózní zóny enterocytů (Lojda, 1969, 1974, 1983) a také lysosomální oblasti absorpčních buněk (supranukleární zóny), (Lojda a Papoušek, 1978).

Její aktivita je prokazatelná ihned po vynoření enterocytu ze střevních krypt a objevuje se zejména v mikrovilózní zóně enterocytů na bocích a při vrcholu střevních klků, s výjimkou mikrovilózní zóny enterocytů těsně před deskvamací; uložených na vrcholu střevních klků (Lojda, 1974).

V naší práci jsme prokázali, že více aktivnější na APM je sliznice tenkého střeva kontrolních konvenčních selat. Domníváme se, že to souvisí s nepatrně vyšším věkem těchto selat ve srovnání se selaty gnotobiotickými, případně s citlivou reakcí APM na nepřírozené podmínky, které jsou uměle vyvolány při přípravě gnotobiotických selat v jejich zažívacím traktu.

Podobně jako Harleman a Meyer (1985) a Vítovec a Koudela (1990) popisují při experimentální infekci selat kokcií *I. suis* dvojí morfologickou alternaci sliznice střevní, také v našich výsledcích jsme doložili dvě alterativní fáze funkční.

Časově se období první funkční alterace shoduje s první fází alterace morfologické, tzn., že obě probíhají 3. až 4. DPI u obou skupin infikovaných selat.

Odlišné jsou naše nálezy týkající se druhé fáze alterativních změn.

Vítovec a Koudela (1990) časově ohraničují druhou morfologickou alternaci obdobím 8. až 9. DPI, a to jak u experimentálně infikovaných selat konvenčních, tak i u infikovaných selat gnotobiotických.

U infikovaných selat konvenčních jsme prokázali značně prodlouženou druhou funkční alternativní fázi. Probíhá v období od 6. do 9. DPI, tedy s předstihem dvou dnů, ve srovnání s údaji, které uvádějí Vítovec a Koudela (1990), omezující druhou morfologickou alternaci pouze na 8. a 9. DPI.

Podobné upřesnění podává naše práce také v případě reparativních a regeneračních procesů, plynule navazujících na alternativní fáze, které Vítovec a Koudela (1990) časově ohraničují na 5. až 7. a 10. až 12. DPI.

U gnotobiotických selat experimentálně infikovaných kokcií *I. suis* jsou naše nálezy shodné.

U infikovaných selat konvenčních jsme však doložili, že první funkční reparativní fáze probíhá pouze 5. DPI, tedy ve zkráceném období o dva dny. Druhá funkční reparativní fáze je na základě našich výsledků zahájena shodně u obou skupin infikovaných zvířat 10. DPI, tedy souhlasně s údaji, které uvádějí pro druhou morfologickou reparaci Vítovec a Koudela (1990).

Domníváme se, že spojení morfologických poznatků z průběhu experimentální infekce selat kokcií *I. suis* s výsledky funkčního vyšetření sliznice střevní dává předpoklad ucelené informace o patogenezi enterálních změn vyvolaných touto kokcií.

Jsmo toho názoru, že zejména za funkční obraz sliznice střevní tenkého střeva je pro další vývoj onemocnění rozhodující první alternativní fáze, resp. počátek prvé fáze reparativních a regeneračních procesů.

V tomto období předpokládáme značně urychlenou diferenciaci buněk sliznice střevní, což dokládá i nález aktivity APM již 5. DPI v dolní polovině střevních klků. Předpokládáme-li, že životnost enterocytů je u selat, telat ale i člověka tři až čtyři dny (Lojda, 1983; Asari aj., 1987), pak při značně snížené až vymizelé aktivitě APM 3. DPI je nutné hypoteticky usuzovat na rychlý, jeden den trvající diferenciační proces. Dodatečná syntéza APM již zralých, diferenciací uvolněných enterocytů není známa.

Neprosívání selat v době onemocnění je mimo jiné enzymatické defekty (Kudweis aj., 1989a, 1990b) posíleno i chyběním aktivity APM, což má za následek snížení aktivního transportu přes mikrovilózní zónu enterocytů a minimální schopnost mikrovilózní zóny štěpit peptidy. To má ve svém důsledku vliv na poruchy trávení a vstřebávání.

Druhé nejpočetnější buňky sliznice střevní, pohárkové buňky, aktivity APM neobsahují (Lojda, 1969, 1974; Marcánik, 1980; Kudweis a Lojda, 1989a, b, c).

Na nález reakčního produktu APM v pohárkových buňkách sliznice střevní experimentálně infikovaných selat (gnotobiotických) kokcií *I. suis* jsme již upozornili (Kudweis aj., 1990a). Tento nález je nyní možné rozšířit i na infikovaná selata konvenční.

Pohárkové buňky s pozitivitou APM jsme u infikovaných selat gnotobiotických i u infikovaných selat konvenčních nalézali zejména v úseku jejunu a ilea; téměř žádné jsme nezjistili v duodenu.

Nález APM v pohárkových buňkách vysvětlujeme jako v případě alkalické fosfatázy, kterou jsme v pohárkových buňkách prokázali již dříve (Kudweis a Lojda, 1989c) a v případě zvýšení denzity některých enzymů v pohárkových buňkách sliznice střevní během experimentální infekce selat kokcií *I. suis* (Kudweis aj., 1989a).

Předpokládáme, že v době počátku reparativních procesů (tj. 5. a 10. DPI) se v kryptách sliznice tenkého střeva urychluje obnova střevních epiteliálních buněk a dochází tak k produkci pohárkových buněk, v nichž není aktivita APM reprimována.

Vysvětlení této situace spatřujeme v tom, že pohárková buňka s pozitivitou APM je buňka intermediálního stadia mezi enterocytem a pohárkovou buňkou (Kudweis aj., 1990c) a její produkce je zřejmě umožněna vlivem represe specifického genového fondu (blokováním syntézy mRNK specifického operonu) pro typickou pohárkovou buňku.

Práce je souhrnem některých nových poznatků o patogenitě enterálních změn kokcidie *I. suis*. Předně poukazuje na funkční odlišnosti patologického procesu u infikovaných gnotobiotických a konvenčních selat. Dále je studii první svého druhu, ve které bylo užito skanující denzitometrie ve veterinární patologii.

V neposlední řadě dokládá oprávněnost již dříve uvedených domněnek o patologickém procesu diferenciaci buněk sliznice tenkého střeva v období infekce (Kudweis a Lojda, 1989c; Kudweis aj., 1989b, 1990c).

Současně upřesňuje časovou ohraničenost alternativních a reparativních fází, zejména ve sliznici tenkého střeva infikovaných konvenčních selat.

Prokázat závislost funkčního poškození střevní sliznice na infekční dávce se nám nepodařilo jednoznačně prokázat.

Poděkování

Autoři děkují vedení Výzkumného ústavu veterinárního lékařství v Brně za umožnění provést experimentální část práce na gnotobiotických selatech v prostorách ústavu. Současně děkují za velmi pečlivé technické zpracování materiálu Markétě Jakubcové, pracovníci Parazitologického ústavu ČSAV v Českých Budějovicích a Josefu Poncarovi, pracovníkovi agronomické fakulty Vysoké školy zemědělské v Českých Budějovicích, za kvalitní vypracování fotodokumentace.

Literatura

- ASARI, M. — KAWAGUCHI, N. — WAKUI, S. — FUKAYA, K. — KANO, Y.: Development of the Bovine Mucosa Ileal. *Acta anat.*, 129, 1987, s. 315—324.
- BURSTONE, M. S. — FOLK, J. E.: Histochemical demonstration of aminopeptidase. *J. Histochem. Cytochem.*, 4, 1956, s. 217—226.
- FRÍČ, P. — LOJDA, Z.: Enzymes of the human jejunal mucosa. *Acta gastro-enterol. belg.*, 27, 1964, s. 526—530.
- HARLEMAN, J. H. — MEYER, R. C.: Pathogenicity of *Isospora suis* in gnotobiotic and conventionalized piglets. *Veter. Rec.*, 116, 1985, s. 561—565.
- HOLMAN, J. — PADALÍKOVÁ, D.: Lokalizace alkalické fosfatázy a kyselých fosfatáz v střevním epitelu prasat chovaných na semisyntetické vysokokalorické dietě v prvním měsíci života. *Českoslov. fyziol.*, 13, 1964, s. 264.
- JULIŠ, I. — JULIŠOVÁ, I. — BENEŠ, V.: Kvantitativní mikroskopická analýza pilocytických astocytů optické dráhy u dětí. *Sbor. Lék.*, 90, 1988a, s. 26—29.
- JULIŠ, I. — LOJDA, Z. — JULIŠOVÁ, I.: Computer — aided microscopy in pathology. In: *Proc. of the Colloquium on applied stereology and image analysis*. Košice, 1988b, s. 83—85.
- KUDWEIS, M. — JULIŠ, I. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Denzita vybraných enzymů v pohárkových buňkách sliznice tenkého střeva selat experimentálně infikovaných kokcií *Isospora suis*. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990a, s. 337—348.
- KUDWEIS, M. — JULIŠ, I. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Morfometrická analýza aktivity alkalické fosfatázy v tenkém střevě selat infikovaných kokcií *Isospora suis*. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990b, s. 217—229.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z.: The small intestine's histochemistry of suckling piglets. *Physiol. bohemoslov.*, 1989a, s. 546.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z.: The small intestine's histochemistry of suckling piglets in the early postnatal development. *Folia Fac. Medicae*, 66, 1989b, s. 60.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z.: Diferenční proces pohárkových buněk sliznice tenkého střeva selat a syntéza hlenu při experimentální enteritidě. In: JANOUŠEK, V. — ŠPÁLA, M.: *Současné směry v patologické fyziologii*. 1989c, s. 231—233.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — JULIŠ, I. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Aktivita alkalické fosfatázy v pohárkových buňkách tenkého střeva selat experimentálně infikovaných kokcií *Isospora suis*. *Veter. Med. (Praha)*, 35, 1990c, s. 275—284.
- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Aktivita vybraných dehydrogenáz a monoaminoxidáz v tenkém střevě gnotobiotických selat infikovaných kokcií *Isospora suis*. *Veter. Med. (Praha)*, 34, 1989a, s. 287—296.

- KUDWEIS, M. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. — ŠTĚRBA, J.: Poměr enterocytů a pohárkových buněk ve sliznici tenkého střeva při experimentální infekci selat kokcií *Isospora suis*. Veter. Med. [Praha], 34, 1989b, s. 33—38.
- KUDWEIS, M. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Some histochemical findings on the intestinal mucosa of piglets during experimental infection with coccidia *Eimeria scabra*. Histochem. J., 19, 1987, s. 615—616.
- LANDSVERK, T.: An enzyme histochemical investigation of the intestinal mucosa in diarrheic calves. Acta veter. scand., 22, 1981, s. 1—10.
- LOJDA, Z.: Anatomie, histologie, histochemie a elektronová mikroskopie tenkého střeva. In: FRÍČ, P.: Malabsorpční syndrom. Praha, SZdN 1969, s. 19—41.
- LOJDA, Z.: Cytochemistry of enterocytes and of other cells in the mucous membrane of the small intestine. In: SMYTH, D. H.: Intestinal Absorption. London — New York, Plenum Press 1974, s. 43—122.
- LOJDA, Z.: The histochemical demonstration of brush border endopeptidases. Histochemistry, 64, 1979a, s. 205—221.
- LOJDA, Z.: Progress in the histochemistry of peptidases. Sbor. Českoslov. spol. histo- a cytochemické, 7, 1979b, s. 42—43.
- LOJDA, Z.: Patologie trávicího traktu. VII. Střevo. In: BEDNÁŘ, B.: Patologie sv. II., Praha, Avicenum 1983, s. 986—1032.
- LOJDA, Z. — FRÍČ, P. — JODL, J. — CHMELÍK, V.: Cytochemistry of the human jejunal mucosa in the norm and in malabsorption syndrome. C. T. Pathol., 52, 1970, s. 1—63.
- LOJDA, Z. — GUSSRAU, R. — SCHIEBLER, T. H.: Enzyme Histochemistry. A Laboratory manual. Springer — Verlag — Berlin — Heidelberg — New York, 1979b, 339 s.
- LOJDA, Z. — KOCIÁNOVÁ, J. — MAŘATKA, Z.: Histochemistry of the human duodenal mucosa with special reference to the gradient of the activities of the brush border enzymes. Acta gastro-enterol. Scand., 21, 1979a, s. 75—91.
- LOJDA, Z. — PAPOUŠEK, F.: Základy histochemického průkazu enzymů. Ústav pro další vzdělávání středních zdravotnických pracovníků, Brno, 1978, s. 23—110.
- LOJDA, Z. — PETRAŠKO, M. — HAVRÁNKOVÁ, E. — LOJDA, L.: Early postnatal development of the brush border enzymes of enterocytes in the rat and mini-pig. Histochem. J., 16, 1984, s. 364—369.
- MARCANÍK, J.: Histotopochémia enzýmů pri niektorých alternatívnych procesoch vo veterinárnej patológii. [Habilitation práce.] Košice 1980, s. 70—86. — Vysoká škola veterinárska.
- PADYKULA, H. A. — STRAUSS, E. W. — LEDMAN, A. J. — GARDNER, F. H.: A morphologic and histochemical analysis of the human jejunal epithelium in nontropical sprue. Gastroenterology, 40, 1961, s. 735—765.
- POSPISCHIL, A. — HESS, R. G. — BACHMANN, P. A. — BALJER, G.: Experimental infection of caesarean derived, colostrum deprived calves with bovine rotaviruses and enterotoxigenic *Escherichia coli* (ETEC): A Histological, Electronmicroscopic, and Morphometric Investigation. J. Veter. Med., suppl. B, 33, 1986, s. 196—205.
- RUZICKA, CH. W. — ANDREWS, J. J.: Porcine neonatal coccidiosis: a clinical review. Iowa State Veterinarian, 42, 1984, s. 90—95.
- RUŽIČKOVÁ, M. — LOJDA, Z. — MALIŠ, F.: Circadian rhythm of enzyme activities of the rat small intestine. Acta Univ. Carol., Med. Monogr., 79, 1978, s. 89—97.
- SKŘIVÁNKOVÁ, B. — JULIŠ, I. — TRNAVSKÝ, K. — GRIMOVÁ, J.: DNA content of lymphocytes in adjuvant arthritis of rats. Exp. Path., 30, 1986, s. 243—246.
- STIGLMAIR-HERB, M. T. — POSPISCHIL, A.: A New method for the analysis of intestinal enzyme histochemistry in diarrhoeic and non-diarrhoeic calves. Anim. Res. and Development, 24, 1986, s. 68—84.
- VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B.: Bouble alteration of small intestine in *Isospora suis* infection in conventional and gnotobiotic piglets. Folia parazit. [Praha], 37, 1990, s. 21—33.

Došlo dne 7. 11. 1989

КУДВАЙС, М. — ЮЛИШ, И. — ЛОЙДА, З. — ВИТОВЕЦ, Й. — КОУДЕЛА, Б. (Паразитологический институт АН ЧСФР, Ч. Будейовице; Лаборатория по гистохимии при медицинском факультете Университета Карлова, Прага): Денситометрический анализ активности аминопептидазы М в слизистой тощей кишки поросят экспериментально зараженных кокцидиями *Isospora suis*. Veter. Med. [Praha], 35, 1990 (11): 679—694.

У гнотобиотических и конвенционных поросят, зараженных на первый день после опороса (ДПО) ооцистами кокцидии *Isoospora suis*, провели денситометрический анализ активности аминопептидазы М (ЕС. 3.4.11.2; АРМ) в области микровиллезных зон слизистой тощей кишки. Поросят заражали разными дозами ооцист: 100 000 у гнотобиотических и 200 000 у конвенционных поросят. У первых активность АРМ определяли в период 3—11 дней после инфекции (ДНИ), а у вторых — на 2—10-й дни ДПИ. Контрольные поросята (гнотобиотические) в возрасте 2—5 дней и конвенционные 4—7-дневные отличаются разной активностью АРМ в слизистой тощей кишки. Активность АРМ в микровиллезной зоне кишечной слизистой выше у контрольных поросят (+7,01 от средней величины десятичного логарифма непрозрачности). У зараженных гнотобиотических поросят эта величина реактивного продукта АРМ пала уже на 3-й ДПИ и еще заметнее на 4-й ДПИ во всей тощей кишке с преобладанием сохранившейся активности АРМ в подвздошной кишке. Вопреки некоторому повышению этой величины у АРМ в период 5—7-й ДПИ (с пиком на 6-й ДПИ), на 8-й и особенно 9-й ДПИ активность понижалась опять во всей тощей кишке (самые низкие величины отмечены в задней ее части), причем была затронута и слизистая подвздошной кишки. Несколько выше была эта величина АРМ у двенадцатиперстной кишки, но на 10-й ДПИ она стала упорядочаться, и на 11-й ДПИ достигла в двенадцатиперстной и средней тощей кишках даже больших значений, чем контрольные данные. У зараженных конвенционных поросят отмечены некоторые различия в слизистой тощей кишки: на 3-й и 4-й ДПИ дефект АРМ затрагивал всю тощую кишку при преобладающей денсивности АРМ в слизистой подвздошной кишки (как и у гнотобиотических поросят). Второй период понижения активности АРМ длился почти 4 дня от 6-го до 9-го ДПИ. Переходное упорядочение ее длится у этих поросят короче, лишь 1 день (5-й ДПИ). У обеих же групп одновременно на слизистой тощей кишки на 2—10-й ДПИ и на 11-й ДПИ у гнотобиотических поросят отмечали чашеобразные клетки с сильной активностью АРМ.

конвенционные поросята; гнотобиотические поросята; аминопептидаза М; экспериментальное заражение; денситометрический анализ; *Isoospora suis*

KUDWEIS, M. — JULIŠ, I. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. (Institute of Parasitology, Czechoslovak Academy of Sciences, České Budějovice; Laboratory for Histochemistry of the Faculty of Medicine of Charles University, Praha): *Densitometrical analysis of the aminopeptidase M activity in the small intestine mucosa of piglets experimentally infected by Isospora suis coccidia*. Veter. Med. (Praha) 35, 1990 [11]: 679—694.

In gnotobiotical and conventional piglets infected a day post partum (DPP) with oocysts of the coccidium *Isoospora suis*, densitometrical analysis of the activity of aminopeptidase M (EC.3.4.11.2; APM) was performed in the area of microvillous zone of the small intestine. Piglets were infected with different infection doses of oocysts (100 000 oocysts) in gnotobiotical piglets and 200 000 oocysts in conventional piglets). In infected gnotobiotical piglets, the APM activity was studied in the period from the 3rd to 11th day after infection (DAI) and in infected conventional piglets in the period of 2 to 10th day after infection (DAI). Control piglets, in the group of the gnotobiotical animals at the age of 2 to 5 days in the group of the conventional animals at the age of 4 to 7 days, had different APM activity in the microvillous zone of the intestinal mucosa. It was stated that the microvillous zone of the intestinal mucosa gained higher values in control conventional piglets (+7.01 mean values of density). In infected gnotobiotical piglets the density fall of the reaction product of APM was demonstrated already on the third day with further marked reduction of APM density on the 4th day after infection in the whole small intestine with predominance of the persisting APM activity in ileum. Even despite the slight increase in the density of the reaction product of APM in the period from the 5th to 7th DAI (the highest increase in APM density on the 6th DAI), a further decrease of the activity was recorded again on the 8th and namely the 9th DAI in the whole small intestine (the lowest value of density was found in the rear jejunum), the ileum mucosa being affected, too. A slightly higher density of the reaction product of APM was found in the duodenum. On the 10th DAI the APM density started to change and on the 11th DAI in the duodenum and in the middle jejunum it even reached higher values in comparison with the control data. Some differences were proved in the infected conventional piglets in comparison with the development of the APM activity in the small intestine mucosa in the infected gnotobiotical piglets. On the 3rd and

4th DAI APM defect occurred in the whole small intestine, with APM density prevailing in the ileum mucosa (like in the group of infected gnotobiotical piglets). The second period of decrease in APM activity lasted for almost four days (6th to 9th DAI). In both groups of infected piglets, goblet cells with a strong APM activity were detected at the same time in the small intestine mucosa of the gnotobiotical piglets on the 2nd to 10th DAI and 11th DAI.

conventional piglets; gnotobiotical piglets; aminopeptidase M; experimental infection; densitometrical analysis; *Isospora suis*

KUDWEIS, M. — JULIŠ, I. — LOJDA, Z. — VÍTOVEC, J. — KOUDELA, B. (Parasitologisches Institut der ČSAV, České Budějovice; Laboratorium für Histochemie der medizinischen Fakultät der Karlsuniversität, Praha): *Densitometrische Analyse der Aktivität der Aminopeptidase M auf der Dünndarmschleimhaut der experimentell mit der Kokzidie Isospora suis infizierten Ferkel*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (11): 679—694.

Bei gnotobiotischen und konventionellen am ersten Tag nach der Geburt mit Oozysten der Kokzidie *Isospora suis* infizierten Ferkeln führten wir die densitometrische Analyse der Aktivität der Aminopeptidase M (EC.3.4.11.2.; APM) in der mikrovillosen Zone der Dünndarmschleimhaut durch. Die Ferkel wurden mit einer unterschiedlichen Gabe von Oozysten (100 000 Oozysten bei den gnotobiotischen und 200 000 Oozysten bei den konventionellen Ferkeln) infiziert. Bei den gnotobiotischen infizierten Ferkeln untersuchten wir die APM-Aktivität am 3. bis am 11. Tag nach der Infektion und bei den infizierten konventionellen Ferkeln am 2. bis 10. Tag nach der Infektion. Die Kontrollferkel, in der Gruppe der gnotobiotischen Tiere im Alter von zwei bis fünf Tagen und in der Gruppe der konventionellen Tiere im Alter von vier bis sieben Tagen, haben eine unterschiedliche APM-Aktivität in der Dünndarmschleimhaut. Wir stellten fest, dass die APM-Aktivität in der mikrovillosen Zone der Darmschleimhaut höhere Werte bei den konventionellen Kontrollferkeln (+7,01 des durchschnittlichen Densitätswertes) aufweist. Bei den infizierten gnotobiotischen Ferkeln wiesen wir den Abfall der Densität des Reaktionsproduktes der APM schon am 3. Tag nach der Infektion mit einem weiteren bedeutenden Abfall der APM-Densität am 4. Tag nach der Infektion im gesamten Dünndarm mit Überlegen der erhaltenen APM-Aktivität im Ileus nach. Ungeachtet einer nur unbedeutenden Steigerung der Densität des Reaktionsproduktes von APM am 5.—7. Tag nach der Infektion (mit dem Gipfel der APM-Densitätssteigerung) wiesen wir einen weiteren Aktivitätsabfall am 8. und vor allem am 9. Tag nach der Infektion wiederum im gesamten Dünndarm (den niedrigsten Densitätswert stellten wir im Hinterleerdarm) nach, wobei auch die Ileusschleimhaut betroffen wurde. Eine einigermaßen höhere Densität des Reaktionsproduktes von APM stellten wir im Duodenum fest. Am 10. Tag nach der Infektion begann sich die APM-Densität umzuwandeln um am 11. Tag nach der Infektion im Duodenum und im mittleren Leerdarm sogar höhere Werte im Vergleich zu Kontrollangaben zu erreichen. Bei den konventionellen infizierten Ferkeln wiesen wir einige Abweichungen im Vergleich zur Entwicklung der APM-Aktivität in der Dünndarmschleimhaut der infizierten gnotobiotischen Ferkeln nach. Am 3. und 4. Tag nach der Infektion ist vom APM-Defekt der gesamte Dünndarm bei gleichzeitig überwiegender APM-Densität in der Ileusschleimhaut (genauso wie bei der Gruppe der gnotobiotischen infizierten Ferkel) betroffen. Die zweite Periode des APM-Aktivitätsabfalls dauert fast vier Tage lang (6. bis 9. Tag nach der Infektion). Die vorübergehende Modifizierung der APM-Aktivität ist bei den konventionellen infizierten Ferkeln kürzer und dauert nur einen einzigen Tag (5. Tag nach der Infektion). Bei den beiden Gruppen von infizierten Ferkeln wiesen wir gleichzeitig in der Dünndarmschleimhaut am 2. bis am 10. Tag nach der Infektion und am 11. Tag nach der Infektion bei den gnotobiotischen Ferkeln Becherzellen mit einer bedeutenden APM-Aktivität nach.

konventionelle Ferkel; gnotobiotische Ferkel; Aminopeptidase M, experimentelle Infektion; densitometrische Analyse; *Isospora suis*

Adresy autorů:

MVDr. Miloš Kudweis, CSc., MVDr. Jiří Vítovec, CSc., MVDr. Břetislav Koudela, CSc., Parazitologický ústav ČSAV, Branišovská 31, 370 05 České Budějovice
Prof. MUDr. Zdeněk Lojda, DrSc., člen korespondent ČSAV, MUDr. Ivan Juliš, Laborať pro histochemii, lékařská fakulta UK, Studničkova 2, 128 00 Praha 2

FYZIOLOGICKÁ POTREBA BIELKOVÍN KAZEÍNU A PŠENIČNÉHO GLUTÉNU U ŠTVORMESAČNÝCH KRÝS

O. Dibák, M. Krajčovičová-Kudláčková

DIBÁK, O. — KRAJČOVIČOVÁ-KUDLÁČKOVÁ, M. [Výskumný ústav výživy ľudu, Bratislava]: *Fyziologická potreba bielkovín kazeínu a pšeničného gluténu u štvormesačných krýs*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (11): 695—704.

Zdroje bielkovín kazeínu a pšeničného gluténu boli analyzované na obsah bielkovín, tukov, sacharidov, vody a aminokyselín. Bolo určené chemické skóre aminokyselín a pomer esenciálnych a neesenciálnych aminokyselín (E/N). U krýs (samcov) vo veku 120 dní boli metódou stúpajúceho obsahu bielkovín kazeínu a pšeničného gluténu od 0 do 40 % v diéte a po 14dennej aplikácii diét určené zo zmien telového dusíka, telovej vody a hmotnosti v závislosti na príjme bielkovín ich optimálne a udržiavacie fyziologické denné dávky. Pre bielkoviny kazeínu je optimálna denná dávka u krýs vo veku 120 až 134 dní 1,75 g (7,5 % bielkovín v diéte), pre bielkoviny pšeničného gluténu 2,46 g (10 % bielkoviny v diéte). Udržiavacie dávky zo zmien hmotnosti, telového dusíka a telovej vody v závislosti na príjme bielkovín u týchto krýs sú pre bielkoviny kazeínu postupne 1216, 1214 a 1302 mg, pre bielkoviny pšeničného gluténu 1731, 1760 a 1861 mg.

štvormesačné krysy; bielkoviny kazeínu; bielkoviny pšeničného gluténu; fyziologická potreba

Určenie fyziologickej potreby diétnych bielkovín v závislosti na veku nie je dostatočne rozpracované [NRC, 1978]. V dôsledku toho boli doteraz zo vzťahu medzi príjmom bielkovín kazeínu a gluténu telového dusíka, telovej vody, resp. telovej hmotnosti, určené minimálne a optimálne fyziologické denné dávky u krýs vo veku 35 až 49 dní a 75 až 89 dní [Dibák a i., 1984, 1985; Dibák a Krajčovičová, 1985]. Význam daných štúdií vyplýva navyše z nahromadených poznatkov o indukovanom účinku nadmerného alebo nedostatočného príjmu jednotlivých živín na rôzne metabolické procesy a teda z hľadiska ďalších štúdií v tomto smere a to či už bezprostredne po ich podávaní, alebo v neskorších fázach ontogenézy. Ďalej preto, že modelové štúdium využitia a fyziologickej potreby bielkovín zo solitérnych druhov je nutným pre nasledovné štúdie ich využitia a fyziologickej potreby z dvoch alebo viacerých druhov bielkovín, teda pri ich použití v zmesiach.

V predmetnej štúdii sa určila fyziologická potreba bielkovín kazeínu a pšeničného gluténu u krýs vo veku 120 až 134 dní, ktoré dosahujú hmotnosti okolo 380 až 400 g a stále rastú. Na určenie optimálnych a udržiavacích fyziologických dávok bola použitá metóda stúpajúceho obsahu bielkovín v diéte.

MATERIÁL A METÓDY

Pokusy boli robené na krysách (samcoch, kmeň Wistar) vo veku 120 dní o počiatkovej hmotnosti okolo 380 až 400 g. Zvieratá boli do začiatku pokusu chované Larseovou diétou (LD, dodávanou n. p. VELAZ).

Použitie zdroje a to kazeín (Laktos, Praha) a pšeničný glutén (Slovenské škrobárne, Trnava) boli analyzované na obsah dusíka, tukov, sacharidov, vody a aminokyselín (tab. I): Základnou diétou bola bezdusíková diéta (Henry, 1965): ryžový škrob 64 %, zemiakový škrob 10 %, cukor 12 %, margarínový tuk 10 %, soľná zmes Osborne 4 %. Bielkoviny zdrojov boli pridávané namiesto ryžového škrobu v množstvách 2,5; 7,5; 10; 12,5; 15; 20; 25; 30; 40 %. Okrem uvedených skupín zvierat boli v pokuse ešte

I. Zloženie kazeínu a pšeničného gluténu — Caseine and wheat gluten composition

		Kazeín (n = 8)	Glutén (n = 8)
Bielkoviny	[%]	78,9 ± 0,51	77,0 ± 0,89
Tuky	[%]	0,9 ± 0,02	0,4 ± 0,01
Sacharidy	[%]	6,7 ± 0,18	11,4 ± 0,41
Sušina	[%]	87,3 ± 0,91	89,1 ± 0,89
Aminokyseliny bielkovín [mg · g ⁻¹]			
	His	26,9 ± 1,7	14,6 ± 0,7
	Ile	39,1 ± 2,3	32,1 ± 1,7
	Leu	109,0 ± 6,0	70,2 ± 3,5
	Lys	74,5 ± 3,1	10,9 ± 0,5
	Met	25,5 ± 1,2	10,5 ± 0,4
	Phe	50,4 ± 2,8	41,1 ± 2,2
	Thr	34,1 ± 2,1	17,0 ± 0,7
	Val	60,1 ± 3,0	28,1 ± 1,2
	Arg	33,2 ± 1,2	30,1 ± 1,5
	Glu	184,3 ± 6,2	455,2 ± 19,7
	Pro	112,0 ± 4,9	115,0 ± 4,9
	Ser	47,6 ± 2,5	40,1 ± 1,7
	Tyr	60,0 ± 3,0	25,9 ± 1,1
	Ala	22,1 ± 1,1	20,0 ± 0,8
	Asp	58,3 ± 3,2	28,9 ± 1,4
	Gly	13,9 ± 0,9	29,3 ± 1,2
	E/N	0,790	0,294
provizórna aminokyselinová „scoring“ vzorka ^{a)}		aminokyselinové skóre ^{b)}	
		kazeín	glutén
	Ile	40	98
	Leu	70	156
	Lys	55	135
	Met+Cys ^{c)}	35	73(83)
	Phe+Tyr	60	183
	Thr	40	85
	Try ^{d)}	10	160
	Val	50	120
			80
			100
			20
			30(90)
			112
			43
			100
			56

s_x — stredná chyba z priemeru

a) — podľa FAO/WHO: Energy and Protein requirements Report of Joint FAO/WHO ad hoc Expert Committee, Geneva, FAO/WHO, 1973, 118 pp.

b) skóre aminokyseliny = $\frac{\text{mg aminokyseliny v g testovaného proteínu}}{\text{mg aminokyseliny v g referenčnej vzorky}} \times 100$

c,d) množstvo cystínu a tryptofanu podľa: Amino acid content of foods and biological data of proteins FAO, Roma, 1970, 288 pp.

zvieratá skupiny 0. dňa, usmrtené na začiatku pokusu, z ktorých zistené hodnoty telového dusíka, telovej vody, sušiny tela a hmotnosti po vyčistení gastrointestinálneho traktu slúžili na výpočty tých istých parametrov na začiatku pokusu (B- pred aplikáciou diét) a pre výpočet ich zmien za 14 dní podávania diét. Ku všetkým diétam sa pridávala štandardná vitamínová zmes (zloženie na 1 kg diéty: tiamín 3,3 mg; riboflavin 5,5 mg; pyridoxín hydrochlorid 3,3 mg; kalcium pantotenát 11,0 mg; kyselina fólová 0,6 mg; biotín 0,6 mg; kyselina para-aminobenzoová 11,0 mg; inozitol 110,0 mg; kyselina nikotínová 11,0 mg; cholín hydrochlorid 1900,0 mg; vitamín K 2,2 mg; cianokobalamín 20 g; vitamín A 4,5 mg; vitamín D 0,3 mg; vitamín E 5,0 mg).

Zvieratá z jednotlivých skupín (po šiestich v každej) boli umiestnené v individuálnych klietkach s mriežkovou podlahou pri teplote 22 až 23 °C. Diéty a vodu dostávali *ad libitum*. Denne bolo sledované množstvo prijatej stravy a hmotnosť zvierat.

Po aplikácii diét 14 dní a predchádzajúcom 16hodinovom hladovaní boli zvieratá všetkých skupín usmrtené v jeden deň éterovou narkózou a vypreparovaný gastrointestinálny trakt za cieľom očistenia od zvyškov potravy. Jednotlivé zvieratá boli potom sušené pri teplote 105 °C do konštantnej hmotnosti. Z homogenátu karkasu jednotlivých zvierat odoberaté vzorky boli analyzované na obsah dusíka a tuku.

Množstvo tuku v zdrojoch, diétach a tele zvierat sa určilo gravimetricky po extrakcii Soxhletom. Dusík vo vzorkách z použitých zdrojov bielkovín, ďalej z diét a karkasu jednotlivých zvierat bol určený Dumasovou metódou (Vondenhof a Schulte, 1979). Sacharidy v zdrojoch a diétach sa stanovili metódou podľa Schoorla (Príběla, 1978).

Aminokyseliny v zdrojoch boli určené automatizovanou chromatografickou metódou podľa Spackmanna a i. (1958) po kyselej hydrolýze v 6 N HCl za 72 hodín pri teplote 100 °C.

VÝSLEDKY

V tab. I je uvedené zloženie použitého kazeínu a pšeničného gluténu na obsah bielkovín ($N \times 6,25$), tukov, sacharidov a sušiny, čo je potrebné jednak pre meranie príjmu jednotlivých živín, jednak pre zostavenie jednotlivých diét s rôznym obsahom diétnych bielkovín. Aminokyselinové zloženie bielkovín zdrojov — aj keď sa v jednotlivých šaržiach zrejme v dôsledku technologického spracovania a aj analytickej prípravy odlišuje — sa používa za cieľom prípadného určovania optimálnych či minimálnych dávok najmä primárnych a sekundárnych limitujúcich aminokyselín, resp. ostatných aminokyselín. Podobne ako predtým (Dibák a Krajčovičová, 1985) sú obidva zdroje bielkovín kvalitou veľmi odlišné, ako to vyplýva či už z pomeru esenciálnych a neesenciálnych aminokyselín (E/N), alebo z chemického skóre, pričom zloženie aminokyselín oboch zdrojov nasvedčuje, že ide o bielkoviny navzájom doplnkové.

V tab. II a III sú uvedené zistené parametre po aplikácii diét s rôznym obsahom kazeínu a pšeničného gluténu po dobu 14 dní a ich hodnoty pred aplikáciou diét, t. zn. pri započatí experimentu, ktoré hodnoty sú vypočítané za pomoci hodnôt získaných u skupiny zvierat 0. dňa. Rozdiel v hodnotách sledovaných parametrov na začiatku experimentu a po jeho skončení dáva zmeny v hmotnosti, zmeny telovej vody a telového dusíka, ku ktorým došlo za 14 dní aplikácie diét s rôznym obsahom bielkovín (tab. IV).

Z nameraných hodnôt sledovaných parametrov (tab. II, III) najmä však zo zmien hmotnosti, zmien telového dusíka a telovej vody (tab. IV) v závislosti na príjme bielkovín vyplýva u štvormesačných krýs lineárny vzťah pri podávaní kazeínových diét do obsahu bielkovín 7,5 % (obr. 1), pri podávaní gluténových diét do obsahu 10 % bielkovín v diéte (obr. 2).

Pri vyššom príjme bielkovín z oboch zdrojov sa sledované parametre ďalej zvyšujú ovšem neadekvátne prijatým bielkovinám, pričom k zvyšovaniu dochádza len do určitého obsahu bielkovín v diéte a to v prípade

II. Hmotnosť živá, hmotnosť po vyčistení git, sušina, telová voda a telový dusík u skupiny 0. dňa a skupín krýs (štvormesačných) po aplikácii diét s 0–40 % bielkovín kazeínu 14 dní (A) a pred aplikáciou diét (B—0. deň pokusu) — Live weight after gastrointestinal tract (GIT) cleaning, dry matter, body water and body nitrogen in g in the group of the 0th day and in the groups of rats (4-month-old) after the administration of the diet with 0–40 per cent casein protein for 14 day (A) and before the administration of the diet (B — the 0th day of the experiment)

Percento	Hmotnosť živá [g]	Hmotnosť po vyčistení git [g]	Sušina [g]	Telová voda [g]	Telový dusík [g] s. h
skupina 0. dňa					
	385,7 ±2,0	358,1 ±2,1	134,3 ±1,8	223,8 ±3,3	12,73 ±0,36
A — po aplikácii diét 14 dní					
0,0					
2,5					
5,0					
7,5	360,8 ±3,5	338,3 ±4,2	128,1 ±2,6	210,1 ±2,7	11,81 ±0,38
10,0	383,4 ±3,7	362,6 ±3,8	138,0 ±2,4	224,6 ±1,9	12,58 ±0,37
15,0	408,0 ±4,1	382,8 ±2,9	148,0 ±1,7	235,3 ±3,8	13,23 ±0,15
20,0	415,6 ±4,3	395,5 ±2,8	151,0 ±3,8	242,5 ±1,5	13,57 ±0,20
25,0	419,3 ±4,3	394,8 ±2,1	154,0 ±2,3	241,8 ±0,6	13,47 ±0,34
30,0	428,0 ±5,1	395,0 ±2,7	160,1 ±2,2	234,8 ±4,8	13,64 ±0,37
40,0	420,3 ±2,9	389,3 ±3,1	155,5 ±1,1	233,8 ±3,8	13,47 ±0,37
	402,3 ±3,8	374,0 ±2,0	143,3 ±2,8	229,6 ±2,7	13,07 ±0,35
	399,8 ±3,3	373,5 ±1,7	143,5 ±2,4	228,0 ±2,2	13,03 ±0,25
	370,0 ±2,5	344,5 ±1,5	129,1 ±2,9	215,3 ±2,6	12,35 ±0,35
B — pred aplikáciou diét (začiatok experimentu)					
0,0	393,6 ±2,3	365,3 ±2,1 ^a	135,1 ±0,7 ^b	230,1 ±1,3 ^c	12,83 ±0,07 ^d
2,5	399,1 ±4,3	371,7 ±2,8	137,0 ±1,7	234,1 ±3,0	13,06 ±0,16
5,0	401,7 ±3,5	372,7 ±3,3	137,9 ±1,2	234,8 ±2,1	13,09 ±0,11
7,5	400,0 ±1,9	371,2 ±1,8	137,3 ±0,6	233,8 ±1,1	13,04 ±0,06
10,0	391,5 ±4,3	363,3 ±2,0	134,4 ±1,1	228,9 ±2,5	12,77 ±0,14
15,0	392,0 ±3,3	363,7 ±3,0	134,6 ±1,1	229,1 ±1,9	12,78 ±0,10
20,0	396,2 ±3,8	364,3 ±3,5	134,8 ±1,3	229,5 ±2,2	12,80 ±0,13
25,0	386,6 ±3,6	358,8 ±3,3	132,8 ±1,2	226,0 ±2,1	12,65 ±0,11
30,0	388,6 ±2,9	360,6 ±2,7	133,4 ±0,9	225,1 ±1,7	12,67 ±0,09
40,0	374,5 ±0,9	347,5 ±1,2	128,6 ±0,3	228,9 ±0,5	12,22 ±0,03

Vysvetlivky pre tab. II a III — Notes for Tabs. II and III:

^a — mŕtva hmotnosť zvierat 0. dňa jednotlivých skupín vypočítaná z hmotnosti zvierat skupiny 0. dňa — dead weight of animals on the 0th day in the individual group calculated from the weight of animals of the 0th day group.

^b — sušina zvierat 0. dňa jednotlivých skupín vypočítaná z hmotnosti a sušiny zvierat skupiny 0. dňa — dry matter of animals of the 0th day in the individual groups calculated from the weight and dry matter of animals of the group of the 0th day.

^c — telová voda zvierat na 0. deň pokusu u jednotlivých skupín vypočítaná z hmotnosti a telovej vody zvierat skupiny 0. dňa — body water of animals on the 0th day of the test in the individual groups calculated from the weight and body water of animals of the group of the 0th day.

^d — telový dusík zvierat jednotlivých skupín na 0. deň pokusu vypočítaný z údajov o sušiny a telového dusíka zvierat skupiny 0. dňa — body nitrogen of animals of the individual groups on the test calculated from the data on dry matter and body nitrogen of animals of the group of the 0th day.

kazeínových do obsahu 15 %, v prípade gluténových bielkovín do obsahu 20 % v diéte. Od množstva 15 % bielkoviny kazeínu v diéte napriek ďalšiemu narastaniu príjmu bielkovín vykazujú sledované parametre sústavný pokles. Podobne je to aj pri gluténových diétach, no s tým rozdielom, že k poklesu prírastkov hmotnosti, alebo zmien telového dusíka a telovej vody dochádza od 20 % bielkovín v diéte, pričom pokles všetkých ukazovateľov je podstatne menší v porovnaní s ich hodnotami u zvierat na kazeínových diétach.

Optimálna fyziologická denná dávka bielkovín kazeínu, ktorá odpovedá vrcholu linearitu medzi príjmom bielkovín a zmenami hmotnosti, telovej vody a telového dusíka je pri obsahu 7,5 % bielkovín kazeínu v diéte, resp. pri 10 % bielkovín pšeničného gluténu v diéte a odpovedá u štvormesačných krýs množstvu 1,75 g na deň bielkovín kazeínu (obr. 1; tab. V), resp. množstvu 2,46 g bielkovín pšeničného gluténu na deň a zvierat (obr. 2; tab. V).

Z rovníc regresných priamiek (obr. 1; tab. V) a to zo zmien telového dusíka v závislosti na príjme bielkovín je udržiavacia dávka bielkovín

III. Hmotnosť živá, hmotnosť po vyčistení git, sušina, telová voda a telový dusík v g u štvormesačných krýs skupiny 0. dňa a skupín po aplikácii diét s 0 až 40 % bielkovín gluténu 14 dní (A) a pred aplikáciou diét (B — 0. deň pokusu) — Live weight, weight after cleaning of the GIT, dry matter, body water and body nitrogen in g in 4-month-old rats of the group of the 0th day and of the groups after the diet administration with 0—40 per cent gluten protein about 14 days (A) and before the diet administration (B — the 0th day of experiment)

Percento	Hmotnosť živá [g]	Hmotnosť po vyčistení git [g]	Sušina [g]	Telová voda [g]	Telový dusík [g] s. h
skupina 0. dňa					
	385,8 ±2,0	358,1 ±2,1	134,3 ±1,8	223,8 ±3,3	12,73 ±0,36
A — po aplikácii diét					
0,0	370,8 ±2,6	338,5 ±2,1	131,1 ±1,7	207,3 ±2,3	11,52 ±0,32
2,5	371,6 ±2,6	350,3 ±3,2	137,9 ±1,5	212,6 ±3,9	11,90 ±0,20
5,0	380,0 ±2,7	362,8 ±4,0	144,7 ±1,6	218,1 ±4,4	12,30 ±0,17
7,5	400,5 ±2,9	387,5 ±3,0	153,5 ±0,9	234,0 ±1,8	13,07 ±0,17
10,0	415,6 ±3,8	399,5 ±2,5	155,6 ±1,9	243,8 ±2,8	13,60 ±0,11
15,0	420,3 ±4,8	399,6 ±2,6	155,6 ±1,8	244,0 ±2,7	13,71 ±0,15
20,0	405,8 ±3,8	387,6 ±3,0	149,3 ±1,2	238,3 ±2,1	13,40 ±0,16
25,0	410,6 ±2,8	385,5 ±2,7	148,0 ±2,1	237,5 ±2,1	13,43 ±0,20
30,0	400,7 ±2,5	372,5 ±2,9	142,8 ±1,9	229,6 ±3,1	13,06 ±0,20
40,0	401,4 ±2,6	369,2 ±1,5	140,0 ±2,5	229,2 ±2,5	13,01 ±0,15
B — pred aplikáciou diét 14 dní					
0,0	400,8 ±3,5	371,9 ±2,3 ^a	137,6 ±1,4 ^b	234,3 ±2,9 ^c	13,07 ±0,32 ^d
2,5	389,1 ±2,7	361,0 ±3,2	133,6 ±1,3	227,4 ±3,2	12,69 ±0,30
5,0	385,8 ±3,5	358,0 ±5,1	132,5 ±1,5	225,5 ±3,2	12,58 ±0,18
7,5	395,8 ±2,1	367,3 ±4,6	135,9 ±0,5	231,4 ±2,1	12,90 ±0,23
10,0	400,8 ±3,1	371,9 ±2,6	137,6 ±1,1	234,3 ±3,1	13,07 ±0,23
15,0	395,0 ±2,5	366,5 ±3,1	135,6 ±1,7	230,8 ±1,8	12,88 ±0,21
20,0	382,5 ±3,1	355,0 ±3,1	131,3 ±0,9	223,6 ±3,9	12,46 ±0,21
25,0	388,6 ±2,0	360,6 ±2,3	133,4 ±2,0	227,1 ±2,9	12,67 ±0,29
30,0	379,1 ±2,5	351,8 ±2,9	130,1 ±1,2	221,6 ±2,9	12,35 ±0,27
40,0	380,0 ±2,6	352,6 ±2,5	130,4 ±2,0	222,1 ±2,6	12,38 ±0,13

kazeínu u krýs vo veku 120 až 134 dní 1214 mg na deň, zo zmien telovej vody 1302 mg na deň a z prírastkov hmotnosti a príjmu bielkovín 1216 mg na deň. Rovnako udržiavacia dávka bielkovín pšeničného gluténu (obr. 2; tab. V) zo zmien telového dusíka a príjmu bielkovín je 1760 mg na deň, zo zmien telovej vody v závislosti na príjme bielkovín 1861 mg na deň a z prírastkov hmotnosti a príjmu bielkovín 1731 mg na deň a zvierat (tab. V).

DISKUSIA

Získané údaje optimálnych a udržiavacích fyziologických dávok bielkovín kazeínu a pšeničného gluténu u krýs vo veku 120 až 134 dní spolu s údajmi našich predchádzajúcich prác (Dibák a i., 1984, 1985; Dibák a Krajčovičová, 1985) v prvom rade ukazujú, že optimálne dávky diétnych bielkovín s vekom klesajú a naopak udržiavacie dávky s vekom narastajú. Kým optimálna dávka bielkovín kazeínu, resp. bielkovín pšeničného gluténu, je u krýs vo veku 35 až 49 dní 3,25 g na deň (15 % bielkovín kazeínu v diéte), resp. 4,05 g na deň (20 % bielkovín pšeničného gluténu v diéte), u krýs vo veku 75 až 89 dní 2,76 g na deň (10 % bielkovín kazeínu v diéte), resp. 3,76 g na deň (15 % bielkovín

IV. Príjem proteínov a zmeny hmotnosti (prírastky hmotnosti v g), zmeny telovej vody a telového dusíka (v g) za 14 dní podávania diét s 0–40 % bielkovín kazeínu a pšeničného gluténu u štvormesačných krýs — Protein intake and weight changes (weight gains in g), changes of body water and body nitrogen (in g) during 14 days of diet intake with 0–40 per cent casein protein and wheat gluten in 4-month-old rats

Percento	Príjem proteínov	Prírastky hmotnosti	Zmeny telovej vody	Zmeny telového dusíka
kazeín				
0,0	0	-32,8 ± 0,8	-20,0 ± 1,7	-1,02 ± 0,04
2,5	9,2 ± 0,2	-15,6 ± 1,2	-9,5 ± 0,1	-0,48 ± 0,03
5,0	20,7 ± 1,1	6,3 ± 0,5	0,5 ± 0,3	0,14 ± 0,06
7,5	24,6 ± 0,5	15,6 ± 1,0	8,7 ± 0,8	0,53 ± 0,06
10,0	39,8 ± 1,5	27,8 ± 2,1	12,9 ± 0,4	0,70 ± 0,07
15,0	59,0 ± 1,4	36,0 ± 1,9	5,7 ± 0,3	0,86 ± 0,07
20,0	72,6 ± 1,7	27,7 ± 1,7	4,3 ± 0,2	0,67 ± 0,04
25,0	95,9 ± 2,8	15,6 ± 1,4	3,6 ± 0,2	0,45 ± 0,03
30,0	102,2 ± 2,2	11,3 ± 1,2	2,9 ± 0,1	0,36 ± 0,05
40,0	129,2 ± 2,4	-4,5 ± 0,7	-3,6 ± 0,2	0,13 ± 0,05
pšeničný glutén				
0,0	0	-30,0 ± 0,7	-27,0 ± 1,1	-1,55 ± 0,07
2,5	11,8 ± 0,1	-17,5 ± 0,5	-14,8 ± 0,3	-0,79 ± 0,09
5,0	22,1 ± 0,4	-5,8 ± 0,2	-7,4 ± 0,7	-0,28 ± 0,05
7,5	26,9 ± 0,9	4,7 ± 0,1	2,6 ± 0,3	0,17 ± 0,05
10,0	34,4 ± 0,7	14,8 ± 0,2	9,5 ± 0,4	0,53 ± 0,05
15,0	58,6 ± 1,8	25,3 ± 1,4	13,2 ± 0,6	0,83 ± 0,04
20,0	67,1 ± 1,9	23,3 ± 0,5	14,7 ± 0,3	0,94 ± 0,03
25,0	75,5 ± 2,6	22,0 ± 0,6	10,4 ± 0,3	0,76 ± 0,05
30,0	96,6 ± 3,6	21,6 ± 1,2	8,0 ± 0,2	0,71 ± 0,04
40,0	131,6 ± 3,9	21,4 ± 0,9	7,1 ± 0,2	0,63 ± 0,03

V. Rovnice regresných priamiek zo zmien živej hmotnosti (a), zmien telového dusíka (b) a zmien telovej vody (c) v závislosti na príjme bielkovín kazeínu a pšeničného gluténu u štvormesačných krýs; minimálne a optimálne fyziologické denné dávky bielkovín kazeínu a pšeničného gluténu — Equation of regression lines from the changes of live weight (a), body-nitrogen (b) and body water (c) in dependence on the intake of casein protein and wheat gluten protein in 4-month-old rats; minimal and optimal physiological daily rations of the protein of casein and wheat gluten

Závislosť	Rovnice	r	Príjem bielkovín pre nulovú bilanciu		Príjem bielkovín pre optimálne dávky	
			Priemer [mg za deň]	95% interval spoľahlivosti regresnej priamky	Priemer [mg za deň]	95% interval spoľahlivosti regresnej priamky
a — zo zmien hmotnosti a príjmu bielkovín b — zo zmien telového dusíka a príjmu bielko- vín c — zo zmien telovej vody a príjmu bielkovín	kazeín — linearita do 7,5 % bielkovín v diéte (n = 24)					
	$y = 1,9598 x - 33,3507$	0,982	1216	1114—1327	1,75	1,62—1,93
	$y = 0,0612 x - 1,0405$	0,958	1214	1157—1275	1,75	1,68—1,84
	$y = 1,1043 x - 20,1253$	0,937	1302	1192—1418	1,75	1,61—1,92
a — zo zmien hmotnosti a príjmu bielkovín b — zo zmien telového dusíka a príjmu bielkovín c — zo zmien telovej vody a príjmu bielkovín	gluten — linearita do 10 % bielkovín v diéte (n = 30)					
	$y = 1,3065 x - 31,6554$	0,897	1731	1578—1900	2,46	2,25—2,73
	$y = 0,0579 x - 1,4259$	0,913	1760	1641—1890	2,46	2,29—2,66
	$y = 1,0581 x - 27,5600$	0,797	1861	1715—2028	2,46	2,27—2,70

pšeničného gluténu v diéte) a u krýs vo veku 120 až 134 dní 1,75 g na deň (7,5 % bielkovín kazeínu v diéte), resp. 2,46 g na deň (10 % bielkovín gluténu v diéte), zatiaľ udržiavacia dávka napr. zo zmien telového dusíka a príjmu bielkovín kazeínu, resp. pšeničného gluténu je u krýs vo veku 35 až 49 dní 268, resp. 892 mg na deň, u krýs vo veku 75 až 89 dní 970, resp. 1514 mg na deň a u krýs vo veku 120 až 134 dní 1214, resp. 1760 mg na deň. Podobne je to aj s udržiavacími dávkami zo zmien telovej vody a hmotnosti v závislosti na príjme bielkovín u krýs rôzneho veku. Z uvedeného vyplýva, že ani u krýs vo veku 120 až 134 dní nie je ešte udržiavacia dávka bielkovín kazeínu, resp. pšeničného gluténu, rovnaká s ich fyziologickou potrebou. Ak je totiž optimálna dávka bielkovín kazeínu 7,5 %, tak percentuálne vyjadrená udržiavacia dávka je zo zmien telového dusíka 5,17 %, zo zmien telovej vody 5,54 % a zo zmien hmotnosti v závislosti na príjme bielkovín 5,18 % bielkovín kazeínu v diéte. Rovnako je tomu pri bielkovinách pšeničného gluténu len na inej úrovni. Optimálna dávka bielkovín pšeničného gluténu je pri 10 % ich obsahu v diéte, zatiaľ čo udržiavacia dávka je zo zmien telového dusíka 7,15 %, zo zmien telovej vody 7,56 % a zo zmien hmotnosti v závislosti na príjme bielkovín 7,03 % bielkovín gluténu v diéte. V porovnaní s údajmi autorov Hartsook a Mitchell (1956), ktoré preberá NRC (1978) a ktorí určovali potrebu dietného proteínu (kazeínu) na základe depozície živín v karkase, resp. na základe dusíkovej bilancie, sú podľa našich výsledkov pri použití objektívnejšej metódy stúpajúceho obsahu bielkovín v diéte optimálne denné dávky bielkovín kazeínu vyššie pri súčasne nižšom obsahu bielkovín v diéte. Ak totiž podľa Hartsooka a Mitchella (1956) a NRC (1978) na podklade bilančných pokusov vyplýva, že sa obsah bielkovín kazeínu v diéte s vekom krýs znižuje z 28 % u 30dňových krýs (odpovedá to dávke 360 mg dusíka denne, teda 2,25 bielkovín kazeínu — $N \times 6,25$) na 10 % bielkovín u 50dňových krýs (odpovedá to 263 mg dusíka denne a teda 1,64 g bielkovín kazeínu), podľa našich údajov je dávka bielkovín kazeínu u krýs vo veku 35 až 49 dní podstatne vyššia (3,25 g na deň) a obsah bielkovín nižší (15 %). Okrem toho podľa našich výsledkov je pokles optimálnych dávok bielkovín v závislosti na veku podstatne pomalší, ako to udávajú v NRC (1978), čo je podľa našej mienky plne zdôvodnené prudkým rastom pokusných zvierat nielen v období do 50. dňa veku, ale tiež rastom v neskoršom období.

Naviac uvedení autori (Hartsook a Mitchell, 1956) v tej istej práci na podkladoch metabolických štúdií udávajú potrebu bielkovín kazeínu u mladých zvierat (53 dní) 14,04 % v diéte a u dospelých (342 dní) 3,18 %, čo je v určitom rozpore s predchádzajúcimi ich závermi.

Výsledky tejto práce spolu s predchádzajúcimi (Dibák a i., 1984, 1985; Dibák a Krajčovičová, 1985) sú naviac dôkazom toho, že v ontogenéze jedinca nemôže platiť uniformita a teda rovnaký nutričný režim pre pokusné zvieratá bez ohľadu na ich vek a zrejme aj iné fyziologické podmienky, ako to uvádza NRC (1978), keď udáva, že 12 % bielkovín celého vajca, resp. 15,1 % bielkovín kazeínu v diéte je dávka, odpovedajúca ako potrebám rastu, tak potrebám gestácie či laktácie a 4,2 % bielkovín celého vajca alebo 5,3 % bielkovín kazeínu je dávka pre potrebu údržby. Zrejme toto spolu s predchádzajúcimi údajmi je

príčinou jednoznačného konštatovania NRC [1978], že problém závislosti fyziologickej potreby diétnych bielkovín na veku nie je uspokojivo riešený a podľa našich výsledkov hore uvádzané hodnoty potreby bielkovín nezodpovedajú skutočným fyziologickým potrebám. Vo vysokej miere toto platí najmä pre jednotlivé vekové kategórie krýs v období rastu, hoci práve v rastovom období krýs je urobená podstatná väčšina experimentov z najrôznejších oblastí fyziológie.

Nakoniec aj u zvierat vo veku 120 dní o počiatočnej hmotnosti okolo 380 g sa oproti údajom Hegsteda a jeho spolupracovníkov (Saïd a Hagsted, 1969, 1970; Hegsted, 1971, 1973a, b) dokázali lineárny vzťah medzi príjmom bielkovín pšeničného gluténu a zmenami telového dusíka, telovej vody a hmotnosti v rozsahu od 0 do 10 % jeho bielkovín v diéte, ak boli bielkoviny gluténu podávané 14 dní a nie 31 alebo 42 dní, ako to robili spomínaní autori na dospelých krysách o hmotnosti 200 až 220 g, čo bolo podrobené analýze a konfrontácii v predchádzajúcej práci (Dibák a i., 1985).

ZÁVER

U krýs (samcov) vo veku 120 dní boli metódou stúpajúceho obsahu bielkovín kazeínu a pšeničného gluténu od 0 do 40 % v diéte a po 14dennnej aplikácii diét určené zo zmien telového dusíka, telovej vody a hmotnosti v závislosti na príjme bielkovín ich optimálne a udržiavacie fyziologické denné dávky. Pre bielkoviny kazeínu je optimálna dávka u krýs vo veku 120 až 134 dní (v g na deň) 1,75 (7,5 % bielkovín v diéte), pre bielkoviny pšeničného gluténu 2,46 (10 % bielkovín v diéte). Udržiavacie dávky zo zmien hmotnosti, telového dusíka a telovej vody v závislosti na príjme bielkovín u krýs vo veku 120 až 134 dní sú denné dávky pre bielkoviny kazeínu postupne 1216, 1214 a 1302 mg, pre bielkoviny pšeničného gluténu 1731, 1760 a 1861 mg.

Literatúra

- DIBÁK, O. — KRAJČOVIČOVÁ, M. — KOPEC, Z. — GRANČIČOVÁ, E.: Physiological casein and gluten protein requirements of growing rats. *Physiol. bohemoslov.*, 33, 1984, č. 4, s. 320—335.
- DIBÁK, O. — KRAJČOVIČOVÁ, M.: Určenie fyziologickej potreby bielkovín u rastúcich potkanov. *Bratisl. lek. Listy*, 84, 1985, č. 2, s. 193—208.
- DIBÁK, O. — KRAJČOVIČOVÁ, M. — GRANČIČOVÁ, E. — KOPEC, Z.: Determination of physiological casein and wheat gluten protein requirements of adult rats aged 75—89 days. *Physiol. bohemoslov.*, 34, 1985, č. 2, s. 161—171.
- HARTSOOK, E. W. — MITCHELL, H. H.: The effect of age on the protein and methionine requirements of the rat. *J. Nutr.*, 60, 1956, s. 173—195.
- HEGSTED, D. M.: Protein and amino acid requirements in man. In: LANG, K. — FEKL, W. — BERG, G. (Ed.): *Balanced nutrition and therapy*. Stuttgart, Georg Thieme Verlag 1971, s. 12—21.
- HEGSTED, D. M.: Protein and amino acids. In: JONXIS, J. H. P. — VISSER, H. K. A. — TROELSTRA, J. A. (Ed.): *Therapeutic aspects of nutrition*. Leiden, H. E. Stenferd Kroese B. V., 1973a, s. 65—80.
- HEGSTED, D. M.: The amino acid requirements of rats and human beings. In: PORTER, J. W. G. — ROLLS, B. A. (Ed.): *Protein in human nutrition*. London and New York, Academic Press 1973b, s. 275—291.
- HENRY, K. M.: A comparison of biological methods with rats for determining the nutritive value of proteins. *Brit. J. Nutr.*, 19, 1965, s. 123—135.

National Research Council (NRC): Nutrient requirement of laboratory animals. Washington, National Academy of Sciences 1978, 79 s.
 PRÍBELA, A.: Analýza prírodných látok v požívatinách. Bratislava, Alfa 1978, 430 s.
 SAID, A. K. — HEGSTED, D. M.: Evaluation of dietary protein quality in adult rats. J. Nutr., 99, 1969, s. 474—480.
 SAID, A. K. — HEGSTED, D. M.: Response of adult rats to low dietary levels of essential amino acids. J. Nutr., 100, 1970, s. 1363—1376.
 SPACKMAN, D. H. — STEIN, W. H. — MOORE, S.: Automatic recording apparatus for use in the chromatography of amino acids. Anal. Chem., 30, 1958, s. 1190—1206.
 VONDENHOF, T. — SCHULTE, K.: Die Bestimmung des Stickstoffs bei Fleischerzeugnissen nach dem Kjeldahl — und dem Dumas — Verfahren. Dtsch. Lebensm. — Rdsch., 75, 1979, s. 187—189.

Došlo dňa 6. 9. 1989

ДИБАК, О. — КРАЙЧОВИЧОВА-КУДЛАЧКОВА, М. (Научно-исследовательский институт питания народа, Братислава): Физиологическая норма белков казеина и пшеничного глютена у четырехмесячных крыс. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (11): 695—704.

Источники этих белков анализировали на содержание белков, жиров, сахаридов, воды и аминокислот. Определили химическое содержание аминокислот и соотношение между эссенциальными и неэссенциальными аминокислотами (Э/Н). У 120-дневных самцов определяли по методу возрастающего процента белкового казеина и пшеничного глютена от 0 до 40 % в диете и после 14-дневной дачи диет на базе изменений телесного азота и телесной воды, как и веса в зависимости от усвоения их оптимальны и поддерживающие физиологически суточные норм. Для белков казеина оптимальна суточная доза 1,75 г (7,5 % белков в диете) у 120—134-дневных крыс, а для белков глютена 2,46 г (10 % белка в диете). Поддерживающие дозы, выведенные из изменений веса и телесных азота и воды, являются у казеина поочередно 1216 мг, 1214 мг и 1302 мг, а у глютена 1731 мг, 1716 мг и 1861 мг.

четырёхмесячные крысы; белки казеина; белки пшеничного глютена; физиологическая норма

DIBÁK, O. — KRAJČOVIČOVÁ-KUDLÁČKOVÁ, M. (Research Institute of Human Nutrition, Bratislava): *Physiological requirement for caseine protein and wheat gluten in 4-month-old rats*. Veter. Med. (Praha), 35, 1990 (11): 695—704.

Sources of caseine protein and wheat gluten were analysed for the content of proteins, fats, saccharides, water and amino acids. The chemical score of the amino acids and the ratio of essential and non-essential amino acids (E/N) were determined. In rats (males) at the age of 120 days, given the diets for 14 days, the optimal and maintenance physiological daily rations were determined from the changes of body nitrogen, body water and weight dependent on the protein intake, using the method of increasing caseine protein and wheat gluten content from 0 to 40 per cent in the diet. In 120—134-day-old rats, the optimal daily dose was 1.75 g of caseine protein (7.5 per cent of all proteins in the diet) and 2.46 g of wheat gluten protein (10 per cent of all proteins in the diet). As to the maintenance rations determined from the weight changes, body nitrogen and body water in dependence on the protein intake, in these rats the successive daily rations were 1216 mg, 1214 mg and 1302 mg for the caseine protein, and 1731 mg, 1760 mg and 1861 mg for the wheal gluten protein.

4-month-old rats; caseine protein; wheat gluten protein; physiological requirement

Adresa autorů:

MUDr. Otokar Dibák, CSc., ing. Mária Krajčovičová-Kudláčková, CSc.,
 Výskumný ústav výživy ľudu, nám. 4. apríla 7, 812 30 Bratislava

CONTENTS

Lazár L., Elečko J., Maraček I.: The effect steroid dominance on concentration cAMP, cGMP, progesterone and 17-beta-estradiol in the fluid of the largest follicle	646
Slanina L., Slivka P., Struháriková J.: Transmammary transfer of nitrates and nitrites in ruminants and the level of methaemoglobinaemia in the blood of the young and their mothers	655
Legáth J., Kačmár P., Tomáš J.: Changes of amino acid concentrations i bacteria adhering to the rumen epithelium in sheep given extremely low oral doses of mercury	664
Ježková D., Pleskač Z., Smrčková M., Knotková Z.: Changes of free amino acids'concentration in the blood plasma in sows during parturition and in piglets being born	677
Kudweis M., Juliš I., Lojda Z., Vítovec J., Koudela B.: Densitometrical analysis of the aminopeptidase M activity in the small intestine mucosa of piglets experimentally infected by <i>Isospora suis</i> coccidia	693
Dibák O., Krajčovičová-Kudláčková M.: Physiological requirement for casein protein and wheat gluten in 4-month-old rats	704

INHALT

Lazár L., Elečko J., Maraček I.: Einfluss der steroiden Dominanz auf die Konzentration von cAMP, cGMP, Progesteron und 17 Beta-Östradiol in der Flüssigkeit des grössten Follikels	646
Slanina L., Slivka P., Struháriková J.: Durchdringen von Nitraten und Nitriten bei Wiederkäuern durch ihre Milchdrüse und Niveau der Methämoglobinämie im Blut der Jungtiere und deren Mütter	655
Legáth J., Kačmár P., Tomáš J.: Änderung der Konzentration von Aminosäuren in den auf das Pansenepithel der Schafe nach der peroralen Belastung des Organismus durch extrem niedrige Quecksilbergaben adherierten Bakterien	665
Ježková D., Pleskač Z., Smrčková M., Knotková Z.: Änderungen der Konzentrationen der freien Aminosäuren im Blutplasma bei Sauen bei der Geburt und bei Ferkeln während der Geburt	677
Kudweis M., Juliš I., Lojda Z., Vítovec J., Koudela B.: Densitometrische Analyse der Aktivität der Aminopeptidase M auf der Dünndarmschleimhaut der experimentell mit der Kokzidie <i>Isospora suis</i> infizierten Ferkel	694
Dibák O., Krajčovičová-Kudláčková M.: Physiologischer Bedarf an Eiweisstoffen des Kaseins und des Weizenglutens bei viermonatigen Ratten (E) .	704

Rukopisy odevzdány k tisku 15. 11. 1990 — Podepsáno k tisku 13. 3. 1991

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Československá akademie zemědělská — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Zdeňka Radošová • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 25 75 41 • Vytiskly OSTRAVSKÉ TISKÁRNĚ, s. p., Ostrava 1, Novinářská 7 © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1990

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.