

VĚDECKÝ ČASOPIS



VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

7

ROČNÍK 37 (LXV)
PRAHA
ČERVENEC 1992
CS ISSN 0375-8427

AKADEMIE ZEMĚDĚLSKÝCH VĚD ČSFR
ÚSTAV VĚDECKOTECHNICKÝCH INFORMACÍ
PRO ZEMĚDĚLSTVÍ

Řídí redakční rada: prof. MVDr. Karel Hruška, CSc. (předseda), prof. MVDr. Jan Bouda, DrSc., prof. MVDr. Bohumír Hofírek, DrSc., doc. MVDr. Gabriel Kováč, DrSc., doc. MVDr. Imrich Maraček, CSc., MVDr. Zdeněk Pospíšil, CSc., doc. MVDr. Ivan Rosíval, CSc., prof. MVDr. Bohumil Ševčík, DrSc.

Vedoucí redaktorka ing. Zdeňka Radošová

OBSAH

Holý L., Vaňatka F., Lopatářová M.: Sestup vajíček a embryí u krav superovulovaných sérovým gonadotropinem	353
Brouček J., Gajdošík D., Letkovičová M., Kovalčík K.: Působení nadměrného ultrafialového žiření na sodík, draslík, vápník a aldosteron v plazmě teliat	365
Nitray J., Sirotkin A. V., Poltársky J.: Produkcia progesterónu a testosterónu bunkami granulózy vaječníkov ošípaných po aplikácii nonapeptidových hormónov <i>in vitro</i>	371
Raszyk J., Dočekalová H., Rubeš J., Navrátil S., Mašek J., Rodák L.: Experimentální chronická intoxikace prasat fenylmerkuriidem	379
Bekeová E., Krajničáková M., Hendrichovský V., Maraček I.: Účinek opakované aplikace karbetocinu (Depotocin, Spofa) v prvních dnech po pôrode na koncentrácie tyroxínu, trijódtyronínu, 17 beta-estradiolu, progesterónu a na koncepciu bahníc	393
Toporčák J., Legáth J., Kuřková J.: Koncentrácia ortute vo vzorkách včiel a medu, pochádzajúcich z priemyselne exponovanej a neexponovanej oblasti	405

CONTENTS

Holý L., Vaňatka F., Lopatářová M.: Descent of ova and embryos in cows superovulated with serum gonadotropin	364
Brouček J., Gajdošík D., Letkovičová M., Kovalčík K.: Effect of ultraviolet irradiation overdosage on sodium, potassium, calcium and aldosterone in plasma of calves	369
Nitray J., Sirotkin A. V., Poltársky J.: Progesterone and testosterone production in granulosa cells of sow ovaries after <i>in vitro</i> nonapeptide hormone administration	376
Raszyk J., Dočekalová H., Rubeš J., Navrátil S., Mašek J., Rodák L.: Experimental chronic phenylmercury chloride intoxication in pigs	390
Bekeová E., Krajničáková M., Hendrichovský V., Maraček I.: Effect of repeated application of carbetocin (Depotocin, Spofa) during first postparturient days on concentrations of hydroxine, triiodothyronine, 17 beta-estradiol, progesterone and conception of ewes	403
Toporčák J., Legáth J., Kuřková J.: Mercury levels in bee and honey samples from industrially contaminated and uncontaminated areas	411

SESTUP VAJÍČEK A EMBRYÍ U KRAV SUPEROVULOVANÝCH SÉROVÝM GONADOTROPINEM

L. Holý, F. Vaňatka, M. Lopatářová

HOLÝ, L. — VAŇATKA, F. — LOPATÁŘOVÁ, M. [Vysoká škola veterinární, Brno]: *Sestup vajíček a embryí u krav superovulovaných sérovým gonadotropinem*. Veter. Med. [Praha], 37, 1992 (7): 353—364.

Byl studován sestup a lokalizace vajíček a embryí v jednotlivých segmentech pohlavního ústrojí superovulovaných krav. K indukci superovulace byl použit sérový gonadotropin (PMSG, Ivanovice na Hané) v dávce od 2500 do 3500 M. J. (I. U.) v kombinaci s 500 μ g cloprostenolu (Oestrophan, Spofa), podaným za 48 h po aplikaci gonadotropinu. Start superovulace připadal na D₉₋₁₂ pohlavního cyklu a byl podmíněn existencí žlutého tělíska (ŽT). Po nástupu říje byly provedeny 2—3 inseminace čerstvým semenem. Dárkyně byly poráženy za 3, 4, 5, 6 a 7 dní po II. inseminaci a izolované pohlavní orgány (obr. 1) byly přiloženou ligaturou rozděleny do 5 segmentů (2 na vejcovodech a 3 na děložních rozcích). V laboratorních podmínkách byla přesně odečtena superovulační reakce, zjištěn objem vaječníků podle výtlačku vody a jednotlivé segmenty vejcovodů a dělohy byly propláchnuty TCM 199 nebo PBS s přídatkem FCS. Za 3, 4, 5, 6 a 7 dní po inseminaci (tab. I) bylo na ovariích zaznamenáno v průměru 18,1 ($\pm 3,55$), 12,4 ($\pm 0,91$), 19,2 ($\pm 2,86$), 20 a 23 ($\pm 2,44$ ŽT, což odpovídalo ovulaci 64, 50, 56, 71 a 72 % stimulovaných folikulů (obr. 2). Od 3 do 7 dnů po inseminaci došlo také téměř k trojnásobnému zvětšení vaječníků (tab. I, obr. 3). Při laváži jednotlivých segmentů tubulárního pohlavního ústrojí bylo 38 % vajíček a embryí nalezeno v děloze již za 3 dny po inseminaci (tab. II). Neoplozená vajíčka a degenerovaná embrya se nacházela ve 2. a 3. děložním segmentu, embrya ve stadiu 8—16 blastomer byla lokalizována v 1. a 2. segmentu uteru. Za 4 dny po inseminaci (tab. III) bylo v děloze nalezeno kolem 64 % vajíček a embryí ve stadiu do 16 blastomer, avšak embrya do 32 blastomer byla ještě vyplavována z vejcovodu. V 5. dnu po inseminaci přestoupilo do dělohy 92 % vajíček a embryí, která byla lokalizována převážně v kraniální a střední části uteru (tab. IV). 7,5 % vyplavených vajíček a embryí ve stadiu časných nebo kompaktizovaných morul bylo ještě zjištěno ve vejcovodech. V 6. dnu po inseminaci (tab. V) byla v děloze sestouplá všechna vajíčka, ale v 7. dnu po inseminaci bylo z vejcovodu ještě vyplaveno 1,6 % embryí ve stadiu 16 blastomer. 65 % nalezených vajíček a embryí bylo shledáno v přední, 23 % ve střední a téměř 10 % v kaudální třetině dělohy. To znamená, že v době běžného odběru embryí v D₇ superovulačního cyklu, je více než 11 % vajíček a embryí výplachem nedostupných. Pozoruhodný byl též nález volných zón pellucid, který se ve výplašku objevil již od 3. dne po inseminaci. Volné blastocysty však v této době nebyly registrovány. Nález relativně pokročilých vývojových stadií embryí a volných zón v děloze již za 3 dny po inseminaci může z části souviset s velmi časnou ovulací vyvinutých (dominantních) folikulů vyvolanou luteinizační frakcí PMSG, ale především je důsledkem urychleného sestupu vajíček a embryí podmíněného změnami ovariálních

kráva; superovulace; sérový gonadotropin; vajíčka; embrya; sestup embryí; transfer embryí

Za přirozených podmínek vstupuje oplozené vajíčko do dělohy u většího zvířat za 50—98 h po ovulaci (Hamilton a Day, 1945; Schilling, 1959; Winterberger-Torres, 1967; Hafez, 1980, 1987; Holý, 1987 a další). U skotu se oplozené vajíčko, resp. rané embryo zdržuje ve vejcovodu déle než 90 hodin.

Rychlost transtubárního sestupu se však v jednotlivých segmentech vejcovodu mění tak, aby embryo vstoupilo do dělohy v optimální fázi pohlavního cyklu. Transtubární pasáž je kontrolována komplexem důležitých vztahů k nimž patří: 1. frekvence, intenzita a programace kontrakcí svaloviny oviduktu a příslušných ligament závislých na endokrinních a nervových mechanismech; 2. směr a rychlost proudu a protiproudu luminárních tekutin, směr a rychlost činnosti kinocilií; 3. sekreční aktivita neřasinkových endosalpingeálních buněk; 4. hydrodynamické a rheologické vlastnosti luminárních tekutin v době transportu vajíčka (Hafez, 1987).

Tento funkční komplex však podléhá v průběhu cyklu výrazným změnám, které jsou modulovány kvantitativními a kvalitativními výkyvy steroidních ovariálních hormonů.

Po ruptuře folikulu je vajíčko z ovulačního stigmatu a jeho okolí odbíráno aktivní činností fimbrií, které se s vaječným dostávají do kontaktu a po rychlé pasáži ampulární části je zadrženo v ampulárně-isthmickém segmentu, kde dochází k oplození. Toto pozdržení sestupu je pravděpodobně výsledkem lokální sfinkterické kontrakce oviduktu zprostředkované adrenergní inervací cirkulární svaloviny (alfa receptory) oviduktu (Charkoff a Pauerstein, 1975). Je ovlivňováno ovariálními steroidy a u králice trvá asi do 36 h po koitu, kdy je většina vajíček ve vejcovodu zadržována. Posléze se kontrakce uvolňuje jako důsledek funkce beta androreceptorů (Bodkhe a Harper, 1972) a do 72 h většina vajíček vstupuje do uteru (Aref a Hafez, 1973).

Při sestupu vajíčka, resp. embrya je velmi výrazná též činnost cílů a dále proud, resp. protiproud luminárních tekutin, který hormonálně podmíněnou kontrakcí nebo relaxací může descensus vajíčka urychlit nebo zpomalit.

Vzhledem k tomu, že v podmínkách superovulace se hormonální stav a funkce vaječníků mění, dá se předpokládat, že se tak změní i funkce vejcovodů, a tím i rychlost sestupu vajíček, resp. embryí.

Sledování rychlosti sestupu vajíček a embryí bylo též předmětem této práce prováděné u superovulovaných krav.

MATERIÁL A METODY

K pokusům bylo použito 36 prvoteků (křížanky červenostrakatého skotu se skotem nížinným na různých úrovních) vyřazených z chovu pro nízkou užitkovost, u nichž byla funkce pohlavní činnosti plně zachována a na pohlavních orgánech nebyly zjištěny klinické změny.

K superovulaci byl použit PMSG, většinou domácí proveniencí (Bioveta, Ivanovice na Hané) v dávce od 2500—3500 mezinárodních jednotek (M.J.) i.m. v kombinaci s 500 µg cloprostenolu (Oestrophan, Spofa) aplikovanými za 48 h po úvodní superovulační injekci gonadotropinu.

Začátek superovulační stimulace, podmíněný existencí výrazného žlutého tělíska, spadal do středu cyklu (D₉—D₁₂) a v superovulační říji, která nastupovala asi za 48 až 56 h po aplikaci luteolytika, byly krávy dvakrát až třikrát inseminovány čerstvým semenem v intervalu 12—14 hodin.

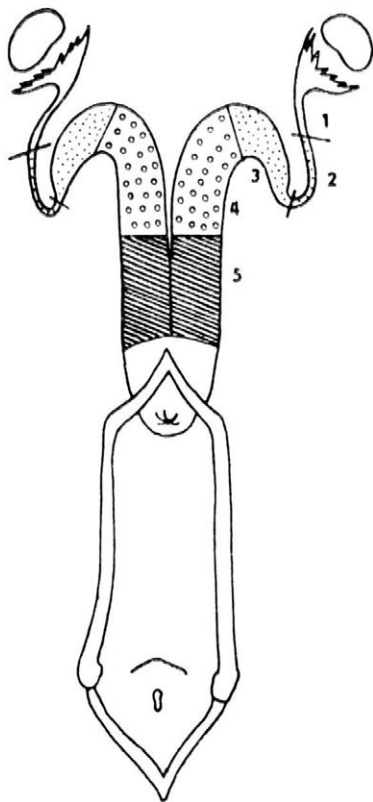
Jednotlivé skupiny dárkyň (I—V) byly poráženy za 3, 4, 5, 6 a 7 dní (D₃—D₇) po inseminaci. Bezprostředně po porážce byly pohlavní orgány izolovány a na místě byl celý uterotubární trakt za pomoci pevných ligatur rozdělen do pěti segmentů (obr. 1).

Vejcovody byly rozděleny na část ampulární a isthmickou a děložní rohy na segment kraniální, střední a kaudální.

Takto připravené pohlavní orgány byly během 5 min přeneseny do laboratoře k dalšímu zpracování.

V laboratorních podmínkách byla přesně určena míra superovulace na základě počtu žlutých tělísek a neovulovaných folikulů a podle výtoku vody byl zjištěn objem vaječníků v ml. Po izolaci vejcovodů byla provedena laváž obou salpingeálních částí s následným výplachem jednotlivých děložních segmentů. Jednotlivé segmenty pohlavního ústrojí byly vypláchnuty 20 ml média (TCM 199 nebo PBS s přísadkou fetálního séra) a izolovaně byly na Petriho miskách podrobeny stereoskopickému vyšetření na šrafovaném podkladě při zvětšení 16—25krát.

Získaná embrya a vajíčka byla hodnocena podle kritérií určujících míru oplozenosti, vývoje a morfologie ve vztahu k fázi cyklu a jednotlivým segmentům pohlavního aparátu.



1. Schéma výplachu vejcovodů a děložních rohů podle jednotlivých segmentů — Diagramme of oviduct and uterine horn flushings in the particular segments

VÝSLEDKY

Ve skupině I bylo za 3 dny po inseminaci odporaženo 9 superovulovaných zvířat s průměrným počtem 18,1 ($\pm 3,55$) ovulací, resp. žlutých tělísek (ŽT) na dárkyni 8,5 ($\pm 1,87$) na levém a 9,5 ($\pm 1,81$) na pra-

vém vaječníku a 10,3 ($\pm 1,73$) neovulovaných folikulů. Objem levých a pravých vaječníků v této době dosahoval v průměru 20,4 ($\pm 2,50$) a 20,3 ($\pm 2,45$) ml — tab. I.

Za 4 dny po inseminaci (skupina II) bylo odporaženo 8 superovulovaných prvotetek s průměrným počtem 12,4 ($\pm 0,91$) ŽT (5,5 na levém a 6,9 na pravém vaječníku) a 12,2 ($\pm 1,83$) neovulovanými folikuly. Průměrný objem levého a pravého ovaria dosáhl 14 ($\pm 1,31$), resp. 30,6 ($\pm 2,87$) ml.

Ve skupině III bylo za 5 dní po inseminaci (tab. I) odporaženo 5 superovulovaných krav s celkovým počtem 19,2 ($\pm 2,86$) ovulací, resp. ŽT (9 na levém a 10,2 na pravém ovariu) a 15,2 ($\pm 1,78$) neovulovanými folikuly. Objem vaječníků dosahoval v průměru 31,9 ($\pm 1,30$) ml na levé straně a 48,2 ($\pm 1,92$) na pravé straně].

Za 6 dní po superovulační inseminaci byly odporaženy jen 2 prvotelky s průměrným počtem 20 ovulací, resp. ŽT, (11,5 na levém a 8,5 na pravém ovariu) a 8 ($\pm 1,41$) folikuly. Vaječníky dosáhly objemu 42,5 ($\pm 6,36$) na levé a 36,0 ($\pm 1,41$) na pravé straně.

Konečně v D_7 postsuperovulační inseminace byla odporažena skupina 12 superovulovaných prvotetek. V průměru bylo zjištěno na dárkyni 23,2 ($\pm 2,44$) ŽT (11,2 na levém a 12 na pravém vaječníku) a 9 ($\pm 2,45$) neovulovaných folikulů. Vaječníky (tab. I) v průměru dosahovaly objem 51,0 ($\pm 3,16$) — levý a 63,4 ($\pm 3,50$) — pravý.

Z tab. I a obr. 2 vyplývá, že efektivita ovulace kolísala od 50 do 72 %. Ve skupině zvířat poražených v D_3 po inseminaci ovulovalo 63,7 % stimulovaných folikulů, u zvířat poražených v D_4 a D_5 50,2 a 55,8 % a u prvotetek odporažených v D_6 a D_7 71,4 a 72,0 %.

Z tab. I je též patrný rychlý růst objemu obou vaječníků znázorněný na obr. 3, který z výchozí velikosti 40 ml ve třetím postinseminálním dnu vzrostl v D_7 na 114 ml, tj. asi 2,8krát, resp. o 280 %. Tento rychlý růst vaječníků lze připsat především intenzivnímu růstu žlutých tělísek, který je pro stimulaci ovarii PMSG typický (Holý, 1987).

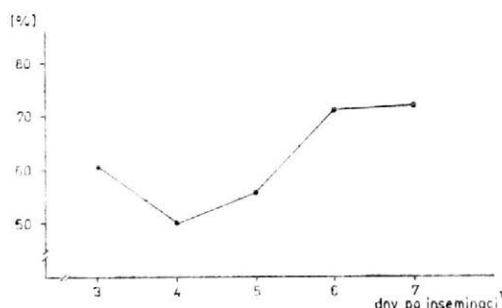
Při sledování sestupu vajíček a embryí jsme ve skupině zvířat odporažených za 3 dny po inseminaci (tj. za 72 h) získali ze 163 žlutých tělísek 95 vajíček a embryí, tj. 58,3 %. Z nich bylo 62,1 % (tab. II) nalezeno ve vejcovodu, zatímco zbývajících 37,9 % již prošlo uterotubárním segmentem do dělohy. Asi 21 % vajíček a embryí bylo nalezeno v prvním děložním segmentu, 14,7 % ve druhém a 2,1 % ve třetím, tj. v kaudální třetině děložního rohu. Z celkového počtu zjištěných vajíček a embryí bylo 22,1 % neoplozených, z nichž velká část byla nalezena v předním a středním děložním segmentu. Zde byla též zjišťována embrya o počtu do 8—16 blastomer. Zajímavé bylo, že pokročilejší vývojová stadia (8—16 blastomer) byla v této době nalézána v předním děložním segmentu, kde byl zaznamenán i nález volných zón.

U II. skupiny krav poražených za 4 dny po inseminaci, tj. za 96 h, bylo z celkového počtu 99 ovulací získáno 61 (tab. III), tj. 61,6 % vajíček a embryí. Z nich bylo z vejcovodů vyplaveno ještě 36,1 %, zatímco v prvním a druhém děložním segmentu jich bylo zjištěno 36,1 %, resp. 27,9 %. V posledním děložním segmentu nebyla vajíčka a embrya nalezena vůbec. V těchto fázích postsuperovulačního cyklu vyvolává znovu pozornost nález volných zón jak ve vejcovodu, tak i v děloze, stejně jako nález časných morul (do 16 blastomer) až ve středním děložním segmentu.

I. Průměrné počty žlutých tělísek a folikulů ve vztahu k objemu ovárií u superovulovaných dárkyň (D) sérovým gonadotropinem 3.—7. den po inseminaci — Average numbers of corpora lutea and follicles in relation to ovary volumes in donors (D) superovulated with serum gonadotropin on days 3 to 7 after insemination

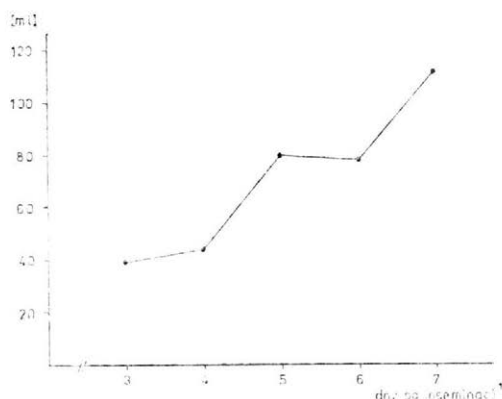
Dny po inseminaci ¹	Počet zvířat ²	Počet žlutých tělísek ³			Počet folikulů ⁴			Objem vaječníků [ml] ⁵	
		celkem ⁶ na D/S ±	levý vaječník ⁷	pravý vaječník ⁸	celkem ⁶ na D/S ±	levý vaječník ⁷	pravý vaječník ⁸	levý ⁹	pravý ¹⁰
			celkem ⁶ na D/S ±	celkem ⁶ na D/S ±		celkem ⁶ na D/S ±	celkem ⁶ na D/S ±		
3	9	163 18,11/3,55	77 8,55/1,88	86 9,55/1,81	93 10,33/1,73	58 6,44/1,13	35 3,88/0,78	20,44/2,50	20,33/2,45
4	8	99 12,37/0,91	44 5,50/0,92	55 6,87/1,12	98 12,25/1,83	45 5,62/1,30	53 6,62/1,19	14,00/1,31	30,62/2,87
5	5	96 19,20/2,86	45 9,00/1,58	51 10,20/1,30	76 15,20/1,79	30 6,00/1,58	46 9,20/1,92	31,80/1,30	48,20/1,92
6	2	40 20,00/0	23 11,50/0,71	17 8,50/0,71	16 8,00/1,41	4 2,00/0	12 6,00/1,41	42,50/6,36	36,00/1,41
7	12	278 23,16/2,44	134 11,16/1,58	144 12,00/1,54	108 9,00/2,45	53 4,41/1,44	55 4,58/1,24	51,00/3,16	63,41/3,50

¹days after insemination, ²number of animals, ³number of corpora lutea, ⁴number of follicles, ⁵ovary volume [ml], ⁶total, ⁷left ovary, ⁸right ovary, ⁹left, ¹⁰right



2. Průměrné procento ovulací, resp. ŽT, z celkového počtu stimulovaných folikulů po superovulaci sérovým gonadotropinem u skotu — The average percent of ovulations, or of corpora lutea in the total number of stimulated follicles after serum gonadotropin superovulation in cows

¹days after insemination



3. Dynamika růstu průměrného objemu vaječnickových párů (ml) po stimulaci prvotek PMSG — Growth dynamics of the average volume of ovary pairs (ml) after PMSG stimulation in first-calvers

¹days after insemination

II. Zisk vajíček a embryí a jejich lokalizace v pohlavním ústrojí superovulovaných krav odporažených 3. den po inseminaci — Egg and embryo recovery and their localization in the reproductive tract of superovulated cows slaughtered on day 3 after insemination

	Neoplo- zená vajíčka ⁶	Oplozená a dege- nerovaná embrya ⁷	Volná zona pellucida ⁸	Embrya do 8 blasto- mer ⁹	Embrya 8—16 blasto- mer ¹⁰	Celkový počet vajíček a embryí ⁵	Procento z naleze- ných vajíček a embryí ¹¹
Vejcovod ¹	8	0	0	43	8	59	62,10
I. děložní segment ²	3	0	2	0	15	20	21,05
II. děložní segment ³	10	1	0	3	0	14	14,74
III. děložní segment ⁴	0	2	0	0	0	2	2,10
Celkový počet vajíček a embryí ⁵	21	3	2	46	23	95	100,00

¹oviduct, ²1st uterine segment, ³2nd uterine segment, ⁴3rd uterine segment, ⁵total number of eggs and embryos, ⁶unfertilized eggs, ⁷fertilized and degenerated embryos, ⁸free zona pellucida, ⁹embryos up to 8 blastomeres, ¹⁰embryos with 8—16 blastomeres, ¹¹percent of detected eggs and embryos

III. Zisk vajíček a embryí a jejich lokalizace v pohlavním ústrojí superovulovaných krav odporažených 4. den po inseminaci — Egg and embryo recovery and their localization in the reproductive tract of superovulated cows slaughtered on day 4 after insemination

	Neoplo- zená va- jíčka ⁶	Oplo- zená a degene- rovaná embrya ⁷	Volná zona pellu- cida ⁸	Embrya do 16 blasto- mer ⁹	Embrya od 16 do 32 blasto- mer ¹⁰	Kom- paktní moru- ly ¹¹	Celkový počet vajíček a embryí ⁵	Pro- cento z naleze- ných vajíček a embryí ¹²
Vejcovod ¹	0	1	1	16	4	0	22	36,06
I. děložní segment ²	1	0	3	17	0	1	22	36,06
II. děložní segment ³	0	2	1	14	0	0	17	27,87
III. děložní segment ⁴	0	0	0	0	0	0	0	0
Celkový počet vajíček a embryí ⁵	1	3	5	47	4	1	61	100,00

For 1—8 see Tab. II; ⁹embryos up to 16 blastomeres, ¹⁰embryos from 16 to 32 blastomeres, ¹¹compact morulas, ¹²percent of detected eggs and embryos

U superovulovaných krav poražených za 5 dní po inseminaci (skupina III) bylo z celkového počtu 96 zjištěných ŽT (tab. IV) nalezeno 67 (69,8 procenta) vajíček a embryí. Z nich 74,6 % bylo získáno z předního děložního segmentu, 13,4 % ze středního a 4,5 % připadlo na kaudální část uteru. Ve vejcovodu však bylo ještě nalezeno 7,5 % embryí, která odpovídala časným a pozdním morulám. Ve druhé a třetí děložní části byla nalezena jen vajíčka neoplozená.

V šestém dnu po inseminaci (skupina IV) bylo ze 40 ŽT získáno 31 embryí a vajíček, tj. 77,5 %. Ovidukt byl v této době vajíček prostý a většina vajíček a embryí (74,2 %) byla nalezena v prvním děložním segmentu (tab. V). Zbývajících 25,8 % bylo vyplaveno ze druhé a třetí děložní části.

Nakonec byla velmi podrobně šetřena skupina superovulovaných krav poražených za 7 dní po inseminaci, tj. v době, kdy se provádí klasický odběr embryí pro realizaci transferu v praxi.

Ze skupiny 12 odporažených superovulovaných zvířat a 278 ovulací (tab. I a VI) byla efektivita nálezů vajíček a embryí 66,5 % a ze 185 získaných zárodků bylo ještě 1,6 % časných morul nalezeno v oviduktu. Zbývajících 65,4 % vajíček a embryí bylo nalezeno v přední třetině děložního rohu, 23,2 % ve středním segmentu a 9,7 % v zadním. Znamená to tedy, že asi kolem 11 % embryí a vajíček bylo výplachem nedosažitelných, protože se buď nacházela ve vejcovodu, nebo v kaudální části uteru, tj. kaudálně za vzduchovým fixačním balónkem Foleyova katetru.

IV. Získ embryí a vajíček a jejich lokalizace v pohlavním ústrojí superovulovaných krav odporažených 5. den po inseminaci — Embryo and egg recovery and their localization in the reproductive tract of superovulated cows slaughtered on day 5 after insemination

	Neoplo- zená vajíčka ⁶	Oplozená a dege- nerovaná embrya ⁷	Volná zona pellucida ⁸	Embrya do 16 blasto- mer ⁹	Kom- paktní moruly ¹⁰	Celkový počet vajíček a embryí ⁵	Procento z naleze- ných vajíček a embryí ¹¹
Vejcovod ¹	0	0	0	2	3	5	7,46
I. děložní segment ²	24	9	2	9	6	50	74,63
II. děložní segment ³	9	0	0	0	0	9	13,43
III. děložní segment ⁴	3	0	0	0	0	3	4,48
Celkový počet vajíček a embryí ⁵	36	9	2	11	9	67	100,00

For 1—8 see Tab. II; ⁹embryos up to 16 blastomeres, ¹⁰compact morulas, ¹¹percent of detected eggs and embryos

V. Získ embryí a vajíček a jejich lokalizace v pohlavním ústrojí superovulovaných krav odporažených 6. den po inseminaci — Embryo and eggs recovery and their localization in the reproductive tract of superovulated cows slaughtered on day 6 after insemination

	Neoplo- zená vajíčka ⁶	Oplozená a dege- nerovaná embrya ⁷	Volná zona pellucida ⁸	Embrya do 16 blasto- mer ⁹	Kom- paktní moruly ¹⁰	Celkový počet vajíček a embryí ⁵	Procento z naleze- ných vajíček a embryí ¹¹
Vejcovod ¹	0	0	0	0	0	0	0
I. děložní segment ²	5	9	0	2	7	23	74,19
II. děložní segment ³	1	0	0	0	3	4	12,90
III. děložní segment ⁴	1	0	0	0	3	4	12,90
Celkový počet vajíček a embryí ⁵	7	9	0	2	13	31	100,00

For 1—11 see Tab. IV

VI. Zisk embryí a vajíček a jejich lokalizace v pohlavním ústrojí superovulovaných krav odporažených 7. den po inseminaci — Embryo and egg recovery and their localization in the reproductive tract of superovulated cows slaughtered on day 7 after insemination

	Neoplo- zená va- jíčka ⁶	Oplo- zená a degene- rovaná embrya ⁷	Volná zona pellu- cida ⁸	Embrya do 16 blasto- mer ⁹	Kom- paktní moru- ly ¹⁰	Blasto- cysty ¹¹	Celkový počet vajíček a embryí ⁵	Procen- to z na- leze- ných vajíček a embryí ¹²
Vejcovod ¹	0	0	0	3	0	0	3	1,62
I. děložní segment ²	21	22	0	5	49	24	121	65,40
II. děložní segment ³	12	7	1	3	13	7	43	23,24
III. děložní segment ⁴	1	2	0	0	13	2	18	9,73
Celkový počet vajíček a embryí ⁵	34	31	1	11	75	33	185	100,00

For 1—10 see Tab. IV; ¹¹blastocysts, ¹²percent of detected eggs and embryos

DISKUSE A ZÁVĚR

Dynamika sestupu vajíček a embryí ve vejcovodech a děloze krav superovulovaných sérovým gonadotropinem v kombinaci s luteolytiky byla sledována od 3. do 7. dne po inseminaci dárkyň. Pozornost byla zaměřena především na distribuci vajíček a embryí v D₇, tj. v době odběru embryí při realizaci vlastního transferu v praxi.

Vzhledem k tomu, že jsme přesně neurčovali období ovulace, které trvá několik hodin (Greve a Callesen, 1989), vycházeli jsme z momentu druhé a třetí inseminace za předpokladu, že LH pík probíhá asi za 40—45 h po podání luteolytik a období ovulace následuje za dalších 24 až 27 h, tj. za 64—70 h po aplikaci prostaglandinů (Gallesen aj., 1986; Greve a Callesen, 1989).

U 36 pokusných superovulovaných prvotetek jsme na ovarích našli celkem 676 ŽT a ve výplaších jednotlivých segmentů tubulárních orgánů 439 vajíček a embryí, cožž v průměru odpovídá 65% efektivitě zisku. Tato nižší úroveň výtěžnosti může být jednak důsledkem ztrát vajíček a embryí při technice segmentálních výplašků. Je však třeba počítat i s jinými možnostmi redukce počtu embryí a vajíček, jak na ně např. upozorňují Elsdén a Betteridge (1977), kdy vajíčko může uvíznout ve formujícím se žlutém tělísku nebo může v rámci superovulačního procesu vypadnout do dutiny břišní.

Obecně se tvrdí, že vajíčko, resp. embryo skotu se zdržuje ve vejcovodu kolem 90 h a za normálních okolností přechází do dělohy ve fázi časné moruly, tj. v embryonálním útvaru s obsahem kolem 16 blastomer. El Banna a Hafez (1970) u nesuperovulovaných krav potvrdili, že přes ampulární segment se vajíčka dostávala relativně velmi rychle, pravděpodobně jako důsledek aktivní činnosti kinocilií, další postup byl však

zpomalen do té míry, že se vajíčka zdržovala na úrovni isthmu po dobu 72 hodin. Má se zato, že zdržování vajíčka, resp. embrya v distální části tub je způsobeno jednak celkovým omezením svalových kontrakcí, ale zejména též dočasným spastickým uzavřením lumina vejcovodů a zastavením toku salpingeální tekutiny směrem k uteru. Tato isthmická kontrola se uvolňuje až po 72—168 h po ovulaci, kdy dochází k relaxaci svalového spasmu a vstupu salpingeální tekutiny s vajíčky, resp. embryi do dělohy (El Banna a Hafez, 1970).

Při superovulaci, hlavně v postsuperovulačním období, jsou mechanismy funkce vejcovodů narušeny a vstup vajíček, resp. embryí do dělohy se urychluje (Rowson, 1951; El Banna a Hafez, 1970; Betteridge, 1977 a další) v důsledku změněné steroidní činnosti vaječnic, zejména v podmínkách vysokých nástupních hladin progesteronu. Je zde jistá podobnost hormonálních poměrů u prasnic, kde velký počet ŽT s vysokými hladinami progesteronu vyvolává ukončení transtubárního transportu embryí v průběhu 50 h (Pomeroy, 1955; Oxenreider a Day, 1965).

Rovněž v našich pokusech jsme potvrdili urychlený sestup embryí do dělohy, kdy již za 72 h po II. inseminaci bylo v děloze zjištěno kolem 38 % vajíček, resp. embryí, a to v relativně pokročilém stadiu rýhování, tj. ve fázi časných morul. Do určité míry je tento pokročilý vývoj při stimulaci sérovými gonadotropiny možný, protože vysoké hodnocení LH v používaném gonadotropinu někdy vyvolávají uspíšenou ovulaci vývojově pokročilejších folikulů (Moniaux aj., 1983; Saumande aj., 1978, 1985), čímž se celý ovulační proces rozpíná do většího časového prostoru, zejména v případě, kdy se nepoužívá antigonadotropních faktorů. V důsledku uspíšení ovulace je snad i možný nálezný volných prasklých zon pellucid ve výplašku, potvrzený již za 3 dny po inseminaci. Tato skutečnost by snad mohla svědčit o bezprostřední ovulaci přítomného dominantního folikulu působením luteinizační frakce PMSG po superovulačním startu. Volné blastocysty však v této době nalezeny nebyly nebo ušly při mikroskopickém vyšetření výplašku pozornosti.

Dislokace vajíček a embryí v pohlavních orgánech v 6., 7. a 8. dnu postsuperovulačního cyklu studovali též Newcomb aj. (1976) a zjistili, že v této době je ještě 7 % vajíček a embryí ve vejcovodech, 73 % v přední části děložního rohu a 20 % v jeho kaudální třetině. To znamená, že výplachem v D₇ by bylo nedosažitelných až 27 % vajíček a embryí. Naše výsledky jsou sice v tomto směru rezervovanější, ale v D₇ jsme našli vajíčka a embrya ve vejcovodu a v kaudální části dělohy v 1,6 %, resp. 9,7 %, takže výplachem nedosažitelných bylo kolem 11 %. Nepotvrdili jsme ale ani zjištění Hannah (1978), který referuje o tom, že v 5. a 6. dnu po ovulaci může být ve vejcovodu ještě kolem 25 % vajíček a embryí.

Nález relativně pokročilých vývojových stadií embryí ve střední části dělohy již za 3 dny po inseminaci je bezpochyby důsledek urychlení embryonálního sestupu v podmínkách změněných superovulačních hormonálních poměrů. Při zpracovávání jatečného materiálu je však třeba brát v úvahu i možnost posunu děložního obsahu v důsledku agonálních spasmů děložního svalu po poražení.

V práci byl sledován sestup vajíček a embryí po superovulaci krav sérovým gonadotropinem (PMSG — Bioveta, Ivanovice na Hané) v kombinaci s luteolytiky.

Za tři dny po inseminaci bylo 62,1 % vajíček a embryí ještě nalezeno ve vejcovodu, zatímco 38 % již prošlo uterotubárním spojením do přední části dělohy jak ve stadiu vajíček, tak degenerovaných embryí nebo embryí ve stadiu 8—16 blastomer.

Za sedm dní po inseminaci bylo 1,6 % časných embryí ještě získáno z vejcovodu, 65,4 % z kraniálního segmentu děložního rohu a 23,2 % vajíček a embryí bylo lokalizováno ve střední části. Kolem 9,7 % embryí bylo zjištěno až v kaudální části dělohy a stejně jako salpingeální embrya byla v D₇ postsuperoovulačního cyklu výplachem nedosažitelná.

Bylo potvrzeno, že stimulace superovulace sérovým gonadotropinem vede k urychlení sestupu vajíček a embryí do dělohy v důsledku hormonálně podmíněných změn v transportačním mechanismu vejcovodů.

Literatura

- AREF, J. — HAFEZ, E. S. E.: Oviductal contractility in relation to egg transport in the rabbit. *Obstet. Gynecol.*, 42, 1973, s. 165.
- BETTERIDGE, K. J.: Embryo transfer in farm animals. Dept. Agric., Monograph., Ottawa, Kanada, 1977, s. 92.
- BRODKHE, R. R. — HARPER, M. J. K.: Mechanisms of egg transport: Changes in the amount of adrenergic transmitter in the genital tract of normal and hormone treated rabbits. In: SEGAL et al.: Regulation of mammalian reproduction. Kap. 26 Springfield, Il. Charles C. Thomas, 1972.
- CALLESEN, H. — GREVE, T. — HYTTEL, P.: Preovulatory endocrinology and oocytes maturation in superovulated cattle. *Theriogenology*, 25, 1986, s. 71.
- EL BANNA, A. A. — HAFEZ, E. S. E.: Egg transport in beef cattle. *J. Anim. Sci.*, 30, 1970, s. 430.
- ELSDEN, R. P. — BETTERIDGE, K. J.: Effect of different surgical collection methods on yield of ova. In: BETTERIDGE, K. J.: Embryotransfer on farm animals. Dept. Agric. Monograph. Ottawa, Kanada, 1977.
- GREVE, T. — CALLESEN, H.: Selection and management of donor cattle: Improvement of embryo yield. In: V. Colloque scientifique AETE, Lyon, 1989.
- HAFEZ, E. S. E.: Reproduction in farm animals. Lea, Febiger, Philadelphia, 1980, s. 218.
- HAFEZ, E. S. E.: Reproduction in farm animals. Lea, Febiger, Philadelphia, 1987, s. 1981.
- HAHN, J. — SCHUSTER, R.: Embryotransfer Zuchtprogram Regensburg. *Zuchtwahl u. Besam.*, 87, 1978, s. 1—5.
- HAMILTON, W. J. — DAY, F. T.: Cleavage stages of the ova of the horse with notes on ovulation. *J. Anat.*, 70, 1945, s. 127.
- HOLY, L.: Biología de la reproducción bovina. Editorial científico-técnica, Havana, 1987, s. 148.
- CHATKOFF, M. L. — PAUERSTEIN, C. J.: Biochemistry of adrenergic receptors in ovum transport. *Gynecol. Invest.*, 6, 1975, s. 43.
- MONNIAUX, D. — CHUPIN, D. — SAUMANDE, J.: Superovulatory responses of cattle. *Theriogenology*, 19, 1983, s. 55.
- NEWCOMB, R. — ROWSON, L. E. A. — TROUNSON, A. C.: The entry of superovulated eggs into uterus. In: ROWSON, L. E. A. (ed.): Egg transfer in cattle. 1976.
- OXENREIDER, S. L. — DAY, B. N.: Transport and cleavage of ova in swine. *J. Anim. Sci.*, 24, 1965, s. 413.
- POMEROY, R. W.: Ovulation and the passage of ova through the Fallopian tubes in the pig. *J. Agric. Sci.*, 45, 1955, s. 327.
- ROWSON, L. E. A.: Methods of inducing multiple ovulation in cattle. *J. Endocrinol.*, 7, 1951, s. 260.
- SAUMANDE, J. — CHUPIN, D. — MARIANA, J. C. — ORTAVANT, R. — MAULEON, P.: Factors affecting the variability of ovulation rates after PMSG stimulation. In: Control of reproduction in the cow. A seminar in the EEC programme of coordination of research on beef production held at Galway, Sept. 1977. *Curr. Top. Veter. Med.*, 1, 1978, s. 195.
- SAUMANDE, J. — TAMBOURA, D. — CHUPIN, D.: Changes in milk and plasma concentrations of progesterone in cows after treatment to induce superovulation and their relationships with number of ovulations and of embryos collected. *Theriogenology*, 23, 1985, s. 719.

SCHILLING, E.: Untersuchungen über den Eitransport bei Wiederkäuern. Anim. Breeding Abstr., 27, 1959, s. 302.

WINTERBERGER-TORRES, S.: Etude experimental de la migration tubaire des oeufs et leur segmentation chez la brebis. Ph. D. thesis, Fac. Sci., Paříž, 1967.

Došlo dne 4. 10. 1991

HOLÝ, L. — VAŇATKA, F. — LOPATÁŘOVÁ, M. (University of Veterinary Medicine, Brno): *Descent of ova and embryos in cows superovulated with serum gonadotropin*. Veter. Med. [Praha], 37, 1992 (7): 353—364.

The descent and localization of eggs and embryos in individual segments of the reproductive tract of superovulated cows were studied in this work. For the induction of superovulation, serum gonadotropin (PMSG, Ivanovice in Haná) at a dose of 2 500—3 500 I.U. was used, in combination with 0.5 mg of Cloprostenol (Oestrophan, Spofa), administered 48 hours after gonadotropin treatment. The start of superovulation fell on days 9 to 12 of the sexual cycle and was conditioned by the presence of the *corpus luteum* (CL). After the onset of the heat, 2—3 inseminations were carried out using fresh semen. Donor cows were slaughtered 3, 4, 5, 6, and 7 days after the second insemination and isolated reproductive organs (Fig. 1) were divided into five segments (two on oviducts and three on uterine horns) by the applied ligature. In laboratory conditions superovulation response was determined accurately, the volume of ovaries was assessed according to water displacement and the segments of oviducts and uterus were rinsed with TCM 199 or PBS supplemented with FCS. 3, 4, 5, 6, and 7 days after insemination (Tab. I). 18.1 (± 3.55), 12.4 (± 0.91), 19.2 (± 2.86), 20 and 23 (± 2.44) CL on average were recorded, which corresponded to the ovulation of 64, 50, 56, 71 and 72 percent of stimulated follicles (Fig. 2). Within 3 to 7 days after insemination nearly triple enlargement of ovaries was also observed (Tab. I, Fig. 3). During the lavage of individual segments of the tubular reproductive tract, 38 per cent of eggs and embryos were detected in the uterus as early as 3 days after insemination (Tab. II). Unfertilized eggs and degenerated embryos were found in the 2nd and 3rd uterine segment, embryos at the stage of 8—16 blastomeres were localized in the 1st and 2nd segment of the uterus. Four days after insemination (Tab. III), about 64 per cent of eggs and embryos at the stage up to 16 blastomeres were found in the uterus, but embryos up to 32 blastomeres were still flushed out of the oviduct. On day 5 after insemination, 92 per cent of eggs and embryos were released into the uterus, being localized mostly in the cranial and medial part of the uterus (Tab. IV). 7.5 per cent of recovered eggs and embryos at the stage of early or compacted morulae were still detected in the oviducts. In 6 days after insemination (Tab. V), all eggs descended to the uterus, but on day 7 after insemination still 1.6 per cent of embryos at the stage of 16 blastomeres were flushed out of the oviduct. Sixty-five per cent of detected eggs and embryos were found in the anterior, 23 per cent in the medial, and nearly 10 per cent in the caudal third of the uterus. It means that at the time of current collection of embryos on day 7 of the superovulation cycle, more than 11 per cent of eggs and embryos are inaccessible by flushing. Detection of free *zonae pellucidae*, appearing in the flush already from the 3rd day after insemination, was also remarkable. Free blastocysts, however, were not recorded at that time. Findings of relatively advanced developmental stages of embryos and free *zonae pellucidae* in the uterus as early as 3 days after insemination may partly be related to the very early ovulation of developed (dominant) follicles induced by a luteinizing fraction of PMSG, but first of all they are due to accelerated descent of eggs and embryos conditioned by changes in the ovarian hormonal situation.

cow; superovulation; serum gonadotropin; eggs; embryos; embryo descent; embryo transfer

Adresa autorů:

Prof. MVDr. Dr. h. c. Lubomír Holý, CSc., MVDr. Miloslava Lopatářová, CSc., MVDr. František Vaňatka, CSc., Vysoká škola veterinární, Palackého 1-3, 612 42 Brno

J. Brouček, D. Gajdošík, M. Letkovičová, K. Kovalčík

BROUČEK, J. — GAJDOŠÍK, D. — LETKOVIČOVÁ, M. — KOVALČÍK, K. (Výskumný ústav živočišnej výroby, Nitra): *Pôsobenie nadmerného ultrafialového žiarenia na sodík, draslík, vápnik a aldosteron v plazme teliat*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (7): 365—370.

Teľatá boli ožiarované po dobu 12 h umelým ultrafialovým svetlom o spektre 280—320 nm. Celková dávka žiarenia predstavovala v priemere na jedno teľa $179 \cdot 10^{-10} \text{ J} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$. Zistilo sa, že po 5 h expozície sa signifikantne zvýšil obsah sodíka zo 135,9 na 138,1 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ a tento trend pokračoval až do 72. hodiny od začiatku ožarovania. Signifikantne sa zvyšovala tiež kalcinémia, a to z 2,29 na 2,61 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ po 12 h ožarovania. Koncentrácia aldosteronu sa najviac zvýšila už po 5 h ožiarovania z 8,54 na 17,22 $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$. Vzťah medzi sodíkom a dávkami ožiarovania za 5 a 12 h bol najtesnejší 72 h od začiatku stresu ($r = 0,726$; $r = 0,742$) a rovnaký stav sa zaznamenal u vápnika ($r = 0,596$; $r = 0,638$). V prípade aldosteronu sa najsilnejšia závislosť zistila 12 h po skončení expozície ($r = -0,510$; $r = -0,473$). Vplyvom ultrafialovej radiácie sa po 5 h zmenil korelačný koeficient medzi aldosteronom a sodíkom z $r = 0,665$ na $r = -0,629$ a tendencia úmerného vzťahu sa udržala aj v ďalších sledovaniach.

teľatá; ultrafialové žiarenie; sodík; draslík; vápnik; aldosteron

V predchádzajúcich výskumoch s optimálnymi dávkami erytemálneho ultrafialového žiarenia ($90\text{--}240 \text{ mE} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$) v odchove teliat sme zistili signifikantný vplyv tohto fyzikálneho faktoru na rast živej hmotnosti, zvýšenie obsahu celkových bielkovín a tyroxínu v krvnom sére a mierny vzostup hladiny vápnika (Brouček a i., 1987a, b). Cieľom tohto príspevku je stanoviť vplyv abnormálne vysokých dávok umelého ultrafialového žiarenia na správanie sa minerálnych prvkov natria, kálie a kalcia a hormónu aldosteronu v krvnej plazme teliat.

Po ožarovaní ultrafialovým svetlom nastáva rozšírenie podkožných kapilár a vzniká erytém. Štiepne produkty vzniklé denaturáciou bielkovín sa dostávajú do krvného obehu a dráždia nervový systém. Vzniká histamín, serotonin a deriváty so skupinou sulfohydrylovou (Baudach a Schreiber, 1968). Zo 7-dehydrocholesterolu vzniká vitamín D₃ (Hidioglou a i., 1985). Vitamín D pôsobí na zvýšenú absorpciu kalcia, ale nadbytok zvyšuje enormne hladinu kalcia v krvi (Gannon, 1973). Pri popáleninách sa mení pomer natria ku draslíku, zvyšuje sa

koncentrácia mineralokortikoidného hormónu aldosteronu, ktorého hlavnou úlohou je retencia sodíkových iónov (Müller, 1971). Impulzom pre sekréciu aldosteronu je zvýšenie koncentrácie draslíka, alebo zníženie sodíka v plazme, zvýšený výdaj ACTH a serotoninu (Weinberger a i., 1975). Koncentrácia aldosteronu negatívne koreluje s hladinou sodíka (Cabello, 1980) u neonatálnych teliat.

MATERIÁL A METÓDA

V experimente sa použilo 5 teliat čierostrakatého plemena, pochádzajúcich od jedného býka. Priemerný vek činil 33 dní a priemerná živá hmotnosť 51 kg. Zvieratá boli ožarované nepretržite 12 h umelým ultrafialovým svetlom o spektre 280–320 nm. Celková dávka žiarenia predstavovala v priemere na jedno teľa $179 \cdot 10^{-10} \text{ J} \cdot \text{h}^{-1} \cdot \text{m}^{-2}$. Ako radiačný zdroj bola použitá vysokotlaková ortuťová lampa Tesla RVK 400 W. Tesne pred začatím ožarovania a po 5, 12, 24, 48 a 72 h sa kanylou odoberala krv. Obsah aldosteronu v krvnej plazme bol meraný rádioimunologicky kitom ÚVVVR Praha, hladiny sodíka, draslíka a vápnika plameňovou fotometriou. Pre štatistické hodnotenie sa použila analýza rozptylu s dvojítmym triedením a vyhodnotením podľa Snedecorovho *F*-testu, test kontrastov efektov podľa Duncana a regresná analýza.

VÝSLEDKY

Natrémia sa v porovnaní s prvým odberom po 5 a 12 h expozície signifikantne zvýšila (tab. I) na 138,1 a 138,3 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Pri ďalších odberoch tento trend pokračoval až do 72 h od začiatku ožarovania (140,5 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$). Hladina draslíka sa menila štatisticky nepreukazne. Po 5 h ožarovania sa obsah zvýšil zo 4,66 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ na 5,0 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$. Nasledoval pokles na pôvodnú hodnotu, ale po 36 h od ukončenia ožarovania nastala ďalšia elevácia. Vplyvom nadmerného ožarovania sa signifikantne zvyšovala koncentrácia vápnika. Najväčší vzostup bol po 12 h pôsobenia žiarenia (z 2,29 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$ na 2,61 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$) a po 36 h od ukončenia záťaže (2,70 $\text{mmol} \cdot \text{l}^{-1}$).

Hladina aldosteronu sa najviac zvýšila už po päťhodinovom ožarovaní (z 8,54 $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$ na 17,22 $\text{ng} \cdot \text{l}^{-1}$) a 12 h po skončení expozície sa stav vrátil na pôvodnú úroveň.

Korelácie medzi dávkou ožiarenia za 5 a 12 h expozície a jednotlivými ukazovateľmi sú v tab. II. V prípade natria sú vzťahy vždy pozitívne a s výnimkou odberu krvi po 72 h ($r = 0,726$; $r = 0,742$) slabé. Hladina draslíka korelovala s dávkou ožiarenia vo väčšine sledovaní negatívne, pričom 12 h po skončení pôsobenia ultrafialového svetla sa zaznamenala stredne silná závislosť ($r = -0,406$; $r = -0,387$). Pri tomto čase sa stredne silný vzťah zistil aj u pomeru K:Na k dávkam ožiarenia ($r = 0,367$; $r = 0,350$). Koncentrácia aldosteronu bola k dávkam ožiarenia v nepriamom vzťahu, najtesnejší koeficient sa zaevidoval 12 h po skončení expozície ($r = -0,510$; $r = -0,473$). Závislosť medzi vápnikom a dávkami ožiarenia sa zužovala až ku koncu sledovania ($r = 0,596$; $r = 0,638$).

Korelačný koeficient medzi hladinami aldosteronu a natria bol najvyšší pred začiatkom ožarovania ($r = 0,665$), po 5 h expozície ultrafialového svetla sa opačne zmenil na $r = -0,629$ (tab. III). Aj v ďalších sledovaniach okrem odberu krvi 12 h po skončení záťaže boli závislosti negatívne. Aldosteron a kálium boli medzi sebou v slabom nepriamo úmernom vzťahu. Výnimkou sú pozorovania v čase 12 a 36 h po skončení záťaže ($r = 0,704$; $r = 0,393$) v dôsledku poklesu obsahu oboch ukazovateľov. Sodík a draslík boli pred expozíciou v stredne silnom zápornom

I. Zmeny minerálneho metabolismu a aldosteronu — Changes in mineral metabolism and aldosterone levels

Index ¹	Čas v hodinách od začiatku ožarovania ²											
	0	5	12	24	48	72	0	5	12	24	48	72
sodík ³ {mmol.l ⁻¹ }							draslík ⁴ {mmol.l ⁻¹ }					
$\bar{x}$	135,9	138,1	138,3	139,5	140,3	140,5	4,66	5,00	4,63	4,76	4,99	5,00
s	1,0	1,6	1,3	1,7	1,3	1,4	0,23	0,34	0,39	0,35	0,17	0,25
zvieratá ⁵				odbery ⁶			zvieratá ⁵				odbery ⁶	
MS	1,374			14,850			0,214				0,136	
F	0,652			5,584+++			2,346				1,495	
aldosteron ⁷ {ng.l ⁻¹ }							vápnik ⁸ {mmol.l ⁻¹ }					
$\bar{x}$	8,54	17,22	12,88	7,96	7,54	8,24	2,29	2,27	2,61	2,52	2,70	2,48
s	5,50	7,27	9,01	3,90	1,13	2,49	0,06	0,14	0,11	0,10	0,21	0,14
zvieratá ⁵				odbery ⁶			zvieratá ⁵				odbery ⁶	
MS	128,979			74,921			0,048				0,094	
F	11,266+++			6,544+++			2,556				4,998+++	

Preukaznosť rozdielov medzi odbermi — Significance of differences between samplings

Na — 1:2, 3+

1:4, 5, 6++

2:6+

K — 1:4+

1:3, 5++

2:5+

5:6+

+ $P < 0,05$ ++ $P < 0,01$

MS = priemerné štvorce — mean square; F = hodnota F-testu — F-test value

¹index, ²time in hours from the beginning of irradiation, ³sodium, ⁴potassium, ⁵animals, ⁶samplings, ⁷aldosterone, ⁸calcium

II. Korelácie medzi dávkou ožiarenia a zmenami ukazovateľov v jednotlivých časových úsekoch — Correlation relationships between the irradiation dose and changes in blood indices in particular time segments

Dávka ožiarenia v dlžke ¹	Čas* ²	Ukazovateľ ³				
		Na	K	Na : K	Aldosteron	Ca
5 h	5	0,091	—0,098	0,099	—0,310	—0,309
	12	0,100	—0,192	0,185	—0,297	0,194
	24	0,002	—0,406	0,367	—0,510	—0,086
	48	0,100	0,220	—0,212	—0,306	0,500
	72	0,726	—0,045	0,201	—0,401	0,596
12 h	12	0,134	—0,209	0,201	—0,260	0,203
	24	0,023	—0,387	0,350	—0,473	—0,042
	48	0,134	0,208	—0,192	—0,291	0,518
	72	0,742	0,013	0,138	—0,385	0,638

* čas od začiatku ožarovania — time from the beginning of irradiation

¹irradiation dose in time, ²time*, ³index

III. Vzťahy medzi sledovanými ukazovateľmi v jednotlivých časových úsekoch — Relations between the investigated indicators in particular time segments

Čas od začiatku ožarovania ¹	Aldosteron ² : Sodík ³		Aldosteron ² : Draslík ⁴		Sodík ³ : Draslík ⁴	
	r_{yx}	b_{yx}	r_{yx}	b_{yx}	r_{yx}	b_{yx}
0	0,665	0,136	—0,014	—0,001	—0,355	—0,079
5	—0,629	—0,157	—0,179	—0,009	0,863	0,182
12	—0,389	—0,060	—0,011	—0,001	0,401	0,117
24	0,403	0,193	0,704	0,070	—0,348	—0,072
48	—0,457	—0,595	0,393	0,067	0,236	0,030
72	—0,526	—0,333	—0,360	—0,039	0,483	0,084

r = korelačný koeficient — correlation coefficient

b = regresný koeficient — regression coefficient

¹time from the beginning of irradiation, ²aldosterone, ³sodium, ⁴potassium

vzťahu ($r = -0,355$). Vplyvom zvýšenia hodnôt oboch ukazovateľov po 5 h stresu sa zistila kladná tesná závislosť na hranici preukaznosti ($r = 0,863$).

Následkom 12-hodinového permanentného ožarovania sa nezistil u teľiat viditeľný erytém, až štvrtý deň sa objavili popáleniny na mulci (*Combustio erythematosa* až *bullosa*) u zvierata č. 3, ktoré malo biely nos a nepigmentovaný mulček, a u zvierata č. 5 (časť mulca nepigmentovaná). Exsudát sa vstrebal a popáleniny sa zahojili bez jazvy do týždňa. 48 h po skončení ožarovania ochoreli zvieratá č. 1 a 4 na zápal rohovky (kera-

titída), sprevádzaný výrazným slzením. V ďalšom dni bol tento nález diagnostikovaný u zbývajúcich troch zvierat. Do 10 dní sa zápal vyliečil u všetkých zvierat bez veterinárneho zákroku.

DISKUSIA

Ako sa udáva v literatúre (Müller, 1971; Doleček, 1969), dochádza pri popáleninách k zmenám hodnôt sodíka a draslíka, pričom zúženie ich vzájomného pomeru vyvoláva zvýšenie aldosteronu v krvi (Weinberger, 1975). Toto sa potvrdilo i v našom experimente, v sledovaní po 5 h ožarovania sa zistilo signifikantné zvýšenie aldosteronu a draslíka. Ďalej sa zaznamenala zmena korelačného koeficienta medzi sodíkom a draslíkom z $r = -0,355$ na $r = 0,863$. Samozrejme, že na zvýšenie aldosteronu mohol mať značný podiel i serotonín, ktorý vzniká pri reakcii na erytemálne ultrafialové žiarenie (Baudach a Schreiber, 1968). Negatívna závislosť medzi aldosteronom a sodíkom, ktorú uvádza Caballo (1980) u teliat, sa potvrdila len pri sledovaní počas expozície nadmerného žiarenia a po jej skončení. Hyperkalcinémia u vyšetrovaných teliat by mohla vysvetliť nadmernú tvorbu vitamínu D (Hidiroglou, 1985; Gannong, 1973).

Literatúra

- BAUDACH, M. — SCHREIBER, W.: Die Beeinflussung des Histaminspiegels von Kaninchenblut durch UV-Bestrahlung der Bauchhaut. *Strahlentherapie*, 136, 1968, s. 375—382.
- BROUČEK, J. — KOVALČIK, K. — BRESTENSKÝ, V.: Vplyv umelého ultrafialového svetla na prírastky hmotnosti, spotrebu živín a zdravotný stav teliat. *Živoč. Vyr.*, 32, 1987, č. 8, s. 701—710.
- BROUČEK, J. — KOVALČIK, K. — GAJDOŠÍK, D.: Vplyv umelého ultrafialového svetla na biochemické ukazovatele teliat. *Veter. Med. (Praha)*, 32, 1987, č. 10, s. 603—610.
- CABELLO, G.: Plasma cortisol and aldosterone levels in healthy and diarrhoeic calves. *Brit. Veter. J.*, 136, 1980, s. 160—167.
- DOLEČEK, R. — ENDRYÁŠ, L. — KALINA, J.: Metabolic response of the burned organism. C. Thomas, Springfield, 1969, s. 128.
- GANNONG, W. F.: Review of medical physiology. Lange Medical Publications, Los Altos, California, 1973.
- HIDIROGLOU, M. — WILLIAMS, C. J. — PROULX, J. G.: Plasma vitamin D₃ response in cattle and sheep exposed to ultraviolet radiation. *Int. J. Vitam. Nutr. Res.*, 55, 1985, s. 41—46.
- MÜLLER, J.: Regulation of aldosterone biosynthesis. Heidelberg, Springer Verlag 1971, 48 s.
- WEINBERGER, M. H. — KEM, D. C. — GOMEZ — SANCHEZ, C. — et al.: Research of steroids. New York, Elsevier Publ. Co, 1975. 35 s.

Došlo dňa 4. 6. 1991

BROUČEK, J. — GAJDOŠÍK, D. — LETKOVIČOVÁ, M. — KOVALČIK, K. (Research Institute of Animal Production, Nitra): *Effect of ultraviolet irradiation overdosage on sodium, potassium, calcium and aldosterone in plasma of calves*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (7): 365—370.

Five Holstein-Friesian calves, from one sire, with prevalent black hair coat pigmentation were used in the experiment. The mean age was 33 days and the mean live weight 51 kg. The animals were exposed free running without interruption for 12 hours to an artificial ultraviolet light in the range of 280—320 nm. The mean dosis of radiation was $179 \cdot 10^{-10}$ J/h/m. One-spot high-pressure mercury discharge lamps Tesla RVK 400 W were used as a radiation source. The dose rate was estimated from measurements by a spectral photometer with filter UG 2 for absorption of visible light located at the height of the back of standing calf. Blood samples were collected immediately before the beginning of treatment and after 5, 12, 24, 48 and 72 hours. The blood

plasma aldosterone was measured by radioimmunoassays, the levels of sodium, potassium and calcium in blood plasma by flame spectrophotometry. Double classification variance analysis and evaluation according to the Snedecor *F*-test, the contrast effect test according to Duncan and regression analysis were used for statistical evaluation. Compared to the first sampling, sodium increased significantly after 5 and 12 hours of exposure (Tab. I) to 138.1 and 138.3 mmol/l, respectively. In the subsequent samplings this trend continued up to 72 hours from the beginning of irradiation (140.5 mmol/l). The potassium level did not change statistically significantly. Owing to an excessive irradiation, the calcium concentration increased significantly. The greatest increase occurred after 12 hours of irradiation (from 2.29 mmol/l to 2.61 mmol/l) and after 36 hours from the end of irradiation (2.70 mmol/l). The aldosterone level showed the greatest increase as early as after 5 hours of irradiation (from 8.54 ng/l to 17.22 ng/l) and 12 hours after the termination of exposure it returned to the initial level. The correlations between the irradiation doses during 5 and 12 hours of exposure and the single indices are given in Tab. II. In the case of sodium, the relations were always positive and weak, with the exception of the blood sampling after 72 hours ($r = 0.726$; $r = 0.742$). The potassium level was in negative correlation with the irradiation dose in most observations, medium strong dependence ($r = -0.406$; $r = -0.387$) having been recorded 12 hours after the termination of ultraviolet light action. In this sampling a medium strong relation was also found in the K:Na ratio to irradiation doses ($r = 0.367$; $r = 0.350$). The aldosterone concentration was in indirect relation to the irradiation doses, the closest coefficient was registered 12 hours after the termination of exposure ($r = -0.510$; $r = -0.473$). The dependence between calcium and irradiation doses was reduced as late as at the end of observation ($r = 0.596$; $r = 0.638$). The correlation coefficient between the aldosterone and sodium levels was highest before the beginning of irradiation ($r = 0.665$). Conversely, after 5 hours of ultraviolet light exposure it changed into $r = -0.629$ (Tab. III). In the subsequent observations, with the exception of the blood sampling 12 hours after the termination of the stress, the dependences were also negative. Aldosterone and potassium were in a slight indirectly proportional relation. Exceptions are the observation made in 12 and 36 hours after the end of the intervention ($r = 0.704$; $r = 0.393$) owing to the concentration decrease in the two indices. Sodium and potassium were in a medium strong negative relation before the exposure ($r = -0.355$). Owing to the increase in the values of the two indicators after 5 hours of stress, a positive close dependence at the level of significance ($r = 0.863$) was found. No visible erythema was discovered on the calves as a result of the 12 hours lasting irradiation only on the 3rd and 4th day there occurred burns on the muzzle of those animals which fell ill of keratitis attended by marked flow of tears. Two calves were discarded because of repeated health disorders.

calves; ultraviolet irradiation; sodium; potassium; calcium; aldosterone

Adresa autorov:

Ing. Jan Brouček, CSc., MVDr. Dušan Gajdošík, ing. Mária Letkovičová, CSc., ing. Kornel Kovalčík, DrSc., Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra

PRODUKCIA PROGESTERÓNU A TESTOSTERÓNU BUNKAMI GRANULÓZY VAJEČNÍKOV OŠÍPANÝCH PO APLIKÁCIÍ NONAPEPTIDOVÝCH HORMÓNOV *IN VITRO*

J. Nitrav, A. Sirotkin, J. Poltársky

NITRAY, J. — SIROTKIN, A. V. — POLTÁRSKY, J. (Výskumný ústav živočíšnej výroby, Nitra): *Produkcia progesterónu a testosterónu bunkami granulózy vaječníkov ošípaných po aplikácii nonapeptidových hormónov in vitro*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (7): 371—377.

V práci sme sledovali účinok nonapeptidových hormónov a ich niektorých chemických analógov na produkciu progesterónu a testosterónu bunkami granulózy vaječníkov ošípaných *in vitro*. Zistili sme štatisticky preukazný vplyv oxytocínu (OT; 0,01—10 IU·ml⁻¹), arginín-8-vazopresínu (AVP; 0,01—10 µg·ml⁻¹), arginín-8-vazotocínu (AVT; 0,01—10 µg ml) a menej výrazný účinok 2-0-metyl-tyrozín [deamino-1-karba] oxytocínu (DK-OT; 0,01—10 µg·ml⁻¹) na produkciu progesterónu. Produkcia testosterónu bola štatisticky preukazne stimulovaná oxytocínom a inhibovaná po prídavkoch vazopresínu i vazotocínu. Prídavky 2-0-metyl-tyrozín [1-deamino]-8-vazopresínu, 2-0-metyl-tyrozín [deamino-1-karba]-oxytocínu a 1-deamino-8-vazopresínu mali malé, alebo žiadne účinky na progesterón resp. testosterón. Zistené poznatky svedčia o existencii priameho účinku nonapeptidových hormónov na steroidogézu vo vaječníkov ošípaných.

ošípané; vaječníky; bunky granulózy; progesterón; testosterón; nonapeptidové hormóny

Existuje niekoľko poznatkov o syntéze oxytocínu (OT) a arginín-8-vazopresínu (AVP) vo vaječníkov krýs, oviec, kráv, ošípaných, opíc a ľudí (Schams, 1987; Sirotkin a i., 1987; Wathes, 1989). Tieto a podobné nonapeptidové hormóny môžu byť potenciálnymi regulátormi reprodukčného procesu na úrovni hypotalamu, hopyfýzy a reprodukčného traktu (Sirotkin a i., 1987; Wathes, 1989). Existujú experimentálne poznatky o vplyve uvedených hormónov na produkciu ovariálneho cAMP, prostaglandínov a steroidných hormonov *in vitro* (Tsafri, 1988; Wathes, 1989) i keď súvisia najmä s účinkom OT na produkciu progesterónu. Ich potvrdenie súvisí s analýzou biologického objektu, vývojového štádia ovariálnych buniek, luteinizácie a efektívnych dávok. Známe sú experimentálne poznatky o stimulačných účinkoch nízkych a inhibičných účinkoch vysokých dávok OT na progesteron v bovinných a ľudských luteálnych bunkách (Tan a i., 1982; Tan, 1984). V iných experimentoch bunky granulózy ľudí a krýs po aplikácii OT inhibovali nárast progesterónu (Schams, 1987). A nakoniec iné pracoviská zistili inhibíciu nízkych dávok a chýbajúci účinok vysokých

dávok OT na produkciu progesterónu v humánných luteálnych (Benegard a i., 1987) a porcínnych granulóznych bunkách (Przala a i., 1986).

AVP, alebo lyzín-vazopresín sú schopné inhibovať progesterón a androstenedion. Neovplyvňujú produkciu estradiolu v izolovaných luteálnych bunkách (Pitzel a Wuttke, 1987; Pitzel a i., 1988). Arginín-8-vazotocín (AVT), nonapeptidový hormón produkovaný hypotalamom fetu a novonarodených cicavcov (Lederis a i., 1980) môže inhibovať sekréciu progesterónu humánnym žltým telieskom (Kahn a Menon, 1981) a kultúrou luteálnych buniek ošípaných (Przala a i., 1988). V izolovaných vaječníkoch myší boviných ovariálnych folikuloch AVT aktivuje progesterón a inhibuje sekréciu estradiolu (Sirotkin a i., 1988: 1990).

Cieľom nášho experimentu bola analýza vplyvov rôznych dávok OT, AVP, AVT a ich niektorých analógov na produkciu progesterónu bunkami granulózy vaječníkov ošípaných *in vitro*.

MATERIÁL A METÓDY

PRÍPRAVA A INKUBÁCIA BUNIEK GRANULÓZY

Vaječníky prasníc o hmotnosti 120–130 kg s pohlavným aparátom bez viditeľných zmien a anomálií boli po prenose z bitunku (v termoske) trikrát prepláchnuté v Krebs-Ringerovom médiu. Folikuly s diametrom 2–5 mm sme aspirovali a získané bunky granulózy separovali centrifugáciou (5 min pri $200 \times g$). Po ich resuspendovaní v sterilnom TCM-199 s 5% prídavkom boviného fetálneho séra a dvoch opakovaných centrifugáciach sme bunky granulózy v koncentrácii 2 miliónov ml^{-1} [stanovené hemocytometrom] umiestnili v inkubačnom médiu TCM 199 s prídavkami 5 % boviného fetálneho séra, 10 $\text{mIU} \cdot \text{ml}^{-1}$ pFSH, 10 $\text{mIU} \cdot \text{ml}^{-1}$ inzulínu, 6 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ pufru Hepes, 200 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ Na pyruvátu, 600 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ Ca a 50 $\text{mg} \cdot \text{ml}^{-1}$ gentamicínu. Bunečná suspenzia v objeme 2 ml bola prenesená do kultivačných platní (Sterilin Ltd. Feltham, Anglicko) a inkubovaná 4 dni ($t = 37,5^\circ\text{C}$, 5 % CO_2). V jednotlivých podskupinách sme sledovali účinok rôznych hormónov a syntetických preparátov.

HORMONÁLNE PREPARÁTY

V experimentoch sme použili nasledovné hormonálne preparáty: FSHp (Léčivá, Praha, 0,1 $\text{IU} \cdot \text{ml}^{-1}$), syntetický OT (Gedeon Richter, Budapešť, 0,01; 0,1; 1 a 10 $\text{IU} \cdot \text{ml}^{-1}$), syntetický analóg OT s pretrahovaným účinkom 2-0-metyl-tyrozín[deamino 1-karba]-OT-DK-OT Depotocin (Léčivá, Praha, 0,01; 0,1; 1 a 10 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$), syntetický AVP (Ústav organickej biochémie, Praha, 0,01; 0,1; 1 a 10 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$), syntetický AVP s antidiuretickými, nie vazopresnými vlastnosťami 1-deamino-8-DAVP Adiuretin (Léčivá, Praha, 0,01; 0,1; 1 a 10 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$), syntetický AVT (Chemická univerzita, Leningrad, 0,01; 0,1; 1 a 10 $\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$).

Všetky preparáty boli upravené do pracovných riedení priamo pred použitím v experimente.

RÁDIOIMUNOANALÝZA HORMÓNŮV

Progesterón sme analyzovali komerčnou súpravou pre RIA stanovenie (Ústav rádioekológie a využitia jadrovej techniky, Košice) s nasledovnou charakteristikou: citlivosť 2 $\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1}$, recovery 92 %, koeficient v rámci a medzi meraniami 17 resp. 9 %.

Testosterón bol analyzovaný pomocou súpravy Sorin Biomedica, Taliansko. Citlivosť 50 $\text{pg} \cdot \text{ml}^{-1}$, recovery 96 %, koeficient v rámci a medzi meraniami neprevyšoval 6 resp. 7 %.

STATISTICKÉ SPRACOVANIE VÝSLEDKOV

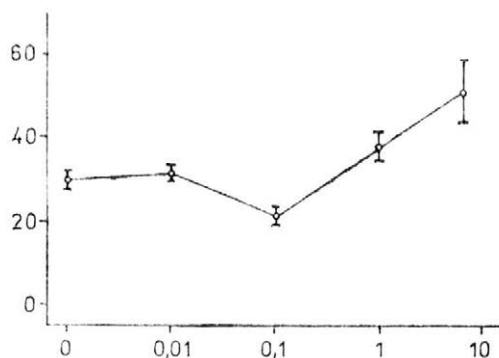
Každá experimentálna skupina bola analyzovaná v štyroch kultivačných vzorkách. Stupeň produkcie progesterónu a testosterónu sme stanovili na základe ich bunečnej

a hormonálnej koncentrácie (v kultiváte s počtom 10^6 buniek/den). Štatisticky preukazné rozdiely medzi skupinami sme hodnotili Studentovým *t*-testom.

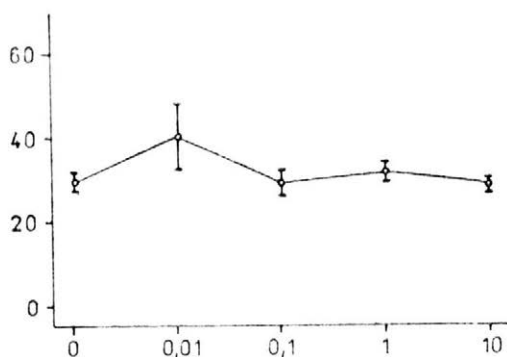
VÝSLEDKY

Výsledky experimentov potvrdzujú vplyv nonapeptidových hormónov na produkciu progesterónu a testosterónu. Po prídavkoch OT do kultivačného média ($0,01-10 \text{ IU} \cdot \text{ml}^{-1}$) sme zistili výrazné zvýšenie koncentrácie progesterónu s najvyššou preukaznosťou po prídavku $1 \text{ IU} \cdot \text{ml}^{-1}$. Podobný charakter stimulácie sme zaznamenali po aplikácii DK-OT, s najväčším účinkom po vysokej dávke — $10 \text{ IU} \cdot \text{ml}^{-1}$ (obr. 1). Všetky dávky AVP ($0,01-10 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$) podobne ako OT, štatisticky preukazne zvyšovali produkciu progesterónu. Najefektívnejšími dávkami, s vysokou preukaznosťou ($P < 0,001$), boli dávky $0,01$ a $0,1 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. Na rozdiel od OVP, D-AVP ovplyvňoval produkciu progesterónu v závislosti od použitej dávky (obr. 2). Stimulačné účinky sme zistili i po použití AVT, no štatisticky preukázateľné rozdiely medzi kontrolnou a experimentálnymi skupinami boli iba po dávke $10 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ (obr. 3).

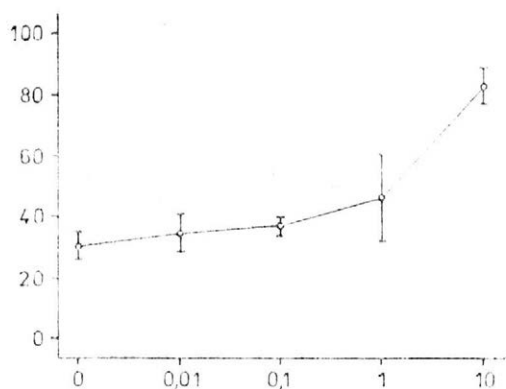
Nízke dávky OT ($0,01 \text{ IU} \cdot \text{ml}^{-1}$) spôsobovali malé, štatisticky nepreukazné zníženie produkcie testosterónu. Zvyšovanie dávky sprevádzalo zvýšenie stupňa produkcie testosterónu: po $9,1$ a $1 \text{ IU} \cdot \text{ml}^{-1}$ signifikantne vyššie než pri $0,01 \text{ IU} \cdot \text{ml}^{-1}$. Dávky DK-OT vo všetkých koncentráciách neovplyvňovali produkciu testosterónu (obr. 4). Malé a stredné dávky AVP a D-AVP tento proces inhibovali, so štatistickou preukaznosťou iba po $0,01$ a $1 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ AVP, resp. $0,1 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ D-AVP. Vysoké dávky neboli efektívne (obr. 5). Po aplikácii AVT sme dosiahli blokovanie produkcie testosterónu v závislosti od použitej dávky (obr. 6).



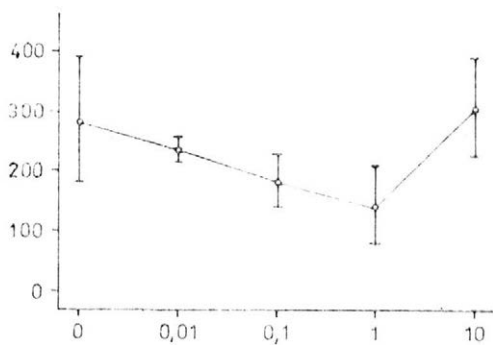
1. Vplyv rôznych dávok DK-OT ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$), os x, na produkciu progesterónu ($\text{pg} \cdot 10^{-6}$ buniek), os y, bunkami granulózy ošípaných *in vitro* — The effect of various doses of DK-OT ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$), x-axis, on progesterone production in vitro ($\text{pg} \cdot 10^{-6}$ cells), y-axis, in granulosa cells of sows



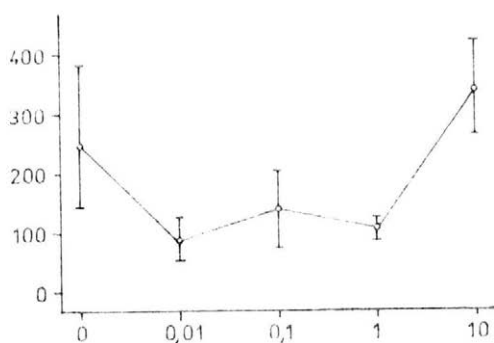
2. Vplyv rôznych dávok D-AVP ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$), os x, na produkciu progesterónu ($\text{pg} \cdot 10^{-6}$ buniek), os y, bunkami granulózy vaječníkov ošípaných *in vitro* — The effect of various doses of D-AVP ($\mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$), x-axis, on progesterone production in vitro ($\text{pg} \cdot 10^{-6}$ cells), y-axis, in granulosa cells of sows



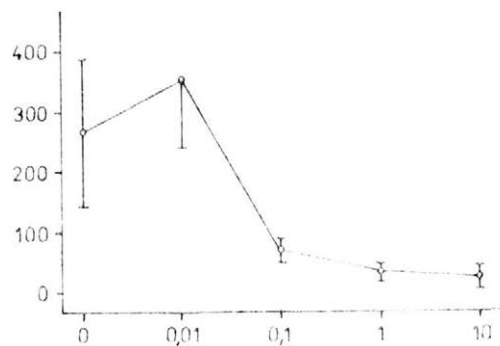
3. Produkcia progesterónu ($\text{pg. } 10^{-6}$ buniek), os y, bunkami granulózy vaječníkov ošípaných po aplikácii rôznych dávok AVT ($\mu\text{g. ml}^{-1}$), os x — Progesterone production ($\text{pg. } 10^{-6}$ cells), y-axis, in granulosa cells of sow ovaries after administration of various doses of AVT ($\mu\text{g. ml}^{-1}$), x-axis



4. Produkcia testosterónu ($\text{pg. } 10^{-6}$ buniek), os y, bunkami granulózy ošípaných po aplikácii rôznych dávok DK-OT ($\mu\text{g. ml}^{-1}$), os x — Testosterone production ($\text{pg. } 10^{-6}$ cells), y-axis, in granulosa cells of sow ovaries after administration of various doses of DK-OT ($\mu\text{g. ml}^{-1}$), x-axis



5. Vplyv rôznych dávok D-AVT ($\mu\text{g. ml}^{-1}$), os x, na produkciu testosterónu ($\text{pg. } 10^{-6}$ buniek), os y, bunkami granulózy vaječníkov ošípaných *in vitro* — The effect of various doses of D-AVT ($\mu\text{g. ml}^{-1}$), x-axis, on testosterone production *in vitro* ($\text{pg. } 10^{-6}$ cells), y-axis, in granulosa cells of sow ovaries



6. Produkcia testosterónu ($\text{pg. } 10^{-6}$ buniek), os y, bunkami vaječníkov ošípaných po aplikácii rôznych dávok AVT ($\mu\text{g. ml}^{-1}$), os x — Testosterone production ($\text{pg. } 10^{-6}$ cells), y-axis, in the cells of sow ovaries after administration of different doses of AVT ($\mu\text{g. ml}^{-1}$), x-axis

DISKUSIA

Zistenie, že OT stimuluje produkciu progesterónu bunkami granulózy vaječníkov ošípaných dopĺňa poznatky o inhibičných úlohách OT va-

vaječníkov ľudí [T a n a i., 1982], kráv [S c h a m s., 1987] a krýs [K a s s o n a i., 1986]. Je zrejme, že v našom experimente mali väčšie stimulačné účinky vyššie dávky OT. Z tohto hľadiska sú reakcie buniek granulózy vaječníkov ošipaných v porovnaní s bunkami granulózy ľudí a kráv odlišné [T a n., 1982]. Naše výsledky korešpondujú so zisteniami P i t z e l a a i., [1988, 1990], ktorí po nízkych dávkach OT uvádzajú inhibíciu sekrécie progesterónu bunkami granulózy vaječníkov ošipaných.

Naše výsledky a citované literárne údaje naznačujú existenciu regulačných úloh OT vo vzťahu k sekrécii progesterónu bunkami granulózy, pravdepodobne vo vzťahu k luteinizácii. Tento luteinizačný efekt OT bol na úrovni *in vivo* pozorovaný u kráv a kôz [S c h a m s., 1987; W a t h e s., 1989].

Stimulačné pôsobenie AVP a AVT na produkciu progesterónu, pozorované v našich experimentoch je prekvapujúce. Toto zistenie nie je v súlade so zisteniami iných autorov [P r z a l a a i., 1986; P i t z e l, W u t k e., 1987]. Je možné predpokladať, že biologická úloha a aktivita AVP, AVT a OT sa menia v závislosti od etapy luteinizácie ovariálnych buniek.

Z literatúry známych poznatkov a z výsledkov našich experimentov vyplýva, že AVT a AVP majú ten istý steroidogénny efekt ako OT. D-AVP (analog bez vazopresných účinkov) mal signifikantne menšie účinky než AVP čo naznačuje na predpoklad, že nonapeptidné hormóny ovplyvňujú bunky granulózy prostredníctvom iných receptorov ako sú receptory uterotonické, vazopresné, či antidiuretické.

Z literárnych zdrojov nám nie sú známe poznatky o existencii vzťahov medzi androgénmi a nonapeptidnými hormónmi. Naše výsledky sa zdajú byť prvými poznatkami o tomto fenoméne. Zistenie, že OT stimuluje, AVP a AVT inhibuje a D-AVP a DK-OT menej, alebo vôbec neovplyvňuje androgény je z tohto pohľadu originálne. Vplyv AVT sa zdá byť jasným a expresívnym na produkciu testosterónu bunkami granulózy. Môže to svedčiť o vstupe nonapeptidov do kontroly regulácie tohto hormónu.

Výsledky nášho experimentu svedčia o existencii možného regulačného vplyvu nonapeptidných hormónov na *in vitro* úrovni a tým i priamu súvislosť s ovariálnou steroidogéznou.

Potvrdenie uvedenej skutočnosti poznatkami *in vivo* by vzhľadom k známym vplyvom steroidných hormónov na funkcie vaječníkov (rast folikulov a dozrievanie oocytov, ovuláciu, vývoj žltého telieska), znamenalo veľmi pravdepodobnú priamu, alebo nepriamu účasť nonapeptidných hormónov v týchto procesoch.

Literatúra

- BENNEGARD, B. — HAHLIN, M. — DENNEFORDS, B.: Antigonadotrophic effect of oxytocin on the isolated human *corpus luteum*. *Fertil. Steril.*, 47, 1987, s. 431—435.
GURAYA, S.: Biology of ovarian follicles in mammals. Berlin — Heidelberg, Springer-Verlag, 1985, s. 320.
KAHN, J. K. — MENON, K. M.: Evidence that arginine-vasotocin inhibits human chorionic gonadotropin and cyclic adenosine 3-5-menophosphate stimulated ovarian steroidogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1981, s. 100—104.
KASSON, B. G. — ADASHI, E. J. — HSUEH, J. W.: Arginine vasopressin in the testis-an intragonadal peptide control system. *Endocrin. Rev.*, 7, 1986, s. 156—158.
LEDERIS, K. — FISHER, A. W. — GEONZON, R. M. — GILL, V. — KO, D. A. — RAGHAVAN, S.: Arginine-vasotocin in fetal, newborn and adult mammals: evaluation and progress. *Hormones*. In: ESHII, J. — HIRANO, T. (eds): *Adaptation and Evolution*, Japan Sci. Soc., 1980.

- PRZALA, J. — GRAZUL, A. — WIESAK, T. — MUSZASKA, A. — RZASA, J.: The effect of oxytocin and vasotocin upon progesterone, testosterone and estradiol secretion by the luteal cells from cyclic pigs. *Exp. Clin. Endocrinol.*, **88**, 1986, s. 193—199.
- PITZEL, L. — WUTTKE, W.: Effects of oxytocin, vasopressin and vasotocin on progesterone production by porcine luteal cells *in vitro*. *Acta Endocrinol.*, **283**, 1987, s. 114 to 115.
- PITZEL, L. — PROBST, J. — JARRY, H. — WUTTKE, W.: Inhibitory effect of oxytocin and vasopressin on steroid release by cultured porcine luteal cells from human corpus luteum. *J. Endocrinol.*, **104**, s. 149—151.
- SCHAMS, D.: Luteal peptides and intracellular communication. *J. Reprod. Fertil.*, **34**, 1987, s. 87—99.
- SIROTKIN, A. V. — POLENOV, A. K. — GARLOV, P. E.: Involvement of nonapeptide hormones in animal reproductive function. In: *Summaries in Science and Technics. Ser. Anim. and Veter. Sci., VJNJTJ Moskva*, **15**, 1987, s. 3—21.
- SIROTKIN, A. V. — GERASIMOVA, G. G. — DMITRIJEV, V. B. — GOLUBEV, A. K.: Luliberin alters effects of gonadotropins and arginine-vasotocin upon the production of steroid hormones by mice ovaries *in vitro*. *Fiziol. Zb.*, **74**, 1988, s. 1333—1335.
- SIROTKIN, A. V. — GERASIMOVA, G. G. — GOLUBEV, A. K. — DMITRIJEV, V. B.: The effects of arginine-vasotocin on the production of steroid hormones by mouse, cow and chicken ovarian tissues *in vitro*. *Biochem. Sci.*, **1**, 1990, s. 308—310.
- TAN, G. J.: Inhibition of human luteal cells steroidogenesis by oxytocin mechanism of action. *FRCS Medical Sci.*, **12**, 1984, s. 492—493.
- TAN, G. J. — BIGGS, J. S. G.: Progesterone production by dispersed luteal cells of non pregnant cows: effect of oxytocin and estradiol. *Animal. Reprod. Sci.*, **7**, 1984, s. 441 to 445.
- TAN, G. J. — TWEEDALE, R. — BIGGS, J. S. G.: Oxytocin may play a role in the control of the human *corpus luteum*. *J. Endocrinol.*, **95**, 1982, s. 65—70.
- TSAFRIRI, A.: Local nonsteroidal regulators of ovarian function. In: KNOBIL, E. — NEIL, J.: *Physiology of reproduction*, New York, Raven Press 1988, s. 527—565.
- WATHES, D. C.: Oxytocin and vasopressin in the gonads. *Oxford Rev. Reprod. Biol.*, **11**, 1989, s. 226—283.

Došlo dňa 25. 2. 1991

NITRAY, J. — SIROTKIN, A. V. — POLTÁRSKY, J. (Research Institute for Animal Production, Nitra): *Progesterone and testosterone production in granulosa cells of sow ovaries after in vitro nonapeptide hormone administration*. *Veter. Med. (Praha)*, **37**, 1992 (7): 371—377.

In the present paper the effects of nonapeptide hormones and of some of their chemical analogues were investigated on progesterone and testosterone production in granulosa cells of sow ovaries; the experiments were made *in vitro*. This objective was given by data on potential regulatory roles of nonapeptides at the level of hypothalamus, pituitary and reproductive organs. The goal of this experiment was to analyze the effects of various doses of oxytocin (OT), arginine-8-vasopressin (AVP), arginine-8-vasotocin and of some of their analogues on progesterone and testosterone production *in vitro* in granulosa cells of sow ovaries. The production activity of granulosa cells was investigated which were obtained from slaughtered sows without any changes in their reproductive process and abnormalities in their reproductive organs. Follicles of the size 2—5 mm without marked paleness in the early follicular phase were selected for aspiration. Granulosa cells with determined viability (more than 75 %) and concentration (2 million/ml) were cultivated in defined culture conditions (37.5°C, 5 % CO₂) after threefold resuspension and centrifugation of follicle fluid. These hormonal preparations were used in the experiments: pFSH, synthetic OT, synthetic AVP, synthetic AVP with antidiuretic effects and synthetic AVT. Progesterone and testosterone concentrations were analyzed radioimmunoanalytically using commercial kits of the Institute of Radioecology and Nuclear Technology at Košice. Statistically significant differences between the groups were evaluated by Student's *t*-test. The administered preparations were found to influence progesterone and testosterone production in dependence on the doses applied (Figs. 1—6). OT stimulation of progesterone production in granulosa cells indicated its regulatory role in relation to secretion of this hormone. Stimulating action of AVP and AVT on progesterone production is in contradiction with the present data and with literary citations of other authors. Biological activities

of AVP, AVT and OT were found to probably change in dependence on the luteinization phase of ovarian cells. The findings concerning the existence of relations between androgens (testosterone) and nonapeptide hormones are likely of primary importance and the fact that testosterone production is stimulated by OT, inhibited by AVP and AVT and influenced to a small extent by DK-OT is an original finding. The results of these experiments can demonstrate the entry of nonapeptide hormones into the regulatory mechanism of progesterone and testosterone secretion, and in this way a direct relationship with ovarian steroidogenesis is documented.

sows; ovaries; granulosa cells; progesterone; testosterone; nonapeptide hormones

Adresa autorov:

Ing. Jozef Nitray, CSc., dr. Alexander V. Sirotkin, CSc., ing. Ján Poltársky, CSc., Výskumný ústav živočíšnej výroby, Hlohovská 2, 949 92 Nitra

Upozorňujeme čtenáře, že v čísle 8/1992 časopisu

VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

mají být uveřejněny tyto příspěvky:

Toman M., Krejčí J., Pinka K., Menšík P.: Příčiny vzniku anafylaktoidních reakcí u skotu po aplikaci lipidních preparátů

Muška M.: Možnost využití parazitických vosiček (*Hymenoptera: Pteromalidae*) k biologickému boji s mouchou domácí v chovech prasat

Raszyk J., Dočekalová H., Rubeš J., Gajdůšková V., Mašek J., Rodák I., Bartoš J.: Ekotoxikologické vztahy ve velkovýkrmně prasat lokalizované v oblasti těžby lignitu a tepelné elektrárny

Krajničáková M., Bekeová E., Maraček I., Hendrichovský V., Elečko J.: Dynamika změn cytologického obrazu pošvového steru a ovariálních hormonů cirkulujících v krvi v puerperálním období bahníc

Halouzka R., Jurajda V.: Patologické změny orgánů kuřat po infekci krůtím herpetickým virem THV-BIO-I

Gajdůšková V., Ulrich R.: Využití analýzy specifických kongenerů polychlorovaných bifenyliů pro kontrolu potravin a surovin živočišného původu

EXPERIMENTÁLNÍ CHRONICKÁ INTOXIKACE PRASAT FENYLMERKURICHLORIDEM

J. Raszyk, H. Dočekalová, J. Rubeš, S. Navrátil, J. Mašek, L. Rodák

RASZYK, J. — DOČEKALOVÁ, H. — RUBEŠ, J. — NAVRÁTIL, S. — MAŠEK, J. — RODÁK, L. [Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Brno]: *Experimentální chronická intoxikace prasat fenylmerkurichloridem*. Veter. Med. [Praha], 37, 1992 (7): 379—391.

K pokusu byly použity čtyři prasničky z jednoho vrhu, ve věku 70 dnů a o hmotnosti 20—24 kg. Dvě pokusné prasničky (P) přijímaly po dobu 130 dnů experimentální krmnou směs, která obsahovala fenylmerkurichlorid ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Dvě kontrolní prasničky (K) přijímaly tutéž krmnou směs bez fenylmerkurichloridu. Od 60. dne experimentu P začaly zaostávat v růstu a projevovaly se u nich nefyziologické postoje [psí posed], paréza pánevních končetin a nekoordinované pohyby. Od 70. dne pokusu měly zkalenou, oranžověhnědou moč a od 75. dne se u nich objevil průjem. Obsah rtuti (Hg) v moči a krevním séru nepravidelně kolísal [moč $0,58\text{--}2,15 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, krevní sérum $0,02\text{--}0,37 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$], ve výkalech se pohyboval od 23 do $26 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; došlo ke snížení koncentrace vitamínu A v krevním séru i v játrech. Zkrmování fenylmerkurichloridu vyvolalo u P mutagenní změny v periferních lymfocytech [zvýšení počtu aberantních buněk z 2—3 procent na 8—9 procent] a pokles hladin imunoglobulinů IgA, IgM a IgG v krevním séru. Patologické změny byly zjištěny na tračníku, ledvinách a játrech. U K nebyly žádné z výše uvedených změn zjištěny. U jedné pokusné prasničky byla zjištěna zvýšená rezistence k negativním účinkům Hg. Po 130 dnech trvání experimentu byly u P, ve srovnání s K, zvýšené koncentrace Hg v ledvinách $427\times$, v játrech $333\times$, ve střevě $106\times$, v pankreatu $71\times$, ve vaječniku $53\times$, ve svalích $50\times$, ve štětinách $47\times$ a v mozku $16\times$. K intravitální diagnostice intoxikace fenylmerkurichloridem lze využít štětiny, trus, moč a krev.

prase; ekotoxikologie; mořené obilí; rtuť; deprese růstu; motorické poruchy; průjem; chromozomální aberace; imunosuprese; vitamín A; diagnostika

Zkrmování obilí mořeného Agronalem je v ČSFR zakázané již od roku 1974 výnosem MZVŽ ČR čj. 741/74. Přesto opakovaně dochází k porušování tohoto zákazu a následným otravám hospodářských zvířat (Sedláček aj., 1986).

Agronal obsahuje jako účinnou látku organickou sloučeninu rtuti, fenylmerkurichlorid ($\text{C}_6\text{H}_5 \cdot \text{HgCl}$). Používá se k suchému a kombinovanému moření osiva proti houbovým chorobám.

Cílem práce bylo zjistit, jak fenylmerkurichlorid, uměle přidaný do komerční krmné směsi pro prasata v přípravku Agronal, ovlivňuje zdravotní stav prasat, a to v průběhu 130denního podávání. K objektivnímu zhodnocení zdravotního stavu prasat bylo průběžně využíváno široké spektrum klinických i laboratorních metod.

Experimenty byly provedeny u 4 prasniček z jednoho vrhu, křížencek plemen bílé ušlechtilé (BU) × landrase (L). Do experimentu byly prasničky zařazeny ve věku 70 dnů a o hmotnosti 20–24 kg. Prasničky byly odchovány ve Výzkumném ústavu veterinárního lékařství v Brně. V jednom kotci 1,7 × 1,3 m byly umístěny dvě prasničky téže skupiny, přístup k vodě (samočinné napáječky) i ke krmným směsím (samokrmítka) měly *ad libitum*.

Kontrolní prasničky (č. 34 a 41) přijímaly komerční kompletní krmné směsi (KKS) určené pro výkrm prasat (A₁, A₂), výrobní krmných směsí Ch., podle receptur platných v roce 1985. Jejich základem je pšenice (42–44 %) a ječmen (40–43 %).

Pokusné prasničky (č. 35 a 43) přijímaly experimentální krmnou směs (EKS), která byla připravena tak, že do 100 kg krmné směsi A₁ či A₂ (vždy stejné výrobní šarže jako ty, které byly zkrmovány kontrolními prasničkám) bylo důkladně zamícháno 200 g Agronalu.

Agronal (výrobce Chemopetrol — koncernový podnik, Spolana, Neratovice), je červený až červenohnědý prášek charakteristického zápachu, na vzduchu stálý, ve vodě prakticky nerozpustný, obsahující jako účinnou látku 2 % organicky vázané rtuti jako fenylmerkurichlorid ve směsi s minerálními plnidly.

Fenylmerkurichlorid (C₆H₅HgCl) obsahuje 64 % elementární rtuti. V jednom kg EKS by mělo být obsaženo 40 mg fenylmerkurichloridu, což je 25,6 mg elementární rtuti. Během celého trvání experimentu (130 dnů) přijímaly kontrolní prasničky KKS. Skutečný obsah rtuti v obou krmných směsích (KKS, EKS) byl v průběhu experimentu vyšetřován osmkrát (1., 19., 28., 38., 49., 68., 87. a 120. den trvání pokusu).

Klinické vyšetřování prasniček, včetně měření rektální teploty, se provádělo denně. Hmotnost prasniček byla zjišťována vážením v týdenních intervalech.

Moč k laboratornímu vyšetření byla odebírána katetrem, a to v průběhu celého experimentu čtyřikrát (19., 38., 68. a 87. den trvání pokusu).

Výkaly k laboratornímu vyšetření byly zachycovány při přirozené defekaci prasniček do připravených umělohmotných sáčků. V průběhu celého experimentu třikrát (19., 68. a 87. den trvání pokusu).

Krev k laboratornímu vyšetření byla získávána odběrem z *v. cava cranialis* ke stanovení biochemických ukazatelů a koncentrace rtuti v krevním séru celkem pětkrát (19., 38., 68., 87. a 120. den trvání pokusu), k cytogenetickému a imunologickému vyšetření dvakrát (35. a 130. den pokusu).

Měření rektální teploty, odběry moče, výkalů a krve byly prováděny ráno mezi 8. a 9. hodinou.

Štětiny prasniček, získané ostriháním z hřbetní části těla, byly laboratorně vyšetřeny dvakrát (68. a 130. den pokusu). Štětiny byly 48 h propírány v 1% roztoku saponátového prostředku JAR, opláchnuty pod tekoucí vodou, promyty v destilované vodě a vysušeny při laboratorní teplotě.

Obsah rtuti byl určen v krmných směsích, moči, výkalech, štětinách, krevním séru a tělesných orgánech prasniček. Rtuť byla stanovena na přístroji Trace Mercury Analyzer (TMA 254), výrobce Vysoká škola chemicko-technologická v Praze, s využitím techniky generace par kovové rtuti s následným zachycením a obohacením v amalgátoru. TMA 254 je jednoúčelový spektrometr, který stanovuje rtuť přímo, bez předchozí mineralizace.

K mikroskopickému vyšetření močového sedimentu se používala jedna kapka suspence moče, která se přenesla na podložní sklíčko, přikryla krycím sklíčkem a prohlížela při přivřeném cloně při 300násobném zvětšení. K získání suspence moče se postupovalo tak, že 10 ml moče se 10 min šetrně odstřeďovalo (1000 ot. min⁻¹), po odstředění se ve zkumavce ponechal sediment a 0,4 ml moče; suspence moče byla vytvořena zvřením močového sedimentu ve zbytku moče.

V krevním séru prasniček bylo stanoveno 14 biochemických parametrů: celková bílkovina, močovina, glukóza, vápník, hořčík, anorganický fosfor, železo; aktivitu aminotransferázy aspartátu (AST), aminotransferázy alaninu (ALT) a alkalické fosfatázy (ALP) jsme zjišťovali s použitím Bio-La-testů (Lachema Brno). Koncentrace albuminu byla stanovena metodou podle Rodkeye (1965) v Dvořákově (1981) modifikaci. Koncentrace vitamínu A a E byly stanoveny fluorometricky podle Thompsona aj. (1973). 11-hydroxykortikosteroidy (11-OHCS) byly určovány fluorometrickou metodou podle Mattinglyho (1962) modifikovanou Purvesem a Sirettovou (1969).

Při cytogenetickém vyšetření byl u prasniček stanoven počet nestabilních strukturálních chromozomálních aberací (zlomy, výměny, gapy) v metafázích získaných kultivací periferních lymfocytů. U každé prasničky bylo vyšetřeno 100 prvních metafází od stimulace buněk fytohemaglutininem. První metafáze umožnila rozlišit současně použití metody diferenciálního barvení sesterských chromatid. Lymfocyty byly kultivovány 48 h v médiu EPL s obsahem 20 % teleciho séra a $5 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$ média bromo-2-deoxyuridinu (Brd U). Na poslední dvě hodiny kultivace byl přidán kolcemid v koncentraci $1 \mu\text{g} \cdot \text{ml}^{-1}$. Preparáty byly zhotoveny běžnou technikou. Pro získání diferenciálního barvení sesterských chromatid jsme použili techniky podle Perryho a Wolffa (1974). U každé prasničky jsme spočítali frekvenci výměn sesterských chromatid (SCEs) ve 25 druhých metafázích a stanovili počet zlomů, výměn, gapů a aberantních buněk ve 100 prvních metafázích. Za aberantní buňku jsme považovali buňku nesoucí jednu nebo více aberací bez ohledu na kategorii sledovaných strukturálních chromozomálních změn, s výjimkou gapů.

Ke stanovení imunoglobulinů tříd IgG, IgM a IgA byla použita metoda radiální imunodifúze v agarovém gelu (Mancini aj., 1965). Způsob přípravy a testování specifity antisér použitých při tomto vyšetření popsal Rodák (1984). Jako kontroly sloužilo 20 vzorků krevních sér zdravých výkrmových prasat (z chovu J.) a směsný vzorek těchto sér. Koncentrace jednotlivých tříd imunoglobulinů v krevních sérech sledovaných prasniček byly vyjádřeny v procentech hodnot směsného kontrolního vzorku.

Koncentrace vitamínu A v játrech byla určována fluorometricky postupem (Thompson aj., 1971) po předcházející saponifikaci (Senyk aj., 1975).

Získané výsledky byly vyhodnoceny běžnými matematicko-statistickými postupy. V textu práce jsou uváděny aritmetické průměry $\pm$ směrodatné odchylky.

VÝSLEDKY

OBSAH RTUTI V KONTROLNÍ A EXPERIMENTÁLNÍ KRMNĚ SMĚSI

Obsah rtuti v kontrolní krmné směsi (KKS), kterou přijímaly kontrolní prasničky (č. 34 a 41) se pohyboval od 0,144 do 0,381 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; průměrný obsah činil $0,212 \pm 0,088 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($n = 8$).

Obsah rtuti v experimentální krmné směsi (EKS), kterou přijímaly pokusné prasničky (č. 35 a 43) se pohyboval od 22,866 do 35,360 $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; průměrný obsah činil $29,991 \pm 5,000 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ ($n = 8$).

Obsah rtuti v EKS byl v průměru $141\times$ vyšší než v KKS.

PŘÍRŮSTKY HMOTNOSTI TĚLA U KONTROLNÍCH A POKUSNÝCH PRASNIČEK

Při zahájení experimentu (70. den věku prasniček) činila hmotnost kontrolních prasniček 23 kg (č. 34) a 20 kg (č. 41). Hmotnost pokusných prasniček byla 24 kg (č. 35) a 21 kg (č. 43).

Prvních 60 dnů trvání experimentu byl růst obou skupin prasniček vyrovnaný. 60. den činila hmotnost kontrolních prasniček 58 kg (č. 34) a 55 kg (č. 41). Hmotnost pokusných prasniček byla 59 kg (č. 35) a 55 kg (č. 43).

Od 60. dne experimentu začaly pokusné prasničky zaostávat v růstu, a to prasnička č. 35 mírně a prasnička č. 43 výrazně. Při ukončení experimentu (130. den trvání pokusu) činila hmotnost kontrolních prasniček 104 kg (č. 34), 96 kg (č. 41). Hmotnost pokusných prasniček byla 90 kg (č. 35) a 68 kg (č. 43).

Průměrný denní přírůstek hmotnosti těla za celou dobu trvání experimentu (130 dnů) činil u kontrolních prasniček 0,62 kg (č. 34) a 0,58 kg (č. 41). U pokusných prasniček byl 0,51 kg (č. 35) a 0,36 kg (č. 43).

Ve skupině kontrolních prasniček bylo za 130 dní trvání experimentu zkrmeno 520 kg KKS. Průměrná spotřeba KKS na jeden krmný den a prasničku činila 2,00 kg.

Ve skupině pokusných prasniček bylo za 130 dní trvání experimentu zkrmeno 450 kg EKS. Průměrná spotřeba EKS na jeden krmný den a prasničku činila 1,73 kg.

KLINICKÉ VYŠETŘENÍ KONTROLNÍCH A POKUSNÝCH PRASNIČEK

Během prvního měsíce experimentu se pokusné prasničky v klinických projevech neodlišovaly od prasniček kontrolních.

Od 30. dne pokusu se pokusné prasničky stávaly apatické, větší dobu ležely a neochotně vstávaly. Přibližně od 60. dne trvání pokusu zaujímaly nefyziologické postoje (psí posed), při chůzi se u nich projevovala částečná paréza pánevních končetin a nekoordinované pohyby (potácivá chůze). Na kůži břicha se u nich objevily mírně vyvýšené zarudlé skvrny, které později splývaly do mapovitých útvarů. Svědění nebylo pozorováno. Kožní změny jsme klinicky diagnostikovali jako pityriázu. Asi od 75. dne trvání experimentu měly pokusné prasničky průjem.

Rektální tělesná teplota kolísala u obou skupin prasniček od 38,3 do 39,2 °C. U pokusných prasniček tedy nedošlo v průběhu celého pokusu ke zvýšení rektální teploty (nad 39,5 °C). U pokusné prasničky č. 43 byly klinické změny výrazněji vyjádřené než u pokusné prasničky č. 35.

U kontrolních prasniček se žádné z výše uvedených změn (apatie, nefyziologické postoje, částečná paréza pánevních končetin, nekoordinované pohyby, pityriáza, průjem) v průběhu celého experimentu nevyskytly.

VYŠETŘENÍ MOČE

Při mikroskopickém vyšetření močového sedimentu byly u pokusných prasniček zachyceny změny již od 38. dne trvání pokusu. Ojedinelé byly zjišťovány epitelie ledvinných kanálků, leukocyty 5—15 a erythrocyty 10—25 v zorném poli. Přechodně byly zjišťovány i granulované válce. U kontrolních prasniček nebyly v sedimentu moče nalézány epitelie ledvinných kanálků a granulované válce. Počet leukocytů se pohyboval do 3 a počet erythrocytů do 6 v zorném poli.

Zhruba od 70. dne trvání experimentu se u pokusných prasniček začal měnit vzhled moče; stávala se zkalenější, oranžověhnědé barvy. Výraznější změny konzistence a zabarvení moče byly zjištěny u pokusné prasničky č. 43. Moč kontrolních prasniček byla čirá, slámověžluté barvy po celou dobu trvání experimentu.

U kontrolních prasniček koncentrace rtuti v moči kolísala od 0,005 do 0,077 mg.l⁻¹; průměrná koncentrace činila 0,044 ± 0,027 mg.l⁻¹ (n = 8). U pokusných prasniček se koncentrace rtuti v moči pohybovala od 0,585 do 2,147 mg.l⁻¹; průměrná koncentrace činila 1,147 ± 0,486 mg.l⁻¹ (n = 8). U pokusných prasniček byla průměrná koncentrace rtuti v moči 27× vyšší než u kontrolních prasniček.

U pokusných prasniček nebyl zaznamenán trend ke zvyšování koncentrace rtuti v moči s délkou trvání experimentu.

Zhruba od 75. dne experimentu měly pokusné prasničky průjem. Jejich výkaly byly řídké konsistence, žlutozelené barvy, výrazně páchnoucí. Silnější průjem měla pokusná prasnička č. 43. Výkaly kontrolních prasniček byly hrudkovité konsistence, hnědozelené barvy, obvyklého zápachu po celou dobu trvání experimentu.

U kontrolních prasniček se obsah rtuti v nativních výkalech pohyboval od 0,29 do 0,37 mg · kg⁻¹, průměrný obsah činil $0,31 \pm 0,04$ mg · kg⁻¹ ($n = 6$). U pokusných prasniček kolísal obsah rtuti ve výkalech od 23 do 26 mg · kg⁻¹, průměrný obsah činil $24 \pm 1,4$ mg · kg⁻¹ ($n = 6$). U pokusných prasniček byla průměrná koncentrace rtuti ve výkalech 77× vyšší než ve výkalech kontrolních prasniček.

VYŠETŘENÍ KRVĚ

U kontrolních prasniček obsah rtuti v krevním séru kolísal od 0,001 do 0,009 mg · l⁻¹, průměrná koncentrace činila $0,003 \pm 0,002$ mg · l⁻¹ ($n = 10$). U pokusných prasniček se koncentrace rtuti v krevním séru pohybovala v rozmezí od 0,025 do 0,375 mg · l⁻¹, průměrná koncentrace byla $0,147 \pm 0,100$ mg · l⁻¹ ($n = 10$). U pokusných prasniček byla průměrná koncentrace rtuti v krevním séru 49× vyšší než u kontrolních prasniček. U pokusných prasniček nebyl zaznamenán trend ke zvyšování koncentrace rtuti v krevním séru s délkou trvání experimentu.

Mezi prasničkami kontrolními a pokusnými byly zjištěny rozdíly v hladinách vitamínu A, albuminu, 11-hydroxykortikosteroidů (11-OHCS), anorganického fosforu a aktivitě alkalické fosfatázy (ALP) v krevním séru.

Obsah vitamínu A v krevním séru se u pokusných prasniček pohyboval od 0,28 do 1,05 μmol · l⁻¹, průměrná hodnota činila $0,71 \pm 0,27$ μmol · l⁻¹ ($n = 10$). U kontrolních prasniček od 0,98 do 1,40 μmol · l⁻¹, průměrná koncentrace $1,08 \pm 0,15$ μmol · l⁻¹ ($n = 10$). Výraznější pokles vitamínu A v krevním séru byl zjišťován u pokusné prasničky č. 43 (68. den 0,28 μmol · l⁻¹; 87. den 0,32 μmol · l⁻¹).

Sérová hladina albuminu kolísal u obou skupin prasniček v rozmezí 26–36 mmol · l⁻¹. U pokusné prasničky č. 43 byl od 68. dne až do konce pokusu zaznamenán výrazný pokles albuminu v krevním séru (16–18 mmol · l⁻¹).

Hodnoty 11-OHCS v krevním séru se nacházely u obou skupin prasniček v rozmezí 160–320 nmol · l⁻¹. U pokusné prasničky č. 43 byly 68. a 87. den experimentu zjištěny výrazně zvýšené hodnoty 11-OHCS (445 a 505 nmol · l⁻¹). U pokusné prasničky č. 35 došlo k mírnějšímu vzestupu 11-OHCS pouze 87. den experimentu (382 nmol · l⁻¹).

Hladina anorganického fosforu v krevním séru se u obou skupin prasniček pohybovala v rozmezí od 1,8 do 2,6 mmol · l⁻¹. U pokusné prasničky č. 43 byl od 68. dne až do konce experimentu zaznamenán výrazný pokles anorganického fosforu v krevním séru (1,2–1,6 mmol · l⁻¹).

Aktivita ALP v krevním séru kolísal u obou skupin prasniček od 2,17 do 3,34 μkat · l⁻¹. U pokusné prasničky č. 43 bylo od 68. dne až do konce pokusu zjištěno výrazné snížení ALP v krevním séru (0,66–1,17 μkat · l⁻¹).

V ostatních sledovaných biochemických parametrech nebyly mezi pokusnými a kontrolními prasničkami zjištěny rozdíly.

35. den trvání pokusu byl cytogenetický nález u kontrolních a pokusných prasniček obdobný. Počet aberantních buněk se pohyboval od 2 do 3 %, počet zlomů chromozómů od 2 do 3 % a počet výměn sesterských chromatid na buňku od 6 do 7.

Při ukončení experimentu (130. den) se nález u kontrolních prasniček nezměnil, zatímco u pokusných prasniček (v pořadí č. 35, č. 43) se počet aberantních buněk zvýšil na 8 a 9 %, počet zlomů chromozómů na 7 a 8 % a počet výměn sesterských chromatid na buňku na 8 (u obou stejně).

IMUNOLOGICKÉ VYŠETŘENÍ

35. den trvání pokusu se hladiny sledovaných imunoglobulinů (IgG, IgM, IgA) v krevním séru u kontrolních a pokusných prasniček neodlišovaly. Zjištěné hodnoty byly obdobné jako u směsného kontrolního vzorku.

Při ukončení experimentu (130. den) došlo u pokusných prasniček, ve srovnání s kontrolami, ke snížení hladin sérových imunoglobulinů. Výrazný pokles byl zjištěn u pokusné prasničky č. 43 (vymizení IgA, pokles IgM o 90 %, pokles IgG o 65 %), zatímco u pokusné prasničky č. 35 byl pokles sérových imunoglobulinů pouze mírný (pokles IgA o 15 %, pokles IgM o 10 %, nezměněné hladiny IgG). Hodnoty sérových imunoglobulinů u kontrolních prasniček byly i 130. den trvání pokusu obdobné jako u směsného kontrolního vzorku.

VYŠETŘENÍ ŠTĚTIN

68. den trvání pokusu bylo ve štětínách kontrolních prasniček (směsný vzorek) stanoveno $0,130 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ rtuti a ve štětínách pokusných prasniček (směsný vzorek) $2,260 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ rtuti.

Při ukončení experimentu (130. den) bylo ve štětínách kontrolních prasniček stanoveno toto množství rtuti: $0,069 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (č. 34) a $0,157 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (č. 41). U pokusných prasniček bylo množství rtuti ve štětínách výrazně zvýšené: $5,430 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (č. 35) a $5,130 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (č. 43).

Obsah rtuti ve štětínách pokusných prasniček byl průměrně $47\times$ vyšší než ve štětínách kontrolních prasniček.

PATOLOGICKO-ANATOMICKÉ VYŠETŘENÍ

Patologické změny byly zjištěny pouze u pokusných prasniček, a to na tračníku, ledvinách a játrech.

Na tračníku byly nastříklé cévy, krváceniny a ložiskovité nekrotické změny na sliznici.

Ledviny pokusných prasniček byly enormě zvětšené (prasnička č. 35, pravá ledvina 380 g, levá ledvina 415 g; prasnička č. 43, pravá ledvina 220 g, levá ledvina 250 g), světle žluté barvy, křehčí konsistence, povrch měly rozbrázděný rýhami. Hmotnost ledvin obou kontrolních prasniček se pohybovala od 145 g do 160 g.

Játra pokusných prasniček byla nezvětšená, hnědožluté barvy, tužší konsistence.

I. Obsahy rtuti v tělesných orgánech a svalovině ($\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) u prasniček (č. 35, 43) přijímajících 130 dnů krmnou směs s fenylmerkurichloridem ($40 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) a u prasniček kontrolních (č. 34, 41) přijímajících tutéž krmnou směs bez fenylmerkurichloridu — Mercury contents in body organs and muscles (mg/kg) in gilts (N. 35, 43) administered a feed mixture containing phenylmercury chloride ($40 \text{ mg}/\text{kg}$) for 130 days, and in control gilts (N. 34, 41) fed the same mixture but without phenylmercury chloride

Tělesné orgány, svalovina ¹	Kontrolní prasničky ²		Pokusné prasničky ³	
	č. 34	č. 41	č. 35	č. 43
	[Hg $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$]		[Hg $\text{mg} \cdot \text{kg}^{-1}$]	
Ledvina ⁴	0,188	0,141	69,301	70,750
Játra ⁵	0,125	0,119	48,563	32,731
Střevo ⁶	0,011	0,011	1,356	0,976
Pankreas ⁷	0,028	0,029	2,684	1,315
Vaječník ⁸	0,021	0,028	1,488	1,048
Svaly ⁹	0,007	0,005	0,365	0,235
Střevní mizní uzliny ¹⁰	0,121	0,049	1,545	3,870
Mozek ¹¹	0,016	0,026	0,339	0,315
Kůže ¹²	0,031	0,039	0,650	0,290
Hřbetní tuk ¹³	0,025	0,042	0,049	0,084

¹body organs, muscles, ²control gilts, ³experimental gilts, ⁴kidney, ⁵liver, ⁶guts, ⁷pancreas, ⁸ovary, ⁹muscles, ¹⁰intestinal lymph nodes, ¹¹brain, ¹²skin, ¹³backfat

OBSAH RTUTI V TĚLESNÝCH ORGÁNECH A SVALOVINĚ

Průměrné obsahy rtuti byly u pokusných prasniček, ve srovnání s kontrolami, zvýšené v ledvinách 427×, v játrech 333×, ve střevě 106×, v pankreatu 71×, ve vaječníku 53×, ve svalech 50×, ve střevních mizních uzlinách 32×, v mozku 16×, v kůži 13× a ve hřbetním tuku dvakrát (tab. I).

VYŠETŘENÍ JATER NA OBSAH VITAMÍNU A

U kontrolních prasniček byl obsah vitamínu A v játrech $327 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (č. 34) a $352 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (č. 41). U pokusných prasniček byl obsah vitamínu A v játrech redukován, $283 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (č. 35) a $298 \mu\text{mol} \cdot \text{kg}^{-1}$ (č. 43).

DISKUSE A ZÁVĚR

Komerční krmné směsi (A₁, A₂), kterými byly krmeny kontrolní prasničky, obsahovaly rovněž určité množství rtuti (průměrně $0,21 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$). Tato situace nebyla v roce 1985, kdy se naše experimenty uskutečnily, nijak neobvyklá. V letech 1983–1986 jsme v šesti velkochovech prasat okresu H. vyšetřili celkem 35 vzorků komerčních kompletních krmných směsí pro prasata a zjistili jsme v nich průměrnou koncentraci rtuti $0,23 \pm 0,49 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ (R a s z y k a j., 1989). Jako zdroje rtuti v krmných směsích jsou uváděny mořené obilí, rybí moučka a terakotová drť (Z i m a a j., 1983). Z nich největší význam má právě mořené obilí (M a c h ý č e k, 1985).

K moření pšenice proti sněti mazlavé a ječmene proti tvrdé sněti ječné a helmintosporioze lze použít přípravek Agronal. Fungicidní rtuťnatý přípravek Agronal se aplikuje v dávce 200 g na 100 kg osiva (0,2% koncentrace). Stejnou koncentraci jsme použili při přípravě experimentální krmné směsi pro prasničky.

Zkrmování obilí mořeného Agronalem hospodářským zvířatům je v ČSFR zakázáno již od roku 1974. Přesto opakovaně dochází k porušování tohoto zákazu a k následným otravám hospodářských zvířat (Hlavsová aj., 1981; Márová aj., 1984). Intoxikace prasat se podílí na onemocnění prasat 1,9—3,2 %. Přitom otrava prasat vyvolaná zkrmováním mořeného obilí je na třetím místě, a to za intoxikacemi chloridem sodným a návnadovými jedy (Sedláček aj., 1986).

Agronal obsahuje jako účinnou látku fenylmerkurichlorid ($C_6H_5.HgCl$), který patří mezi aryllderiváty truti. Organické sloučeniny rtuti se dobře vstřebávají z trávicího ústrojí, dýchacího ústrojí a pronikají kůží. Prostupují přes hematoencefalickou bariéru a placentu. Kumulují se v ledvinách a játrech. Vylučování organické rtuti z organismu je pomalejší než anorganické rtuti a uskutečňuje se především střevem a ledvinami (Piskáč aj., 1985).

Při otravě těžkými kovy nastává nejprve reakce s -SH skupinami glutathionu, který chrání buňky před účinkem iontů těžkých kovů. Organické sloučeniny rtuti reagují s -SH skupinami bílkovin méně pevně nebo vůbec ne, a tím se odlišují ve svých toxických účincích od ostatních těžkých kovů (Musil, 1981).

Deprese růstu se u pokusných prasniček projevila až po 60 dnech přijímání experimentální krmné směsi s fenylmerkurichloridem, a to výrazněji u prasničky č. 43. Tryphonas a Nielsen (1970) prokázali u prasat depresi růstu při dávce 0,76 mg fenylmerkurichloridu na kg tělesné hmotnosti a dávce vyšší. Pokusná prasnička denně průměrně přijala 1,73 kg experimentální krmné směsi; v tomto množství krmiva bylo přibližně 50 mg elementární rtuti.

Z klinických příznaků dominovaly u pokusných prasniček dva nálezy, a to motorické poruchy a průjem. Motorické poruchy pravděpodobně jsou způsobeny proniknutím rtuti přes hematoencefalickou bariéru do mozku. V mozečku pokusných prasniček byly zjištěny 16× vyšší koncentrace rtuti, než v mozečku kontrolních. Mozeček koordinuje svalová smrštění při pohybech, udržuje svalový tonus a podílí se na řízení rovnováhy.

U prasat je však zjištěno, že k mozkové tkáni mají větší afinitu alkylrtuťnaté sloučeniny než arylrtuťnaté. Jestliže po příjmu alkylrtuťnatých sloučenin dosáhne koncentrace rtuti v mozku prasat hodnotu $14 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$, je to vždy spojeno s klinickými příznaky a vážnými patologickými lézemi, ve kterých je primární nekróza neuronů (Tryphonas a Nielsen, 1973).

Druhým výrazným příznakem otravy prasat fenylmerkurichloridem je průjem. Rtuťnatý iont je z organismu vylučován i cestou tlustého střeva. Příímým působením rtuti dochází ve střevní sliznici ke koagulační nekróze epitelu. Nekrotické změny jsou následně prohlubovány působením střevních bakterií (Tryphonas a Nielsen, 1973).

Při otravě prasat fenylmerkurichloridem mají dominantní postavení ledviny. V močovém sedimentu pokusných prasniček byly zjišťovány epitelie ledvinných kanálků, granulované válce a zvýšené počty leukocytů

a erytrocytů. Tyto nálezy provázejí zánětlivé a degenerativní pochody v ledvinách.

U člověka se uvádí „normální“ hodnota rtuti v moči do $0,02 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (David, 1980). U kontrolních prasniček byla průměrná hodnota rtuti v moči vyšší, a to $0,04 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Obsah rtuti v moči pokusných prasniček nepravidelně kolísal od $0,58$ do $2,15 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. U prasat je hodnota rtuti v moči přesahující limit $0,30 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ považována za diagnosticky významný příznak otravy rtutí (Buck, 1975).

Ledviny pokusných prasniček byly, ve srovnání s kontrolními, enormně zvětšené. Relativní hmotnost obou ledvin kontrolních prasniček byla $0,29 \%$ (č. 34) a $0,33 \%$ (č. 41), zatímco relativní hmotnost obou ledvin pokusných prasniček činila $0,88 \%$ (č. 35) a $0,69 \%$ (č. 43). V ledvinách pokusných prasniček byla zjištěna nejvyšší koncentrace rtuti ze všech sledovaných orgánů (kolem $70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$), která přesahovala koncentraci rtuti v ledvinách kontrolních prasniček více než 400násobně.

Tryphonas a Nielsen (1970) zjišťovali patologické léze v ledvinách prasat tehdy, jestliže denní dávky fenymerkuriu, podávané po pět týdnů, byly $2,28$ a $4,56 \text{ mg}$ na kg hmotnosti těla. Nižší dávky než $2,28 \text{ mg}$ na kg hmotnosti těla patologické léze v ledvinách nevyvolaly. Hlavním histologickým nálezem v ledvinách byly nekrózy tubulárních buněk a různá stadia nekrotických či regeneračních procesů v epitelu proximálních tubulů.

Pokusná prasnička denně vyloučila $1,5$ – $2,0$ litry moče. Průměrný obsah rtuti v moči u ní byl $1,17 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$. Denně se její organismus mohl močí zbavit kolem $1,7$ – $2,3 \text{ mg}$ rtuti, což je asi $3,4$ – $4,6 \%$ jejího denního příjmu rtuti.

Pokusná prasnička denně průměrně vyprodukovala $1,5 \text{ kg}$ výkalů. Průměrný obsah rtuti ve výkalech pokusné prasničky činil $24 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. Denně mohla výkaly vyloučit kolem 36 mg rtuti, což je 72% jejího denního příjmu. Rtuť obsažená ve výkalech je však tvořena ze dvou částí. Jednu část tvoří rtuť nevstřebaná z krmiva a druhou tvoří rtuť vyloučená do střeva. Usuzujeme, že při zkrmování obilí mořeného Agronalem prasatům nepřesahuje vstřebatelnost rtuti ze střeva více než 30% .

Průměrná koncentrace rtuti v krevním séru pokusných prasniček byla $0,147 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$, byla tedy $8\times$ nižší než v jejich moči. U lidí je uváděno, že u organické rtuti nehrozí otrava, pokud koncentrace rtuti v krvi nepřesáhla hodnotu $0,01 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ (David, 1980).

Ze zjištěných změn biochemických parametrů považujeme za nejdůležitější pokles vitamínu A v krevním séru pokusných prasniček, který korespondoval s nižšími koncentracemi vitamínu A v játrech. Snížení tělesných rezerv vitamínu A se může negativně podílet na rezistenci střevní sliznice, a tím nepřímo zvyšovat její prostupnost pro rtuť.

Další zjištěné změny v krevním séru, a to hypoalbuminémie, hypofosforémie, vzestup kortikoidů a pokles aktivity alkalické fosfatázy byly znamenány pouze u jedné pokusné prasničky (č. 43). Tato prasnička měla výrazněji vyjádřené motorické poruchy, přetrvával u ní úpornější průjem a výrazněji zaostávala v růstu.

Na hypoalbuminémii se pravděpodobně nejvíce podílela ztráta albuminu z vnitřního prostředí ledvinami (nefróza) a střevem (průjem), méně pak snížený příjem krmiva. Hypofosforémie nastala zřejmě v důsledku poruchy vstřebávání fosforu ze střeva. U ovcí otrávených chloridem rtuť-

natým se zjistilo zvýšené vylučování alkalické fosfatázy močí (Piskač aj., 1985). Zvýšení kortikoidů je nespecifickým projevem zvýšené zátěže organismu, se kterou se organismus pokouší vyrovnat.

Za nejvýznamnější nález považujeme zjištění, že zkrmování fenylnmerkurichloridu prasatům u nich vyvolává výrazné mutagenní změny. Frekvence chromozomálních aberací nám přitom slouží jako kvantitativní indikátor genetického poškození. U prasat chovaných v přijatelných hygienických podmínkách by počet aberantních buněk neměl přesáhnout 3 % (Rubeš aj., 1988). Tyto hodnoty byly zjištěny u kontrolních prasniček 130. den trvání pokusu, zatímco u pokusných prasniček se počet aberantních buněk zvýšil na 8–9 %. Mutagenní účinky organických sloučenin rtuti byly prokázány na myších a lidských periferních lymfocytech (Šrám aj., 1987; Šrám, 1989). Nález zvýšeného počtu chromozomálních aberací nám spolehlivě diagnostikuje, že zvířata byla v posledních 3–4 měsících exponována cizorodou látkou s mutagenními vlastnostmi (Rubeš, 1987; Rubeš aj., 1988).

Výrazný pokles imunoglobulinů v krevním séru byl zjištěn u pokusné prasničky č. 43, zatímco u druhé pokusné prasničky č. 35 byl pouze mírný. Imunosupresivní účinky organické rtuti u myši, krysa a králíků uvádí Koller (1979). Je postižena produkce protilátek, ale ne fagocytární aktivita makrofágů. Určité oslabení imunitního systému pokusných prasniček může být v souvislosti se skutečností, že pouze u nich se v průběhu pokusu vyskytly na kůži změny, které jsme klinicky diagnostikovali jako *pityriasis rosea*. Tyto změny po třech týdnech spontánně vymizely. Podle některých představ se za původce pityriasy považuje *Malassezia furfur*, patřící mezi kvasinkovité organismy (Vařejka aj., 1989).

Obsah rtuti ve štětinách pokusných prasniček se s délkou trvání pokusu zvyšoval (68. den trvání pokusu 2,26 mg . kg⁻¹; 130. den 5,13 a 5,43 mg . kg⁻¹). Štětiny tedy představují velmi vhodný materiál k intravitální diagnostice intoxikace prasat rtutí. U kontrolních prasniček se obsah rtuti ve štětinách pohyboval od 0,07 do 0,16 mg . kg⁻¹. U 75 klinicky zdravých výkrmových prasat, chovaných ve velkochovech, o tělesné hmotnosti 90 až 120 kg bylo ve štětinách stanoveno 0,35 ± 0,41 mg . kg⁻¹ (Raszyk aj., 1988), tedy hodnoty podstatně vyšší, než u kontrolních prasniček. Také toto zjištění dokládá, že rtuť „proniká“ do krmiva prasat. Je proto žádoucí věnovat této problematice trvalou pozornost. Ukládání rtuti ve štětinách je z hlediska zdraví prasat příznivý jev, protože jde o jednu z dalších cest vylučování rtuti z vnitřního prostředí organismu prasat.

Při otravě prasat fenylnmerkurichloridem jsou hlavní patologické nálezy zjišťovány na tračníku, ledvinách a játrech. Jejich podkladem jsou v tračníku nekrotické změny, v ledvinách regresivní procesy a v játrech hydropická degenerace (Tryphonas a Nielsen, 1970).

Předpokládali jsme, že u pokusné prasničky č. 43, u které probíhaly klinické příznaky intoxikace mnohem výrazněji, budou zjištěny vyšší koncentrace rtuti v jednotlivých tělesných orgánech. Usuzovali jsme, že jde o prasničku se sníženou schopností detoxikačních mechanismů, která nedostatečně a opožděně vylučuje rtuť z organismu. K našemu překvapení byly u prasničky č. 43 v sedmi sledovaných orgánech (z deseti) nižší koncentrace rtuti, než u pokusné prasničky č. 35. Obě pokusné prasničky jsou z jednoho vrhu, od narození až po ukončení experimentu měly

všechny vnější podmínky shodné. Přesto se však významně odlišovaly v odolnosti vůči intoxikaci rtuť. Hlavní rozdíl mezi oběma prasničkami byl v odpovědi jejich imunitního systému. U prasničky č. 43 prakticky došlo ke zhroucení humorální imunity (vymizení IgA, pokles IgM o 90 procent a IgG o 65 %), zatímco u prasničky č. 35 byl pokles sérových imunoglobulinů pouze mírný. Tento náález dokládá, jak důležité je studium podstaty interindividuálních rozdílů v odpovědi organismu na působení kontaminantů.

Organická rtuť se u pokusných prasniček především kumuluje v ledvinách a játrech. Rádi bychom upozornili i na její hromadění ve žlázách s vnitřní sekrecí, a to v pankreatu a vaječníku. Následné poruchy funkce těchto endokrinních orgánů (u pankreatu navíc i exokrinního) se mohou negativně projevovat jak v produkci, tak i reprodukci prasat.

Dlouhodobé zkrmování krmné směsí s fenylmerkuriem (FMC) působí u prasat motorické poruchy, průjem a depresi růstu. Vstřebatelnost FMC (za daného uspořádání pokusu) pravděpodobně nepřekračuje 30 %, z organismu prasat se rtuť (Hg) vylučuje převážně střevem, ledvinami pouze do 5 %. Obsah Hg v moči a krvi v průběhu intoxikace FMC nepravidelně kolísá. FMC působí u prasat silně mutageně; snižuje obsah vitamínu A v játrech i v krvi, poškozuje tračník, ledviny a játra. Hlavním místem kumulace Hg v organismu prasat jsou ledviny ($70 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$) a játra; ledviny se zvětšují dvojnásobně až trojnásobně. K intravitální diagnostice otravy prasat FMC je vhodná analýza štetin, moče, výkalů (neinvazní metody) a krve (invazní metoda) na obsah Hg. Orientačně lze použít následující limity. Zvýšení koncentrace Hg ve štetinách a výkalech nad $0,5 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$; v moči nad $0,19 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ a v krevním séru nad $0,02 \text{ mg} \cdot \text{l}^{-1}$ nás informuje o otravě prasat FMC. Je nutné počítat s interindividuálními rozdíly v odpovědi prasat na FMC. U vnímavých jedinců může FMC působit silně imunosupresivně (zvláště na humorální imunitu). Z hlediska ochrany zdraví prasat je nutné zabránit pronikání rtuť do chovů prasat (především nezkrmovat mořené obilí). Limit pro Hg v krmných směsích je $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$. K zabezpečení ochrany zdraví lidí je nutné kontrolovat obsah Hg ve svalovině a orgánech jatečných prasat. V současnosti je pro Hg stanoven limit ve svalovině $0,01 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$ a vnitřních orgánech $0,1 \text{ mg} \cdot \text{kg}^{-1}$.

Literatura

- BUCK, W. B.: Metallic poisons, coal—tar poisoning and perirenal edema. In: DUNNE, H. W. — LEMAN, A. D. (eds): Diseases of swine. 4. vyd. Ames, The Iowa State University Press 1975, s. 835—853.
- DAVID, A.: Rtuť: toxikologicko-hygienická charakteristika. In: BARDODĚJ, Z. a kol.: Expoziční testy v průmyslové toxikologii. 1. vyd. Praha, Avicenum 1980, s. 259—264.
- DVOŘÁK, M.: Stanovení koncentrace albuminu v krevní plazmě prasat s použitím bromkrezolové zeleně. Veter. Med. (Praha), 26, 1981, s. 481—489.
- HLAVSOVÁ, D. — TUČEK, J. — ČERVENÝ, V. — DUDÁČEK, K.: Sledování reziduí obsahu rtuť u skotu po zkrmování obilí mořeného Agronalem H. Českoslov. Hyg., 26, 1981, s. 75—79.
- KOLLER, L. D.: Effects of environmental contaminants on the immune system. Adv. Veter. Sci. Comp. Med., 23, 1979, s. 267—295.
- MACHÝČEK, V.: Ochrana zdraví zvířat ke zdravé potravíně. Veterinářství, 35, 1985, s. 51.
- MANCINI, G. — CARBONARA, A. O. — HEREMANS, J. F.: Immunochemical quantitation of antigens by single radial immunodiffusion. Immunochemistry, 2, 1965, s. 235—254.
- MÁROVÁ, M. — OLIVERIUSOVÁ, J. — KALOUS, F.: Nálezy rtuť v biologickém mate-

- riálu ze Středočeského kraje v roce 1982 a 1983. [Výzkumná práce.] Praha, Ústřední státní veterinární ústav 1984, 17 s.
- MATTINGLY, O.: A simple fluorimetric method for the estimation of free 11-hydroxy-cortisosteroids in human plasma. *J. clin. Path.*, 15, 1962, s. 374—379.
- MUSIL, J.: Chemické příčiny vzniku chorobných procesů. In: MUSIL, J.: Základy biochemie chorobných procesů. 1. vyd. Praha, Avicenum 1981, s. 219—241.
- PERRY, P. — WOLFF, S.: Differential staining of sister chromatids and the study of sister chromatid exchanges without autoradiography. *Chromosoma*, 48, 1974, s. 341—353.
- PISKAČ, A. — KAČMÁR, P. a kol.: Veterinární toxikologie. 1. vyd. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1985, 256 s.
- PURVES, H. D. — SIRETT, N. E.: The fluorimetric estimation of cortisol in human plasma. *Austral. J. exp. Biol. med. Sci.*, 47, 1969, s. 589—599.
- RASZYK, J. — MAŠEK, J. — DOČEKALOVÁ, H.: Obsahy chemických prvků ve štetinách výkrmových prasat. *Veter. Med. [Praha]*, 33, 1988, s. 273—279.
- RASZYK, J. — GAJDŮŠKOVÁ, V. — MAŠEK, J. aj.: Obsahy chemických prvků, pesticidů, polychlorovaných bifenyliů a aflatoxinu B₁ v krmných směsích, napájecí vodě a stájo-vém sedimentovaném prachu ve velkochovech prasat. *Českoslov. Hyg.*, 34, 1989, s. 201 až 206.
- RODÁK, L.: Application of radio-immunological methods for checking the quality of class-specific antibodies against bovine and porcine immunoglobulins. *Veter. Immunol. Immunopath.*, 5, 1984, s. 377—387.
- RODKEY, F. L.: Direct spectrophotometric determination of albumin in human serum. *Clin. Chem.*, 11, 1965, s. 478—487.
- RUBEŠ, J.: Chromosomal aberrations and sister-chromatid exchanges in swine. *Mutat. Res.*, 191, 1987, s. 105—109.
- RUBEŠ, J. — RASZYK, J. — HOŘINOVÁ, Z. aj.: Monitorování chromozomálních mutací prasat ve velkochovech. *Veter. Med. [Praha]*, 33, 1988, s. 143—150.
- SEDLÁČEK, O. — DRÁPAL, J. — KUBÍN, I. — HALAŠA, M. aj.: Současný zdravotní stav hospodářských zvířat, volně žijící zvířata, ryb, včel v oblastech ČSSR s různou intenzitou působení emisí, imisí a odpadních vod. ÚSVÚ Praha, ÚSVÚ Bratislava 1986. 93 s.
- SENYK, G. F. — GREGORY, J. F. — SHIPE, W. F.: Modified fluorometric determination of vitamin A in milk. *J. Dairy Sci.*, 58, 1975, s. 558—560.
- ŠRÁM, R. a kol.: Dědičnost a člověk. 1. vyd. Praha, Státní pedagogické nakladatelství 1987. 256 s.
- ŠRÁM, R.: Genetické riziko životního prostředí. *Věda a Život*, 34, 1989, s. 38—40.
- THOMPSON, J. N. — ERDODY, P. — BRIEN, R. — MURRAY, T. K.: Fluorometric determinations of vitamin A in human blood and liver. *Biochem. Med.*, 5, 1971, s. 67—89.
- THOMPSON, J. N. — ERDODY, P. — MAXWELL, W. B.: Simultaneous fluorometric determinations of vitamins A and E in human serum and plasma. *Biochem. Med.*, 8, 1973, s. 403—414.
- TRYPHONAS, L. — NIELSEN, N. O.: The pathology of arylmercurial poisoning in swine. *Can. J. comp. Med.*, 34, 1970, s. 181—190.
- TRYPHONAS, L. — NIELSEN, N. O.: Pathology of chronic alkylmercurial poisoning in swine. *Amer. J. Veter. Res.*, 34, 1973, s. 379—392.
- VAREJKA, F. — MRÁZ, O. — SMOLA, J.: Speciální veterinární mikrobiologie. 1. vyd. Praha, Státní zemědělské nakladatelství 1989. 264 s.
- ZIMA, S. — ČELECHOVSKÁ, O. — SYNEK, O.: Potenciální riziko výskytu rtuti v potravinách živočišného původu a krmivech. *Českoslov. Hyg.*, 28, 1983, s. 260—267.

Došlo dne 19. 8. 1991

RASZYK, J. — DOČEKALOVÁ, H. — RUBEŠ, J. — NAVRÁTIL, S. — MAŠEK, J. — RODÁK, L. [Veterinary Research Institute, Brno]: *Experimental chronic phenylmercury chloride intoxication in pigs*. *Veter. Med. [Praha]*, 37, 1992 [7]: 379—391.

Four gilts, sisters from one litter, aged 70 days and weighing 20—24 kg, were used for a trial. Two experimental gilts (P) were administered an experimental feed mixture containing phenylmercury chloride [40 mg/kg]. Two control gilts (K) were fed the same mixture but without phenylmercury chloride. P gilts began to lag behind in their growth from day 60 of the experiment, they manifested nonphysiological postures [dog's sitting posture], paresis of hind limbs and uncoordinated movements. P gilts had cloudy, orange-brown urine from day 70 and from day 75 they began to suffer from diarrhoea. Mercury (Hg) contents in urine and blood serum of P gilts were irregularly variable:

urine 0.58—2.15 mg/l, blood serum 0.02—0.37 mg/l. Hg content in excrements of P gilts fluctuated from 23 to 26 mg/kg. Vitamin A concentrations in blood serum and liver decreased in P gilts. Phenylmercury chloride feeding caused mutagenic changes in peripheral lymphocytes of P gilts (an increase in the number of aberrant cells from 2—3 % to 8—9 %) and reduced IgA, IgM and IgG immunoglobulin levels in blood serum. Pathological lesions were observed in the colon, kidneys and liver. None of the above-mentioned changes were observed in K gilts. Increased resistance to the negative effects of Hg was found in one experimental gilt. In comparison with K gilts, Hg concentrations in P gilts after 130 days of the experiment increased as follows: 427 times in kidneys, 333 times in liver, 106 times in guts, 71 times in pancreas, 53 times in ovaries, 50 times in muscles, 47 times in bristles and 16 times in the brain. Bristles, excrements, urine and blood can be used for intravital diagnostics of mercury poisoning.

pig; ecotoxicology; dressed grains; mercury; growth depression; motor disorders; diarrhoea; chromosomal aberrations; immunosuppression; vitamin A; diagnostics

Adresa autorů:

MVDr. Josef R a s z y k, CSc., RNDr. Hana D o č e k a l o v á, CSc., MVDr. Jiří R u b e š, CSc., MVDr. Stanislav N a v r á t í l, CSc., RNDr. Josef M a š e k, CSc., MVDr. Ladislav R o d á k, CSc., Výzkumný ústav veterinárního lékařství, Hudcova 70, 621 32 Brno

Upozorňujeme čtenáře a zájemce o odbornou zemědělskou literaturu, že Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství ve spolupráci se zemědělským nakladatelstvím Brázda vydává

NAUČNÝ SLOVNÍK ZEMĚDĚLSKÝ

13. díl (písmeno Z)

Publikace je posledním dílem zemědělské encyklopedie, vyjde v rozsahu asi 700 stran, předpokládaná cena je 190 Kčs.

Objednávky na tuto publikaci vyřizuje Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, oddělení naučného slovníku a terminologie, Slezská 7, 120 56 Praha 2.

ÚČINOK OPAKOVANEJ APLIKÁCIE KARBETOCÍNU (DEPOTOCIN, SPOFA) V PRVÝCH DŇOCH PO PÔRODE NA KONCENTRÁCIE TYROXÍNU, TRIJÓD TYRONÍNU, 17 BETA-ESTRADIOLU, PROGESTERÓNU A NA KONCEPCIU BAHNÍC

E. Bekeová, M. Krajničáková, V. Hendrichovský, I. Maraček

BEKEOVÁ, E. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. — HENDRICHOVSKÝ, V. — MARAČEK, I. (Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Účinok opakovanej aplikácie karbetocínu (Depotocin, Spofa) v prvých dňoch po pôrode na koncentrácie tyroxínu, trijódtyronínu, 17 beta-estradiolu, progesterónu a na koncepciu bahníc*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (7): 393—404.

V práci sme sledovali vplyv opakovanej aplikácie karbetocínu (Depotocin inj. Spofa) na koncentrácie tyroxínu (T_4), trijódtyronínu (T_3), 17 beta-estradiolu (E_2), progesterónu (P_4) a ich vzájomnú korelačnú závislosť u bahníc po pôrode (p. p.) pri súbežnom odsledovaní karbetocínom indukovaných zmien na koncepciu bahníc s provokovanou rujou v 51. dni p. p. Devätnásť bahníc plemena slovenské merino, obahnených v prvej dekáde februára, vo veku 3—5 rokov, po 2—3 predchádzajúcich pôrodoch sme rozdelili na skupinu pokusnú ($n=9$) a kontrolnú ($n=10$). Bahniciam pokusnej skupiny sme za 24 h [i. m.] a 72 h p. p. [s. c.] aplikovali karbetocin v dóze a 0,07 mg. V 51. dni p. p. sme u 9 zvierat z každej skupiny navodili ruju Agelínom a PMSG. V deň aplikácie PMSG boli bahnice umiestnené k baranom na dobu 6 dní. Koncentrácie T_4 u pokusnej skupiny mali po 21. dni p. p., v porovnaní k vzostupnej tendencii u kontrol, charakter poklesu so signifikantnosťou medziskupinových rozdielov (SMR) v 51. dni ($P < 0,01$). Vyššie koncentrácie T_3 so SMR v 21. dni ($P < 0,01$) sme zistili v pokusnej skupine. Pri podobnej dynamike poklesu sme vyššie priemerné koncentrácie E_2 so SMR v 36. h, v 4. a 25. dni p. p. ($P < 0,05$), zaznamenali u pokusných bahníc. Na rozdiel od epizodického vzostupu koncentrácií P_4 u kontrol v 34. dni p. p., sme u pokusných bahníc, pri jeho celkovo vyšších koncentráciách u tejto skupiny, zistili od 25. dňa p. p. trvalý, pozvoľný vzostup až do 51. dňa. V porovnaní k zabreznutiu 5 bahníc z 9 u kontrol a pôrodom 6 jahniat zabrezlo v pokusnej skupine 9 zvierat s pôrodom 16 jahniat. Predpokladáme, že aplikovaný karbetocin indukciou zmien tyroidných a ovariálnych hormónov pozitívne vplýval na involučné procesy uteru.

bahnice; puerperium; karbetocin; tyroxín; trijódtyronín; 17 beta-estradiol; progesterón

Skrátenie popôrodného a sezónneho anestrického obdobia oviec pri zachovaní ich aktuálneho zdravia sa javí jednou z rezerv optimálneho využitia ich reprodukčnej výkonnosti. Uvedenú problematiku možno komplexne riešiť v kontexte zavádzania nových biotechnických a biotechnologických prvkov a postupov do organizácie riadenia pohlavnej činnosti. Nové postupy v oblasti riadenia sexuálnych funkcií si vyžadujú rozšírenie

doterajších poznatkov o popôrodnom endokríniu resp. endogénnych faktoroch zahrnutých v popôrodnej fyziológii pohlavnej činnosti.

Podľa údajov posledných rokov, oxytocín mimo uterotonického a luteolytického pôsobenia účinkuje ako ovariálny faktor v lokálnej intrafolikulárnej regulácii steroidogenézy a modulátor uterínnej sekrécie prostaglandínov (Roy a Karim, 1983; Gregoraszczyk a i., 1988).

V maternici krýs bola mimo PGF_2 alfa dokázaná produkcia PGE_2 , PGD_2 a 6-oxo- PGF_1 alfa ako hlavný metabolit PGL_2 . Schopnosť uteru produkovať tieto prostaglandíny varíruje v závislosti od dňa estrálneho cyklu (Ham a i., 1975; Fenwick a i., 1977).

Prostaglandíny stimuláciou produkcie hypotalamického TRH a adeno-hypofyzárneho TSH (Kasting a Martin, 1984) vplyvajú na syntézu a uvoľňovanie tyroxínu a trijódtyronínu, ktorých úloha v syntéze a produkcii adeno-hypofyzárnych gonadotropínov, steroidných hormónov a stimulácii uterínnej responzibility k pôsobeniu agonistov bola dokázaná v experimentálnych i klinických pozorovaniach (Wang a i., 1980; Tanaka a i., 1981; Benelli a i., 1982; Medeiros a Calixto, 1989).

V náväznosti na súčasné poznatky o účinkoch oxytocínu sme predkladanú prácu robili s cieľom štúdia vplyvu opakovanej aplikácie karbetocínu (Depotocin inj. Spofa) v intervaloch 24 a 72 h po pôrode na dynamiku zmien koncentrácií tyroxínu, trijódtyronínu, 17 beta-estradiolu a progesterónu a ich vzájomnú korelačnú závislosť od 36. h do 51. dňa po pôrode. Súbežne sme sledovali účinok aplikovaného karbetocínu na koncepciu bahníc po navodení ruje v 51. dni po obahnení.

MATERIÁL A METÓDY

POKUSNÉ ZVIERATÁ

Sledovanie sme robili u 19 oviec plemena slovenské merino s priemernou hmotnosťou 40–50 kg, vo veku 3–5 rokov po 2–3 pôrodoch, obahnených v prvej dekáde februára. Kŕmna dávka bola zostavená podľa ČSN 47 7070. Pozostávala zo siláže, sena a repy s prídavkom kŕmnej zmesi BAK, voda a dobytčia soľ *ad libitum*.

METÓDY OŠETRENIA

Z daného počtu 19 oviec sme deväť oviec zaradených do pokusnej skupiny po pôrode opakovane ošetrili karbetocínom (12--0-methyltyroxín/deamino-1-karbo-oxytocín; Depotocin inj. Spofa) v dóze $\bar{a}$ 0,07 mg na zviera. Prvú dávku sme aplikovali *i. m.* za 24 h, druhú *s. c.* za 72 h po pôrode. V 51. dni po pôrode sme u 9 bahníc z každej skupiny navodili ruju intravaginálnou aplikáciou polyuretánových tampónov s obsahom 20 mg chlórsuperlutinu (Agelin, pošvové tampóny, Spofa). Po desiatich dňoch pôsobenia sme tampóny odstránili a každé zo zvierat ošetrili s PMSG v dávke 500 m. j. na zviera. Od dňa aplikácie PMSG boli bahnice držané spolu s baranmi počas ďalších 6 dní. Od dátumu pripustenia sme určili očakávaný termín pôrodu. Podľa počtu obahnených zvierat sme spätne určili koncepcieschopnosť u oboch skupín zvierat.

ODBER BIOLOGICKÉHO MATERIÁLU

Vzorky krvi sme odoberali punkciou *v. jugularis* 24 h pred pôrodom (–1. deň), do 36 h po pôrode, v 4., 7., 14., 17., 21., 25., 34., 42. a 51. dni po obahnení vždy medzi 9.–10. hodinou. Krvné séra získané centrifugáciou boli uskladnené v polyetylénových skúmavkách pri teplote -18°C .

Koncentrácie tyroxínu, trijádtyronínu, 17 beta-estradiolu a progesterónu sme v krvnom sére stanovili radioimunologickými metódami pri použití komerčných RIA súprav, RIA-test-T₄, RIA-test-T₃, RIA-test-ESTRA a RIA-test-PROG (ÚRVJT, Košice).

MATEMATICKO-ŠTATISTICKÉ METÓDY

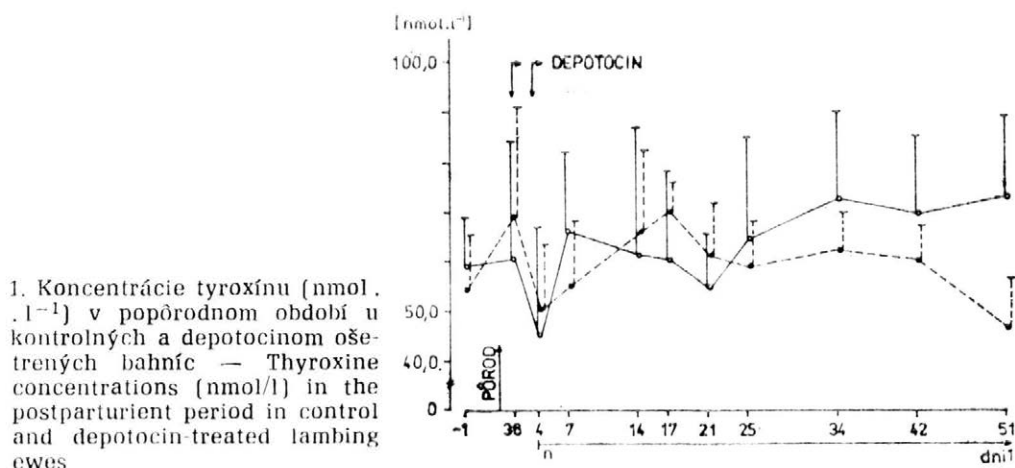
Štatistickú významnosť diferencí medzi hodnotami sledovaných parametrov zistených v -1. dni a v ostatných dňoch experimentu ako aj medziskupinovú signifikantnosť diferencí sme určili Studentovým *t*-testom. Vzájomnú závislosť sledovaných parametrov v jednotlivých dňoch sledovania sme určili výpočtom korelačného koeficientu (*r*) a jeho štatistickej významnosti.

VÝSLEDKY

Hodnoty koncentrácií T₄ zistené u oboch skupín a jeho dynamické zmeny prezentujeme v tab. I a obr. 1, z ktorých vyplýva, že štatisticky nepreukazne vyššie hodnoty koncentrácie T₄ do 21. dňa *p. p.* sme vo väčšine prípadov zistili v pokusnej skupine zvierat. Po 21. dni sledovania mali jeho hodnoty u tejto skupiny zvierat na rozdiel od pozvoľného vzostupu u kontrol, charakter trvalého poklesu. Signifikantný medziskupinový rozdiel v koncentráciách T₄ sme zistili v 51. dni po pôrode (*P* < 0,01).

V koncentráciách T₃ [tab. I, obr. 2], pri jeho vyšších priemerných hodnotách v rozsahu celého sledovania u pokusných bahníc, sme medziskupinovú signifikanciu rozdielov zaznamenali v 4., 17. a 25. dni pri *P* < 0,05 a v 21. dni pri *P* < 0,01. Podobne ako u T₄ mali koncentrácie T₃ u pokusnej skupiny od 17. dňa zostupnú a u kontrol vzostupnú tendenciu.

K štatisticky preukaznému poklesu koncentrácií E₂ [tab. 1, obr. 3] u oboch skupín došlo už v 36. h pozorovania (*P* < 0,001).



Vysvetlivky pre obr. 1—4 — Explanatory notes to Figs. 1—4:

○ — — — — ○ kontrolná skupina bahníc — control group of lambing ewes
 ● — — — — ● pokusná skupina bahníc — experimental group of lambing ewes
 †days

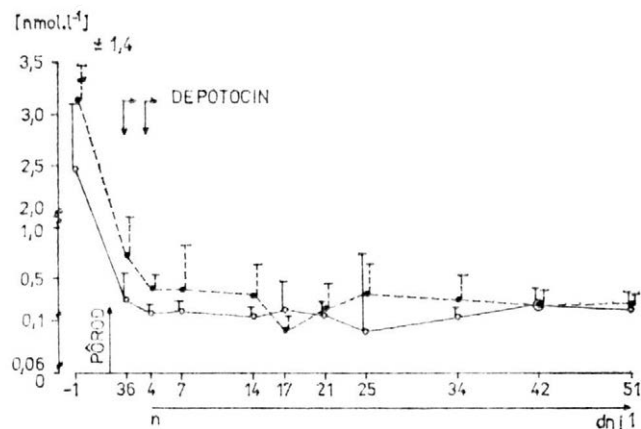
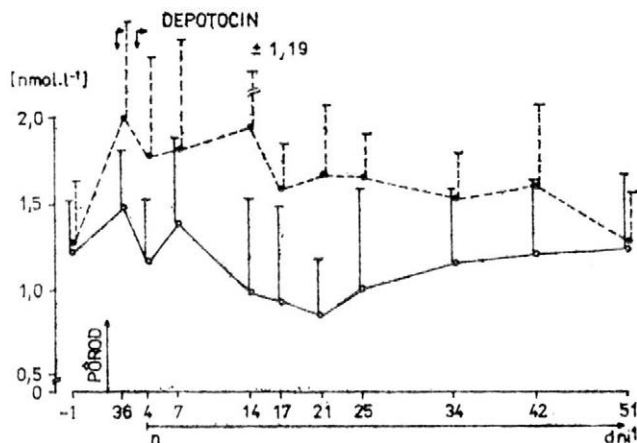
I. Koncentrácie tyroxínu (T_4), trijódotyronínu (T_3), 17 beta-estradiolu (E_2) a progesterónu (P_4) v popôrobnom období kontrolných a pokusných bahníc — Concentrations of thyroxine (T_4), triiodothyronine (T_3), 17 beta-estradiol (E_2) and progesterone (P_4) in the postparturient period of control and experimental lambing ewes

Dni ¹	Koncentrácia ² (nmol.l ⁻¹)							
	kontrola ³				pokús ⁴			
	T_4	T_3	E_2	P_4	T_4	T_3	E_2	P_4
—1	59,4 ± 9,69	1,22 ± 0,33	2,45 ± 0,65	9,46 ± 3,44	54,61 ± 11,07	1,27 ± 0,37	3,13 ± 1,4	11,74 ± 3,92
36 h	60,68 ± 23,44	1,48 ± 0,34	0,30 ^f ± 0,24	0,05 ⁱ ± 0,08	69,64 ± 21,68	2,0 ± 0,55	0,73 ^{f'} ± 0,34	1,37 ^{i'} ± 0,85
4	45,66 ± 21,61	1,17 ^b ± 0,36	0,17 ^g ± 0,09	0,061 ± 0,14	50,53 ± 12,87	1,78 ^{b'} ± 0,57	0,4 ^{g'} ± 0,14	0,26 ± 0,31
7	66,38 ± 13,57	1,39 ± 0,50	0,19 ± 0,09	0,07 ± 0,1	55,27 ± 13,08	1,81 ± 0,6	0,4 ± 0,42	0,12 ± 0,09
14	61,48 ± 25,54	0,99 ± 0,54	0,13 ± 0,09	0,03 ± 0,07	66,05 ± 16,37	1,94 ± 1,19	0,33 ± 0,3	0,08 ± 0,1
17	60,79 ± 17,97	0,94 ^c ± 0,55	0,20 ± 0,27	0,04 ± 0,1	70,5 ± 5,81	1,59 ^{c'} ± 0,26	0,09 ± 0,15	0,06 ± 0,09
21	54,89 ± 11,06	0,85 ^d ± 0,32	0,15 ± 0,12	0,06 ± 0,16	61,58 ± 10,3	1,67 ^{d'} ± 0,4	0,02 ± 0,25	0,06 ± 0,07
25	64,68 ± 20,08	1,04 ^e ± 0,59	0,089 ^h ± 0,076	0,04 ± 0,14	59,05 ± 8,72	1,65 ^{e'} ± 0,25	0,36 ^{h'} ± 0,28	0,12 ± 0,11
34	72,84 ± 17,44	1,16 ± 0,43	0,12 ± 0,07	0,96 ± 2,82	62,41 ± 7,65	1,53 ± 0,26	0,30 ± 0,23	0,53 ± 0,76
42	69,81 ± 15,54	1,21 ± 0,43	0,24 ± 0,15	0,57 ± 0,08	60,18 ± 6,94	1,61 ± 0,46	0,23 ± 0,16	0,34 ± 0,83
51	73,02 ^a ± 16,24	1,24 ± 0,44	0,20 ± 0,15	0,02 ± 0,07	46,8 ^{a'} ± 9,92	1,26 ± 0,29	0,26 ± 0,09	0,77 ± 1,27

Signifikantnosť medziskupinových rozdielov hodnotená Studentovým *t*-testom: a : a'; b : b'; c : c'; e : e'; f : f'; g : g'; h : h' — $P < 0,05$; d : d'; i : i' — $P < 0,01$ — Significance of differences between the groups evaluated by Student's *t*-test: a : a'; b : b'; c : c'; e : e'; f : f'; g : g'; h : h' — $P < 0,05$; d : d'; i : i' — $P < 0,01$

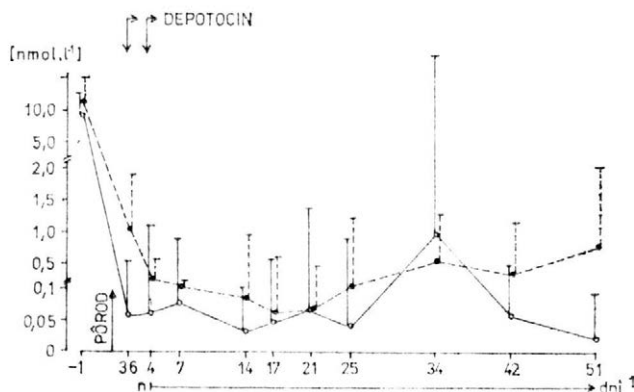
¹days, ²concentration, ³control, ⁴experiment

2. Koncentrácie trijódotyronínu (nmol.l^{-1}) v popôrobnom období u kontrolných a depotocinom ošetrovaných bahnič — Triiodothyronine concentrations (nmol/l) in the postparturient period in control and depotocin-treated lambing ewes



3. Koncentrácie 17 beta-estradiolu (nmol.l^{-1}) v popôrobnom období u kontrolných a depotocinom ošetrovaných bahnič — 17 beta-estradiol concentrations (nmol/l) in the postparturient period in control and depotocin-treated lambing ewes

4. Koncentrácie progesterónu (nmol.l^{-1}) v popôrobnom období u kontrolných a depotocinom ošetrovaných bahnič — Progesterone concentrations (nmol/l) in the postparturient period in control and depotocin-treated lambing ewes



II. Vzájomný vzťah tyroxínu (T_4), trijódotyronínu (T_3), 17 beta-estradiolu (E_2) a progesterónu (P_4) vyjadrený korelačným koeficientom (r) a jeho štatistickou významnosťou v popôrobnom období u bahníc kontrolnej skupiny — Interrelationships of thyroxine (T_4), triiodothyronine (T_3), 17 beta-estradiol (E_2) and progesterone (P_4) expressed in form of correlation coefficients (r) and their statistical significance in the postparturient period in lambing ewes of the control group

Dni ¹	Korelačný koeficient ² (r)					
	$T_4 : E_2$	$T_4 : P_4$	$T_4 : T_3$	$T_3 : E_2$	$T_3 : P_4$	$E_2 : P_4$
-1	-0,58123	-0,8688	0,1806	0,36078	0,3207	0,8710
36 h	0,18992	0,2532	0,6571	0,7495*	-0,1516	-0,1529
4	-0,50837	0,0926	0,4296	-0,4619	0,1966	-0,8083*
7	0,44733	0,3705	0,5729	0,4269	0,3560	0,1786
14	0,56928	0,6873	0,7410*	0,3330	0,8987**	0,4733
17	0,00294	0,2754	0,7693**	0,0890	0,3776	0,3918
21	-0,01937	0,5277	0,6180	0,3025	0,1292	0,1859
25	0,19763	—	0,3984	0,2418	0,1729	-0,1390
34	0,37302	0,3718	0,7398*	0,2541	0,1000	-0,0170
42	-0,06235	0,0150	0,6531*	0,1538	0,0045	-0,5712
51	0,21574	0,2201	-0,2237	0,2745	-0,0826	-0,2837

Štatistická významnosť korelácie: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,001$ — Statistical significance of correlations: * = $P < 0,05$; ** = $P < 0,001$

¹days, ²correlation coefficient

II. Vzájomný vzťah tyroxínu (T_4), trijódotyronínu (T_3), 17 beta-estradiolu (E_2) a progesterónu (P_4) vyjadrený korelačným koeficientom (r) a jeho štatistickou významnosťou v popôrobnom období u bahníc pokusnej skupiny — Interrelationships of thyroxine (T_4), triiodothyronine (T_3), 17 beta-estradiol (E_2) and progesterone (P_4) expressed in form of correlation coefficients (r) and their statistical significance in the postparturient period in lambing ewes of the experimental group

Dni ¹	Korelačný koeficient ² (r)					
	$T_4 : E_2$	$T_4 : P_4$	$T_4 : T_3$	$T_3 : E_2$	$T_3 : P_4$	$E_2 : P_4$
-1	—	0,9204	0,7124	—	-0,8987	—
36 h	0,5166	0,7204	0,7408	0,1694	0,9507*	0,4305
4	0,4028	-0,7230	0,4503	0,4927	-0,8708	0,3416
7	-0,6605	-0,4795	0,7294*	-0,3055	0,2707	0,2701
14	-0,3338	0,8548	0,8147*	-0,5652	0,8930	-0,9576
17	0,0151	0,1834	0,5342	-0,6936	0,5173	-0,1875
21	0,2958	0,1984	0,4892	0,4768	-0,5462	0,6063
25	0,9134*	-0,7633	0,7102*	0,8703	-0,7220	-0,8728
34	0,4345	0,2238	0,0784	0,3292	0,4392	0,8728
42	-0,2339	-0,4258	0,4572	0,4414	0,1230	0,8692*
51	-0,1877	-0,6169	0,5466	0,5962	0,4461	0,1758

Štatistická významnosť korelácie: * = $P < 0,05$ — Statistical significance of correlations: * = $P < 0,05$

For 1—2 see Tab. II

Pri podobnej dynamike poklesu E_2 v oboch skupinách sme jeho náznakové zvýšenie so širokou variáciou individuálnych hodnôt pozorovali u kontrol v 17. dni a v pokusnej skupine v 25. dni sledovania. Medzisúhrniskupinovú signifikantnosť diferencií sme zistili v 36. h v 4. a 25. dni *p. p.* ($P < 0,05$).

Koncentrácie P_4 (tab. I, obr. 4) u kontrol po signifikantnom poklese v 36. h po obahnení, s výnimkou epizodického vzostupu v 34. dni *p. p.* so širokým rozptylom individuálnych hodnôt, kolísali na temer nulových hodnotách až do konca sledovania. U pokusných bahnič (tab. I, obr. 4) mali jeho koncentrácie po 25. dni charakter pozvoľného, avšak trvalého vzostupu.

Signifikantnosť korelačných vzťahov sledovaných parametrov v kontrolnej skupine zvierat (tab. II) sme zistili vo vzťahoch $T_3 : E_2$ v 36. h po pôrode, $T_3 : P_4$ v 14. dni, $T_4 : T_3$ v 14., 17., 34. a 42. dni a $E_2 : P_4$ v 4. dni po obahnení, u zvierat pokusnej skupiny (tab. III) vo vzťahoch $T_4 : E_2$ v 25. dni, $T_3 : P_4$ v 36. h, $T_4 : T_3$ v 7., 14. a 25. dni a vo vzťahu $E_2 : P_4$ v 42. dni po pôrode.

Pri hodnotení výsledkov bahnenia sa v kontrolnej skupine z 9 zvierat, po navodení ruje v 51. dni po pôrode, obahnilo 5 bahnič s pôrodom 6 jahniat. V pokusnej skupine sa z 9 ošetrovaných obahnilo všetkých 9 bahnič s uliahnutím 16 jahniat.

DISKUSIA

Ako z výsledkov vyplýva, intermitentný vzostup a pokles koncentrácií tyroxínu a trijótýronínu trvajúci u zvierat kontrolnej skupiny do 7. dňa po pôrode bol vystriedaný trvalým poklesom až do 21. popôrodného dňa. Po 21. dni sme zaznamenali ich pozvoľný vzostup pretrvávajúci bez výraznejších dynamických zmien až do 51. postpartálneho dňa. Z endogénnych faktorov, ktoré sa svojím synchronným pôsobením môžu významne podieľať na zmenách dynamiky tyroidných hormónov v prvých hodinách a dňoch po pôrode (Bekeová a i., 1990) prichádzajú do úvahy ovariálne a placentárne hormóny a ich náhle disbalancie, pôrodný stres, laktácia a únik jódtyronínov do mliečnej žľazy a v neposlednej miere homeostatické mechanizmy regulujúce adaptáciu organizmu na zvýšené energetické požiadavky (Challis, 1971; Banovác a i., 1980; Fukuda, 1980; Langer a i., 1983; Riis a Madsen, 1985; Thorburn, 1987).

Podobne ako uvádzame v našich skôr publikovaných prácach (Bekeová a i., 1990; Krajničáková, 1990), v koncentráciách 17 beta-estradiolu a progesterónu sme u kontrolných zvierat zaznamenali ich prudký, štatisticky preukazný pokles ($P < 0,001$) už v prvých 36. h po pôrode. S výnimkou mierneho epizodického vzostupu koncentrácií 17 beta-estradiolu v 17. a 42. dni a progesterónu v 34. dni po pôrode sa koncentrácie oboch hormónov udržiavali na nízkych hladinách až do konca sledovania. Podľa autorov Burd a i., (1976) dramatické zníženie týchto hormónov súvisí s popôrodným zánikom feto-placentárnej jednotky. Jej odbúraním zaniká inhibičné pôsobenie placentárnych inhibin-like faktorov, estrogénov a progesterónu na hypotalamo-adenohypofyzárnu os (McLachlan a i., 1986; Wise a i., 1986) s vyústením do reštaurovania centrálného obsahu LH s dosiahnutím jeho cyklických hodnôt medzi 3. až 10. týždňom po pôrode a systémových hladín FSH už v priebehu 4. až 5. dňa po pôrode (Jenkin a i., 1977; Schirar a i., 1990; Nett, 1987; Schirar a Levasseur, 1989). Z výsledkov experimentov, v ktorých sa po hysterectomii uteru u bahnič, ovulácia vyskytla

približne o 16 dní po pôrode s normálnym vývojom a funkčnosťou žltého telieska, autori Schirar a Martinet (1982) a Schirar a i., (1989) usudzujú, že ovariálna aktivita po pôrode závisí vo veľkej miere od involúcie uteru. Mimo oviec je problematika puerpéria a možnosti jeho ovplyvňovania na pomerne dobrej úrovni rozpracovaná u hovädzieho dobytku a ošipaných, u kôz čiastočne (Eulenberger a i., 1987, 1990; Kudlač, 1989; Camp, 1991a, b; Wichtel, 1991; Greyling a Niekerk, 1991).

Napriek početným poznatkom o hormonálnych pomeroch v priebehu puerpéria je genéza nami zistených hormonálnych zmien u pokusnej skupiny bahníc, ktoré ako sa nazdávame, mali pozitívny vplyv na ich koncepciu po navodení ruje v 51. dni po pôrode, zatiaľ nejasná. Súčasné poznatky o popôrodnom endokríniu ponúkajú viacero variantných odpovedí.

Je známe, že na iniciovaní a udržiavaní laktácie sa podieľajú rastový hormón, hormóny štítnej žľazy, nadobličky, oxytocín a prolaktín. Posledné dva menované sa zdajú byť dominantnými laktogénmi faktormi (Varley a Foxcroft, 1990). Hypotyreóza navodená transferom hormónov štítnej žľazy do mlieka (Štrbák a i., 1978; Fukuda a i., 1980) po kumulovanej stimulácii laktácie endogénnym a nami aplikovaným Depotocínom, by mala viesť k zvýšenej produkcii TRH i TSH. Ich zvýšená produkcia, by sa mala spätne prejavíť na systémových koncentráciách tyroxínu a trijodtyronínu s komplexným pôsobením uvedených jodtyronínov na enzymatické systémy zaradené v steroidogenéze (Benelli a i., 1982; Hayashi a i., 1987). Uvedenej hypotéze zodpovedá v našej práci zistený intermitentný, dvojvrcholový vzostup koncentrácií tyroxínu a trijodtyronínu s predĺžením nástupu druhého vrcholu a pozvoľnejší pokles 17 beta-estradiolu, súvisiaci so znížením clearance estrogénov u pokusnej skupiny (Olivo a i., 1975; Ridgway a i., 1982). Pri takejto úvahe vyvstáva otázka úlohy prolaktínu stimulovaného s TRH (Lamming a i., 1974) po prirodzenej ale i Depotocínom navodenej hypotyreóze. V súčasnosti je prolaktín považovaný za faktor stimulujúci 5 alfa reduktázové systémy s vyústením do inhibície syntézy estrogénov a folikulárnej atrézie (Polan a Behrman, 1981). Objektivitou hypotézy, že v skupine oviec ošetrovaných karbetocínom došlo k určitej inhibícii steroidnej syntézy v prvých dňoch po pôrode môžu byť štatisticky významné pozitívne korelačné závislosti vo vzťahoch $T_3 : E_2$ a $T_3 : P_4$ v 36. h a v 14. dni a negatívna korelácia vzťahu $E_2 : P_4$ v 4. dni u kontrol a signifikantne pozitívna korelačná závislosť v pokusnej skupine len vo vzťahu $T_3 : P_4$ v 36. popôrodnej hodine. Nezodpovedená ostáva otázka klesajúcej tendencie oboch tyroidných hormonov po 17. resp. 21. dni u pokusných bahníc. Dynamika poklesu pri zachovaní vyšších priemerých hladín T_3 u ošetrovaných zvierat však mohla významne ovplyvniť syntézu estrogénov v druhej polovici sledovaného obdobia. Predpokladáme, že znížením koncentrácií T_4 v tejto fáze došlo k odbúraniu jeho inhibičného vplyvu na aromatázovú aktivitu indukovanú s FSH, pri súbežnom zvýraznení biologického efektu T_3 na bunkách granulózy vaječníka (Chan a Tan, 1986; Wakim a i., 1987). Predpoklad aktivizácie prepojenia štítnej žľazy — vaječník v druhej polovici sledovania čiastočne podporuje signifikantnosť korelácie vzťahu $T_4 : E_2$ v 25. dni a vzťahu $E_2 : P_4$ v 42. dni po obahnení u pokusných oviec.

Ďalšou z alternatív vysvetľujúcou pôsobenie opakovaného podania karbetocínu je jeho pozitívne pôsobenie na syntézu prostaglandínov. Prostaglandíny postsynapticke interakciou k adrenergickým synapsám na TRH neurónoch vplývajú na TSH sekréciu (Kasting a Martin, 1984) s jeho následným účinkom na sekréciu tyroxínu i trijodtyronínu.

Predpokladané zvýšené koncentrácie prostaglandínov po exogénnom prívode karbetocínu však mohli pôsobiť i v smere zvyšovania produkcie androgénov a ich aromatizácie (Dodson a Watson, 1977, 1980). Aromatizované androgény cestou zvýšenia extratyroidálnej konverzie tyroxínu na trijodtyronín (Chen a Wallich, 1978) mohli viesť k nami zistenému vzostupu systémových koncentrácií trijodtyronínu a poklesu tyroxínu.

Z výsledkov predpokladáme, že aplikovaný karbetocín cestou priameho alebo nepriameho vplyvu indukuje zmeny v syntéze a produkcii tyroidných hormónov, ktoré môžu významne zasahovať do produkcie ovariálnych steroidov a tým aj do popôrodných reštitučných procesov hypotalamo-adenohypofyzárno-ovariálneho komplexu a teda aj involučných procesov uteru s pozitívnym vplyvom na koncepcieschopnosť bahniíc v období anestrú.

Literatúra

- BANOVAC, K. — BZIK, L. — SEKSO, M. — PETEK, M.: Decreased ratio of serum T_3 : rT_3 in patients with hyperthyroidism. *Endokrinologie*, 71, 1980, s. 1959—1963.
- BEKEOVÁ, E. — ELEČKO, J. — KRAJNÍČKOVÁ, M. — HENDRICHOSKÝ, V. — MARAČEK, I.: Dynamika zmien koncentrácie cholesterolu tyroidných a ovariálnych hormónov krvného séra v postpartálnom období bahniíc. *Veter. Med. (Praha)*, 36, 1991, s. 673—684.
- BENELLI, CH. — MICHEL, O. — RAYMOND, M.: Effect of thyroidectomy on pregnenolone and progesterone biosynthesis in rat adrenal cortex. *J. steroid. Biochem.*, 16, 1982, s. 749—754.
- BURD, L. T. — LEMONS, J. A. — MAKOWSKI, E. T. — MESCHIA, G. — NISWENDER, G.: Mammary blood flow and endocrine changes during parturition in ewe. *Endocrinology*, 98, 1976, s. 748—754.
- CAMP, S. D. VAN: Understanding the processes of placental separation and uterine involution. *Veter. Med.*, 86, 1991a, s. 642—646.
- CAMP, S. VAN: Hormone use and the postpartum dairy cow. *Veter. Med.*, 86, 1991b, s. 640.
- DODSON, K. S. — WATSON, J.: Effect of prostaglandins on steroid production by pre-ovulatory pig follicles superfused *in vitro*. *IRCS Med. Sci.*, 5, 1977, s. 591.
- DODSON, K. S. — WATSON, J.: Stimulatory action of prostaglandin F_2 alpha on androgen aromatization in the pig follicle. *Europ. J. Obstet. Gynec. reprod. Biol.*, 11, 1980, s. 49—56.
- EULENBERGER, K. — STUBBE, J. — BOHME, W. — LIEBAUG: Zur metaphylaktischen und therapeutischen Anwendung eines Depotocin-Preparates im puerperium des Rindes. *Mouk. Veter. Med.*, 42, 1987, s. 738—742.
- EULENBERGER, K. — SCHULZ, J. — WOLF, M.: Metaphylaxis of puerperal disorders in cattle. *Dtsch. tierärztl. Wschr.*, 97, 1990, s. 387—390.
- FENNICK, L. — JONES, R. L. — NAYLOR, B. — POYSER, N. L. — WILSON, N. H.: Production of prostaglandins by the pseudopregnant rat uterus *in vitro*, and the effect of tamoxifen with the identification of 6-keto prostaglandin F_1 as a major product. *Brit. J. Pharmacol.*, 59, 1977, s. 191—199.
- FUKUDA, H. — OHSHIMA, K. — MORI, M. — KOBAYASHI, I. — GREER, M. A.: Sequential changes in the pituitary-thyroid axis during pregnancy and lactation in the rat. *Endocrinology*, 107, 1980, s. 1711—1716.
- GREGORASZCZUK, E. — STOKLOSOVA, S. — TARNAWSKA, M. — RZASA, J.: The effect of oxytocin on steroid hormone secretion by isolated porcine follicular cells in tissue culture. *Anim. Reprod. Sci.*, 17, 1988, s. 141—154.
- GREYLING, J. P. C. — NIEKERK, C. H. VAN: Involution of the post partum uterus of the Boer goat. *J. S. Afr. Veter. Assoc.*, 62, 1991, s. 4—9.

- HAM, E. A. — CIRILLO, V. J. — ZANETTE, M. E. — KUEHL, F. A.: Estrogen directed synthesis of specific prostaglandins in the rat uterus. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)*, 72, 1975, s. 1420—1424.
- HAYASHI, M. — MARUO, T. — MATSUO, H. — MOCHIZUKI, M.: Effect of thyroid hormone on steroidogenic enzyme induction in porcine granulosa cells cultured *in vitro*. *Folia endocrinol.*, 63, 1987, s. 1231—1240.
- CHALLIS, J. R. G.: Sharp in free circulating estrogens immediately before parturition in sheep. *Nature*, 229, 1971, s. 208—214.
- CHAN, W. K. — TAN, CH. H.: Inhibition of follicle-stimulating hormone induction of aromatase activity in porcine granulosa cells by thyroxine and triiodothyronine. *Endocrinology*, 119, 1986, s. 2353—2359.
- CHEN, H. S. — WALFISH, P. G.: Effects of estradiol benzoate on thyroid-pituitary. Function in female rats. *Endocrinology*, 103, 1978, s. 1023—1030.
- JENKIN, G. — HEAP, R. B. — SYMONS, D. B. A.: Pituitary responsiveness to synthetic LH-RH and pituitary LH content at various reproductive stages in the sheep. *J. Reprod. Fertil.*, 49, 1977, s. 207—214.
- KASTING, N. W. — MARTIN, J. B.: Endogenous prostaglandins effect growth hormone and thyrotropin release at a hypothalamic. Not a pituitary level. *Neuroendocrinology*, 39, 1984, s. 39—201.
- KRAJNÍČÁKOVÁ, M.: Niektoré morfológické, funkčné a hormonálne zmeny v popôrodo-
nom období oviec. [Kandidátska dizertácia.] Košice 1990, s. 56—60. — Ústav experi-
mentálnej veterinárnej medicíny.
- KUDLÁČ, E.: Fyziologie a patologie puerperia a ovlivňování reprodukčních funkcí
v postpartálním období u krav a prasnic. [Doktorská dizertace.] Brno 1989. — Vysoká
škola veterinární.
- LAMMING, G. E. — MOSELEY, S. R. — McNEILLY, J. R.: Prolactin release in sheep. *J. Reprod. Fertil.*, 40, 1974, s. 151—168.
- LANGER, P. — VIGAS, M. — KVTNANSKY, R. — FOLDES, D. — CULMAN, J.: Imme-
diate increase of thyroid hormone release during acute stress in rats: effect of bioge-
nic amines rather than that of TSH. *Acta Endocrinol.*, 104, 1983, s. 443—449.
- McLACHLAN, B. J. — HEALY, D. L. — ROBERTSON, D. M. — BURGER, H. G. — DE
KRETZER, D. M.: The human placenta: a novel source of inhibin. *Biochim. Biophys. Res. Commun.*, 140, 1986, s. 485—490.
- MEDEIROS, Y. S. — CALICTO, J. B.: Effect of induced disfunction upon uterine respon-
siveness in strips from pregnant and nonpregnant rats. *Pharmacology*, 38, 1989, s. 236
to 242.
- NETT, T. M.: Function of the hypothalamic-hypophyseal axis during the post-partum
period in ewes and cows. *J. Reprod. Fertil.*, 34, 1987, s. 201—213.
- OLIVO, J. — GORDON, G. G. — RAFII, F. — SOUTHERN, A. L.: Estrogen metabolism in
hyperthyroidism and in cirrhosis of the liver steroid. *Intern. J.*, 26, 1975, s. 47—56.
- POLAN, M. L. — BEHRMAN, H. R.: Prolactin-stimulated ovarian androgen metabolism.
Amer. J. Obstet. Gynecol., 39, 1981, s. 487—491.
- RIDGWAY, E. C. — MALOOF, F. — LONGCOPE, CH.: Androgen and oestrogen dynamics
in hyperthyroidism. *J. Endocrinol.*, 95, 1982, s. 105—115.
- RIIS, P. M. — MADSEN, A.: Thyroxine concentrations and secretion roles in relation
to pregnancy, lactation and energy balance in goats. *J. Endocrinol.*, 107, 1985, s. 421
to 427.
- ROY, A. C. — KARIM, S. M. M.: Interaction between oxytocin and prostaglandins in
reproduction. *Singapore J. Obstet. Gynecol.*, 14, 1983, s. 5—15.
- SCHIRAR, A. — MARTINET, J.: Post-partum ovarian activity and her interaction with
the uterus in resuming cyclic activity postpartum. *Curr. Top. Veter. Anim. Sci.*, 26,
1982, s. 20—67.
- SCHIRAR, A. — MEUSNIER, C. — PALY, J. — LEVASSEUR, H. C. — MARTINET, J.:
Resumption of ovarian activity in post-partum ewes: Role of the uterus. *Anim. Reprod. Sci.*, 19, 1989, s. 79—89.
- SCHIRAR, A. — LEVASSEUR, M. C.: Resumption of ovarian activity in post-partum
ewes: carry over effect of the corpus luteum of pregnancy. *Anim. Reprod. Sci.*, 19,
1989, s. 91—97.
- SCHIRAR, A. — COGNIE, Y. — LOUAULT, F. — POULIN, N. — MEUSNIER, C. — LE-
VASSEUR, M. C. — MARTINET, J.: Resumption of gonadotrophin release the post-par-
tum period in suckling and non-suckling ewes. *J. Reprod. Fertil.*, 88, 1990, s. 593—694.
- ŠTRBÁK, V. — MACHO, L. — UHERČÍK, D. — KLIMENT, V.: The effect of lactation on
thyroid activity of women. *Endocrinologie*, 72, 1978, s. 183—187.

TANAKA, T. — TAMAI, H. — KUMA, K. — KATSUZUKA, F. — HIDAKA, H.: Gonadotropin response to luteinizing hormone releasing hormone in hyperthyroid patients with menstrual disturbances. *Metabolism*, 30, 1981, s. 323—326.

THORBURN, G. D.: The orchestration of parturition: does the fetus play the tune? In: *Endocrinol. Physiol. Reprod.* LEUNG, P. C. — ARMSTRONG, D. T. — RUF, K. B. — MOGER, W. H. — FRIESEN, H. G. (eds): New York, Plenum Press 1987, s. 331—352.

VARLEY, M. A. — FOXCROFT, G. R.: Endocrinology of the lactating and weaned sow. *J. Reprod. Fertil.*, 40, 1990, s. 47—61.

WAKIM, N. G. — RAMANI, N. — RAO, CH. V.: Triiodothyronine receptors in porcine granulosa cells. *Amer. J. Obstet. Gynecol.*, 156, 1987, s. 237—240.

WANG, P. S. — LIV, T. C. — JACKSON, G. L.: Effects of thyroidectomy and thyroxine therapy on biosynthesis and release of luteinizing hormone by rat anterior pituitary glands *in vitro*. *Biol. Reprod.*, 23, 1980, s. 752—759.

WICHTEL, J. J.: When and why prostaglandins are used in postpartum dairy cows. *Veter. Med.*, 86, 1991, s. 647—651.

WISE, M. E. — GLASS, J. D. — NETT, T. M.: Changes in the concentrations of hypothalamic and hypophyseal receptors for estradiol in pregnant and post partum ewes. *J. Anim. Sci.*, 62, 1986, s. 1021—1028.

Došlo dňa 12. 9. 1991

BEKEOVÁ, E. — KRAJNÍČÁKOVÁ, M. — HENDRICHOVSKÝ, V. — MARAČEK, I. (Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *Effect of repeated application of carbetocin (Depotocin, Spofa) during first postparturient days on concentrations of thyroxine, triiodothyronine, 17 beta-estradiol, progesterone and conception of ewes.* *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 [7]: 393—404.

Application of new procedures in the sphere of the control of sexual functions requires an extension of present knowledge of postparturient endocrinium or endogenic factors comprised in postparturient physiology of sexual activity. According to recent data, oxytocin, besides its uterotonic and luteolytic activity, acts as an ovarian factor in the local intrafollicular regulation of steroidogenesis and as a modulator of uterine secretion of prostaglandines. Based on present knowledge of oxytocin effects, this study was aimed at investigation of the influence of repeated carbetocin (Depotocin inj. Spofa) administration on the dynamics of changes in thyroxine (T_4), triiodothyronine (T_3), 17 beta-estradiol (E_2), progesterone (P_4) concentrations and their mutual correlations from the 36th hour till the 51st day after parturition. Simultaneous study of a possible delayed influence of applied carbetocin on conception of ewes after oestrus evocation on day 51 after lambing was carried out. Nineteen ewes of the Slovak Merino breed, lambing in the first decade of February, were assigned to the experimental ($n = 9$) and to the control group ($n = 10$). Experimental ewes were subjected to repeated postparturient carbetocin treatment at the dose 0.07 mg per animal. The first dose was applied i. m. in 24 hours, and the second in 72 hours after parturition. On day 51 oestrus was induced in nine ewes of each group by combined treatment with chlor-superlutin (Agelin, vaginal pessaries, Spofa) and PMSG (500 I. U./animal). On the day of PMSG application ewes were housed together with rams for the period of the next six days. Samples of blood were taken 24 hours before parturition (—1st day), up to 36 h after parturition and on days 4, 7, 14, 17, 21, 25, 34, 42 and 51 after parturition. Concentrations of T_4 , T_3 , E_2 and P_4 were determined by commercial kits RIA-test- T_4 ; RIA-test- T_3 ; RIA-test-ESTRA and RIA-test-PROG (ÚRVJT Košice). Animal of the control group showed variations of T_4 concentrations [Tab. I, Fig. 1] at the level of original values [59.4 ± 9.69 nmol.l⁻¹] up to the 21st day with the exception of temporary drop on day 4 and rise on day 7, insignificant compared to the —1st day. T_4 concentrations of the control group displayed an intermittent increasing trend with the statistically insignificant peak after 36 h and on day 17, compared to the —1st day. After the 21st day controls revealed a sustained moderate increase while the experimental ewes displayed a decline of its concentrations until the 51st day. Significant differences between the groups were recorded on day 51 of investigation ($P < 0.05$). At higher average T_3 concentrations [Tab. I, Fig. 2] observed in the experimental group during the whole period of investigation an intermittent increase and a drop were recorded in both animal groups up to day 17. The mentioned increase and drop of T_3 were statistically insignificant in both groups compared to the —1st day. Since the 21st day a moderate increase in its concentrations was observed in control animals while the values recorded in the experimental group decreased gradually to the level

of the -1st day ($1.22 \pm 0.33 \text{ nmol.l}^{-1}$) in control animals and $1.27-0.37 \text{ nmol.l}^{-1}$ in the experimental group. Significant differences between the groups were recorded on days 4, 17, 25 ($P < 0.05$) and 21 ($P < 0.01$) of observation. Similar postparturition dynamics of E_2 concentration decline (Tab. I, Fig. 3) and wide variation of individual values was observed in both animal groups beginning from the 7th day after parturition, with higher average concentrations determined in carbetocin-treated animals. Significantly higher concentrations of E_2 in the experimental group were recorded 36 h and on days 4 and 25 after parturition ($P < 0.05$), in comparison with the control. In contrast to the episodic increase in P_4 concentrations (Tab. I, Fig. 4) in controls, with a wide dispersion of individual values on day 34, treated ewes displayed its continuous gradual increase from the 25th till the 51st day. Significant differences between the groups at higher P_4 concentrations were recorded in the experimental group 36 h after lambing ($P < 0.01$). Significant correlation of followed parameters in the control group of animals (Tab. II) was determined in the ratios $T_3:E_2$ 36 h after parturition, $T_3:P_4$ on day 14, $T_4:T_3$ on days 14, 17, 34 and 42 and $E_2:P_4$ on day 4 after lambing and in experimental animals (Tab. III) for the ratios $T_4:E_2$ on day 25, $T_3:P_4$ after 36 h, $T_4:T_3$ on days 7, 14 and 25 and in $E_2:P_4$ ratio on day 42 after parturition. Evaluation of lambing results revealed that out of nine animals of the control group subjected to oestrus induction on day 51 after parturition, lambing of five ewes produced six lamb-ewes. In the experimental group lambing of all nine treated ewes resulted in 16 lamb-ewes. Genesis of detected hormonal changes, predominantly of thyroid character, which according to our opinion influenced the conception of ewes, subjected to postparturient carbetocin treatment and induction of oestrus on day 51 after parturition, is unclear at present. The escape of thyroxine and triiodothyronine into mammary gland can play an important role. Their deficiency in the system circulation can be retroactively demonstrated by an increased production of TRH, TSH as well as T_4 and T_3 . Increased production of T_4 and T_3 can eventually result in a stimulative effect of oxytocin on PG synthesis after their postsynaptic interaction on adrenoenergetic synapses of TRH neurons. However, increased concentrations of PF after exogenous supply of carbetocin could not function in the direction of increased production of androgens and their aromatization. Stimulation of monodeiodization T_4 with aromatized androgens could result in initiation of synthesis and production of TRH and subsequently of T_4 and T_3 . On the basis of the obtained results and literary information we assume that a carbetocin-induced postparturient intermittent increase of thyroid hormones with their complex influence on enzymatic systems included in steroidogenesis can affect significantly the postparturient restitutive processes of the hypothalamic-adenohypophysis-ovarian complex and in this way also the involution processes of uterus with a positive influence on conceptive abilities of ewes in anestrus.

lambing ewes; puerperium; carbetocin; thyroxine; triiodothyronine; 17 beta-estradiol; progesterone

Adresa autorov:

MVDr. Eva Bekeová, CSc., MVDr. Mária Krajničáková, CSc., MVDr. Valentin Hendrichovský, CSc., doc. MVDr. Imrich Maraček, CSc., Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Duklianskych hrádin 1/A, 040 01 Košice

KONCENTRÁCIA ORTUTE VO VZORKÁCH VČIEL A MEDU, POCHÁDZAJÚCICH Z PRIEMYSELNE EXPONOVANEJ A NEEXPONOVANEJ OBLASTI

J. Toporčák, J. Legáth, J. Kuřková

TOPORČÁK, J. — LEGÁTH, J. — KUEKOVÁ, J. (Univerzita veterinárskeho lekárstva, Košice; Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Košice): *Koncentrácia ortute vo vzorkách včiel a medu, pochádzajúcich z priemyselne exponovanej a neexponovanej oblasti*. Veter. Med. (Praha), 37, 1992 (7): 405–412.

Na 20 rôznych včelstvách pochádzajúcich z priemyselne exponovaných oblastí emisiami s dominantným obsahom ortute (10 včelstiev) a z priemyselne neexponovaných oblastí sme sledovali koncentráciu ortute v hlave, hrudi a brušku včiel (*Apis mellifera*). Súčasne sme porovnávali koncentráciu ortute v mede pochádzajúceho z priemyselne exponovanej a neexponovanej oblasti. Koncentrácia ortute u vzoriek z exponovanej oblasti sa pohybovala v hlavách včiel od 0,029 do 0,385 mg.kg⁻¹, v hrudi včiel od 0,028 do 0,595 mg.kg⁻¹ a v bruškách včiel od 0,083 do 2,255 mg.kg⁻¹. Koncentrácia ortute vo vzorkách z neexponovanej oblasti sa pohybovala v hlavách včiel od 0,004 do 0,024 mg.kg⁻¹, v hrudi včiel od 0,004 do 0,008 mg.kg⁻¹ a v bruškách včiel od 0,008 do 0,020 mg.kg⁻¹. Koncentrácia ortute vo vzorkách medu z exponovanej oblasti sa pohybovala od 0,050 do 0,212 mg.kg⁻¹ a vo vzorkách medu z neexponovaných oblastí od 0,001 do 0,003 mg.kg⁻¹. Z našich výsledkov jednoznačne vyplýva, že včelstvá, resp. ich produkty sa javia ako veľmi citlivý bioindikátor znečistenia životného prostredia, resp. zamorenia ekosystémov ortutou či už z hľadiska zdravia včelstiev, alebo z hľadiska čistoty ich produktov vstupujúcich do potravinového reťazca človeka.

včely; med; ortuť

Problémom čistoty životného prostredia vo vzťahu k človeku, ako aj k domácim a voľne žijúcim živočíchom sa zaoberá čoraz širší okruh odborníkov. Pozoruje sa zvýšený záujem o biologicky monitoring stupňa zamorenia životného prostredia a ekosystémov. Jednou z efektívnych možností sledovania miery znečistenia životného prostredia je sledovanie rezíduí anorganických resp. organických látok u včely medonosnej (*Apis mellifera*) a u jej produktov. Túto metódu použilo viacej autorov, ktorí študovali napríklad zamorenie jednotlivých ekosystémov ťažkými kovmi (Nation a Robinson, 1971; Terzic a i., 1984; Starý a i., 1988; Hřivná a Hlušek, 1989). Koncentráciu ťažkých kovov vo včelom mede z hľadiska zamorenia životného prostredia i z hľadiska jeho hygienickej a zdravotnej nezávadnosti sledovali Bacílek a Karvák (1981) a Jones (1987). Vychádzajúc z uvedeného sme sa zamerali na štúdium ortute u včely medonosnej a jej produktov.

Ku kontaminácii prostredia ortuťou dochádza napríklad emisiami vznikajúcimi spaľovaním fosilných palív (Airey, 1982), únikom zo závodov na spracovanie celulózy (Olsson, 1976), používaním kalov z odpadových vôd na hnojenie poľnohospodárskej pôdy (Cappon, 1984), používaním organických zlúčenín ortute ako fungicídov v poľnohospodárstve a i. Je dokázané, že chemické alebo elektrochemické závody, ktoré spracúvajú ortuť, kontaminujú svoje okolie ortuťovými exhalátmi do vzdialenosti 20–100 km (Lodénus a Tulisalo, 1984).

Patologickými účinkami ortute sa zaoberalo veľa autorov. Najčastejšie sa popisuje neurotoxický účinok ortute (Rice a Gilbert, 1982), cytogenetický účinok v rastúcich a vyvíjajúcich sa bunkách (Ramel, 1969), inhibícia celého radu enzýmov a proteosyntézy (Desnoyers a i., 1973; Donaldson a Thaxton, 1975).

Vzhľadom na hore uvedené skutočnosti, ako aj na to, že koncentrácia ortute u včiel a ich produktov je uvádzaná v literatúre ojedinele, sme sa v našej práci zamerali na štúdium a porovnanie rezíduí ortute vo vzorkách včiel a medu pochádzajúcich z priemyselne exponovaných oblastí emisiami zlúčenín ortute a z neexponovaných oblastí jej zlúčeninami.

MATERIÁL A METÓDY

Vzorky včiel na stanovenie ortuti z exponovanej oblasti zafarazenej emisiami a imisiami ťažkých kovov, kde ortuť v imisnom spáde prekračuje rádovo desať násobne normu a ostatné ťažké kovy sú v medziach normy, boli odobrané z 10 rôznych včelstiev. Ako kontrolu sme použili vzorky včiel z neexponovaných oblastí (10 včelstiev). Mŕtvolky včiel boli rozdelené na tri časti — hlavu, hrud a bruško. Vzorky boli vysušené pri teplote 50 °C do konštantnej hmotnosti a homogenizované.

Vzorky medu na stanovenie ortuti z exponovanej oblasti boli odobraté od 7 včelárov z rôznych lokalít. Ako kontrolu sme použili vzorky medu z neexponovanej oblasti (7 včelárov).

Koncentráciu ortute v biologickom materiáli sme stanovili metódou atómovej absorpcnej spektrofotometrie na jednoúčelovom prístroji TMA 254 (Fy Tesla Holešovice). Výsledky jednotlivých analýz boli spracované osobným počítačom Sinclair ZX Spectrum plus a nami vypracovaným programom Biostat-d. Návratnosť prídavku ortute do analyzovanej vzorky pred jej samotným spracovaním (sušenie, homogenizácia a i.) bola 99,2 percenta. Koncentrácia Hg je vyjadrená v miligramoch na kilogram analyzovanej vzorky.

VÝSLEDKY

Koncentrácia ortute u vzoriek z exponovanej oblasti sa pohybovala v hlavách včiel od 0,029 do 0,385 mg · kg⁻¹, v hrudi včiel od 0,028 do 0,595 mg · kg⁻¹ a v bruškách včiel od 0,083 do 2,255 mg · kg⁻¹. Koncentrácia ortute vo vzorkách z neexponovanej oblasti sa pohybovala v hlavách včiel od 0,004 do 0,024 mg · kg⁻¹, v hrudi včiel od 0,004 do 0,008 mg · kg⁻¹ a v bruškách včiel od 0,008 do 0,020 mg · kg⁻¹.

Koncentrácia ortute vo vzorkách medu z exponovanej oblasti sa pohybovala od 0,050 do 0,212 mg · kg⁻¹ a vo vzorkách medu z neexponovaných oblastí od 0,001 do 0,003 mg · kg⁻¹.

Výsledky analýz odobratých vzoriek na stanovenie ortute (včely a med) z exponovanej a neexponovaných oblastí udávame v tab. I.

DISKUSIA

Zo svetovej literatúry je všeobecne známe, že včely sa javia ako vhodné

I. Koncentrácia ortute vo včelách a v mede — Mercury levels in bees and honey

n	Koncentrácia ortute ¹ (mg . kg ⁻¹)							
	hlava ²		hrud ³		bruško ⁴		med ⁵	
	E	N	E	N	E	N	E	N
1	0,029	0,006	0,040	0,005	0,258	0,010	0,054	0,001
2	0,050	0,024	0,595	0,008	0,244	0,016	0,050	0,002
3	0,076	0,012	0,028	0,004	0,083	0,013	0,125	0,001
4	0,383	0,019	0,533	0,007	1,246	0,020	0,050	0,001
5	0,385	0,004	0,207	0,004	0,587	0,008	0,075	0,002
6	0,210	0,005	0,344	0,005	2,255	0,011	0,072	0,003
7	0,341	0,011	0,309	0,007	0,557	0,016	0,212	0,001
8	0,162	0,008	0,214	0,005	0,337	0,009		
9	0,195	0,004	0,294	0,004	0,340	0,008		
10	0,103	0,006	0,130	0,005	0,480	0,009		
$\bar{x}$	0,193	0,010	0,269	0,005	0,639	0,012	0,091	0,002
sem	0,045	0,002	0,062	0,0005	0,217	0,001	0,024	0,0003
min. max.	0,029—0,385	0,004—0,024	0,028—0,595	0,004—0,008	0,083—2,255	0,008—0,020	0,050—0,212	0,001—0,003

Vysvetlivky pre tab. I — Explanatory notes to Tab. I:

sem — stredná chyba priemeru; $\bar{x}$ — priemer; E — exponovaná oblasť; N — neexponovaná oblasť — sem — standard error of the mean; $\bar{x}$ — mean; E — contaminated area; N — uncontaminated area¹mercury levels, ²head, ³thorax, ⁴abdomen, ⁵honey

biologické monitory znečisťovania životného prostredia (Starý a i., 1988).

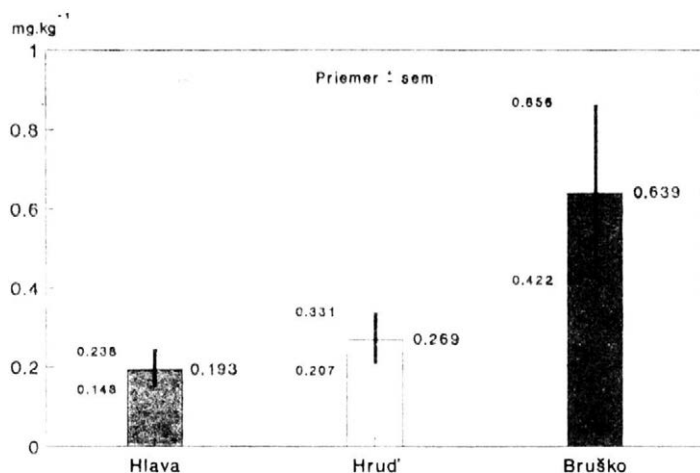
Znečisťovanie prírodných ekosystémov je však polyfaktoriálny jav. Jedná sa tu o celý rad negatívnych, z toxikologického hľadiska významných faktorov, ktoré predstavujú reálne riziko jednak pre včelstvá a včely, ako aj pre iné živé organizmy vrátane človeka (agrochemikálie, pesticídy, priemyselné emisie a imisie, chemické produkty antropogénnej činnosti, rádioizotopy a i.).

Obsahom toxikologicky významných kovov vo vzťahu ku znečisteniu životného prostredia sa zaoberali autori Starý a i. (1988), Hřivná a Hlušek (1989), ktorí jednoznačne potvrdili, že včela medonosná i napriek variabilite koncentrácie ťažkých kovov v období vegetácie ako aj variabilite výsledkov následkom rozmiestenia včelstiev vo vzťahu k zdrojom znečistenia, je významným pomocníkom pri riešení súčasných ekologických problémov.

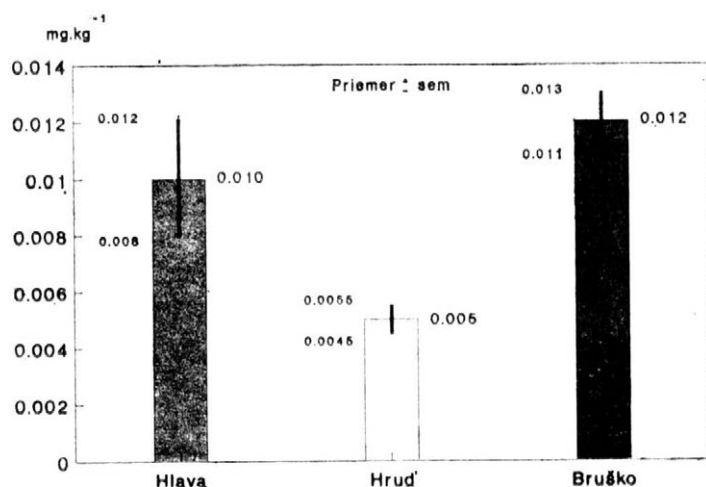
Využívanie včiel v komplexnom monitoringu je však podmienené poznáním osudu ťažkých kovov v organizme včiel, poznaním ich vstupov, ich distribúcie, spôsobov vylučovania, resp. dôkazu, že ich vyššia koncentrácia v prostredí sa odzrkadlí i v koncentráciách v tele samotných včiel. Preto, ako to i z metodologickej časti našej práce vyplýva, sme sa zamerali na sledovanie koncentrácie ortute v jednotlivých častiach tela včiel (hlava, hrud', bruško). V neexponovaných oblastiach sme našli najvyššie koncentrácie ortute v brušku, potom v hlave a nakoniec v hrudi analyzovaných mŕtvoliek včiel (obr. 1). V exponovanej oblasti najvyššie koncentrácie ortute sme zaznamenali v brušku, potom v hrudi a najnižšiu koncentráciu v hlave analyzovaných mŕtvoliek včiel (obr. 2). Koncentrácia ortute v hlavách včiel pochádzajúcich z exponovaných oblastí bola vyššia v porovnaní so včelami z neexponovaných oblastí 19,2×, koncentrácia ortute v hrudi a v brušku bola vyššia 53,8, resp. 53,2×. Z našich výsledkov vyplýva, že ortuť teda výrazne kumuluje najmä v hrudi a v brušku včiel.

Experimentálne bolo u hmyzu (*Dictyoptera*) dokázané, že po injekčnej aplikácii ortute do hemolymfy, ortuť výrazne kumuluje v ileálnych bunkách proktodea (Jeantet a i., 1980), čo výrazne koreluje s našimi výsledkami, kde sme zaznamenali výrazný vzostup koncentrácie ortute v brušku včiel pochádzajúcich z exponovaných oblastí.

Výrazná koncentrácia premyslu má za následok enormné zvýšenie koncentrácie stopových prvkov v mede včelstiev umiestnených v exponovaných oblastiach (Bacílek a Karvánek, 1981). Pri porovnávaní koncentrácie ortute z medov pochádzajúcich z exponovaných oblastí sme zistili priemernú koncentráciu ortute 0,091 mg.kg⁻¹ oproti 0,002 mg.kg⁻¹ v medoch z neexponovaných oblastí, čo predstavuje 46násobné zvýšenie koncentrácie ortute v medoch v exponovanej oblasti oproti neexponovanej (obr. 3). Z toho vyplýva, že med veľmi citlivo reaguje svojím obsahom ortute na vonkajšie podmienky zamorenia lokality uvedenou škodlivinou. Je však predpoklad, že ortuť sa viaže primárne na mechanické prímiesy medu, včítane peľu a že uvedená koncentrácia ortute pravdepodobne klesne pri továrenském spracovaní medu filtráciou (Bacílek a Karvánek, 1981). To, že peľ môže výrazne ovplyvniť koncentráciu ortute v mede dokazujú i naše orientačné analýzy. V troch vzorkách peľu pochádzajúcich z exponovaných oblastí sme stanovili na-



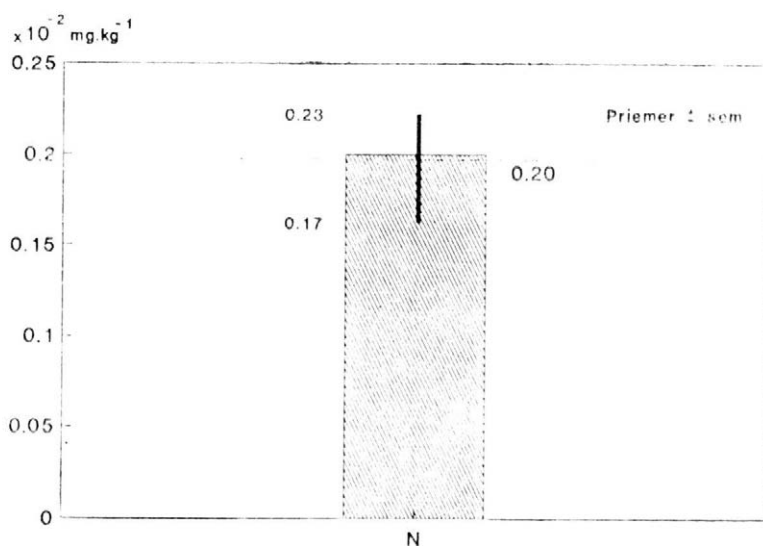
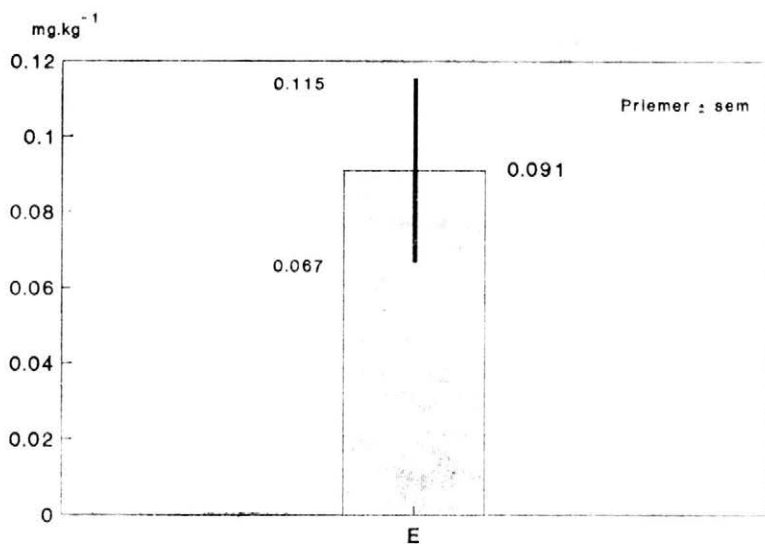
1. Priemerná koncentrácia ortute v jednotlivých častiach tela včely medonosnej v ne-exponovanej oblasti — Mean mercury levels in the single parts of the body of *Apis mellifera* in an uncontaminated area



2. Priemerná koncentrácia ortute v jednotlivých častiach tela včely medonosnej v exponovanej oblasti — Mean mercury levels in the single parts of the body of *Apis mellifera* in an exposed area

For Figs. 1 and 2: hlava — head, hruď — thorax, bruško — abdomen

sledované hodnoty (mg Hg.kg⁻¹): 0,300, 0,122 a 0,199. Pri porovnávaní našich výsledkov analýz s dostupnými literárnymi zdrojmi sme dospeli k zaujímavému údaju. Koncentrácia ortute v medoch pochádzajúcich z exponovaných oblastí u nás je 2,7× nižšia, ako uvádzajú autori G u l y a s



3. Priemerná koncentrácia ortute v mede v exponovanej [E] a neexponovanej [N] oblasti — Mean mercury levels in honey in a contaminated [E] and uncontaminated [N] area

a Molnár (1989) v maďarských druhoch medu. Priemerná koncentrácia ortute v maďarských druhoch medov je 0,245 mg . kg⁻¹, pričom autori neuvádzajú lokality odberu ani stupeň zamorenia prostredia ortuťou. Pre polyfaktoriálnosť vstupov ortute do životného prostredia, ktoré je definované ako priestor so svojimi fyzikálnymi, chemickými a biotickými zložkami, s ktorými je v interakcii organizmus alebo spoločenstvá organizmov (Coollier a i., 1977), si uvedenú skutočnosť, aj keď pre nás priaznivú, nedokážeme vysvetliť.

Z našich výsledkov jednoznačne vyplýva, že včelstvá, resp. ich produkty sa javia ako veľmi citlivý bioindikátor znečistenia životného prostredia, resp. zamorenia ekosystémov ortuťou či už z hľadiska zdravia včelstiev, alebo z hľadiska čistoty ich produktov vztupujúcich do potravinového reťazca človeka.

Literatúra

- AIREY, D.: Contributions from coal and industrial materials to mercury in air, rainwater and snow. *Sci. Total. Environ.*, 25, 1982, s. 19–40.
- BACÍLEK, J. — KARVÁNEK, M.: Obsah stopových prvků v medech z kladenské oblasti. *Včelařství*, 34, 1981, s. 257–258.
- CAPPON, CH. J.: Content and chemical form of mercury and selenium in soil, sludge, and fertilizer materials. *Wat. Air Soil Pollut.*, 22, 1984, s. 95–104.
- COOLLIER, B. D. — COX, G. W. — JOHNSON, A. W. — MILLER, Ph. C.: *Dynamic Ecology*. Prentice — Hall, Inc. Engelwood Clippis. New Jersey, 1977.
- 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.
- GULYAS, S. — MOLNÁR, A.: A magyar fajtamézek nehézfémterhelése. *Méhészet*, 37, 1989, s. 12–13.
- HŘIVNA, L. — HLUŠEK, J.: Přínos včelstev pro indikaci těžkých kovů. *Včelařství*, 42, 1989, s. 148–149.
- JEANTET, A. Y. — BALLAN-DUFRAICAIS, C. — RUSTE, J.: Quantitative electron probe microanalysis on insects exposed to mercury. II. Involvement of the lysosomal system in detoxification processes. *Biol. Cell.*, 39, 1980, s. 325–334.
- JONES, K. C.: Honey as an indicator of heavy metal contamination. *Wat. Air Soil Pollut.*, 33, 1987, s. 179–189.
- LODENIUS, M. — TULISALO, E.: Environmental mercury contamination around a chlor-alkali plant. *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 32, 1984, s. 439–444.
- NATION, J. L. — ROBINSON, F. A.: Concentration of some major and trace elements in honeybees, royal jelly and pollens, determined by atomic absorption spectrophotometry. *J. Apic. Res.*, 10, 1971, s. 35–43.
- OLSSON, M.: Mercury levels in biota from Morrum river during a 10 year clean-up period. Rep. from Inst. of Freshwater, Res. Rep., 55, 1976, s. 92–111.
- RAMEL, C.: Genetic effects of organic mercury compounds. I. Cytological investigation on *Allium roots*. *Hereditas*, 61, 1969, s. 208–230.
- RICE, D. C. — GILBERT, S. G.: Early chronic low-level methylmercury poisoning in monkeys impairs spatial vision. *Science* 216/4547, 1982, s. 759–761.
- STARÝ, P. — KUBIZŇÁKOVÁ, J. — KIDLMANN, P.: Obsah těžkých kovů v zimujících včelstvách. *Včelařství*, 41, 1988, s. 100–101.
- TERZIC, L. J. — TERZIC, V. — KRUNIC, M. — BRAJKOVIC, M.: Honey bee poisoning caused by arsenic from copper smelter smoke. *Acta veter. (Beograd)*, 34, 1984, s. 57–62.

Došlo dňa 30. 9. 1991

TOPORČÁK, J. — LEGÁTH, J. — KUEKOVÁ, J. (University of Veterinary Medicine, Košice; Institute of Experimental Veterinary Medicine, Košice): *Mercury levels in bee and honey samples from industrially contaminated and uncontaminated areas*. *Veter. Med. (Praha)*, 37, 1992 (7): 405–412.

Increasing numbers of specialists have been concerned with the problem of friendly environment in relation to man as well as to farm and wild animals. Greater interest in the biological monitoring of environment and ecosystem contamination can be observed. Determination of residues of organic and inorganic substances in bees (*Apis mellifera*) and in their products is one of effective possibilities of environmental pollution monitoring. Our work was aimed at the study of mercury levels in bees and their products. Mercury levels were determined in the head, abdomen and thorax of bees (*Apis mellifera*) from 20 bee populations coming from industrially contaminated areas with a dominant load of mercury (10 populations) and from uncontaminated areas.

Mercury levels were determined simultaneously in honey coming from both contaminated and uncontaminated areas. The following mercury levels were found in bees from the contaminated area: heads 0.029—0.385 mg/kg, thorax 0.028—0.595 mg/kg and abdomen 0.083—2.255 mg/kg. Mercury levels in samples from uncontaminated areas ranged from 0.004 to 0.024 mg/kg in the heads, from 0.004 to 0.008 mg/kg in the thorax and from 0.008 to 0.020 mg/kg in the abdomen. In honey samples from the contaminated and uncontaminated areas mercury levels ranged from 0.050 to 0.212 mg/kg and from 0.001 to 0.003 mg/kg, respectively. The results of sample analyses for mercury loads in bees and honey from both contaminated and uncontaminated areas are given in Tab. 1. Mean mercury levels in the single parts of the body in *Apis mellifera* and in honey from contaminated and uncontaminated areas are given in Figs. 1, 2, 3. It follows from the results of our investigations that bee populations and their products represent very sensitive indicators of environmental pollution and mercury loads of the environment both from the viewpoint of the bee population health and the safety of their products that enter the man's food chain.

bees; honey; mercury

Adresy autorov:

MVDr. Juraj Toporčák, MVDr. Jaroslav Legáth, CSc., Univerzita veterinárskeho lekárstva, Komenského 73, 041 81 Košice

MVDr. Jana Kuľková, Ústav experimentálnej veterinárnej medicíny, Duklianskych hrdinov 1/A, 040 01 Košice

POKYNY PRO AUTORY VĚDECKÉHO ČASOPISU VETERINÁRNÍ MEDICÍNA

Časopis Veterinární medicína uveřejňuje původní práce, recenze apod.

Autor je plně odpovědný za původnost práce a za její věcnou i formální správnost. K práci musí být připojeno prohlášení autora o tom, že práce nebyla publikována jinde.

O uveřejnění práce rozhoduje redakční rada časopisu, a to se zřetelem k lektorským posudkům, vědeckému významu a přínosu i kvalitě prací.

Je třeba, aby autoři přesně dodržovali tyto pokyny:

Jednotlivé práce nemají mít rozsah větší než 10 až 12 stran psaných na stroji se všemi přílohami. Autoři nechť se vyvarují nadměrného množství tabulek a zařazují raději grafy.

Technická úprava rukopisu

Úprava rukopisu má odpovídat ČSN 88 0220 (formát A4, 30 řádek na stránku, 60 úhozů na řádku, tzn., že mezi řádky se dělají dvojité mezery). Ilustrace, grafy, tabulky a fotografie (černobílé) mají vyhovovat ČSN 88 2109, dodávají se zvlášť a nepodlepují se. Rýsují se tuší na bílý nebo pauzovací papír a popisují se jednotnou velikostí písma (šablona 3,5 mm). Na zadní straně se vyznačí tužkou pořadové číslo obrázku a napíše se jméno autora článku. Texty k obrázkům se dodávají na zvláštním listě, umístění obrázků se označuje na levém okraji příslušné strany rukopisu číslicí v kroužku. Tabulky se číslují římskými číslicemi. Na všechny obrázky i tabulky musí být v textu práce odkazy. Pro překlad do angličtiny je nutné vysvětlit všechny použité zkratky.

Úprava vlastní práce

Název práce (titul) nemá přesahovat 85 úhozů. Je nutné se v názvu vyvarovat obecných frází jako: Studie o..., Příspěvek k..., Pokus o... Každý zaslaný článek musí být samostatnou prací, nemohou být publikovány články na pokračování, označené např.: Studie o... I., II., III. atd., stejně tak jsou vyloučeny podtituly článků.

Jména autorů se uvádějí bez titulů — příjmení a první písmeno jména.

Souhrn

Vypracování souhrnu je nutné věnovat obzvláštní péči. Autor do něho má shrnovat vše, co je na jeho práci pozoruhodné

a nové a co má být dokumentováno. Souhrn má být nekritickým informačním výběrem významného obsahu a závěru, nikoliv však jeho pouhým popisem. Musí vyjádřit všechno podstatné, co je obsaženo ve vědecké práci, nemá ji však nahradit. Nesmí překročit rozsah 170 slov. Je třeba, aby byl psán celými větami, nikoliv telegrafickým způsobem. Pro překlad do angličtiny se požaduje souhrn delší (do dvou rukopisných stran) s odkazy na tabulky a obrázky, popř. s anglickými odbornými termíny nebo už přeložený do angličtiny. Souhrn začíná jménem autorů, názvem pracoviště a jeho sídlem (v závorce), titulem článku a citací: Veter. Med. (Praha), 00, 1990. Místa označená nulami doplní na kompletní citaci při korektuře redakce.

Klíčová slova (Key words, index terms)

Pod souhrn je nutno po vynechání řádky připojit klíčová slova. Ta mají sloužit:

- a) k rychlé orientaci (jakýsi „zkrácený referát“);
- b) při zařazování práce do kartotéky.

Klíčových slov by nemělo být méně než 3 a více než 12. Začínají malým písmenem a oddělují se středníkem.

Úvod

Úvod má obsahovat hlavní důvody, proč byla práce uskutečněna, a velmi stručnou formou stav studované otázky. Je nutné se v něm vyhnout rozsáhlým historickým přehledům. Uvádí se bez nadpisu, je možné v něm uvést k práci se vztahující citaci autorů (doporučuje se co nejnížší počet citací — čtyři až osm autorů).

Materiál a metody

Metody se popisují pouze tehdy, jsou-li původní, jinak postačuje citovat autora metod a uvádět jen případné odchylky. Je v nich popsán pokusný materiál. Popis metod by měl umožnit, aby kdokoli z odborníků mohl podle něho a při použití uvedených citací práci opakovat.

Výsledky

Doporučuje se nepoužívat k vyjádření kvantitativních stavů tabulek a dát přednost grafům nebo tabulky shrnout ve statistickém hodnocení naměřených hodnot. Tato část by neměla obsahovat teoretické závěry ani dedukce, ale pouze faktické nálezy.

Diskuse

Diskuse obsahuje zhodnocení práce. Diskutuje se o možných nedostacích a práce se konfrontuje s výsledky dříve publikovanými (požaduje se citovat jen ty autory, kteří mají k publikované práci bližší vztah), pokud mají souvislost, nebo pokud jsou s předloženou prací nějak srovnatelné.

Poděkování

Je-li to nutné, uvádí se stručné poděkování (jedna až dvě věty), např.: za technickou spolupráci, za pomoc při statistickém zpracování a poskytnutí méně běžného léčiva apod.

Literatura

V textu se při citaci uvede jméno autora a rok publikování. Do seznamu se zařadí všechny práce citované v textu článku, a to podle abecedy, bez číslování, každá citace na novém řádku. Je-li více prací od téhož autora ve stejném roce, přidá se k letopočtu označení a, b, c.

Literatura musí odpovídat ČSN 01 0197.

Zkratky názvů časopisů je třeba dodržovat podle publikace doc. Bojňanského a kol., vydané v roce 1982 Slovenskou akadémiou vied pod názvom Periodiká z oblasti biollogicko-poľnohospodárskych vied, ich citácie a skratky.

Adresa autora

Na zvláštním listě uvede autor akademický titul, jméno (ne jen zkratku), příjmení, vědeckou hodnost a podrobnou adresu pracoviště s PSČ. Totéž uvede i pro spoluautory.



**VÝHODNÝ LEASING
STROJŮ A ZAŘÍZENÍ
NEJEN PRO ZAČÍNÁJÍCÍ
PODNIKATELE**

ADEKO, a. s., Vám nabízí

- kapitálovou účast v jiných podnikatelských subjektech
- společné podnikání
- poradenskou, konzultační a zprostředkovatelskou činnost v oboru ekologie
- investorskou a investiční činnost
- řešení odbytových potíží výrobcům a obchodním organizacím formou leasingového financování

**ADEKO, a. s.
Slezská 7
120 56 Praha 2**

**tel.: 25 83 42
fax: 20 72 29**



Chirana BMT Brno a.s.

Naši vážení zákazníci,

dovolujeme si touto cestou upozornit ty z Vás, kteří se s našimi výrobky doposud blíže neseznámili, že

Chirana BMT Brno, a.s.

je tradičním výrobcem medicínské techniky, který se již úspěšně prezentoval i mimo tuzemský trh.

Dokážeme uspokojit nejen požadavky na dovybavení již zavedených pracovišť, ale i požadavky na nově zakládaná pracoviště

- všeobecného lékaře, stomatologa, gynekologa a dalších odborných lékařů
- centrální sterilizace nemocnic
- lékařské služby
- veterinárního lékaře

a v neposlední řadě i pracovišť mimo klasickou medicínu

- laboratoří a ústavů

a rovněž provozoven

- kadeřnictví, kosmetiky, pedikúry a manikúry

Optimální výběr s ohledem k potřebám Vaší praxe získáte po volbě

05 (Brno)

04 03 (Chirana BMT Brno, a.s.)

a na linkách

č. 433

př. Kevričová

- z našich výrobních oborů horkovzdušné sterilizace
v cenách od 10 730 Kčs,

č. 451

př. Kunertová

- parní sterilizace, destilačních přístrojů a vyvíječů páry,
v cenách od 10 230 Kčs,

č. 215

př. Žvátarová

- RTG techniky operační, dentální a ze štítu
v cenách od 20 700 Kčs,

č. 451

př. Kevričová

- kryochirurgie (vč. gyn.)
v cenách od 11 600 Kčs,

č. 215

př. Žvátarová

- z výrobků dentální techniky diagnózy, ultrazvuku
a elektrochirurgie dánské firmy A.S.L. GÖDE
v cenách od 31 130 Kčs.

Korespondence: Chirana BMT Brno, a.s.

Cejl 4850

602 00 BRNO

Fax:

05 57 15 41

S úctou

JUDr. Jaroslav Kopeček
ředitel a. s.

se svými spolupracovníky



Chirana BMT Brno a.s.

Rukopisy odevzdány k tisku 19. 5. 1992 — Podepsáno k tisku 11. 8. 1992

Vědecký časopis VETERINÁRNÍ MEDICÍNA • Vydává Akademie zemědělských věd ČSFR — Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství • Vychází měsíčně • Redaktorka ing. Zdeňka Radošová • Redakce: 120 56 Praha 2, Slezská 7, telefon 25 75 41 • Vytiskly OSTRAVSKÉ TISKÁRNY, s. p., Ostrava 1, Novinářská 7 • © Ústav vědeckotechnických informací pro zemědělství, Praha 1992

Rozšiřuje PNS. Informace o předplatném podá a objednávky přijímá PNS-ÚED Praha, Kafkova 19, 160 00 Praha 6.