



FEDERÁLNÍ ÚŘAD
PRO VYNÁLEZY

POPIS VYNÁLEZU K AUTORSKÉMU OSVĚDČENÍ

264 861

(11) (B1)
(13)

(51) Int. Cl.⁴
C 07 C 59/56

(22) Přihlášeno 12 12 86

(21) PV 9281-86.D

(40) Zveřejněno 12 01 89

(45) Vydané 15 12 89

(75)

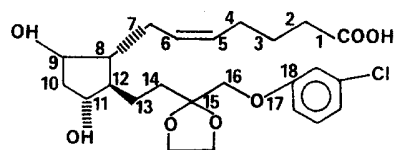
Autor vynálezu

KRÁL JOSEF ing., POHOŘÍ, PÍCHA JOSEF ing. CSc., JÍLOVÉ u Prahy,
ŠEVČÍK BOHUMIL prof. MVDr. DrSc., POHOŘÍ,
BÍLEK PETR ing., PRAHA, BOROVIČKA ANTONÍN ing., DAVLE

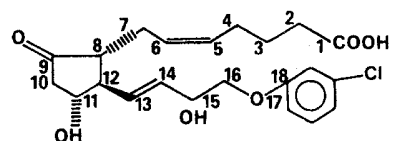
(54) Prostředek pro zvýšení porodnosti samic skotu

(57) Řešení se týká prostředku pro zvýšení porodnosti samic skotu, který obsahuje látku vzorce A a B. Látka se podává injekčně v dávkách 0,1 až 1 mg pro kus kravám (jalovicím) 4. až 12. den po inseminaci. Tímto prostředkem lze zvýšit počet zabřezlých krav a jalovic ve stádech se sníženou plodností v průměru o 11 % z počtu inseminovaných. Vyhovující úroveň reprodukce je základem rentability chovu skotu, neboť na ní přímo závisí produkce mléka a telat pro obměnu základního stáda i pro výkrm. Proto má toto procentické zvýšení počtu zabřezlých zvířat značný ekonomický dopad.

látka A



látka B



Vynález se týká prostředku pro zvýšení porodnosti krav a jalovic nečekaným užitím některých synteticky připravených prostanoidů řady F a E.

Biologické účinky přirozených prostaglandinů a jejich synteticky připravených derivátů - prostanoidů - jsou intenzivně zkoumány na mnoha pracovištích technicky vyspělých států světa. Zvláštní pozornost je věnována působení prostanoidů řady F na hormonální regulaci po hlavních funkcích hospodářských zvířat a možnému využití nových objevů v živočišné výrobě. Bylo popsáno potlačení sekrece progesteronu a zánik žlutého tělíska (luteolýza) po podání přirozeného prostaglandinu F_2 alfa.

Přibližně před 10 lety byl objev zužitkován zahájením výroby prostředků umožňujících vyvolání říje samic skotu v plánovaném termínu a některé další biotechnické a terapeutické zákroky. Dnes vyrábí řada světových farmaceutických firem přípravky založené na luteolytickém působení prostaglandinu F_2 alfa nebo některých syntetických prostanoidů. Jsou to např. Prostin F_2 alpha Upjohn, Estrumate ICI, nebo Iliren Hoechst aj. V ČSSR je vyráběn přípravek Oestrophan ing. Spofa v roční produkci převyšující 10 mil. dávek.

Všechny literární údaje, které se vztahují k působení prostanoidů řady F na funkci žlutého tělíska popisují účinek luteolytický. Z posledních souborných prací uvádíme autory Schrör, K., (1984) a Zaorska, B., (1986). Pouze jediná práce, kterou jsme soustavným studiem literatury našli, se zmiňuje o stimulačním účinku prostaglandinu na sekreci progesteronu. Jedná se o přirozený prostaglandin E_2 (nikoliv F). Gimenez a Henricks (1983) po pětidenní infuzi E_2 do děložního rohu krávy zaznamenali prodloužení sekreční fáze žlutého tělíska. Pokus za podobných podmínek zopakovali na jalovicích Schneider a kol. (1983), ale jakýkoliv stimulační účinek na sekreci progesteronu nepozorovali.

V našich experimentech testujeme prostanoidy řady F cíleně syntetizované pro vyhledávací screening účinku na hormonální regulaci pohlavních funkcí. Jedná se o látky nové. Způsob výroby látky s pracovním názvem Glykal a látek příbuzných je chráněn AO 230 650 (Staněk, S., 1984).

Při testech biologické účinnosti jsme zcela neočekávaně objevili, že některé z testovaných prostanoidů a především látka glykal, zvyšují po jednorázové nitrosvalové injekci plasmové hladiny progesteronu. V dalších experimentech byl prokázán stimulační účinek na rozvoj sekrečních buněk žlutého tělíska. Ve srovnání s dosud známými účinky prostanoidů na funkci žlutého tělíska se jedná o působení naprosto opačné. Tento účinek nebyl dosud nikým popsán a jedná se tedy o zjištění zcela původní. Využití tohoto nového poznatku v praktických podmínkách může přinést značný efekt výrobcí prostředku i uživateli prostředku. Může se stát rovněž předmětem exportu, protože konkurenční prostředek neexistuje.

Hlavním cílem plemenářské práce chovu skotu bylo šlechtění zvířat na užitkovost a odpovídající exteriérové vlastnosti. Snahou bylo dosažení maximální produkce a tučnosti mléka a v druhé řadě způsobilosti k výkrmu. Tento jednostranný přístup však měl některé nepříznivé důsledky, především snížení plodnosti. Klesla odolnost zvířat proti nepříznivým vlivům vnějšího prostředí, která oslabují reprodukční funkce organismu, a to v konečném důsledku vede ke snížení užitkovosti a předčasnému vyřazení z chovu. Vyhovující úroveň reprodukce je základem rentability chovu skotu. Na ní přímo závisí produkce mléka a telat pro obměnu základního stáda i pro výkrm.

Úroveň reprodukce je možné vyjádřit několika ukazateli. V následujícím textu jsou použity tyto termíny: service perioda (SP), tj. doba mezi porodem a koncepcí, mezidobí - doba mezi dvěma porody a natalita - počet telat narozených od 100 krav za rok. Cílem chovatelského úsilí je dosažení mezidobí 1 rok nebo méně, což znamená SP mezi 60 až 90 dny. Na délce mezidobí je závislá laktace (produkce mléka). Ta je nejvyšší v prvních měsících po porodu, dále klesá a dva měsíce před porodem je zastavována, aby byl zdárně ukončen vývoj plodu. S prodlužováním mezidobí stoupá procentické zastoupení měsíců s nízkou doživostí. Naopak se

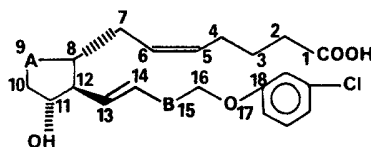
zkracováním mezidobí stoupá ve stádě frekvence měsíců, kdy je laktace maximální. Pro úplnost uvádíme, že nádoj za druhý měsíc po porodu ne několikanásobkem nádoje za měsíc desátý, jedenáctý atd. Na natalitě pak závisí počet odchovaných telat a jejich zástav do odchoven a výkrmu. Z toho vyplývá, že ekonomický význam úrovně reprodukce je značný.

Délka mezidobí je dána délkou SP a schopností jedince donosit plod. Zkracování SP je věnována velká péče jednak ze strany chovatele, jednak plemenářskou a veterinární službou. Přímé ovlivnění průběhu gravidity však nebylo dosud možné.

Nejcitlivější fází gravidity je její rané stadium a právě toto ovlivňuje způsob podle vynálezu.

Za normálních okolností dochází po inseminaci k oplození vajíčka a vytvoření raného embrya. Uchycení embrya v děložní stěně a jeho ochranu před vypuzením zabezpečuje hormon progesteron vylučovaný graviditním žlutým tělískem (CL), žlázou vytvořenou na vaječníku. Na funkci CL a dostatečné hladině progesteronu v krevní plazmě je závislý fyziologický průběh rané gravidity. Byla prokázána, že v mnoha chovech je sekreční aktivita CL snížena, což má za následek odumření plodu a jeho vypuzení. Ztráty způsobené embryonální úmrtností činí i v dobrých chovech 15 až 25 % z počtu zabřezlých a v chovech se sníženou plodností až 40 %. Hlavní podíl těchto ztrát je vysvětlován právě nedostatečnou funkcí CL.

Uvedené nevýhody současného stavu odstraňuje prostředek podle vynálezu pro zvýšení porodnosti samic skotu, jehož podstatou je, že se kravám (jalovicím) 4. až 12. den po inseminaci aplikuje injekčně 0,1 až 1 mg pro kus látky vzorce



ve kterém A značí zbytek $\text{HO}-\text{C}-$ nebo $\text{O}=\text{C}-$
a B značí zbytek $-\text{CH}-$ nebo $-\text{C}-$
OH

Použitím prostředku podle vynálezu je možné podpořit rozvoj CL a navodit zvýšení hladin progesteronu o 30 až 50 % ve srovnání s kontrolními zvířaty.

Možnost užití prostředku podle vynálezu byla experimentálně prokázána třemi odlišnými způsoby.

1. Sledování účinku na luteální tkáň in vivo.

Osmi jalovicím s nenarušenou funkcí CL byla 6. den po inseminaci podána injekčně do svalu látka vzorce A v dávce 0,5 mg. Před aplikací látky a v několika následujících dnech byly měřeny hladiny progesteronu v krevní plazmě pokusných jalovic a osmi srovnatelných jalovic kontrolních (viz příložená Tabulka 1).

2. Sledování účinku na luteální tkáň in vitro.

Luteální tkáň byla odebrána z dobře vyvinutých CL poražených krav. Tkáň byla rozdělena, zvážena, vnesena do kultivačního média s odstupňovanými dávkami látky vzorce A a média kontrolního (bez látky). V určených časových intervalech byly v médiu stanoveny koncentrace progesteronu a nalezené hodnoty byly přepočítány na 1 mg tkáně CL (viz Tabulka 2). Z výsledků je zřejmé, že všechny testované dávky prodloužily sekreční aktivitu luteální tkáně, přičemž dávka střední stimulovala sekreci po celou dobu experimentu.

3. Sledování účinku v provozních podmínkách.

Ve stádu krav s nízkými reprodukčními ukazateli chovaném ve velkokapacitním kravínu byla podávána látka vzorce A. Ošetřeny byly krávy inseminované v liché týdny, krávy inseminované v sudých týdnech byly ponechány jako kontrola. Látka byla podávána 4. až 6. den po inseminaci v dávce 0,5 mg i. m. do hýždového svalu. Po třech měsících byl pokus ukončen. V kontrolní skupině bylo inseminováno celkem 173 krav, z nichž zabřezlo 66, tj. 38,15 %, v pokusné skupině zabřezlo 87 krav, tj. 52,40 %. Přínos, který tento pokus přinesl chovateli, lze zhruba vyjádřit podle ceny jednoho krmeného dne. V pokusné skupině zabřezlo o 21 krav více. Kdyby tato zvířata zabřezla o 1 cyklus později, což je nejbližší a v průměru nepravděpodobný termín, činilo by zkrácení nežádoucí jalovosti 441 krmených dnů.

Popsaným způsobem bylo za 1,5 roku testování ošetřeno 596 krav, z nich zabřezlo 292, tj. 49 %. V kontrolních skupinách bylo sledováno 603 krav, zabřezlo 229, tj. 38 %. Průměrný rozdíl ve prospěch pokusných skupin činí 11 %, přičemž v jednotlivých dílčích pokusech kolísá od neprůkazného rozdílu až po 19 %.

Tabulka 1 - Hladina progesteronu v krevní plazmě jalovic

Skupina	počet jalovic	progesteron v ng/ml po aplikaci dnů							
		před aplikací	1	2	3	4	5	6	7
Kontrolní	8	4,3±1,8	5,9±2,3	6,1±1,1	7,3±2,5	9,4±3,2	8,2±3,6	9,3±3,6	7,0±2,2
Pokusná	8	3,9±1,4	3,2±1,1	5,9±2,7	7,8±3,0	13,2±4,2	14,6±5,1	15,5±3,2	14,7±3,6

Tabulka 2 - Množství progesteronu v ng vyloučené 1 mg tkáně

	30 min			60 min		120 min	
	Dávka ng	ng	index	ng	index	ng	index
Kontrola	0	8,8	100 %	7,8	100 %	2,2	100 %
Látka <u>A</u>	2,5	8,4	95,4 %	6,9	88,2 %	4,4	200 %
Látka <u>A</u>	25	10,0	113,6 %	11,2	144,1 %	6,3	284,6 %
Látka <u>A</u>	250	8,6	97,7 %	12,6	161,8 %	4,4	200 %

V následujících příkladech provedení je prostředek podle vynálezu pouze doložen a neomezen.

P ř í k l a d 1

Ve stádu jalovic jsou vybíráni jedinci vhodní pro inseminaci. Z nich jsou sestavovány turnusové skupiny, ve kterých je po ošetření luteolytickým přípravkem provedena inseminace. Čtvrtý den po inseminaci je jalovicím podána injekčně do svalu látka podle vzorce A v dávce 0,25 mg. Po vyšetření gravidity jsou jalové kusy znovu inseminovány a ošetřeny látkou podle vzorce výše uvedeným způsobem.

P ř í k l a d 2

Ve stádu krav jsou prováděny inseminace ve spontánních říjích. Ve dvou pracovních dnech v týdně je kravám, které dosáhly 4. a 7. den po inseminaci podána jednorázově injekčně do svalu látka podle vzorce A v dávce 1 mg. Po druhé a další inseminaci jalových krav je látka znovu aplikována popsáním způsobem.

P ř í k l a d 3

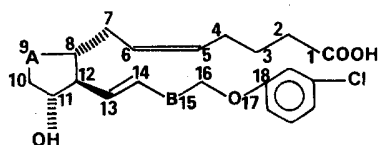
Ve stádu krav jsou hromadně inseminovány krávy ošetřené luteolytickým přípravkem. Za 5 nebo 6 dnů po inseminaci je podána látka podle vzorce A injekčně do svalu v dávce 0,5 mg. Ošetření může být po další inseminaci opakováno.

P ř í k l a d 4

Použití je kombinací příkladu 2 a 3 a představuje nejčastější způsob. Látkou podle vzorce A jsou ošetřeny krávy, které byly ve stádu inseminovány ve spontánní říjí a v říjí synchronizované luteolytikem. Látka je podávána 1x týdně jednorázově do svalu všem kravám mezi 4. až 12. dnem po inseminaci v dávce 0,5 mg. Při opakovaných říjích se postupuje obdobně. (Pozn.: vzorec látky A a B je uveden v příloze.)

P Ř E D M Ě T V Y N Á L E Z U

1. Prostředek pro zvýšení porodnosti samic skotu vyznačující se tím, že obsahuje látku vzorce



ve kterém A značí zbytek HO-C-
 a B značí zbytek $\begin{array}{c} -\text{CH}- \\ | \\ \text{OH} \end{array}$ nebo $\begin{array}{c} \text{O}=\text{C}- \\ | \end{array}$
 nebo $\begin{array}{c} \text{O} \\ | \\ \text{C} \\ | \\ \text{O} \end{array}$