

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



**Hodnocení hematologických a biochemických ukazatelů
u různých plemen psů**

Diplomová práce

Autor práce: Eva Pechová

Vedoucí práce: doc. Ing. Alena Fučíková, CSc.

© 2016 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Hodnocení hematologických a biochemických ukazatelů u různých plemen psů" 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 7.4. 2016

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Aleně Fučíkové, CSc., vedoucí mé diplomové práce, za cenné rady, připomínky, ochotu a velikou trpělivost při psaní této práce. Dále bych ráda poděkovala také Ing. Monice Slavíkové za pomoc při zpracování statistické analýzy a rodičům za veškerou podporu.

Hodnocení hematologických a biochemických ukazatelů u různých plemen psů

Souhrn

Tématem této diplomové práce bylo hodnocení hematologických a biochemických ukazatelů u různých plemen psů. Cílem této práce bylo vyhodnocení odebraných vzorků krve od 10 psů a 10 fen různých plemen a zjištění závislostí hodnot ve vztahu k věku, výživě a pohlaví.

Vzorky byly zpracovány a vyhodnoceny od května do října roku 2015. Z hematologických ukazatelů byly vyšetřeny tyto: RBC, HGB, HCT, MCV, WBC a byl zhotoven krevní nátěr, ze kterého byl proveden diferenciální rozpočet leukocytů. Dále byly vyšetřeny biochemické ukazatele: TP, GLU, CHOL, ATP. Literární rešerše byla zaměřena nejprve na základní složky krmiva psů. Dále byly popsány hematologické a biochemické ukazatele krve a také metodika celého pokusu. Výsledky byly zpracovány pomocí programu RStudio a byly počítány základní statistické charakteristiky: střední hodnota, minimum, maximum, medián, směrodatná odchylka. Byla použita statistická metoda ANOVA, ve které byla určována závislost hodnot mezi pohlavími, věkovými kategoriemi, typem krmiva, kterým byla zvířata krmena. Dále byly srovnány hodnoty mezi plemeny. Ze zjištěných rozdílů mezi plemeny bylo zvýšení červených krvinek u plemene německý ovčák a dobrman. Zvýšené hodnoty ALT měla plemena dobrman, labradorský retrievr a kříženec německého ovčáka. Významnými výsledky bylo zjištění, že došlo ke zvýšení počtu červených krvinek a hematokritu u jedinců krmených granulovanou stravou než u jedinců a kombinovanou stravou. Rozdíl byl také zjištěn u MCV mezi pohlavím.

U hodnot ALT byly zjištěny rozdíly mezi pohlavím, pro potvrzení vztahu k věku by bylo potřeba větší množství dat. Hodnoty ALT jsou závislé na typu krmiva, kde u jedinců krmených kompletní granulovanou stravou jsou hodnoty vyšší. Hodnoty celkové bílkoviny se s přibývajícím věkem zvyšovaly u psů, tento trend budeme pravděpodobně pozorovat i u fen. U jedinců krmených kombinovanou stravou (granulované krmivo + domácí strava) byl pozorován nárůst hodnot celkové bílkoviny s přibývajícím věkem. U jedinců krmených granulovaným krmivem nebyl tento nárůst tak významný.

Klíčová slova: pes, hematologie, biochemie, výživa

Influence hematological and biochemical parameters by different dogs

Summary

The topic of this diploma work was to evaluate the hematological and biochemical indicators of various breeds of dogs. The aim of this work was to evaluate the blood samples taken from 10 dogs and 10 bitches of various breeds and find out the dependency of values in relation to their age, nutrition and sex. The samples were processed and evaluated from May to October 2015. The following was examined from the hematological indicators: RBC, HGB, HCT, MCV, WBC and a blood smear was made, from which a differential count of leucocytes was made. Furthermore, the following biochemical indicators were examined: TP, GLU, CHOL and ATP. The literature research first focused on the basic components of dog feed. Moreover, the hematological and biochemical indicators of blood as well as the methodology of the whole experiment were described. The results were processed with the aid of the RStudio program and the following basic statistical characteristics were counted: median, minimum, maximum and standard deviation. The ANOVA statistical method was used, in which the dependency of values among sex, age category and the type of feed fed to the animals was determined. Furthermore, the values among the breeds were compared. From the differences observed among the breeds, there was an increase in red blood cells in German Shepherds and Dobermans. Dobermans, Labrador Retrievers and German shepherd crossbreeds had increased values of ALT. Significant findings showed that there was an increase in the number of red blood cells and hematocrits in subjects fed with granulated feed as opposed to subjects with a combined diet. The difference was also observed for MCV between the genders.

Differences between the genders were found for ALT values. More data would be needed to confirm the relationship to age. ALT values are dependent on the type of feed, where the values are higher in subjects fed with a completely granulated diet. The values of total protein increased in dogs with age. This trend is likely to be observed in bitches. For subjects fed a combined diet (granulated feed + home diet) an increase in the value of total protein was observed with age. For subjects fed granulated feed, this increase was not as significant.

Keywords: dog, hematology, biochemistry, nutrition

Obsah

1 Úvod	8
2 Cíl práce.....	9
3 Literární rešerše.....	10
3.1 Výživa a energetické potřeby psů	10
3.1.1 Voda a sušina.....	10
3.1.2 Organické živiny (tuky, cukry, bílkoviny) – zdroj energie	10
3.1.3 Minerální látky	14
3.1.4 Specificky účinné látky	14
3.2 Hematologie	18
3.2.1 Charakteristika krve.....	18
3.2.2 Složky krve	18
3.2.3 Odběr krve a laboratorní vyšetření u psů	18
3.2.4 Hematologické ukazatele.....	20
3.2.5 Červené krvinky (Erytrocyty).....	22
3.2.6 Krevní destičky (Thrombocyty) a koagulační faktory	24
3.2.7 Bílé krvinky (Leukocyty)	26
3.3 Biochemické ukazatele.....	30
3.3.1 Celková bílkovina (total protein TP).....	30
3.3.2 Glukóza (GLU).....	30
3.3.3 Cholesterol (CHOL)	31
3.3.4 Alaninaminotransferáza (ALT)	31
4 Metodika pokusu.....	33
4.1. Odběr krve.....	34
4.2. Hematologické vyšetření.....	34
4.3 Krevní nátěr.....	35

4.4. Biochemické vyšetření	37
4.4.1 Stanovení hodnot celkové bílkoviny	38
4.4.2 Stanovení hodnot glukózy	38
4.4.3 Stanovení hodnot cholesterolu	39
4.4.4 Stanovení hodnot jaterního enzymu ALT	39
4.5 Statistické zpracování hodnot	40
5 Výsledky.....	41
5.1. Hematologické hodnoty	41
5.1.1. Testování statistických hypotéz pro hematologické hodnoty.....	46
5.2. Biochemické hodnoty	56
5.2.1. Testování statistických hypotéz pro biochemické hodnoty	61
5.3 Srovnání plemen.....	69
6 Diskuze.....	70
7 Závěr	74
8 Seznam literatury.....	75
9 Seznam použitých zkratk	79
10 Přílohy.....	80
10.1. Seznam uvedených grafů.....	80
10.2. Seznam uvedených tabulek	80
10.3. Seznam uvedených obrázků	81

1 Úvod

V dnešní době patří pes mezi nepopulárnější domácí mazlíčky. Majitelé mají možnost vybrat si z nepřeberného množství plemen psů a aktivit, kterým by se chtěli věnovat. Majitelé si mohou určit si, jakým typem krmiva a v jaké kvalitě budou svého psa krmit. V současnosti je výběr bohatý, majitel může stravu připravovat doma a vařit ji či podávat v syrovém stavu nebo kupovat kompletní granulovaná krmiva, která jsou vyráběna dle velikosti, stáří, aktivity nebo zdravotního stavu psa. Krmiva jsou také rozdělena dle kvality na ekonomická, prémiová a super nebo ultra prémiová.

Někdy mohou ve výživě nastat dietetické nebo zdravotní problémy a ke správné volbě krmení je potřeba udělat hematologické a biochemické vyšetření, která nám pomohou odhalit problémy.

Tato vyšetření jsou také doporučována jako součást pravidelné kontroly zdravotního stavu, díky kterým je možné včas odhalit problémy, které jsou jinak na pohled skryty. Moderní přístroje umožňují rychlé a ve většině případů bezchybné vyšetření krevního vzorku.

2 Cíl práce

Cílem práce je sledování základních hematologických a biochemických hodnot u různých plemen psů ve vztahu k věku a výživě. Hypotéza práce je založena na zjištění rozdílných hodnot u jednotlivých plemen psů.

3 Literární rešerše

3.1 Výživa a energetické potřeby psů

Základním pojmem v oblasti výživy je živina. Živina je chemicky definovatelná látka nezbytná k zajištění existence živého organismu. Trávení (mechanické, chemické, mikrobiální) napomáhá rozložit živiny tak, aby byly pro tělo přístupné.

3.1.1 Voda a sušina

Sušina krmiva je „zbytek krmiva po vysušení za předepsaných podmínek“ (Názvosloví v oboru výživy a krmení hospodářských zvířat, 1983). Je složena z organických i anorganických živin. Stanovením sušiny v krmivu zjistíme jeho výživné hodnoty (Mudřík a kol., 2007).

Voda je sloučeninou vodíku a kyslíku, je to čirá kapalina bez zápachu, rozpouští většinu látek (Názvosloví v oboru výživy a krmení hospodářských zvířat, 1983). Psí tělo obsahuje asi 60 % vody, příjem vody u psů závisí na teplotě prostředí, množství vody v přijatém krmivu, aktivitě a zdravotním stavu psa. Příjem vody by měl být asi 35–50 ml/den na 1 kg živé hmotnosti psa (Mudřík a kol., 2007).

3.1.2 Organické živiny (tuky, cukry, bílkoviny) – zdroj energie

Tuky jsou estery alkoholů a vyšších mastných kyselin, rostlinného i živočišného původu. Jsou nerozpustné ve vodě, jsou zdrojem tělesné energie, ochranou orgánů, zásobními látkami, stavebními látkami buněčných membrán, rozpouštějí se v nich vitaminy (A, D, E, K), jsou základem hormonů, barviv a léčiv.

Dělí se na:

- jednoduché - tuky (glyceridy), vosky (ceridy)
- složené - fosfolipidy, glykolipidy, lipoproteiny (Gärtner, 2007).

Trávení tuků v žaludku je stimulováno sekrecí žaludečních a slinných lipáz, které jsou aktivní při nízkém pH žaludku. Lipázy rozkládají triacylglyceroly na diacylglyceroly, monoacylglyceroly a volné mastné kyseliny (NRC 2006). Tuky a mastné kyseliny postupují do tenkého střeva, kde stimulují uvolňování cholecystokininu z duodenální sliznice.

Cholecystokinin stimuluje uvolňování pankreatických enzymů (lipázy, kolipázy, fosfolipázy a další) a kontrakce žlučníku, ze kterého je uvolňována žluč do lumen střeva (Burger, 1993).

Žluč podporuje emulgaci lipidů působením solí žlučových kyselin. Tuk, trávicí enzymy a žlučové soli utvářejí emulze tukových kapiček (micel), které jsou dále rozloženy

a vstřebány. Některé mastné kyseliny se mohou dostávat přímo do portální oběhu, ale většina je připojena na lipoproteiny, cholesterol, fosfolipidy a enterocyty, tvoří tak chylomikrony (přibližně 84% triglyceridů, 7% fosfolipidů, 7% cholesterolu a esterů cholesterolu a 2% proteinů), které jsou vstřebány do mízy. (Wortinger 2007).

V játrech jsou mastné kyseliny metabolizovány a distribuovány do těla. Mastné kyseliny a volné mastné kyseliny mohou být oxidovány na oxid uhličitý s uvolněním ATP. Jsou využity pro syntézu cholesterolu a žlučových kyselin, syntézu plazmatických lipoproteinů nebo tvorbu volných mastných kyselin. Mastné kyseliny z cirkulujících chylomikronů mohou být také uloženy v tukové tkáni jako triglyceridy pro pozdější použití jako zdroje energie (NRC 2006).

Cukry jsou přijímány v potravě, anebo krátkodobě syntetizovány z aminokyselin. Jsou přítomny ve všech rostlinných i živočišných buňkách a jsou zdrojem energie a zásobních, stavebních látek.

Dělí se na:

- jednoduché – monosacharidy
- složité – polysacharidy, oligosacharidy – disacharidy, trisacharidy, atd.

Polysacharidy jsou pro psy hůře stravitelné, a proto se v krmivech upravují například extruzí (Červinka, 1980).

Metabolismus sacharidů začíná až v tenkém střevě, protože psi oproti například člověku nemají amylázu k trávení sacharidů ve slinách. Na trávení se podílí také slinivka břišní, která produkuje amylázu a ta je zodpovědná za hydrolýzu. Buňky tenkého střeva produkují enzymy na trávení sacharidů jako je maltáza, laktáza, sacharáza a izomaltáza. Tyto enzymy degradují disacharidy maltózu, laktózu a sacharózu a monosacharidy glukózu, fruktózu a galaktózu (Wortinger, 2007).

Škroby jsou tráveny různě dlouho a to podle zdroje potravy a způsobu jejího zpracování. Některé škroby nejsou zcela stráveny v tenkém střevě a tak vstupují do střeva tlustého, kde jsou do určité míry fermentovány bakteriemi na plyny (oxid uhličitý, vodík a metan), mastné kyseliny s krátkým řetězcem (acetát, butyrát a propionát) a laktát. Trávení monosacharidů je tak téměř stoprocentní (NRC, 2006).

Vstřebávání monosacharidů a cukerných alkoholů do enterocytů probíhá přímo a nevyžaduje žádné trávicí enzymy. Ostatní sacharidy ke vstřebání vyžadují specifické transportní

mechanismy, ty vyžadují energii pro přenos sacharidů přes membránu (Burger, 1993). Například glukóza a galaktóza využívá stejný nosič (GLUT2, SGLT2). Fruktóza je absorbována u lidí za pomoci nosiče (GLUT5), který nevyžaduje energii, a předpokládá se, že tento mechanismus funguje i u psů (NRC, 2006).

Jakmile se sacharidy absorbují do enterocytů, rychle se uvolní do kapilár za pomoci koncentračního spádu nebo usnadněnou difúzí a dále putují až do jater. Do jater se monosacharidy dostávají portální žílou, jaterní buňky metabolizují cukry, které nejsou ve formě monosacharidů na glukózu nebo fruktózu (Wortinger, 2007).

Glukóza je transportována krví ke všem buňkám organismu jako zdroj energie, dále může být uložena ve formě glykogenu v játrech a svalech, může představovat hladinu glukózy v krvi a být využita všemi buňkami k tvorbě energie, může být katabolizována na pyruvát a laktát, použita pro alfa glycerolfosfát na syntézu lipidů, hydrolyzována za vzniku acetyl - CoA, který se oxiduje na vodu a oxid uhličitý nebo může být použita jako substrát pro syntézu mastných kyselin (Summers, 2002).

Bílkoviny jsou makromolekulární látky, skládají se z více než 100 aminokyselin navzájem propojených peptidickou vazbou a nebílkovinnou složkou. Sušina živé hmoty je z 80 % tvořena proteiny.

Bílkoviny se dělí na:

- jednoduché: fibrilární (kolagen, keratin, fibroin), globulární (albuminy, globuliny, fibrinogen, histony)
- složené: glykoproteiny, chromoproteiny (hemoglobin, myoglobin, cytochromy), metaloproteiny (ferritin, transferin), lipoproteiny, nukleoproteiny, fosfoproteiny (kasein).

Funkcemi bílkovin jsou stavební, katalytická, regulační, ochranná, obranná, transportní, zásobní (Červinka, 1980).

Aminokyseliny jsou substituční deriváty karboxylových kyselin, kde nejméně jeden atom vodíku vázaného na uhlík je nahrazen aminoskupinou. Aminokyseliny se dělí na esenciální aminokyseliny, které jsou nepostradatelné a v živočišném organismu se vytvářejí v nedostačujícím množství nebo se vůbec nesyntetizují a musí být přijímány v potravě. Nedostatek vede k poruchám organismu. Dále na neesenciální (postradatelné), které si organismus může syntetizovat sám nebo je nepotřebuje (Názvosloví v oboru výživy a krmení hospodářských zvířat, 1982).

Bílkoviny obsahují dusík, proto díky tzv. dusíkové rovnováze dokážeme určit přísun bílkovin. Nadbytek způsobuje zvýšení hladiny dusíkatých katabolitů, zatěžování ledvin a jater.

Trávení bílkovin začíná v žaludku za účasti kyseliny chlorovodíkové a pepsinogenu. Enzym pepsin je zodpovědný přibližně za 10 % trávených bílkovin (Burger 1993).

Kyselina chlorovodíková obsažena v žaludku přeměňuje neaktivní pepsinogen na pepsin. Pepsin narušuje vnitřní peptidové vazby proteinu a ten je pak více přístupný trávicím enzymům. Když trávenina opustí žaludek a vstoupí do dvanáctníku je proteolytická aktivita pepsinu zastavena jinými proteolytickými enzymy, jako je trypsin, chymotrypsin, karboxypeptidáza, elastáza a nukleázy, které jsou vylučovány slinivkou břišní k dokončení enzymatického trávení proteinů (McNamara, 2006)

Slinivka vylučuje proteolytické enzymy (proteázy) do tenkého střeva v neaktivní formě jako proenzymy, nicméně přítomnost žluči v tenkém střevě stimuluje sliznici k uvolnění enterokinázy, která mění inaktivní trypsinogen na aktivní trypsin, ale i další pankreatické enzymy. Bílkoviny jsou tak rozštěpeny na jednoduché oligopeptidy a aminokyseliny, které se dostávají do krve (Burger, 1993).

Pankreatické enzymy mohou být rozděleny do dvou skupin: endopeptidázy a exopeptidázy. Endopeptidázy štěpí vnitřní peptidové vazby, patří mezi ně trypsinogen (neaktivní forma trypsinu), chymotrypsinogen (neaktivní forma chymotrypsinu), proelastáza (neaktivní forma elastázy). Exopeptidázy štěpí terminální vazby proteinů odštěpováním aminokyselin, patří mezi ně prokarboxypeptidázy (neaktivní forma karboxypeptidáz) (McNamara 2006).

Konečnými produkty trávení bílkovin v tenkém střevě jsou aminokyseliny, dipeptidy a tripeptidy. Obecně platí, že volné aminokyseliny jsou absorbovány přímo do enterocytů lemujících tenké střevo za pomoci difúze. Některé aminokyseliny, dipeptidy a tripeptidy vyžadují použití účinné energie pro jejich vstřebávání (Burger, 1993).

Jiné se dostávají do krve, kde jsou k dispozici tělním buňkám k syntéze proteinů.

Aminokyseliny mohou být také syntetizovány v játrech a plazmatické bílkoviny jsou pak metabolizovány a uvolňují ATP nebo jsou převedeny na nukleotidy. Tímto procesem vzniká amoniak, jako odpadní toxický produkt a je přeměněn na močovinu, která je vyloučena ledvinami. V tlustém střevě dochází velmi málo k degradaci bílkovin pomocí mikrobiálních enzymů, zbylé proteiny jsou vyloučeny výkaly. Proteiny, které jsou degradovány mikroorganismy v tlustém střevě jsou přeměněny na mikrobiální bílkoviny (McNamara 2006).

3.1.3 Minerální látky

Jsou to anorganické látky, které označujeme také jako popeloviny. Zjistí se spálením krmiva ve spalné peci při 500 °C (Mudřík a kol., 2007). Jde o:

- vápník (Ca) – potřebný pro vývoj zubů a kostí, reguluje srdeční rytmus, má vliv na funkci nervů, enzymatické a hormonální procesy (Novosádová, 2011) .
- fosfor (P) –potřebný spolu s vápníkem pro stavbu kostí, zubů, dále se podílí na zpracování tuků, polysacharidů a bílkovin. Napomáhá udržovat rovnováhu tvorby nukleových kyselin a tělesných kyselin (Novosádová, 2011).
- hořčík (Mg) – potřebný k udržení všech funkcí svalů a nervů, udržuje stabilní srdeční rytmus, udržuje imunitní systém, pomáhá přeměňovat bílkoviny, tuky a uhlohydráty na energii. Je důležitý pro metabolismus vápníku, sodíku a draslíku, ovlivňuje syntézu DNA (Novosádová, 2011).
- draslík (K) – potřebný ke správné činnosti srdce, regulaci krevního tlaku, udržení rovnováhy minerálů v těle a k řízení metabolismu energie (Novosádová, 2011).
- sodík (Na) – důležitý pro správnou činnost srdce a nervů, udržování acidobazické rovnováhy a rovnováhy tělních tekutin (Mudřík a kol., 2007).
- železo (Fe) – důležitý prvek pro krvetvorbu (napomáhá tvoření červených krvinek), podporuje imunitní systém (Novosádová, 2011).
- fluor (F) – působí na růst zubní skloviny, podporuje růst zubů a kostí (Novosádová, 2011).
- zinek (Zn) – antioxidant, který chrání buňky před volnými radikály a napomáhá jejich růstu a dělení, přítomen je v mnoha enzymech, pomáhá hojení ran, produkci inzulínu (Novosádová, 2011).
- jod (I) – ovlivňuje činnost štítné žlázy, látkovou výměnu. Nedostatek způsobuje nedostatečnost štítné žlázy, vypadávání srsti (Simon, 2010).

3.1.4 Specificky účinné látky

Mezi specificky účinné látky řadíme **vitaminy**, což jsou organické látky nezbytné pro život živočichů. Působí na zvyšování obranyschopnosti organismu. Pes přijímá vitaminy jako součást potravy, např. ovoce, nebo jako vitaminové doplňky, které mohou být dále děleny dle charakteru stavu psa (Novosádová, 2011).

Vitaminy dělíme dle rozpustnosti na rozpustné v tucích nebo ve vodě. Vitaminy rozpustné ve vodě se oproti vitaminům rozpustným v tucích zpravidla neukládají a jsou vylučovány močí, proto je dobré sledovat jejich příjem v potravě (Mudřík a kol., 2007).

S touto částí souvisí také několik pojmů, které budou postupně vysvětleny. Jde o termín **provitaminy**, což nejsou vitaminy, ale organismus je schopen si je z nich vyrobit. Dále je třeba popsat termín **avitaminóza**. Jedná se o absolutní nedostatek vitaminů způsobený jejich nedostatkem v přijímané potravě nebo neschopností organismu tyto vitaminy využít. Podobný je i pojem **hypovitaminóza**, je to dočasný nedostatek vitaminů. Vzniká například při zvýšené potřebě organismu, kdy příjem vitaminů zvýšen není. Oproti tomu **hypervitaminóza** je přebytek vitaminů v organismu.

Z pohledu výživy psa je nutné zmínit tyto vitaminy:

Vitaminy rozpustné v tucích (lipofilní):

- **vitamin A** (retinol) – podporuje zrak, obnovuje buňky a pomáhá udržovat zdravou kůži a sliznice. Je důležitým antioxidantem, pomáhá hojení ran a podporuje růst. Organismus si jej dokáže vytvořit z provitaminů jako jsou karotenoidy (beta-karoten) (Novosádová, 2011)
- **vitamin D** (kalciferol) – významný pro vstřebávání vápníku a fosforu a pro tvorbu kostí a zubů, pomáhá posilovat imunitní systém (Novosádová, 2011)
- **vitamin E** (tokoferol) – antioxidant, který chrání spolu se selenem buněčné membrány (Mudřík a kol., 2007). Dle Simon (2010) dále podporuje zdravý krevní oběh, posiluje imunitu, napomáhá hojení ran a předcházet kancerogenezi (zhoubnému bujení buněk)
- **vitamin K** –účastní se tvorby několika srážecích faktorů, které pomáhají srážlivosti krve (Simon, 2010). Nadbytek vitaminu K může způsobit poruchy krve, jako je například anémie (chudokrevnost), poruchy srážlivosti krve – krvácivost dásní, krev v moči (Slováček, 2002)

Vitaminy rozpustné ve vodě:

- **vitamin C** (kyselina askorbová) – důležitý pro správný vývoj zubů, kostí, chrupavek, posiluje imunitní systém (posiluje tvorbu bílých krvinek), pomáhá hojení ran (Mudřík a kol., 2007). Dle Novosádové (2011) také napomáhá vstřebávání železa a vápníku a také se účastní na odbourávání cholesterolu. Dále chrání organismus proti srdečním chorobám a určitým formám rakoviny. Varem a oxidací (stykem s kyslíkem) se vitamin C znehodnocuje

- **vitamin B1** (thiamin) – je velmi důležitým při metabolismu cukrů, podporuje trávení, uvolňování kyseliny chlorovodíkové v žaludku. Pozitivně působí na činnost nervové soustavy a srdce (Simon, 2010)
- **vitamin B2** (riboflavin) – podporuje růst buněk, ochraňuje sliznice, kůži a oči, pozitivně působí také na srdce a je důležitý pro metabolismus cukrů a tuků (Novosádová, 2011)
- **vitamin B3** (niacin) – nezbytný pro metabolismus tuků, podporuje krevní oběh, snižuje obsah cholesterolu v krvi, udržuje správnou funkci mozku, a tím i celou nervovou soustavu. Je jedním z hlavních vitaminů při zpracování cukrů (glykolýze) a je nezbytný pro tvorbu pohlavních hormonů, hormonů štítné žlázy, kortikosteroidů a inzulinu (Simon, 2010)
- **vitamin B5** (kyselina pantothenová) – pozitivně působí proti stresu, má pozitivní vliv na srst, kůži a drápy, pomáhá hojit jizvy a rány, je součástí koenzymu A (Novosádová, 2011)
- **vitamin B6** (pyridoxin) – pomáhá vstřebávání bílkovin, cukrů a tuků, tvorbě kyseliny chlorovodíkové a hořčíku. Je důležitý při tvorbě červených krvinek, dále působí proti epileptickým záchvatům (Simon, 2010)
- **vitamin B7** (biotin) – pomáhá při vyrážkách, bolestech, je potřebný pro produkci vitamínu C, účastní se na syntéze tuků a bílkovin. Udržuje správnou hladinu krevního cukru (Novosádová, 2011)
- **vitamin B11** (kyselina listová) – její využití z potravy je malé, působí na syntézu nukleových kyselin, pomáhá při krvetvorbě. Je velice důležitá pro březí feny, u kterých podporuje správný růst a vývoj plodu. Nedostatek vitamínu se projeví anémií, neplodností, potraty, deformacemi plodů, leukopénií (sníženým počtem leukocytů v krvi), průjmami a zvracením (Novosádová, 2011)
- **vitamin B12** (kobalamin) – je důležitým vitaminem při krvetvorbě, působí pozitivně na funkci nervové a pohlavní soustavy, činnost jater, růst mláďat (Simon, 2010)
- **vitamin B13** (kyselina orotová) – pomáhá regeneraci jater, v kostní dřeni působí na tvorbu krevních buněk (Simon, 2010)
- **vitamin B15** (kyselina pangamová) – snižuje únavu, podporuje metabolismus jater (Simon, 2010)

Antioxidanty jsou látky, které chrání organismus před nežádoucími účinky reaktivních forem kyslíku. Jsou přítomny v rozdílném zastoupení v potravě. Chrání například složky krmiva náchylné k oxidaci. Zvyšují oxidační stabilitu živočišných produktů (Marounek, 2006).

Antioxidanty se dají rozdělit na dva typy, které se běžně vyskytují v krmivech psů:

- přírodní (vitamin C – obsažen v jablkách, brusinkách, rajčatech a dalších, vitamin E – uvádí se jako směs tokoferolů, kyselina citrónová – obsažena v citrusech, rozmarýnu);
- syntetické, které jsou uměle vytvořeny v laboratoři, patří mezi ně BHA (butylhydroxyanizol) a BHT (butylhydroxytoluen). Mají podobné složení jako vitamin E, využívají se do psích krmiv, jsou odolné vysokým teplotám (Hřebíčková, 2009).

3.2 Hematologie

3.2.1 Charakteristika krve

Krev je tekutina, která cirkuluje v uzavřeném prostoru a je životně důležitou součástí organismu. Plní několik nezbytných funkcí: transportní (dýchací plyny, živiny, odpadní látky, voda), termoregulační, udržení acidobazické rovnováhy, koagulační, obranná (imunitní reakce).

Množství krve u psa je přibližně 75 - 90 ml / kg ž. hm., oproti tomu prase nebo ovce má krve podstatně méně a to 55 - 65 ml / kg ž. hm. (Doubek a kol., 2003). Krev je složena z krevní plazmy a krevních elementů, které budou dále rozebrány. Hodnota pH krve je přibližně 7,4 (Reece, 1998).

Krev putuje okruhem začínajícím a končícím v srdci. Krevní soustava je důležitá pro udržení rovnováhy mezi soustavami a také pro udržení správných funkcí orgánů v těle. Velká ztráta krve může být příčinou smrti (Vigué and Orte, 2008).

3.2.2 Složky krve

Hematologie je věda zabývající se studiem jednotlivých složek krve. Buněčné elementy krve mohou být rozděleny do tří kategorií: erytrocyty neboli červené krvinky, trombocyty neboli krevní destičky, leukocyty neboli bílé krvinky.

Příležitostně se mohou objevit jiné buňky, které nejsou normálně přítomné v krevním oběhu, jako jsou žírné buňky nebo plazmatické buňky. Červené krvinky jsou odpovědné za transport kyslíku z plic do všech tkání těla, destičky jsou odpovědné za zástavu krvácení a bílé krvinky mají hlavní roli v imunitě (Kerr, 2002).

U psů je velmi důležité hematologické vyšetření jako součást diagnostiky, protože právě psi vykazují mnohem více hematologických patologií než například jiné druhy zvířat (Day et al., 2000).

3.2.3 Odběr krve a laboratorní vyšetření u psů

Laboratorní vyšetření se jako takové dle Doubka (2010) rozděluje na tři fáze. První fáze, která předchází vlastnímu vyšetření je fáze preanalytická, dále fáze analytická, jež představuje vlastní laboratorní vyšetření a fáze postanalytická ve které dochází k vyhodnocení výsledků.

Cílem laboratorního vyšetření je stanovení diagnózy, rozsáhlosti onemocnění, vlastnosti stanovovaného materiálu, kontrola správné výživy a dietních opatření (Doubek a kol., 2010).

Preanalytická fáze

Tato fáze zahrnuje přípravu zvířete k odběru, přípravu odběrového materiálu, samotný odběr krve a transport vzorků, jejich uchování a zpracování. Se zvířetem zacházíme s klidem, udržujeme sterilní prostředí. Odebírané a zpracované vzorky označujeme, aby nedošlo k záměně (Doubek a kol., 2010).

Krev u psa a kočky se odebírá z *v. cephalica antebrachii*, *v. saphena* a z *v. jugularis*. Krev je odebírána nalačno. Místo odběru musí být dobře připraveno (vystříháno, příp. vyholeno, dezinfikováno). Při klasickém odběru menšího množství krve je využíváno jednorázových jehel o průměru 0,7 mm u černé, 0,8 mm u zelené a 0,9 mm u žluté jehly. Růžové jehly o průměru 1,2 mm jsou využívány při odběrech krve na transfuzi.

Při odběru krve z *v. cephalica antebrachii* se krev odebírá z dorzální strany předloktí. Zvíře při tomto odběru leží nebo sedí, končetina se zaškrtní nad loktem a jehla se zavede ve směru cévy, odebere se potřebné množství krve. Poté škrtidlo povolíme, místo přidržíme a jehlu vytáhneme. Místo vpichu dezinfikujeme. Odběr z *v. saphena* se provádí z povrchové podkožní žíly dolní končetiny. Stále více oblíbený je odběr z *v. jugularis*, při kterém je možno zvíře ponechat v přirozené poloze v sedě. Odběr se provádí z vnitřní hrdelní žíly (Svoboda a kol., 2000).

Při transportu jsou vzorky uloženy v uzavřených odběrových nádobkách. Vzorky nevystavujeme extrémně nízké nebo vysoké teplotě, přímému slunečnímu záření. Plazmu nebo sérum uchováváme v uzavřených nádobkách, abychom zabránili odpaření, při teplotě okolo 4 °C je stabilita analytů několik dní, ale při teplotě - 20 °C až několik týdnů. Krev ošetřena EDTA (EDTA je antikoagulační činidlo, které vyváže vápenaté ionty a tím zabrání koagulaci) se uchovává při 4 °C, při kterých jsou analyty stabilní do 24 hodin. Plnou krev uchováváme také při 4 °C, ale dochází k úniku draslíku z buněk (Doubek a kol., 2010).

Analytická fáze

Tato fáze zahrnuje přípravu vzorku a samotné vyšetření vzorku. Aby byl vzorek dostatečně připraven, je nutné jej opatrně promíchat a dále upravovat dle použité metody.

Vlastní vyšetření vzorku zahrnuje hematologické a biochemické vyšetření. Hematologickým vyšetřením stanovujeme počty krevních elementů, diferenciální rozpočet, hematokrit,

hemoglobin. Biochemickým vyšetřujeme metabolismus proteinů, cukrů, tuků, minerálů, vody, energetický metabolismus a jiné (Svoboda et al., 2000).

Postanalytická fáze

Postanalytická fáze zahrnuje výpočet výsledků, jejich interpretaci a případnou archivaci. Výsledky těchto vyšetření jsou ovlivňovány fyziologickými faktory mezi něž patří např. plemeno, věk, pohlaví. Na výsledky má vliv správný odběr, transport a použitá metodika. Tato fáze se stává více a více automatizovaná a komputelizovaná (Svoboda et al., 2000).

3.2.4 Hematologické ukazatele

Hemoglobin (HGB) je červené krevní barvivo, které je obsaženo v červených krvinkách. Dle množství nasycení kyslíkem získává hemoglobin jasně červenou až tmavě fialovou barvu (Reece, 1998). Mezi jeho hlavní funkce patří transport plynů (kyslík a oxid uhličitý). Pokud je s hemoglobinem navázán kyslík, nazývá se oxyhemoglobin, bez navázaného kyslíku deoxyhemoglobin a s oxidem uhličitým karbaminohemoglobin (Doubek a kol., 2010).

U plemene greyhound jsou hodnoty hemoglobinu oproti jiným plemenům vyšší a to okolo 190 - 215 g/l (Stack, 2015).

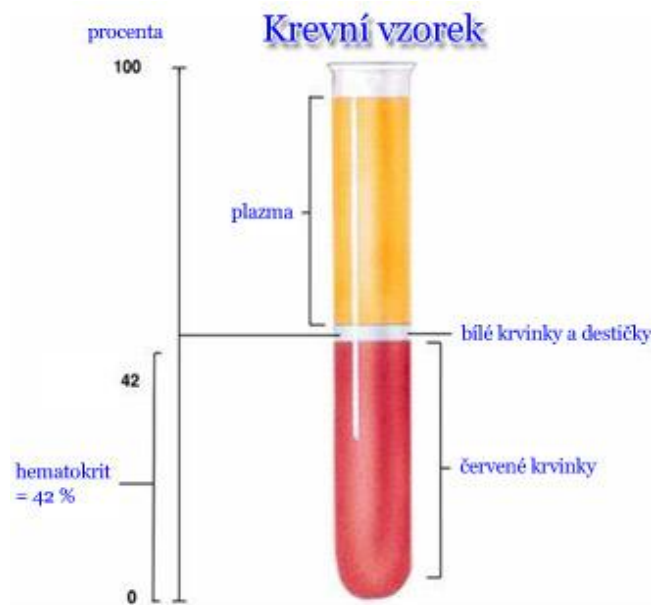
Krevní plazma je mírně nažloutlá tekutina v závislosti na barvivu bilirubin. Nejtmavší žlutá je u koně. Tvoří ji z 90 % voda, zbytek organické a anorganické látky. Krevní plazmu získáme z krve plně a nesrážlivé, za použití antikoagulačních prostředků..

Hematokrit (HCT) udává poměr erytrocytů k celkovému objemu krve. Provádí se odstředěním nesrážlivé krve, která se dle hmotností složek rozdělí (viz. obr. č.1) (Reece, 1998).

Pokud u psa hodnoty HCT klesnou pod 0,2 l / l je nutno podat čerstvou krev. Tyto výpočty se využívají ke zjištění stupně anémie : střední stupeň HCT 0,20 - 0,29 l / l, těžká HCT 0,13 - 0,19 l / l, velmi těžká HCT pod 0,13 l / l (Doubek a kol., 2010)

Střední objem erytrocytů (MCV) udává přibližnou velikost erytrocytů, ta se vypočítá viz. vzorec.

$MCV = (HCT / RBC) \times 10^{15}$ (Kerr, 2002)



Obrázek 1: Schematické zobrazení hematokritu (www.medicina.ronnie.cz)

Všechna tato tři měření červeného krevního obrazu jsou vzájemně propojená a pokud neudávají značné změny ve velikosti RBC a koncentraci hemoglobinu, mají tendenci být vzájemně paralelní.

Současné automatizované hematologické analyzátory využívají výpočet HCT, ačkoli centrifugace hematokritu se běžně využívá v praxi pokud jsou vypočtené hodnoty podezřelé (Weiss and Wardrop, 2010).

Množství RBC novorozených zvířat se výrazně liší ve srovnání s množstvím u dospělých jedinců. Při narození hodnoty HGB, HCT a počet červených krvinek jsou podobné jako hodnoty dospělých zvířat, ale rychle klesají v průběhu 2 měsíců života, kolem 6 měsíců až roku života se opět vyrovnávají. V mnoha případech má pohlaví vliv na množství RBC, např. u biglů se ukázalo, že samci měli mírně vyšší koncentraci HGB než samice (16g / 100 ml vs. 15,6 g / 100 ml). U březích samic jsou významné změny, například HCT se u březích samic snížil z 53 % na 32 %, dále také u chrtů plemene Greyhound - mají obvykle větší množství RBC a HCT až nad 65 % než ostatní psi (Weiss and Wardrop, 2010).

Khan et al. (2011) publikovali studii, ve které sledují referenční hodnoty krve u toulavých psů v Bangladéši ve vztahu k věku, pohlaví, reprodukční fázi a tělesné kondici. Hodnoty byly získány od 28 samců a 22 samic. Významné rozdíly byly zaznamenány u sedimentace erytrocytů ($p < 0,02$) mezi pohlavími. Sedimentace erytrocytů udává rychlost klesání erytrocytů ve vzorku nesrážlivé krve. Mezi různými věkovými skupinami byly rozdíly celkového počtu červených krvinek ($p < 0,001$).

3.2.5 Červené krvinky (Erythrocyty)

Hlavní funkcí červených krvinek je dodávání kyslíku do tkání a částečné odvádění oxidu uhličitého. ATP je syntetizován v glykolýze a je důležitý v procesech, které pomáhají červeným krvinkám udržet bikonkávní tvar a také v regulaci transportu iontů a vody dovnitř a ven z buňky. Životnost červených krvinek je 60 - 120 dní dle živočišného druhu (Murray et al., 2003).

Erythrocyty u psa jsou bezjaderné, mají podobu bikonkávního kotouče, který je u psů výraznější než u jiných domácích zvířat a velikost je 7 μm . Centrální bledost erythrocytu pokrývá třetinu až polovinu krvinky a odlišuje tak centrální část od sférocytu. Výraznější rozdíly ve velikosti a pravidelnosti červených krvinek u psů převážně nebývají. Dle Douška a kol., (2003) zvýšené množství makrocytů bývá u pudlů.

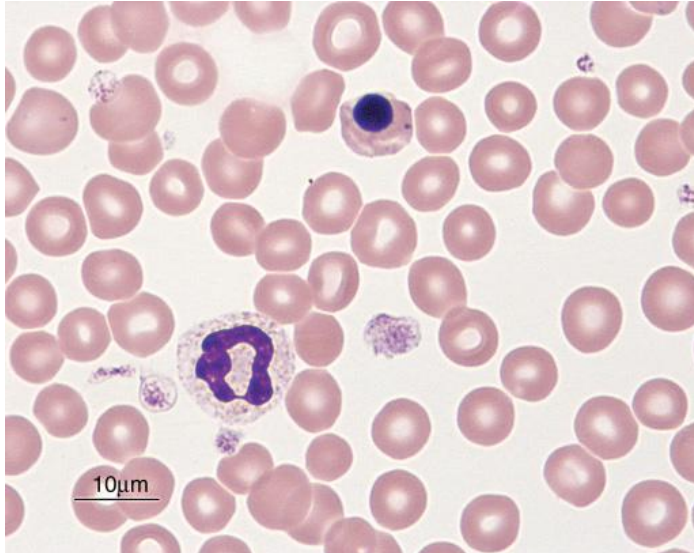
V případě, že krevní nátěr není dostatečně vyschlý před barvením mohou se objevovat tzv. artefakty (echinocyty, odrazivé okrsky). U psů se do 1 % mohou objevovat po barvení dle Giemsy - Romanowského nebo Wrighta polychromatofilní modravé krvinky. U zdravých jedinců se mohou vzácně objevovat Howellova - Jollyho tělíčka a jaderné červené krvinky. Jaderné červené krvinky mohou být čteněji zastoupeny u novorozených štěňat, ale množství se během prvního týdne života sníží a hodnoty dosáhnou na úroveň dospělého jedince během 1 - 2 měsíce. U štěňat a koček mladších 3 měsíců věku se v červených krvinkách mohou objevovat krystalky hemoglobinu, což jsou čtvercové a pravoúhlé struktury, jsou většinou tmavší než klasický hemoglobin a často krvinku, která je obsahuje deformují (Weiss and Wardrop, 2010).

Funkcí červených krvinek je přenos plynů jako je O_2 a CO_2 , kterého se účastní hemoglobin obsažený v nich. Hemoglobin zastupuje 34 % hmotnosti erythrocytu, skládá se z globinu a hemu. V ribozomech se tvoří globin, v mitochondriích a cytosolu vzniká v několika fázích hem. Transferin je zdrojem trojmocného železa. Antioxidační ochranu erythrocytu zajišťuje glutathion (Doušek a kol., 2003).

Kajerová a kol., (2006) uvádí, že nejmenší erythrocyty má koza (4 μm) a naopak největší má slon (9,1 μm). Plazi, ptáci a ryby mají červené krvinky jaderné, oválné.

Červené krvinky u Greyhoundů mají také oproti jiným plemenům kratší dobu života (53 dní oproti 104) a toto plemeno jich má výrazně více (7,5 - 9 T/l). Chrti tak mohou být vhodnými dárci krve a nikdy u nich nebude diagnostikována polycytemie (zvýšení červených krvinek nad fyziologickou mez) (Nelson, 2014).

Ve studii, sledující účinek kyseliny askorbové na hemolýzu při skladování krve při 1° - 6° C , bylo zjištěno, že kyselina askorbová nesnížila hemolýzu během skladování a změny červených krvinek odpovídaly chladným skladovacím podmínkám (Fontes et al., 2015)



Obrázek 2: Psi erythrocyty zobrazující normální centrální bledost, jeden zralý neutrofil u kterého se granula barví slabě růžovou (Weiss and Wardrop, 2010)

Retikulocyty

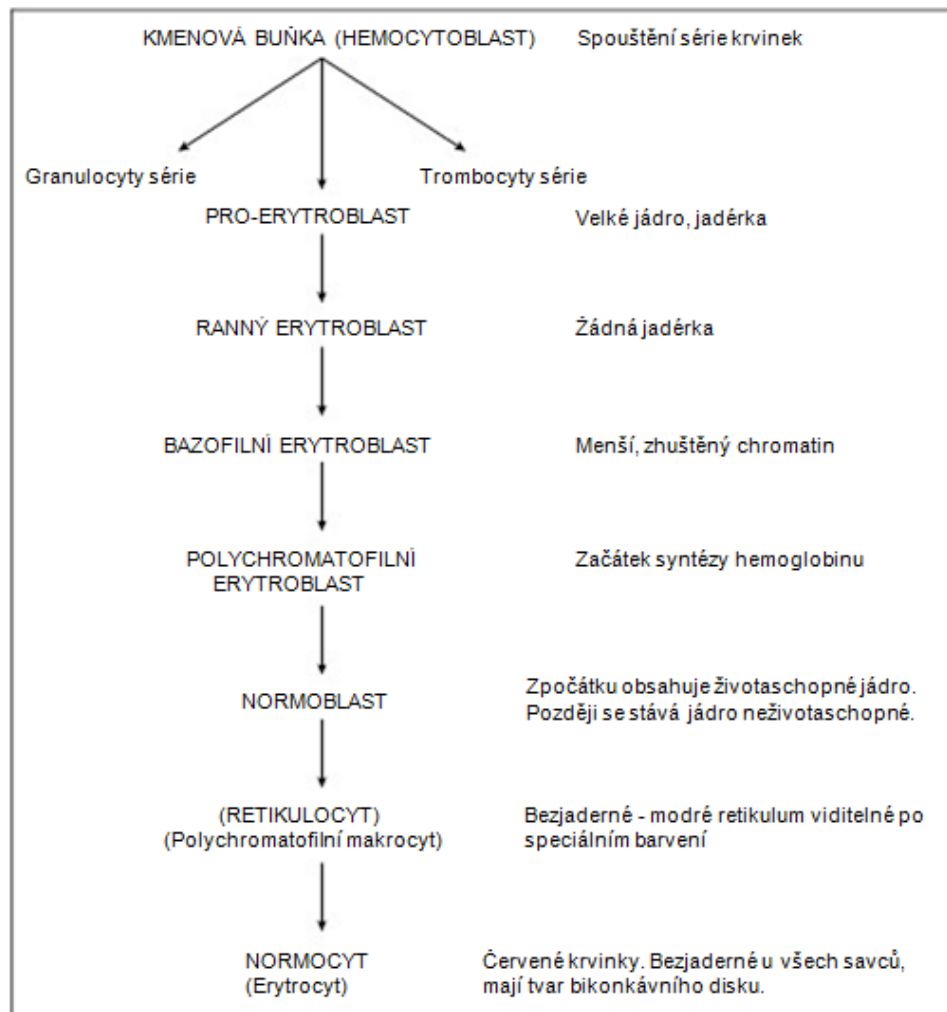
Retikulocyty jsou vývojová stádia erythrocytů, jsou uvolňována z dřeně přibližně každých 14 dní. Dospělí psi mají obvykle méně než 1,0 % retikulocyty v periferní krvi nebo mají absolutní počet retikulocyty menší než 70000 / µl. Zvířata po narození mají výrazně vyšší počet retikulocyty, vlivem zvýšené erythropoézy (tvorba červených krvinek) potřebné k rozvíjejícímu se cévnímu systému. V průběhu 2 měsíců života je počet erythrocytů až 10 % , kolem 5 - 6 měsíce hodnoty klesnou na úroveň dospělého jedince (Weiss and Wardrop, 2010).

Tvorba červených krvinek (Erythropoesa)

K tvorbě dochází v červené hematopoetické kostní dřeni. Tato hematopoetická kostní dřeň je mnohem rozsáhlejší u mladých zvířat než u dospělých.

Fáze rozvoje červených krvinek jsou uvedeny na obr. č. 2. Jak erythrocyty dozrávají, stávají

se velmi snadno deformovatelnými, což umožňuje průchod přes stěnu kapilár. Celková doba zrání se pohybuje v rozmezí asi 4 ± 5 dní u přežvýkavců a do 1 týdne u psa (Kerr, 2002).

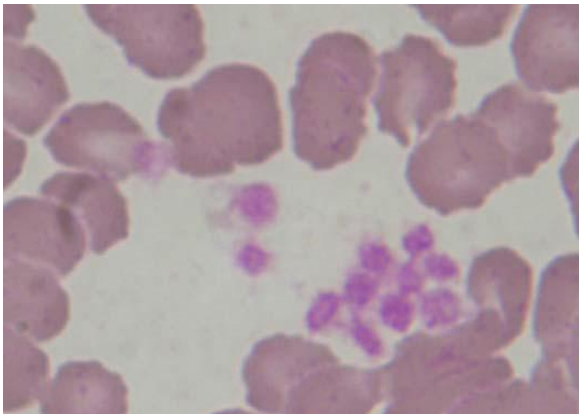


Obrázek 3: Zjednodušené znázornění etap erythropoesy (Kerr, 2002)

3.2.6 Krevní destičky (Thrombocyty) a koagulační faktory

Krevní destičky psů se jeví jako malé, oválné úlomky megakaryocytů, které se objevují na krevních nátěrech. Mají jasnou, světle šedou cytoplasmu a četná růžovofialová granula. Počet krevních destiček mezi $200 - 500 / G \cdot l^{-1}$ je obecně považován za normální. Nízký počet krevních destiček byl zaznamenán u zdánlivě zdravých závodních chrtů. Průměrný počet krevních destiček zjišťovaných u 60 chrtů plemene Greyhound byl $190 / G \cdot l^{-1}$. Asymptomatická trombocytopenie se zvětšenými destičkami (macrothrombocytopenia) je běžná u plemene Kavalír King Charles španěl. Tento stav je spojen s mutací na beta 1 - tubulin genu (Weiss and Wardrop, 2010).

Krevní destičky savců se na krevních nátěrech obarví jako bledě modré granulované fragmenty, které jsou obvykle podstatně menší než červené krvinky. U plazů a ptáků jsou krevní destičky mnohem větší než u savců, ale stále menší než červené krvinky (Kerr, 2002). Úkolem krevních destiček je účast při hojení ran, při odstraňování mikroorganismů a primární hemostáze, která zahrnuje tvorbu krevní zátky a usnadnění srážení (koagulaci). Proces hemostáze zahrnuje tvorbu trombu (primární krevní zátky), přičemž dochází k narušení cévního endotelu, který za fyziologických podmínek odpuzuje destičky. K tvorbě trombu je zapotřebí **adheze** a **agregace**, což jsou odpovědi destiček na narušení endotelu. Při porušení endotelu jsou destičky nejprve přitahovány a následně přilnou k narušenému místu. Pro vytvoření trombu (zátky) je zapotřebí, aby se destičky shlukovaly (agregovaly) a dále docházelo ke smršťování zátky (retrakci). Samotná koagulace krve spočívá v přeměně fibrinogenu na nerozpustný fibrin. Délka života trombocytů je 10 dní (Weiss and Wardrop, 2010). Kajerová a kol., (2006) uvádí, že ptáci mají krevní destičky jako samostatné buňky s jádrem a světle se barvící cytoplazmou. Zvláštností je plemeno greyhound, které má hodnoty krevních destiček okolo 80 000 - 200 000/1 μ l krve, zatímco ostatní plemena 150 000 - 400 000/1 μ l krve (Stack, 2015).



Obrázek 4: Trombocyty psa (Kajerová a kol., 2006)

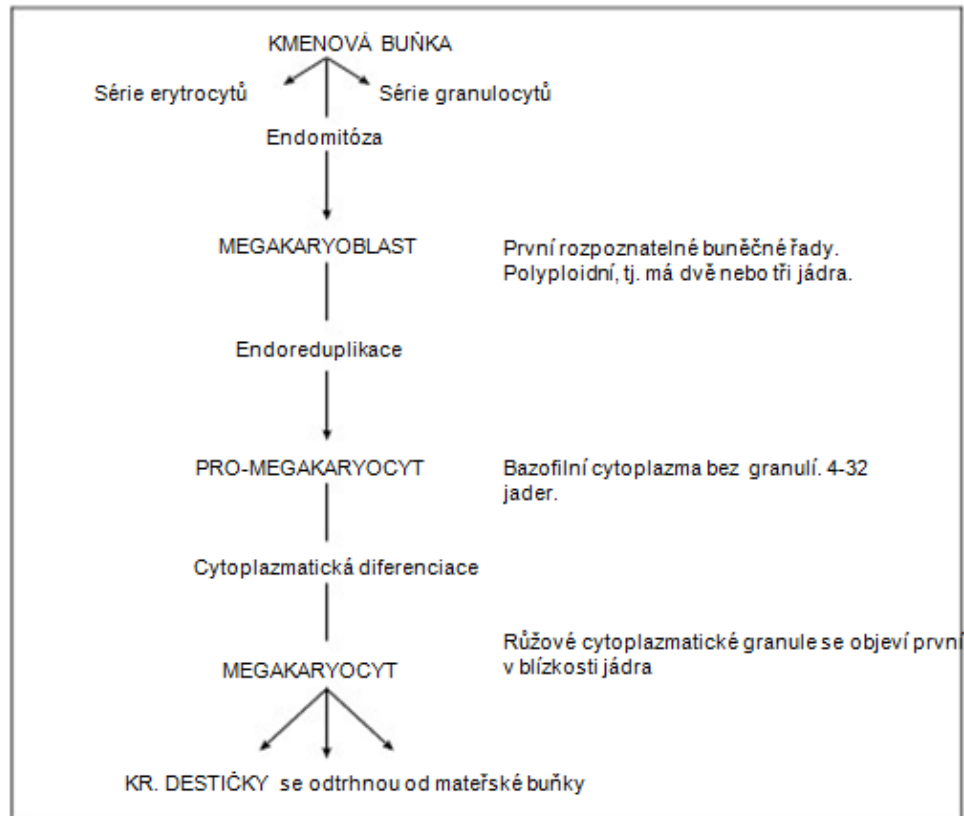
Tvorba krevních destiček (Trombopoesa)

Megakaryocyty jsou velké buňky, ze kterých vznikají trombopoézou krevní destičky, dochází k tomu v kostní dřeni (viz. etapy vývoje na obr. č. 2).

Tvorba trvá cca 3 dny. Megakaryocyty zůstávají v kostní dřeni a nevstupují do krevního oběhu. Z jednoho megakaryocytu může vzniknout více než 1000 krevních destiček (Kerr, 2002).

Z megakaryoblastu vzniká endomitózou pro- megakaryocyt a z něj dále nedělicí se megakaryocyt. Z něj se oddělují krevní destičky, které jsou strhávány do krve (Doubek a kol., 2003).

Vigué a Orte, (2008) uvádí, že tvorba trombocytů je řízena hormonem trombopoetinem.



Obrázek 5: Schematické znázornění etap megakaryocytů (Kerr, 2002)

3.2.7 Bílé krvinky (Leukocyty)

Leukocyty (bílé krvinky) jsou bílé krvinky, které se podílejí na imunitních reakcích v organismu. Dělíme je na granulocyty, ty se dále dělí dle afinity ke kyselým nebo zásaditým barvivům na neutrofilní, eozinofilní, bazofilní a dále je dělíme na agranulocyty, která většinou nemají v cytoplasmě granula a rozlišujeme je dle množství cytoplasmy a tvaru jádra na lymfocyty, monocyty. (Doubek a kol., 2003). Jejich tvorba probíhá v kostní dřeni, ale dozrávání se odehrává v brzlíku, kostní dřeni a v kloakálním vaku u ptáků (Reece, 1998). Leukocyty mají schopnost pronikat stěnou krevních cév a tvořit ložiska. Uplatňují se při nespecifické (fagocytóza) a specifické (tvorba protilátek) imunitě. Leukocyty žijí různě dlouho v řádech několika hodin, dnů nebo celý život (Vigué and Orte, 2008).

U plemene greyhound je abnormálně nízký počet bílých krvinek a to okolo 3,5 - 6,5 G/l, u ostatních plemen jsou tyto hodnoty okolo 6,0 - 17,0 G/l (Stack, 2015).

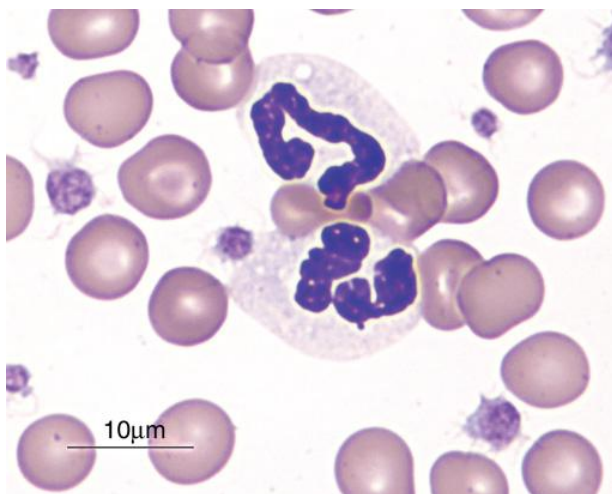
Ve studii Jain et al. (2013) uvádí hodnocení rozdílů hematologických parametrů u 2 skupin psů. První skupina se skládala z dospělých zdravých psů ve věku 2 - 6 let a druhá skupina ze zdánlivě zdravých psů starších 10ti let. Bylo zjištěno, že hodnoty absolutního počtu lymfocytů a lymfocytů (%) zdánlivě zdravých starších psů byly významně nižší ($P < 0,05$) než u zdravých dospělých psů. Průměrné hodnoty monocytů (%) a počtu krevních destiček u zdánlivě zdravých starších psů byly významně vyšší ($P < 0,05$) než u zdravých dospělých psů.

Granulocyty

Neutrofilní granulocyty

Neutrofilny jsou nejrozšířenějšími leukocyty v periferní krvi u zdravých psů (viz obr. 5). Granula neutrofilů hůře přijímají jak zásaditá, tak kyselá barviva, jsou tedy hůře zřetelná (Kajerová a kol., 2006).

Zralý neutrofil má protáhlé jádro, které může být segmentované, segmenty jsou spojeny můstkem. Po obarvení jádro získává tmavě fialovou barvu. Cytoplazma je obvykle čirá, někdy mírně eozinofilní. Neutrofilní granula jsou u psů špatně rozeznatelná, ale mohou být lehce eozinofilní. Nezralé neutrofilny nebo neutrofilní tyčky bývají u zdravých jedinců zastoupeny jen velmi málo. Cytoplazma bývá stejná jako u zralých neutrofilů, jen chromatin se barví výrazně jemněji (Weiss and Wardrop, 2010).



Obrázek 6: Dva zralé neutrofilny obsahující zralý chromatin a segmentované jádro. Wright - Giemsovo barvení (Weiss and Wardrop, 2010)

Mezi hlavní funkce neutrofilů patří účast na aktivní aerobní glykolýze, pentózofosfátovém cyklu, oxidativní fosforylaci. Neutrofilny jsou pohyblivé buňky schopné fagocytózy, které hrají klíčovou roli při akutním zánětu. Při akutním zánětu jsou neutrofilny odváděny z krevního řečiště do tkání, pomáhají eliminovat cizí látky (Murray et al., 2003). Jejich schopností je fagocytóza, což je proces, při kterém neutrofilní granulocyty ničí extracelulární bakterie, monocyty - makrofágy, pozůstatky vlastních buněk a dendritické buňky. Dochází k opuštění cévního řečiště a přesunu k zánětlivému místu, rozpoznání a pohlčení částice dovnitř cytoplazmy. Pokud dojde k pohlčení pevných částic nazýváme proces fagocytóza, pokud extracelulární tekutiny nazýváme proces pinocytóza. Uvnitř neutrofilu dochází ke zničení částice (Reece, 1998).

Eozinofilní granulocyty

Eozinofily jsou obvykle zastoupeny jen v malém počtu. Jsou o něco větší než neutrofilny, jejich znakem je přítomnost eozinofilních granulí, která přijímají kyselá barviva. Velikost a počet granulí se u psů a koček liší. Občas mohou eozinofily také obsahovat jednu nebo dvě extrémně velká granula. Cytoplasma je mezi granulemi lehce bazofilní, může obsahovat několik vakuol. Jádra jsou segmentována většinou jen na dva nebo tři laloky (Weiss and Wardrop, 2010).

Doubek a kol. (2003) uvádějí, že granula u dospělých greyhoundů jsou velmi málo zřetelná, ale naopak u štěňat jsou dobře viditelná, avšak nevýrazně zbarvená. Dle Kajerové a kol. (2006) mají výrazná granula eozinofily koní. Dle Couta (2014) je však u Greyhoundů abnormální granulace. Cytoplasma má nažloutlou červenou barvu, jejich obranná funkce je blokace komplexu antigen - protilátka, které se tvoří při průniku cizích látek do těla (Vigué and Orte, 2008).

Bazofilní granulocyty

Bazofily se vyskytují jen velmi vzácně v krvi zdravých psů. Bazofily jsou větší než neutrofilny a mají více protáhlé a stočené jádro. Ve srovnání s jinými druhy mají psi bazofily granula malá, rozptýlená, růžovofialové barvy. Jejich cytoplasma je modrošedá až slabě fialová (Weiss and Wardrop, 2010). Reece (1998) uvádí, že bazofily podporují alergické reakce, ale eozinofily naopak spíše tlumí alergické projevy.

Agranulocyty

Lymfocyty

Lymfocyty v periferní krvi se liší ve velikosti, malé lymfocyty jsou nejmenší. Středně velké lymfocyty se vyskytují v krevních nátěrech zdravých psů a mají malé množství modře se barvící cytoplazmy, která může zcela obklopit kulaté nebo oválné jádro, jejich velikost může dosahovat až velikosti neutrofilů. Občas tyto lymfocyty obsahují několik malých růžovofialových cytoplazmatických granulí a jsou označovány jako velké granulární lymfocyty (Weiss and Wardrop, 2010). Lymfocyty jsou podstatou specifické (získané) imunity, putují z krve do tkání a lymfy a odtud se vrací do krve. Obranných reakcí se účastní T a B lymfocyty. T lymfocyty dozrávají v brzlíku (*Thymus*) zatímco B lymfocyty v kostní dřeni. T lymfocyty se dělí na tři typy buněk - cytotoxické, pomocné a tlumivé T buňky. B lymfocyty produkují proti cizorodým látkám protilátky (Reece, 1998). Tc lymfocyty brání tělo proti virům a mohou vyvolávat některé alergické reakce. B lymfocyty tvoří protilátky a také bílkoviny imunitní soustavy (Vigué and Orte, 2008).

Monocyty

Monocyty jsou největší krevní buňky, jejich jádra jsou tvarově rozdílná, mohou být kulatá, ve tvaru písmene S, ve tvaru tyčinky nebo ledvinovitého tvaru. Jejich cytoplasma je šedomodrá, velmi bazofilní. U psů mohou monocyty obsahovat různé množství cytoplazmatických vakuol nebo fagocytované částice (Weiss and Wardrop, 2010). Pokud monocyt vstoupí do tkání, změní se v pohyblivého makrofága, který je schopen se účastnit fagocytózy cizích látek. Při infekci počet monocytů stoupá (Reece, 1998). Vigué a Orte uvádí (2008), že monocyty chrání tělo před chronickými a dlouhodobými infekcemi.

3.3 Biochemické ukazatele

Biochemická analýza krve spočívá ve vyšetření ukazatelů, které se v krvi vyskytují. Hodnoty těchto látek nám mohou pomoci správně posoudit zdravotní stav pacienta (Hrušková, 2009).

3.3.1 Celková bílkovina (total protein TP)

Vyšetření celkové bílkoviny je prováděno z plazmy nebo séra a to za pomoci chemického nebo fyzikálního měření. V diagnostických laboratořích se využívá spíše metody chemické, ale ve veterinární praxi je využívána refraktometrie, která je závislá na fyzikálních vlastnostech proteinu v roztoku. Mezi chemické metody patří *biuretová reakce*, při které tvoří protein komplex s měďnatými solemi v alkalickém prostředí. Tento komplex se barví modrofialovou barvou. Další chemickou metodou jsou metody srážecí. Jejich principem jsou změny pH, na které jsou proteiny citlivé. Změnou pH se narušuje terciální a kvarterní struktura proteinu, což vede k vysrážení proteinu v roztoku. Mezi fyzikální metody patří refraktometrie ve které je využíváno lomu světla při přechodu ze vzduchu do kapaliny (Kaneko et al., 2008). Tvorba bílkovin probíhá v játrech a dále jsou bílkoviny uvolňovány do krve. Celková bílkovina představuje několik desítek různých proteinů. Mezi vlastnosti těchto proteinů patří udržování onkotického tlaku (hlavně albumin), obrana před patogenními toxami a reaktivními formami kyslíku, transport hormonů a dalších látek. V krevní plazmě je koncentrace proteinů o něco větší než v séru. V důsledku snížení nebo zvýšení koncentrace TP nad hraniční rozmezí mohou nastat dva případy. Prvním z nich je *hyperproteinemie*, což je zvýšení koncentrace TP a způsobuje zánětlivé reakce, hemolýzy, maligní nádorová onemocnění, dehydratace. V dalším případě může nastat *hypoproteinemie*, což je snížení koncentrace TP, které může způsobit poruchy funkce jater, krváceniny, popáleniny, nefrotický syndrom a další (Doubek a kol., 2010).

Hodnoty celkové bílkoviny se liší u greyhoundů, kde se tyto hodnoty pohybují v rozmezí 45 - 60 g/l, u ostatních plemen jsou hodnoty okolo 54 - 78 g/l (Stack, 2015).

3.3.2 Glukóza (GLU)

Peroxid vodíku reaguje s peroxidázou a vzniká růžové zbarvení. Tento princip je také používán na papírcích při zjišťování koncentrace glukózy v moči (Kaneko et al., 2008). Glukóza je jednoduchý sacharid, který je zdrojem energie pro buňky. Glykémie (koncentrace glukózy v krevní plazmě) je závislá na vstřebávání GLU v tenkém střevě, glykogenolýze

(štěpení glykogenu na glukózu), glukoneogenezi (syntéza GLU v játrech, méně v ledvinách). V důsledku zvýšení koncentrace GLU může dojít k *hyperglykémii*, ta je způsobena stresovými situacemi, velkou fyzickou námahou, bolestí. Další příčinou je onemocnění diabetes mellitus nebo chronická selhání ledvin. Při snížené koncentraci GLU v krvi nastává *hypoglykémie* která způsobuje selhávání jater, idiopatickou hypoglykémii (lovecká plemena psů), šok, křeče, sníženou funkci adenohipofýzy a další (Doubek a kol., 2010).

3.3.3 Cholesterol (CHOL)

Jeho struktura se skládá z jádra fenantrenu, ke kterému je připojen cyklopentan. Cholesterol se vyskytuje pouze u zvířat a lidí, není přítomen v rostlinách nebo mikroorganismech. Cholesterol je prekurzor steroidních hormonů, vitamínu D a žlučových kyselin. Je složkou buněčných membrán a žlučových micel. Tělo si může cholesterol syntetizovat nebo jej získává z potravy. Syntéza cholesterolu probíhá hlavně v játrech z acetyl - CoA, menší množství se může tvořit ve steroidních endokrinních orgánech jako jsou varlata, vaječníky, placenta a kůra nadledvin. Nicméně dle Ravnborga et al., (1988) tyto orgány pro svou syntézu využívají cholesterol tvořený v játrech.

Čistý cholesterol a estery cholesterolu jsou nerozpustné, voskovité, bílé, pevné látky, které musejí být transportovány pomocí plazmy jako součást lipoproteinů (Kaneko et al., 2008). Vlivem zvýšené koncentrace CHOL nad hranici dochází k *hypercholesterolemii* jejíž příčinou bývá onemocnění diabetes mellitus, hypotyreóza (snížená funkce štítné žlázy), akutní pankreatida (záněty slinivky břišní) a cholestáza (městnání žluči). Při snížení koncentrace CHOL pod referenční rozmezí dochází k *hypocholesterolemii*. Příčinami jsou jaterní selhání, nízkotuková dieta, exsudativní enteropatie – onemocnění střev a exokrinní pankreatická insuficience (nedostatečná tvorba nebo vylučování trávicích enzymů slinivky břišní) (Doubek a kol., 2010).

3.3.4 Alaninaminotransferáza (ALT)

Alaninaminotransferáza (dříve glutamát-pyruvát transamináza = GPT) je jaterní enzym, katalyzuje reverzibilní transaminaci při níž se zpětně přenáší aminoskupina z alaninu na 2 - oxoglutarát za vzniku pyruvátu a L - glutamátu. Kofaktorem ALT je pyridoxal-5'-fosfát (PP). U psů je aktivita ALT na gram jater čtyřikrát větší než v jiných orgánech, ale značná aktivita se objevuje i v srdečním nebo kosterním svalstvu.

Při zvýšené koncentraci sérové ALT je tento stav specifický pro poškození jater u psů a koček, ale u koní a dobytka vykazuje normální zdravotní stav (Kaneko et al., 2008). Dle Doubka a kol., (2010) tento stav vykazuje také akutní anémii (chudokrevnost), akutní pankreatitidu (akutní zánět slinivky břišní), u koní také myokarditidu (zánět srdeční svaloviny) a myopatii (svalovou slabost).

Vlivem zvýšené aktivity jaterních enzymů se mohou také vyskytnout hepatotoxicity (otravy jater) nebo současně cholestázy (městnání žluči) a hepatocelulární zranění nebo nekrózy (Alvarez and Whittemore, 2009).

Plazmatický poločas aktivity ALT je 2,5 dne, avšak koncentrace ALT může až 2 týdny a déle klesat. Při dvojnásobném zvýšení hodnot ALT nad normální hladinu nebo při přetrvávajícím zvýšení by měly být řešeny příčiny. Nejčastější diagnózou bývá chronická hepatitida (dlouhodobý zánět jater), hepatitida často začíná u psů ve věku 2 - 5 let zvyšováním hodnot ALT (Twedt, 2009).

4 Metodika pokusu

Pokus probíhal od května do října roku 2015. Krev byla odebrána od 10 psů a 10 fen různého stáří. Tato zvířata byla v různém zdravotním i fyzickém stavu. Zvířata byla krmena kompletním granulovaným krmivem nebo kombinovanou stravou (granulované krmivo + domácí strava).

Tabulka 1: Feny

FENY					
vzorek č.	datum odběru	plemeno	věk (roky)	krmivo	zdrav. stav
1.	25.5.2015	německý ovčák	7	granule	OK
2.	25.5.2015	kříženec staford. bulteriéra	8	granule	OK
3.	25.5.2015	kříženec něm.ovčáka	1	granule + domácí strava	OK
4.	25.5.2015	yorkšírský teriér	5	granule	OK
5.	28.5.2015	německý ovčák	2	granule	OK
6.	28.5.2015	malý münsterlandský ohař	10	granule + domácí strava	OK
7.	28.5.2015	dobrman	3	granule	OK
8.	4.6.2015	velký knírač	3	granule	othematom
9.	4.6.2015	francouzský buldoček	6	granule + domácí strava	pyometra
10.	4.6.2015	rottweiler	8	granule	operace kolene

Tabulka 2: Psi

PSI					
vzorek č.	datum odběru	plemeno	věk (roky)	krmivo	zdrav. stav
1.	25.5.2015	labradorský retrívr	1	granule	OK
2.	25.5.2015	německý ovčák	5	granule	OK
3.	28.5.2015	labradorský retrívr	11	granule	OK
4.	28.5.2015	kříženec něm. ovčáka	10	granule	OK
5.	28.5.2015	kříženec am. stafordšírského teriéra	8	granule + domácí strava	OK
6.	28.5.2015	kříženec vel. knírače	10	granule	OK
7.	28.5.2015	kříženec jezevčíka	11	granule + domácí strava	zubní kámen
8.	4.6.2015	angl. kokršpaněl	10	granule + domácí strava	zubní kámen + vysoká obezita
9.	4.6.2015	labradorský retrívr	10	granule	bradavice na oku
10.	4.6.2015	dobrman	5	granule	perianální kýla

4.1. Odběr krve

Krev byla odebírána z *v. cephalica antebrachii*. Od každého zvířete byl odebrán vzorek srážlivé krve do zkumavek s protisrážlivou látkou K₃ EDTA, která se využívá pro vzorky určené k hematologickému vyšetření. Dále byla ještě odebrána plná krev do zkumavky s heparinem, aby bylo zabráněno hemokoagulaci, po centrifugaci krve byla odebrána krevní plazma. Vzorky byly převezeny do školní laboratoře, kde bylo ihned provedeno hematologické vyšetření a byl zhotoven krevní nátěr. Krevní plazma byla zmrazena a uložena až do vyšetření v mrazícím boxu. Prvních šest vzorků bylo odebráno 25.5., 28.5. osm vzorků a 4.6. posledních šest vzorků. Biochemické vyšetření bylo provedeno v období od září do října.

4.2. Hematologické vyšetření

Krev na hematologické vyšetření byla odebrána do zkumavek s protisrážlivou látkou EDTA. Hematologické vyšetření bylo provedeno v den odběru na hematologickém analyzátoru Nihon

Kohden Celltac MEK 5208 K. Pro ředění krve byl použit isotonický roztok. Prvním ředění 1:200 bylo určeno ke stanovení leukocytů a obsahu hemoglobinu. Bylo také nutné provést hemolýzu krve za pomoci několika kapek roztoku LYSE - C NA.

Další ředění bylo provedeno v poměru 1:40 000 a slouží pro stanovení erytrocytů, trombocytů, MCV a HCT.



Obrázek 7: Hematologickém analyzátor Nihon Kohden Celltac MEK 5208 K (foto: Eva Pechová)

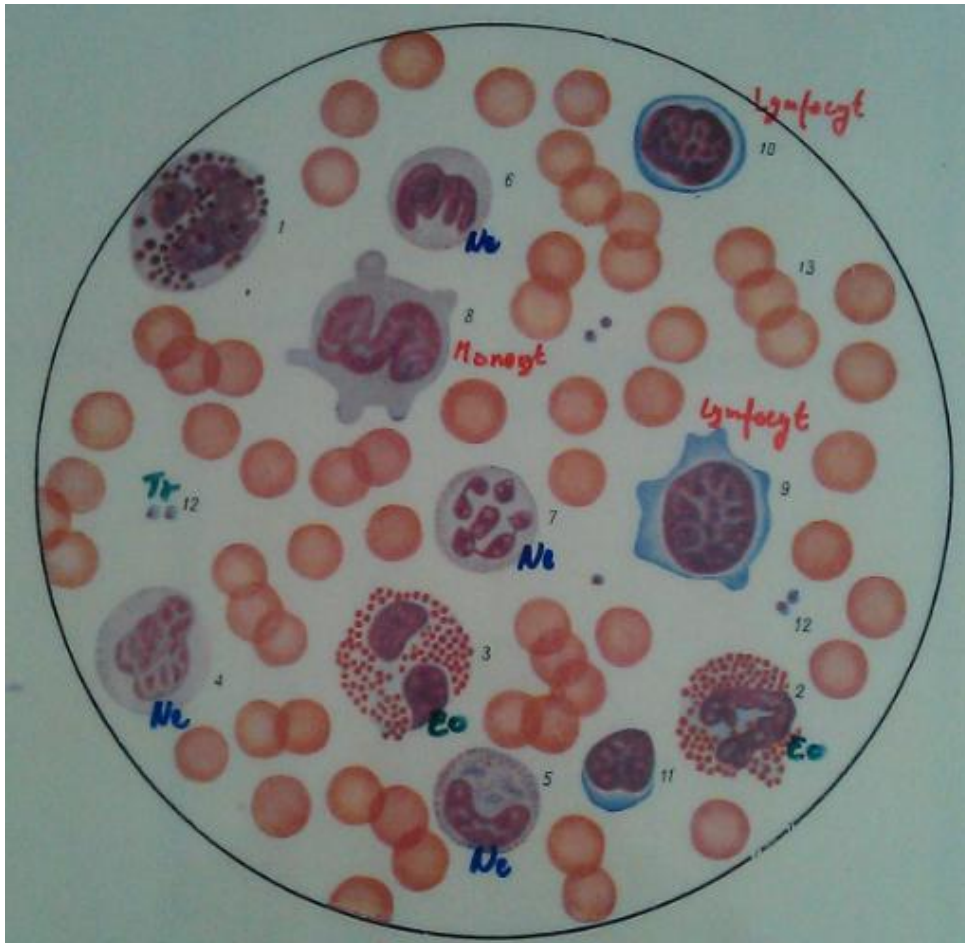
4.3 Krevní nátěr

Krevní nátěr byl zhotoven tak, že na podložní sklíčko byla nakápnuta kapka periferní krve. Množství kapky krve bylo asi 5 - 10 μ l. Za pomoci krycího sklíčka, které bylo přiloženo před kapku krve v úhlu 30 - 40°, byl lehkým tahem zhotoven krevní nátěr. Krevní nátěr se nechal zaschnout a dále byl barven barvicí sadou Leukodif (Pliva Lachema).



Obrázek 8: Krevní nátěry (foto: Eva Pechová)

Vyhodnocovány byly všechny preparáty společně. Vzorky byly pozorovány mikroskopem s imersním objektivem tak, aby se dotýkal kapky imersního oleje nakapaného na sklíčku. Po zaostření byl preparát prohlížen tak, aby se při bočním posunu zorná pole nepřekrývala. V průběhu prohlížení preparátu byly zaznamenány jednotlivé druhy leukocytů až do počtu 100 buněk, výsledkem tedy bylo procentuální zastoupení neutrofilů, eozinofilů, bazofilů, monocytů a lymfocytů. Dále byly hodnoty přepočítány do absolutních čísel.



Obrázek 9: Hemogram u psa (Doubek a kol., 2003)

4.4. Biochemické vyšetření

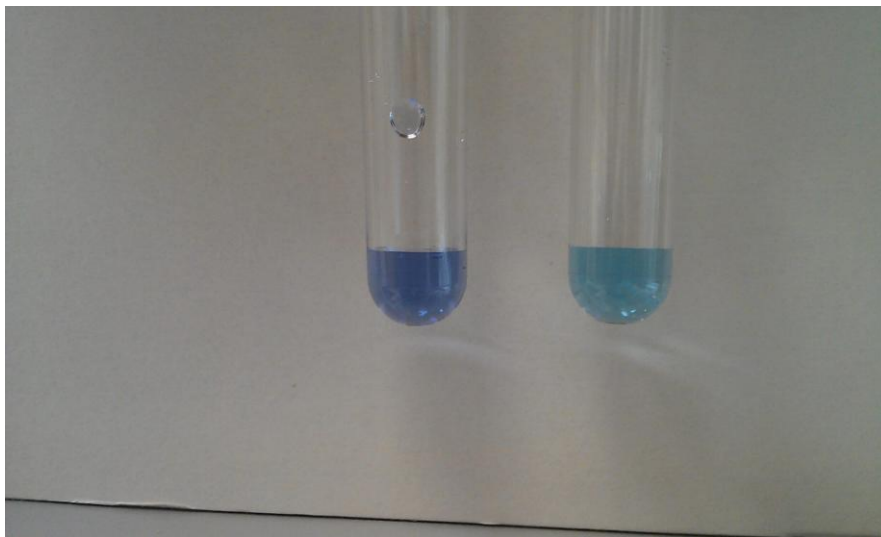
Vyšetření bylo provedeno ze získané krevní plazmy, která se nechala na vzduchu rozmrazit. K měření byl použit jednopaprskový přístroj LIBRA 22. Pro veškerá biochemická vyšetření byly použity soupravy BIO - LA - TEST od firmy PLIVA - Lachema Diagnostika. Z biochemických ukazatelů byla vyšetřena celková bílkovina, cholesterol, glukóza a jaterní enzym ALT.



Obrázek 10: Příklad přístroje LIBRA 22 (foto: Eva Pechová)

4.4.1 Stanovení hodnot celkové bílkoviny

Metoda je založena na Biuretové reakci. Bílkoviny a peptidy vytvářejí v přítomnosti alkalického prostředí s roztokem měďnaté soli. Tento komplex se barvil světle modře. Vzniklý komplex se promíchá a inkubuje 30 minut ve tmě.

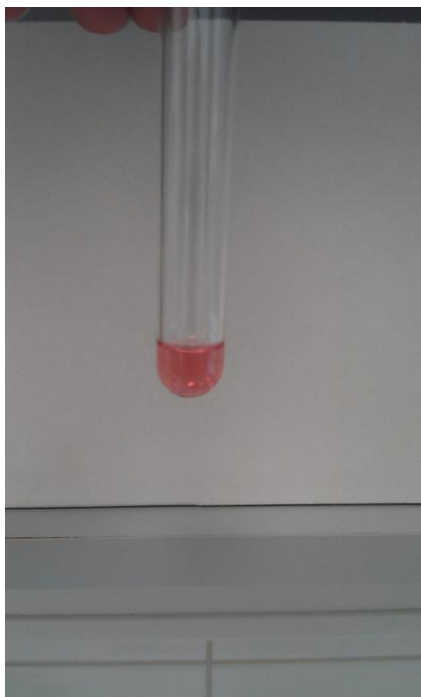


Obrázek 11: Komplex pro určení celkové bílkoviny (foto: Eva Pechová)

4.4.2 Stanovení hodnot glukózy

Glukóza byla stanovena enzymaticky. V přítomnosti glukooxidasy byla glukóza oxidována na glukonovou kyselinu a peroxid vodíku. Komplex se barvil růžově dle koncentrace glukózy.

Dále byl komplex promíchán a inkubován 5 - 10 minut ve vodní lázni při 37° C. Koncentrace glukózy byla měřena do 60 minut po inkubaci ve spektrofotometru.



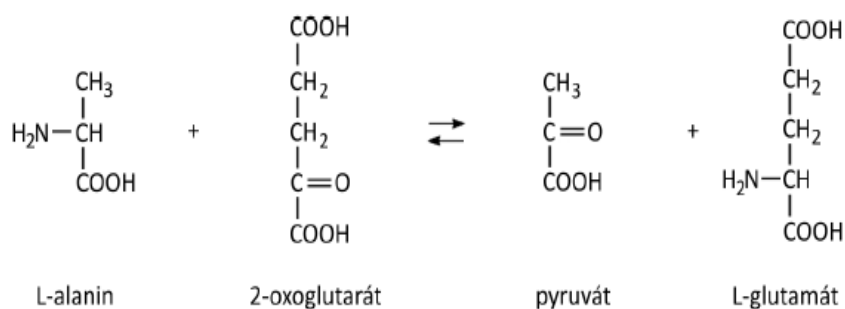
Obrázek 12: Komplex pro určení glukózy (foto: Eva Pechová)

4.4.3 Stanovení hodnot cholesterolu

Cholesterol byl stanoven enzymaticky hydrolýzou esterů cholesterolu na volný cholesterol a mastné kyseliny ze účasti enzymu cholesterolesterasy. Vzniklý komplex byl promíchán a inkubován 10 minut ve vodní lázni při 37° C. Do 60 minut bylo provedeno měření ve spektrofotometru.

4.4.4 Stanovení hodnot jaterního enzymu ALT

Při stanovení ALT byl katalyzován přenos aminoskupiny z L - alaninu na 2 - oxoglutarát za vzniku oxalacetátu a L - glutamátu. Oxalacetát se v kyselém prostředí dekarboxyluje za vzniku pyruvátu.



Obrázek 13: Proces stanovení ALT (www.stary.lf2.cuni.cz)

Po smíchání pracovního roztoku a vzorku krve byla provedena inkubace 1 minutu při 37° C a byla změřena absorbance ve spektrofotometru.

4.5 Statistické zpracování hodnot

Všechny naměřené hodnoty byly zpracovány v programu RStudio. Byly počítány základní statistické hodnoty, tedy aritmetický průměr (střední hodnota), minimum, maximum, medián, směrodatná odchylka. Metodou ANOVA byla určována závislost hodnot mezi pohlavími, věkovými kategoriemi, typem krmiva, kterým byla zvířata krmena. Testy shody středních hodnot (hypotézy 1 a 2) byly testovány pomocí t-testů (Studentův t-test). Pro provedení testů bylo nutné otestovat předpoklady normality - Shapiro-Wilcoxonův test a předpoklad shody rozptylů výběru - F-test. Testy Pearsonovy korelace (hypotéza 3) byly vypočítány a testovány. V datech byly vypočítány korelace (hodnoty od -1 do 1, kdy hodnoty blíže k jedničkám znamenají silnou závislost hodnota 0 značí možnou nezávislost (tedy o situaci, že proměnné spolu nesouvisejí).

5 Výsledky

5.1. Hematologické hodnoty

V tabulce č. 3 a 6 jsou uvedeny referenční hodnoty ze kterých bylo vycházeno při zpracovávání výsledků. Naměřené hodnoty byly posuzovány zvlášť pro feny a zvlášť pro psy, v případě určování závislostí pak mezi skupinami popsány viz. výše.

Tabulka 3: Referenční hodnoty vybraných parametrů u psů

Referenční hodnoty- hematologie	PES
RBC	5,5-8,5 (T/l)
HCT	44-52 (%)
HGB	12-18 (g/100ml)
WBC	6-17 (G/l)
MCV	65-75 (fl)

Zdroj: http://www.laboklin.com/pages/html/cz/Products/reference_hematologie.htm

Tabulka 4: Naměřené hematologické hodnoty u fen

FENY					
vzorek č.	RBC (T/l)	HCT (%)	HGB (g/100ml)	MCV (fl)	WBC (G/l)
1.	9,02	73	20,1	81	11,8
2.	7,26	54,9	15,5	76	12,4
3.	7,34	59,7	16,7	81	16,8
4.	6,08	51,4	13,8	85	21,8
5.	9,8	81	17,4	83	13,9
6.	8,24	65,1	17,8	79	10
7.	9,92	79,5	17,8	80	16,6
8.	7,94	67,2	17	85	7
9.	6,45	56,1	14,2	87	15,7
10.	7,24	56,7	15,9	78	14
průměr	7,93	64,46	16,62	81,50	14,00
min	6,08	51,4	13,8	76	7
max	9,92	81	20,1	87	21,8
medián	7,64	62,4	16,85	81	13,95
směr. odch.	1,25	9,98	1,77	3,29	3,88

Tabulka 5: Naměřené hematologické hodnoty u psů

PSI					
vzorek č.	RBC	HCT	HGB	MCV	WBC
	(T/l)	(%)	(g/100ml)	(fl)	(G/l)
1.	5,93	49,5	12,9	83	10,9
2.	8,11	68,7	16,1	85	7
3.	6,64	58,1	15	88	20,4
4.	10,3	87,8	13,1	85	10,3
5.	6,72	53,1	14,7	79	8,6
6.	8,02	60,3	17,8	75	7,7
7.	7,23	61,6	18,3	85	7,7
8.	5,1	39,4	10,7	77	41,8
9.	6,28	54,6	14,6	87	6,9
10.	10,7	81,4	18,8	76	15,7
průměr	7,50	61,45	15,20	82,00	13,70
min	5,10	39,40	10,70	75,00	6,90
max	10,70	87,80	18,80	88,00	41,80
medián	6,98	59,20	14,85	84,00	9,45
směr. odch.	1,73	13,80	2,46	4,56	10,23

Erytrocyty

Feny: Průměrné hodnoty erytrocytů se pohybovaly kolem hodnoty 7,93 T/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 6,08 - 9,92 T/l, přičemž u feny č. 1, 5 a 7 byla naměřena hodnota nad referenční hranici. Hodnota mediánu byla zjištěna 7,64 T/l a směrodatná odchylka 1,25 T/l.

Psi: Průměrné hodnoty u psů se pohybovaly kolem hodnoty 7,50 T/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 5,10 - 10,70 T/l. U psa č. 8 byla hodnota pod referenční hranicí, pes č. 4 a 10 měl hodnoty nad referenční hranicí. Hodnota mediánu byla zjištěna 6,98 T/l a směrodatná odchylka 1,73 T/l.

Hematokrit

Feny: Průměrné hodnoty zastoupení hematokritu se pohybovaly kolem 64,46 %. Rozmezí zastoupení hematokritu bylo 51,4% - 81%. Z naměřených zvířat měla pouze fena č. 4 hodnotu v referenčním rozmezí, zbylé feny měly hodnoty nad toto rozmezí. Hodnota mediánu byla zjištěna 62,4% a směrodatná odchylka 9,98%.

Psi: Průměrné hodnoty zastoupení hematokritu se pohybovaly kolem 61,45%. Rozmezí zastoupení hematokritu bylo 39,4% - 87,8%. U psa č. 8 byla hodnota pod referenční hranicí, u psa č. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10 byly hodnoty nad referenční hranicí. Pouze u psa č. 1 byly

hodnoty v mezích referenčních hodnot. Hodnota mediánu byla zjištěna 59,2% a směrodatná odchylka 13,8%.

Hemoglobin

Feny: Průměrné hodnoty hemoglobinu se pohybovaly kolem hodnoty 16,62 g/100 ml. Rozmezí naměřených hodnot bylo 13,8 - 20,1 g/100 ml, přičemž u feny č. 1 byla naměřena hodnota nad referenční hranici. Hodnota mediánu byla zjištěna 16,85 g/100ml a směrodatná odchylka 1,77 g/100 ml.

Psi: Průměrné hodnoty hemoglobinu se pohybovaly kolem hodnoty 15,2 g/100 ml. Rozmezí naměřených hodnot bylo 10,7 - 18,8 g/100 ml, přičemž u psa č. 7 a 10 byla naměřena hodnota nad referenční hranici. U psa č. 8 byla zjištěna hodnota pod referenční hranicí. Hodnota mediánu byla zjištěna 14,85 g/100ml a směrodatná odchylka 2,46 g/100 ml.

MCV - střední objem erytrocytu

Feny: Průměrné hodnoty erytrocytů se pohybovaly kolem hodnoty 81,5 fl. Rozmezí naměřených hodnot bylo 76 - 87 fl, u všech fen byla hodnota nad referenční hranici. Hodnota mediánu byla zjištěna 81 fl a směrodatná odchylka 3,29 fl.

Psi: Průměrné hodnoty u psů se pohybovaly kolem hodnoty 82 fl. Rozmezí naměřených hodnot bylo 75 - 88 fl. Pouze pes č. 6 měl hodnoty v mezích referenčních hodnot. Hodnota mediánu byla zjištěna 84 fl a směrodatná odchylka 4,56 fl.

Tabulka 6: Referenční hodnoty leukocytů u psů

Referenční hodnoty - leukogram	PES
leukocyty	6 - 12 G/l
neutrofilý	3,3 - 10,5 G/l
lymfocyty	1 - 3,6 G/l
monocyty	0 - 0,5 G/l
eozinofily	0 - 0,6 G/l
bazofily	0 - 0,1 G/l

Zdroj: Doubek a kol., 2010

Tabulka 7: Leukogram fen

FENY						
vzorek č.	WBC	LY	MO	NE	EO	BA
	(G/l)	(G/l)	(G/l)	(G/l)	(G/l)	(G/l)
1.	11,8	2	0,24	9,56	0	0
2.	12,4	3,22	0,12	9,05	0	0
3.	16,8	2,9	0,17	13,8	0	0
4.	21,8	4,36	0	17,22	0,22	0
5.	13,9	3,61	0	10,15	0,14	0
6.	10	2,7	0,1	7,2	0	0
7.	16,6	3,15	0	13,45	0	0
8.	7	1,68	0	5,04	0,28	0
9.	15,7	2,2	0	11,78	0,16	0
10.	14	2,94	0	10,92	0,14	0
průměr	14,00	2,876	0,063	10,817	0,094	0
min	7	1,68	0	5,04	0	0
max	21,8	4,36	0,24	17,22	0,28	0
medián	13,95	2,92	0	10,535	0,07	0
směr. odch.	3,88	0,749989	0,084386	3,307129	0,1016071	0

Leukocyty

Feny: Průměrné hodnoty leukocytů se pohybovaly kolem hodnoty 14 G/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 7 - 21,8 G/l, u feny č. 4 byla hodnota nad referenční hranici.

Hodnota mediánu byla zjištěna 13,95 G/l a směrodatná odchylka 3,88 G/l.

Fena č. 1 měla všechny hodnoty v mezích referenčních hodnot. Fena č. 2 měla všechny hodnoty v mezích referenčních hodnot. Fena č. 3 měla zvýšené hodnoty neutrofilů nad referenční rozmezí. Fena č. 4 měla zvýšené hodnoty lymfocytů, neutrofilů nad referenční rozmezí. Fena č. 5 zanedbatelně zvýšené hodnoty lymfocytů. Fena č. 6 měla všechny hodnoty v mezích referenčních hodnot. Fena č. 7 měla zvýšené hodnoty neutrofilů nad referenční rozmezí. Fena č. 8 měla všechny hodnoty v mezích referenčních hodnot. Fena č. 9 měla zvýšené hodnoty neutrofilů nad referenční rozmezí. Fena č. 10 měla nepatrně zvýšené hodnoty neutrofilů.

Průměrné hodnoty **lymfocytů** se pohybovaly kolem hodnoty 2,87 G/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 1,68 - 4,36 G/l. Hodnota mediánu byla zjištěna 2,92 G/l a směrodatná odchylka 0,75 G/l.

Průměrné hodnoty **monocytů** se pohybovaly kolem hodnoty 0,06 G/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 0 - 0,24 G/l. Hodnota mediánu byla zjištěna 0 G/l a směrodatná odchylka 0,08 G/l.,

Průměrné hodnoty **neutrofilů** se pohybovaly kolem hodnoty 10,82 G/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 5,04 - 17,22 G/l. Hodnota mediánu byla zjištěna 10,54 G/l a směrodatná odchylka 3,31 G/l.

Průměrné hodnoty **eoziophilů** se pohybovaly kolem hodnoty 0,09 G/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 0 - 0,28 G/l. Hodnota mediánu byla zjištěna 0,07 G/l a směrodatná odchylka 0,10 G/l.

Zastoupení **bazofilů** bylo nulové.

Tabulka 8: Leukogram psů

PSI						
vzorek č.	WBC	LY	MO	NE	EO	BA
	(G/l)	(G/l)	(G/l)	(G/l)	(G/l)	(G/l)
1.	10,9	2,4	0	8,5	0	0
2.	7	1,54	0	5,39	0,07	0
3.	20,4	2,65	0	17,14	0,41	0,2
4.	10,3	2,68	0,1	7,21	0,31	0
5.	8,6	2,15	0	6,45	0	0
6.	7,7	2,7	0,15	4,77	0,08	0
7.	7,7	1,62	0,23	5,78	0,08	0
8.	41,8	8,36	0	33,44	0	0
9.	6,9	1,79	0	5,11	0	0
10.	15,7	2,67	0	13,03	0	0
průměr	13,70	2,856	0,048	10,682	0,095	0,02
min	6,90	1,54	0	4,77	0	0
max	41,80	8,36	0,23	33,44	0,41	0,2
medián	9,45	2,525	0	6,83	0,035	0
směr. odch.	10,23	1,884904	0,078968	8,472927	0,1384377	0,06

Psi: Průměrné hodnoty leukocytů se pohybovaly kolem hodnoty 13,7 G/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 6,9 - 41,8 G/l, u psa č. 3 a 8 byla hodnota nad referenční hranici. U psa č. 8 byla hodnota téměř 2,5 krát vyšší. Hodnota mediánu byla zjištěna 9,45 G/l a směrodatná odchylka 10,23 G/l.

Pes č. 1 měl všechny hodnoty v mezích referenčních hodnot. Pes č. 2 měl všechny hodnoty v mezích referenčních hodnot. Pes č. 3 měl zvýšené hodnoty neutrofilů nad referenční rozmezí. Pes č. 4 měl všechny hodnoty v mezích referenčních hodnot. Pes č. 5 měl všechny hodnoty v mezích referenčních hodnot. Pes č. 6 měl všechny hodnoty v mezích referenčních hodnot. Pes č. 7 měl všechny hodnoty v mezích referenčních hodnot. Pes č. 8 měl zvýšené hodnoty lymfocytů a více než trojnásobně zvýšené hodnoty neutrofilů.

Pes č. 9 měl všechny hodnoty v mezích referenčních hodnot. Pes č. 10 měl zvýšené hodnoty neutrofilů nad referenční rozmezí.

Průměrné hodnoty **lymfocytů** se pohybovaly kolem hodnoty 2,85 G/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 1,54 - 8,36 G/l. Hodnota mediánu byla zjištěna 2,53 G/l a směrodatná odchylka 1,88 G/l.

Průměrné hodnoty **monocytů** se pohybovaly kolem hodnoty 0,05 G/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 0 - 0,23 G/l. Hodnota mediánu byla zjištěna 0 G/l a směrodatná odchylka 0,08 G/l.

Průměrné hodnoty **neutrofilů** se pohybovaly kolem hodnoty 10,682 G/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 4,77 - 33,44 G/l. Hodnota mediánu byla zjištěna 6,83 G/l a směrodatná odchylka 8,47 G/l.

Průměrné hodnoty **eozinofilů** se pohybovaly kolem hodnoty 0,09 G/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 0 - 0,41 G/l. Hodnota mediánu byla zjištěna 0,04 G/l a směrodatná odchylka 0,14 G/l.

Průměrné hodnoty **bazofilů** se pohybovaly kolem hodnoty 0,02 G/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 0 - 0,2 G/l. Hodnota mediánu byla zjištěna 0 G/l a směrodatná odchylka 0,06 G/l.

5.1.1. Testování statistických hypotéz pro hematologické hodnoty

Byly testovány obecně 3 hypotézy:

1. Test shody střední hodnoty hematologických hodnot u obou pohlaví psů
2. Test shody střední hodnoty hematologických hodnot pro různá krmiva
3. Testy Pearsonovy korelace proměnných věk a hematologické hodnoty zvlášť pro kategorie pohlaví a zvlášť pro kategorie krmivo

Byly uvažovány oboustranné alternativní hypotézy a hladiny významnosti 5 % (0,05), alternativně 10 % (0,1). Pro výsledky testů byla použita p-hodnota, která byla srovnána s hladinou významnosti. Nulovou hypotézu zamítneme, jestliže bude p-hodnota menší než hladina významnosti, tedy menší než 5 % (alternativně 10 %).

Hypotéza 1 + 2:

Pro testování shody středních hodnot byl použit Studentův t-test. Abychom mohli test provést, musí být splněny 3 předpoklady:

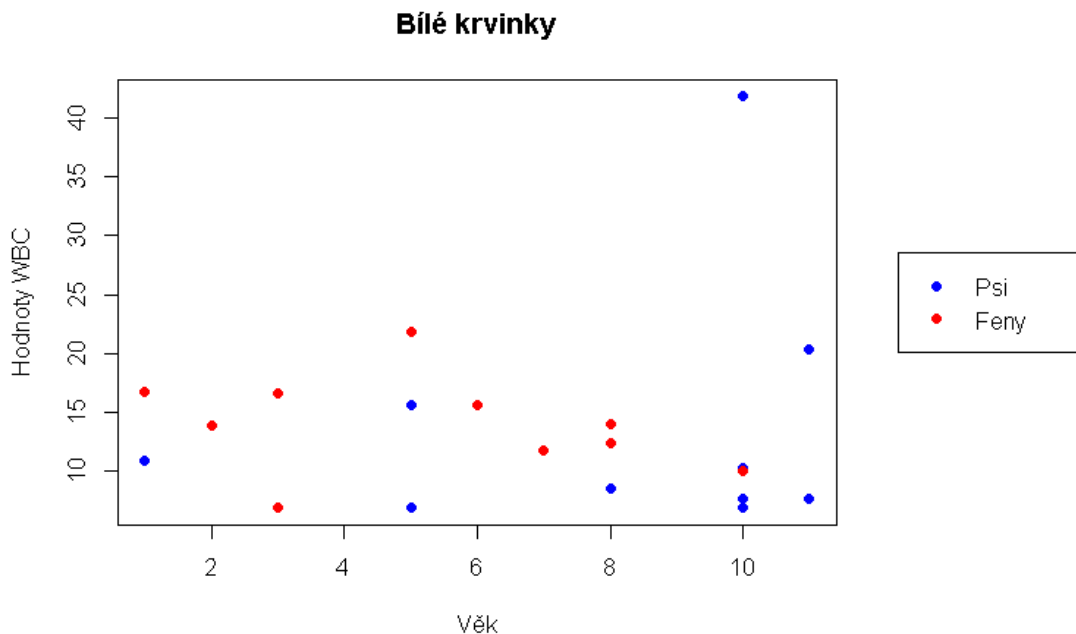
- nezávislost výběrů
- normalita
- shoda rozptylů

Nezávislost výběrů je splněna, jednotliví psi byli pro výzkum vybráni nezávisle. Normalita je testována Shapiro Wilcoxovým testem a shoda rozptylů F-testem. Výsledky testů předpokladů i výsledného t-testu jsou uvedeny v následujících tabulkách.

Tabulka 9: Testování hematologických hodnot

	test normality (p-hodnota)		test shody rozptylů (p-hodnota)	t-test	
	pes	fena	---	t-statistika	p-hodnota
RBC	0.3329	0.544	0.3489	-0.59924	0.5572
HCT	0.6862	0.3285	0.3483	-0.5304	0.6029
HGB	0.76	0.8323	0.3361	-1.4047	0.1789
MCV	0.1712	0.9065	0.3464	0.26663	0.7931
WBC	0.0004529	0.9746	0.008074	-0.082234	0.9359

V tabulce vidíme, že pro bílé krvinky není splněn předpoklad normality pro psy a také shoda rozptylů.



Graf 1: Srovnání hodnot bílých krvinek v závislosti na pohlaví a také věku

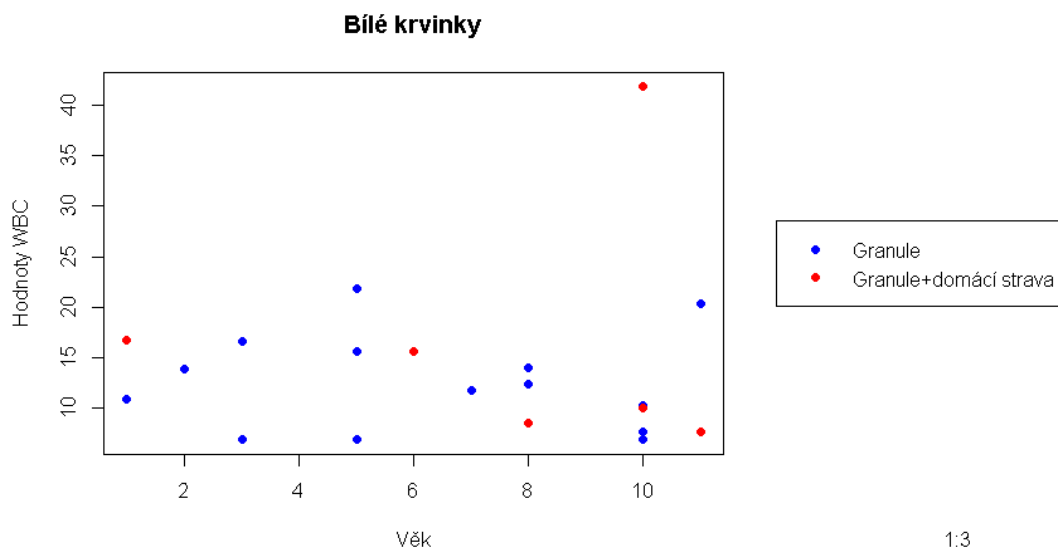
Z grafu 1 můžeme vidět jednu velmi odlehlou hodnotu. Ta vzhledem k malému počtu pozorování výsledky testu značně ovlivňuje.

Výsledky p-hodnot t-testů udávají, že žádná nulová hypotéza není zamítnuta. Nepodařilo se najít rozdíly hematologických hodnot mezi pohlavím psů. To zřejmě bude platit i u bílých krvinek i za nesplnění předpokladů pro t-test, což naznačuje graf č. 1. V grafu nejde vidět nějaké striktní oddělení hodnot obou pohlaví, které by mohlo vést k zamítnutí nulové hypotézy.

Tabulka 10: Testování hematologických hodnot

	test normality (p-hodnota)		test shody rozptylů (p-hodnota)	t-test	
	granule	gr.+dom.str.	---	t-statistika	p-hodnota
RBC	0.3095	0.8468	0.3473	2.0308	0.06094
HCT	0.227	0.3628	0.4724	2.0248	0.06343
HGB	0.9323	0.5421	0.3943	0.5657	0.5879
MCV	0.1977	0.4522	0.8778	0.30396	0.7671
WBC	0.2867	0.01722	0.00429	-0.77266	0.471

Podobně jako u předchozí tabulky i zde není splněn předpoklad normality a shody rozptylů pro t-test. Pohledem na graf dojdeme ke stejným závěrům jako v předchozím případě a nulová hypotéza by zřejmě opět nebyla zamítnuta.



Graf 2: Srovnání hodnot bílých krvinek v závislosti na krmivu a věku

Pohledem na graf dojdeme ke stejným závěrům jako v předchozím případě a nulová hypotéza by zřejmě opět nebyla zamítnuta.

Hypotéza 3:

Test Pearsonovy korelace spočívá ve zjištění lineární závislosti dvou proměnných. Testovala se nulová hypotéza, že koeficient korelace věku psů a hematologických hodnot je nulový oproti alternativě, že nulový není. Následující tabulky zobrazují vypočítané výběrové korelační koeficienty zvlášť podle kategorií pohlaví a krmivo a také p-hodnoty testu hypotézy.

Tabulka 11: Testování hematologických hodnot

	Korelace hodnot a věku		Test korelace (p-hodnota)	
	pes	fena	pes	fena
RBC	-0.08076662	-0.2565572	0.8245	0.4743
HCT	-0.03411648	-0.376045	0.9255	0.2842
HGB	0.02682479	-0.01719311	0.9414	0.9624
MCV	0.144958	-0.4451609	0.6895	0.1973
WBC	0.1833661	-0.2693774	0.6121	0.4517

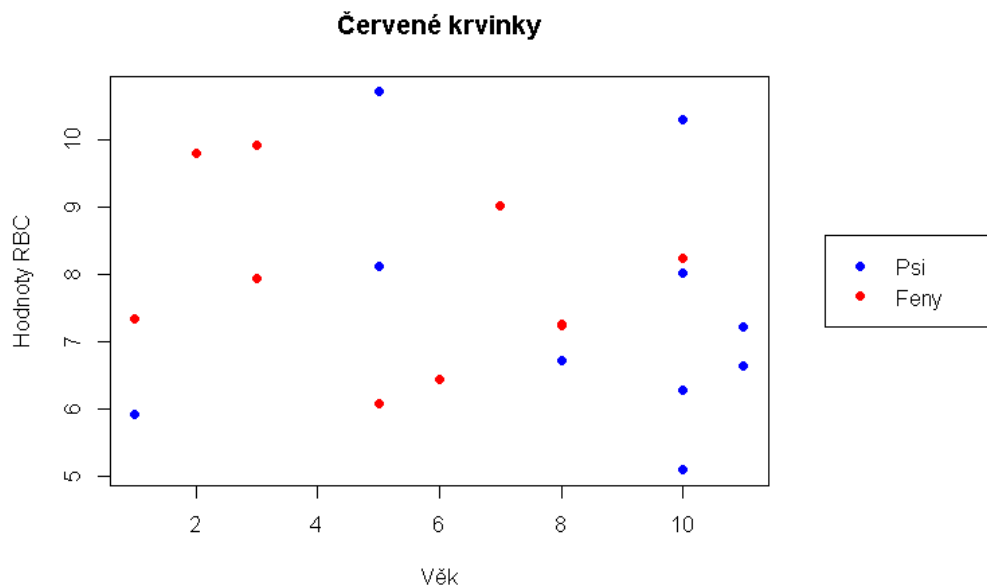
Podle výsledných p-hodnot můžeme vidět, že žádná korelace nevyšla významná. Proměnné věk a hodnoty spolu (lineárně) nesouvisí. Nejvyšší korelace je u věku fen s jejich hodnotami MCV, a to -0,44. I tak je tato hodnota statisticky nevýznamná od nuly s p-hodnotou téměř 0,2.

Tabulka 12: Testování hematologických hodnot

	Korelace hodnot a věku		Test korelace (p-hodnota)	
	granule	gr.+dom.str.	granule	gr.+dom.str.
RBC	-0.1435123	-0.1129408	0.6245	0.8313
HCT	-0.1454731	-0.1458061	0.6197	0.7828
HGB	-0.1276636	-0.04944527	0.6636	0.9259
MCV	0.006930257	-0.156817	0.9812	0.7667
WBC	-0.04615598	0.04704044	0.8755	0.9295

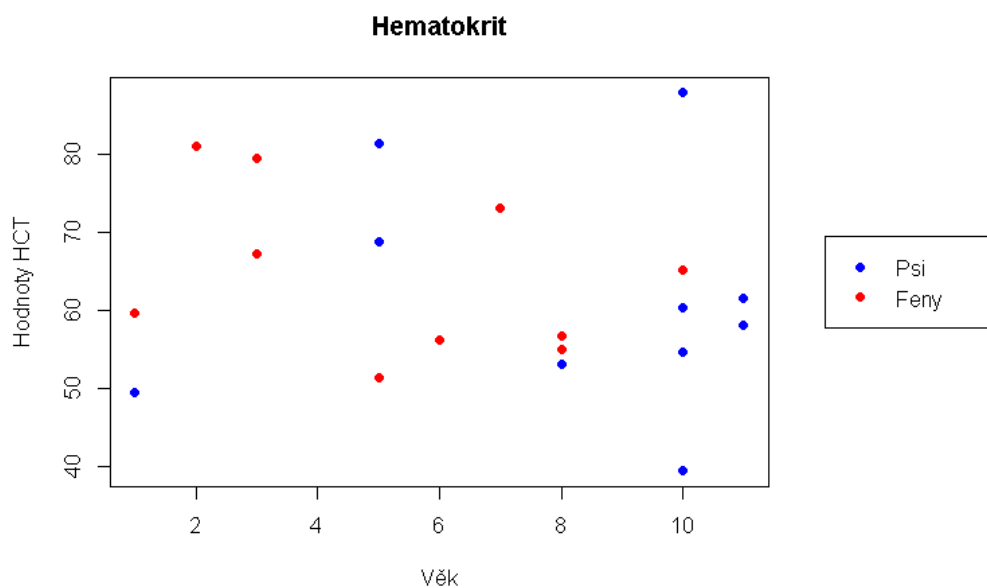
Podobný výsledek jako u předchozích testů je i pro korelaci věku s hematologickými hodnotami pro skupiny podle krmiva.

Grafy - kategorizováno podle pohlaví



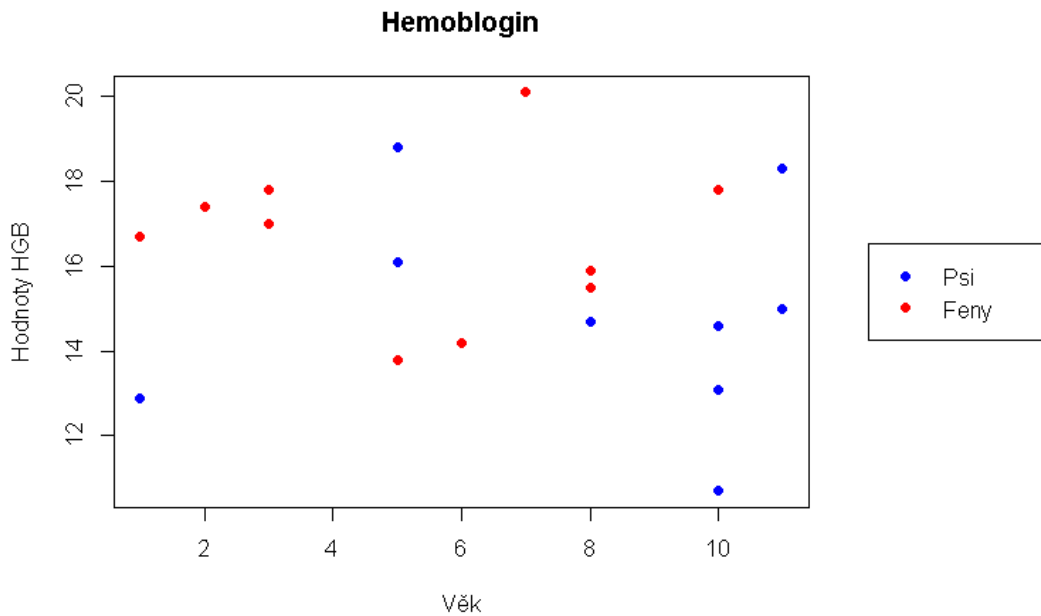
Graf 3: Srovnání hodnot červených krvinek v závislosti na pohlaví a věku

Jedná se o bodový graf, z grafu není patrný žádný vztah, což vyplývá i z výsledků korelace.



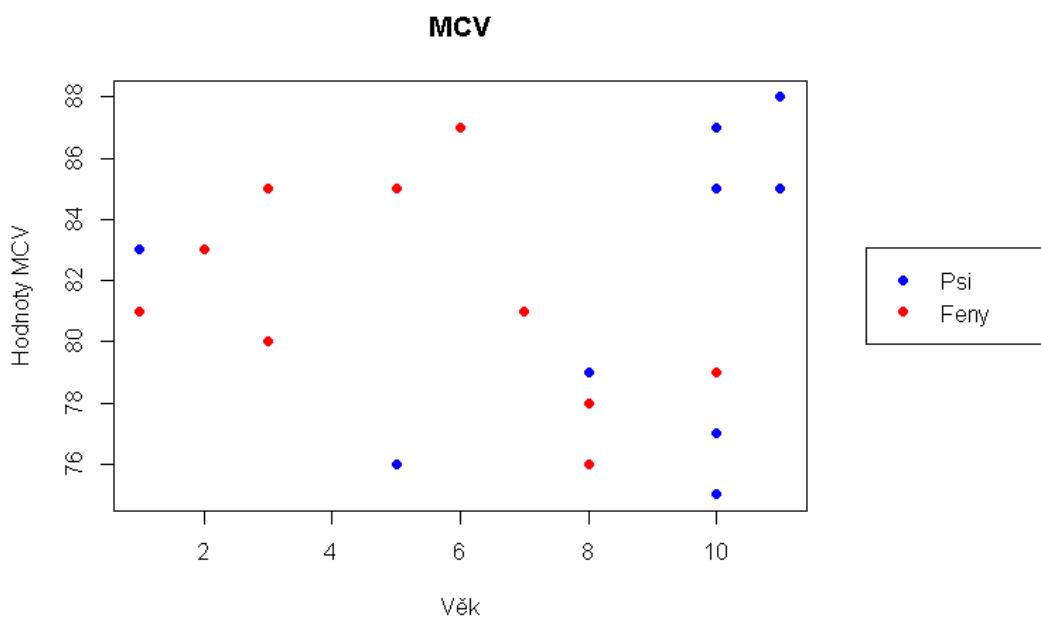
Graf 4: Srovnání hodnot hematokritu v závislosti na pohlaví a věku

Jedná se o bodový graf, z grafu není patrný žádný vztah, což vyplývá i z výsledků korelace.



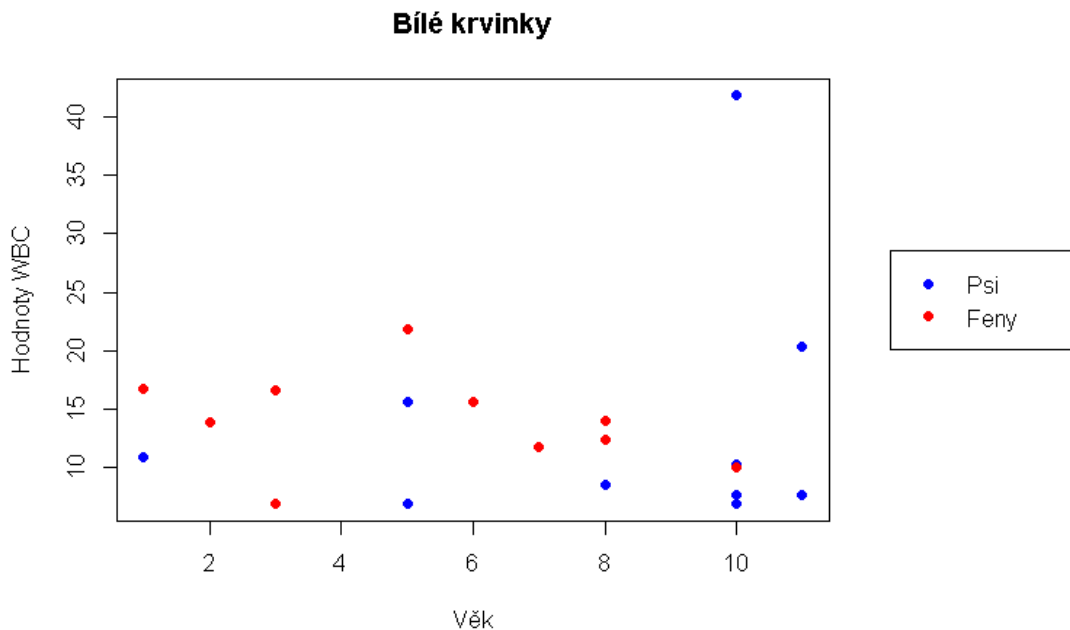
Graf 5: Srovnání hodnot hemoglobinu v závislosti na pohlaví a také věku

Jedná se o bodový graf, z grafu není patrný žádný vztah, což vyplývá i z výsledků korelace.



Graf 6: Srovnání hodnot MCV v závislosti na pohlaví a věku

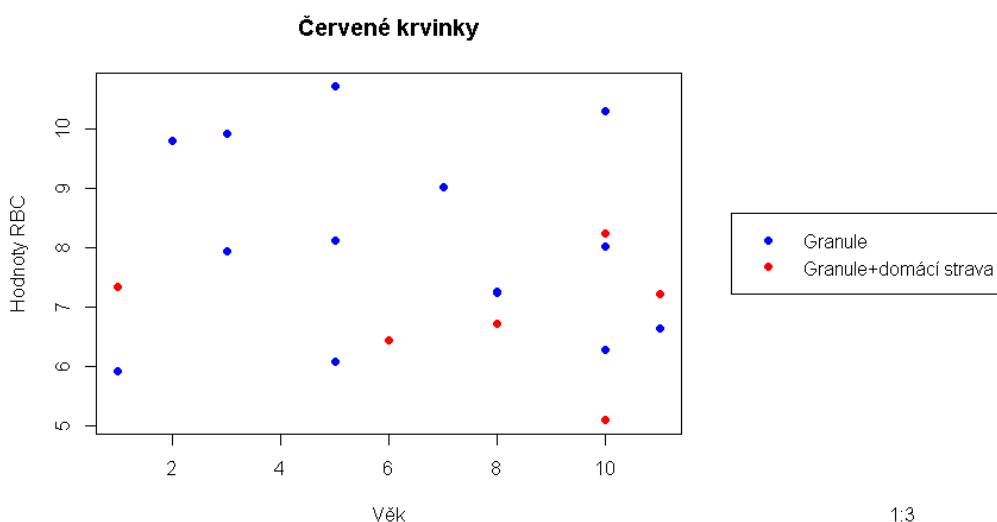
Ačkoliv testy korelace vyšly nevýznamné, korelace pro feny byla $-0,44$, což koresponduje s klesajícím trendem. Naopak u psů vyšla korelace více nevýznamná. Pohledem na graf ale můžeme vidět rostoucí trend, pomineme-li pozorování nacházející se blízko vertikální osy. Toto pozorování je vychýlené od běžných hodnot, znamená to rostoucí korelaci a tedy zajímavý rozdíl mezi psy a fenami.



Graf 7: Srovnání hodnot bílých krvinek v závislosti na pohlaví a věku

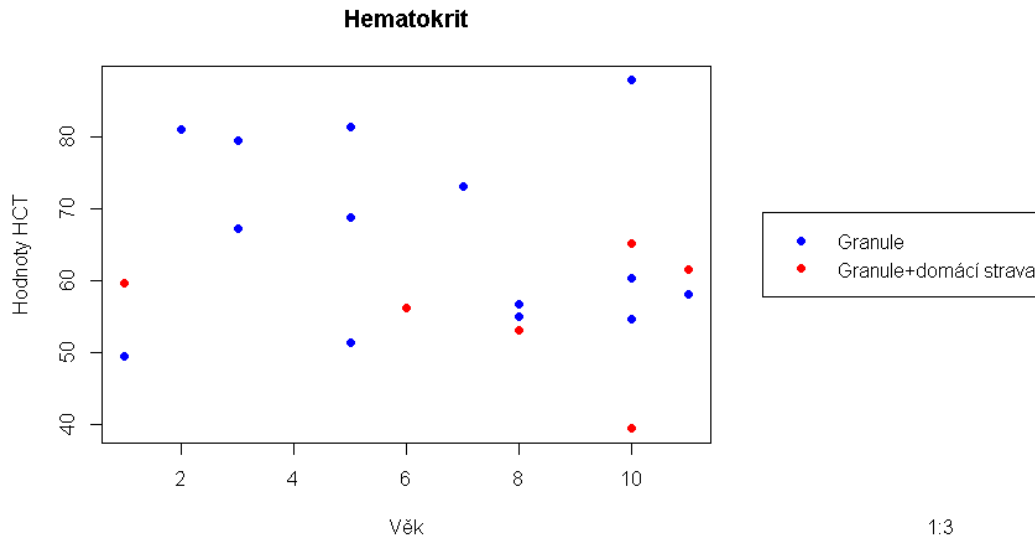
Na grafu č. 7 můžeme vidět jedno odlehlé pozorování nacházející se v grafu vpravo nahoře. To pravděpodobně způsobuje zamítnutí normality i shody rozptylů. Nicméně jednotlivé body grafu jsou pro obě pohlaví “promíchány”, proto i při odstranění odlehlé hodnoty by nebyla nulová hypotéza a shodě středních hodnot zamítnuta.

Grafy - kategorizováno podle krmiva

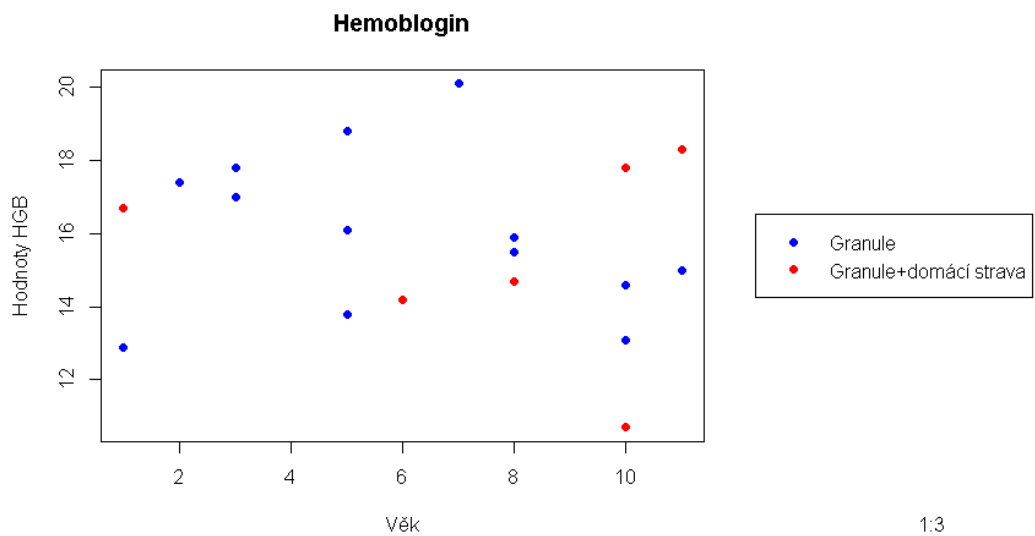


Graf 8: Srovnání hodnot červených krvinek v závislosti na typu stravy a věku

Naopak u testu červených krvinek a hematokritu vychází p-hodnota t-testu kolem 0,6. Na 10% hladině významnosti tedy můžeme nulové hypotézy zamítnout. Statisticky se tedy potvrdil rozdíl hodnot červených krvinek pro psy s krmivem granule a pro psy s krmivem granule + domácí strava. Stejný výsledek platí i u hematokritu na grafu č. 9

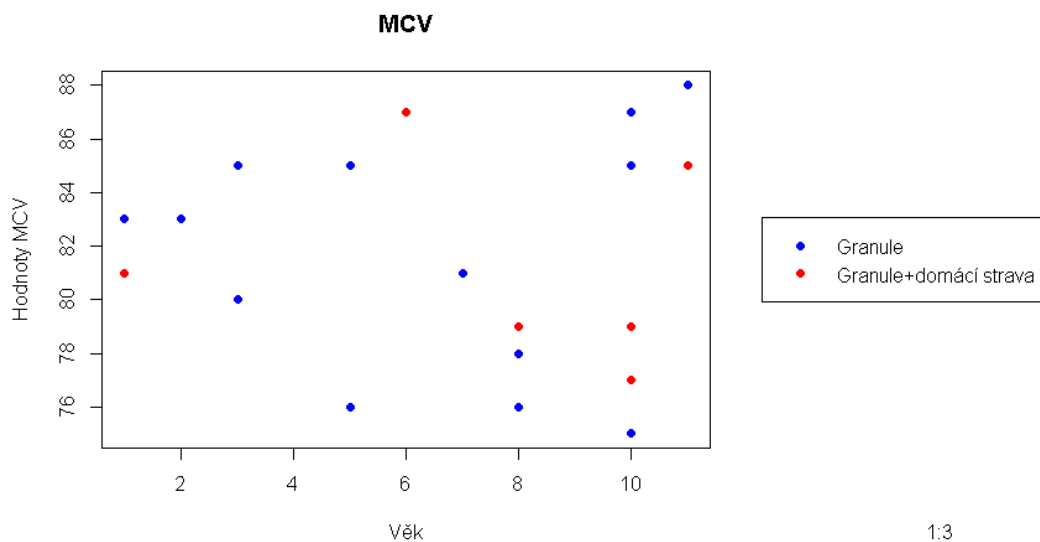


Graf 9: Srovnání hodnot hematokritu v závislosti na typu stravy a věku



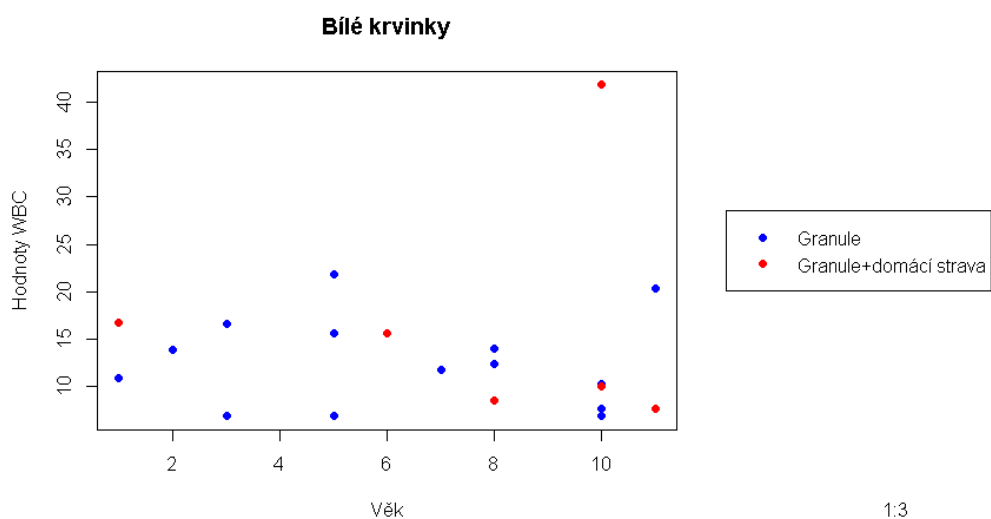
Graf 10: Srovnání hodnot hemoglobinu v závislosti na typu stravy a věku

Jedná se o bodový graf, z grafu není patrný žádný vztah, což vyplývá i z výsledků korelace.



Graf 11: Srovnání hodnot MCV v závislosti na typu stravy a věku

Jedná se o bodový graf, z grafu není patrný žádný vztah, což vyplývá i z výsledků korelace.



Graf 12: Srovnání hodnot MCV v závislosti na typu stravy a věku

Stejně jako u bílých krvinek pro kategorii pohlaví i tady se vyskytuje odlehlá hodnota.

Ta dokonce způsobuje, že korelace vychází mírně kladná, ačkoliv ostatní pozorování prokazují klesající trend (granule+domácí strava).

5.2. Biochemické hodnoty

V tabulce č. 9 a jsou uvedeny referenční hodnoty ze kterých bylo vycházeno při zpracovávání výsledků. Naměřené hodnoty byly posuzovány zvlášť pro feny a zvlášť pro psy, v případě určování závislostí pak mezi skupinami popsány viz. výše.

Tabulka 9: Referenční biochemické hodnoty

Referenční hodnoty	PES
Celková bílkovina	54-75 g/l
Glukóza	3,1-6,7 mmol/l
Cholesterol	3,5-7,8 mmol/l
ALT	0,1-1,0 μ kat/l

Zdroj: Doubek a kol., 2010

Tabulka 10: Celková bílkovina fen

CELKOVÁ BÍLKOVINA - FENY	
vzorek č.	hodnota (g/l)
1.	83,991
2.	74,361
3.	59,52
4.	66,94
5.	74,045
6.	77,992
7.	63,151
8.	70,73
9.	54,152
10.	67,098
průměr	69,20
min	54,15
max	83,99
medián	68,91
směr. odch.	8,45

Feny: Průměrné hodnoty celkové bílkoviny se pohybovaly kolem hodnoty 69,2 g/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 54,15 - 83,99 g/l, přičemž u feny č. 1 a 6 byla naměřena hodnota nad referenční hranici. Hodnota mediánu byla zjištěna 68,91 g/l a směrodatná odchylka 8,45 g/l.

Tabulka 11: Celková bílkovina psů

CELKOVÁ BÍLKOVINA - PSI	
vzorek č.	hodnota (g/l)
1.	45,785
2.	65,677
3.	78,623
4.	77,992
5.	52,416
6.	71,677
7.	75,624
8.	79,887
9.	57,626
10.	71,677
průměr	67,26
min	45,79
max	79,89
medián	71,68
směr. odch.	11,88

Psi: Průměrné hodnoty celkové bílkoviny se pohybovaly kolem hodnoty 67,26 g/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 45,79 - 79,89 g/l, přičemž u psa č. 1 a 5 byla naměřena hodnota pod referenční hranici. U psů č. 3, 4, 8 a nepatrně u psa č. 7 byla hodnota nad referenční hranici. Hodnota mediánu byla zjištěna 71,68 g/l a směrodatná odchylka 11,88 g/l.

Tabulka 12: Hodnota glukózy u fen

GLUKÓZA - FENY	
vzorek č.	hodnota (mmol/l)
1.	9,75
2.	9,17
3.	7,14
4.	4,903
5.	9,024
6.	7,283
7.	6,978
8.	7,98
9.	10,271
10.	7,254
průměr	7,98
min	4,90
max	10,27
medián	7,63
směr. odch.	1,52

Feny: Průměrné hodnoty glukózy se pohybovaly kolem hodnoty 7,98 mmol/l přičemž tato průměrná hodnota je již nad referenční hranici. Rozmezí naměřených hodnot bylo 4,9 - 10,27 mmol/l, pouze u feny č. 4 byly naměřeny hodnoty v mezích referenční hranice. Ostatní feny měly hodnoty nad referenční hranici. Hodnota mediánu byla zjištěna 7,63 mmol/l a směrodatná odchylka 1,52 mmol/l

Tabulka 13: Hodnota glukózy u psů

GLUKÓZA - PSI	
vzorek č.	hodnota (mmol/l)
1.	6,485
2.	5,716
3.	7,834
4.	8,516
5.	6,413
6.	7,341
7.	6,34
8.	10,78
9.	5,992
10.	7,283
průměr	7,27
min	5,72
max	10,78
medián	6,88
směr. odch.	1,43

Psi: Průměrné hodnoty glukózy se pohybovaly kolem hodnoty 7,27 mmol/l přičemž tato průměrná hodnota je již nad referenční hranici. Rozmezí naměřených hodnot bylo 5,72 - 10,78 mmol/l, přičemž u psa č. 3, 4, 6, 8, 10 byla naměřena hodnota nad referenční hranici. Hodnota mediánu byla zjištěna 6,88 mmol/l a směrodatná odchylka 1,43 mmol/l.

Tabulka 14: Hodnota cholesterolu u fen

CHOLESTEROL - FENY	
vzorek č.	hodnota (mmol/l)
1.	4,875
2.	7,446
3.	6,077
4.	4,541
5.	6,8
6.	7,635
7.	2,304
8.	2,148
9.	2,815
10.	3,495
průměr	4,81
min	2,15
max	7,64
medián	4,71
směr. odch.	1,99

Feny: Průměrné hodnoty cholesterolu se pohybovaly kolem hodnoty 4,81 mmol/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 2,15 - 7,64 mmol/l, u feny č. 7, 8, 9, 10 byly naměřeny hodnoty pod referenční hranice. Ostatní feny měly hodnoty v mezích referenční hranice. Hodnota mediánu byla zjištěna 4,71 mmol/l a směrodatná odchylka 1,99 mmol/l.

Tabulka 15: Hodnota cholesterolu u psů

CHOLESTEROL - PSI	
vzorek č.	hodnota (mmol/l)
1.	4,207
2.	6,745
3.	4,463
4.	6,622
5.	0,89
6.	1,848
7.	3,584
8.	4,374
9.	1,336
10.	1,825
průměr	3,59
min	0,89
max	6,75
medián	3,90
směr. odch.	1,99

Psi: Průměrné hodnoty cholesterolu se pohybovaly kolem hodnoty 3,59 mmol/l. Rozmezí naměřených hodnot bylo 0,89 - 6,75 mmol/l, přičemž u psa č. 5, 9, 10 byla naměřena hodnota pod referenční hranici. Hodnota mediánu byla zjištěna 3,90 mmol/l a směrodatná odchylka 1,99 mmol/

Tabulka 16: Hodnota ALT u fen

ALT - FENY	
vzorek č.	hodnota
	μkat/l
1.	0,262
2.	0,436
3.	0,32
4.	0,204
5.	0,582
6.	0,465
7.	1,367
8.	0,320
9.	0,494
10.	0,349
průměr	0,50
min	0,20
max	1,37
medián	0,44
směr. odch.	0,33

Feny: Průměrné hodnoty ALT se pohybovaly kolem hodnoty 0,5 $\mu\text{kat/l}$. Rozmezí naměřených hodnot bylo 0,2- 1,37 $\mu\text{kat/l}$, u feny č. 7 byly naměřeny hodnoty nad referenční hranici. Ostatní feny měly hodnoty v mezích referenční hranice. Hodnota mediánu byla zjištěna 0,44 $\mu\text{kat/l}$ a směrodatná odchylka 0,33 $\mu\text{kat/l}$.

Tabulka 17: Hodnota ALT u psů

ALT - PSI	
vzorek č.	hodnota
	$\mu\text{kat/l}$
1.	1,134
2.	0,7
3.	2,385
4.	2,414
5.	0,349
6.	0,553
7.	0,64
8.	0,494
9.	1,425
10.	0,756
průměr	1,09
min	0,35
max	2,41
medián	0,73
směr. odch.	0,72

Psi: Průměrné hodnoty ALT se pohybovaly kolem hodnoty 1,09 $\mu\text{kat/l}$. Rozmezí naměřených hodnot bylo 0,35- 2,41 $\mu\text{kat/l}$, u psa č. 1, 3, 4, 9 byly naměřeny hodnoty nad referenční hranici. Ostatní psi měli hodnoty v mezích referenční hranice. Hodnota mediánu byla zjištěna 0,73 $\mu\text{kat/l}$ a směrodatná odchylka 0,72 $\mu\text{kat/l}$.

5.2.1. Testování statistických hypotéz pro biochemické hodnoty

Analogicky jako u hematologických hodnot byly testovány obecně 3 hypotézy:

1. Test shody střední hodnoty biochemických hodnot u obou pohlaví psů
2. Test shody střední hodnoty biochemických hodnot pro různá krmiva u psů krmených granulemi + domácí stravou
3. Testy Pearsonovy korelace proměnných věk a hematologické hodnoty zvlášť pro kategorie pohlaví a zvlášť pro kategorie krmivo

Byly uvažovány oboustranné alternativní hypotézy a hladina významnosti 5 % (0,05), alternativně 10 % (0,1). Pro výsledky testů použijeme p-hodnotu, kterou srovnáme s hladinou významnosti. Nulovou hypotézu zamítneme, jestliže bude p-hodnota menší než hladina významnosti, tedy menší než 5 % (alternativně 10 %).

Hypotéza 1 + 2:

Pro testování shody středních hodnot použijeme opět Studentův t-test a jeho 3 předpoklady:

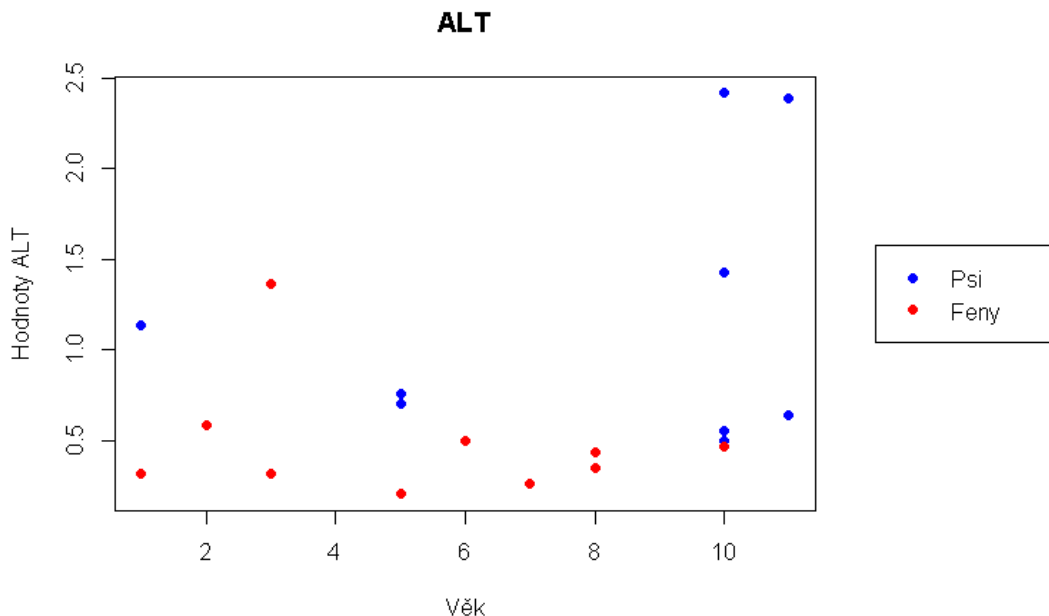
- nezávislost výběrů
- normalita
- shoda rozptylů

Výsledky předpokladů a t-testu jsou uvedeny v následujících tabulkách:

Tabulka 18: Testování biochemických hodnot

	test normality (p-hodnota)		test shody rozptylů (p-hodnota)	t-test	
	pes	fena	---	t-statistika	p-hodnota
celk.bílk.	0.1521	0.998	0.3938	-0.31792	0.7545
glukóza	0.08259	0.6195	0.8606	-1.0141	0.324
cholest.	0.3002	0.3198	0.9935	-1.3061	0.208
ALT	0.02083	0.0008005	0.02136	2.3065	0.03922
ALT	---	0.9108	0.00000	2.8863	0.01704

U proměnné ALT nejsou splněny podmínky normality pro obě pohlaví a taky shoda rozptylů.



Graf 13: Srovnání hodnot ALT v závislosti na pohlaví a věku

Podíváme-li se na graf č. 13 můžeme vidět opět odlehlé hodnoty. U psů je však p-hodnota testu normality relativně velká a na nižší hladině významnosti bychom hypotézu o normalitě nezamítali. Podobný problém je u fen, kde je však p-hodnota velmi malá.

Jak již dříve potvrdila hypotéza u t-testu, hodnoty ALT jsou rozdílné pro psy a pro feny, konkrétně tedy pro psy větších plemen. Co se však týká závislosti proměnných věk a ALT, především u fen nelze pozorovat žádnou závislost. Ani u psů to zřejmě nebude výjimka.

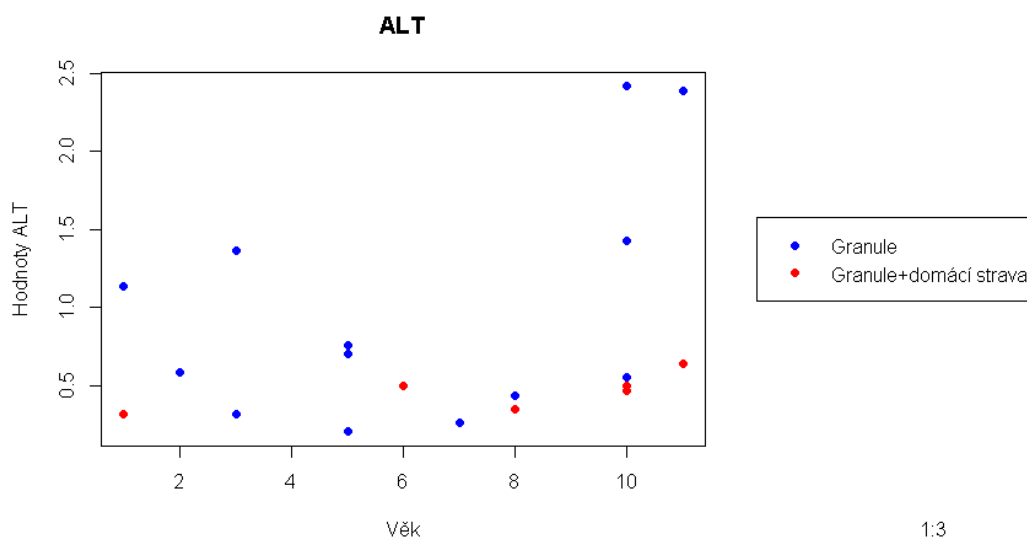
Výraznější vztah zde ale není patrný a bylo by potřeba mít větší množství dat k jeho prokázání.

V poslední řádce tabulky č. 18 je test normality proveden bez odlehlé hodnoty. Nicméně test pro shodu rozptylů díky odstranění tohoto pozorování silně zamítá nulovou hypotézu. Pro t-test byla proto využita tzv. Welchova aproximace. Výsledek t-testu však vychází velmi podobně jako v případě, kdy byla odlehlá hodnota součástí testu a tedy v tomto případě nulovou hypotézu zamítáme. Můžeme tedy říci, že hodnoty ALT se liší u psů a fen. Ostatní hypotézy zamítnuty nejsou.

Tabulka 19: Testování biochemických hodnot

	test normality (p-hodnota)		test shody rozptylů (p-hodnota)	t-test	
	granule	gr.+dom.str.	---	t-statistika	p-hodnota
celk.bílk.	0.4397	0.1226	0.3922	0.45994	0.6584
glukóza	0.9871	0.0641	0.2892	-0.66944	0.524
cholest.	0.1689	0.9901	0.6581	-0.035047	0.9728
ALT	0.01256	0.582	0.0006852	2.2709	0.03898

Stejně jako u předchozí tabulky i zde vidíme mírné porušení normality, které budeme ignorovat (resp. nezamítneme hypotézu o normalitě na hladině významnosti 1 %). Protože je však zamítnuta hypotéza o shodě rozptylů, což lze vidět na grafu č. 14 je pro t-test využita opět Welchova aproximace a také v tomto případě nulovou hypotézu zamítáme. Hodnoty ALT u psů tedy závisí také na krmivu.



Graf 14: Srovnání hodnot ALT v závislosti na typu stravy a věku

Na grafu č. 14 je patrný rozdíl hodnot ALT pro obě kategorie krmiva, což potvrzuje i t-test. Navíc lze v grafu pozorovat pozitivní trendy pro obě kategorie. Ty jsou sice statisticky nevýznamné, ale v malém množství dat je při tomto počtu “obtížné” zamítnout nulovou hypotézu. Především pro kategorii krmiva “granule+domácí strava” vychází korelace 0,71, tedy relativně vysoká. Nicméně s p-hodnotou 0,11.

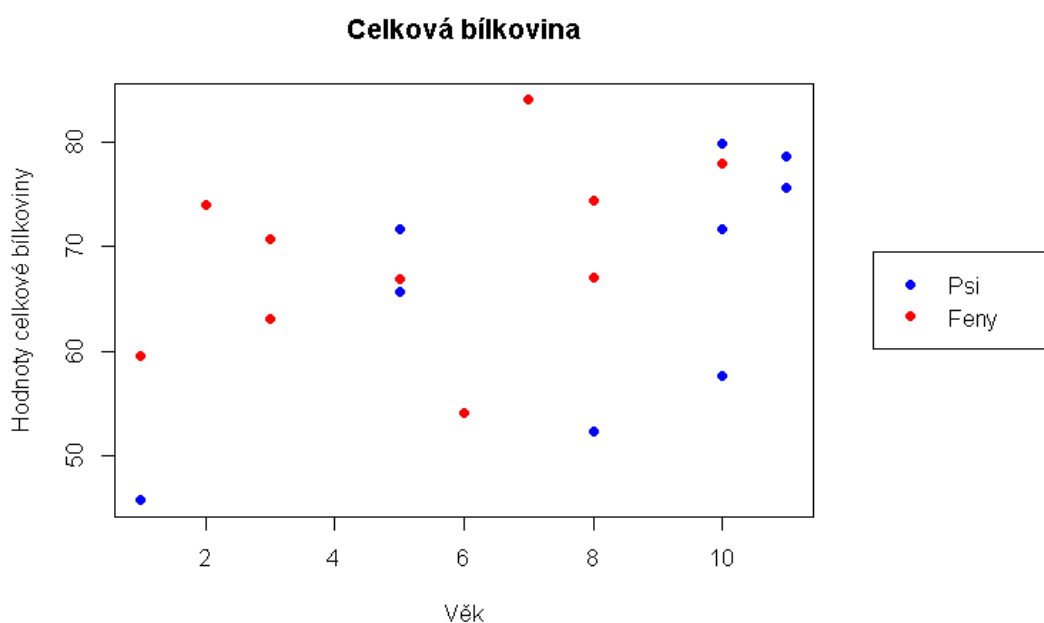
Hypotéza 3:

Test Pearsonovy korelace spočívá ve zjištění lineární závislosti dvou proměnných. Testovala se nulová hypotéza, že koeficient korelace věku psů a biochemických hodnot je nulový oproti alternativě, že nulový není. Následující tabulky zobrazují vypočítané výběrové korelační koeficienty zvláště podle kategorií pohlaví a krmivo a také p-hodnoty testu hypotézy.

Tabulka 20: Testování biochemických hodnot

	Korelace hodnot a věku		Test korelace (p-hodnota)	
	pes	fena	pes	fena
celk.bílk.	0.6571004	0.4216841	0.03898	0.2248
glukóza	0.3547448	0.1391827	0.3145	0.7014
cholest.	-0.09905323	0.2752319	0.7854	0.4415
ALT	0.2381294	-0.2403124	0.5076	0.5036

Jediná statisticky významná korelace je korelace věku psa s celkovou bílkovinou, a to 0,66. S přibývajícím věkem psa tedy roste i hodnota celkové bílkoviny. Vysoké, ale ne statisticky významné korelace dosahuje také korelace věku fen s celkovou bílkovinou, která činí 0,42. Nevýznamnost může být mimo jiné způsobena taky malým množstvím dat. Je tedy možné, že by byla hypotéza o nulové korelaci zamítnuta i u fen s vyšším množstvím dat. Tyto rostoucí trendy lze také pozorovat na grafu č. 15.



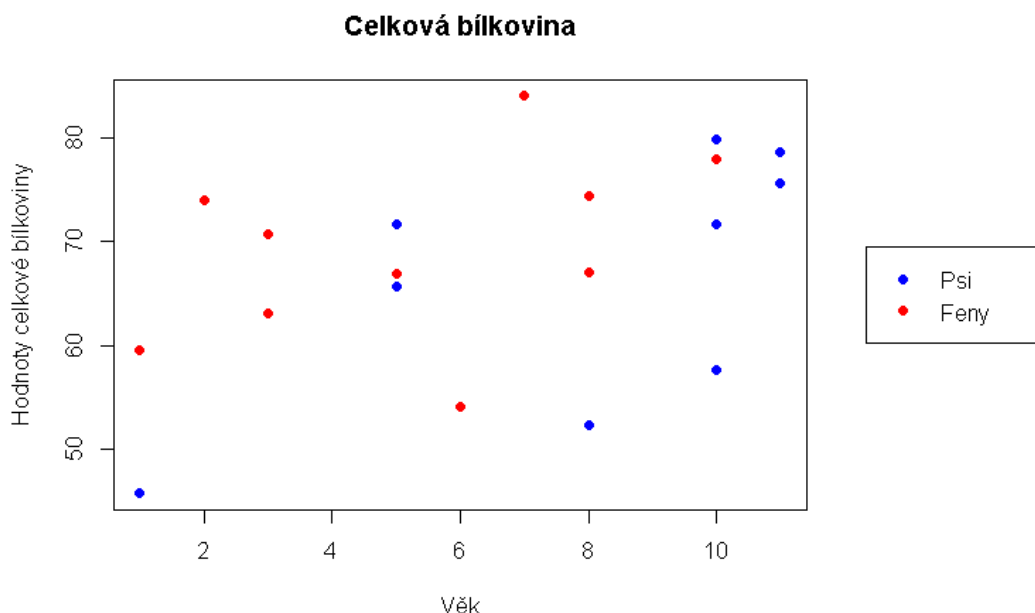
Graf 15: Srovnání hodnot celkové bílkoviny v závislosti na pohlaví a věku

Tabulka 21: Testování biochemických hodnot

	Korelace hodnot a věku		Test korelace (p-hodnota)	
	granule	gr.+dom.str.	granule	gr.+dom.str.
celk.bílk.	0.4394128	0.6430632	0.1159	0.1684
glukóza	0.1349575	0.01907489	0.6455	0.9714
cholest.	-0.03477857	-0.1109485	0.906	0.8343
ALT	0.4066923	0.7120092	0.149	0.1125

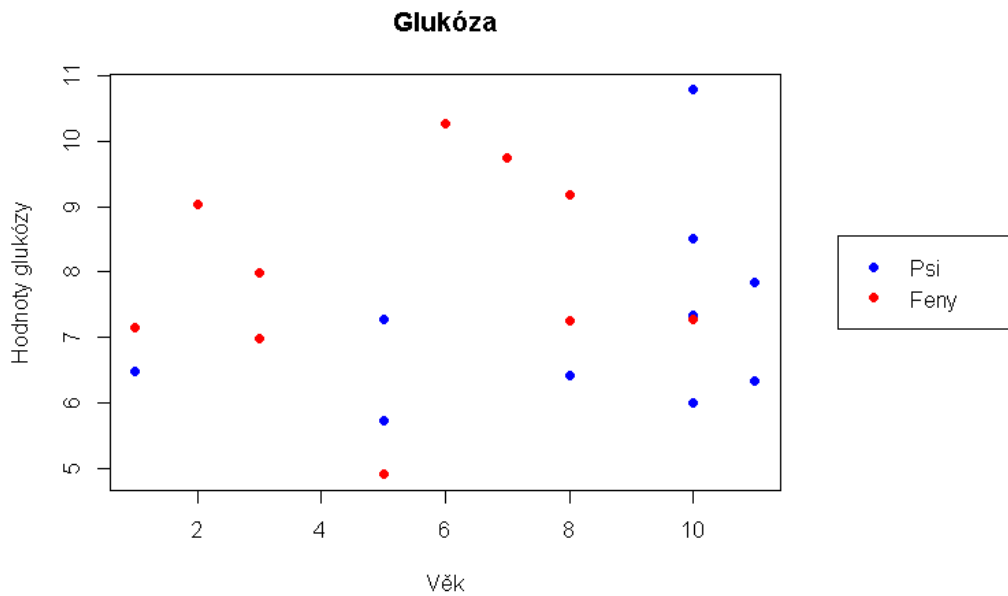
Testy korelace věku s biochemickými hodnotami kategorizovanými podle krmiva vyšly všude nevýznamné. Nicméně za povšimnutí stojí vyšší korelace u celkové bílkoviny pro obě kategorie (0,43 pro granule a 0,64 pro granule+domácí strava) a také u ALT taktéž pro obě kategorie (0,41 pro granule a 0,71 pro granule+domácí strava). Stejně jako u předchozí situace i tady nezamítnutí hypotéz může být způsobeno malým množstvím dat. Například již zmíněná korelace věku a ALT pro skupinu s krmivem granule+domácí strava vyšla velmi vysoká, avšak test nemohl nulovou hypotézu zamítnout. Trend lze pozorovat i na datech na grafu č.14. Nicméně 6 pozorování nestačilo i při takto vysoké korelaci nulovou hypotézu zamítnout.

Grafy - kategorizováno podle pohlaví

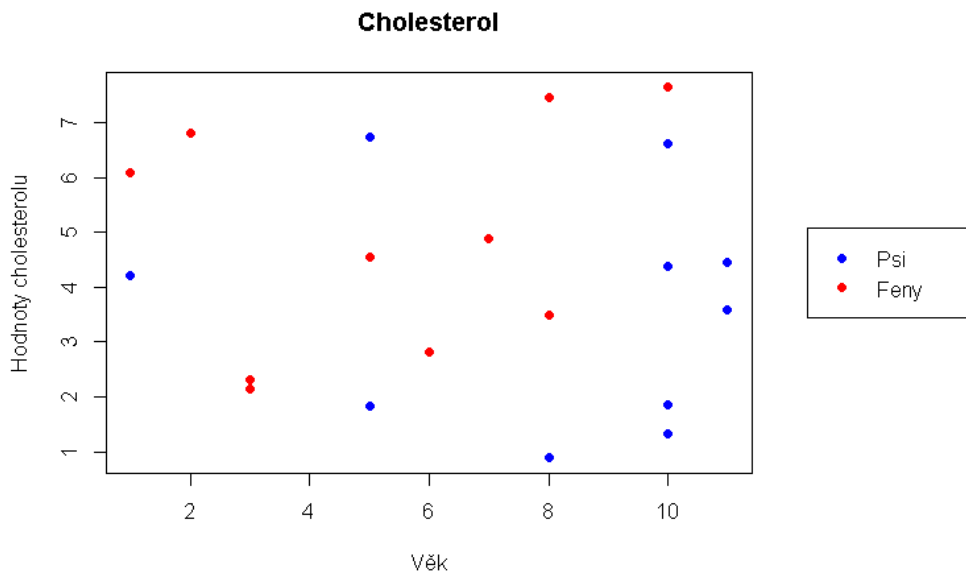


Graf 16: Srovnání hodnot celkové bílkoviny v závislosti na pohlaví a věku

Na grafu lze pozorovat pozitivní trend obou proměnných pro pohlaví pes, tedy s rostoucími věkem psa roste i jeho hodnota celkové bílkoviny. Tato korelace je navíc statisticky významná, není tedy nulová. Podobně lze tento trend pozorovat i u fen. Nicméně v tomto případě vychází korelace nižší a statisticky nevýznamná.

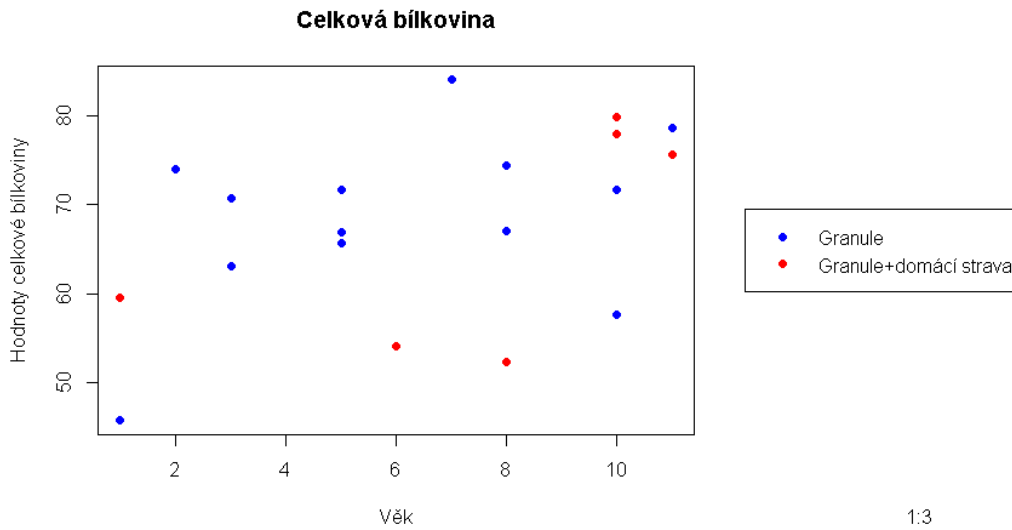


Graf 17: Srovnání hodnot glukózy v závislosti na pohlaví a věku



Graf 18: Srovnání hodnot cholesterolu v závislosti na pohlaví a věku

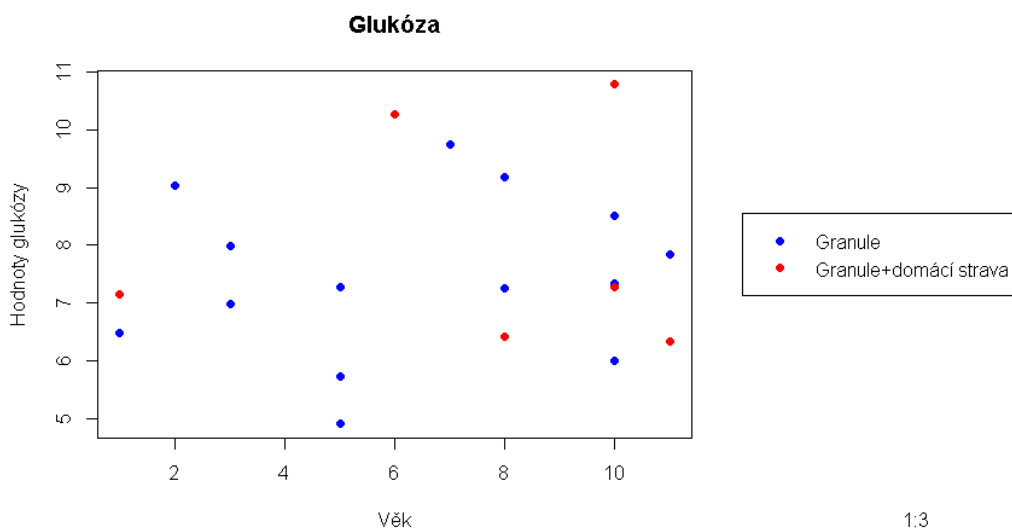
Grafy - kategorizováno podle krmiva



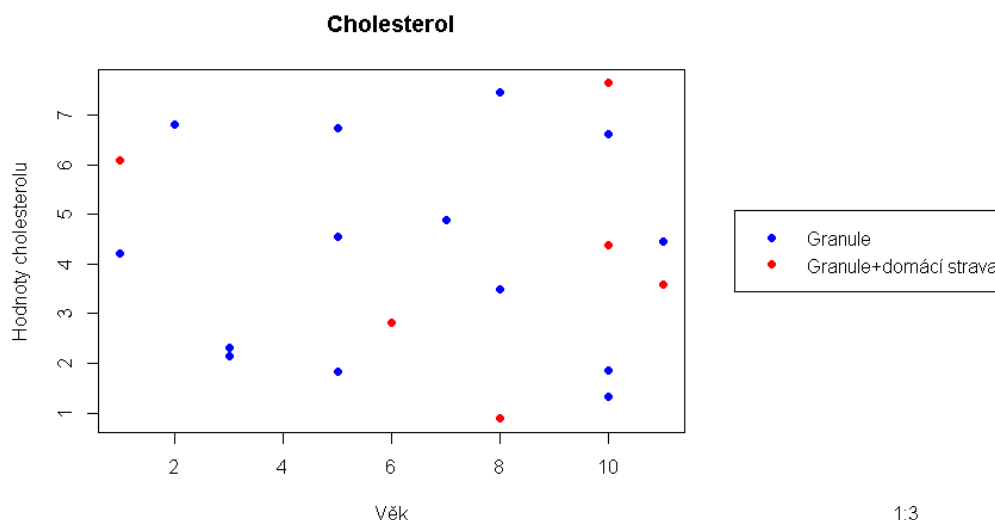
Graf 19: Srovnání hodnot celkové bílkoviny v závislosti na stravě a věku

Podobně jako u kategorie pohlaví i pro kategorii krmivo vidíme pozitivní korelace věku a hodnoty celkové bílkoviny. V tomto případě však korelace nejsou statisticky významné.

U kategorie krmiva “granule+domácí strava” by však bylo potřeba více dat. U těchto 6 pozorování se nabízí kromě lineárního trendu i trend exponenciální. Otázkou však zůstává, do jaké míry těchto 6 pozorování reprezentuje celou populaci. U kategorie krmiva “granule” můžeme taky pozorovat pozitivní vliv obou proměnných, nicméně ne tak silný.



Graf 20: Srovnání hodnot glukózy v závislosti na stravě a věku



Graf 21: Srovnání hodnot cholesterolu v závislosti na stravě a věku

5.3 Srovnání plemen

Vzhledem k různorodosti plemen nebylo možné určit výsledky pro určité plemeno. Výsledky pro sledovaná plemena jsou velice rozdílná. K dosažení adekvátních výsledků je třeba sledovat větší skupinu jedinců z každého plemene.

Německý ovčák (fena č. 1, 5), kříženec německého ovčáka (pes č.4) a doberman (pes č. 10, fena č. 7) měli zvýšené hodnoty červených krvinek nad referenční hodnoty. Pouze kokršpaněl měl hodnoty červených krvinek, hematokritu, hemoglobinu pod referenční hranici.

Cholesterol měly všechny feny v mezích referenčních hranic, ale u psů měl kříženec am. staford. teriéra, kříženec knírače, labradorský retrívr a doberman hladinu cholesterolu pod referenční hranice.

Zvýšené ALT měla fena dobrmana (č. 7), psi labradorský retrívr (č. 1, 3, 9) a kříženec německého ovčáka (č. 4). Z tohoto závěru je možné usuzovat, že plemena jako je labradorský retrívr jsou náchylnější ke zvyšování jaterního enzymu ALT a díky tomu k onemocnění jater.

6 Diskuze

Bylo sledováno 20 jedinců, kteří byli rozděleni na 2 skupiny (feny a psy). Jedinci byli různého věku 1 - 11 let, různé fyzické zátěže, zdravotního stavu a plemene. Tato různorodost může být důsledkem nejednoznačnosti výsledků. Pro lepší výsledky by také bylo třeba sledovat větší skupinu jedinců stejného plemene nebo věku. Hodnoty, které byly naměřeny, byly srovnány s referenčními hodnotami. V dnešní době vzrůstá popularita krmení syrové stravy BARF a asi by bylo zajímavé porovnat jedince krmené BARF stravou a granulovaným krmivem.

Erytrocyty

Pro hodnoty erytrocytů byly použity ke srovnání referenční hodnoty 5,5 - 8,5 T/l.

Pro srovnání Feldman et al. (2000) uvádí referenční hodnoty 4,0 - 5,6 T/l u štěňat plemene bígl od narození do 3 dnů. U feny č. 1, 5 a 7 byla naměřena hodnota nad referenční hranici. U psa č. 8 byla hodnota pod referenční hranicí, pes č. 4 a 10 měl hodnoty nad referenční hranicí. U jedinců krměných granulovanou stravou byly zvýšené hodnoty červených krvinek oproti jedincům krměných stravou kombinovanou. Ze zjištěných rozdílů mezi plemeny bylo zvýšení červených krvinek u plemene německý ovčák a doberman. Rozmezí naměřených hodnot u fen bylo 6,08 - 9,92 T/l. Rozmezí naměřených hodnot u psů bylo 5,10 - 10,70 T/l. Ve srovnání s diplomovou prací Novákové (2012), která sledovala hodnoty štěňat psů a fen u plemene bígl bylo rozmezí hodnot pro feny i psy v této práci nižší, pro feny bígla 3,6 - 6,65 T/l. Rozmezí hodnot u psů bígla bylo 3,47 - 7,18 T/l.

Příčinou zvýšených hodnot mohou být dle Doubka a kol. (2010) hematologické malignity nebo dehydratace. Snížené hodnoty mohou být způsobeny redistribucí tělesných tekutin.

Hematokrit

Pro hodnoty hematokritu byly použity ke srovnání referenční hodnoty 44 - 52%. Průměrná hodnota dle Novákové (2012) byla u štěňat psů bíglů zjištěna 27 - 38% a u fen 28 - 40%. Štěňata tedy mají oproti dospělým psům hodnoty nižší.

Z naměřených zvířat měla pouze fena č. 4 hodnotu v referenčním rozmezí, zbylé feny měly hodnoty nad toto rozmezí. U psa č. 8 byla hodnota pod referenční hranicí, u psa č. 2, 3, 4, 5, 6, 7, 9, 10 byly hodnoty nad referenční hranicí. Pouze u psa č. 1 byly hodnoty v mezích referenčních hodnot. U jedinců krměných granulovanou stravou byly zvýšené hodnoty hematokritu oproti jedincům krměných stravou kombinovanou.

Sledování hodnot hematokritu může sloužit ke zjednodušenému posouzení stupně anémie. Zvýšené hodnoty hematokritu mohou být způsobeny makrocytózami nebo dehydratací. Snížené hodnoty mohou být způsobeny redistribucí tělesných tekutin (Doubek a kol., 2010).

Hemoglobin

Pro hodnoty hemoglobinu byly použity ke srovnání referenční hodnoty 12 - 18 g/100 ml. Pro srovnání Feldman et al. (2000) uvádí referenční hodnoty 12,9 - 18,7 g/100ml u štěňat plemene bígl od narození do 3 dnů. U feny č. 1 byla naměřena hodnota nad referenční hranici. U psa č. 7 a 10 byla naměřena hodnota nad referenční hranici. U psa č. 8 byla zjištěna hodnota pod referenční hranici.

Rozmezí naměřených hodnot u fen bylo 13,8 - 20,1 g/100 ml. Rozmezí naměřených hodnot u psů bylo 10,7 - 18,8 g/100 ml. Ve srovnání s diplomovou prací Novákové (2012) bylo rozmezí hodnot štěňat fen u plemene bígl 7,9 - 15,4 g/100ml. Rozmezí hodnot u psů bígla bylo 7,5 - 14,8 g/100ml. Hodnoty štěňat bíglů jsou nižší než u dospělých psů.

Zvýšené hodnoty hemoglobinu mohou být způsobeny hematologickými malignitami nebo dehydratací. Snížené hodnoty mohou být způsobeny redistribucí tělesných tekutin (Doubek a kol., 2010).

MCV - střední objem erytrocytu

Pro hodnoty hemoglobinu byly použity ke srovnání referenční hodnoty 65 - 75 fl. Pro srovnání Feldman et al. (2000) publikoval referenční hodnoty 88,3 - 100 g/100ml u štěňat plemene bígl od narození do 3 dnů, které jsou vyšší než u dospělých psů. U všech fen byla hodnota nad referenční hranici. Pouze pes č. 6 měl hodnoty v mezích referenčních hodnot. Byl také zjištěn rozdíl MCV mezi pohlavím. Rozmezí naměřených hodnot u fen bylo 76 - 87 fl. Rozmezí naměřených hodnot u psů bylo 75 - 88 fl. Ve srovnání s diplomovou prací Novákové (2012) bylo rozmezí hodnot štěňat fen u plemene bígl 58 - 85 fl. Rozmezí hodnot u psů bígla bylo 59 - 83 fl. Hodnoty štěňat bíglů jsou nižší než u dospělých psů. Zvýšené hodnoty MCV mohou být způsobeny makrocytózami nebo hypoosmolálními stavy (Doubek a kol., 2010).

Leukocyty

Pro hodnoty leukocytů byly použity ke srovnání referenční hodnoty 6 - 17 G/l. Rozmezí naměřených hodnot leukocytů u fen bylo 7 - 21,8 G/l. Rozmezí naměřených hodnot leukocytů u psů bylo 6,9 - 41,8 G/l. Hodnoty dospělých psů jsou až na 1 výjimku podobné.

Ve srovnání s diplomovou prací Novákové (2012) bylo rozmezí hodnot leukocytů štěňat fen u plemene bígl 7,3 - 22,9 G/l. Rozmezí hodnot leukocytů u psů bígla bylo 6,8 - 21,8 G/l.

Pro hodnoty lymfocytů byly použity ke srovnání referenční hodnoty 1 - 3,6 G/l, monocytů 0 - 0,5 G/l, neutrofilů 3,3 - 10,5 G/l, eozinofilů 0 - 0,6 G/l, bazofilů 0 - 0,1 G/l.

Fena č. 3 měla zvýšené hodnoty neutrofilů nad referenční rozmezí. Fena č. 4 měla zvýšené hodnoty lymfocytů, neutrofilů nad referenční rozmezí. Fena č. 5 zanedbatelně zvýšené hodnoty lymfocytů. Fena č. 7 měla zvýšené hodnoty neutrofilů nad referenční rozmezí. Fena č. 9 měla zvýšené hodnoty neutrofilů nad referenční rozmezí. Fena č. 10 měla nepatrně zvýšené hodnoty neutrofilů.

Pes č. 3 měl zvýšené hodnoty neutrofilů nad referenční rozmezí. Pes č. 4 měl všechny hodnoty v mezích referenčních hodnot. Pes č. 8 měl zvýšené hodnoty lymfocytů a více než trojnásobně zvýšené hodnoty neutrofilů. Pes č. 10 měl zvýšené hodnoty neutrofilů nad referenční rozmezí.

Zvýšené hodnoty neutrofilů mohou být způsobeny stresem, záněty, bakteriální infekcí, šokem, hemolytickými stavy, nekrózami, neoplazií. Zvýšené hodnoty lymfocytů mohou být způsobeny chronickou infekcí, hypoadrenokorticismem, lymfocytární leukemií (Doubek a kol., 2010).

Celková bílkovina

Pro hodnoty celkové bílkoviny byly použity ke srovnání referenční hodnoty 54 - 75 g/l.

Pro srovnání Kaneko et al (2008) uvedl referenční hodnoty 54 - 71 g/l.

U feny č. 1 a 6 byla naměřena hodnota nad referenční hranici. U psa č. 1 a 5 byla naměřena hodnota pod referenční hranici. U psů č. 3, 4, 8 a nepatrně u psa č. 7 byla hodnota nad referenční hranici. Hodnoty celkové bílkoviny se s přibývajícím věkem zvyšovaly u psů, tento trend bude pravděpodobně sledován i u fen. U jedinců krmených kombinovanou stravou (granulované krmivo + domácí strava) byl pozorován nárůst hodnot celkové bílkoviny s přibývajícím věkem. U jedinců krmených granulovaným krmivem nebyl tento nárůst tak významný.

Zvýšené hodnoty celkové bílkoviny mohou být způsobeny infekcí, záněty, hypersenzitivitou a autoimunitními nemocemi, hemolýzami, dehydratací nebo anaboly. Snížené hodnoty mohou být způsobeny deficitem proteinů v dietě, malasorpčí, poruchou funkce jater nebo krváceninami (Doubek a kol., 2010).

Glukóza

Pro hodnoty glukózy byly použity ke srovnání referenční hodnoty 3,1 - 6,7 mmol/l.

Pro srovnání Kaneko et al (2008) uvádí referenční hodnoty 3,61 - 6,55 mmol/l.

U feny č. 4 byly naměřeny hodnoty v mezích referenční hranice. Ostatní feny měly hodnoty nad referenční hranici. U psa č. 3, 4, 6, 8, 10 byla naměřena hodnota nad referenční hranici. Zvýšené hodnoty glukózy mohou být způsobeny akutním stresem, extrémní fyzickou námahou, onemocněním diabetes mellitus, aplikací kortikoidů nebo po nakrmení (Doubek a kol., 2010).

Cholesterol

Pro hodnoty cholesterolu byly použity ke srovnání referenční hodnoty 3,5 - 7,8 mmol/l.

Pro srovnání Kaneko et al (2008) uvádí referenční hodnoty 4,0 - 7,8 mmol/l.

U feny č. 7, 8, 9, 10 byly naměřeny hodnoty pod referenční hranice. U psa č. 5, 9, 10 byla naměřena hodnota pod referenční hranici..

Snížené hodnoty mohou být způsobeny jaterními indisfunkcemi, nízkotukovou dietou (Doubek a kol., 2010).

ALT

U feny č. 7 byly naměřeny hodnoty nad referenční hranici. U psa č. 1, 3, 4, 9 byly naměřeny hodnoty nad referenční hranici. Zvýšené hodnoty ALT měla plemena doberman, labradorský retrievr a kříženec německého ovčáka. Byly zjištěny rozdíly mezi pohlavím, pro potvrzení vztahu k věku by bylo potřeba větší množství dat. Hodnoty ALT jsou ale závislé na typu krmiva, kde u jedinců krmených kompletní granulovanou stravou byly zjištěny hodnoty vyšší. Rozmezí naměřených hodnot u fen bylo 0,2- 1,37 μ kat/l. Rozmezí naměřených hodnot u psů bylo 0,35- 2,41 μ kat/l. Ve srovnání s diplomovou prací Novákové (2012) bylo rozmezí hodnot štěňat fen u plemene bígl 0,23 - 0,45 μ kat/l . Rozmezí hodnot u psů bígla bylo 0,33 - 0,54 μ kat/l. Hodnoty štěňat bíglů jsou nižší než u dospělých psů.

Zvýšené hodnoty ALT mohou být způsobeny poškozením funkce jater v důsledku infekce, sepsí, traumatickým šokem, akutní anémií nebo obezitou (Doubek a kol., 2010).

Při vyhodnocení je nutné počítat s laboratorní chybou spojenou s odběrem krve, dopravě krve, manipulací krve a následném skladování nebo úpravě vzorku.

7 Závěr

- Cílem této práce bylo sledování základních hematologických a biochemických hodnot u různých plemen psů ve vztahu k věku, výživě a pohlaví. Hypotéza práce byla založena na zjištění rozdílných hodnot u jednotlivých plemen psů. Cíl této práce byl splněn, byly zjištěny rozdíly mezi plemeny a rozdíly ve vztahu k věku a výživě.
- Přínosem této práce je zjištění vybraných hematologických a biochemických hodnot a možnost jejich dalšího využití.
- Z odebraných vzorků byly stanoveny hematologické ukazatele (RBC, HGB, HCT, MCV, WBC) a biochemické ukazatele (TP, GLU, CHOL, ALT).
- Pro statistické vyhodnocení byla použita metoda ANOVA.
- Z hematologických ukazatelů bylo zjištěno zvýšení počtu červených krvinek a hematokritu u jedinců krmených granulovanou stravou. Rozdíl byl také zjištěn u MCV mezi pohlavími, kde u fen byl trend klesající zatímco u psů rostoucí.
- Z biochemických ukazatelů byly zjištěny rozdíly u hodnot ALT a to mezi pohlavími a vztahem k výživě. S přibývajícím věkem sledovaných jedinců se zvyšovaly hodnoty celkové bílkoviny u psů a u jedinců krmených kombinovanou stravou (granulované krmivo + domácí strava) .
- Pokud se týká plemen, tak bylo zjištěno zvýšení červených krvinek u plemene německý ovčák a dobrman. Zvýšené hodnoty ALT měla plemena dobrman, labradorský retrievr a kříženec německého ovčáka.

8 Seznam literatury

Alvarez, L., Whittemore, J.C. 2009. Liver Enzyme Elevations in Dogs: Diagnostic Approach. Compendium: Continuing Education for Veterinarians VOL 31, NO 9. Veterinary Learning Systems. Tennessee. [cit. 2009-09]. p. 416-425

Burger, I. 1993. The Waltham Book of Companion Animal Nutrition. Pergamon Press Limited. Oxford UK. p.200. ISBN 0 -08-040844-3.

Červinka, O., Dědek, V., Ferles, M. 1980. Organická chemie. Praha. 759 s. ISBN 80-85427-03-6.

Doubek, J., Bouda, J., Doubek, M., Fürll, M., Knotková, Z., Pejřilová, S., Pravda, D., Scheer, P., Svobodová, Z., Vodička, R. 2003. Veterinární hematologie. Noviko a.s. Brno. 464 s. ISBN: 80-86542-02-5.

Doubek, J., Bouda, J., Matalová, E., Piperisová, I., Řeháková, K., Scheer, P., Šlosárková, S., Tomenendálová, J. 2010. Interpretace základních biochemických a hematologických nálezů u zvířat. Noviko s.r.o. Brno. 102 s. ISBN: 978-80-86542-22-5.

Day, M., Mackin, A., Littlewood, J. 2000. Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. BSAVA. p. 313. ISBN: 0905214390.

Feldman, B. F., Jain, N. C., Zinkl, J.G., Eds., 2000. Schalm's Veterinary Hematology. 5th ed. Blackwell Publishing Limited. Oxford. p. 1344. ISBN: 0683306928

Fontes, J.A., Banerjee, U., Iazbik, C., Marín, L.M., Couto, C.G., Palmer, A.F. 2015. Effect of ascorbic acid on storage of Greyhound erythrocytes. American Journal of Veterinary Research. [cit. 2015-09] 76(9):789-800. p. 789-800

Gärtner, H., Hoffmann, M., Schaschke, H., Schürmannová, I. M. 2007. Kompendium chemie. Universum. Mnichov. 544 s. ISBN 978-80-242-2012-3.

Hřebíčková, Š. 2009. Antioxidanty a volné radikály: rozdělení, jejich kapacita a aktivita. *Výživa a potraviny*. 2/2009. 30–32 s.

Hrušková, J., 2009. Biochemická vyšetření krve. Dostupné z:
<http://www.szsemb.cz/admin/upload/sekce_materialy/Biochemická_vyšetření_krve.pdf>

Jain, S., Patel, P.R., Raval, S.K. 2013. Changes in Haematological Parameters in Adult and Geriatric Dogs. *Veterinary Practitioner*. Vol. 14 No. 2. India. p. 230-231.

Kajerová, V., Rybář, J., Skřivan, P. 2006. Atlas hematologie zvířat. Hradec Králové. 19 s.

Kaneko, J.J., Bruss, M.L., Harvey, J.W. 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. 6th ed. Academic Press. USA. 928 p. ISBN: 978-0-12-370491-7.

Khan, S.A., Desmond, J., Elahi, M.F., Epstein, J.H., Haider, N., Hassan, M.M., Hossain, M.B., Mamun, M.A., Olival, K.J., Rahman, K.B.M.A., Yasin, G. 2011. Hematology and serum chemistry reference values of stray dogs in Bangladesh. *Open Veterinary Journal*, Vol. 1: 13-20. p.13-20.

Kerr, M.G. 2002. *Veterinary Laboratory Medicine - Clinical Biochemistry and Haematology*. 2nd ed. Blackwell Science. UK. p.386. ISBN 0-632-04023-8.

Marounek, M. 2006. Povaha a mechanismus účinků antioxidantů, význam ve výživě zvířat a lidí. *Vědecký výbor výživy zvířat*. Praha. 38 s.

McNamara, J.P. 2006. *Principles of Companion Animal Nutrition*. 1st ed. Pearson Education. Incorporation, New Jersey, USA . p.336. ISBN 0131512587

Mudřík, Z., Podsedníček, M., Hučko, B. 2007. *Základy výživy a krmení psa*. Powerprint, s. r. o., Praha. 128 s. ISBN 978-80-213-1659-1.

Murray, S.M., Fahey, G.C., Merchen, N.R., Sunvold, G.D., Reinhart, G.A. 1999. Evaluation of selected high starch flours as ingredients in canine diets. *Journal of Animal Science*. 77(8). p.2180-2186.

Názvosloví v oboru výživy a krmení hospodářských zvířat: Oborová norma. Praha:Úřad pro normalizaci a měření. 1983, 68 s.

Novosádová, K. 2011. Barf- Krmení psa přirozenou stravou. Plot. Praha 232 s. ISBN: 978-80-7428-062-7.

Nelson, R.W., Couto, C.G. 2014. *Small Animal Internal Medicine*. 5th ed. Mosby. USA. 1504 p. ISBN 9780323243001.

Nováková, J. 2012. Fyziologické změny krevního obrazu u štěňat plemene Bígl. Česká zemědělská univerzita v Praze. 61 s.

Ravnborg, L., Pedersen, L.R., Teilum, D. 2009. Gallbladder Stones Classified by Chemical Analysis of Cholesterol Content. *Scandinavian Journal of Gastroenterology* Vol.20/ Is. 7. p. 720-724.

Reece, W. O. 1998. *Fyziologie domácích zvířat*. Grada, Praha. 449 s. ISBN 80-7169-547-5.

Simon, S. 2010. *Zdravá výživa pro starého nebo nemocného psa, Syrová strava BARF*. Grada, Praha. 87 s. ISBN 978-80-247-3241-1.

Slováček, L. 2002. Vitamíny ve výživě psa. *Pes přítel člověka*. 7/47. 8–9 s.

Svoboda, M., Senior, D. F., Doubek, J., Klimeš, J. a kol., 2000. *Nemoci psa a kočky – I. díl*. Noviko, a. s., Brno. 1014 s. ISBN 80-902595-2-9.

Stack, S. 2015. *Greyhound Bloodwork*. Dostupné z: <http://www.greythealth.com/blood.html>

Summers, A. 2002. *Common Diseases of Companion Animals*. Mosby Incorporated. St Louis USA. p. 395. ISBN 0323012604.

Twedt, D.C. 2009. *Abnormal Liver Ezymes: A Practical Clinical Approach*. Washington D.C. [cit. 2009-04-01]. Dostupné z: <<http://veterinarycalendar.dvm360.com/abnormal-liver-enzymes-practical-clinical-approach-proceedings?id=&sk=&date=&pageID=2>>.

Vigué, J., Orte, M. E. 2008. *Atlas lidského těla v obrazech*. REBO PRODUCTIONS CZ, s.r.o. Praha. 560 s. ISBN: 978-80-7234-896-1.

Weiss, D.J., Wardrop, K.J., Boudreaux, M.K., Brooks, M.B., Callan, M.B., Messick, J.B., Modiano, J.F., Moritz, A., Raskin, R.E., Teske, E., Wellman, M.L. 2010. *Schalm's Veterinary Hematology* 6th ed. Wiley-Blackwell. USA. p.1232. ISBN: 978-0-8138-1798-9.

Wortinger, A. 2007. *Nutrition for Veterinary Technicians and Nurses*. Blackwell Publishing Limited. USA. p. 256 ISBN: 0813829135.

9 Seznam použitých zkratek

WBC: počet bílých krvinek (G/l)

RBC: počet červených krvinek (T/l)

HGB: koncentrace hemoglobinu (g/100ml)

HCT: hematokrit (%)

MCV: střední objem erytrocytů (fl)

LY: absolutní počet lymfocytů

MO: absolutní počet monocytů

NE: absolutní počet neutrofilů

BA: absolutní počet bazofilů

EO: absolutní počet eozinofilů

TP: celková bílkovina (g/l)

GLU: glukóza, krevní cukr (mmol/l)

CHOL: cholesterol (mmol/l)

ALT: alaninaminotransferáza, jaterní enzym (μ kat/l)

ATP: adenosintrifosfát

BHA: butylhydroxyanizol

BHT: butylhydroxytoluen

10 Přílohy

10.1. Seznam uvedených grafů

Graf 1: Srovnání hodnot bílých krvinek v závislosti na pohlaví a také věku	48
Graf 2: Srovnání hodnot bílých krvinek v závislosti na krmivu a věku	49
Graf 3: Srovnání hodnot červených krvinek v závislosti na pohlaví a věku	51
Graf 4: Srovnání hodnot hematokritu v závislosti na pohlaví a věku.....	51
Graf 5: Srovnání hodnot hemoglobinu v závislosti na pohlaví a také věku	52
Graf 6: Srovnání hodnot MCV v závislosti na pohlaví a věku.....	52
Graf 7: Srovnání hodnot bílých krvinek v závislosti na pohlaví a věku.....	53
Graf 8: Srovnání hodnot červených krvinek v závislosti na typu stravy a věku	53

10.2. Seznam uvedených tabulek

Tabulka 1: Feny	33
Tabulka 2: Psi	34
Tabulka 3: Referenční hodnoty vybraných parametrů u psů	41
Tabulka 4: Naměřené hematologické hodnoty u fen	41
Tabulka 5: Naměřené hematologické hodnoty u psů.....	42
Tabulka 6: Referenční hodnoty leukocytů u psů	43
Tabulka 7: Leukogram fen.....	44
Tabulka 8: Leukogram psů	45
Tabulka 9: Referenční biochemické hodnoty	56
Tabulka 10: Celková bílkovina fen.....	56
Tabulka 11: Celková bílkovina psů	57
Tabulka 12: Hodnota glukózy u fen	57
Tabulka 13: Hodnota glukózy u psů	58
Tabulka 14: Hodnota cholesterolu u fen.....	59
Tabulka 15: Hodnota cholesterolu u psů	60
Tabulka 16: Hodnota ALT u fen.....	60
Tabulka 17: Hodnota ALT u psů	61

10.3. Seznam uvedených obrázků

Obrázek 1: Schematické zobrazení hematokritu (www.medicina.ronnie.cz).....	21
Obrázek 2: Psi erythrocyty zobrazující normální centrální bledost, jeden zralý neutrofil u kterého se granula barví slabě růžovou (Weiss and Wardrop, 2010)	23
Obrázek 3: Zjednodušené znázornění etap erythropoesy (Kerr, 2002)	24
Obrázek 4: Trombocyty psa (Kajerová a kol., 2006)	25
Obrázek 5: Schematické znázornění etap megakaryocytů (Kerr, 2002).....	26
Obrázek 6: Dva zralé neutrofilly obsahující zralý chromatin a segmentované jádro. Wright - Giemsovo barvení (Weiss and Wardrop, 2010).....	27
Obrázek 7: Hematologickém analyzátor Nihon Kohden Celltac MEK 5208 K (foto: Eva Pechová).....	35
Obrázek 8: Krevní nátěry (foto: Eva Pechová).....	36
Obrázek 9: Hemogram u psa (Doubek a kol., 2003)	37
Obrázek 10: Přístroj LIBRA 22 (foto: Eva Pechová).....	38
Obrázek 11: Komplex pro určení celkové bílkoviny (foto: Eva Pechová).....	38
Obrázek 12: Komplex pro určení glukózy (foto: Eva Pechová).....	39
Obrázek 13: Proces stanovení ALT (www.stary.lf2.cuni.cz)	40