

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin**



**Změny hladin esenciálních mikroprvků (Cu, Se, Zn) u  
koček s výskytem hypertrofické kardiomyopatie (HCM)**

**Diplomová práce**

**Bc. Karolína Sedláčková**

**Zájmové chovy**

**prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.**

© 2020 ČZU v Praze



## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Změny hladin esenciálních mikroprvků (Cu, Se, Zn) u koček s výskytem hypertrofické kardiomyopatie (HCM)" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 24. 7. 2020

---



## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Jiřině Szákové, CSc. za vedení práce, odborné rady a konzultace. Dále bych ráda poděkovala všem zúčastněným klinikám za pomoc s odběry a poskytnutí dat a panu Ing. Lukáši Prausovi za jejich zpracování v laboratoři.

# Změny hladin esenciálních mikroprvků (Cu, Se, Zn) u koček s výskytem hypertrofické kardiomyopatie (HCM)

## Souhrn

Hypertrofická kardiomyopatie je srdeční onemocnění postihující jak humánní, tak zvířecí pacienty. U koček se jedná o nejčastější kardiologické onemocnění končící ve většině případů fatálně. V posledních letech se dávají do souvislosti hladiny esenciálních mikroprvků ve vztahu se srdečními chorobami. Různé studie poukazují na výrazné zvýšení či snížení mědi, selenu a zinku v krvi, což by mohlo být klíčové při stanovení diagnózy nebo zavedení vhodné medikace. Cílem této diplomové práce bylo zhodnotit na základě krevních výsledků, zda existuje souvislost mezi naměřenými hodnotami konkrétních mikroprvků a pohlavím, věkem a potvrzenou hypertrofickou kardiomyopatií.

Odběry byly prováděny u všech koček, nehlédě na pohlaví a věk. Celkem bylo získáno 51 vzorků (z toho všech 51 vzorků plné krve, 34 vzorků krevní plazmy) od 49 koček (dvěma pacientům byla krev odebrána dvakrát v různém časovém období), z toho 20 samic a 23 samců (u 6 vzorků nebylo pohlaví zjištěno) ve věku od 7 měsíců do 19 let. 4 tito pacienti byli pozitivní na HCM, 6 negativních (pacienti, kteří byli vyšetřeni na HCM a výsledek byl negativní) a 39 jedinců netestovaných (neproběhlo u nich vyšetření na HCM, protože nevykazovali klinické příznaky). Krev i plazma se poté ředily ředícím roztokem – 0,1% HNO<sub>3</sub> a 0,01% Triton X-100 v ultračisté vodě v poměru 1:34, tj. ředění 35×. Takto připravený vzorek se posléze analyzoval technikou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem.

Celkové výsledky naznačují určitý trend ke snížení obsahu selenu a zinku a také možné zvýšení obsahu mědi, ale tento poznatek nebyl statisticky potvrzen. Jedincům netestovaným na HCM byly naměřeny vyšší hladiny zinku a selenu v krevní plazmě, což bylo statisticky prokázáno. Hypotézou byl předpoklad, že, stejně jako u dalších srdečních chorob, by mohly zvýšené nebo snížené hladiny mědi, zinku a selenu v krvi indikovat vývoj nemoci, což se nám statistickými metodami nepotvrdilo. Pro potvrzení hypotézy by bylo potřeba více dat. Bylo také zjištěno, že například samci mají obecně vyšší hladiny mědi než samice a že hodnoty zinku v krevní plazmě se snižují s přibývajícím věkem. Je nutné brát v úvahu, že výsledné hladiny mikroprvků v krvi mohou být ovlivněné celou škálou dlouhodobých faktorů, které na jedince působí.

**Klíčová slova:** hypertrofická kardiomyopatie, srdce, kočky, mikroprvky, sérum, krev

# **The changes in essential microelement (Cu, Se, Zn) levels in cats with hypertrophic cardiomyopathy (HCM)**

## **Summary**

Hypertrophic cardiomyopathy is a heart disease affecting human as well as animal patients. It is the most common cardiac disease in cats, ending fatally in the most cases. In recent years, levels of essential microelements have been said to be in relation with heart diseases. Various studies indicate a significant increase or decrease in copper, selenium and zinc levels in blood, which may be key in diagnosing or framing appropriate medication. The aim of this diploma thesis was to evaluate whether there is a link between the measured levels of these microelements and gender, age, and confirmed hypertrophic cardiomyopathy on the basis of blood results.

Sampling was carried in all cats regardless of gender and age. A total of 51 samples (all 51 whole blood samples, 34 blood plasma samples) were obtained from 49 cats (two patients were collected twice at different times), of which 20 were females and 23 males (in the remaining 6 samples, the gender is unknown) aged from 7 months to 19 years. 4 patients were positive for HCM, 6 were negative (patients who were tested for HCM and the result was negative) and 39 were untested (they were not tested for HCM because they did not show clinical signs). The blood and plasma were diluted with a diluent media – 0,1% HNO<sub>3</sub> and 0,01% Triton X-100 in ultrapure water with a dilution of 1:34, i.e. diluted 35 times. The prepared sample was analyzed by inductively coupled plasma mass spectrometry.

The overall results suggest a trend towards a reduction in selenium and zinc and also a possible increase in copper, but this recognition has not been statistically confirmed. Higher zinc and selenium levels were measured in individuals who did not test for HCM in blood plasma, which was statistically confirmed. The hypothesis was the assumption that, as well as other heart diseases, increased or decreased levels of copper, zinc and selenium in blood could indicate the development of the disease, which was not confirmed by statistical methods. In order to confirm this hypothesis, more data would be needed. It was also shown that, for example, males generally show higher copper levels than females and zinc levels in blood plasma decrease with age. However, it should be taken into consideration that resulting levels of microelements in the blood may be affected by a plethora of long-term factors that affect each individual.

**Keywords:** hypertrophic cardiomyopathy, heart, cats, microelements, serum, blood





# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>1</b>
<b>2</b>	<b>Vědecká hypotéza a cíle práce</b> .....	<b>2</b>
<b>3</b>	<b>Přehled literatury</b> .....	<b>3</b>
<b>3.1</b>	<b>Kočka domácí</b> .....	<b>3</b>
3.1.1	Aktuální taxonomie .....	3
<b>3.2</b>	<b>Cévní soustava</b> .....	<b>4</b>
3.2.1	Srdce .....	4
3.2.1.1	Převodní systém srdeční .....	5
3.2.1.2	Krevní tlak .....	6
3.2.2	Krev .....	6
<b>3.3</b>	<b>Srdeční onemocnění koček</b> .....	<b>8</b>
<b>3.4</b>	<b>Hypertrofická kardiomyopatie</b> .....	<b>8</b>
3.4.1	Příznaky .....	9
3.4.2	Diagnostika .....	10
3.4.3	Léčba .....	11
3.4.4	Dědičnost .....	13
<b>3.5</b>	<b>Mikroprvky</b> .....	<b>13</b>
3.5.1	Esenciální mikroprvky .....	14
3.5.1.1	Měď .....	14
3.5.1.2	Selen .....	14
3.5.1.3	Zinek .....	15
<b>3.6</b>	<b>Změny hladin mikroprvků v souvislosti s kardiovaskulárním systémem</b> .....	<b>16</b>
<b>4</b>	<b>Materiál a metody</b> .....	<b>20</b>
<b>4.1</b>	<b>Odběr a příprava materiálu</b> .....	<b>20</b>
4.1.1	Vzorky .....	21
<b>4.2</b>	<b>Analytické metody</b> .....	<b>23</b>
4.2.1	Ředění vzorků .....	23
4.2.2	Hmotnostní spektrometrie .....	23
4.2.3	Vyhodnocení experimentu .....	24
<b>5</b>	<b>Výsledky</b> .....	<b>25</b>
<b>5.1</b>	<b>Zastoupení prvků</b> .....	<b>25</b>
<b>5.2</b>	<b>Hladiny prvků v závislosti na pohlaví</b> .....	<b>26</b>
<b>5.3</b>	<b>Hladiny prvků v závislosti na věku</b> .....	<b>30</b>
<b>5.4</b>	<b>Hladiny prvků v závislosti na diagnóze</b> .....	<b>34</b>
<b>6</b>	<b>Diskuze</b> .....	<b>39</b>
<b>7</b>	<b>Závěr</b> .....	<b>42</b>
<b>8</b>	<b>Seznam literatury</b> .....	<b>43</b>
<b>9</b>	<b>Samostatné přílohy</b> .....	<b>I</b>



# 1 Úvod

Hypertrofická kardiomyopatie (HCM) je onemocnění srdce, způsobené ztluštěním stěny levé srdeční komory. V současné době patří mezi nejčastější kardiologická onemocnění zejména čistokrevných koček, přičemž rozsah příznaků se pohybuje od jednoznačných příznaků až po zcela asymptomatické kočky. K monitoringu výskytu onemocnění se efektivně používá echokardiografie, ale používají se i další testy, založené na využití srdečních biomarkerů. Mezi nimi je často využíváno stanovení hladiny natriuretických peptidů v séru, i když někteří autoři tento test považují za nedostatečně průkazný u mírných forem onemocnění (Häggström et al. 2015). Natriuretické peptidy mají vazodilatační účinek, zvyšují natriurézu a diurézu, inhibují buněčný růst a snižují aktivitu sympatiku (Málek 2002). V praxi je sledován zejména natriuretický peptid B (BNP, mozkový natriuretický peptid, brain natriuretic peptide), a to jeho N-terminální frakce (NT-proBNP).

Výskyt nejzávažnějších srdečních onemocnění u člověka i zvířat, bývá často dáván do souvislosti s hladinami některých esenciálních mikroprvků. Důležitým esenciálním prvkem je například zinek, jehož dyshomeostáze může být příčinou mnoha nemocí, včetně těch kardiovaskulárních. Bylo prokázáno, že suplementace zinkem má protektivní efekt v případě onemocnění srdečních cév či diabetické kardiomyopatie (Little et al. 2010, Wang et al. 2017). Byly také zaznamenány změny hladin Zn a Cu v séru s rozvojem ischemické kardiomyopatie, ale i s dalšími nemocemi, jako je arterioskleróza, onemocnění srdečních cév, a nakonec i městnavá srdeční slabost (Shorkzadeh et al. 2009, Ghaemian et al. 2010), kdy například Melnikov et al. (2014) zaznamenali více než dvojnásobně vyšší obsah Cu v krevní plazmě pacientů s kardiomyopatií ve srovnání se zdravou populací.

Dalším významným esenciálním prvkem v této souvislosti je selen. Tento prvek je významnou součástí antioxidační obrany organismu, je například součástí enzymů glutathion peroxidasy, thioredoxin reduktasy, či selenoproteinu P. Alexanian et al. (2014) zjistili, že koncentrace Se v séru pacientů s akutním koronárním syndromem byla nižší ve srovnání s průměrem zdravé populace. Bayır et al. (2013) pak předpokládají, že snižování hladiny Se v séru může odrážet stupeň nekrózy myokardu u těchto pacientů. Další práce dokumentující souvislost nízkých hladin Se a Zn, a naopak vysokých hladin Cu v séru s rozvojem srdečních onemocnění shrnuli například McKeag et al. (2012).

## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

Hypotéza: Souvislost hladin těchto esenciálních prvků s výskytem HCM zatím sledována nebyla, ale lze předpokládat, že podobně jako u jiných srdečních onemocnění, by změny hladin uvedených prvků v séru mohly indikovat vývoj nemoci.

Cílem diplomové práce je soustředit odbornou a vědeckou literaturu týkající se kočky domácí a problematiky anatomie a fyziologie srdce, krve a jejího složení, hypertrofické kardiomyopatie a esenciálních mikroprvků (Cu, Se, Zn) a shrnout tuto část do literární rešerše. Dále zhodnotit tyto poznatky a na základě praktické části vyhodnotit možnou souvislost mezi hodnotami konkrétních esenciálních mikroprvků v krvi odebraných pacientů, kteří mají hypertrofickou kardiomyopatii diagnostikovanou veterinárním lékařem, anebo jsou zcela prosti této nemoci.

## 3 Přehled literatury

### 3.1 Kočka domácí

Kočka domácí se díky člověku vyskytuje, vyjma Arktidy a Antarktidy, na všech kontinentech. Jedná se o domestikovanou formu kočky plavé, jednoho z poddruhů kočky divoké (*Felis silvestris* Schreber, 1777), která byla jejím přímým předkem. Ačkoliv probíhala domestikace velmi dlouho, současná plemena koček jsou si stále velmi podobná. V závislosti na plemenu mají kočky mezi 2,5 až 4,5 kg, u kocourů se tato hodnota pohybuje mezi 3,5 a 7 kg, v kohoutku mají asi 30 cm. V současné době je nepřeborné množství kočičích plemen, každý rok se počet nově uznaných plemen zvyšuje. V České republice jsou nejvíce chována tato plemena: mainská mývalí kočka, britská kočka, ragdoll či siamská kočka (Říhová 2007).

#### 3.1.1 Aktuální taxonomie

Nejnovější zoologická systematika kočky divoké a domácí, jak uvádějí Wilson & Mittermeir (2009).

Říše:	živočichové	Animalia	Linnaeus, 1758
Kmen:	strunatci	Chordata	Bateson, 1885
Podkmen:	obratlovci	Vertebrata	Cuvier, 1812
Nadtřída:	čtyřnožci	Tetrapoda	Gaffney, 1979
Třída:	savci	Mammalia	Linnaeus, 1758
Podtřída:	živorodí	Theria	Parker & Haswell, 1897
Řád:	šelmy	Carnivora	Bowdich, 1821
Podřád:	kočkotvární	Feliformia	Kretzoi, 1945
Čeleď:	kočkovití	Felidae	Fischer de Waldheim, 1817
Podčeď:	malé kočky	Felinae	Fischer de Waldheim, 1817
Rod:	kočka	<i>Felis</i>	Linnaeus, 1758
Druh:	kočka divoká	<i>Felis silvestris</i>	Schreber, 1777
	kočka domácí	<i>Felis silvestris f. catus</i>	Linnaeus, 1758

V moderních chovech domácích koček se vyskytuje celá řada závažných chorob, infekčních onemocnění, či parazitóz. Mezi ektoparazity (vnějšími) se hojně vyskytuje zablešení, zaklíštění, prašivina (způsobena svrabovkou kočičí), nebo například trombikulóza (původcem je sametka zarděnková). Z endoparazitů (vnitřních) lze uvést například toxokariózu (způsobena škrkavkou), teniózu (způsobena tasemnicí, nebo měchožilem), či například toxoplazmózu. Ať už se jedná o endo-, či ektoparazity, je nutné si uvědomit, že můžou zásadním způsobem poškodit zdraví zvířete (Popelářová 2011). Vnější parazité mohou způsobit například alergickou reakci, krev sající hmyz může přenášet nakažlivé choroby apod. Mezi nejčastější infekční onemocnění lze zařadit kupříkladu vzteklinu, infekční panleukopenii, infekční zánět pobřišnice (FIP), virovou leukémii, syndrom selhání imunity, virovou imunodeficienci (FIV), nebo například chlamydiózu. Mezi závažné choroby lze zařadit například zánět jater, felinní urologický syndrom (FUS), epilepsii, různá onemocnění pohlavního, kožního nebo zažívacího

aparátu atp. Závažnými chorobami jsou také choroby srdce a oběhového systému. To u koček souvisí nejčastěji s věkem, nebo obezitou, ale významnou roli hrají také genové predispozice. Mezi nejčastější příznaky srdeční vady je rychlá únava, zadýchávání a obecně nezvládnutí zátěže. I přes to se ale nemusí dlouho projevovat, protože srdce, které trpí určitým problémem, se snaží jej kompenzovat, například zrychlením frekvence, zesílením některé své stěny, nebo hypertenzí (zvýšením krevního tlaku). Mezi nejčastější srdeční onemocnění koček patří srdeční nedostatečnost a obecně různé srdeční vady – chlopňové, kardiomyopatie, infarkt, zánět osrdečníku (tyto nedostatky mohou vést k srdečnímu selhání), trombózy a anémie (Popelářová 2011, Mahelková 2004).

## 3.2 Cévní soustava

Základní funkcí cévní soustavy je přívod výživných látek včetně hormonů a kyslíku k tělním buňkám a odvod zplodin a oxidu uhličitého k orgánům vyměšovacím. Další funkcí je udržení homeostázy, tedy stálého vnitřního prostředí těla, což je důležité pro život buněk. Důležitou funkcí je také tvorba leukocytů, tedy bílých krvinek účastnících se obranných mechanismů. Obecně se dělí na krevní a mízní soustavu. Krevní soustava se základně dělí na srdce a krevní cévy a krev (Aspinall & Ackerman, 2016).

### 3.2.1 Srdce

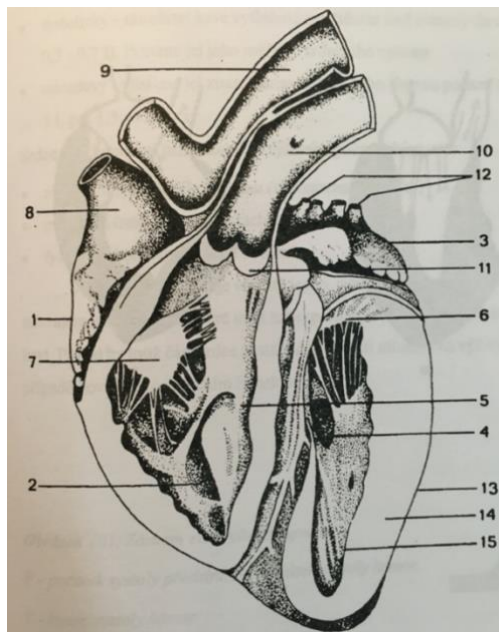
Srdce (*cor*) je svalový orgán ve tvaru kužele rozdělený na dutiny, který se rytmicky smršťuje, čímž zachovává krev v krevních cévách v neustálém pohybu. Má kuželovitý tvar a dělí se na bázi a hrot. Je uloženo ve vazivovém obalu, který je volný, k srdci přirůstá pouze v oblasti předsíní. Ve volné části vzniká štěrbina vyplněná vazkou tekutinou nazývanou osrdečník (perikard), která zabraňuje tření. U koček začíná báze u 3., někdy 4. žebra a zasahuje až k 6. žeburu (Černý 2004).

Srdeční stěna je tvořena třemi vrstvami (Reece 2009):

- 1) vnitřní částí osrdečníku – epikardem,
- 2) střední svalovou částí, označenou jako srdeční svalovina – myokardem,
- 3) vnitřní částí – endokardem, kterým jsou vystlány všechny srdeční dutiny.

Srdce je rozděleno na dvě základní poloviny – levou a pravou, přičemž každá má dvě dutiny – předsíně a komoru. Horní a dolní dutou žilou vede neokysličenou krev do pravé předsíně, odkud se přelévá skrze trojcípou chlopeň do pravé komory. Odtud putuje skrze poloměsíčitou chlopeň do plicnice, která ji dopraví do plic k jejímu okysličení. Z plic putuje krev zpět do srdce, konkrétně do levé předsíně a skrze dvojcípou chlopeň, levou komoru a další poloměsíčitou chlopeň je vypuzena do největší tepny v těle – srdečnice (aorty), odkud odchází k buňkám v těle, vše anatomicky znázorněno na Obr. 1 (str. 5). Zpětnému toku krve z komor do předsíní zabraňují právě cípaté chlopně, které jsou opatřené šlašinkami upevněnými na jejich volných okrajích. Poloměsíčité chlopně zabraňují zpětnému toku krve z komor. Každá komora má ještě takzvané „ouško“, které prostor rozšiřuje. Celý tento děj probíhá na základě dvou činností – systoly (stah srdce, krev je vytlačena do tepen) a diastoly (ochabnutí srdce, které se naplní krví). Hlavní podnět pro srdeční stahy vychází z takzvaného sinoatriálního uzlu. Délka srdečního cyklu se pohybuje v rozmezí od 0,75 do 1 s. Srdeční výživu zajišťuje pravá a levá věnčitá tepna, která vystupuje z aorty. Probíhají v brázdách srdce, prostupují do myokardu

a zužují se až do vlásečnic, které končí vlásečnicovým řečištěm. Odtud je krev odváděna žilami, jež se spojují ve věnčitý splav (Černý 2004, Reece 2009, Marvan a kol. 2007).



Obr. 1 Vnitřní stavba srdce (Černý 2004)

Legenda: 1 – pravá předsíň, 2 – pravá komora, 3 – levá předsíň, 4 – levá komora, 5 – srdeční přepážka, 6 – dvojcípá chlopeň, 7 – trojcípá chlopeň, 8 – přední dutá žíla, 9 – srdečnice, 10 – plicnice, 11 – poloměsíčitá chlopeň, 12 – plicní žíly, 13 – epikard, 14 – myokard, 15 – endokard.

Počet tepů za minutu je u kočky zhruba 120 až 150. Závisí na aktivitě i stáří kočky. Puls lze nahmatat na vnitřní straně zadní končetiny, či levé straně hrudníku v dolní části. U krátkosrstých plemen lze sledovat puls také zrakem (Willmer et al. 2005).

### 3.2.1.1 Převodní systém srdeční

Všechny tělní svaloviny mají funkci kontraktility. Převodní systém srdeční je složitý mechanismus a soubor dějů srdeční svaloviny vedoucí k pravidelným srdečním vzruchům a jejich vedením po celém orgánu. V oblasti vstupu přední duté žíly do pravé srdeční předsíně se nachází takzvaný sinoatriální uzlík, ve kterém vznikají vzruchy, které jsou dál vedeny po svalovině předsíní a pomocí vodivého systému myokardu jsou vedeny do srdečních komor. Tento uzlík má funkci pacemakeru, udává totiž tempo celé srdeční činnosti (Reece 2009, Iaizzo 2015).

Srdce je tvořeno svalovými vlákny, které vytváří soubuní (*syncitium*). Pro předsíně i komory je vytvořené vlastní soubuní, které je odděleno vazivovým prstencem. Díky tomu může docházet k nezávislé kontrakci předsíní i komor. Důležité je, aby se svalová vlákna v soubuní stahovala synchronizovaně, protože to přispívá k dostatečnému tlaku krve, který je klíčový k vytlačení krve z komor. K usnadnění vedení srdečních vzruchů slouží interkalární disky, které jsou vloženy mezi jednotlivá svalová vlákna syncitia. Dávají podnět k další práci na základě depolarizace předchozích svalových stahů. Mezi předsíněmi a komorami se nachází

také atrioventrikulární uzlík, který slouží zároveň ke zpomalení vzruchu, což napomáhá k preciznímu vyprázdnění srdeční předsíně před komorovým smrštěním. Mezi komorami, respektive v myokardu levé a pravé, se ještě nachází Purkyňova vlákna, která slouží k rychlejšímu přenosu srdečních vzruchů (Iaizzo 2015).

### 3.2.1.2 Krevní tlak

Krevním tlakem se označuje tlak, který se vyskytuje v krevním oběhu. Tepny obsahují četné množství elastických vláken, které umožňují jejich roztahání, díky tomu může krev v cévách proudit pod velkým tlakem. Pravidelný krevní tlak zajišťuje neustálý krevní přísun. V žilách koluje krev pod malým tlakem. Úplným smrštěním levé srdeční komory dochází ke vzniku nejvyššího tlaku v aortě, po jejím ochabnutí se ale tlak příliš nesnižuje (Bodey & Sanson 1998).

Rozlišuje se takzvaný systolický a diastolický krevní tlak. Systolický krevní tlak označuje nejvyšší hodnotu krevního tlaku při smrštění (systole) levé srdeční komory. Diastolický tlak označuje nejnižší hodnotu krevního tlaku při uvolnění (diastole) levé srdeční komory, tento děj se uskutečňuje přímo před další srdeční kontrakcí. Rozdíl mezi systolickým a diastolickým tlakem pak označuje hodnota tepový tlak. Hodnoty krevního tlaku se udávají v milimetrech rtuťového sloupce [mm Hg]. Průměrná klidová hodnota krevního tlaku kočky domácí je 140/90 mm Hg (Reece 2009, Bodey & Sanson, 1998).

### 3.2.2 Krev

Bouda a kol. (2003) uvádějí, že krev (*haema*) je tekutina cirkulující v těle, tedy uzavřeném systému, a má důležitý podíl na homeostáze. Skládá se ze dvou hlavních částí – celulárního kompartmentu, což je oddíl obsahující červené krvinky (erytrocyty), bílé krvinky (leukocyty) a krevní destičky (trombocyty), tato část zaujímá u dospělého zvířete zhruba 45 %. Druhou částí extracelulární kompartment, což je podpůrná část parenchymatózních orgánů, jinak krevní plazma, tuto část zaujímá zhruba 55 %. Hlavní funkcí krve je transport dýchacích plynů a dalších metabolitů, vody a tepla, dále regulace, která se podílí na udržení homeostázy a obrana, která je zprostředkována leukocyty, imunoglobuliny apod. Hodnota pH je kolem 7,4.

Tab. 1 Složení krve koček (O'Brien et al. 1998)

ml krve/kg ž. hm.	erytrocyty [x10 <sup>12</sup> /l]	leukocyty [x10 <sup>9</sup> /l]	trombocyty [x10 <sup>9</sup> /l]	hematokrit [%]
60–70	5–12	4–30	90–900	30–60
hemoglobin [g/l]	glukóza [mmol/l]	močovina [mmol/l]	kreatinin [μmol/l]	celková bílkovina [g/l]
90–180	4–10	5–12	50–160	60–110

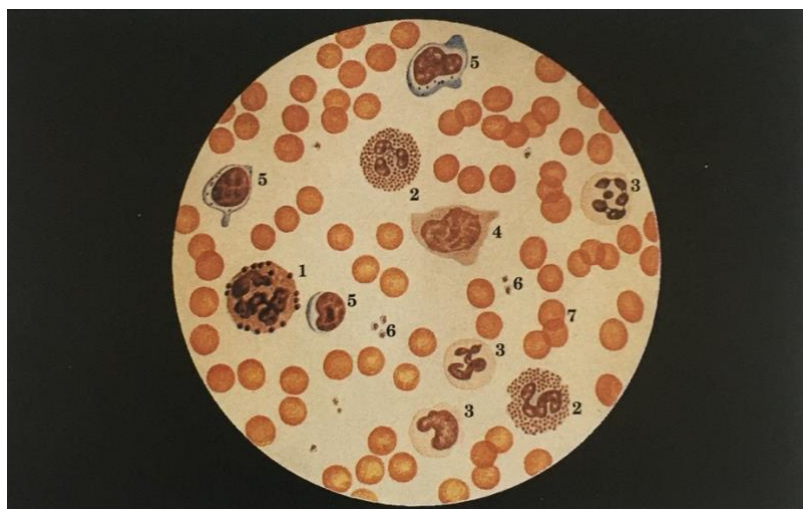
Krevní elementy plní celou řadu důležitých úkolů (Schmidt-Nielsen 1997):

- 1) erytrocyty – slouží k přenosu dýchacích plynů. Základní složka erytrocytů je hemoglobin – červené krevní barvivo. Tvar erytrocytů u savců je bikonkávní,



zároveň se jedná o bezjaderné buňky, což způsobuje zvětšení plochy buňky až o 30 %. Průměrná životnost těchto buněk je u koček od 66 do 79 dní.

- 2) Leukocyty – slouží k obranyschopnosti organismu proti virovým, bakteriálním a parazitickým infekcím. Na rozdíl od erytrocytů mají buněčné jádro. Tvarem se liší, neboť se základně dělí na granulocyty (obsahující v cytoplazmě granula) a agranulocyty (neobsahující granula).
  - a) Granulocyty – dále se dělí na neutrofilny, bazofily a eozinofily,
  - b) agranulocyty – dále se dělí na monocyty a lymfocyty.
- 3) Trombocyty – slouží k ochraně organismu před ztrátami krve; při porušení celistvosti endotelu cév vytváří hemostatickou zátku, díky které dochází k zástavě krve.



*Obr. 2 Hemogram u kočky (Bouda a kol. 2003)*

Legenda: 1 – bazofilní granulocyt, 2 – eozinofilní granulocyt, 3 – neutrofilní granulocyt, 4 – monocyt, 5 – lymfocyt, 6 – trombocyt, 7 – erytrocyt.

Krevní plazma je nebuněčná, vazká tekutá součást krve, která je nažloutlá a obsahuje asi 92 % vody. Zbytková část je sušina tvořená bílkoviny a solemi. Hlavní typy bílkovin jsou tři – albuminy, globuliny (alfa, beta, gama) a fibrinogen. U koček je zastoupení albuminů a globulinů téměř totožné. Tyto bílkoviny mají několik funkcí (Komárek 1964). Globuliny, zejména gama, obsahují protilátky, které se podílí na obranyschopnosti organismu, jedná se o takzvané imunoglobuliny. Fibrinogen se podílí při zástavě krve, kde se mění na vláknitý fibrin. Albumin udržuje onkotický tlak plazmy a plní transportní funkce, např. bilirubinu, steroidních látek, tyroxinu apod. Krevní plazma obsahuje také organické i anorganické látky. Do organických látek můžeme zařadit močovinu, amoniak, kreatinin, ale i tuky, uhlohydráty (například krevní cukr), hormony, vitaminy apod. Z látek anorganických kupříkladu fosfáty, chloridy, draslík, vápník, hořčík, sodík, chlor atd. Krevní plazmu lze získat odběrem krve a přidáním protisrážlivé látky, krevní plazma se poté oddělí centrifugací. Pokud se do krve protisrážlivá látka nepřidá, krev se srazí, tedy koaguluje. Centrifugací se pak uvolní krevní sérum, jehož složení je podobné plazmě, ale bez již vysráženého fibrinogenu a koagulačních faktorů (Reece 2009, O'Brien et al. 1998, Willmer et al. 2005).

### 3.3 Srdeční onemocnění koček

Srdeční onemocnění lze rozdělit do dvou základních kategorií – vrozené a získané. U vrozených vad může dojít k jejich propuknutí v nízkém i vyšším věku. Nejčastější příčinou je malformace srdce při jeho vývinu během embryonálního vývoje, kterou postihuje obvykle jedno kotě z vrhu nebo genetická či dědičná porucha, která má dopad na celý vrh. Příčinou získaných srdečních vad může být kupříkladu nadměrný stres, nadměrná fyzická zátěž, neřešené infekční onemocnění, ale také způsob života, stravování, obezita atd. U koček s kardiovaskulární chorobou je největším problémem pozdní, a ne vždy přesná diagnostika, která je sama o sobě velmi náročná a vyžaduje odborné a komplexní vyšetření. Postižené domestikované kočky vykazují málo příznaků, občasně se jeví zcela asymptomaticky. V pozdější fázi je nejběžnějším příznakem nadměrný spánek provozovaný někde pod kusem nábytku, kam se kočka schovává (Tidholm et al. 2015, Brunclík a kol. 2008, Dirven et al. 2010).

Srdeční onemocnění je u koček méně časté než u psů. Jak již bylo výše zmíněno, mezi jejich nejčastější srdeční onemocnění patří srdeční nedostatečnost a obecně různé srdeční vady – chlopňové, kardiomyopatie, infarkt, zánět osrdečníku (tyto nedostatky mohou vést k srdečnímu selhání), trombózy a anémie (Popelářová 2011, Mahelková 2004). Nejvíce sledovaným srdečním onemocněním u koček je právě hypertrofická kardiomyopatie, neboť se jedná o jejich nejčastější srdeční onemocnění, které ve většině případů končí fatálně.

### 3.4 Hypertrofická kardiomyopatie

Kardiomyopatie je skupina onemocnění, která se projevuje zhoršením srdeční funkce v důsledku poruchy srdečního svalu. Rozlišujeme několik typů: dilatační, ischemická, restriční a hypertrofická (Brunclík a kol. 2008).

Hypertrofická kardiomyopatie (dále jen „HCM“) je onemocnění střední svaloviny srdce – myokardu. Jedná se o nejčastější kardiologické onemocnění kočky domácí, které ovlivňuje 10–15 % koček (Freeman et al. 2017). Průměrný věk kočky postižené tímto onemocněním je 6 let. Častěji se vyskytuje u samců, kocourů. Nejčastěji se jedná o stav bez zjevné příčiny (Fuentes & Wilkie 2017).

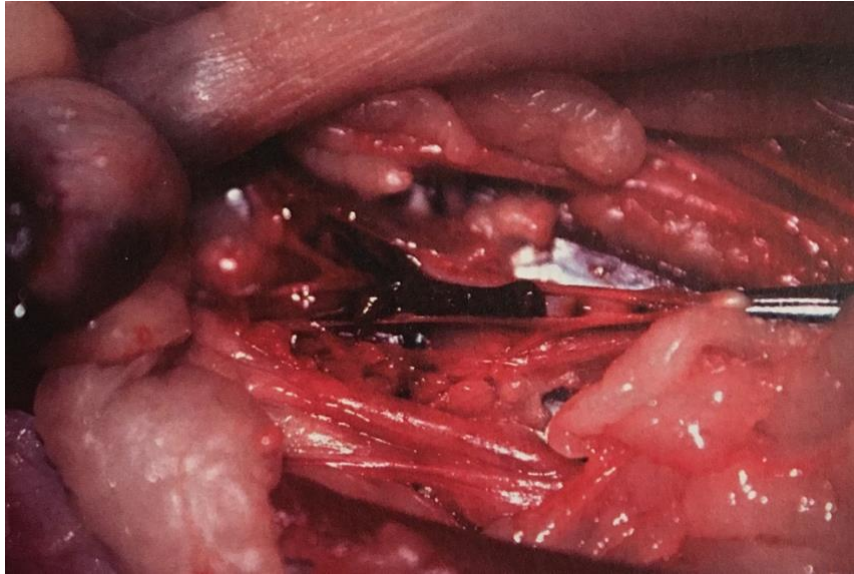
HCM je onemocnění, při kterém dochází k zesílení myokardu levé srdeční komory, což může zapříčinit také zmenšení jejího objemu. Stěna je zároveň tužší, neboť dochází ke strukturální změně svalového vlákna, a proto potřebuje více času k uvolnění. Způsobuje tedy zvýšení diastolického tlaku v komoře, to má za příčinu následné roztažení síně. Zároveň dochází ke snížení možnosti kontrakce svalových vláken a zvyšuje se systolický objem. HCM zabraňuje normálnímu plnění srdce krví, zmenšuje se diastolický objem a snižuje se srdeční výdej. Následkem toho dochází ke snížení průtoku krve ve tkáních atd. Pokles průtoku krve v ledvinách spustí aktivaci renin-angiotenzin-aldosteronového systému, což je systém, který se významně a přirozeně podílí na udržení fyziologické homeostázy regulací krevního tlaku, koncentrací solí a množství extracelulární tekutiny. Tento systém pak způsobí zvýšení objemu krve, a tedy i krevního tlaku. Dochází k srdečnímu selhávání. Nemoc mohou komplikovat tromby vznikající v dilatované levé síni a srdečním oušku, které se uvolňují a mohou způsobit tromboembolii aorty, na základě které dochází k akutní paréze (částečná neschopnost aktivního

pohybu), či paralýze (úplná neschopnost pohybu) pánevních končetin (Rush 1998, Brunclík a kol. 2008, Paige et al. 2007, Paul et al. 2006, Gregor 1992).

### 3.4.1 Příznaky

Symptomy HCM jsou různé. Kočky se mohou jevit absolutně bezpříznakově (asymptomaticky), nebo mohou mít příznaky tromboembolie, akutního srdečního selhání, anebo může dojít k náhlému úhynu. Abbott (2010) konstatuje, že nejčastějším klinickým projevem HCM jsou respirační potíže spjaté s plicním edémem. Pokud je srdeční stěna zesílena jen nepatrně, může kočka vykazovat pouze příznaky tromboembolie, nikoliv srdečního selhání. Zpočátku se kočka zadýchává, a to zejména při fyzické námaze či stresu. Fuentes & Wilkie (2017) popisují, že u lidí se může objevit bolest na hrudi, ovšem u koček tento problém není znám. Respirační obtíže jsou nejčastějším příznakem HCM, avšak mnoho majitelů si těchto problémů méně všímá, neboť většina koček je chována v domácím prostředí, a tak mají méně, nebo žádnou fyzickou námahu. Pokud dochází k tromboembolii, hlavními příznaky je bolestivost pánevních končetin, absence stehenního pulzu, chladná a zamodralá kůže. Co se týče náhlého úhynu, jeho podstata není u HCM zcela objasněna. Předpokladem je, že dochází k vytvoření velkého trombu, který ucpe srdeční otvor, nebo způsobí mechanické dráždění, které vyvolá fibrilaci komor, což způsobí zástavu synchronizace převodního systému srdečního (Brunclík a kol. 2008). Je nutné klást důraz zejména na tyto projevy: slabost, stavy křeče, respirační potíže (dušnost, kašel), rychlá unavitelnost, cyanóza (stav, při kterém dochází, vlivem nahromadění deoxygenovaného hemoglobinu v krvi, ke změně zbarvení kůže a sliznic na mdlou až namodralou barvu), poruchy vědomí, břišní distenze (roztažení). Doprovodnými projevy může být hubnutí, zvracení, průjem nebo polyurie (zvýšená tvorba moči). Velmi významným ukazatelem je již zmiňovaný kašel, který se objevuje nejčastěji v nočních hodinách, nebo po nějaké namáhavé aktivitě. Dle Brunclíka a kol. (2008) se kašel může dostavit pouze jednou týdně. Zároveň poukazuje na nutnost charakteristiky kvality kašle, u pacientů kardiiovaskulárního systému bývá vlhký s výhozem. Dalším významným ukazatelem je vliv stravy a okolního prostředí, protože jejich náhlé změny mohou vyvolat stresový diskomfort, který je následně promítán do celkového zdravotního stavu pacienta.

Fuentes & Wilkie (2017) popisují také častou přítomnost srdečního šelestu (zvukové fenomény vznikající vibrací části srdce při proudění krve, které se mění z laminárního na turbulentní typ), které upozorňuje na podezření HCM a objevuje se u 20 až 60 % koček. Je ale nutné vyloučit další kardiologická onemocnění projevující se šelestí. Častější, než šelest může být také takzvaný trojdobý rytmus, který vzniká v případě splnutí třetí a čtvrté srdeční ozvy spojenou se srdeční nedostatečností (Dirven et al. 2015, Rush 1998).



*Obr. 3 Tromboembolie u kocoura s HCM (Brunclík a kol. 2008)*

### 3.4.2 Diagnostika

Důležitými aspekty diagnostiky je celková anamnéza pacienta s vykazujícími příznaky. Základ spočívá v palpaci dutiny břišní, protože se srdečními problémy pojí zvětšená slezina a játra. Každý pacient vykazující srdeční šelest by měl být též podroben vyšetření krevního tlaku (Brunclík a kol. 2008). Rush (1998) dodává, že kromě níže zmíněných diagnostických metod je klíčové provést test na tyroxin (T4) ze séra, protože hypertyreóza (zvýšená funkce štítné žlázy) může vést k srdečním změnám, které jsou podobné projevu HCM.

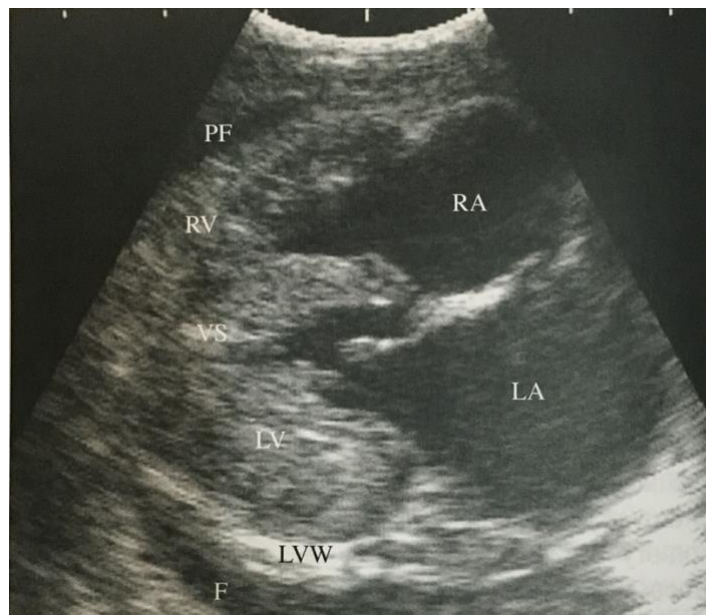
K diagnostice HCM se nejčastěji používají čtyři metody (Häggström et al. 2015):

- 1) EKG – echokardiografie je neinvazivní a zcela bezbolestná metoda vyšetření, jehož výsledky včetně interpretace značně reflektují zkušenosti veterinárního lékaře. Toto vyšetření vyžaduje odborné lékaře s velkou klinickou zkušeností. Jedná se o ultrazvukové vyšetření srdce, které zobrazuje srdeční stěny a struktury všech srdečních oddílů včetně jejich velikosti, funkce, směru krevního toku a odhadu nitrosrdečního tlaku. EKG může vykazovat normální hodnoty, nebo může naznačovat posun srdeční ozvy směrem doleva (Häggström et al. 2015, Brunclík a kol. 2008).
- 2) RTG – rentgen, vyšetření pomocí rentgenového záření. RTG slouží pouze jako doplňková diagnostická metoda. Díky rentgenovému vyšetření nemůže veterinární lékař diagnostikovat formu kardiomyopatie. RTG je užitečné k vyhodnocení přítomnosti příznaků srdečního selhání, nebo k abnormálním velikostem srdeční svaloviny. Abnormální proto, že pomocí RTG můžeme zaznamenat celkem normální srdeční velikost navzdory významné hypertrofii myokardu (Häggström et al. 2015, Brunclík a kol. 2008).
- 3) Srdeční biomarkery – dle Fuentes & Wilkie (2017) je toto testování u koček dostupné, levné a nevyžaduje žádné speciální školení, tudíž se čím dál častěji používá k diagnostice HCM. Biomarkery jsou v podstatě látky biologického charakteru (např. enzymy, hormony apod.), které jsou v případě nějakého onemocnění zvýšené v krvi. Dva hlavní biomarkery jsou natriuretický peptid

(NT-proBPN) – ke zjištění případného myokardiálního přetížení a troponin I (TnI) – ke zjištění případného myokardiálního poškození (Vondráková a kol. 2013).

- a) Natriuterický peptid – stimulatorem syntézy tohoto peptidu je zvýšení napětí ve stěně předsíní a komor.
  - b) Troponin I – uvolňuje se do oběhu jako reakce na poškození myokardu a koncentrace v krevní plazmě je v závislosti na rozsahu poškození.
- 4) USG – ultrasonografie. Toto diagnostické vyšetření je též zcela bezbolestné. V posledních desetiletích je USG základním vyšetřením kardiologie nejen koček. Při USG metodě je nutný kontakt oholené pokožky s ultrasonografickou sondou. Do tohoto prostoru se vkládá ultrasonografický gel pro vytvoření bezvzdušného prostoru. Jedná se o ultrazvukové vyšetření využívané k zobrazení svalů a vnitřních orgánů včetně jejich velikosti a struktury. Ultrazvukové vlnění se u koček do 7 kg živé hmotnosti užívá frekvence 7–8 MHz. Slouží pro průkaz zesílení mezikomorového septa a komorové stěny. Nejvyšší možná tloušťka srdeční stěny u koček je 5,5 mm. Pokud je hodnota vyšší než 6 mm, zpravidla se jedná o vážný případ HCM (Brunclík a kol. 2008).

Ideální metodou diagnostiky HCM je kombinace výše zmíněných metod, jejichž výsledky musí být brány v celkovém kontextu, zároveň s uvedenou anamnézou a případnými příznaky pacienta (Brunclík a kol. 2008).



Obr. 4 Ultrasonografické vyšetření kočky s HCM (Brunclík a kol. 2008)

Legenda: RV – pravá komora, RA – pravá síň, VS – komorové septum, LV – levá komora, LA – levá síň, LVW – stěna levé komory.

### 3.4.3 Léčba

U asymptomatických pacientů obecně nepanuje shoda ohledně léčby. Ideální přístup je takový, aby nedocházelo k rychlé progresi ve fázích onemocnění. Terapie HCM závisí na akutnosti onemocnění (Fuentes & Wilkie 2017).

Během akutní fáze je klíčové, aby bylo s pacientem zacházeno v co největším klidu, protože stresové podmínky mohou u kočky vyvolat zadýchávání, které zároveň vyvolává dušnost a arytmií. Dále je podstatné umístění pacienta rovnou do kyslíkového boxu. V případě zjištění středně velkého nebo velkého pohrudničního výpotku se doporučuje hrudní drenáž, díky které se evakuuje tekutina, která se u většiny koček pohybuje mezi 150 a 200 ml (Brunclík a kol. 2008).

Dle Brunclíka a kol. (2008) je hlavním cílem terapie podávání léčiv na snížení krevního tlaku, nejčastěji se jedná o furosemid (diuretikum), nitroprusid či nitroglycerin. Je důležité dodržovat lékařem stanovené množství podávaných léčiv, nebo může dojít k dehydrataci či poruše elektrolytové rovnováhy, která se následně řeší infuzí, což může být opětovně pro kočky stresující. Ware (2011) dále doporučuje postup proti případnému vzniku tromboembolie, a to léčbou pomocí antitrombotik (například warfarin, heparin nebo také aspirin). Malé arteriální embolie nemusí být vůbec zpozorovány, častou vedou do jater nebo jiných míst po těle. Při neurologických záchvatech putuje trombus nejčastěji do mozku (Rush 1998).

Gordon & Côte (2015) popisují, že standardní péče o pacienty s HCM spočívá v podávání furosemidu a inhibitorů angiotenzin-konvertujícího enzymu (inhibitory ACE). Ve vybraných případech se používá pimobendan, sotalol a spironolakton. Doplnují, že furosemid je základním farmaceutikem, které by se mělo podávat ve většině případů HCM, kočky ho obvykle dobře snášejí a je bezpečný. Inhibitory ACE vedou k poklesu tvorby angiotenzinu II a hromadění peptidu bradykininu, to vede k rozšíření tepének a žilek. Côte et al. (2011) dále popisuje, že se mohou podávat také betablokátory kvůli případnému infarktu myokardu, nebo při obecně zrychlené srdeční činnosti. Betablokátory (například atenolol, propranolol) snižují srdeční frekvenci, snižují spotřebu kyslíku v myokardu a ovládání obou komor. Obecným pravidlem při užívání betablokátorů je zpočátku podávání nízké dávky, která se postupně navyšuje k dosažení požadovaného účinku – snížení srdeční rychlosti. Schober et al. (2013) na druhou stranu uvádějí, že dlouhodobé užívání atenololu nemá významný vliv na průběh onemocnění. Ve své studii popisují, že ačkoliv je atenolol často medikován, slouží spíše k podpoře léčby, neboť jeho účinky nikdy nebyly prokázány. Dalším medikamentem je diltiazem, který se podává při akutní fázi HCM, zároveň se doporučuje k dlouhodobé léčbě, tento přípravek způsobuje rozšíření cév.

Freeman et al. (2014) testovali, zda může mít upravená dietní strava pozitivní vliv na pacienta s HCM. Zjišťovali, zda může u koček ovlivnit klinické, biochemické, anebo echokardiografické hodnoty. Výsledkem této šestiměsíční studie, při které se množství pacientů rozdělilo do 3 skupin, jejichž dieta se lišila ve složení uhlohydrátů, tuků a dalších přísad, bylo objeveno, že ačkoliv nebyly zjištěny významné rozdíly mezi 3 skupinami pacientů (lišily se v hodnotách močoviny, troponinu I, tělesné hmotnosti, cholesterolu, triacylglycerolů, NT-proBPN, ale i v rozměrech levé síně, nebo tloušťce mezikomorového septa během systoly), upravená dieta může mít vliv na některé biochemické a echokardiografické hodnoty. Bylo také zjištěno, že sodík snižuje účinky diuretik. Je tedy doporučováno snížit obecně příjem sodíku ve stravě, ale pouze za předpokladu, že je zdravotní stav pacienta stabilizovaný (Rush 1998). Gordon & Côte (2015) také upozorňují na riziko dietní stravy připravované v domácím prostředí. Chovatelé, byť s nejlepším svědomím a vědomím, připravující krmění v domácích podmínkách, by měli být informováni a srozuměni o dietních požadavcích na pacienty s HCM.

Nevědomost může vést k nutričním nedostatkům, které vedou ke zjevnému zhoršení zdravotního stavu.

Významným prvkem léčby je také dodržování podávání léčiv stanovených veterinárním lékařem a zachovávat doporučení, která byla stanovena. Léčení HCM vyžaduje dlouhodobé úsilí a poddajnost ze strany ošetřovatele, a proto je důležité vyhledat řešení, které bude mezi majitelem (ošetřovatelem) a pacientem fungovat. Je nutné počítat s komplikacemi, které se mohou projevit například zhoršeným chováním ze strany pacienta, který může kupříkladu odmítat medikaci, nebo, v horším případě, odmítat krmení, protože pozná, že je v něm medikace ukryta. Léčba je časově náročná, majitel by měl v ideálním případě několikrát denně kontrolovat pacientovo dýchání ať už v klidovém nebo aktivním režimu, nebo během spánku. Samozřejmostí je pravidelná kontrola moči, stolice, případných výměšků, kvality srsti nebo celkové nálady (Gordon & Côte 2015).

### 3.4.4 Dědičnost

U plemen ragdoll a mainská mývalí byla potvrzena možná dědičnost. Bylo zjištěno několik mutací v genech kódující sarkomery, včetně genu MYBPC3. Mutace genů (nejčastěji jednobodové) mohou způsobit rozvoj HCM. U plemene mainská mývalí dochází k mutaci A31P na genu MYBPC3, u plemene ragdoll dochází k mutaci R820W na stejném genu. Tento jev ale nutně nemusí znamenat, že dojde k propuknutí onemocnění. Existuje několik případů, kdy u pacientů mainské mývalí s mutací HCM nepropuklo a naopak. Momentálně nejsou jiné studie ani výsledky ohledně mutací jiných plemen. Obě, již zmiňovaná, plemena vykazují autozomální dominantní dědičnost, to znamená, že se jedná o geny uložené na nepohlavních chromozomech a přenos daného znaku je podmíněn dominantní alelou. Přenos znaku je tedy jak u heterozygotů (Aa), tak u dominantních homozygotů (AA). Prognóza je obecně horší u homozygotních koček ve srovnání s heterozygotními (Fuentes & Wilkie 2017, Meurs et al. 2005, Meurs et al. 2007).

Genetická vyšetření se mohou provádět již od juvenilního stáří jedince, nikdo však není schopen garantovat na základě výsledků, zda se HCM nebo jiná forma kardiomyopatie v průběhu života objeví či nikoliv. Nejlepší prevencí a doporučovanou metodou u koček predisponovaných plemen zařazených do chovného programu jsou každoroční preventivní prohlídky a kardiologická vyšetření (Longeri et al. 2013).

Dle Alberigi et al. (2019) jsou nejčastěji postiženými plemeny mainská mývalí, ragdoll, americká krátkosrstá, britská krátkosrstá, sphynx a perská kočka. Výskyt byl ale prokázán také u plemen norská lesní, barmská, siamská, bengálská kočka, něvská maškaráda nebo u klasické kočky domácí.

## 3.5 Mikroprvky

Mikroprvky jsou chemické látky, které se vyskytují v živých organismech pouze v tzv. stopovém množství = stopové prvky, či mikronutrienty (Kazda 2010). Jejich koncentrace ve tkáních jsou nižší než 50 mg/kg. Konkrétně se jedná o: železo (Fe), jód (I), měď (Cu), zinek (Zn), kobalt (Co), chrom (Cr), molybden (Mo), selen (Se), fluor (F), mangan (Mn), nikl (Ni), arsen (As), cín (Sn), křemík (Si) a vanad (V). Jejich hlavní úlohou je katalytické působení během enzymových reakcí. Fungují zde buď jako kofaktory (kofaktor je spojen s řetězcem

aminokyselin a tvoří takzvané složené enzymy), nebo jako součást metaloenzymů (ve své chemické struktuře má jeden nebo více atomů kovového prvku, například cytochrom apod.), kde je daný prvek pojen s bílkovinou.

### 3.5.1 Esenciální mikroprvky

Hlavní charakteristika esenciálních prvků spočívá v tom, že v případě, že dojde k přerušení doplňování prvku do organismu, dojde v tomto organismu k biochemickým změnám a v jejich důsledku pak ke změnám funkčním (Kazda 2010). Změny jsou pro každý prvek specifické. Tyto změny pak je možno úspěšně eliminovat dodáním adekvátního množství příslušných esenciálních mikroprvků organismu.

#### 3.5.1.1 Měď

Měď je velmi hojně zastoupený esenciální stopový prvek, který je v obecném měřítku nezbytný pro funkci všech buněk. Účastní se krve tvorby, její oxidázová aktivita je nutná pro oxidaci  $Fe^{2+}$  na  $Fe^{3+}$ , díky tomu umožní přípravu zásobního železa z ferritinu, jeho vestavění do transferinu a následné užití k syntéze hemoglobinu. Dále se podílí na pigmentaci kůže, srsti a očí, neboť měď je zapojena do syntézy melaninu. Podílí se na výstavbě kostí, mineralizaci kostry, zabezpečení integrity pojivových tkání v srdci a cévním systému, dále se uplatňuje také v termoregulaci a má vliv na imunitní systém (Tapiero et al. 2003).

Fascetti et al. (2002) hodnotili koncentraci mědi a plazmatického ceruloplazminu v krvi u koček (viz Tab. 2). Ceruloplazmin je bílkovina, na které je měď v organismu přenášena. Ceruloplazmin je důležitý také při metabolismu železa. Z tabulky je patrné, že samci vykazují výrazně vyšší koncentraci mědi. Zjistili také, že vyšší koncentrace mědi je v erytrocytech než v krevní plazmě.

Tab. 2 Koncentrace mědi (průměr  $\pm$  směrodatná odchylka) v krvi koček (Fascetti et al. 2002)

	< 1 rok věku		> 1 rok věku	
	samec	samice	samec	samice
plazma [ $\mu$ mol/L]	15,6 $\pm$ 0,4	12,6 $\pm$ 1,5	15,1 $\pm$ 1,2	10,7 $\pm$ 1,2
plná krev [ $\mu$ mol/L]	15,9 $\pm$ 0,6	13,8 $\pm$ 0,5	16,4 $\pm$ 1,0	12,9 $\pm$ 0,9
ceruloplazmin [u/L]	72,8 $\pm$ 3,8	40,4 $\pm$ 2,5	60,8 $\pm$ 3,5	39,1 $\pm$ 3,4

#### 3.5.1.2 Selen

Selen je prvkem, který byl pro svou toxicitu ve zvýšených koncentracích dlouhou dobu označován za nebezpečný, ale patří mezi významné esenciální prvky. Přebytek Se v organismu se nazývá selenóza, závažnějším problémem je ale jeho nedostatek. Selen lze nalézt prakticky všude – ve vodě, vzduchu, rostlinách i minerálech. Zvětrávání minerálů s obsahem selenu vede k obohacení půdy tímto prvkem. Do organismu se ovšem dostává pouze skrze potravu (Sharadamma et al. 2011, Brodowska et al. 2016).



Selen tvoří organokovové sloučeniny, jako je například selenocystein, který je součástí řady selenoproteinů. Selenocystein je podstatný pro mnoho fyziologických procesů. Také je součástí enzymu glutathionperoxidázy (GPx), který ochraňuje buňky před poškozením peroxidy a hydroxylovými radikály. Selen je také součástí enzymu jodtyronin-dejodázy, který je důležitý pro transformaci tetrajódyroninu na trijódyronin, klíčový pro metabolismus štítné žlázy. Je dokázáno, že sloučeniny selenu fungují jako antikarcinogeny a to i v progresivní fázi nádorového onemocnění. Dále je selen důležitý pro ochrannou funkci proti toxickým vlivům kadmia, stříbra a rtuti, nebo se účastní spermiogeneze, kdy nedostatek selenu může vést až k neplodnosti (Daniels 1996, WHO 1996). Foster et al. (2001) zjišťovali koncentraci selenu v krevní plazmě u koček z různých regionů (viz Tab. 3), podobných výsledků dosáhli ve své studii také Todd et al. (2011).

*Tab. 3 Koncentrace selenu v krevní plazmě koček různých geografických oblastí, kde n značí počet vyšetřených zvířat (Foster et al. 2001)*

Se [mmol/L]	median	minimum	maximum
Greve, Dánsko (n = 10)	6,46	4,20	7,88
Perth, Austrálie (n = 10)	5,19	3,95	7,24
Sydney, Austrálie (n = 14)	6,57	4,88	8,37
Edinburgh, Velká Británie (n = 16)	5,36	3,93	8,70

### 3.5.1.3 Zinek

Zinek je hned po železe nejvíce zastoupeným mikroprvkem v organismu. Je nutný pro aktivitu více než 200 enzymů (například ligázy, transferázy, izomerázy atd.), dále pro aktivitu DNA a RNA polymerázy, která je klíčová pro syntézu nukleových kyselin a bílkovin. Může též ovlivnit expresi některých genů, kde zinek funguje jako takzvané „zinkové prsty“ – proteinové domény zajišťující vazbu bílkoviny na sekvenční část DNA. Je důležitý pro funkci bariéry kůže, buněčnou imunitu, tvorbu inzulinu, aktivitu hormonu brzlíku nebo pro spermatogenezi či produkci hormonu testosteronu (WHO 1996). Zinek má důležitou funkci v ochraně organismu před ischemickou srdeční chorobou, ale i kardiomyopatií. Spouštěč typu ischemie, nebo infarkt vedou k uvolňování zinku a způsobují poškození myokardu. Na základě toho bylo prokázáno, že doplňování zinku zlepšuje srdeční funkci a zabraňuje dalšímu poškození. Důležitost zinku je patrná i z obrovského množství bílkovin, které obsahují ionty zinku. I přes to se dá říci, že se jedná o prvek nedostatečně prozkoumaný. Nedostatek zinku má za následek vznik arteriosklerózy (ztluštění tepen v důsledku ukládání tuku), která následně vede ke vzniku infarktu, nebo mozkové mrtvici. Kromě arteriosklerózy se s nedostatkem zinku pojí také s poškozením myokardu. Jeden z důkazů deficitu zinku je snížená chuť k jídlu a časná sytost (Little et al. 2010).

Zinek v srdci ovlivňuje regeneraci srdečního svalu, srdeční vodivost, akutní stresové reakce ale i regeneraci srdečních transplantátů (Melnikov et al. 2015).

Informace o obsazích Zn v organismu koček jsou velmi vzácné. Altunok et al. (2007) studovali hodnoty zinku u kočičího plemene turecká van (viz Tab. 4). Podobně jako v případě

mědi jsou nižší obsahy Zn v krvi samic ve srovnání se samci. Tito autoři také zdůrazňují, že hodnoty zinku v krvi se mohou lišit dle geografické oblasti, dle způsobu výživy, ale také dle použité metody výzkumu.

*Tab. 4 Koncentrace zinku (průměr ± směrodatná odchylka) u plemene turecká van (Altunok et al. 2007)*

Zn [mg/L]	samec	samice
krvní sérum	6,65 ± 1,49	4,14 ± 0,40

### 3.6 Změny hladin mikroprvků v souvislosti s kardiovaskulárním systémem

V řadě studií bylo prokázáno, že je koncentrace esenciálních mikroprvků vyšší nebo významně nižší u pacientů léčených se srdečními problémy, nejčastěji se vědecké studie zabývají srdečním selháním, často také s nějakým druhem kardiomyopatie, které k srdečnímu selhání vede. Nejčastější výzkumy ukazují na konkrétní stopové prvky – měď (Cu), selen (Se) a zinek (Zn). Nejen tyto esenciální mikroprvky hrají významnou roli při udržení struktury a fyziologie buněk a zároveň hrají roli v metabolismu lipidů, takže nepřímo působí na cévní systém (Bayır et al. 2013). Ghaemian et al. (2011) uvádějí, že tyto prvky jsou součástí integrální aktivity oxidoreduktáz, které slouží jako antioxidační ochrana. Zinek je klíčový k zachování buněčné membrány, jehož nedostatek může vést ke zvýšené senzitivě fosfolipidových buněk a tím pádem vést k oxidačním změnám – stresu, které jsou prvotním článkem při vzniku arteriosklerózy. Bylo zjištěno, že kromě ischemické kardiomyopatie (dále jen „ICM“) souvisí se změnou koncentrace Zn a Cu také onemocnění srdečních cév, anebo městnavá srdeční slabost (Shorkzadeh et al. 2009, Ghaemian et al. 2010). Melnikov et al. (2014) zaznamenali (viz Tab. 5) až dvakrát vyšší koncentraci Cu v krvi u lidských pacientů s dilatační, ischemickou i hypertrofickou kardiomyopatií. Tučně zvýrazněná jsou jejich data, která jsou porovnána s daty jiných studií. Doplňují také, že kromě poruchy srdeční činnosti je změna koncentrace způsobená též stravovacími návyky.

*Tab. 5 Koncentrace mědi (průměr ± směrodatná odchylka) porovnaná s literaturou (Melnikov et al. 2014)*

Cu [mg/L]	zdraví pacienti	pacienti trpící kardiomyopatií
dilatační kardiomyopatie	<b>1,01</b>	<b>2,2 ± 1,1</b>
	0,81 ± 0,2	1,28 ± 0,5
	1,17 ± 0,31	1,72 ± 0,31
ischemická kardiomyopatie	<b>1,01</b>	<b>2,8 ± 1,1</b>
	1,31 ± 0,42	1,54 ± 0,52
	1,3 ± 0,2	1,5 ± 0,5
hypertrofická kardiomyopatie	<b>1,01</b>	<b>2,6 ± 0,6</b>

Na myších bylo prokázáno, že nedostatek mědi v krvi může vyvolat hypertrofickou kardiomyopatii, ale může vést až k poškození myokardu (Elsherif et al. 2003). McKeag et al. (2012) dodává, že drtivá většina pacientů, kteří podlehlí srdečnímu selhání, nebo byli nuceni k hospitalizaci, měli významně nižší koncentraci mědi v krevním séru. Je tedy patrné, že deficit mědi má negativní dopad na cévní soustavu obecně. Jiang et al. (2007) provedli výzkum na myším modelu, ve kterém zjistili, že léčba HCM podpořená podáváním mědi způsobila významné zlepšení zdravotního stavu. Tato terapie se projevila ve zlepšení prakticky všech důležitých parametrech hodnotících HCM – krevního tlaku, echokardiografii a celkové zlepšení srdeční funkce. Důležité je dodat, že ani vysoká koncentrace mědi v krvi není bezpečná. Je též spjata s kardiovaskulárním rizikem, například zánětlivé procesy zvyšují ceruloplazmin a s ním i měď (Eshak et al. 2018). Většina studií se shodne v tom, že koncentrace mědi se zvyšuje se srdeční chorobou nebo obecně, cévními problémy.

Shokrzadeh et al. (2009) popisují možný vztah mezi množstvím stopových prvků u pacientů s ICM. Porovnávali hladiny zinku a mědi v krvi zdravých pacientů a u pacientů trpících ICM a zjistili, že nemocní měli nižší hladiny zinku a vyšší hladiny mědi (viz Tab. 6). Tuto skutečnost potvrzují i Topuzoglu et al. (2003). Hladiny zinku a mědi v organismu vzájemně interagují a vzájemně se vyrovnávají (Bayır et al. 2013).

*Tab. 6 Koncentrace Zn a Cu (průměr ± směrodatná odchylka) u zdravých a nemocných jedinců (Shokrzadeh et al. 2009)*

	zdraví pacienti	pacienti trpící ICM
Zn [mg/L]	1,12 ± 0,42	1,05 ± 0,28
Cu [mg/L]	1,31 ± 0,24	1,54 ± 0,52

Deficit zinku může být způsoben také medikací stanovenou lékařem, neboť medikamenty užívané k léčbě srdečního selhání, nebo například podávání inhibitorů angiotenzin-konvertujícího enzymu či furosemidu, mohou ovlivnit jeho metabolismus a vést k deficitu (Little et al. 2010). Karagulova et al. (2007) zaznamenali, že podáváním zinku nemocným pacientům došlo ke zlepšení nebo zotavení disfunkce myokardu a snížení srdečních arytmií až o polovinu.

Melnikov et al. (2015) v další studii, tentokrát zaměřené na zinek, zaznamenali rozdíly mezi hodnotami koncentrací Zn v krvi zdravých pacientů a pacientů trpících různými formami kardiomyopatie (viz Tab. 7). Tučně zvýrazněná jsou jejich data, která jsou porovnána s daty jiných studií. Výsledky dostupné z literatury jsou kompletně protichůdné, ukazují nám snížené hodnoty zinku u pacientů s dilatační a ischemickou kardiomyopatií, zatímco jejich studie prokázala úplný opak. Obecně se dá říci, že nepanuje shoda v hodnocení koncentrace zinku při srdečních chorobách. Jak již bylo výše zmíněno, nízká i vysoká koncentrace může mít devastující dopad. Hypertrofická kardiomyopatie naopak vykazuje slabé zvýšení hodnoty zinku v krvi. Při porovnání Tab. 5 a 7 bychom mohli předpokládat, že se u dilatační a ischemické kardiomyopatie zvyšuje koncentrace mědi a snižuje koncentrace zinku, naopak u hypertrofické kardiomyopatie se obě koncentrace těchto prvků zvyšují (Melnikov et al. 2014, Melnikov et al. 2015).

Tab. 7 Koncentrace zinku (průměr ± směrodatná odchylka) porovnaná s literaturou (Melnikov et al. 2015)

Zn [mg/L]	zdraví pacienti	pacienti trpící kardiomyopatií
dilatační kardiomyopatie	<b>1,30 ± 0,21</b>	<b>1,58 ± 0,73</b>
	0,92 ± 0,22	0,81 ± 0,15
	0,93 ± 0,18	0,74 ± 0,19
ischemická kardiomyopatie	<b>1,30 ± 0,21</b>	<b>1,33 ± 0,53</b>
	1,12 ± 0,42	1,05 ± 0,28
	0,62 ± 0,13	0,54 ± 0,92
hypertrofická kardiomyopatie	<b>1,30 ± 0,21</b>	<b>1,42 ± 0,33</b>

Nízká hodnota selenu v organismu představuje, mimo jiné, veliké riziko vzniku kardiovaskulárních onemocnění způsobených změnou v syntéze prostaglandinu a zvýšenou agregací trombocytů a vazokonstrikce a zároveň vede k endotelové dysfunkci a kardiomyopatii (Bayır et al. 2013, Kkeveetil et al. 2016). Několik studií potvrdilo, že narušení homeostázy selenu v organismu významně přispívá ke vzniku srdečního selhání. Alexanian et al. (2014) hodnotili koncentrace selenu v krvi jedinců postižených srdečním selháním (viz Tab. 8) a zjistili, že mají nižší hodnoty než zdraví jedinci. Tuto skutečnost potvrdilo i několik dalších studií (Oster et al. 1983, Cenac et al. 1996, Chou et al. 1998, Navarro-Alarcon et al. 1999, de Lorgeril et al. 2001, Kosar et al. 2006). Nutno podotknout, že srdeční selhání může být konečným důsledkem nějakého srdečního onemocnění, velmi často je v různých studiích spojován s nějakým druhem kardiomyopatie. McKeag et al. (2012) pozorovali, že lidé trpící srdečním selháním mají snížený příjem selenu potravou. V 60. letech došlo k objevu takzvané Keshanské nemoci, která se nápadně projevuje problémy kardiologického charakteru a která je důsledkem nízké koncentrace selenu v půdě a následně v rostlinné produkci. McKeag et al. (2012) také popisují, že většina studií zabývající se touto problematikou se shodne v tendenci, že pacienti trpící srdeční chorobou mají obecně snížené hladiny zinku a selenu a zvýšené hladiny mědi. Toto potvrzuje ve své studii zaměřené na srdeční selhání také de Lorgeril et al. (2001).

Tab. 8 Koncentrace selenu (průměr ± směrodatná odchylka) u zdravých a nemocných pacientů (Alexanian et al. 2014)

	zdraví pacienti	pacienti trpící srdečním selháním
Se [µg/L]	84,8 ± 26,4	74,9 ± 6,9

Jeejeebhoy et al. (2002) a Witte et al. (2005) nezávisle na sobě testovali účinky některých stopových prvků po dodání do organismu u pacientů se srdečním selháním. Navrhli, dle nich, ideální a vyvážený poměr příjmu mikronutrientů (viz Tab. 9), ale i dalších látek – proteinů, sacharidů, tuků, karnitinu, koenzymu Q10, vitaminů a dalších prvků. Výsledkem byl významný pokles diastolického objemu komor z 170,5 ml na 158,9 ml a vitalita se zlepšila až o 9,5 %. Z tabulky je také patrné, že docházelo zejména k doplňování zinku a selenu a udržování zdravé

hladiny mědi na normální úrovni. To koresponduje s teorií, o kterou se opírají i výše zmíněné studie. Tuto teorii potvrdili také Kkeveetil et al. (2016), který svou studií o účinkách mikronutrientů včetně aminokyselin opírá o zlepšení zdravotního stavu pacientů trpících též srdečním selháním.

*Tab. 9 Množství mědi, zinku a selenu přijímaného pacienty se srdečním selháním*

	Cu [mg]	Zn [mg]	Se [mg]
studie 1 (Jeejeebhoy et al. 2002)	1,5	15	50
studie 2 (Witte et al. 2005)	1,2	15	50

Bayır et al. (2013) zaznamenali pokles hladiny selenu a zinku v krevním séru během akutního koronárního syndromu (ten úzce souvisí s arteriosklerózou, během tohoto akutního syndromu dochází k trombotickým obtížím a komplikacím). Také popisují možnou korelaci mezi selenem a troponinem I, jehož zvýšená hladina je jedním z nejdůležitějších ukazatelů poškození myokardu. Také zaznamenali zlepšení o 24 % v reakci na zvýšení hladiny selenu až o polovinu.

Výše zmíněné prvky a jejich deficit, nebo naopak přebytek z velké části reflektují nejen stravovací návyky, ale i celkový životní styl pacientů. Studie zabývající se touto problematikou jsou zaměřené na lidskou společnost. Na srdeční potíže může mít negativní vliv špatná strava, s tím se pojí také obezita, diabetes mellitus, kouření, hypertenze, nutriční nevyváženost – nízký příjem esenciálních mikroprvků, vitaminů a tak podobně (Little et al. 2010). Nejvíce sledovaným kardiovaskulárním onemocněním koček je právě HCM, i přesto na ně nebyla dosud žádná ze studií, která se věnuje změnám esenciálních mikroprvků během tohoto onemocnění, aplikována.

## 4 Materiál a metody

Hladiny konkrétních esenciálních mikroprvků – měď (Cu), zinek (Zn) a selen (Se), byly zjišťovány na základě odběrů krve – plné krve a krevní plazmy, které byly následně podrobeny vyšetření, vedoucímu ke stanovení hladin těchto prvků.

### 4.1 Odběr a příprava materiálu

Krevní vzorky jsem získala od 49 pacientů, z toho dvěma pacientům byla krev odebrána dvakrát v různém časovém období (v rozmezí 2 týdnů), celkem tedy 51 krevních vzorků, jejich kompletní seznam je uveden v tabulce (viz Tab. 10, str. 21 a 22).

Odebírány byly mezi roky 2019 a 2020 primárně ze tří veterinárních klinik:

- 1) Veterinární klinika Načeradská, Úvalská 32, Praha, která se specializuje na felinní medicínu – 31 vzorků,
- 2) Veterinární klinika Fénix, Velehradská 19, Praha – 10 vzorků,
- 3) Veterinární klinika Benešov, Červené Vršky 2176, Benešov – 10 vzorků.

Odběr krve se u koček nejčastěji prováděl z hrdelní žíly. Při tom bylo nutné vyhlení této části, její desinfekce a fixace pacienta se vzpřímenou hlavou. Dále se prováděl odběr z předloktí, nebo z vnější strany zadní končetiny v úrovni nad patou. U obou těchto metod je nutné použít, mimo jiné, škrtidlo. Krev se odebírala pomocí injekční stříkačky nebo vakuového systému pro odběr krve, dle vybavení a zvyklostí konkrétního pracoviště.

Krev odebíraná k experimentu byla určena k hematologickému a biochemickému vyšetření, to znamená, že jsme pracovali s plnou krví odebranou do hematologické zkumavky s přísádkem EDTA – kyselina ethylendiamintetraoctové, která v tomto případě zabraňuje srážení krve (viz Obr. 5 vlevo), a krevní plazmou, která byla získána pomocí separátoru plné krve s lithium-heparinem (viz Obr. 5 vpravo) s následným odstředěním v centrifuze. Celkem bylo k dispozici 51 vzorků plné krve a 34 vzorků krevní plazmy. Krev se u hematologického odběru pouze vnesla do příslušné zkumavky a lehce se promíchala na elektrické třepačce po dobu 30 s, aby nedošlo ke krevnímu srážení. Krev vnesená do separátoru musí být naplněna po nejnižší rychlosti (700  $\mu$ L), poté se také promíchává, ale pouze krouživým pohybem, celkem 5 $\times$ . Po identifikačním popisu jednotlivých zkumavek se krev i plazma zamrazily při teplotě 20 °C.



Obr. 5 Zkumavky používané k odběru krve (foto: MVDr. Načeradská)

#### 4.1.1 Vzorky

Do experimentu jsme zařadili všech 51 krevních vzorků. Z toho 4 pozitivní na HCM, 6 negativních (pacienti byli vyšetřeni na HCM a výsledek byl negativní) a 39 netestovaných jedinců nevykazující známky zdravotních potíží. Lze tedy porovnat, zda se od sebe liší pozitivní a negativní a dále zda obsahy zapadají do běžného průměru obsahů v populaci či nikoliv. Poměr pohlaví je podobný, 20 samic a 23 samců. Věk se pohybuje od 7 měsíců do 19 let. Zde lze porovnat, jak se liší obsahy mezi pohlavími a v závislosti na věku. Nejčastějším plemenem je kočka evropská (standardní domácí kočka) v celkovém počtu 21 a kočka britská, celkem 10 jedinců tohoto plemene. U některých jedinců nebyla dodána data ohledně věku, pohlaví, plemene apod. (viz “neurčeno“).

Tab. 10 Kompletní seznam testovaných zvířat

vzorek	kočka	nález (HCM)	plemeno	pohlaví	věk
1	Phill	netestované	britská	samec	9 měsíců
2a	Tedy	netestované	evropská	samice	5 let
3a	Tedy	netestované	evropská	samice	5 let
4	neurčeno	netestované	neurčeno	neurčeno	neurčeno
5b	Alisa	netestované	evropská	samice	11 let
6	Eliška	netestované	perská	samice	17 let
7	Kasjan	netestované	něvská maškaráda	samec	9 let
8	Franz Josef	netestované	britská	samec	5 let
9	Černá	netestované	evropská	samice	19 let
10	Anabel	netestované	egyptská mau	samice	3,5 let

Tab. 10 Kompletní seznam testovaných zvířat – dokončení

vzorek	kočka	nález (HCM)	plemeno	pohlaví	věk
11	Jonáš	netestované	evropská	samec	7,5 let
12	Majdalena	netestované	britská	samice	10 let
13	Rozi-Bozi	netestované	evropská	samice	14 let
14	Jack	netestované	evropská	samec	15 let
15	Miky	HCM	britská	samec	5 let
16	Tedy	netestované	evropská	samec	3 roky
17	Glum	netestované	evropská	samec	7 měsíců
18	Majdalena	netestované	britská	samice	10 let
19 <sub>b</sub>	Alisa	netestované	evropská	samice	11 let
20	Timon	netestované	maineská mývalí	samec	7 let
21	Olinka	netestované	americká kadeřavá	samice	3 roky
22	Tedynka	netestované	evropská	samice	5 let
23	neurčeno	netestované	neurčeno	neurčeno	neurčeno
24	neurčeno	netestované	neurčeno	neurčeno	neurčeno
25	neurčeno	HCM	neurčeno	neurčeno	neurčeno
26	neurčeno	netestované	neurčeno	neurčeno	neurčeno
27	neurčeno	netestované	neurčeno	neurčeno	neurčeno
28	neurčeno	netestované	neurčeno	neurčeno	neurčeno
29 <sub>c</sub>	Žofie	negativní	kartouzská	samice	7 měsíců
30	Tobiáš	netestované	birma	samec	1 rok
31	Benji	netestované	ragdoll	samice	9 let
32	Miky	HCM	britská	samec	5 let
33	Felix	netestované	evropská	neurčeno	4 roky
34	Mišule	netestované	somálská	samice	9 let
35	Kloti	netestované	habešská	samice	1 rok
36	Otylie	netestované	evropská	samice	7 měsíců
37	Timothy	netestované	ruská modrá	samec	8 let
38	Marcel	netestované	evropská	samec	1 rok
39 <sub>c</sub>	Barborka	negativní	britská	samice	16 let
40 <sub>c</sub>	Gottfried	negativní	britská	samec	3 roky
41 <sub>c</sub>	Oskar	negativní	britská	samec	6 let
42	Teo	HCM	britská	samec	3 roky
43	Mína	netestované	evropská	samice	1 rok
44	Rio	negativní	evropská	samec	6 let
45	Micouch	netestované	barmská	samec	5 let
46	Damián	netestované	evropská	samec	7 let
47	Gilbert	netestované	evropská	samec	15 let
48	Evee	negativní	evropská	samice	3 roky
49	Bud	netestované	evropská	samec	5 let
50	Eddie	netestované	orientální	samec	8 let
51	Bělinek	netestované	evropská	samec	2 roky

a, b jedná se vždy o stejné zvíře, kdy byly provedeny dva odběry v rozmezí 2 týdnů; c nepříbuzná skupina zvířat žijících v jedné domácnosti



## 4.2 Analytické metody

Krevní vzorky jsme rozmrazili při laboratorní teplotě 20 °C. Ke stanovení koncentrací sledovaných prvků bylo nutné vzorky naředit.

### 4.2.1 Ředění vzorků

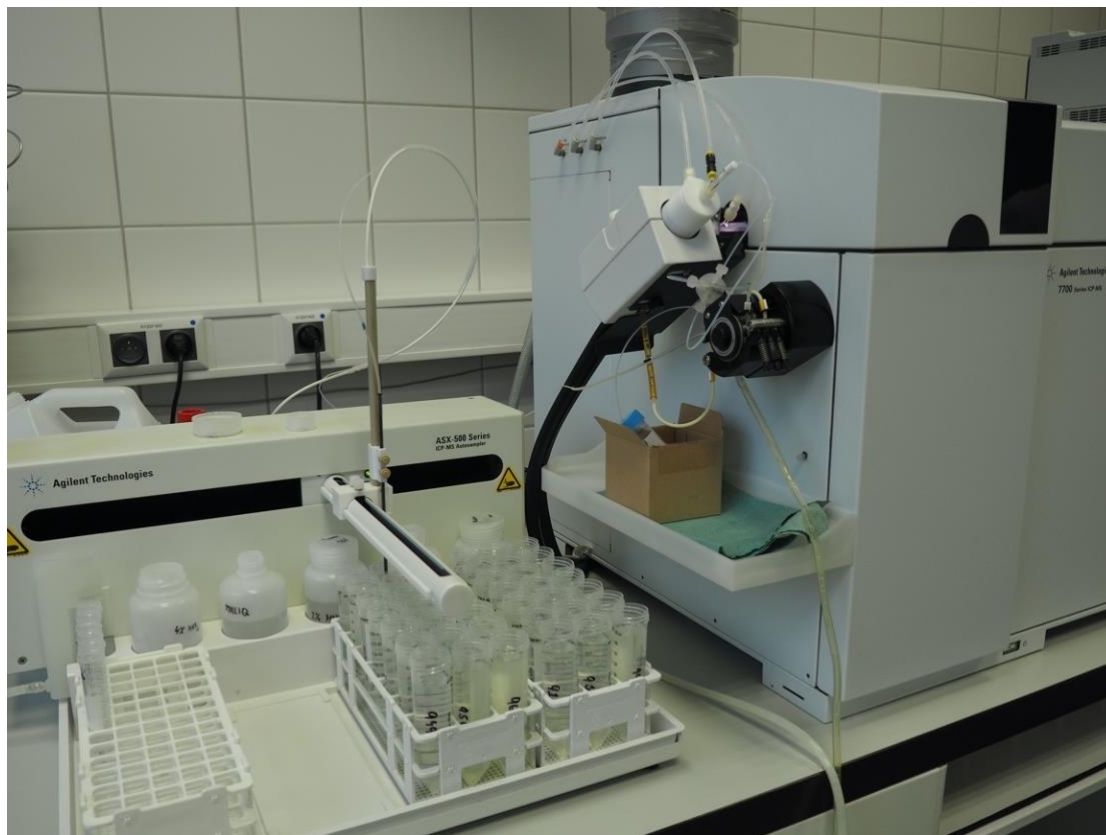
Navázili jsme krev či plazmu (přibližně 0,3 g) na analytických vahách, které váží s přesností 0,1 mg, do polypropylénových 15ml zkumavek s víčkem. Další úprava vzorku vychází z postupu popsáném v práci Batista et al. (2009) s několika modifikacemi uvedenými dále. Krev a plazmu jsme naředili ředícím roztokem – 0,1% (m/v) HNO<sub>3</sub> (Analpure®, Analytika, Česká republika) a 0,01% (m/v) Triton X-100 (extra čistý, ROTH, Německo) v ultračisté vodě ( $\geq 18,2 \text{ M}\Omega \text{ cm}^{-1}$ ; Milli-Q systém; Millipore, SAS, Francie) v poměru 1:34 (m/v), tj. výsledné ředění 35×. Triton X-100 je detergent, který slouží jednak k lýzi krevních buněk, ale i ke snížení povrchového napětí krve, což usnadňuje dávkování roztoku do měřicího přístroje a zvyšuje účinnost promývání přístrojových kapilár. Takto připravený vzorek je možno přímo analyzovat technikou hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (Inductively Coupled Plasma-Mass Spectrometry, ICP-MS).

### 4.2.2 Hmotnostní spektrometrie

Vlastní stanovení sledovaných prvků – selen (Se), zinek (Zn) a měď (Cu), bylo provedeno technikou ICP-MS. Tato velmi citlivá, selektivní a robustní technika vyniká nízkými detekčními limity pro většinu prvků periodické tabulky (viz Obr. 6). Princip techniky je následující: střídavým vysokofrekvenčním magnetickým polem v cívce je na hořáku indukováno argonové plazma o teplotě 6000–10000 K. Do tohoto plazmatu přichází ze zmlžovače vzorek ve formě aerosolu, z něj se v plazmatu odpaří veškeré rozpouštědlo, zaniknou chemické vazby a díky energii plazmatu vzniknou volné kationty, které dále pokračují do hmotnostního separátoru. Separátorem je nejčastěji takzvaný kvadrupól, tj. soustava čtyř kovových tyčí o délce 30–40 cm a průměru asi 10 mm, na které je postupně vkládáno stejnosměrné vysokofrekvenční elektrické napětí tak, aby dvě protilehlé tyče měly vždy stejnou polaritu. Působením takto vytvořeného elektromagnetického pole se kationty, které vstupují do kvadrupólu, rozkmitají a v horizontálním směru proletí celým kvadrupólem pouze částice o definovaném poměru  $m/z$  (hmota/náboj), které poté dopadnou na detektor. Ostatní částice jiného  $m/z$  mají v kvadrupólu nestabilní trajektorii a nejsou detekovány (Thomas 2001).

V našem případě byl použit přístroj Agilent 7700x (Agilent Technologies, Inc., USA) provozovaný v heliovém módu oktapólové kolizně/reakční cely (pro snížení případných polyatomických spektrálních interferencí). Další charakteristické součásti přístroje tvoří: automatický dávkovač ASX-500, tříkanálová peristaltická pumpa, zmlžovač typu MicroMist a Scottova mlžná komora. Přístroj byl kalibrován aplikací externí kalibrace v rozmezí 1–500  $\mu\text{g/L}$  (Se, Zn, Cu) v matrici ředícího roztoku. Signál analytu byl korigován na odezvu vnitřních standardů (roztok germania (Ge) a rhodia (Rh) – obojí 50  $\mu\text{g/L}$  v 0,1% HNO<sub>3</sub>). Citlivost a stabilita signálu přístroje byla denně optimalizována na základě proměrování ladícího roztoku obsahujícího 1  $\mu\text{g/L}$  Ce, Co, Li, Mg, Tl, Y (Agilent Technologies, Inc., USA).

K akvizici a zpracování analytických dat byl použit software MassHunter verze A.01.02 (Agilent Technologies, Inc., USA, 2012).



*Obr. 6 Agilent 7700x ICP-MS s automatickým podavačem ASX-500 (foto: autor)*

K přepočtu koncentrací mikroprvků na výchozí navážku krve (plazmy), respektive na výchozí objem jsme použili tabelované hodnoty specifické hmotnosti pro krev – 1,059 g/ml a plazmu – 1,025 g/ml.

#### **4.2.3 Vyhodnocení experimentu**

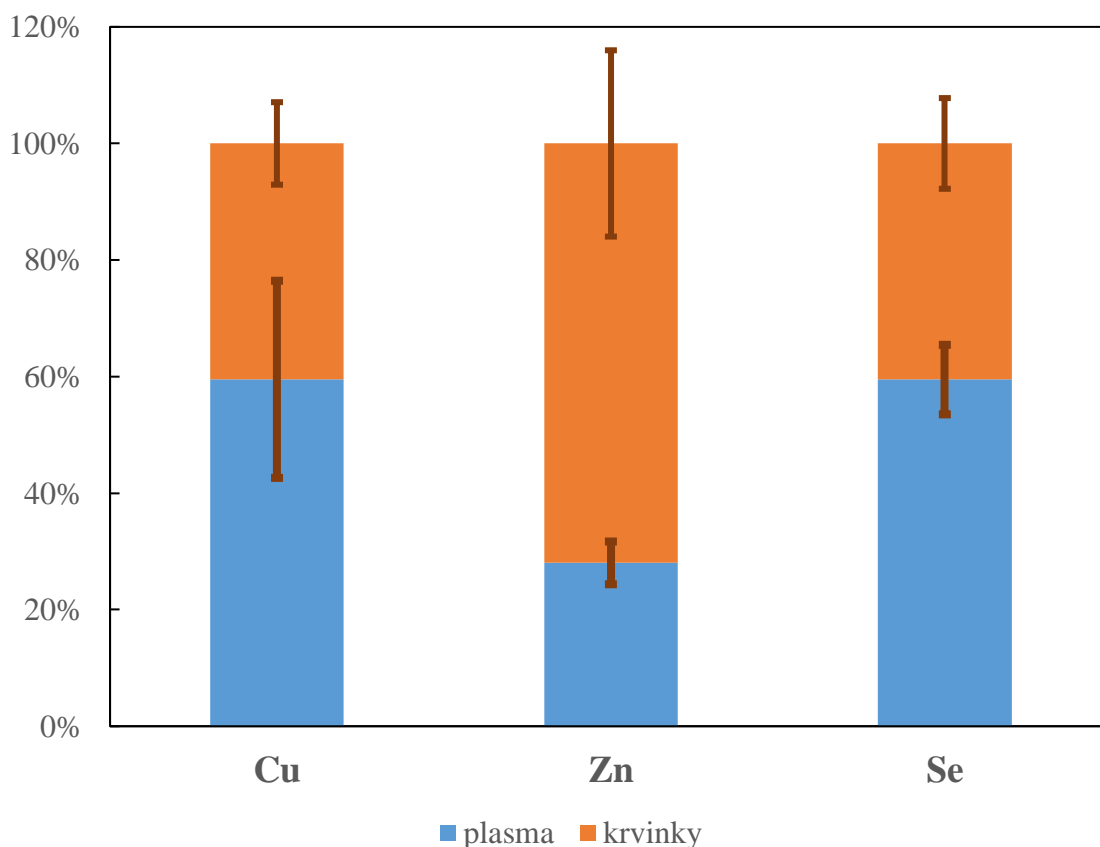
Ke statistickému zpracování získaných dat byl použit program Statistica 12.0 ([www.StatSoft.com](http://www.StatSoft.com)). K vizualizaci základních statistických charakteristik jednotlivých proměnných byl využit krabicový graf neboli boxplot, jehož výhoda tkví v odhalení odlehlých hodnot, a skládaný sloupcový graf s použitím grafického programu Excel 2016. Po porovnání jednotlivých proměnných byla použita jednoduchá analýza rozptylu (ANOVA) na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$  s následným vícenásobným porovnáváním pomocí Scheffého testu. Posuzovány byly obsahy prvků v krevní plazmě i plné krvi v závislosti na pohlaví, věku a dle diagnózy.

## 5 Výsledky

Kompletní hodnoty krevních výsledků všech jedinců jsou zaznamenány v Příloze 1 a 2. Nutno podotknout, že ne od všech pacientů se povedlo získat vzorky krevní plazmy (viz Příloha 1), a proto mohou být výsledky statistického porovnávání zatíženy nerovnoměrným zastoupením experimentálních dat.

### 5.1 Zastoupení prvků

Zastoupení sledovaných prvků v jednotlivých složkách krve (průměr všech zvířat, u kterých byla k dispozici hodnota hematokritu, bez ohledu na pohlaví a věk) jsou uvedeny v Grafu 1, kde úsečky představují median absolutních odchylek naměřených dat (dále jen „MAD“). MAD je ekvivalentem směrodatné odchylky směrem k medianu, což značí rozptyl výsledků neboli – jak jsou data vzdálená od medianu.

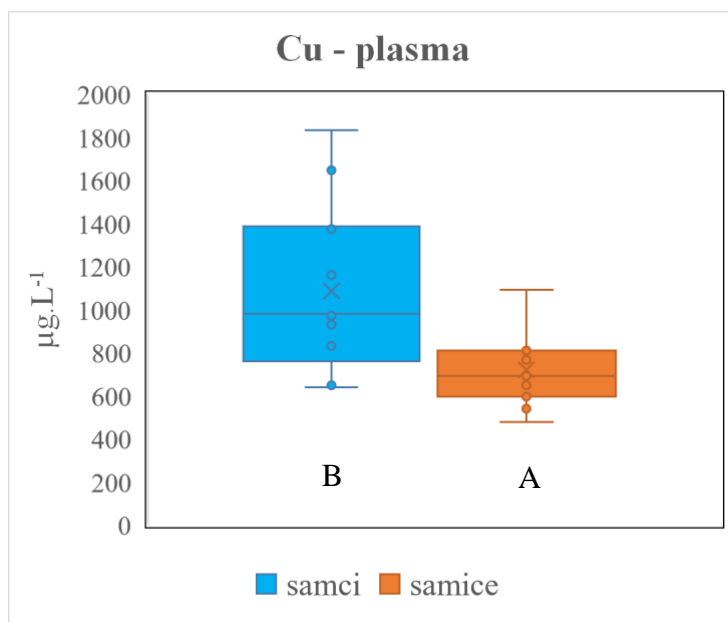


Graf 1: Zastoupení sledovaných prvků v jednotlivých složkách krve

Z grafu 1 je tedy zřejmé, že prvky jsou zastoupené v plazmě i krvinkách. U mědi a selenu je zhruba rovnoměrné zastoupení, zatímco zinek je obsažen převážně v krvinkách. Dalo by se tedy očekávat, že u zinku budou výsledky důležitější v plné krvi, protože je zde signifikantně zastoupen. Úsečky značí variabilitu výsledků. Stabilnější je zastoupení mědi v plazmě. Obecně ale úsečky značí velkou variabilitu získaných dat, a tedy nevyrovnaný obsah prvků v rámci získaných souborů dat.

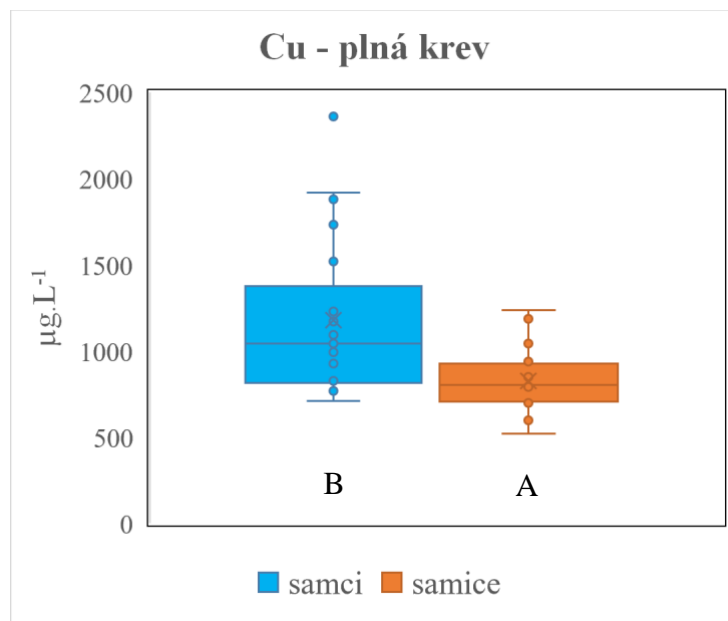
## 5.2 Hladiny prvků v závislosti na pohlaví

Obsahy sledovaných prvků rozdělené dle pohlaví jsou uvedeny v grafech 2–7. Skupiny označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . Zvířata pozitivní na HCM byla z hodnocení vyřazena. Základní statistické charakteristiky naměřených dat shrnuje Příloha 3.



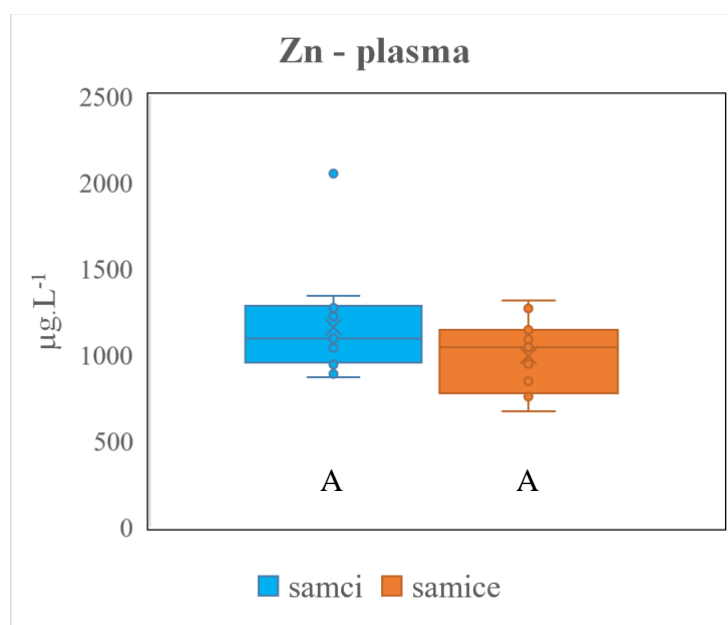
Graf 2: Krabicový graf zobrazující hladinu mědi v krevní plazmě v závislosti na pohlaví

Obsah mědi v plazmě (viz Graf 2) se pohyboval u samců v rozmezí od 639 µg/L do 1832 µg/L. U samic od 478 µg/L do 1090 µg/L, u samic byly hodnoty tedy obecně nižší. Median u samců se rovnal 980 µg/L, u samic 693 µg/L. Hodnoty mezi samci a samicemi vykazují statisticky významný rozdíl. Hodnoty samců jsou statisticky významně vyšší, ale vykazují větší rozptyl dat, interval spolehlivosti je též širší.



Graf 3: Krabicový graf zobrazující hladinu mědi v plné krvi v závislosti na pohlaví

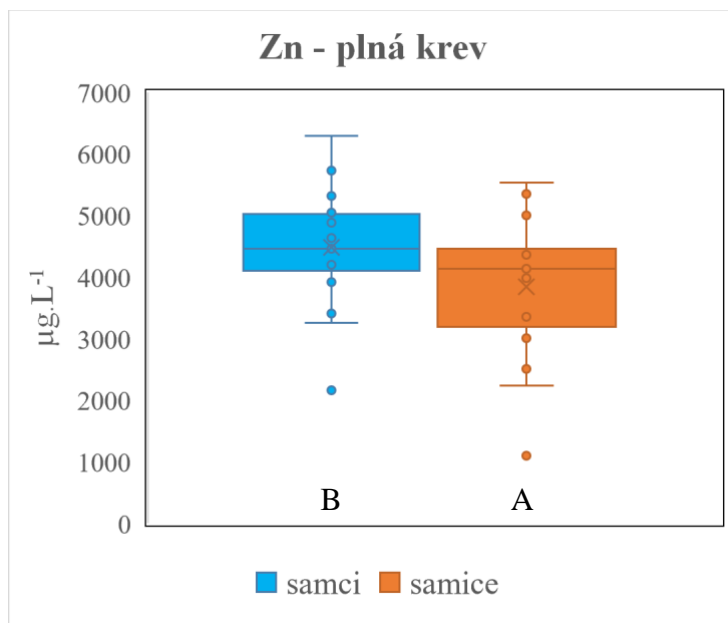
Obsah mědi v plné krvi (viz Graf 3) se pohyboval u samců v rozmezí od 709  $\mu\text{g/L}$  do 2360  $\mu\text{g/L}$ . U samic od 518  $\mu\text{g/L}$  do 1236  $\mu\text{g/L}$ , u samic byly hodnoty taktéž obecně nižší. Median u samců se rovnal 1041  $\mu\text{g/L}$ , u samic 804  $\mu\text{g/L}$ . Hodnoty mezi samci a samicemi vykazují statisticky významný rozdíl. Hodnoty samců jsou statisticky významně vyšší, ale vykazují větší rozptyl dat, interval spolehlivosti je též širší. Do hodnocení nebyla zahrnuta statisticky odlehlá data, která byla programem ze statistiky vyloučena (číslo významně vyšší).



Graf 4: Krabicový graf zobrazující hladinu zinku v krevní plazmě v závislosti na pohlaví

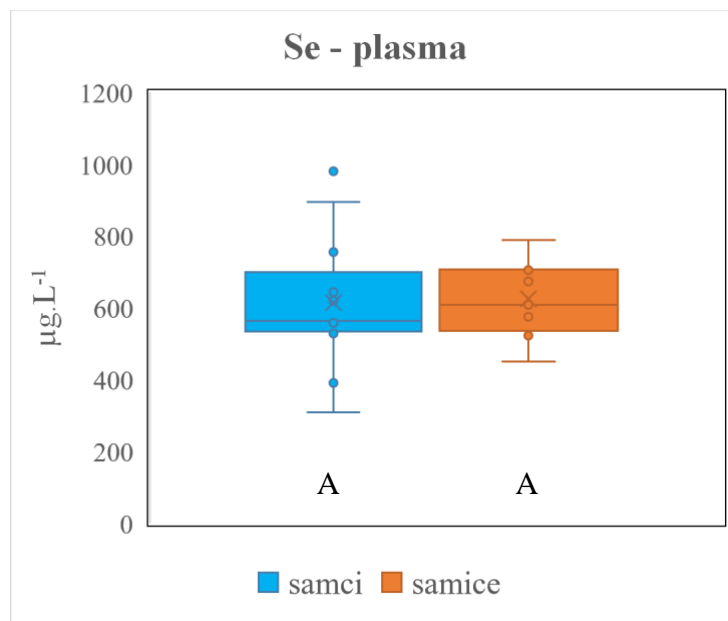
Obsah zinku v plazmě (viz Graf 4) se pohyboval u samců v rozmezí od 869  $\mu\text{g/L}$  do 2051  $\mu\text{g/L}$ , ačkoliv tato maximální hodnota (2051  $\mu\text{g/L}$ ) nebyla do statistického měření zařazena, neboť byla statisticky významně vyšší než zbytek naměřených dat. Proto je interval

spolehlivosti zhruba podobný. U samic se pohyboval obsah zinku v plazmě od 672  $\mu\text{g/L}$  do 1314  $\mu\text{g/L}$ , u samic byly hodnoty taktéž obecně nižší. Median u samců se rovnal 1095  $\mu\text{g/L}$ , u samic 1043  $\mu\text{g/L}$ , výrazně se tedy neliší. Hodnoty mezi samci a samicemi nevykazují statisticky významný rozdíl.



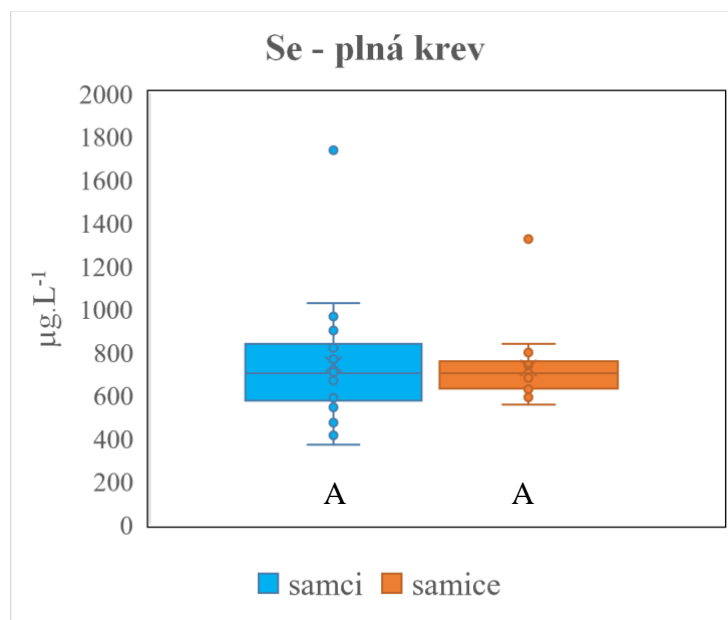
Graf 5: Krabicový graf zobrazující hladinu zinku v plné krvi v závislosti na pohlaví

Obsah zinku v plné krvi (viz Graf 5) se pohyboval u samců v rozmezí od 2158  $\mu\text{g/L}$  do 6296  $\mu\text{g/L}$ . U samic od 1094  $\mu\text{g/L}$  do 5532  $\mu\text{g/L}$ , u samic byly hodnoty taktéž obecně nižší. Minimální hodnota byla u obou měření (samci a samice) ze statistického hodnocení vyřazena, protože byla významně nižší než zbytek dat. Median u samců se rovnal 4456  $\mu\text{g/L}$ , u samic 4134  $\mu\text{g/L}$ . Hodnoty mezi samci a samicemi vykazují statisticky významný rozdíl. Hodnoty samců jsou statisticky významně vyšší, ačkoliv je viditelný vyšší interval spolehlivosti u samic. Jak již bylo řečeno, zinek je obsažen převážně v krvinkách, a proto vychází poměrně vysoké hodnoty tohoto prvku oproti jiným, nebo oproti krevní plazmě.



Graf 6: Krabicový graf zobrazující hladinu selenu v krevní plazmě v závislosti na pohlaví

Obsah selenu byl obecně nízký, ať už v plazmě či plné krvi. V plazmě (viz Graf 6) se pohyboval u samců v rozmezí od 309 µg/L do 980 µg/L, ačkoliv tato maximální hodnota (980 µg/L) nebyla do statistického měření zařazena, neboť byla statisticky významně vyšší než zbytek naměřených dat. U samic se hodnoty pohybovaly od 449 µg/L do 788 µg/L, hodnoty se tedy pohybovaly u samců i samic podobně. Median u samců se rovnal 563 µg/L, u samic 608 µg/L. Hodnoty mezi samci a samicemi nevykazují statisticky významný rozdíl. Interval spolehlivosti je u samců a samic porovnatelný.



Graf 7: Krabicový graf zobrazující hladinu selenu v plné krvi v závislosti na pohlaví

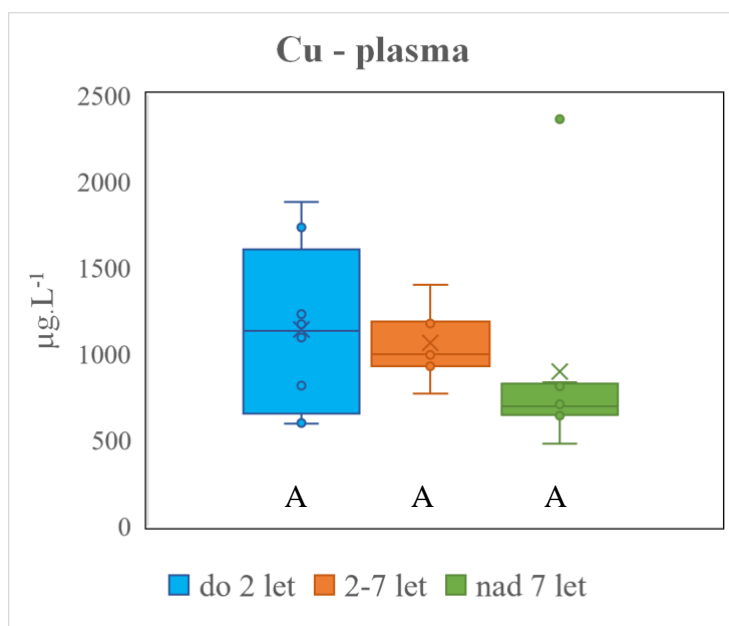
Obsah selenu v plné krvi (viz Graf 7) se pohyboval u samců v rozmezí od 368 µg/L do 1737 µg/L. U samic od 554 µg/L do 1324 µg/L. Maximální hodnota byla u obou měření (samci

a samice) ze statistického hodnocení vyřazena, protože byla významně nižší než zbytek dat. Median u samců se rovnal 701  $\mu\text{g/L}$ , u samic 702  $\mu\text{g/L}$ , tudíž téměř shodně. Hodnoty mezi samci a samicemi nevykazují statisticky významný rozdíl.

Nejvyšší směrodatná odchylka je u samců i samic naměřena v plné krvi u zinku.

### 5.3 Hladiny prvků v závislosti na věku

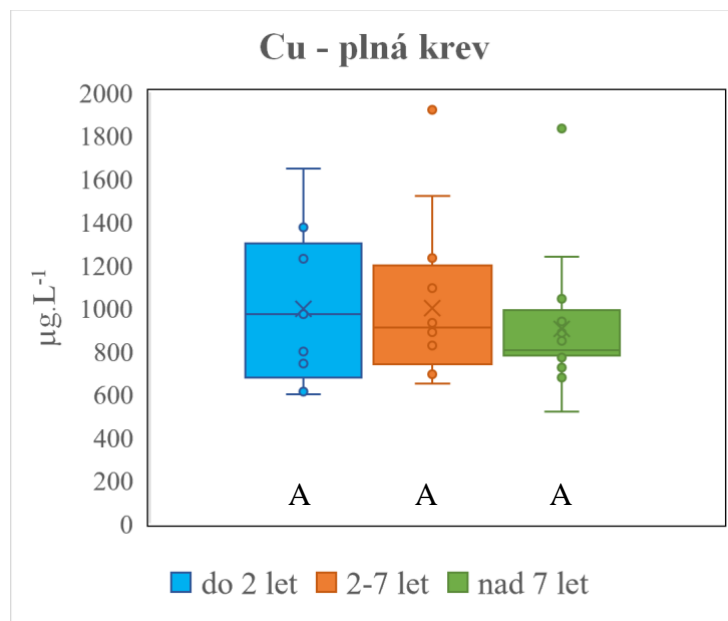
Obsahy sledovaných prvků rozdělené dle věku jsou uvedeny v grafech 8–13. Skupiny označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . Zvířata pozitivní na HCM byla z hodnocení vyřazena. Základní statistické charakteristiky naměřených dat shrnuje Příloha 4.



Graf 8: Krabicový graf zobrazující hladinu mědi v krevní plazmě v závislosti na věku

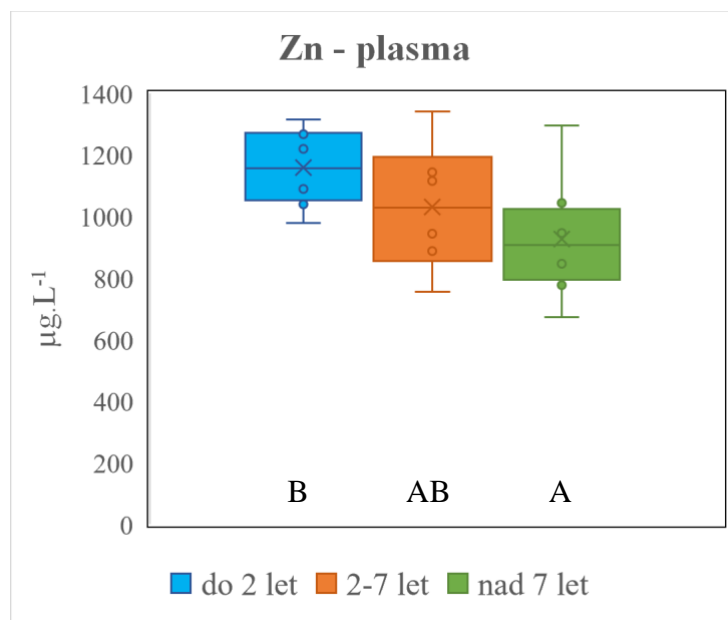
Obsah mědi v plazmě (viz Graf 8) se pohyboval u jedinců do 2 let věku v rozmezí od 595  $\mu\text{g/L}$  do 1879  $\mu\text{g/L}$ . U jedinců mezi 2 a 7 lety od 766  $\mu\text{g/L}$  do 1399  $\mu\text{g/L}$  a u jedinců nad 7 let v rozmezí od 478  $\mu\text{g/L}$  do 2360  $\mu\text{g/L}$ . Tyto naměřené hodnoty by mohly naznačovat vzrůstající hladinu mědi v plazmě, u jedinců vyššího věku, ale maximální hodnota, která byla v souboru dat nad 7 let naměřena, byla zároveň ze statistického měření vyňata, protože byla statisticky významně vyšší než zbytek hodnot. Hodnoty mezi kategoriemi různého věku nevykazují statisticky významný rozdíl. Největší index spolehlivosti dozajista vykazuje soubor dat jedinců do 2 let věku.





Graf 9: Krabicový graf zobrazující hladinu mědi v plné krvi v závislosti na věku

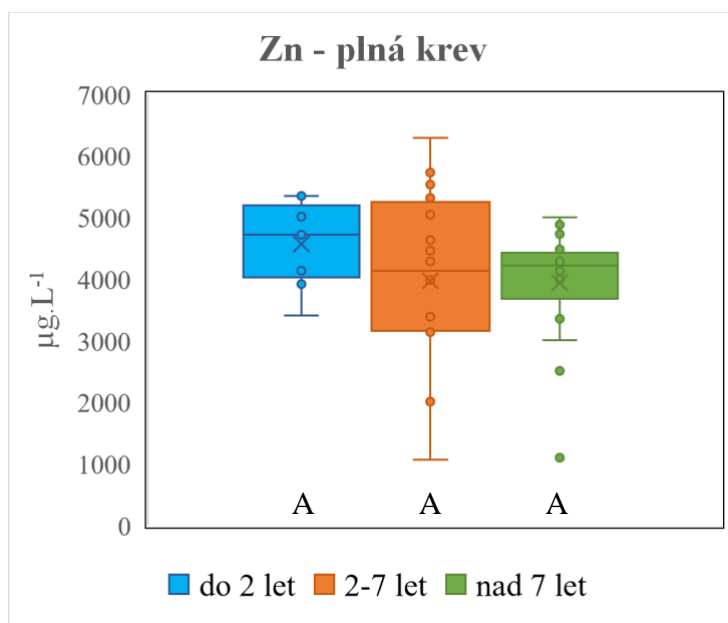
Obsah mědi v plné krvi (viz Graf 9) se pohyboval u jedinců do 2 let věku v rozmezí od 598  $\mu\text{g/L}$  do 1647  $\mu\text{g/L}$ . U jedinců mezi 2 a 7 lety od 647  $\mu\text{g/L}$  do 1919  $\mu\text{g/L}$  a u jedinců nad 7 let v rozmezí od 518  $\mu\text{g/L}$  do 1832  $\mu\text{g/L}$ . Maximální hodnota, která byla v souborech dat „2–7 let“ a „nad 7 let“ naměřena, byla ze statistického měření vyjmuta, protože byla statisticky podstatně vyšší než zbytek hodnot. Hodnoty mezi kategoriemi různého věku nevykazují statisticky významný rozdíl. Největší index spolehlivosti vykazuje opětovně soubor dat jedinců do 2 let věku.



Graf 10: Krabicový graf zobrazující hladinu zinku v krevní plazmě v závislosti na věku

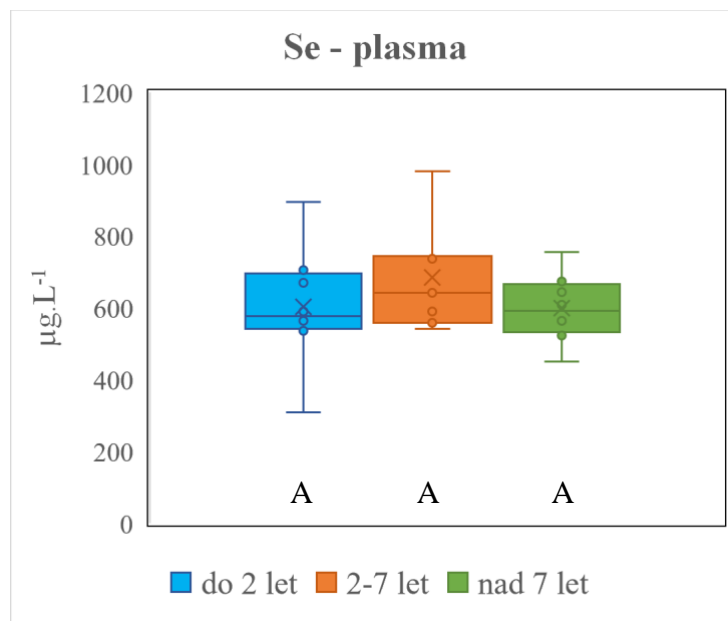
Obsah zinku v plazmě (viz Graf 10) se pohyboval u jedinců do 2 let věku v rozmezí od 978  $\mu\text{g/L}$  do 1314  $\mu\text{g/L}$ . U jedinců mezi 2 a 7 lety od 756  $\mu\text{g/L}$  do 1341  $\mu\text{g/L}$  a u jedinců nad

7 let v rozmezí od 672  $\mu\text{g/L}$  do 1296  $\mu\text{g/L}$ . Hodnoty mezi kategoriemi různého věku vykazují statisticky významný rozdíl. Soubor dat „do 2 let“ je statisticky významně vyšší než soubor dat „nad 7 let“. Soubor „2–7 let“ se statisticky významně neliší od ostatních kategorií. Největší index spolehlivosti vykazuje soubor dat jedinců mezi 2 a 7 lety věku.



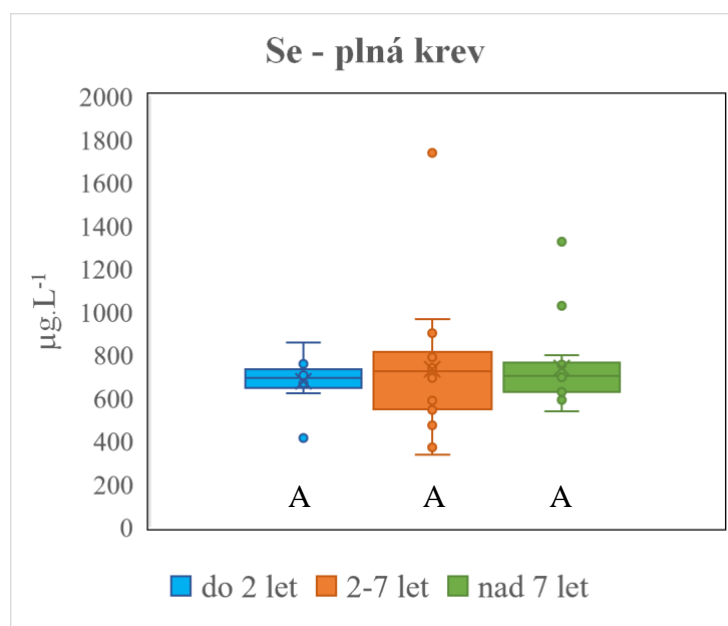
Graf 11: Krabicový graf zobrazující hladinu zinku v plné krvi v závislosti na věku

Obsah zinku v plné krvi (viz Graf 11) se pohyboval u jedinců do 2 let věku v rozmezí od 3412  $\mu\text{g/L}$  do 5352  $\mu\text{g/L}$ . U jedinců mezi 2 a 7 lety od 1062  $\mu\text{g/L}$  do 6296  $\mu\text{g/L}$  a u jedinců nad 7 let v rozmezí od 1094  $\mu\text{g/L}$  do 5000  $\mu\text{g/L}$ . Dvě minimální hodnoty souboru „nad 7 let“, byly ze statistického hodnocení vyřazeny, protože byly významně nižší než zbytek dat. Hodnoty mezi kategoriemi různého věku nevykazují statisticky významný rozdíl. Největší index spolehlivosti dozajista vykazuje soubor dat jedinců mezi 2 a 7 lety. Opětovně lze vidět vysoké naměřené hodnoty, kdy median v kategorii „do 2 let“ se rovná 4725  $\mu\text{g/L}$ , kategorie „2–7 let“ se rovná 4138  $\mu\text{g/L}$  a kategorie „nad 7 let“ se rovná 4219  $\mu\text{g/L}$  – hodnoty se tedy významně neliší.



Graf 12: Krabicový graf zobrazující hladinu selenu v krevní plazmě v závislosti na věku

Obsah selenu v plazmě (viz Graf 12) se pohyboval u jedinců do 2 let věku v rozmezí od 309  $\mu\text{g/L}$  do 895  $\mu\text{g/L}$ . U jedinců mezi 2 a 7 lety od 541  $\mu\text{g/L}$  do 980  $\mu\text{g/L}$  a u jedinců nad 7 let v rozmezí od 449  $\mu\text{g/L}$  do 755  $\mu\text{g/L}$ . Všechny naměřené hodnoty byly použity do statistického měření. Hodnoty mezi kategoriemi různého věku nevykazují statisticky významný rozdíl.



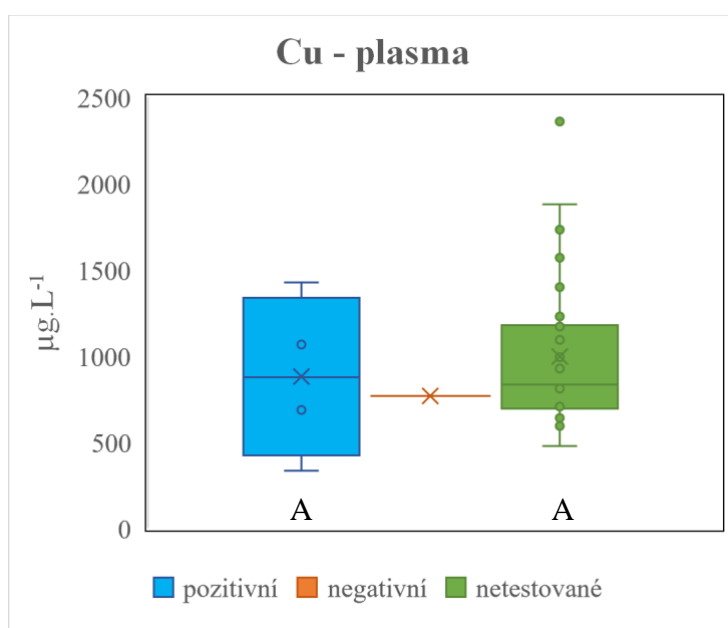
Graf 13: Krabicový graf zobrazující hladinu selenu v plné krvi v závislosti na věku

Obsah selenu v plné krvi (viz Graf 13) se pohyboval u jedinců do 2 let věku v rozmezí od 413  $\mu\text{g/L}$  do 855  $\mu\text{g/L}$ . U jedinců mezi 2 a 7 lety od 335  $\mu\text{g/L}$  do 1737  $\mu\text{g/L}$  a u jedinců nad 7 let v rozmezí od 538  $\mu\text{g/L}$  do 1324  $\mu\text{g/L}$ . Minimální hodnota v kategorii „do 2 let“ a maximální hodnoty v kategorii „2–7 let“ a „nad 7 let“ byly programem vyjmuty ze

statistického hodnocení. Hodnoty mezi kategoriemi různého věku nevykazují statisticky významný rozdíl.

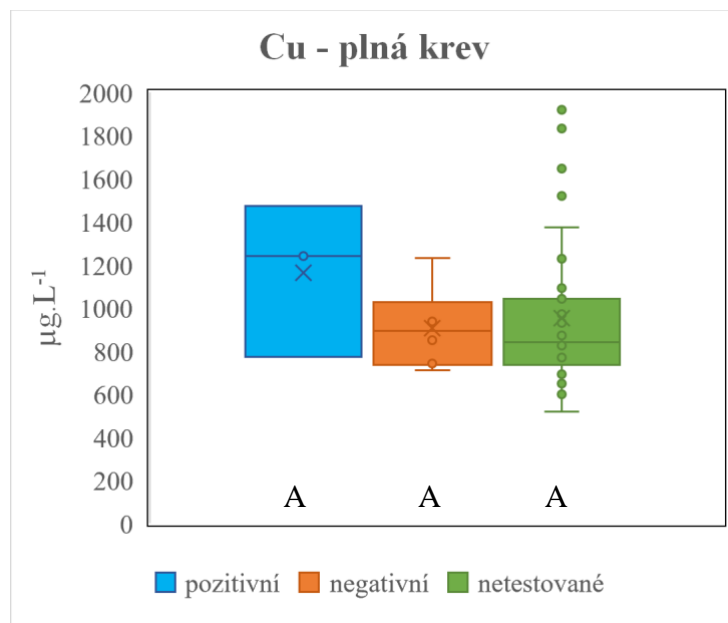
#### 5.4 Hladiny prvků v závislosti na diagnóze

Obsahy sledovaných prvků rozdělené dle diagnózy jsou uvedeny v grafech 14–19. Skupiny označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . U vzorků plazmy byl odebrán jen jeden vzorek zvířete negativního na HCM, takže byly porovnávány jen vzorky HCM pozitivní vs. netestované. Základní statistické charakteristiky naměřených dat shrnuje Příloha 5.



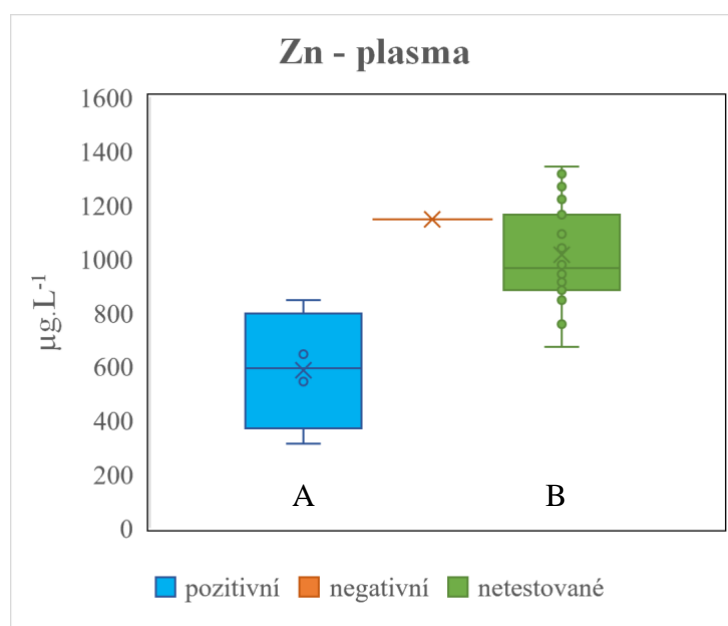
Graf 14: Krabicový graf zobrazující hladinu mědi v krevní plazmě v závislosti na diagnóze

Obsah mědi v plazmě (viz Graf 14) se pohyboval u jedinců pozitivních na HCM v rozmezí od 335 µg/L do 1425 µg/L. U pacientů s negativním výsledkem na HCM bylo příliš málo dat ke statistickému hodnocení. U netestovaných na HCM jsou naměřené hodnoty od 478 µg/L do 2360 µg/L. Median u pozitivních na HCM se rovnal 877 µg/L, u netestovaných 833 µg/L, významně se tedy neliší. Hodnoty mezi pozitivními a netestovanými nevykazují statisticky významný rozdíl. Interval spolehlivosti je větší u jedinců pozitivních na HCM, což může být zapříčiněno menším počtem dat, kdy nebylo možno jednoznačně a statisticky průkazně identifikovat odlehlá data.



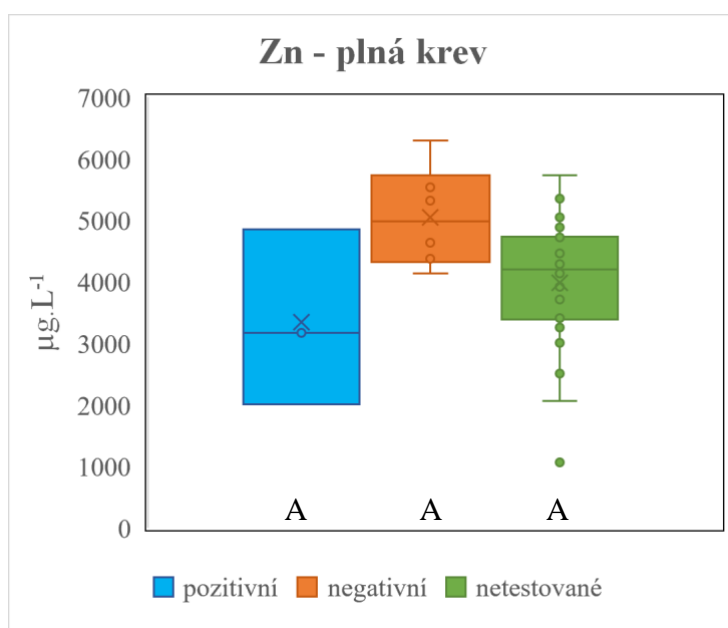
Graf 15: Krabicový graf zobrazující hladinu mědi v plné krvi v závislosti na diagnóze

Obsah mědi v plné krvi (viz Graf 15) se pohyboval u jedinců pozitivních na HCM v rozmezí od 772  $\mu\text{g/L}$  do 1472  $\mu\text{g/L}$ . U pacientů s negativním výsledkem na HCM od 709  $\mu\text{g/L}$  do 1231  $\mu\text{g/L}$ . U netestovaných na HCM jsou naměřené hodnoty od 518  $\mu\text{g/L}$  do 1919  $\mu\text{g/L}$ , množství dat nebylo programem do statistického hodnocení zařazeno, protože byly významně vyšší než zbytek hodnot. Median u pozitivních na HCM se rovnal 1241  $\mu\text{g/L}$ , u negativních 893  $\mu\text{g/L}$  a u netestovaných 840  $\mu\text{g/L}$ . Hodnoty mezi sledovanými znaky nevykazují statisticky významný rozdíl. Interval spolehlivosti je větší u jedinců pozitivních na HCM, což může být zapříčiněno menším počtem dat, kdy nebylo možno (jako v případě plasmy) jednoznačně a statisticky průkazně identifikovat odlehlá data.



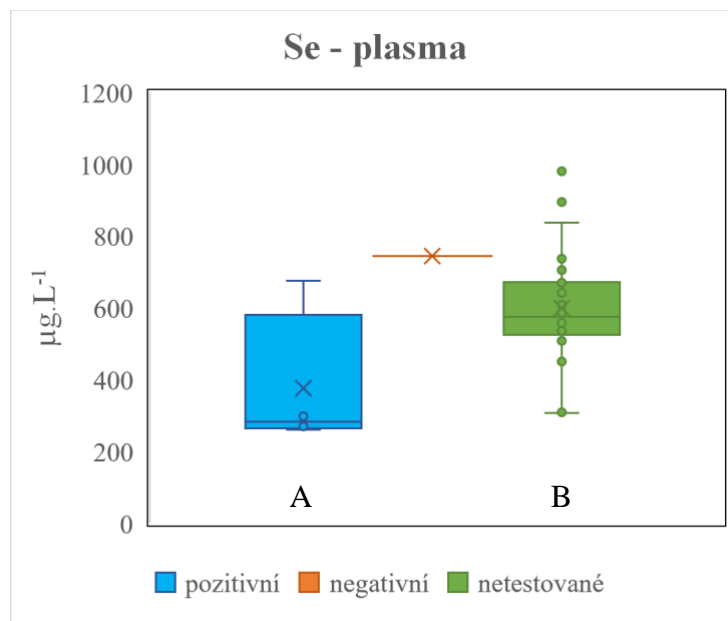
Graf 16: Krabicový graf zobrazující hladinu zinku v krevní plazmě v závislosti na diagnóze

Obsah zinku v plazmě (viz Graf 16) se pohyboval u jedinců pozitivních na HCM v rozmezí od 313  $\mu\text{g/L}$  do 845  $\mu\text{g/L}$ . U pacientů s negativním výsledkem na HCM bylo příliš málo dat ke statistickému hodnocení. U netestovaných na HCM jsou naměřené hodnoty od 672  $\mu\text{g/L}$  do 1341  $\mu\text{g/L}$ . Median u pozitivních na HCM se rovnal 593  $\mu\text{g/L}$ , u netestovaných 965  $\mu\text{g/L}$ , kdy porovnání mezi pozitivními a netestovanými vykazuje statisticky významný rozdíl. Interval spolehlivosti je větší u jedinců pozitivních na HCM, což může být zapříčiněno menším počtem dat, jak již bylo zmíněno výše.



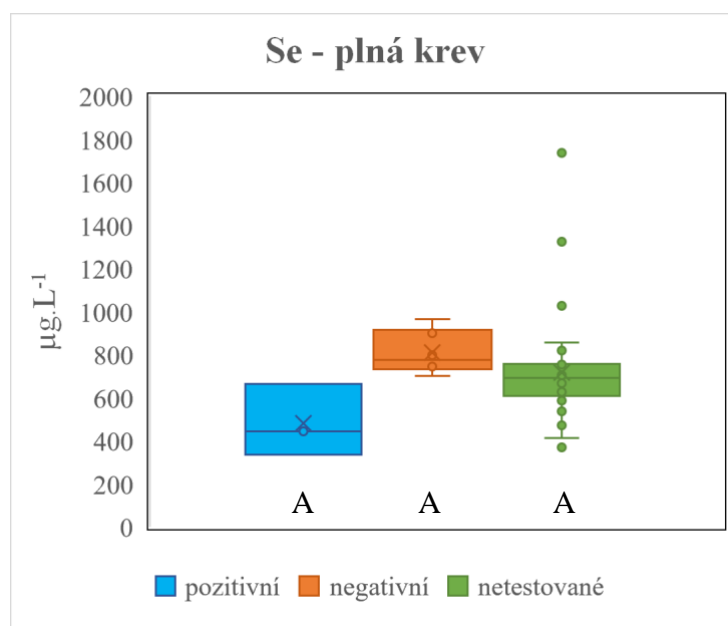
Graf 17: Krabicový graf zobrazující hladinu zinku v plné krvi v závislosti na diagnóze

Obsah zinku v plné krvi (viz Graf 17) se pohyboval u jedinců pozitivních na HCM v rozmezí od 2010  $\mu\text{g/L}$  do 4847  $\mu\text{g/L}$ . U pacientů s negativním výsledkem na HCM od 4139  $\mu\text{g/L}$  do 6296  $\mu\text{g/L}$ . U netestovaných na HCM jsou naměřené hodnoty od 1062  $\mu\text{g/L}$  do 5733  $\mu\text{g/L}$ , minimální změřená hodnota nebyla programem do statistického hodnocení zařazena, protože byla významně nižší než zbytek hodnot. Opětovně lze vidět vysoké naměřené hodnoty, kdy median u pozitivních na HCM se rovnal 3171  $\mu\text{g/L}$ , u negativních 4977  $\mu\text{g/L}$  a u netestovaných 4198  $\mu\text{g/L}$ . Hodnoty mezi sledovanými znaky nevykazují statisticky významný rozdíl. Interval spolehlivosti je největší u jedinců pozitivních na HCM, což může být opět zapříčiněno menším počtem dat, a tedy nemožností otestovat odlehle hodnoty.



Graf 18: Krabicový graf zobrazující hladinu selenu v krevní plazmě v závislosti na diagnóze

Obsah selenu v plazmě (viz Graf 18) se pohyboval u jedinců pozitivních na HCM v rozmezí od 261 µg/L do 675 µg/L. U pacientů s negativním výsledkem na HCM bylo příliš málo dat ke statistickému hodnocení. U netestovaných na HCM jsou naměřené hodnoty od 308 µg/L do 980 µg/L. Median u pozitivních na HCM se rovnal 283 µg/L, u netestovaných pak 576 µg/L. Hodnoty mezi pozitivními a netestovanými vykazují statisticky významný rozdíl. Hodnoty netestovaných na HCM jsou statisticky významně vyšší než hodnoty pozitivních na HCM. Interval spolehlivosti je větší u jedinců pozitivních na HCM, což může být zapříčiněno menším počtem dat jako v předcházejících případech.



Graf 19: Krabicový graf zobrazující hladinu selenu v plné krvi v závislosti na diagnóze

Obsah selenu v plné krvi (viz Graf 19) se pohyboval u jedinců pozitivních na HCM v rozmezí od 335  $\mu\text{g/L}$  do 662  $\mu\text{g/L}$ . U pacientů s negativním výsledkem na HCM od 700  $\mu\text{g/L}$  do 965  $\mu\text{g/L}$ . U netestovaných na HCM jsou naměřené hodnoty od 368  $\mu\text{g/L}$  do 1737  $\mu\text{g/L}$ , kde množství dat nebylo programem do statistického hodnocení zařazeno, protože byly významně vyšší než zbytek hodnot. Median u pozitivních na HCM se rovnal 445  $\mu\text{g/L}$ , u negativních 776  $\mu\text{g/L}$  a u netestovaných 692  $\mu\text{g/L}$ . Hodnoty mezi sledovanými znaky nevykazují statisticky významný rozdíl. Interval spolehlivosti je největší u jedinců pozitivních na HCM, což může být opět zapříčiněno menším počtem dat.



## 6 Diskuze

Hypertrofická kardiomyopatie může ovlivnit hladiny esenciálních mikroprvků v krvi (Melnikov et al. 2014). Různé studie naznačují, že se tato souvislost nemusí týkat pouze HCM, ale i dalších kardiovaskulárních chorob (Alexanian et al. 2014, Bayır et al. 2013, Cénac et al. 1996, Eshak et al. 2018, Ghaemian et al. 2011, Ghaemian et al. 2010, Chou et al. 1998, Kosar et al. 2006, Little et al. 2010, Kkeveetil et al. 2016, McKaeg et al. 2012, Oster et al. 1983, Shokrzadeh et al. 2009 atd.). Tato práce se zabývá konkrétními prvky – mědí, zinkem a selenem v souvislosti s HCM, ale také naměřenými hodnotami těchto mikroprvků v závislosti na pohlaví nebo věku. Je důležité brát v úvahu, že hladina mikroprvků v krvi může být dlouhodobě ovlivněna mnoha dalšími faktory, například stravou, jinými onemocněními, stresem, na který kočky obecně velmi trpí (Abbott 2010, Little et al. 2010), a proto mohou být výsledky trochu zkreslené. Důležitým faktorem také je, zda se jedná o zvířata chovaná doma, či venkovní, u kterých byly například zaznamenány vyšší obsahy esenciálních mikroprvků v pohlavních orgánech (Rzymiski et al. 2015). Podle očekávání tedy byla zaznamenána velká variabilita získaných dat.

Zastoupení prvků (viz Graf 1) bylo změřeno v krevní plazmě i v krvinkách. U mědi a selenu bylo zhruba rovnoměrné zastoupení – v krvinkách kolem 40 % a v plazmě kolem 60 %, zatímco zinek byl obsažen převážně v krvinkách – více než 70 %, to může být zapříčiněno zejména tím, že zinek je hojně zastoupen v erytrocytech, na které se váže a také je podstatný pro vývoj leukocytů (Kazda 2010).

Hladiny mědi v plazmě (viz Graf 2) vykazovaly vyšší rozptyl u samců než u samic, podobně tomu tak bylo i v plné krvi (viz Graf 3). S tím pravděpodobně souvisí i výsledný statisticky významný rozdíl mezi samci a samicemi, jak v plazmě, tak v plné krvi. Median v plazmě samců se rovnal 980  $\mu\text{g/L}$ , u samic 693  $\mu\text{g/L}$ . Median v plné krvi samců nabyl hodnot 1041  $\mu\text{g/L}$ , u samic 804  $\mu\text{g/L}$ . Lze tedy konstatovat, že samci vykazují vyšší hodnoty mědi než samice. Toto potvrzuje i Fascetti et al. (2002), který experiment prováděl přímo na kočkách. Zároveň tento poznatek není v souladu s autory Ghayour-Mobarhan et al. (2005), provádějících lidskou studii. Obdobně je to i u koncentrací zinku, nehledě na to, zda se jednalo o plazmu či plnou krev. Hladiny zinku ale v plné krvi (viz Graf 5) vykazovaly rozdíl, samci měli statisticky vyšší hodnoty než samice. Tento výsledek je v souladu se studií autorů Ghayour-Mobarhan et al. (2005). To může být spojeno s vysokou potřebou Zn pro tvorbu samčích pohlavních orgánů, ve kterých je Zn obsažen ve vysokých koncentracích (Camora et al. 2017). Zinek je, ze sledovaných prvků, v krvi obecně nejvíce zastoupen, a proto jsou hodnoty vyšší. V korelaci s pohlavím nebyl v plazmě (viz Graf 4) zaznamenán statisticky významný rozdíl. To může být ovlivněno tím, že je zinek obsažen právě zejména v krvinkách. Selen vykazoval naopak nejnižší hodnoty. Z naměřených hladin můžeme soudit, že jsou hodnoty selenu u samic vyšší než u samců, statistickým programem ale nebyl mezi pohlavími zaznamenán rozdíl (viz Graf 6 a 7).

Hladiny prvků v závislosti na věku vykazovaly poměrně signifikantní rozdíly. U mědi sice nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl, ale lze upozorovat nejvyšší rozptyl výsledků u jedinců do 2 let, ať už v plazmě či plné krvi (viz Graf 7 a 8), zatímco s věkem se tento rozptyl snižuje. Fascetti et al. (2002) konstatuje, že jedinci nad 1 rok věku mají nižší hladiny mědi v plné krvi i plazmě. Je známo, že obsahy mědi v plazmě savců včetně člověka

jsou ovlivněny mnoha faktory, kde kromě věku je třeba vzít v úvahu pohlaví, zdravotní stav (rozvoj zánětlivých procesů), ale i cirkadiální rytmicitu (Milne & Johnson 1993, Tomaszewska et al. 2016). Zinek zjištěný v plazmě (viz Graf 10) naopak statisticky významný rozdíl vykazoval. Jedinci do 2 let měli statisticky významně vyšší hodnoty než jedinci nad 7 let. Median zinku u pacientů do 2 let byl 1157  $\mu\text{g/L}$ , v kategorii nad 7 let pak 907  $\mu\text{g/L}$ . Zinek změřený v plné krvi (viz Graf 11) rozdílů nevykazoval, ale stejně jako u plazmy je nejvyšší rozptyl vidět u souboru jedinců mezi 2 a 7 lety. Madaric et al. (1994) zaznamenali u mužů vyššího věku zvýšené hladiny mědi a snížené hladiny zinku v krevním séru. Selen v závislosti na věku nevykazoval statisticky významný rozdíl v krvinkách ani v plné krvi (viz Graf 12 a 13). Nejvyšší naměřená hodnota selenu zařazená do statistického hodnocení činila 980  $\mu\text{g/L}$ .

Patrně nejdůležitějším parametrem bylo hodnocení výsledků naměřených hodnot v závislosti na diagnóze. Vzhledem k malému počtu odebraných vzorků krevní plazmy u jedinců, kteří byli průkazně negativní na HCM, nelze porovnat hodnoty plazmy a hodnoty naměřené v plné krvi. Hodnoty mědi u pozitivních na HCM byli v rozmezí od 772  $\mu\text{g/L}$  do 1472  $\mu\text{g/L}$  v plné krvi. Hodnoty mědi u pacientů negativních na HCM byly naměřeny od 709  $\mu\text{g/L}$  do 1231  $\mu\text{g/L}$  v plné krvi (viz Graf 15). Ačkoliv z výsledků vyplývá, že jsou hodnoty mědi u pacientů s HCM vyšší než u jedinců zdravých, rozptyl hodnot je u obou kategorií zhruba podobný a nelze tedy jednoznačně říci, zda byl tímto měřením zjištěn vzrůstající či klesající trend a stejně tak nám to nepotvrdilo ani statistické hodnocení. Tyto výsledky se shodují s výsledky, které publikovali Melnikov et al. (2014), Shokrazaden et al. (2009), Topuzoglu et al. (2003), Cunha et al. (2002) a Salehifar et al. (2008), kteří zaznamenali vyšší hodnoty mědi v plazmě u jedinců trpících různými typy kardiomyopatií. Naopak se výsledky neshodují s poznatky, které publikovali například McKaeg et al. (2012), Elsherif et al. (2003) a Youchun et al. (2007). Hladiny mědi v krevní plazmě u jedinců pozitivních na HCM byly změřeny od 313  $\mu\text{g/L}$  do 845  $\mu\text{g/L}$  (viz Graf 14). Tyto výsledky krevní plazmy vykazují významně nižší hladiny mědi, což se neshoduje s výsledky Shokrzadeh et al. (2009), kteří studovali hodnoty mědi v krevní plazmě u pacientů trpících ischemickou kardiomyopatií. Předpokladem z nastudované literatury bylo, že hladiny mědi v krvi u nemocných pacientů budou výrazně vyšší nebo výrazně nižší než u zdravých jedinců. Ačkoliv se vyhodnocení experimentu přiklání spíše ke zvýšení tohoto prvku v krvi, nelze tento předpoklad podpořit pro nedostatek relevantních dat. U koček netestovaných na HCM byly zaznamenány hodnoty od 478  $\mu\text{g/L}$  do 2360  $\mu\text{g/L}$  v krevní plazmě a od 518  $\mu\text{g/L}$  do 1919  $\mu\text{g/L}$ . U netestovaných jedinců lze předpokládat, že jsou zdraví, neboť nevykazovali žádné příznaky kardiovaskulárního onemocnění. Nelze ale vyloučit, že by se mezi netestovanými zvířaty mohla vyskytovat taková, která jsou na HCM pozitivní, ale nemají klinické příznaky; chovatel pak neměl subjektivní důvod zvíře testovat.

Hladiny zinku se u jedinců pozitivních na HCM pohybovaly od 2010  $\mu\text{g/L}$  do 4847  $\mu\text{g/L}$  v plné krvi. Hodnoty zinku u pacientů negativních na HCM byly naměřeny od 4139  $\mu\text{g/L}$  do 6296  $\mu\text{g/L}$  v plné krvi (viz Graf 17). Tyto výsledky vykazují, že hodnoty zinku u jedinců trpících HCM budou mít spíše snižující se trend, což potvrzují také Lagos et al. (1997), Shokrzadeh et al. (2009), Bayır et al. (2013), Alexanian et al. (2014) a Lin & Li (2017). Yu et al. (2018) také potvrzují snížení zinku v krvi u ischemické a dilatační kardiomyopatie. Little et al. (2010) doplňují, že zvýšeným příjmem zinku se zlepšuje funkce srdce. Hodnoty zinku v krevní plazmě u jedinců pozitivních na HCM se pohybovaly od 313  $\mu\text{g/L}$  do 845  $\mu\text{g/L}$

(viz Graf 16), tedy výrazně nižší hodnoty než v plné krvi. To může být způsobeno nevýrazným zastoupením zinku v jednotlivých krevních složkách, což potvrzují i Melnikov et al. (2015).

Přijímaný selen jakožto mikroprvek slouží jako prevence před srdečními chorobami (Kieliszek & Blazejak 2012). Hodnoty selenu u jedinců pozitivních na HCM byly změřeny od 335  $\mu\text{g/L}$  do 662  $\mu\text{g/L}$  v plné krvi. Hodnoty selenu u pacientů negativních na HCM byly naměřeny od 700  $\mu\text{g/L}$  do 965  $\mu\text{g/L}$  v plné krvi (viz Graf 19). Hladiny selenu tedy vykazují snižující se trend při onemocnění HCM. K podobným výsledkům, ačkoliv nebyly aplikované přímo na HCM, ale na jiná srdeční onemocnění, došli také Alexanian et al. (2014), Oster et al. (1983), Cenac et al. (1996), Chou et al. (1998), Navarro-Alarcon et al. (1999), de Lorgeril et al. (2001), Kosar et al. (2006), Navarro-Alarcon & Cabrera-Vique (2008) a Rayman (2012). U diagnózy plné krve nikde nevyšel statisticky významný rozdíl. Hodnoty selenu u jedinců pozitivních na HCM v krevní plazmě se pohybovaly od 261  $\mu\text{g/L}$  do 675  $\mu\text{g/L}$  (viz Graf 18).

U jedinců, kterým byla krev odebrána dvakrát (viz Tab. 10), se hodnoty spíše zvyšovaly. Samice kočky (5 let) měla mírně zvýšené hladiny mědi a selenu, zatímco zinek se snížil. Druhá samice kočky (11 let) měla výrazněji zvýšené všechny parametry, nejvíce však zinek – z 3354  $\mu\text{g/L}$  na 4130  $\mu\text{g/L}$ . To může být zapříčiněno několika faktory. Ghayour-Mobarhan et al. (2005) konstatovali, že koncentrace stopových prvků jsou ovlivněny mnoha okolnostmi – nejčastěji se jedná o fyziologické a demografické faktory, faktor věku, pohlaví a stravy. V uvedeném případě může také hrát roli změna zdravotního stavu vlivem léčení těchto zvířat mezi dvěma odběry krve. Fakt, že obsah prvků v krvi koček je výsledkem součinnosti mnoha faktorů, můžeme dokumentovat na skupině nepříbuzných zvířat, která žijí ve stejné domácnosti ve shodných podmínkách a jsou krmena stejnou dietou (viz Tab. 10). Jedinci z tohoto chovu neměli podobné výsledky. Nejmladšímu jedinci (7 měsíců) byly změřeny nejnižší hodnoty všech prvků, to může korespondovat s nízkým věkem. Naopak samici ve věku 16 let, byly naměřeny hladiny podobné medianu – v porovnání se stejnou věkovou kategorií (hodnoty viz Příloha 2).

Hypotéza, že by mohly změny mědi, zinku a selenu v krvi indikovat vývoj nemoci se statistickými metodami nepotvrdilo. Výsledky naznačují snížení obsahu selenu a zinku a zvýšení obsahu mědi, ale tento poznatek nebyl statisticky potvrzen.

Pro další studium by bylo vhodné získat více krevních odběrů, ať už plazmy či plné krve. Více krevních odběrů by mohlo zajistit vyšší průkaznost výsledků. Důležité také je, získat co nejvíce vzorků od pacientů trpících HCM, a zároveň pacientů, kteří po prodělání potřebných vyšetření, mají negativní test na HCM.

## 7 Závěr

Hypertrofickou kardiomyopatii trpí až 15 % koček. I přes toto relativně nízké procento se jedná nejčastější kardiologické onemocnění koček, které ve většině případů, i přes náročnou a mnohdy dlouhou léčbu, končí fatálně. Nejčastěji jí trpí moderní plemena koček jako například mainská mývalí, britská, nebo kupříkladu ragdoll. V konečném důsledku, i přes fakt, že se jedná o významnou srdeční chorobu, kterou netrpí pouze kočky, není tomuto onemocnění věnována, bohužel, dostatečná pozornost. V posledních letech se dávají do souvislosti hladiny esenciálních mikroprvků ve vztahu s kardiologickými chorobami.

Cílem diplomové práce bylo zhodnotit na základě krevních odběrů koček a jejich následného laboratorního vyšetření, zda je tato souvislost pravdivá – konkrétně u mědi, zinku a selenu.

Na základě výsledků bylo zjištěno a zároveň statisticky podpořeno:

- 1) samci mají vyšší hladiny mědi než samice v plazmě i plné krvi,
- 2) hodnoty zinku v krevní plazmě se snižují s přibývajícím věkem,
- 3) pacienti netestovaní na HCM (neprokazatelně zdraví) vykazovali vyšší hodnoty zinku a selenu v krevní plazmě.

Hypotézou byl předpoklad, že stejně jako u dalších srdečních chorob, by mohly změny mědi, zinku a selenu v krvi indikovat vývoj nemoci, což se nám statistickými metodami nepotvrdilo. Celkově výsledky naznačují určitý trend ke snížení obsahu selenu a zinku a také naznačují možné zvýšení obsahu mědi, ale tento poznatek nebyl statisticky potvrzen. Pro potvrzení hypotézy bychom potřebovali více dat. Jak již bylo výše zmíněno, je nutné brát v úvahu, že výsledné hladiny mikroprvků v krvi mohou být ovlivněné celou škálou dlouhodobých faktorů, které na jedince působí. Nutno podotknout, že všechny studie zabývající se tímto tématem, byly doposud aplikovány pouze na humánní medicínu.

Způsob odběru krve a jeho následného vyšetření na hladiny esenciálních mikroprvků se zdá být do budoucna užitečný a použitelný, neboť může zásadně ovlivnit pohled na celkovou diagnózu pacientů a další postup léčby včetně stanovení vhodné medikace. Významným benefitem je také fakt, že se nejedná o zřetelnou finanční zátěž a může tak, minimálně, sloužit jako doprovodné vyšetření. Klíčové je pokračování v tomto experimentu a získání co nejvíce dat, které poslouží ke statistickému potvrzení či vyvrácení stanovených hypotéz.

## 8 Seznam literatury

- Abbott JA. 2010. Feline hypertrophic cardiomyopathy: An Update. *Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice*. **40**: 685–700.
- Alberigi BRS, Bendas AJR, Soares DV, Demo RS, Almeida MFS, Paiva JP. 2019. Comparative study of the clinical and echodopplercardiographic aspects of left ventricular hypertrophy and hypertrophic cardiomyopathy in cats (*Felis catus*). *Brazilian Journal of Veterinary Medicine*. **41**: 1–7.
- Alexanian I, Parissis J, Farmakis D, Athanaselis S, Pappas L, Gavrielatos G, Mihas C, Paraskevaïdis I, Sideris A, Kremastinos D, Spiliopoulou Ch, Anastasiou-Nana M, Lekakis J, Filippatos G. 2014. Clinical and echocardiographic correlates of serum copper and zinc in acute and chronic heart failure. *Clin Res Cardiol*. **103**: 938–949.
- Alexanian I, Parissis J, Farmakis D, Pantziou C, Ikonomidis I, Paraskevaïdis I, Ioannidou S, Sideris A, Kremastinos D, Lekakis J, Filippatos G. 2014. Selenium contributes to myocardial injury and cardiac remodeling in heart failure. *International Journal of Cardiology*. **176**: 272–273.
- Altunok V, Yazar E, Yuksek N. 2007. Selected blood serum elements in Van (Turkey) cats. *Acta Veterinaria*. **76**: 171–177.
- Aspinall V, Ackerman N. 2016. *Aspinall's Complete Textbook of Veterinary Nursing – 3rd edition*. Elsevier Science & Technology Books, USA.
- Batista BL, Rodrigues JL, Nunes JA, Souza VCD, Barbosa F. 2009. Exploiting dynamic reaction cell inductively coupled plasma mass spectrometry (DRC-ICP-MS) for sequential determination of trace elements in blood using a dilute-and-shoot procedure. *Analytica Chimica Acta*. **639**: 13–18.
- Bayır A, Kara H, Kızılcı A, Öztürk B, Akyürek F. 2013. Levels of selenium, zinc, copper, and cardiac troponin I in serum of patients with acute coronary syndrome. *Biological Trace Element Research*. **154**: 352–356.
- Bouda J, Doubek J, Doubek M, Füll M, Knotková Z, Pejřilová S, Pravda D, Scheer P, Svobodová Z, Vodička R. 2003. *Veterinární hematologie*. NOVIKO, a. s., Brno.
- Bodey AR, Sansom J. 1998. Epidemiological study of blood pressure in domestic cats. *Journal of Small Animal Practice*. **39**: 567–573.
- Brodowska MS, Kurzyńska-Szklarek M, Haliniarz M. 2016. Selenium in the environment. *University of Life Sciences in Lublin*. **21**: 1173–1185.

- Brunclík V, Vlašín M, Vörös K, Proks P. 2008. Onemocnění kardiovaskulárního systému. Pages 755–842 in Svoboda M, Senior DF, Doubek J, Klimeš J, editors. Nemoci psa a kočky. NOVIKO, a. s., Brno.
- Camora LF, Silva APG, Santos SAA, Justulin LA, Perobelli JE, Barbisan LF, Scarano WR. 2017. Impact of maternal and postnatal zinc dietary status on the prostate of pubescent and adult rats. *Cell Biology International*. **41**: 1203–1213.
- Cénac A, Simonoff M, Djibo A. 1996. Nutritional status and plasma trace elements in peripartum cardiomyopathy. A comparative study in Niger. *Journal of Cardiovascular Risk*. **3**: 483–487.
- Côte E, MacDonald KA, Meurs KM, Sleeper MM. 2011. *Feline Cardiology*. Wiley-Blackwell, USA.
- Cunha S, Filho FMA, Bastos VLF. 2002. Thiamin, selenium, and copper levels in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy taking diuretics. *Arq Bras Cardiol*. **79**: 454–465.
- Černý H. 2004. *Veterinární anatomie pro studium a praxi*. NOVIKO, a. s., Brno.
- Daniels LA. 1996. Selenium metabolism and bioavailability. *Biological Trace Element Research*. **54**: 185–199.
- de Lorgeril M, Salen P, Accominotti M, Cadau M, Steghens JP, Boucher F, de Leiris J. 2001. Dietary and blood antioxidants in patients with chronic heart failure. Insights into the potential importance of selenium in heart failure. *European Journal of Heart Failure*. **3**: 661–669.
- Dirven MJM, Cornelissen JMM, Barendse MAM, van Mook MC, Sterenborg JAEM. 2010. Cause of heart murmurs in 57 apparently healthy cats. *Tijdschrift Voor Diergeneeskunde*. **135**: 840–847.
- Doubek J. a kol. 2010. *Interpretace základních biochemických a hematologických nálezů u zvířat*, 2. vydání. NOVIKO, a. s., Brno.
- Elsherif L, Ortines RV, Saari JT, Kang YJ. 2003. Congestive heart failure in copper-deficient mice. *Experimental Biology and Medicine*. **228**: 811–817.
- Eshak ES, Iso H, Yamagishi K, Maruyama K, Umesawa M, Tamakoshi A. 2018. Association between copper and zinc intakes from diet and mortality from cardiovascular disease in a large population-based prospective cohort study. *Journal of Nutritional Biochemistry*. **56**: 126–132.

- Fascetti AJ, Rogers QR, Morris JG. 2002. Blood copper concentrations and cuproenzyme activities in a colony of cats. *Veterinary Clinical Pathology*. **31**: 183–188.
- Foster DJ, Thoday KL, Arthur JR, Nicol F, Beatty JA, Svendsen CK, Labuc R, McConnell M, Sharp M, Thomas JB, Beckett GJ. 2001. Selenium status of cats in four regions of the world and comparison with reported incidence of hyperthyroidism in cats in those regions. *American Journal of Veterinary Research*. **62**: 934–937.
- Freeman LM, Rush JE, Cunningham SM, Bulmer BJ. 2014. A randomized study assessing the effect of diet in cats with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. **28**: 847–856.
- Freeman LM, Rush JE, Stern JA, Huggins GS, Maron MS. 2017. Feline hypertrophic cardiomyopathy: A spontaneous large animal model of human HCM. *Cardiology Research* **8**: 139–142.
- Fuentes VL, Wilkie LJ. 2017. Asymptomatic Hypertrophic Cardiomyopathy: Diagnosis and Therapy. *Veterinary Clinics of North America: Small Animal Practice* **47**: 1041–1054.
- Ghaemian A, Salehifar E, Jalalian R, Ghasemi F, Azizi S, Masoumi S, Shiraj H, Mohammadpour RA, Bagheri GA. 2011. Zinc and copper levels in severe heart failure and the effects of atrial fibrillation on the zinc and copper status. *Biological Trace Element Research*. **143**: 1239–1246.
- Ghaemian A, Salehifar E, Shokrzadeh M. 2010. Zinc and copper in different types of heart failure. *Trace Elements and Electrolytes*. **27**: 57–64.
- Ghayour-Mobarhan M, Taylor A, New SA, Lamb DJ, Ferns GAA. 2005. Determinants of serum copper, zinc and selenium in healthy subjects. *Annals of Clinical Biochemistry*. **42**: 364–375.
- Gordon SG, Côte E. 2015. Pharmacotherapy of feline cardiomyopathy: chronic management of heart failure. *Journal of Veterinary Cardiology*. **17**: S159–S172.
- Gregor P. 1992. Hypertrofická kardiomyopatie. SCIENTIA MEDICA, spol. s r. o., Praha.
- Hägström J, Fuentes VL, Wess G. 2015. Screening for hypertrophic cardiomyopathy in cats. *Journal of Veterinary Cardiology*. **17**: S134–S149.
- Chou HT, Yang HL, Tsou SS, Ho RK, Pai PY, Hsu HB. 1998. Status of trace elements in patients with idiopathic dilated cardiomyopathy in central Taiwan. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi = Chinese Medical Journal*. **61**: 193–198.

- Iaizzo PA. 2015. Handbook of Cardiac Anatomy, physiology and devices – 3rd edition. Springer Publishing Company, USA.
- Jeejeebhoy F, Keith M, Freeman M, Barr A, McCall M, Kurian R, Mazer D, Errett L. 2002. Nutritional supplementation with MyoVive repletes essential cardiac myocyte nutrients and reduces left ventricular size in patients with left ventricular dysfunction. *American Heart Journal*. **143**: 1092–1100.
- Jiang YC, Reynolds C, Xiao C, Feng WK, Zhou ZX, Rodriguez W, Tyagi SC, Eaton JW, Saari JT, Kang YJ. 2007. Dietary copper supplementation reverses hypertrophic cardiomyopathy induced by chronic pressure overload in mice. *Journal of Experimental Medicine*. **204**: 657–666.
- Karagulova G, Yue Y, Moreyra A, Boutjdir M, Korichneva I. 2007. Protective role of intracellular zinc in myocardial ischemia/reperfusion is associated with preservation of protein kinase C isoforms. *Journal of Pharmacology and Experimental Therapeutics*. **321**: 517–525.
- Kazda A. 2010. Stopové prvky. Pages 61–78 in Svačina Š, editor. *Poruchy metabolismu a výživy*. Galén, Praha.
- Kieliszek M, Blazejak S. 2012. Selenium: Significance, and outlook for supplementation. *Nutrition*. **29**: 713–718.
- Kkeveetil ChV, Thomas G, Chander SJU. 2016. Role of micronutrients in congestive heart failure: A systematic review of randomized controlled trials. *Tzu Chi Medical Journal*. **28**: 143–150.
- Komárek V. 1964. *Anatomie a fyziologie hospodářských zvířat*. Státní zemědělské nakladatelství v Praze, Praha.
- Kosar F, Sahin I, Taskapan C, Küçükbay Z, Güllü H, Taskapan H, Cehreli S. 2006. Trace element status (Se, Zn, Cu) in heart failure. *The Anatolian Journal of Cardiology*. **6**: 216–220.
- Lagos FM, Navarro-Alarcón M, Terrés-Martos C, López-G de la Serrana H, López-Martínez MC. 1997. Serum copper and zinc concentrations in serum from patients with cancer and cardiovascular disease. *The Science of the Total Environment*. **204**: 27–35.
- Lin W, Li D. 2017. Zinc and Zinc Transporters: Novel Regulators of Ventricular Myocardial Development. *Pediatric Cardiology*. **39**: 1042–1051.
- Little PJ, Bhattacharya R, Moreyra AE, Korichneva IL. 2010. Zinc and cardiovascular disease. *Nutrition*. **26**: 1050–1057.



- Longeri MI, Ferrari P, Knafelz P, Mezzelani A, Marabotti A, Milanesi L, Pertica G, Polli M, Brambilla PG, Kittleson M, Lyons LA, Porciello F. 2013. Myosin-binding protein C DNA variants in domestic cats (A31P, A74T, R820W) and their association with hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Internal Medicine*. **27**: 275–285.
- Madaric A, Ginter E, Kadrabova J. 1994. Serum copper, zinc and copper/zinc ratio in males – influence of aging. *Physiological Research*. **43**: 107–111.
- Mahelková K. 2004. *Zvěrolékař pro kočku aneb Kočka ve zdraví a nemoci*. Fauna Magazín, Brno.
- Marvan F, Hampl A, Hložánková E, Kresan J, Massanyi L, Vernerová E. 2007. *Morfologie hospodářských zvířat*. Nakladatelství Brázda, s.r.o., Praha.
- Málek F. 2002. Natriuretické peptidy. *Remedia*. **12**: 146–150.
- McKeag NA, McKinley MC, Woodside JV, Harbinson MT, McKeown PP. 2012. The role of micronutrients in heart failure. *Journal of the Academy of Nutrition and Dietetics*. **112**: 870–886.
- Melnikov P, Consolo LZ, da Silva AF, Domingos H, do Nascimento VA. 2014. Hematologic parameters and copper levels in patients with cardiomyopathies. *International Journal of Cardiology*. **172**: E149–E150.
- Melnikov P, Zanoni LZ, da Silva AF, Domingos H, Nascimento VA. 2015. Zinc and cardiomyopathies. *International Journal of Cardiology*. **179**: 3–4.
- Meurs KM, Norgard MM, Ederer MM, Hendrix KP, Kittleson MD. 2007. A substitution mutation in the myosin binding protein C gene in ragdoll hypertrophic cardiomyopathy. *Genomics*. **90**: 261–264.
- Meurs KM, Sanchez X, David RM, Bowles NE, Towbin JA, Reiser PJ, Kittleson JA, Munro MJ, Dryburgh K, MacDonald KA, Kittleson MD. 2005. A cardiac myosin binding protein C mutation in the Maine Coon cat with familial hypertrophic cardiomyopathy. *Human Molecular Genetics*. **14**: 3587–3593.
- Miholová B. 1999. *Anatomie a fyziologie hospodářských zvířat*. Tauferova střední odborná škola veterinární, Kroměříž.
- Milne DB, Johnson PE. 1993. Assessment of copper status: Effect of age and gender on reference ranges in healthy adults. *Clinical Chemistry* 39: 883–887.

- Navarro-Alarcon M, Cabrera-Vique C. 2008. Selenium in food and the human body: A review. *Science of the Total Environment*. **400**: 115–141.
- Navarro-Alarcon M, de la Serrana HLG, Perez-Valero V, Lopez-Martinez C. 1999. Serum and urine selenium concentrations in patients with cardiovascular diseases and relationship to other nutritional indexes. *Annals of Nutrition and Metabolism*. **43**: 30–36.
- O'Brien M, Murphy MG, Lowe JA. 1998. Hematology and Clinical Chemistry Parameters in the Cat (*Felis domesticus*). *The Journal of Nutrition*. **128**: 2678–2679.
- Oster O, Prellwitz W, Kasper W, Meinertz T. 1983. Congestive cardiomyopathy and the selenium content of serum. *Clinica Chimica Acta*. **128**: 125–132.
- Paige CF, Abbott JA, Elvinger F, Pyle RL. 2009. Prevalence of cardiomyopathy in apparently healthy cats. *Journal of the American Veterinary Medical Association*. **234**: 1398–1403.
- Paul M, Mehr AP, Kreutz R. 2006. Physiology of local renin-angiotensin systems. *Physiological Reviews*. **86**: 747–803.
- Popelářová R. 2011. Domáci zvěrolékař pro majitele a chovatele psů a koček. Grada Publishing, a. s., Praha.
- Rayman MP. 2012. Selenium and human health. *Lancet*. **379**: 1256–1268.
- Reece WO. 2009. *Functional Anatomy and Physiology of Domestic Animals – 4th edition*. Wiley-Blackwell, USA.
- Rush JE. 1998. Therapy of feline hypertrophic cardiomyopathy. *Veterinary Clinics of North America – Small Animal Practice*. **28**: 1459–1479.
- Rzymiski P, Niedzielski P, Poniedziałek B, Rzymiski P, Pacynska J, Kozak L, Dabrowski P. 2015. Free-ranging domestic cats are characterized by increased metal content in reproductive tissues. *Reproductive Toxicology* **58**: 54–60.
- Říhová M. 2007. Chov koček. Grada Publishing, a. s., Praha.
- Schmidt-Nielsen K. 1997. *Animal Physiology – Animal and environment – 5th ed*. Syndicate of the University of Cambridge, Cambridge (UK).
- Schober KE, Zientek J, Li XB, Fuentes VL, Bonagura JD. 2013. Effect of treatment with atenolol on 5-year survival in cats with preclinical (asymptomatic) hypertrophic cardiomyopathy. *Journal of Veterinary Cardiology*. **15**: 93–104.

- Salehifar E, Shokrzadeh M, Ghaemian A. 2008. Comparison of copper and zinc levels in the serum of ischemic cardiomyopathy patients with healthy volunteers. *Journal of Babol University Medical Science* **10**: 23–30.
- Sharadamma KC, Purushotham B, Radhakrishna PM, Abhilekha PM, Vagdevi HM. 2011. Role of Selenium in Pets Health and Nutrition. *Asian Journal of Animal Science*. **5**: 64–70.
- Shokrzadeh M, Ghaemian A, Salehifar E, Aliakbari S, Saravi SSS, Ebrahimi P. 2009. Serum zinc and copper levels in ischemic cardiomyopathy. *Biological Trace Element Research*. **127**: 116–123.
- Sláma P, Pavlík A, Tančín V. 2015. *Morfologie a fyziologie hospodářských zvířat*. Mendelova univerzita v Brně, Brno.
- Tapiero H, Townsend DM, Tew KD. 2003. Trace elements in human physiology and pathology: copper. *Biomedicine & Pharmacotherapy*. **57**: 386–398.
- Thomas R. 2001. *A Beginner's Guide to ICP-MS. Spectroscopy*. **16**: 38–42.
- Tidholm A, Ljungvall I, Michal J, Häggstrom J, Hoglund K. 2015. Congenital heart defects in cats: A retrospective study of 162 cats (1996–2013). *Journal of Veterinary Cardiology*. **17**: S215–S219.
- Todd SE, Thomas DG, Hendriks WH. 2011. Selenium balance in the adult cat in relation to intake of dietary sodium selenite and organically bound selenium. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition*. **96**: 148–158.
- Tomaszewska E, Dobrowolski P, Kwiecien M. 2016. Intestinal alterations, basal hematology, and biochemical parameters in adolescent rats fed different sources of dietary copper. *Biological Trace Element Research* **171**: 185–191.
- Topuzoglu G, Erbay AR, Karul AB, Yensel N. 2003. Concentrations of copper, zinc and magnesium in sera from patients with idiopathic dilated cardiomyopathy. *Biological Trace Element Research*. **95**: 11–17.
- Veselka J, Linhartová K, Zemánek D, Aschermann O, Fiedler J, Krejčí J, Riedlbauchová L, Tomašov P. 2009. *Kardiomyopatie*. Galén, Praha.
- Vondráková D, Málek F, Ošťádal P, Krüge A. 2013. Nové biomarkery a srdeční selhání. *Cor et Vasa*. **55**: 345–354.
- Wang S, Wang B, Wang Y, Tong Q, Liu Q, Sun J, Zheng Y, Cai L. 2017. Zinc prevents the development of diabetic cardiomyopathy in db/db mice. *International Journal of Molecular Sciences*. **18**: 580.

- Ware WA. 2011. Cardiovascular Disease in Small Animal Medicine – 3rd edition. CRC Press, USA.
- Willmer P, Stone G, Johnston I. 2005. Environmental Physiology of Animals – 2nd edition. Blackwell Publishing, USA.
- Wilson DE, Mittermeir RA. 2009. Handbook of The Mammals of the World – Volume 1, carnivores. Lynx Edicions in association with Conservation International and IUCN, Barcelona.
- Witte KKA, Nikitin NP, Parker AC, von Haehling S, Volk HD, Anker SD, Clark AL, Cleland JGF. 2005. The effect of micronutrient supplementation on quality-of-life and left ventricular function in elderly patients with chronic heart failure. *European Heart Journal*. **26**: 2238–2244.
- World Health Organization – „WHO“. 1996. Trace elements in human nutrition and health. World Health Organization, Geneva.
- Youchun J, Corey R, Chang X, Wenke F, Zhanxiang Z, Walter R, Suresh CT, John WE, Jack TS, Youchun JK. 2007. Dietary copper supplementation reverses hypertrophic cardiomyopathy induced by chronic pressure overload in mice. *The Rockefeller University Press*. **204**: 657–666.
- Yu X, Huang L, Zhao J, Wang Z, Yao W, Wu X, Huang J, Bian B. 2018. The Relationship between Serum Zinc Level and Heart Failure: A Meta-Analysis. *BioMed Research International*. 1–9.

## 9 Samostatné přílohy

*Příloha 1: Tabulka obsahů prvků v plazmě sledovaných zvířat*

vzorek	Cu [µg/L]	Zn [µg/L]	Se [µg/L]
1	1228	1271	895
4	814	912	586
5 <sub>b</sub>	649	776	449
8	1399	4151	590
10	709	4234	836
15	1425	542	297
16	993	1341	980
17	1731	978	557
18	704	945	674
19 <sub>b</sub>	833	846	608
22	1186	756	736
23	719	846	507
24	840	882	527
25	335	313	261
26	1569	885	467
27	591	946	450
28	726	1163	308
30	1093	1040	563
31	809	672	576
32	1066	644	270
34	478	1043	522
35	598	1090	535
36	595	1268	591
37	684	965	644
38	1170	1095	669
42	687	845	675
43	815	1314	705
45	1173	1116	541
46	997	887	558
47	2360	869	563
48	766	1145	744
49	928	943	642
50	639	1296	755
51	1879	1220	309

*Příloha 2: Tabulka obsahů prvků v plné krvi sledovaných zvířat*

vzorek	Cu [µg/L]	Zn [µg/L]	Se [µg/L]
1	1228	4725	855
2 <sub>a</sub>	887	3405	690
3 <sub>a</sub>	941	3132	710
4	683	3713	700
5 <sub>b</sub>	723	3354	640

vzorek	Cu [ $\mu\text{g/L}$ ]	Zn [ $\mu\text{g/L}$ ]	Se [ $\mu\text{g/L}$ ]
6	793	2502	626
7	802	4231	764
8	1520	2058	471
9	1236	3009	604
10	693	1062	788
11	768	4202	695
12	790	1094	663
13	1042	4482	1324
14	871	4290	707
15	1472	3171	445
16	832	4288	1737
17	1372	3412	690
18	675	4363	760
19 <sub>b</sub>	847	4130	753
20	826	3251	543
21	697	3382	554
22	1090	3987	737
29 <sub>c</sub>	742	4139	700
30	980	5352	621
31	885	5000	627
32	1241	2010	335
33	1919	4456	368
34	518	4181	589
35	598	4194	678
36	612	5050	704
37	785	4887	728
38	971	5007	666
39 <sub>c</sub>	937	4372	796
40 <sub>c</sub>	958	6296	898
41 <sub>c</sub>	1231	5321	965
42	772	4847	662
43	795	5351	757
44	709	4632	744
45	930	5040	586
46	1041	4219	538
47	1832	3998	701
48	849	5532	756
49	647	5733	819
50	788	4732	1027
51	1647	3912	413

*Příloha 3: Základní statistické charakteristiky souboru dat dle jednotlivých sledovaných parametrů (vliv pohlaví)*

	Cu [µg/L]	Zn [µg/L]	Se [µg/L]	Cu [µg/L]	Zn [µg/L]	Se [µg/L]
	plazma			plná krev		
samci						
minimum	639	869	309	709	2158	368
maximum	1832	2051	980	2360	6296	1737
průměr	1084	1159	614	1180	4483	741
směrodatná odchylka	365	299	175	441	876	277
median	980	1095	563	1041	4456	701
MAD*	296	151	78	215	458	118
samice						
minimum	478	672	449	518	1094	554
maximum	1090	1314	788	1236	5532	1324
průměr	720	992	625	826	3845	725
směrodatná odchylka	160	202	98	178	1075	155
median	693	1043	608	804	4134	702
MAD*	103	197	86	97	767	56

\*Median absolutních hodnot

*Příloha 4: Základní statistické charakteristiky souboru dat dle jednotlivých sledovaných parametrů (vliv věku)*

	Cu [µg/L]	Zn [µg/L]	Se [µg/L]	Cu [µg/L]	Zn [µg/L]	Se [µg/L]
	plazma			plná krev		
do 2 let						
minimum	595	978	309	598	3412	413
maximum	1879	1314	895	1647	5352	855
průměr	1139	1159	603	994	4571	676
směrodatná odchylka	447	116	156	339	647	112
median	1132	1157	577	971	4725	690
MAD*	425	112	67	257	586	24
2–7 let						
minimum	766	756	541	647	1062	335
maximum	1399	1341	980	1919	6296	1737
průměr	1063	1031	684	998	3974	731
směrodatná odchylka	191	192	142	329	1426	311
median	997	1030	642	908	4138	724
MAD*	175	142	95	190	954	153
nad 7 let						
minimum	478	672	449	518	1094	538
maximum	2360	1296	755	1832	5000	1324
průměr	894	927	599	902	3944	738
směrodatná odchylka	563	176	88	280	944	181

nad 7 let						
median	694	907	592	802	4219	701
MAD*	85	96	61	79	221	63

\*Median absolutních hodnot

*Příloha 5: Základní statistické charakteristiky souboru dat dle jednotlivých sledovaných parametrů (vliv diagnózy)*

	Cu [µg/L]	Zn [µg/L]	Se [µg/L]	Cu [µg/L]	Zn [µg/L]	Se [µg/L]
	plazma			plná krev		
pozitivní						
minimum	335	313	261	772	2010	335
maximum	1425	845	675	1472	4847	662
průměr	878	586	376	1162	3343	480
směrodatná odchylka	408	192	173	291	1165	136
median	877	593	283	1241	3171	445
MAD*	366	152	18	232	1161	110
negativní						
minimum	-	-	-	709	4139	700
maximum	-	-	-	1231	6296	965
průměr	-	-	-	904	5049	810
směrodatná odchylka	-	-	-	172	744	92
median	-	-	-	893	4977	776
MAD*	-	-	-	108	580	54
netestované						
minimum	478	672	308	518	1062	368
maximum	2360	1341	980	1919	5733	1737
průměr	997	1014	598	952	3977	718
směrodatná odchylka	432	182	146	333	1062	235
median	833	965	576	840	4198	692
MAD*	194	125	68	141	737	67

\*Median absolutních hodnot; - příliš málo dat pro statistické hodnocení