

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravních a přírodních zdrojů
Katedra veterinárních disciplín



**Studium hematologických a biochemických
ukazatelů u plemene Border Kolie**

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Zuzana Havlíková

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

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma: „Studium hematologických a biochemických ukazatelů u plemene Border Kolie“ vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příloženém seznamu použité literatury.

V Praze, dne 10. 4. 2013

.....

Bc. Zuzana Havlíková

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí diplomové práce doc. Ing. Aleně Fučíkové, CSc. za odbornou pomoc, připomínky a vedení při řešení zadaného úkolu. Dále bych chtěla poděkovat veterinární klinice Animal Clinic za poskytnutí hematologického a biochemického analyzátoru k měření zvolených ukazatelů krve.

Souhrn

Tématem mé diplomové práce je studium hematologických a biochemických ukazatelů krve u plemene Border Kolie. Cílem této práce je odebírat krev pravidelně 1x za měsíc po dobu 1 roku a porovnání mnou naměřených hodnot s referenčními hodnotami publikovaných v odborné literatuře. Postup a zpracování mé diplomové práce, byl rozdělen do třech částí. Vlastní sběr dat, zpracování literární rešerše a jako poslední vyhodnocení výsledků se závěrem.

Sběr dat probíhal od dubna 2012 do dubna 2013. Jednalo se o skupinu 12 psů (6 fen a 6 psů) plemene Border Kolie. Krev byla skupině odebírána pravidelně 1x za měsíc po dobu 1 roku. Z hematologických ukazatelů byly vyšetřovány tyto ukazatele: WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, PCV, LYM, MON, EO, GRA. Z biochemického profilu jsme měřili parametry BUN, GLU, ALP, T-PRO, GPT, CRE. Z důvodu obrovského množství dat jsem ve výsledcích vyhodnotila tři hematologické a tři biochemické ukazatele. Z hematologického profilu: WBC, RBC, PLT a z biochemického profilu jsme ve výsledcích hodnotila parametry BUN, ALP, T-PRO. Více o konkrétním postupu odběru a zpracování vzorků je uveden v kapitole: „Materiál a metody“.

V literární rešerši jsem se zaměřila nejprve na historii plemene a nejobsáhlejší částí literární rešerše je popis krve a její složky. Práce popisuje hematologii a biochemii jako samostatný celek tak i popis jednotlivých měřených parametrů.

V závěru je vlastní zpracování výsledků měření, pomocí Microsoft Excel byly hodnoceny běžné statistické popisné charakteristiky (střední hodnota, chyby střední hodnoty, modus, medián, směrodatná odchylka, rozptyl výběru, interval spolehlivosti, aritmetický průměr, rozptyl). Dále jsem použila program Statistica k výpočtu Testu Normality a Friedmanova testu. Výsledky měření jsou uvedeny v kapitole: „Výsledky“. Dále jsme stanovily nulovou hypotézu H_0 : měsíc nemá vliv na hodnotu ukazatele (hodnoty ukazatele se v průběhu roku neliší). Hodnota p je nejnižší hladina významnosti. Nulovou hypotézu zamítáme pro parametry trombocyty (PLT) a celkové bílkoviny (T-PRO). Pro parametry leukocyty (WBC), erytrocyty (RBC), močovina (BUN) a ALP nulovou hypotézu nezamítáme. Více uvedeno v kapitole: „Výsledky“. V závěru práce je diskutována laboratorní chyba, a to jak z pohledu lidského faktoru, tak i z pohledu chyb přístrojů. Přestože většina přístrojů dokáže během několika minut vyhodnotit krev s výsledky jednotlivých měřených parametrů i přesto většina humánních i veterinárních laboratoří stále používá mikroskopickou kontrolu měření. **Klíčové slova:** Border Kolie, krev, funkce krve, hematologie, biochemie

Summary

These dissertation work is interested in hematologic and biochemistry parameters of Border Colies. The goal of this work is blood sampling once a month and comparing the results with reference ranges published in literature. Dissertation has three parts. The first is about data collecting, second is literature research and the last one is results evaluation and conclusion making.

Data collecting started on april 2012 and finished on april 2013. The testing group contained 12 dogs (6 males, 6 females). Blood sampling was provided once a month during one year. From hematologic parameters I was interested in: WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, PCV, LYM, MON, EO, GRA. From biochemistry BUN, GLU, ALP, T-PROT, GPT, CRE were measured. Because of large amount of dates only three hematologic and biochemistry parameters were evaluated. It was WBC, RBC, PLT from hematology and BUN, ALP and T-PRO from biochemistry parameters. More informations about concrete procedures are included in chapter „Methods and materials“.

In literature research I was focused on the history of breed and blood parameters. Dissertation work describes blood parameters and their evaluating.

Conclusion contains measured results elaboration. With help of Microsoft Excel programe were evaluated common described characteristics (mean value, mean value error, modus, median, sampling variance, arithmetic mean, scattering, confidence interval). Program Statistica for Normality Test and Friedman Test providing was used. In minima and maxima of confidence interval I compared, if results of confidence interval correspond to reference ranges published in literature. All results are included in chapter „Results“. We already determined zero hypothesis H_0 : A month of a year has no influence to blood parameters. P level is the lowest significancy level. For parameteres thromobocytes (PLT) and total protein (T- PROT) the zero hypothesis was rejected. For parameters leucocytes (WBC), erythrocytes (RBC), blood urea (BUN) and ALP it was not rejected. You can read more in chapter „Results“. In conclusion blood errors are discussed including fail of human factor as well as maschine errors. Despite the fact that most of lab maschines are able to provide the blood work during few minutes a lot of laboratories still use microscopically provided recheck of results.

Key words: Border Colie, blood, blood function, hematology, biochemistry

Obsah

1. ÚVOD	1
2. CÍL PRÁCE	2
3. LITERÁRNÍ REŠERŠE	3
3.1 Plemeno Border Kolie	3
3.2 Krev a její funkce	6
3.3 Hematologie	7
3.3.1 Odběr a zpracování vzorku	8
3.3.1.1 Preanalytická fáze	8
3.3.1.1.1 Zkumavky EDTA	10
3.3.1.1.2 Heparinové zkumavky	10
3.3.1.2 Analytická fáze	11
3.3.1.3 Postanalytická fáze	12
3.3.2 Erytrocyty	13
3.3.2.1 Patologické formy erytrocytů	15
3.3.2.2 Stanovení základních hodnot erytrocytů	16
3.3.2.2.1 MCV	16
3.3.2.2.2 MCH	16
3.3.2.2.3 MCHC	16
3.3.3 Hemoglobin	18
3.3.4 Hematokrit	20
3.3.5 Leukocyty	21
3.3.5.1 Granulocyty	21
3.3.5.1.1 Neutrofily	22
3.3.5.1.2 Eozinofily	24
3.3.5.1.3 Basofily	24
3.3.5.2 Agranulocyty	25
3.3.5.2.1 Monocyty	25
3.3.5.2.2 Lymfocyty	26
3.3.6 Trombocyty	28
3.4 Biochemické vyšetření krve	30
3.4.1 Močovina	32

3.4.1.1 Akutní renální insuficience (ARI)	33
3.4.1.2 Chronická renální insuficience (CRI)	33
3.4.2 Kreatinin	34
3.4.3 Jaterní parametry	35
3.4.3.1 ALP	36
3.4.3.2 ALT	38
3.4.4 Glukóza	40
3.4.4.1 Hypoglykémie	41
3.4.4.2 Hyperglykémie	41
3.4.5 Bílkoviny	43
3.4.5.1 Celková bílkoviny	43
3.4.5.1.1 Hypoproteinemie	43
4. Materiál a metodika	45
4.1 Materiál	45
4.2 Metody stanovení	46
4.2.1 Hematologické vyšetření	46
4.2.2 Biochemické vyšetření	47
4.3 Statistické zpracování naměřených hodnot	49
4.3.1 Základní statistické hodnoty	49
5. Výsledky	50
5.1 Leukocyty (WBC)	50
5.2 Erytrocyty (RBC)	53
5.3 Trombocyty	55
5.4 Močovina	57
5.5 ALP	59
5.6 Celková bílkovina	62
6. Diskuze	65
7. Závěr	67
8. Použitá literatura	68
9. Seznam použitých zkratk	73
10. Přílohy	75

1. ÚVOD

V posledních letech se změnou životního stylu obyvatelstva, výrazným rozšířením městského způsobu života a novým sociálním i ekonomickým rozvrstvením obyvatelstva, ale i díky nebývalému technickému a vědeckému rozvoji, zaznamenáváme výraznou změnu způsobu života nejen v humánní, ale i v animální populaci. Hovoříme-li o změnách přístupu člověka ke zvířeti, je nutno vyzdvihnout zejména změnu postavení domácích zvířat, především psů a koček. Pozice psů ve smyslu pracovního využití, ostraža, pastevectví a podobně, je minulostí.

Dnes je pes vnímán lidskou společností především, jako právoplatný člen rodiny, ale mnohdy i jako společenský či módní doplněk doprovázející majitele na každém kroku. Podíváme-li se na tento aspekt z druhé strany, tedy ze strany poskytovatelů služeb a zázemí právě pro naše domácí mazlíčky i zde je nabízen nebývalý servis. Nelze si nevšimnout, ... V posledních letech právě v souvislosti se společenským, ekonomickým, ale i vědeckotechnickým rozvojem prošla výraznou změnou i veterinární medicína. Proto v současné době poskytování veterinární péče je prakticky na úrovni humánní medicíny. Stejně tak, jak lidem, tak i zvířatům je dnes vyšetřována krev téměř při každé větší zdravotní komplikaci či jen z preventivních důvodů. Pomineme-li výše uvedené důvody, kdy majitelé žádají pro své mazlíčky jen to nejlepší, nám vyšetření krve umožňuje především „technická jednoduchost“ těchto vyšetření. Dnes je součástí moderních analyzačních přístrojů téměř vždy počítač, mnohdy i s výčtem možných diagnóz.

Vzhledem k výraznému rozvoji a dostupnosti těchto metod, jsem zaměřila svoji práci právě na rozbor krve u jednoho z nejpopulárnějšího psího plemene poslední doby. Konkrétně se jedná o hematologický a biochemický profil plemene psa Border kolie.

2. CÍL PRÁCE

Cílem této práce je sledování hematologických a biochemických ukazatelů krve u plemene Border Kolie po dobu 1 roku a odebírat krev pravidelně jedenkrát za měsíc skupině 12 psů (6 samců a 6 samic) ve věku 1 – 7 let. Naše hypotéza zní, že jednotlivé parametry by se v průběhu roku neměli měnit.

V literární rešerši bylo mým cílem popsat plemeno Border Kolie, dále popsání jednotlivých postupů při správném odběru krve, krev a její složky, popsat hematologii a biochemii jako celek a jednotlivé měřené parametry.

3. LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1 Plemeno Border Kolie

Přesný původ plemene kolie je zahalen tajemstvím. Mnoho badatelů a historiků se stále dohaduje o přesném místě vzniku plemene, což je běžný případ u většiny plemen. Během doby vznikla spousta teorií o původu plemene. Mnoho lidí zastává názor, že kolie jsou původně ze Skotska a jde o potomky starověkých pasteveckých psů, kteří se později přestěhovali na Britské ostrovy. Jiní odborníci zase tvrdí, že kolie jsou potomky dalších různých typů pasteveckých psů, přivedených do Británie Římany. Když spojíme všechna fakta a prověříme je, zjistíme, že obě teorie jsou přijatelné a věrohodné, ale pro žádnou není potřebný důkaz. Může být dokázáno jedině, že kolie se postupně vyvinula v plemeno, které známe a chováme, a že jde o psa, jakého dnes milujeme, se v první řadě zasloužili velcí angličtí chovatelé v minulosti (Mooreová, 2002).

První zmínka o pracovních ovčáckých psech, tedy o Border kolii, jak ji známe, pochází z roku 1570, kdy dr. John Caius, vrchní lékař královny Alžběty I., napsal své *„pojednání o anglických psech“*. Popisuje práci Border kolie jako schopnost přivést či přihnat ovce na pánův hlas nebo hvízdnutí, bližší informace o typu psa však nepodává. Kolem roku 1700 již existovalo více zpráv o „kolii“ – pastýřském psu, oblíbeným mezi skotskými pastýři. Tito psi se osvědčovali při práci s ovci v kopcovité a hornaté krajině pohraničních hrabství Skotska, Anglie a Walesu (Mcleavy, 2008).

Angličané tvrdí, že původ jejich ovčáckých psů, a to ať už z vývojové větve asijské, představované Bobteilem a Bearded kolie, nebo z větve původních evropských ovčáků, zastupovaných na ostrovech dvěma rázy kolie a Border kolii, je prehistorický. Není důvod o tomto názoru pochybovat, neboť zástupci ovčáckých plemen se nalézají ve všech oblastech světa, kde byl rozvíjen velkochov ovcí (Císařovský, 1995). Život v blízkosti psů a dobytka vedl naše předky k tomu, aby přirozený stádní instinkt psů dále využívali a zlepšovali (Mcleavy, 2008). Poprvé byly kolie používány na podhůří Skotska jako pastevečtí psi a hlídači stád ovcí. Navíc se plemeno staralo také o ochranu svých pánů a jejich majetku (Mooreová, 2002).

Kolie původně doprovázela pastýře všude. Horští pastýři sestupovali na zimu do nížin a údolí, během jara a léta se pak vraceli na vrcholky kopců. Psi byli jejich stálými společníky,

hlídači a pracovními partnery. Tento úzký vztah je jedním z důvodů, proč se Border kolie dobře přizpůsobuje většině pracovních partnerství. Fyzické i duševní vlastnosti Border kolie se vyvíjely za jediným účelem – shánět ovce. Víte-li, jak toto plemeno své přirozené instinkty využívá, lépe pochopíte i chování Border kolie, což vede k lepšímu vzájemnému vztahu.

Border kolie pracuje s ovce tak, že zapojuje základní vztah predátor – kořist, který pastýř kontroluje. Stádní instinkt Border kolie chované jako domácí mazlíček se projevuje mnoha nežádoucími způsoby, například honění aut, cyklistů, běžců a dětí. Proto musí být instinkt zvládnut od útlého věku (McLeavy, 2008). Pracovní linie Border kolí mají silně vyvinutý lovecký instinkt, který byl šlechtěním a výcvikem usměrněn ve skvělé honácké vlastnosti, ale nedostatkem stimulace a pohybu se tato potřeba práce změnila v ničivé chování, např. honění jiných psů či lidí nebo kousavost (Fogle, 1995).

Toto plemeno má schopnost pracovat z vlastní iniciativy. Při shromažďování ovcí v kopcích může pracovat tři až pět kilometrů daleko od svého pána, aniž by dostávalo povely. Tato předvídatost a rychlost při učení s sebou nese potíže při výcviku (McLeavy, 2008).

Stejně jako kolem původu plemene, tak kolem významu slova Colie je mnoho pochybností. Někteří lidé věří, že jméno Colie je odvozeno od anglosaského slova Col, které znamenalo černá, jedné z původních barev plemene. Další teorie naznačují, že slovo Colie pochází z keltského výrazu pro užitečný. Přihlédneme-li k charakteristice plemene, oba výklady jsou přijatelné (Mooreová, 2002).

Dnešní Border kolie je potomkem pracovních kolí chovaných v hrabstvích rozkládajících se podél hranice Anglie a Skotska. První zkoušky ovčáckých psů se konaly roku 1873 v Rhiwlas Bala, v severním Walesu (McLeavy, 2008). Tato kolie se také proslavila jako nepřekonatelný účastník soutěží poslušnosti a ovladatelnosti. Do roku 1973 měla šanci se zařadit do seznamu Mezinárodní společnosti pasteveckých psů a v roce 1976 britský Kennel Club schválil standard tohoto plemene (Fogle, 1995). Standard plemene je písemný popis Border kolie (McLeavy, 2008).

Jako čistokrevné, bylo poprvé uznáno začátkem 60 let 19. století, kdy bylo představeno na výstavě v Birminghamu. Tím začala tradice třídy pro ovčácké psy v systému anglických výstav. Na první výstavě bylo představeno pouze pět kolí a všechny byly uvedeny a posouzeny, jako „*skotští ovčáckí psi*“. Během doby se rozdělily do dvou samostatných tříd pro dlouhosrsté a krátkosrsté (Mooreová, 2002).

Roku 1906 vznikla Mezinárodní společnost ovčáckých psů (ISDS). Psi mohou být u ISDS registrováni jen tehdy, jsou-li registrováni i oba rodiče. Každý pes dostane své samostatné registrační číslo. Roku 1964 uznal Anglický kynologický klub Border kolii za samostatné plemeno, ale akceptoval pouze psy zaregistrované u ISDS (McLeavy, 2008).

Ve vzhledu pak lecos projde, což zjevně dokumentuje přípustná a vyskytující se škála zbarvení, od černé přes šedou, blue merle, s bílým tečkováním, černou s bílou, zcela bílou až po kombinaci s pálením. Rozhodujícím kritériem a to v míře s jiným dnes známým plemenem nesrovnatelné – byla a je inteligence, schopnost výcviku, pracovní předpoklady. Tento staromódní ovčák či farmářská kolie, jak je často nazývána, ukazuje své schopnosti soutěžících ovčáckých psů, tzv. *sheep herding trails*, už od roku 1873 a ještě dnes tuto soutěž pravidelně přenáší i britská televize, stejně jako by šlo o utkání v kriketu (Císařovský, 1995). Standard plemene schvaluje kynologický klub v příslušné Zemi, z čehož plynou i drobné rozdíly (McLeavy, 2008). Psi měří v kohoutku 53 až 55 cm, feny jsou o něco menší. Srst je polodlouhá, lesklá, s hustou podsadou. Všechny barvy jsou přípustné, ale bílá nesmí převažovat. Nejčastěji se vyskytuje černobílá srst. Zvířata jsou velice pracovitá, inteligentní, mazaná, rychle se učí, všímavá, pohyblivá, ostražitá, velice oddaná svému pánovi a jeho rodině, tvrdá sama k sobě, statečná (Verhoef, 2006).

3.2 Krev a její funkce

Krev fascinovala lidstvo od pradávna. Staří Egypťané si mysleli, že krev pochází ze žaludku a mění se v krev v srdci. Staří Hebrejci věřili, že v krvi sídlí duše, a proto podle dávného židovského práva musely být všechny masité pokrmy zbaveny veškeré krve. To Římané se domnívali, že krev je zdrojem síly a odvahy (Doubek et al., 2003). Krev je jednou z hlavních součástí vnitřního prostředí organismu. Svým složením a funkcemi představuje životně důležitou tekutinu, která jako pohyblivé médium spojuje všechny orgány a tkáně v těle a má rozhodující homeostatický význam (Trojan et al., 1999).

Funkce krve jsou především významné při transportu (jako například transport živin, kyslíku, oxidu uhličitého, odpadních produktů, hormonů, tepla a vznik protilátek). Další funkce krve mají vztah k udržování rovnováhy tělních tekutin a acidobazické rovnováhy v těle (Reece, 1998). Krev se skládá z krevní plazmy a z korpuskulárních elementů: z erytrocytů, různých typů leukocytů a z trombocytů. Krevní plazma slouží k transportu látek a obsahuje látky pro zvláštní úkoly, např. imunoglobuliny. Různé krevní buňky mají specifické funkce (Karlson et al., 1982). Klíčovou událostí pro poznání složení krve a jejích chorob byl objev optické čočky. Její objevení je spojováno se jménem Angličana Rogera Bacona (Doubek et al., 2003). Krevní buňky byly a jsou intenzivně studovány, protože je možno je lehce izolovat, vzhledem k významné jejich funkci, a protože hrají roli v mnoha patologických procesech (Murray et al., 1998).

Biochemické a hematologické nálezy využívané v klinické praxi jsou produktem činnosti klinických laboratoří, tzn. Laboratorní vyšetření. Předmětem laboratorního vyšetření (laboratorní diagnostiky) je, ale nejen stanovení hodnot veličin biochemických a hematologických, ale i cytologických a dalších. V klinické biochemii jsou analyzovány tyto biologické materiály: krev, její části (sérum, plazma), moč, punktáty (mozkomíšni mok, hrudní, břišní, kloubní a jiné punktáty), trávicí tekutiny a stolice. V klinické hematologii jsou analyzovány: krev a její složky, tzn. krevní plazma/sérum. Pro potřeby klinické hematologie se v laboratoři vyšetřují ještě vzorky kostní dřeně, mízních uzlin, případně dalších orgánů. Při hodnocení laboratorních vyšetření je důležitá konfrontace s klinickým nálezem (Doubek, 2007).

Díky technickému pokroku jsou dnes pro privátní veterináře za poměrně rozumnou cenu dostupné automatické hematologické přístroje k provedení analýzy krve přímo na klinikách (Allison et al., 2008).

3.3 Hematologie

Hematologie je věda o tvorbě, složení a funkci krve a krvetvorných orgánů, příčinách, mechanismech vzniku a projevem patologických změn krve a krvetvorných orgánů, diagnostice a terapii těchto změn. Hematologie je významným oborem vnitřního lékařství, a tudíž neoddelitelnou součástí klinické medicíny – hematologie klinická (Doubek, 2003). Psi vykazují více hematologických patologií než ostatní druhy zvířat a z toho důvodu je u nich důležité hematologické vyšetření jako součást diagnostiky (Day et al., 2000).

Na druhé straně je krev orgán s funkcemi prostupujícími prakticky všechny orgány a orgánové systémy, na které však klinickými vyšetřovacími metodami nedosáhneme. Z toho pohledu je zvýrazněna role laboratorního vyšetření krve a krvetvorných orgánů – hematologie laboratorní (Doubek et al., 2003).

Hematologické vyšetření slouží především k odhalení stupně anémie, dehydratace a toxémie či bakteriémie (Holt et al., 2008). Hematologický profil nejčastěji zahrnuje ukazatele hemoglobinu, hematokritu, diferenciální rozpočet, celkový počet leukocytů, počet krevních destiček a celkovou morfologii všech buněk (Day et al., 2000).

Veterinární hematologie je tedy z hlediska celkového pojetí hematologií srovnávací. Krev a krvetvorné orgány mají svými funkcemi výrazné průniky do imunitního systému. Tato skutečnost našla vyjádření v bouřlivém rozvoji veterinární imunohematologie (Doubek et al., 2003).

3.3.1 Odběr a zpracování vzorku

Svoboda et al. (2000) a Doubek et al. (2003) dělí laboratorní vyšetření krve na následující fáze: preanalytická, analytická, postanalytická. Všechny fáze jsou rovnocenné, žádná z nich by neměla být podceňena. Taková tendence je občas patrná u preanalytické fáze ze strany praktických veterinárních lékařů (Doubek et al., 2003).

3.3.1.1 Preanalytická fáze

Preanalytická fáze zahrnuje: přípravu pacienta a odběrového materiálu, odběr vzorku, uchování, transport vzorku, zpracování vzorku (Svoboda et al., 2000). Preanalytická fáze je velice důležitá, rozhoduje o správnosti výsledku z více jak 50 % (Doubek et al., 2007).

Vzorky krve pro hematologická vyšetření se odebírají z kapilár a vén (Doubek et al., 2003). K hematologickému a biochemickému vyšetření se s výjimkou několika speciálních vyšetření odebírá venózní krev (Allison et al., 2008). Místa odběru u psa a kočky: *vena saphena lateralis*, *vena cephalica accesoria* (Doubek et al., 2003), *vena jugularis* (Doubek et al., 2007).

Doba odběru je nejlépe ráno (Doubek et al., 2007). Pacient by měl být před odběrem krve 12 hodin nalačno, aby se předešlo lipémii krevního séra. Přechodná lipémie je normální po příjmu tučné potravy a její velikosti a trvání jsou variabilní. Lipémie nalačno se může objevit u různých systémových onemocnění, která postihují metabolismus lipidů, a tudíž se jí nedá vyhnout. Často se stává, že zvíře není prezentováno nalačno, protože se předem nepočítalo s odběrem vzorků pro laboratorní vyšetření (Allison et al., 2008). Způsob odběru by měl probíhat vždy ve stejné poloze s minimální kompresí (Doubek et al., 2003). Odběr krve ze žíly by měl proběhnout čistým napíchnutím žíly s „minimálním“ hledáním žíly kolem (Allison et al., 2008).

Při odběru krve pro hematologickou analýzu je důležité provést čistou venepunkci, aby nedošlo ke kontaminaci tkáněmi a následné agregaci krevních destiček (Freemen et al., 1999). Pokud je obtížné odebrat dostatečné množství krve v odpovídajícím čase, vzorek se může srazit předtím než se naaplikuje do zkumavky (Allison et al., 2008). Je třeba odebírat vzorek na stanovení počtu krevních elementů jako čistý odběr z žíly, v krátkém časovém intervalu, pokud se krev odebírá do několika zkumavek.

Zkumavky s EDTA musí být naplněna jako první, vzorek se musí pečlivě, ale mírně smíchat s antikoagulační látkou okamžitě po naplnění zkumavky (Norman et al., 2001). Přítomnost malých sraženin ve vzorku je větším problémem u hematologických vzorků než u chemických výsledků (Allison et al., 2008). Trombocyty se mohou shlukovat, což má za následek falešně nízký počet trombocytů. Rovněž erytrocyty mohou v průběhu 24 hodin výrazně nabobtnat a zvýšit tak MCV a hematokrit za současného snížení MCHC (Braun et al., 2006).

Krevní nátěry se nesmějí chladit. Kvalita nefixovaných suchých nátěrů se výrazně nezmění po několik dní až týdnů (Allison et al., 2008). Je velmi důležité zabránit tvorbě sraženin a shluků krevních destiček pro stanovení přesného počtu krevních elementů. Shluky destiček i mikrosraženiny mohou výrazně změnit výsledky krevního obrazu. Nejčastější artefaktem je falešně nízký počet trombocytů. Pokaždé, když zjistíme nízký počet trombocytů, kvantitativní počet získaný z automatického analyzátoru je třeba porovnat se subjektivním počtem trombocytů v dobře provedeném krevním nátěru, včetně přítomnosti shluků destiček. Mikrosraženiny mohou zapříčinit chybné snížení počtu erytrocytů, což snižuje hematokrit. Větší sraženiny znehodnocují počet leukocytů, což je ale horší, zablokují trubičky v hematologickém analyzátoru (Norman et al., 2001). Pro odběr vzorků by měla být použita jehla o lumen 20 G a větší (Freeman et al., 1999).

Existuje široká škála komerčně dostupných zkumavek, které lze požívat k odběru vzorků.

Hlavní rozdíl mezi různými odběrovými zkumavkami na krev spočívá v tom, zda obsahují či neobsahují antikoagulační látku. Krev odebíraná do těchto zkumavek se může posílat do laboratoře tak, jak je nebo se může odstředit, odebrat sérum a to převést do jiné transportní zkumavky (Allison et al., 2008). Požadavek na uchování vzorků krve vyplývá z organizace práce dané laboratoře (Doubek et al., 2003). Plazmu/sérum uchováváme v uzavřených nádobkách při 4°C, její stabilita analytů je až několik dní (Doubek et al., 2007).

Krev určená na hematologické vyšetření se používá buď nezpracovaná, tzv. plná krev, nebo její části. Většinou se odebírá do nádobek s protisrážlivým prostředkem (Doubek et al., 2003).

3.3.1.1.1 Zkumavky EDTA

Kyselina etylendiamintetraoctová (EDTA) je antikoagulační látkou, která působí tak, že se váže na vápník, což vyžaduje mnoho enzymatických reakcí v koagulační kaskádě. Většina antikoagulačních látek, s výjimkou heparinu, působí na tomto principu. V rutinní hematologii představuje EDTA antikoagulační látku první volby. EDTA kromě antikoagulačních účinků pomáhá udržovat morfologii buněk a inhibuje množení bakterií. Z tohoto důvodu lze EDTA používat tam, kde je potřebné cytologické vyšetření (Ceron et al., 2004). Uchování vzorku krve ve zkumavce s EDTA je při 4°C maximálně 24 h (Doubek et al., 2007). Před vyšetřením je třeba vzorek temperovat na 18 až 25°C a promíchat (Svoboda et al., 2000).

3.3.1.1.2 Heparinové zkumavky

Heparin je další antikoagulační látka, která se nejčastěji používá, a jako jediná nevytváří vápníkové chaláty. Heparin umocňuje aktivitu antitrombinu, přirozeného antikoagulancia ran. Protože heparin nevytváří chaláty vápníku, neovlivňuje tedy stanovení hladiny vápníku ani enzymů, které vyžadují divalentní kationty. Heparizovaná plazma se tedy může použít ke stanovení celého biochemického profilu. Vzhledem k tomu, že sérum a heparinizovaná plazma poskytují u většiny analýz podobné výsledky, u rutinního biochemického profilu byly zaznamenány některé rozdíly jako zvýšený albumin, snížený draslík nebo ionizovaný vápník (Ceron et al., 2004).

3.3.1.2 Analytická fáze

Analytická fáze vyšetření zahrnuje: přípravu vzorku, vlastní hematologické vyšetření dělené na kvantitativní a kvalitativní, dále hemostazeologické a biochemické vyšetření (Svoboda et al., 2000).

Laboratorní vyšetření jsou nedílnou součástí praxe malých zvířat, stala se standardní metodou posouzení dobrého zdravotního stavu, předoperačního vyšetření, diagnostiky onemocnění a posouzení účinnosti terapie nebo vývoje nemoci (Allison et al., 2008). Díky technickému pokroku jsou dnes pro privátní veterináře za poměrně rozumnou cenu dostupné automatické hematologické přístroje k provedení analýzy krve přímo na klinikách. Ačkoliv tyto přístroje klinickým lékařům rychle poskytují čísla, hodnocení dobře provedeného krevního nátěru často poskytuje rozhodující informace pro interpretaci těchto čísel. Posouzení krevního nátěru je nezbytné k určení důležitých abnormalit, jako jsou posun doleva a toxické změny neutrofilů, neoplastické buňky, krevní parazité a morfologické změny erytrocytů, které mohou pomoci zajistit příčinu anémie. Navíc může být krevní nátěr využit jako významná kontrola kvality výsledků automatických hematologických přístrojů (Allison et al., 2008).

Hematologické vyšetření zahrnuje: kvantitativní vyšetření a to stanovení hematokritu, koncentrace hemoglobinu, stanovení počtu erytrocytů a leukocytů, určení erytrocytárních indexů MCV, MCH, MCHC. Kvalitativní vyšetření zahrnuje diferenciální rozpočet bílých krvinek, abnormality jádra a cytoplazmy panoptiky, fytochemická vyšetření. Hemostazeologické vyšetření zahrnuje čas krvácení, Quickův test, aktivovaný parciální tromboplastinový čas (APTT), koncentrace fibrinogenu, aktivitu koagulačních faktorů, speciální vyšetření (Svoboda et al., 2000).

Vzorek je analyzátozem aspirován, poté rozdělen a jednotlivé části jsou ředěny izotonickým roztokem. První ředění je vystaveno působením reagens, která způsobí lýzu erytrocytů, aby se předešlo jejich interferenci při stanovení leukocytů a mohla být spektrometricky určena koncentrace hemoglobinu. V druhém izotonickém ředění jsou zachovány jednotlivé buňky pro stanovení erytrocytů a destiček. V tomto ředění jsou vyloučeny leukocyty dle jejich velikosti a nízké relativní koncentraci. Destičky a erytrocyty jsou elektronickými prahy separovány pro účely klinické interpretace. Získáván je tříslůžkový diferenciál zahrnující granulocyty, lymfocyty a monocyty (Allison et al., 2008).

Některé analyzátory doplňuje laser nebo světelný rozptyl další metodou laserCyde (idexx laboratories), které využívá pouze světelný rozptyl (Dawson et al., 1996). Primární výhodou těchto přístrojů jsou další informace získané pětidílným diferenciálním rozpočtem leukocytů. Rozdílná konzistence leukocytů zvířat není zrovna ideální, nicméně ve většině laboratoří je prováděno stanovení diferenciálu ještě mikroskopicky (Allison et al., 2008).

Pro biochemický screening platí stejné zásady jako u základní hematologických indikací (Svoboda et al., 2000). Dále biochemické vyšetření popsané v kapitole 3.4 Biochemické vyšetření krve.

3.3.1.3 Postanalytická fáze

Výpočty jsou automatizací téměř nepotřebné (Allison et al., 2008). Počítač je součástí každého moderního analyzátoru, který nejen graficky zvýrazňuje odchylky od referenčního rozmezí, ale nabízí i výčet diferenciálních diagnóz. Výpočet možných diagnóz doporučujeme brát v úvahu pouze orientačně. Výsledky hematologického a biochemického vyšetření jsou ovlivňovány různými faktory (plemeno, pohlaví, věk atd.). Referenční hodnoty se definují jako rozpětí, do kterého zapadá 95 % zdravé populace příslušné kategorie zvířat (Svoboda et al., 2000).

3.3.2 Erytrocyty

Savčí erytrocyt je vysoce specializovaná buňka. Vzniká z nediferencované pluri/totipotentní kmenové buňky a dále pak směrem k erytrocytu diferenciovaných progenitorových buněk, označovaných proto CUF-E. Postnatálně je první evidentní buňkou erytrocytové řady protoplast. Po několika děleních následují další vývojová stadia, a sice erytroblasty bazofilní, polychromatofilní a ortochromatofilní/oxyfilní. Názvy erytroblastů jsou podle barvy cytoplazmy při panoptickém barvení. Erytroblasty vznikají v erytroblastových ostrůvcích kostní dřeně tvořených makrofágem s prstencem erytroblastů. Makrofág funguje jako zásobník železa pro tvorbu červeného krevního barviva. Hemoglobinizace nastává již ve stádiu bazofilního erytroblastu. Savčí erytroblasty ztrácejí jádra, která jsou fagocytována ostrůvkovými makrofágy. Dalším vývojovým stupněm je proerytrocyt, v hematologické a klinické literatuře označovaný jako retikulocyt, který zůstává v kostní dřeni 2 – 3 dny (Doubek et al., 2003).

Retikulocyty jsou bezjaderné, mladé, polychromní, velké erytrocyty (proerytrocyty). Počty retikulocytů umožňují posoudit aktivitu červené kostní dřeně (Niemand et al., 1996). V retikulocytech přetrvává malý obsah RNA (ribozomy) a jsou přítomné zbytky buněčných organel. Za fyziologických podmínek se erytroblasty označují jako normoblasty. Velké erytroblasty se označují megaloblasty a postnatálně je jejich tvorba považována za patologickou (Doubek et al., 2003).

Červené krvinky mají mnohem jednodušší strukturu než většina lidských buněk a skládají se v podstatě pouze z membrány, obklopující tok hemoglobinu, který tvoří zhruba 95 % všech nitrobuněčných bílkovin červených krvinek. Červené krvinky nemají žádné nitrobuněčné orgány jako mitochondrie, lysozomy, nebo Golgiho aparát. Červené krvinky, ale nejsou metabolicky inertní. ATP je syntetizován při glykolýze a je důležitý při procesech, které pomáhají uchovat jejich bikonkávní tvar a rovněž při regulaci transportu iontů nebo proteinů vyměňujícího anionty a vody dovnitř a ven z buňky (Murray et al., 1998). Tím, že erytrocyty nemají buněčné jádro, ani mitochondrie, ani endoplasmatické retikulum, chybí jim tedy metabolické schopnosti vázané na tyto strukturální elementy. Buněčná membrána uzavírá přesycený roztok hemoglobinu.

Metabolismus erytrocytů je v podstatě metabolismus sacharidů, prostřednictvím glykolytického odbourávání se tvoří ATP, který je nutný pro aktivní transport buněčnou membránou, zvláště pro přenos Na⁺ výměnou za K⁺. Erytrocyty mají dále enzymy pentosofosfátového cyklu, ve kterých se může tvořit NADPH, který mimo jiné slouží k tomu, aby udržoval v HS – formě glutation obsažený v erytrocytech více vysoké koncentraci (Karlson et al., 1982).

Červená krvinka je vysoce závislá na glukóze jako zdroj energie, její membrána obsahuje přenašeče s vysokou afinitou pro glukózu (Murray et al., 1998). Červené krvinky, erytrocyty, jsou ploché nepohyblivé buňky, morfologicky přizpůsobené výměně plynů (Marvan et al., 1992).

Erytrocyty normálního tvaru, velikosti a obsahu hemoglobinu se označuje normocyt. Erytrocyty s normální koncentrací hemoglobinu nesou přívlástek normochromní (Doubek et al., 2003). U savců jsou bezjaderné a mají tvar bikonkávních disků (Marvan et al., 1992). Bikonkávní tvar červené krvinky je u psů zřetelnější než u ostatních domácích zvířat (Doubek et al., 2003). U ostatních obratlovců jsou bikonvexní s plochým jádrem (Marvan et al., 1992). Povrch erytrocytu činí asi 130 – 160 μm². Membrána je vedle fosfolipidů a sacharidů tvořena skeletálními proteiny, jsou odpovědné za tvar erytrocytu, aktin za deformabilitu. Za negativní povrchový náboj erytrocytu je patrně odpovědný glykoforin A. Živý erytrocyt má podle savčího druhu průměr 2,5 – 8 μm, tloušťku asi 2 μm. V organismu savce se nachází více jak 300.10⁹ erytrocytů na 1 kg ž.hm (Doubek et al., 2003).

Hlavní funkce červených krvinek jsou poměrně jednoduché a zahrnují transport kyslíku do tkání a účast při odstraňování oxidu uhličitého a protonů, které vznikají při metabolismu ve tkáních (Murray, ae, 1998).

Stárnutí erytrocytů. Po průměrné délce života 110 – 130 dní se erytrocyty eliminují z krevního oběhu. Příčinou stárnutí erytrocytů je pravděpodobně jejich neschopnost pokračovat v syntéze enzymů sacharidového metabolismu (Murray et al., 1998).

3.3.2.1 Patologické formy erytrocytu

Sférocyty jsou citlivé ukazatele imunitně zprostředkované anemie (Villiers and Blackwood, 2005). Sférocyty vznikají ztrátou bikonkávního tvaru, stávají se sférickými a jsou tmavší a menší než normální červené krvinky. Nejlépe rozpoznatelné jsou u psů, protože psí krvinky mají jasné centrální prosvětlení (Tvedten et al., 2000).

Codocyty, výskyt u onemocnění jater s onemocněním choleostáze dále u psů po splenektomii (Villiers and Blackwood, 2005).

Akantocyty vznikají při změně obsahu lipidů v membráně erytrocytů, a proto jsou spojovány s poruchami metabolismu lipidů, jako je tomu u onemocnění jater, například (Tvedten et al., 2000). Často se vyskytují u psů s hemangiomem nebo hemangiosarkomem sleziny, dále u difúzních jaterních onemocnění a u portosystematického zkratu a u vysoce cholesterolové diety (Weiss et al., 1993).

Echynocyty mají několik krátkých, nitkovitých, pravidelně rozmístěných výběžků. Často jde o artefakty, ale také se vyskytují při onemocnění ledvin atd. Často se vyskytují u psů s lymfomem, chronickým renálním onemocněním nebo při toxikóze (Allison et al., 2008).

Schizocyty jsou fragmenty erytrocytů vznikající při intravaskulárním traumatu (Mills et al., 1985). Vznik při poškození cirkulujících buněk, při mikrovaskulárním poškození cév.

Inkluze jsou způsobeny parazity jako např. Babesie (Villiers and Blackwood, 2005).

3.3.2.2 Stanovení základních hodnot erytrocytů

Základní hodnoty červené krvinky jsou střední objem erytrocytu, hemoglobin erytrocytu a střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytech a vypočítají se z hodnot hemoglobinu, hematokritu a počtu erytrocytů (Doubek et al., 2003).

3.3.2.2.1 MCV (mean corpuscular / cell vollume)

Jde o střední objem erytrocytů. Vypočítá se z hodnoty hematokritu a počtu erytrocytů (Doubek et al., 2003). Indikuje přibližnou velikost červených krvinek (Villiers and Blackwood, 2005). Snížení vlivem mikrocytémii anémie. Zvýšení makrocytózou (Doubek et al., 2007).

$$\text{MCV} = \text{HCT (l/l)} \cdot 10^{15} / \text{Ery/l po úpravě } \text{MCV} = \text{HCT (l/l)} \cdot 1000 / \text{Ery} \cdot (10^2)$$

výsledek v jednotkách fl, femto = 10^{-15}

3.3.2.2.2 MCH = hemoglobin erytrocytu (mean corpuscular / cell hemoglobin)

Určuje množství hemoglobinu uvnitř buněk (Villiers and Blackwood, 2005). Vypočítá se z koncentrace hemoglobinu v krvi a počtu erytrocytů (Doubek et al., 2003). Její hodnota se udává v pikogramech (Villiers and Blackwood, 2005).

$$\text{MCH} = \text{Hg (g/l)} \cdot 10^{12} / \text{Ery/l, Jednotky pg, piko} = 10^{-12}$$

3.3.2.2.3 MCHC = (mean corpuscular / cell hemoglobin concentration)

Střední koncentrace hemoglobinu v erytrocytech. Vypočítá se z koncentrace hemoglobinu a hodnoty hematokritu (Doubek et al., 2003). Jedná se o koncentraci hemoglobinu v každé červené krvince (Villiers and Blackwood, 2005).

Hodnota MCHC má minimální klinické využití, ale vysoce užitečnou pomůckou v kontrole kvality analýzy v reálném čase při vyšetřování vzorku pacienta (Freeman et. al., 1999). Existuje pár pomůcek, které se mohou uplatnit u vzorku pacienta k ověření výkonu analyzátoru na jednotlivých vzorcích (Villiers and Blackwood, 2005).

Logické odůvodnění je následující. Hodnota MCHC se počítá z hodnot hematokritu (HCT) a hemoglobinu. U běžných domácích druhů zvířat jsou hodnoty MCHC fyziologické a konstantní (typické v rozmezí 32 – 38 g/100 ml, takže se mohou použít k monitorování vztahů mezi koncentrací hemoglobinu a HCT). Hodnota HCT a koncentrace hemoglobinu se měří v kompletně oddělené a naředěné krvi v analytickém subsystému. Protože jde o nezávislá měření, hodnoty hemoglobinu potvrzují hodnotu HCT, a naopak u každého vzorku. Neexistuje žádný patologický stav, který by mohl způsobit vážný pokles MCHC. Extrémní regenerace erytrocytů může být spojena s MCHC hodnotami v rozmezí od 29 g/100 ml do normálu. Anamnesticky snížená hodnota MCHC bývá spojena s anémií z nedostatku železa (Freeman et. al., 1999).

$MCHC = Hg \text{ (g/l)} / HCT \text{ (l/l)}$: Jednotky: g/l erytrocytární masy (Doubek et al., 2003).

3.3.3 Hemoglobin

Jedna z nejvýznamnějších molekul živočišné říše – konjugovaná bílkovina, která se skládá ze čtyř subjednotek. Každou subjednotku tvoří polypeptidový řetězec, ke kterému se váže prostetická skupina hem. Hem je komplexní sloučenina, tvořená protoporfyrinem IX (tetrapyrolový kruh) s centrálním atomem dvojmocného železa (Trojan et al., 1999). Zdrojem železa je plazmatický transferrin. Transferrin s obsaženým trojmocným železem kontaktuje svůj receptor na membráně erytroblastu. Membrána se v tomto místě začne vchlipovat, až se vytvoří intracelulární vakuola (Doubek et al., 2003).

Čtyři polypeptidy tvoří bílkovinu globin, která zaujímá asi 96 % molekul hemoglobinu. Vždy dva a dva polypeptidové řetězce jsou stejné, jednotlivé typy řetězců se liší sekvencí aminokyselin (Trojan et al., 1999). Podíl červeného krevního barviva na hmotnost erytrocytu dosahuje asi 0,34 (34 %). Denní tvorba a zánik hemoglobinu složený z globinu a hemu. Globin je syntetizován v ribozomech a jeho podíl činí v hemoglobinu 0,96 (96 %).

Je uspořádán do 4 řetězců $\alpha_1, \alpha_2, \beta_1, \beta_2$ (Doubek et al., 2003). V lidském hemoglobinu jsou zastoupeny řetězce $\alpha, \beta, \gamma, \delta, \epsilon$, a ζ (zéta). Všechny lidské hemoglobiny mají stejný hem: odlišnost tkví v globinové složce. Molekula hemoglobinu má zhruba sférický tvar, její hmotnost činí 64 500 (Trojan et al., 1999).

Hlavní funkcí erytrocytů je transport dýchacích plynů. Tyto funkce jsou spojeny s červeným krevním barvivem – hemoglobinem obsaženým v erytrocytu (Doubek et al., 2003). Hemoglobin je nosičem molekulového kyslíku a podílí se na transportu oxidu uhličitého. Hemoglobin s navázaným kyslíkem je oxyhemoglobin, s CO_2 karbaminohemoglobin (Svoboda et al., 2000).

Vazbou hemoglobinu s kyslíkem vzniká oxyhemoglobin. Jedna molekula hemoglobinu může vázat čtyři molekuly kyslíku. Když jeden ferrohlem naváže O_2 , ovlivní to vzdálenější části molekul hemoglobinu a usnadní se vazba s O_2 pro ostatní hemy. Celý děj bývá označován jako interakce hem-hem. Z důvodu tohoto alosterického efektu má vazbová křivka Hb charakteristické sigmoideální zakřivení (Trojan et al., 1999). Množství vázaného kyslíku závisí na parciálním tlaku v krvi (PO_2) (Doubek et al., 2003).

Tvorba hemoglobinu je přesně regulovaný a koordinovaný proces. Přibližně 70 až 75 % hemoglobinu je syntetizováno před vypuzením jádra, zbytek ve stádiu dřevného retikulocyty. Už v pronormoblastu může být prokázána přítomnost feritinu (bílkoviny obsahující železo). Je to kritérium pro identifikaci dané buňky jako erytroidního prekurzoru. První stopy hemoglobinu se objevují v cytoplazmě bazofilního normoblastu v polychromatofilním normoblastu je syntéza Hb nejintenzivnější, s postupující maturací začne upadat (Trojan et al., 1999).

Červená barva krve je způsobena hemoglobinem, který je obsažen v červených krvinkách. Červená barva může být od jasně červené až po modravě fialovou, podle nasycení hemoglobinu kyslíkem. Větší saturace hemoglobinu kyslíkem má za následek jasnější červenou barvu. Krevní plazma je žlutá až bezbarvá tekutina podle druhu živočicha. Plazma ve zkumavce má obvykle světle žlutou barvu a v tenké kapiláře pak vypadá jako bezbarvá. Barva je v zásadě dána přítomností bilirubinu, což je degenerační produkt hemoglobinu (Reece, 1998).

Hemoglobin je diferencován do několika typů (HbF, HbA aj.) při některých akutních stavech (otravách) dochází k přeměně hemoglobinu: při otravě výfukovými plyny (CO), stejně jako při vdechování tabákového kouře, vzniká karbonyl/karboxyhemoglobin, při otravách anilinem, benzenem, dusitany, dusičnany vzniká methemoglobin/hemoglobin (Svoboda et al., 2000).

SI jednotka = mmol hemoglobinu na 1 litr krve, stará jednotka = g/100 ml. Stanovuje se fotometricky, metoda a spotřeba krve jsou různé podle použitého fotometru (Niemand et al., 1996).

3.3.4 Hematokrit

Hematokrit udává podíl krvinek k celkovému objemu krve (Doubek et al., 2003). Méně než polovinu celkového objemu krve zaujímají červené krvinky (Trojan et al., 1999). Vzhledem k počtu bílých krvinek a možností jejich přesného odečtení je tento ukazatel vnímán jako podíl erytrocytů (Doubek et al., 2003). Měření poměru objemu červených krvinek k objemu krevní plazmy je klinicky užitečné vyšetření, které se nazývá hematokrit (Reece, 1998).

Vzhledem ke způsobu stanovení se vlastně jedná o podíl erytrocytů. Závisí na počtu a objemu erytrocytů (Svoboda et al., 2000). Stanovení hodnoty hematokritu je rychlá a užitečná metoda vyšetření krve, která poskytuje informaci o vztahu mezi objemem erytrocytů a krevní plazmou a je základem pro výpočet důležitých krevních hodnot (Reece, 1998.). Hematokrit a počet erytrocytů nejsou parametry vzájemně zastupitelné, neboť při sníženém hematokritu může být normocytémie (Svoboda et al., 2000).

Zjištění hematokritové hodnoty se provádí odstředěním sloupce nesrážlivé krve, který se rozdělí na jednotlivé složky podle specifických hmotností. Červené krvinky se nahromadí nejnižší a tvoří sloupec, který se označuje jako PVC (packed cell volume). Leukocyty a trombocyty leží v podobě tenké, bělavé vrstvičky nad nimi. Nejvýše je krevní plazma (Reece, 1998). Hematokrit je značně ovlivněný protisrážecím prostředkem, který je přidáván do speciálních zkumavek. Hematokrit je správný tehdy, jeli zkumavky naplněná po risku (Niemand et al., 1996).

3.3.5 Leukocyty

Počty leukocytů (WBC, *white blood cells*) vyjadřuje počet těchto buněčných elementů v 1 litru krve (Doubek et al., 2003). Jako leukocyty označujeme veškeré bílé krevní buňky (Karlson et al., 1982). Bílé krvinky se podle přítomnosti, resp. nepřítomnosti specifických granulí v cytoplazmě člení na granulocyty a agranulocyty (Doubek et al., 2003).

Bílé krvinky dělíme do tří skupin: granulocyty, monocyty a lymfocyty (Murray et al., 1998). Každá ze tří skupin má svou úlohu v obraně proti infektům (Karlson et al., 1982). Hlavní funkcí leukocytů je zabezpečení obranyschopnosti organismu. K tomu účelu jsou leukocyty vybavené řadou enzymů, schopností produkovat cytokiny a dalšími mediátory.

Zdrojem energie je v cytoplazmě deponovaný glykogen. Nejpočetnějšími bílými krvinkami v periferní krvi psa jsou neutrofilní granulocyty. Pes se vyznačuje silnou odezvou neutrofilů na stresové faktory (Doubek et al., 2003).

3.3.5.1 Granulocyty

Granulocyty vznikají z kmenových buněk kostní dřeně přes řadu morfologicky diferencovatelných mezistupňů. Ve zralých granulocytech je ještě přítomno jádro, nikoliv však jadérko a ribozomy (Karlson et al., 1982). Granulocyty označované také jako polymorfonukleární leukocyty (PMNL), protože jejich jádra mají několik laloků, obsahují mnoho lysosomů a granul a dělíme je dále do tří tříd. Tyto tři třídy (neutrofilny, basofily a eosinofily) se liší morfologií a barvením v nich přítomných granul (Murray et al., 1998).

Granulocyty kolují v krvi 6 – 10 hodin a neustále krevní řečiště opouštějí. Délka života granulocytů ve tkáních je různá většinou 2 – 3 dny (Reece, 1998). Největší podíl populace granulocytů organismu se tak nenachází v krevním řečišti, ale v kostní dřeni a v periferních tkáních. Granulocyty jsou vybaveny glykolytickými enzymy a enzymy přímé oxidace glukósy v pentosafosfátovém cyklu. Oxidační metabolismus je velmi omezený. Důležitým enzymem je peroxidáza (Karlson et al., 1982).

Nejdůležitější funkcí granulocytů je fagocytóza a usmrcování bakterií (Trojan et al., 1999). Leukocytů, cirkulujících v krvi je podstatně méně než erytrocytů. Obecně je jejich celkový počet u domácích zvířat okolo 10 000 buněk na 1 μ l krve (Reece, 1998).

3.3.5.1.1 Neutrofily

Neutrofilní granulocyty (neutrofil), mají tvar většinou okrouhlý, velikosti 8 – 15 μm . Granule jsou nenápadné, kulaté, zbarvené lehce fialově nebo růžovofialově. Podle stupně vyzrání vyjádřeného tvarem jádra se jedná o nesegmentovaný neutrofil, neboli tyčky, nebo segmentovaný neutrofil (Doubek et al., 2003). Dále můžeme vidět metamyelocyty, které mají ledvinovité jádro. Jsou prekurzorem normálních neutrofilů (Day et al., 2000). Cytoplazma je většinou narůžovělá (Doubek et al., 2003). Dospělé neutrofily mají dlouhé segmentované, laločnaté jádro s lehce granulovanou cytoplasmou (Day et al., 2000). Jádro se barví tmavě purpurově a je tvořeno chromatinem s hrubými zrny. Cytoplazma neutrofilů je světlá, někdy jemně eozinofilní. Neutrofilní granule bývají ve velké většině špatně rozeznatelné. Mladé neutrofily bývají v periferní krvi psa zachycovány v malých počtech (Doubek et al., 2003).

Zvýšení počtu mladých forem (nezralých neutrofilů) s tyčkovým jádrem, metamyelocytů a myelocytů nad cca. 3 % je označován jako *posun doleva* a znamená, že následkem nepokryté zvýšené potřeby jsou nezralé myeloidní buňky rychle vyplavovány z kostní dřeně (Niemand et al., 1996).

Tyčka (Ty) má tyčkovité jádro, jehož nejmenší příčný průměr je větší než jedna třetina největšího příčného průměru. Chromatin je hrubý a ve shlucích. Představuje mladou formu granulocytů. Segmentovaný neutrofil má jádro členěné na úseky, které jsou navzájem oddělené úzkými můstky. Chromatin je hrubý a je usprádan do bloků. Průměrný počet jaderných segmentů je vyjádřen Hynkovým číslem (HČ), které je dáno zlomkem, kde je v čitateli počet jaderných segmentů ve 100 buňkách (neutrofilech) a ve jmenovateli 100 (Doubek et al., 2003).

Neutrofily fagocytují bakterie a hrají hlavní roli při akutním zánětu (Murray et al., 1998). Neutrofilní granulocyty v krvi přežívají jen několik hodin. Z krve mohou na základě různých signálů přestupovat do tkání, kde plní své funkce. Ve tkáních také zanikají (Doubek et al., 2003).

Přestože hematologické přístroje nabízejí třípopulační nebo pětipopulační diferenciální rozpočet, mikroskopické vyšetření krevního nátěru a diferenciální rozpočet by měl být samozřejmostí u jakéhokoliv nemocného zvířete (Allison et al., 2008). Změny bílého krevního obrazu patří k nejcennějším laboratorním vyšetřením, které můžeme o pacientovi získat.

Z celkového počtu leukocytů cirkulujících v krvi a z nich rozdělení na jednotlivé druhy leukocytů, můžeme získat oporné body na zodpovězení otázek, zda se jedná o zánět, nekrotické ložisko nebo stres. Zda je zánětlivý proces akutní povahy, subakutní nebo chronický (Kammermann, 1974).

Zvýšení počtu neutrofilních granulocytů nad 11000 v 1 μ l se nazývá neutrofilii. S neutrofilii se setkáváme při celkových primárních a sekundárních bakteriálních infekcích, lokálních infekcích jako jsou abscesy, pyrometry, infekce zapříčiněné plísněmi, protozoa a rickettsiemi při parazitárním onemocnění, urémiích, acidóze atd. (Niemand et al., 1996). Posun doleva je známka odpovědi na zánět, infekci, abnormální nárůst neutrofilů (Day et al., 2000).

Při *regenerativním posunu doleva* zůstává počet neutrofilů s tyčkovým jádrem nižší, než je počet neutrofilů se segmentovaným jádrem (zralý) a celkový počet neutrofilů je zvýšený (Niemand et al., 1996). Zvyšuje-li se v periferní krvi podíl méně segmentovaných neutrofilů, jedná se o předčasné vyplavování těchto buněk z kostní dřeně (Doubek et al., 2003).

Při *degenerativním posunu doleva* překračuje počet neutrofilů s tyčkovým jádrem počet neutrofilů se segmentovaným jádrem, přičemž je celkový počet neutrofilů normální nebo může nastat leukocytopenie. Degenerativní posun vlevo je výrazem vysoké spotřeby neutrofilů a masivní reakcí kostní dřeně, která vede k vyčerpání.

Jako posun doprava nebo pokud vidíme neutrofilii, označujeme jej za zvýšený podíl starých, hypersegmentovaných neutrofilů. Mírné záněty a záněty chronické jsou často provázeny neutrofilii bez posunu doleva, lymfocytózou a případně monocytózou (Niemand et al., 1996).

3.3.5.1.2 Eozinofily

Eozinofilní granulocyt (eozinofil) bývá okrouhlého tvaru, ale může mít i jiný tvar. Velikost je v rozmezí 10 – 16 μm . Jádro je obvykle se dvěma segmenty. Cytoplazma bývá světlá, různě odstíněná. Granule jsou větší, obvykle kulovité s centrálním krystaloidem (Doubek et al., 2003). V krevním nátěru eozinofilů lze pozorovat jasně červená nebo oranžovočerveně zbarvená granula v cytoplazmě (Reece, 1998).

Díky specifickému obrazu světla vypadají, jakoby svítla. V krvi žijí eozinofilní granulocyty maximálně týden. Jsou to buňky stejně velké jako neutrofilny (Doubek et al., 2003). Fagocytární aktiva eozinofilů je poměrně slabá a je otázkou, zda se vůbec při obraně proti obvyklým infekcím uplatňují. Hlavní úlohu hrají při alergických a parazitárních onemocněních, při nichž se jejich počet také zvětšuje. Hromadí se v místech pronikání alergenů a parazitů do těla. Fagocytují komplexy alergen – protilátka. Přichycují se na parazity a uvolňují látky, které je poškozují (Trojan et al., 1999).

3.3.5.1.3 Bazofily

Bazofilní granulocyty (bazofil) mají tvar obvykle okrouhlý. Velikost kolísá v relativně velkém rozmezí, a sice od 8 do 18 μm . Jádro má často dva segmenty. Cytoplazma je šedofialová, granule jsou velké, tmavomodré, tmavě fialové až černé. Zejména u těchto granulocytů je druhově specifická hustota granulí v cytoplazmě, u některých druhů překrývají cytoplazmu i jádro (Doubek et al., 2003). Na membráně bazofilů jsou receptory pro protilátky typu IgE (Trojan et al., 1999).

Bazofily se podobají žírným buňkám, obsahující histamin a heparin a uplatňují se v některých typech reakcí imunologické přecitlivělosti (Murray et al., 1998). Jsou málo pohyblivé (Trojan et al., 1999).

Také délka života bazofilních granulocytů v krevním oběhu činí maximálně týden (Doubek et al., 2003). Bazofilů je v normální krvi obvykle velmi málo, je jich obvykle méně než 1 % (Reece, 1998). Bazofily jsou lokalizované v těsné blízkosti kapilár a i jinde ve tkáních (Trojan et al., 1999).

Bazofilní granulocyty se účastní na reakcích přecitlivělosti a zánětu (Doubek et al., 2003). Bazofily a žírné buňky (mastocyty) uvolňují obsah svých granul v zanícené tkáni, hlavní význam však mají při některých typech alergických reakcí (Trojan et al., 1999). Bazofily podporují alergické reakce, zatímco eozinofily mají tendenci je tlumit. Mezi funkcemi těchto dvou typů krevních buněk existuje rovnováha (Reece, 1998).

3.3.5.2 Agranulocyty

Agranulocyty neobsahují v cytoplazmě sekundární tj. specifické granule. V cytoplazmě zralých buněk však mohou být přítomny primární (azurofilní) granule vakuoly. Pro kompaktní jádro jsou agranulocyty označovány také mononukleáry. Mezi agranulocyty patří lymfocyty a monocyty (Doubek et al., 2003).

3.3.5.2.1 Monocyty

Monocyty jsou prekurzory makrofágů (Murray et al., 1998). Z dřeně jsou monocyty vyplavovány do krve krátce poté, co jejich prekurzory dokončily poslední mitotické dělení čili vlastně nezralé buňky, předurčené k migraci z krve do tkáni nebo tělních dutin, kde se přeměňují v tkáňové makrofágy (Trojan et al., 1999).

Zralý monocyty je často nepravidelného tvaru. Dosahuje velikosti 15 – 22 μm . Jádro je laločnaté, ale i jiného tvaru, umístěné ve středu nebo excentricky. Chromatin má vláknitou strukturu. Jadérka nejsou vidět. Cytoplazma je šedomodrá. Monocyty krevní a především tkáňové – plní roli makrofágů (Doubek et al., 2003).

Monocyty jsou největší leukocyty viditelné v obarveném krevním nátěru (Trojan et al., 1999). Jádro monocytů, je nesmírně tvarově variabilní. Může být oválné, kulaté, ve tvaru tyčky nebo písmene S (Doubek et al., 2003). Monocyty hrají podobně jako neutrofilny, hlavní roli při fagocytóze (Murray et al., 1998). Monocyty jsou buňky, které jsou součástí mononukleárního fagocytárního systému (MFS), jenž se dříve označoval jako retikuloendotelový systém (Reece, 1998). Délka života monocytů v krevním oběhu je ohraničena pouze několika dny, potom přestupují do tkáni (Doubek et al., 2003), kde se ještě zvětší a přemění v makrofágy (Toman et al., 2000).

3.3.5.2.2 Lymfocyty

Lymfocyty vznikají z pluri/totipotentní kmenové buňky, která se diferencuje na bipotentní progenitorovou buňku. Ta dává základ B lymfocytové a T lymfocytové řadě (Doubek et al., 2003). Progenitory T lymfocytů pocházející z fetální kostní dřeně osidlují thymus a prodělávají zde složitou diferenciaci. Kostní dřeň je hlavním sídlem postnatální krvetvorby a nejvýznamnějším místem, ve které probíhá zrání B buněk u myši a člověka. Naopak u řady hospodářsky významných druhů je místem vývoje protilátkového repertoáru lymfatická tkáň střeva (Toman et al., 2000).

Prekurzorovou kmenovou buňkou je lymfoblast (Lybl), jenž se diferencuje a vyzrává v prolymfocyt (Ply) a z něj vzniká lymfocyt (Ly) (Doubek et al., 2003). Lymfocyty se mohou morfologicky rozdělit na malé a velké (Reece, 1998) a na tzv. nukleové buňky (Trojan et al., 1999). Existují rovněž obrovské lymfocyty s velkými azurofilními granulemi, které mají tzv. NK (*natural granular lymphocytes*). Dnes se tyto přirození zabíječi nazývají non B a non T lymfocyty. V obvodové krvi dosahují fyziologicky maximálně 5 % z celkového počtu lymfocytů. B lymfocyty nesou označení podle Fabriciovy burzy u ptáků, u savců se však diferencují v kostní dřeni (Doubek et al., 2003).

Z lymfocytů B vznikají po kontaktu s antigenem plasmatické buňky, v nichž se syntetizují humorální protilátky (Karlson et al., 1982). B lymfocytů je v periferní krvi zhruba 25 %, T lymfocyty odvozují svůj název od místa své diferenciaci, tj. od thymu, proto také thymocyty. Z těchto primárních lymfopoetických orgánů – kostní dřeně a thymu – vycestovávají lymfoidní buňky do sekundárních lymfopoetických orgánů – sleziny, mízních uzlin, slizniční lymfatické tkáně respiračního a gastrointestinálního systému, kde probíhá lymfopoéza po celý život jedince (Doubek et al., 2003).

Lymfocyty se podílejí na buněčných a humorálních imunitních reakcích (Karlson et al., 1982). T lymfocyty hrají hlavní úlohu v různých procesech buněčné imunity, jako je usmrcení buněk nakažených viry a některých nádorových buněk (Murray et al., 1998). Lymfocyty T se po kontaktu s antigenem mění za účasti thymového faktoru na lymfoblasty, které zprostředkovávají buněčné imunitní reakce (Karlson et al., 1982). T lymfocytů je v periferní krvi kolem 70 %. B lymfocyty žijí většinou 10 – 20 dní, zatímco většina T lymfocytů přežívá měsíce až roky – dlouho žijí zejména tzv. paměťové buňky (Doubek et al., 2003).

Charakteristickou vlastností lymfocytů je jejich přemísťování. Avšak ve srovnání s granulocyty a monocyty, které vycestují z kapilár a již se do krve nevracejí, zralé lymfocyty kontinuálně recyklují mezi krví a lymfou (Trojan et al., 1999).

Zralý lymfocyt má tvar obvykle okrouhlý. Velikost malého lymfocytu je kolem 10 μ m, velkého lymfocytu 14 – 20 μ m. Jádro je velké, kulaté s kondenzovaným chromatinem a obvykle jedním málo aktivním jadérkem. Cytoplazma je modrá v různých odstínech a mohou v ní být azurofilní granule. Malé lymfocyty jsou v klidovém stádiu, velké jsou aktivní. Antigenní stimulací lymfocytů (při infekci) dochází ke změnám v jejich morfologii. Buňka se zvětšuje, tvar jádra se stává nepravidelným – výběžky, protahují se jadérka, roste podíl cytoplazmy, která je bazofilnější, kolem jádra je naopak světlejší prstenec, zvyšuje se počet azurofilních granulí. Tyto aktivní atypické lymfocyty se také označují jako reaktivní lymfocyty, viocyty, leukemoidní lymfocyty, Türkovy buňky atd. (Doubek et al., 2003).

3.3.6 Trombocyty

Počet trombocytů (PLT, platelets) vyjadřuje počet těchto elementů v 1 litru krve. Krevní destičky psů jsou malá oválná nebo kulovitá tělíška (Doubek et al., 2003). Krevní destičky neboli trombocyty jsou nejmladší formované elementy krve (Trojan et al., 1999).

Savčí trombocyt je buněčný, bezjaderný fragment se slabě modrou až purpurovou cytoplazmou. Krevní destička má z hlediska funkce 4 zóny: Periferní zóna zahrnuje trojvrstevnou membránu destičky a pod ní submembránové struktury. Zóna rozpustného gelu obsahuje systém vláken a mikrotubulů. V zóně organel se nachází mitochondrie, azurofilní α (alfa) granule, dále δ (delta) granule, λ (lambda) granule (lysozomální), peroxizomy, glykogen aj. Zóna membránových systémů zahrnuje otevřený kanalikulární systém a (b) hutný (denzní) tubulární systém (Doubek et al., 2003).

Trombocyty vznikají zaškrcením z megakaryocytů. Jsou bezjaderné, obsahují však v cytoplazmě ještě polynomy a též mitochondrie a granula (Allison et al., 2008). Jejich velikost se rovná v průměru $\frac{1}{4}$ až $\frac{1}{2}$ velikosti erytrocytů, i když některé z destiček mohou být větší než erytrocyt. Destičky obsahují granule, které mohou nebo nemusí být ve shlucích (Doubek et al., 2003). Energetický metabolismus trombocytů je aerobní metabolismus glukózy. Trombocyty obsahují neobyčejně mnoho ATP, avšak žádný kreatinfosfát. Také obsah glykogenu je většinou vysoký (Allison et al., 2008). Délka života trombocytů v periferní krvi je omezena přibližně 10 dny (Doubek et al., 2003).

Krevní destičky mají řadu funkcí (Reece, 1998). Hlavní funkcí trombocytů je účast na zástavě krvácení – hemostáze (Doubek et al., 2003). Svým vybavením a činností tvoří komplexní hemostatickou jednotku, která se při procesech zástavy krvácení uplatňuje jak mechanicky, tak látkově (Trojan et al., 1999). Předpokladem uplatnění jejích funkcí je aktivace destiček. Proces aktivace destičky je důsledkem řady jejích interakcí s rozpuštěnými plazmatickými faktory a porušeným cévním endotelem. Aktivované trombocyty mají tvar nepravidelný a četná cytoplazmatická pseudopodia (Doubek et al., 2003). Díky améboidní pohyblivosti mohou vysílat pseudopodie a jejich kontrakcí zprostředkovat reakci krevní sraženiny (Karlson et al., 1982).

Trombocyty se mohou aktivovat stykem s kolagenem v bazální membráně endotelu nebo intersticiální tkáni. Mohou být také aktivovány látkami, které se uvolňují z poškozených buněk jako je ADP, serotonin a tromboxan A_2 (TXA₂) (Reece, 1998).

Činnost krevních destiček je primárním dějem při poranění nebo poškození cévní stěny a spočívá v jejich adhezi, změně tvaru, agregaci a uvolňovací reakci (sekreci obsahu granul). Činností destiček vznikne destičkový (bílý) trombus neboli provizorní hemostatická zátka (Trojan et al., 1999). Tvorba primární krevní zátky (trombu) je představována sledem procesů, přičemž nutnou podmínkou je porušení cévního endotelu. Je třeba zdůraznit, že za fyziologických podmínek intaktní, nesmáčivý endotel cév řadou mechanismů odpuzuje jak destičky, tak další plazmatické faktory zúčastněné na srážení krve. Podstatou vytvoření primární krevní zátky jsou dva druhy odpovědi destiček na porušení cévního endotelu a to adheze a agregace (Doubek et al., 2003).

Adhesivita je, že trombocyty lnou k porušenému endotelu a k cizorodým povrchům (Allison et al., 2008). Obnažené struktury a uvolněné látky při porušení endotelu nejprve přitahují destičky, potom k místu poškození adorují. Agregace – vzájemné shlukování destiček, vede k vytvoření destičkové zátky (trombu). Podstatou agregace je vytvoření komplexu Ca^{2+} + GP IIb/IIa +fibrinogenu. Usnadnění koagulace, facilitace koagulace spočívá v uplatnění prokoagulačního povrchu destičky a ve vlastním působení destičky. Aby se destičkový povrch uplatnil, musí být destička nejprve aktivována. Podstatou aktivace je transmembránový přesun negativně nabitých fosfolipidů na povrch (Doubek et al., 2003).

Krevní destičky zasahují na různých místech do průběhu srážení krve a zástavy krvácení (Allison et al., 2008). Vstupují prostřednictvím jimi produkovaných mediátorů do reakcí při zánětu a zúčastní se hojení ran. Ovlivňují permeabilitu kapilár, mají chemotaktické účinky, podílejí se na odstraňování mikroorganismů a dalších cizorodých částic atd. Větší počty krevních destiček lze najít především v okrajích krevních nátěrů (Doubek et al., 2003).

3.4 Biochemické vyšetření krve

Laboratorní vyšetření jsou nedílnou součástí praxe malých zvířat. Stala se standardní metodou pro posouzení zdravotního stavu, předoperační vyšetření, diagnostiky onemocnění a posouzení účinnosti terapie a vývoje nemoci (Allison et al., 2008). Pro biochemický screening platí stejné zásady jako u základních hematologických indikací (Svoboda et al., 2001). Biochemické screeningové testy umožňují pohodlnou automatizovanou chemickou analýzu a jsou běžně používány pro rutinní diagnostiku zdravotního stavu (Allison et al., 2008).

Základní biochemické indikace jsou: všeobecné vyšetření, které zahrnuje vyšetření glukózy, močoviny, kreatininu, bilirubinu, ALT, AST, ALP, celkové bílkoviny. Dále předoperační vyšetření zahrnuje celkovou bílkovinu, glukózu, kreatinin, AST, ALT, ALP (Svoboda et al., 2001). Biochemické vyšetření zahrnuje i acidobazické vyšetření, vyšetření metabolismu proteinů, energetického metabolismu, minerálního metabolismu, metabolismu vody a elektrolytů, stanovení aktivit enzymů, analýzu hormonů a vitaminů (Svoboda et al., 2000).

Diagnostický význam biochemických parametrů je odvozen za předpokladu splnění kritérií kvality laboratorního vyšetření z fyziologické, resp. patofyziologické role daného ukazatele (Doubek, 2007). Při vlastním vyšetření se uplatňují automatické analyzátoři, které se člení podle různých kritérií, např. podle způsobu práce (analyzátoři průtokové, diskrétní), podle principů měření (založené na optických systémech nebo na elektrochemickém principu), podle počtu prováděných metod (jednouúčelové, víceúčelové) apod. U většiny analyzátorů jsou činidla přidávána v roztoku a reakce probíhá v tekutém médiu (Svoboda et al., 2000).

Analyzátoři založené na mokré chemické metodě jsou nejtradičnějšími přístroji a jsou využívány ve všech komerčních laboratořích. Přidáním vzorku do směsi tekutých agens dochází k chemické reakci a vzniku sloučenin se specifickou barvou. Složitost těchto systémů a s nimi spojené používání agens je činí nevhodnými pro klinické laboratoře (Lanevski et al., 1996).

Činidla mohou být však v pevné fázi a po zvlhčení analyzovaným biologickým materiálem dojde ke vzniku barevné reakce, kterou lze stanovit reflexní fotometrií (Svoboda et al., 2000).

Reagenční stripky jsou napuštěny chemickými činidly v suché formě. Reagens jsou přidáním vzorku rozředěna a v reaktivní vrstvě dochází k barevné reakci. Vzorek je aplikován manuálně nebo automatickou pipetou na reaktivní plochu nebo selektivní disky. Reakce proběhne a fotometricky je měřeno množství světla odraženého od povrchu. Stripky mohou mít jednu nebo několik reakčních ploch, což umožňuje individuální a definovaný testovaný panel (Lanevski et al., 1996). Vyšetření suchou chemií je cenově méně výhodné, a proto by mělo být využíváno u akutních a život ohrožujících stavů (Svoboda et al., 2000.)

Typickým vzorkem v klinické biochemii je sérum. Pro přípravu séra není potřebné žádné antikoagulační činidlo. Zkumavka bez antikoagulačního prostředku je známá jako zkumavka s červeným víčkem. Po odběru se krev nechá kompletně sražit, což obvykle trvá asi 15 min. Vzorek je poté odstředěn a dojde k oddělení sraženiny od séra (Allison et al., 2008).

Pokud se sérum neoddělí od buněk sraženiny, dochází k umělému změnám. Téměř pravidelnými artefakty je pokles koncentrace glukózy, protože erytrocyty a leukocyty spotřebovávají glukózu jako zdroj energie. Pokud je sérum ponecháno v kontaktu s krevními buňkami, koncentrace glukózy klesá přibližně o 10 % každou hodinu při pokojové teplotě (Young et al., 2001). Pokud se sérum oddělí od erytrocytů a zchladí se, většina analytů v rutinní biochemii je stabilních po 24 – 48 hodin. Pro získání séra je důležité ponechat krev usadit po dobu 15 – 20 minut, nejlépe při teplotě 37 °C v autoklávu a pak teprve odstředit. Tímto se krev perfektně vysráží. Pokud odstředění proběhne dříve, než začne odpovídající srážení, vytvoří se fibrinová zátka a místo tekutého séra získáme gel. V nedávné době se začal v rutinní biochemii používat heparin litný, který je k dispozici ve vhodných a komerčně dostupných odběrových setech. Heparin je saturaován vápníkem ve slabých vápník-vazebných místech v molekule heparinu, což je ideální pro měření iozinovaného vápníku (Allison et al., 2008).

Plazma získávána ze vzorků s EDTA se může používat ke stanovení biochemického profilu, močoviny (BUN), glukózy a celkových bílkovin. Ačkoliv se sérové nebo heparinované vzorky upřednostňují pro stanovení biochemického profilu, „rychlých ambulantních testů“, plazma získaná pomocí EDTA, se používá u pacientů, u kterých je obtížné odebrat větší množství krve. Tento způsob je dostatečný pro předchirurgické screeningové vyšetření u malých klinicky zdravých pacientů (Allison et al., 2008).

Více o zkumavkách EDTA a heparinových v kapitole 3.3.1.1 Preanalytická fáze.

3.4.1 Močovina (Urea)

Močovina a kreatinin jsou klíčové parametry pro posouzení glomerulární funkce. V praxi jsou využívány zejména dva typy: vyšetření glomerulární funkce a vyšetření tubulární funkce (Kučera et al., 2007).

Chemicky jde o diamid kyseliny uhličité (Doubek, 2007) a představuje konečný produkt metabolismu bílkovin (Svoboda et al., 2000). Urea je tradičně měřeným krevním parametrem pro detekci snížení glomerulární funkce. Levný a metodicky snadno stanovitelný parametr však ani zdaleka není ukazatelem specifickým. V literatuře se lze nezdědka setkat s označením parametru močoviny BUN (Kučera et al., 2007). Močovina vzniká v játrech v cyklu reakcí, označovaném ureosyntetický cyklus (ornitinový nebo malý Krebsův cyklus (Svoboda et al., 2000). Jako odraz katabolismu exo- a endogenních aminokyselin (Kučera et al., 2007).

Amoniak, vznikající především deaminací α – aminodusíku aminokyselin, je toxický pro všechny živočichy. V tkáních je amoniak nejprve detoxikován přeměnou na glutamin, který je následně transportován do jater. Deaminace glutaminu v játrech uvolňuje amoniak, který je následně přeměněn na močovinu (UREA), netoxickou sloučeninu s vysokým obsahem dusíku. Účinná tvorba močoviny je nezbytná pro zdraví (Murray et al., 1998). Močovina se vylučuje převážně glomerulární filtrací a cca 40 % se v tubulech zpětně resorbuje (Svoboda et al., 2000). Její zvýšené hodnoty tedy nemusí detekovat pouze sníženou funkci glomerulární filtrace, ale i zvýšený přísun bílkovin krmivem, tělesný katabolismus nebo gastrointestinální krvácení (Kučera et al., 2007).

Podle poměru urea/kreatinin lze určit azotemii. Močovina se podílí spolu s koncentracemi kreatininu, amoniaku, aminokyselin, kyseliny močové na hodnotě azotemie, což je hladina nebílkovinného dusíku v krevní plazmě nebo v krevním séru. Podle lokalizace příčin se rozlišuje azotemie: prerenální, intra renální, postrenální (Doubek, 2007). Oba parametry (urea a kreatinin) jsou poněkud málo citlivé. K jejich zvýšení z renálních příčin totiž dochází teprve při vyřazení některé ze 75 % nefronů glomerulární filtrace (Kučera et al., 2007).

Jakmile je více jak 50 % nefronů nefunkčních, odrazí se to v nepatrně omezené koncentrační schopnosti a lehce snížené glomerulární filtraci.

Toto stádium se vyznačuje mírným nebo středním zvýšením sérové močoviny nebo kreatininu (10 – 14 mmol/l popřípadě méně než 220 μ m) a lehkými uremickými příznaky (Niemand et al., 1996). Rovněž některé léky vyvolávají zvýšenou hladinu močoviny v krvi. Naopak její snížení může být způsobeno dietou omezenou v proteinech či těžkou hepatopatií (Kučera et al., 2007).

Při hodnotách močoviny > 8,3 mmol/l, se jedná o elevaci, způsobenou renálním selháním, intestinálním a renálním krvácením, horečkou, šokem, dehydratací, hypertyreózou, hypoadrenokorticismem, vysokoproteinovou a nízkosacharidovou dietou a aplikací katabolických preparátů (Svoboda et al., 2000). Za horní hranice normy lze u psů považovat hodnotu 7 mmol/l. Hodnota močoviny v mg/l se pro přepočet na mmol/l násobí koeficientem 0,357 (Kučera et al., 2007).

Při hodnotách močoviny < 3,3 mmol/l u psa hovoříme o „depresi“ způsobenou jaterní insuficiencí, portosystémovým zkratem, nízkoproteinovou dietou, psychogenní polydipsií a aplikací anabolických preparátů (Svoboda et al., 2000).

3.4.1.1 Akutní renální insuficience (ARS)

Akutní renální insuficience je náhlá neschopnost ledvin udržet homeostázi. Má výrazné projevy oligurií/anurií a uremií (Doubek, 2007). ARS je klinický syndrom, při kterém během několika hodin nebo dní dochází k výraznému poklesu GF, azotemii a často i k oligurii nebo anurii. Změny zaznamenané v krvi a moči jsou velmi závislé na základním onemocnění, jeho stupni těžkosti a fázi ARS (Niemand et al., 1996).

3.4.1.2 Chronická renální insuficience (CRI)

Pod pojmem chronická renální insuficience (CRI) rozumíme běžně se vyskytující progresivní, nevyléčitelný klinický syndrom, který se vyznačuje omezenou schopností ledvin vylučovat metabolity, regulovat vodní, elektrolytovou a acidobazickou rovnováhu a plnit reálně endokrinní funkce (Niemand et al., 1996). Chronické selhání ledvin je snížená schopnost ledvin udržet homeostázi. Manifestuje se při infekcích, nesprávné výživě, intoxikacích a vyčerpání.

Vede postupně k uremickému syndromu a řadě komplikací (Doubek, 2007). CRI se stává klinicky patrnou teprve po ztrátě 66 až 75 % nefronů (Niemand et al., 1996.) Závažný stav organismu vzniklý v důsledku hromadění produktů metabolismu bílkovin se označuje uremie (Doubek, 2007).

3.4.2 Kreatinin

Kreatinin je cyklický imid kreatinu (Svoboda et al., 2000). Je konečným produktem metabolismu kreatinu a kreatinfosfátu ve svalech (kreatinin vzniká z kreatinu odštěpením vody nebo z kreatininu odštěpením kyseliny fosforečné (Doubek, 2007). Kreatinin i jeho energeticky bohatá forma fosfokreatinin, jsou přítomny ve svaly, mozku a krvi (Murray et al, 1998).

Kreatinin představuje mnohem spolehlivější parametr pro posouzení glomerulární filtrace, protože je vylučován do moči konstantním způsobem, který je nezávislý na vnějších faktorech. Jeho normální hladina v krvi je závislá na tělesné hmotnosti jedince. Je produktem svalového metabolismu, a proto je jeho hladina nižší u menších zvířat s redukovanou svalovou hmotou (Kučera et al., 2007). Denní extrakce kreatininu močí je pozoruhodně konstantní a odpovídá svalové hmotě (Murray et al, 1998). Zvýší-li se plazmatická koncentrace kreatininu, odpad močí se zvyšuje o tubulární sekreci tohoto metabolitu (Svoboda et al., 2000).

Kreatinin se vylučuje glomerulární filtrací, pouze psi samčího pohlaví disponují určitou kvantitativně zanedbatelnou schopností tubulární sekrece kreatininu (Kučera et al., 2007). Hodnoty fyziologicky závisí na věku (mláďata obecně nižší) a objemu svaloviny (při úbytku svaloviny nižší) (Doubek, 2007). V moči se mohou normálně vyskytovat i stopy kreatininu (Murray et al, 1998).

Kreatinin není spolehlivým kritériem pro rozlišení mezi prerenální a intrarenální azotémií. V laboratořích se kreatinin většinou měří Jaffého metodou, která je nespecifická, takže nekreatininové chromogeny představují u zdravých psů až polovinu naměřeného množství (Kučera et al., 2007).

3.4.3 Jaterní parametry

Přítomnost jaterního onemocnění je často poprvé diagnostikováno na základě stanovení hodnot jaterních enzymů. Ačkoliv je stanovení jaterních enzymů někdy označováno jako jaterní funkční testy, jde spíše o charakterizaci integrity membrány hepatocytů a bilaterního epitelu, cholestázu nebo vyvolávající jevy, nežli vlastní funkční kapacitu jater. Potvrzení specifického jaterního onemocnění obvykle vyžaduje použití jaterní biopsie (Allison et al., 2008). Jaterní onemocnění – hepatopatie jsou často (až v 80 %) propojeny s onemocněními ledvin, gastrointestinálním traktem, pankreatem a CNS (Strombeck, 1990).

Hodnoty sérových enzymů stoupající v důsledku strukturálního poškození buněk, zvýšené permeability buněčných stěn nebo mikrosomálních indukci enzymů (Niemand et al., 1996). Enzymy běžně používané k diagnostice hepatopatií lze v zásadě rozdělit do dvou skupin, z nichž každá reaguje na jiný typ poškození. Aminotransferázy ALT a AST nás informují především o hepatocelulárním poškození, tj. rozpadu hepatocytů při jejich nekróze. Naproti tomu ALP a GMT jsou především indikátory intra a extrahepatální cholestázy a u psa též indukce některými léčivými nebo steroidy (Kelner et al., 1982).

Sérové aminotransferázy – aspartátaminotransferáza (AST), s předchozím označením sérové glutamát-oxalacetát aminotransferáza (SGOT), a alaninaminotransferáza (ALT), s předchozím označením sérová glutamát-pyruvát aminotransferáza (SGPT). Tyto enzymy katalyzují přenos α -amino skupiny asparátu a alaninu na α -keto skupinu α -glutarové kyseliny. Tyto reakce jsou nezbytné pro glukoneogenezi a pro syntézu močoviny (Allison et al., 2008). Protože katabolismus transamináz je zprostředkován absorpční endocytózou sinusoidálních hepatocytů, pomalá enzymatická clearance může zvyšovat plazmatickou aktivitu enzymů u pacientů s probíhající závažnou jaterní chorobou (Horiuchi et al., 1985).

Aktivita enzymů se v krvi zvyšuje při hepatocelulárním poškození nebo při indukci jejich syntézy (regenerace, účinek některých léčiv, cholestáza). Neinformují nás o funkci jater. Mohou být v normálním rozmezí při letálním jaterním selháním a naopak při výrazné elevaci enzymů může být funkce jater dostačující (Kelner et al., 1982).

Zpravidla se lze při běžném vyšetření omezit na stanovení ALT (GPT, alaninaminotransferáza), LD (laktátdehydrogenáza) a ALP (alkalická fosfatáza). Dále bývají příležitostně zjišťovány AST (GOT, aspartátaminotransferáza) a gama- glutamyltransferáza (GMT) (Niemand et al., 1996).

3.4.3.1 ALP

Alkalická fosfatáza je členem skupiny enzymů, jenž jsou tvořeny metaloproteiny s obsahem zinku a jejichž funkcí je štěpení terminální fosfátové skupiny z organických esterových fosfátů. Funkce těchto enzymů je lokalizována do prostoru styku membrán a probíhá nejlépe v alkalickém prostředí. Přesná funkce ALP v intermediálním metabolismu je předmětem dalšího výzkumu. Na rozdíl od transamináz je ALP zakotvena do buněčné membrány díky vazbě s glukosylfosfatidylinositolem. Toto ukotvení musí být rozštěpeno činností endogenní fosfolipázy, před vlastním uvolněním a distribucí do systémové cirkulace (Solte et al., 1995). ALP katalyzuje hydrolyzu fosfátových esterů v alkalickém prostředí. Má 3 izoenzymy- kostní (s izoformami kostní, jaterní, ledvinovou), střevní, placentární (Doubek, 2007). Svoboda et al., (2000) uvádí, že v krvi psa se nejčastěji zjišťují tři izoenzymy – jaterní, kostní a izoenzym indukovaný glukokortikoidy (c-ALP). Jeho podíl na celkové aktivitě činí za normálních okolností 5 – 20 %. Ostatní izoenzymy mají příliš krátké poločasy. Jednotlivé tkáně obsahující nejvyšší množství ALP v sestupné řadě – střevní sliznice, ledviny (kortex), placenta, játra a kosti (Hoffmann et al., 1977a). Z těchto tkání mohou být získávány rozdílné sériové izoenzymy ALP (Hoffmann WE, 1977b). ALP – izoenzymy jater mají poločas od 66 – 70 h. Ke zvýšení ALP dochází prostřednictvím zvýšené produkce (indukce) v epitelech žlučovodu jaterních buněk a převodem do cév při intra nebo extrahepatální cholestázi nebo proliferativních zánětlivých procesech (Niemand et al., 1996). Tři hlavní izoenzymy obsažené v krevním séru psa zahrnují B-ALP původem z kostí, L-ALP, jejíž tvorba je vyvolána reakcí jater a glukokortikoidy indukovaná G-ALP (Hoffmann et al., 1977).

První je tkáňový nespecifický ALP gen pro L-ALP, B-ALP a pro v ledvinách indukovanou ALP izoformu. Tyto formy ALP jsou odlišné pouze stupněm glykolisace. Druhým genem je gen pro intestinální ALP, jenž je specifický pro intestinální izoenzym (I-ALP) produkovaný buňkami střevní sliznice. I-ALP a G-ALP formy se liší pouze v pozici karbohydrátu a nedávné studie ukázaly, že G-ALP je syntetizována v játrech, kde je vázána na perisinusoidální membrány hepatocytů (Solter et al., 1995).

Tkáňově nespecifická ALP a G-ALP může být indukována u psů s endogenní tvorbou nebo exogenním podáváním steroidních hormonů a některých léčiv (Hoffmann et al., 1977).

ALP v játrech je lokalizována na cytoplazmatických membránách žlučových pólů hepatocytů a epitelu žlučovodů. Uvnitř buněk se vyskytuje v mnohem menším množství než např. ALT (Kelner, 1982).

Zvýšená sérová aktivita ALP u psů je nejčastější biochemickou abnormalitou při rutinním stanovení biochemického profilu. Protože ALP má nejnižší diagnostickou specifiku mezi rutinně stanovovanými jaterními enzymy, je někdy její diagnostický význam diskutabilní. Diagnostická složitost tohoto enzymu u psů je ovlivněna faktory působícími na genovou regulaci a transkripci izoenzymů ALP (Hoffmann et al., 1977).

V běžné populaci pacientů je abnormálně zvýšená aktivita jaterních enzymů daleko častějším jevem, než výskyt vlastního jaterního onemocnění. Tento jev je způsoben vlivem systémového onemocnění jater. Játra jsou vystaveny širokému působení toxinů a metabolitů léčiv, endotoxinů a infekčních agens na základě své „strážnické“ pozice mezi trávicím systémem a systémovou cirkulací. K celkovému posouzení odchylek v hodnotách jaterních enzymů je třeba určit převažující charakter enzymatických změn, zvýšení hodnot enzymatické aktivity nad rámec referenčního rozmezí. Závažnost nárůstu aktivity je hodnocena následovně: jako mírná, pokud je hodnota 5násobek referenčního rozmezí, střední je 5 až 10 násobek horních referenčních hodnot nebo výrazná, pokud je 10 násobek horní referenční hranice, dále se posuzuje rozsah změn a charakter průběhu změn (Allison et al., 2008).

ALP může, ale nemusí být zvýšená při akutních onemocněních jater, poněvadž každá jaterní léze dává podnět k enzymatické indukci, především ne takové, které probíhají centrolobulárně a při nichž ALP jen relativně pomalu stoupá. Současný vzestup ALT, GMD nebo AST potvrzuje původ ALP v epitelech žlučových cest (Niemand et al., 1996).

Využití aktivity sérové ALP jako diagnostického znaku u psů je komplikováno běžnou akumulací L-ALP a G-ALP izoenzymů (Wiedmeyer et al., 2002). Štěňata a mladí psi (přibližně do 7 měsíců) mají signifikantně vyšší hodnoty ALP, ALT a GMT (Kelner, 1982) což je způsobeno vyšší úrovní metabolismu kostní tkáně (Horney, 1994).

Zvýšené ALP bylo v 68 % a GMT v 50 % u psů s onemocněním žlučovodů. Hodnoty enzymů bývají jen málo ovlivněny pohlavím, mírným pohybem nebo malým stupněm stresu. Hodnoty AST se mohou až zdvojnásobit po těžké tělesné námaze (Kelner, 1982). Při výcviku psů zůstává neobjasněno, zdali tyto enzymy pocházejí z hepatocytů nebo dobře cévně zásobených aktivních svalů (Bolter et al., 1974).

U psů s onemocněním nekrózy jaterních buněk byly hodnoty zvýšeny u GMT 84 %, ALT v 75 % a AST v 25 %. (Kraft et al., 1983). Primárně zánětlivé postižení jater, stejně tak jako systémová infekce, zánětlivá reakce a také podávání steroidních hormonů, může způsobovat vakuolární hepatopatii u psů (Sepesy et al., 2006).

Zhruba u 11 % psů s maligním tumorem a 7 % psů s benigním tumorem bylo zaznamenáno čtyřnásobné zvýšení hladiny ALP (Meyer et al., 1983). Přestože sérová hladina ALP může být normální nebo pouze mírně zvýšená u psů s metastatickou neoplasií postihující játra, k dramatickému zvýšení může docházet u psů s neoplasií mléčné žlázy. Přibližně 55 % psů s maligním tumorem mléčné žlázy a 47 % psů s benigním tumorem má zvýšenou hladinu sérové ALP (Hamilton et al., 1973).

3.4.3.2 ALT

Alaninaminotransferáza dříveji označována synonymem alaninaminotransamináza (Doubek, 2007), patří do skupiny sérových transamináz (Kelner, 1982).

Alaninaminotransferáza (ALT) je u psa a kočky diagnosticky významnější enzym, resp. ukazatelem hepatocelulárního poškození (Svoboda et al., 2000). Normální referenční hodnoty jsou: ALT 40 – 50 U/L a u ALP 130 U/L (Keller, 1982). ALT a AST jsou v játrech přítomny ve vysokých koncentracích, ale stejně tak jsou přítomny i v dalších tkáních (Van Hoof et al., 1997). ALT se primárně nachází v játrech v koncentracích 4krát vyšších než v ostatních tkáních (srdeční svalovině) a v 10 krát vyšší koncentraci než v ledvinách (Allison et al., 2008).

Lokalizace transamináz v rámci binárních zón se také liší. ALT dosahuje vyšší koncentrace v periportálních hepatocytech a AST dosahuje vyšší koncentrace v periacinárních hepatocytech (Allison et al., 2008). V hepatocytech je ALT uložena v cytosolu, a proto se při poškození buňky snadno uvolňuje (Svoboda et al., 2000). Lokalizace transamináz v tekuté frakci cytosolu hepatocytů umožňuje jejich bezprostřední uvolnění již v rámci reakce na malé změny permeability hepatocelulární membrány. Tento rychlý nárůst aktivity transamináz limituje diagnostickou využitelnost těchto enzymů pro diferenciaci mezi reverzibilními a ireverzibilními změnami membrány, stejně tak jako rozsah vlastního poškození tkáně (Valentine et al., 1990).

Poločas transamináz se jeví jako kontroverzní, s odhadem od 3 hodin až po 17 dnů dosažených intravenózní aplikací jaterního homogenitu (Zinkl et al., 1971) a (Dossin et al., 2005). Niemand et al. (1996) uvádí hodnotový poločas ALT 2,5 h, a proto se hodnoty ALT při přechodných lézích rychle normalizují. Svoboda et al. (2000) uvádí, poločas u psa 2,5 dne.

Hodnoty sérových enzymů stoupající v důsledku strukturálního poškození buněk, zvýšené permeability buněčných stěn nebo mikrosomálních indukci enzymů (Kraft et al., 1983). Nejvyšší hodnoty jsou zaznamenávány při hepatocelulární nekróze a zánětu (Cornelius and Kaneko, 1960). Následkem akutní těžké hepatocelulární nekrózy jsou hladiny sérové ALT znatelně a ostře zvýšený v průběhu 24 až 48 hodin až do hodnot 100 násobně vyšších, s maximem během prvních 5 dnů po postižení (Allison et al., 2008). Při těchto stavech může být graduální a postupný pokles aktivity ALT známkou procesu regenerace (Cornelius and Kaneko, 1960). Jestliže je etiologický faktor odstraněn, aktivita ALT graduálně klesá k normálním hodnotám v intervalu 2 až 3 týdnů (King, 1963).

U akutních jaterních postižených je dobrým prognostickým znakem pokles aktivity sérové ALT o 50 a více procent v průběhu několika dnů. Některá zvířata mohou mít normální hodnoty ALT, přesto jsou postižena závažným poškozením jater (Cornelius and Kaneko, 1960). Při těžkém poškození jaterního parenchymu (mnohočetné nekrózy, abscesy, tumory) může být aktivita ALT v referenčním rozmezí nebo i nižší (restrikce zdroje enzymu) (Doubek, 2007). Zvýšení hodnot ALT nad trojnásobek normální hodnoty je vysoce specifické pro akutní nebo chronické postižení jaterních buněk, hepatitidu a extrahepatální obstrukce žlučovýchodů. Zvýšení ALT mohou rovněž ovlivnit sepse, pankreatitida, toxémie a peritonitida. Nepravé zvýšení je možné při silné hemolýze a lipémii. Enzym se vyskytuje ve vysoké koncentraci v plazmě jaterních buněk a může ve velkém množství proniknout do séra již po mírných lézích (Kelner, 1986).

Ve většině případů změny v aktivitě AST paralelně doprovází změny aktivity ALT. V některých případech se hodnoty AST upravují dříve než hodnoty ALT (Cornelius and Kaneko, 1960). Známým faktem je zvýšení aktivity jaterních transamináz při poranění svalů a po nadměrné fyzické námaze u psů (Valentine et al., 1990). Při výcviku psů zůstává neobjasněno, zda tyto enzymy pocházejí z hepatocytů nebo dobře cévně zásobených aktivních svalů (Bolter et al., 1974).

3.4.4 Glukóza

Sacharidy patří k hlavním součástem živočišné potravy a živočišných tkání. Mohou být charakterizovány podle typu a počtu monosacharidových jednotek ve svých molekulách (Murray et al., 1998). Sacharidy se rozdělují na monosacharidy, disacharidy nebo polysacharidy a to podle počtu uhlíků v jejich molekule. Monosacharidy zahrnují ribózu (pentóza), glukózu, fruktózu a galaktózu. Disacharidy jsou chemicky kombinací dvou molekul monosacharidů a jsou představovány sacharózou, maltózou, laktózou. Polysacharidy jsou molekuly, které obsahují větší počet molekul jednoduchých cukrů. Polysacharidy důležité pro zvířata jsou škrob, glykogen, celulóza (Reece, 1998). Prostřednictvím metabolismu glukózy je do značné míry ovlivňován a regulován metabolismus jako celek (Trojan et al., 1999).

Glukóza je ústřední jednotka sacharidového metabolismu, indikátor jeho úrovně (Doubek, 2007). Glukóza je nejvýznamnějším sacharidem v živočišné biochemii, protože téměř všechny sacharidy v potravě se přeměňují na glukózu pro další metabolismus. Monosacharidy, které mají fyziologický význam, jsou glukóza tj. „krevní cukr“, a ribóza, významná složka nukleotidů a nukleových kyselin (Murray et al., 1998). Glukóza a galaktóza vyžadují pro svůj aktivní transport do buněk přítomnost Na^+ (Reece, 1998).

Z energetických substrátů cirkulujících v krvi (masné kyseliny, pyruvát, ev. kyselina mléčná, glukoplastické aminokyseliny) tvoří glukóza jejich nejpodstatnější složku (Trojan et al., 1999).

Glukóza je jednoduchý sacharid představující hlavní zdroj energie pro buňky (Doubek, 2007). Stěny kapilár jsou pro glukózu volně prostupné. Samotná koncentrace glukózy v krvi (glykémie) je výslednicí mezi příjmem glukózy a glukoneogenezí na jedné straně a mezi její neustálou konzumací buňkami celého těla na straně druhé. Tyto procesy jsou přísně regulovány, a proto kolísání glykémie je možné pouze v určitých limitech (Trojan et al., 1999).

Pro rozlišení hypoglykémie a hyperglykémie je praxi nejčastěji používaná měření koncentrace cukru v krevní plazmě a séru. Rozdíl mezi venózní a kapilární krví jsou malé (Forsyth, 2008).

V krevní plazmě je koncentrace glukózy vyšší (u psa až o 0,5 mmol/l) než plné krvi, neboť glukóza je spotřebována krvinkami, za 1 h činí úbytek až 0,5 mmol/l (Doubek, 2007). Ale naopak jsou výraznější rozdíly 2 – 3 mmol/l a to u post a preprandiálních pacientů (Forsyth, 2008). Téměř pravidelnými artefakty je pokles koncentrace glukózy, protože erytrocyty a leukocyty spotřebovávají glukózu jako zdroj energie. Pokud je sérum ponecháno v kontaktu s krevními buňkami, koncentrace glukózy klesá přibližně o 10 % každou hodinu při pokojové teplotě (Young et al., 2001). Stav glykémie je rozhodující např. pro činnost CNS, protože nervová tkáň za normálních okolností využívá glukózu jako výhradní energetický substrát. Při namáhavé práci dochází ke zvýšenému odběru glukózy a organismus je ohrožován hypoglykemií. Stav glykémie je registrován glukoreceptory umístěnými jednak v hypotalamu (centrální), jednak na periférii (Trojan et al., 1999).

3.4.4.1 Hypoglykémie

Klinická manifestace nastává obecně při poklesu glukózy v krevní plazmě pod 2,5 mmol/l. Příčinami může být: deprese, slabost, ataxie, křeče, kóma, jaterní insuficience, deficit jaterních enzymů zúčastněných v metabolismu sacharidů, juvenilní hypoglykémie (trpasličí plemena psů), idiopatická hypoglykémie (lovecká plemena psů), hladovění, inzulinom, dlouho trvající křeče (spotřebovávání glukózy) atd. (Doubek, 2007). Jediným hypoglykemizujícím faktorem (hormonem) je inzulin (Trojan et al., 1999).

Inzulín snižuje hladinu krevního cukru a usnadňuje vstup glukózy do buněk, tkání a svalů. Deficit inzulinu je jednou z příčin onemocnění cukrovkou (diabetes mellitus). Hormony ostrůvku slinivky břišní mají hlavní úlohu v metabolismu sacharidů (Marvan et al., 1992).

3.4.4.2 Hyperglykémie

Příčiny hyperglykémie jsou stresové situace, trauma, extrémní fyzická námaha, křeče, bolest, hormonálně podmíněné poruchy – diabetes mellitus, akromegalie, Cushingův syndrom, aplikace kortikoidů v diestru u fen, renální insuficience, akutní pankreatitida. Po nakrmení, tj. posprandiálně (mírná, do 2 h po příjmu krmiva) (Doubek, 2007).

Po nakrmení, zejména bohatém na látky sacharidové povahy, může vzniknout tzv. alimentární hyperglykémie (Trojan et al., 1999).

Hyperglykémie bývá často v mírném stupni (do 10 mmol/l pozorována u uremiků). Pokud je u akutního či chronického uremika zjištěna výrazná hyperglykémie (10 mmol/l), je třeba zvažovat současnou přítomnost akutní pankreatitidy, ať už v sekundární či primární vazbě na urémii (Holt et al., 2008). Klinická manifestace nastává až při překročení ledvinného prahu pro glukózu (u psa 10 – 12 mmol/l krevní plazmy) (Doubek, 2007).

Hyperglykemizující hormony jsou: glukagon, glukokortikoidy, adrenalin, somatotropní hormon a nepřímo tyroxin (Trojan et al., 1999).

3.4.5 Bílkoviny

Nejvíce pevných látek v plazmě připadá na bílkoviny. Plazmatické bílkoviny se tradičně dělí na albuminy, globuliny a fibrinogen. V současné době bylo určeno více než 100 různých plazmatických bílkovin, jejich struktury a funkce. Plazmatické proteiny se tvoří v játrech, imunoglobuliny v B- lymfocytech, resp. plazmatických buňkách. Globuliny se dále dělí na α_1 , α_2 , β_1 , β_2 , a γ (Trojan et al., 1999).

3.4.5.1 Celková bílkovina

Synonymem celkové bílkoviny je total protein (TP) (Doubek, 2007). Celková bílkovina je tvořena několika stovkami různých proteinů. Ty se liší koncentrací, molekulovou hmotností a funkcí. Plazmatické proteiny jsou většinou syntetizovány v játrech a odtud uvolňovány do krve (Svoboda et al., 2000).

Funkce plazmatických bílkovin jsou rozsáhlé a můžeme je přehledně rozdělit do několika skupin. Trojan et al. (1999) uvádí tyto funkce: udržování objemu plazmy, transportní funkce plazmatických bílkovin, udržování izohydrie, plazmatické inhibitory proteáz, ochrana organismu proti infekci. Svoboda et al. (2000) uvádí tyto hlavní funkce: udržování koloidně osmotického tlaku, ochrana proti patogenním noxám, koagulace krve a fibrinolýza, transport hormonů a mikroprvků, lipidů, metabolitů, role enzymů. Doubek (2007) uvádí jako hlavní funkce udržování onkotického tlaku (zejména albuminu), obrannou, transportní, koagulaci krve, činnost enzymů a jejich inhibitorů. V krevní plazmě je však podstatně více bílkovin a jejich molekuly se uplatňují na kapilární membráně a vytvářejí osmotický neboli onkotický tlak (Trojan et al., 1999).

3.4.5.1.1 Hypoproteinémie

Většina plazmatických proteinů je produkována v játrech a vážná jaterní onemocnění mohou být příčinou hypoproteinémie díky narušené produkci (Forsyth, 2008). Významný pokles celkové bílkové bílkoviny (pod 40 – 50 g/l), albumin (pod 30 g/l) vede k poklesu onkotického tlaku, což znamená nebezpečí vzniku edému či ascitu (Doubek, 2007).

Svoboda (2000) uvádí hypoproteinémii u psa 55 g/l. Příčinou je deficit proteinů v dietě, maldigesce, malabsorpce, poruchy funkce jater, kongestivní srdeční selhání, ztráty proteinů (střevem, močí, krváceninami aj.), septické stavy (Svoboda et al., 2000). Měříme-li pouze totální protein a ne i albumin může být hypoproteinémie u jaterních onemocnění zpochybnitelná, protože jaterní onemocnění jsou občas doprovázena hypergamaglobulinémií (gamaglobuliny jsou produkovány především buňkami imunitního systému), která může držet hodnoty celkového proteinu v hodnotách fyziologického rozpětí (Forsyth, 2008).

4. MATERIÁL A METODIKA

4.1 Materiál

Do této studie bylo zařazeno 12 psů plemene Border kolie vyšetřených od dubna 2012 do dubna 2013. Ve skupině bylo 6 psů a 6 fen, ve věku 1 – 7 let, v různém stupni zátěže – od sportovního využití až po běžný chovatelský režim. Pes č. 1: pohlaví samec, věk 7 let. Pes č. 2: pohlaví samec, věk 3 roky. Pes č. 3: pohlaví samice, věk 1 rok. Pes č. 4: pohlaví samec, věk 7 let. Pes č. 5: pohlaví samec, věk 1 rok. Pes č. 6: pohlaví samec, věk 4 roky. Pes č. 7: pohlaví samice, věk 2 roky. Pes č. 8: pohlaví samice, věk 4 roky. Pes č. 9: pohlaví samec, věk 4 roky. Pes č. 10: pohlaví samice, věk 5 let, Pes č. 11: pohlaví samice, věk 1 rok. Pes č. 12: pohlaví samice, věk 3 roky.

Všem těmto psům byla pravidelně, jedenkrát za měsíc, odebírána krev pro laboratorní vyšetření. Všichni vyšetřovaní psi byli při odběru 12 hodin na lačno a klinicky bez zjevných zdravotních potíží. Ani žádný z majitelů v době odběru neuváděl u psů únavu, změny v chování, příjmu tekutin, stravy, vylučování apod. Odběry krve byly prováděny na lačno z *v. cephalica antebrachii* nebo z *v. jugularis* do zkumavek s K3EDTA pro hematologické vyšetření a do sérových zkumavek s koagulačními granulemi pro vyšetření biochemické. Ještě v den odběru byly vzorky vyšetřeny na biochemickém analyzátoru Spotchem EZ, SP-4430 a hematologickému analyzátoru pro veterinární použití Celltac Alfa, Nihon Kohnen, dodávaných a plně servisovaných firmou Medista. Z hematologických ukazatelů byly hodnoceny následující parametry: WBC, RBC, HGB, HCT, MCV, MCH, MCHC, PLT, PCT, lymfocyty, monocyty, eozinofily, granulocyty. Z biochemických ukazatelů bylo hodnoceno následující: BUN (UREA), GLU, ALP, T-PRO, GPT (ALT), CREA.

Celá výše uvedená skupina psů byla monitorována po dobu 12 měsíců s cílem zjistit výchyly hodnocených parametrů ať již vzhledem k plemeni v porovnání se standardními tabulkovými hodnotami fyziologických parametrů, tak vzhledem ke změně parametrů v průběhu roku.

4.2 Metody stanovení

Jednotlivým psům se krev odebírala pravidelně z *v. cephalica antebrachii* nebo z *v. jugularis*. K odběru krve byla použita černá jehla s průměrem 22 G. Místo odběru bylo oholeno a vydezinfikováno tampónem napuštěným ajatinem nebo použita sprejová dezinfekce Cutasept G. Krev byla odebírána do dvou druhů zkumavek a to na zkumavky EDTA a sérové zkumavky s červeným víčkem. Krev byla vyšetřena v prostorách veterinární kliniky a tím byla minimalizována laboratorní chyba, která by mohla vzniknout přepravou vzorku do externí laboratoře. I tak v průběhu laboratorního testování existuje mnoho potenciálních zdrojů chyb. Proces testování začíná tím, jakým způsobem se vzorek odebírá, pokračuje tím, jak se s ním manipuluje, než se dostane do přístroje, jak je zpracován laboratorními přístroji a končí získáním výsledků.

4.2.1 Hematologické vyšetření

K hematologickému vyšetření jsme použili zkumavku EDTA (kyselina etylendiamintetraoctová), působí jako antikoagulační látka. Je potřeba dodržovat správné zásady při odběru krve. Více o zkumavkách EDTA popsáno v kapitole 3.3.1.1 Preanalytická fáze.

Hematologické vyšetření probíhalo na přístroji Celltac alfa, Nihon Kohden, MEK-6450 J/K. Automatický hematologický analyzátor je navržen pro měření 20 parametrů (pro psa, kočku, krávu a koně) nebo 12 parametrů (pro krysu, myš a další zvířata).

Vzorek je analyzátozem aspirován, poté rozdělen a jednotlivé části jsou ředěny izotonickým roztokem. První ředění je vystaveno působením reagens, která způsobí lýzu erytrocytů, aby se předešlo jejich interferenci při stanovení leukocytů a mohla být spektrometricky určena koncentrace hemoglobinu. V druhém izotonickém ředění jsou zachovány jednotlivé buňky pro stanovení erytrocytů a destiček. V tomto ředění jsou vyloučeny leukocyty dle jejich velikosti a nízké relativní koncentraci. Destičky a erytrocyty jsou elektronickými prahy separovány pro účely klinické interpretace. Získáván je diferenciál zahrnující granulocyty, lymfocyty a monocyty. Buňky jsou diferencovány dle velikosti jádra a buněčného zbytku po reakci s činidly, které minimalizují nebo odstraňují cytoplazmatickou membránu.

Při posuzování histogramu jsou největšími buňkami granulocyty, nejmenšími lymfocyty a monocyty. Buňky jsou diferencovány dle velikosti a buněčného zbytku po reakci s činidly, které minimalizují nebo odstraňují cytoplazmatickou membránu. Rozdílná konzistence leukocytů zvířat není zrovna ideální, nicméně ve většině laboratoří je prováděno stanovení diferenciálu ještě mikroskopicky.

Přístroj poskytuje rychlé výsledky a všechny úkony se provádějí automaticky, jediné co musíme provést je dát vzorkovací pipetu do nádoby se vzorkem (zkumavky K₃EDTA), která obsahuje plnou krev a stisknout (Count). Přístroj si sám nasaje potřebné množství krve, při nasávání krve je třeba držet zkumavku tak, aby se pipeta nedotýkala stěn zkumavky a dna zkumavky. Přístroj si jednotlivá ředění provádí sám. Výsledky a data se zobrazí na LCD obrazovce, doplňková tiskárna umožňuje vytisknutí dat. Pro psa a kočku, krávu a koně je analyzátor schopen rozlišit populace leukocytů a rozdělit je do skupin LY, MO, EO, GR (v absolutních hodnotách) a LY %, MO %, EO %, GR % (v relativních hodnotách) WBC, RBC a PLT se měří metodou detekcí elektrického odporu.

4.2.2 Biochemické vyšetření

K biochemickému vyšetření jsme použili zkumavky s červeným víčkem se srážecím gelem. Pro získání séra je potřeba krev nechat usadit 15 – 20 minut při teplotě 37°C, pokud odstředíme dříve, dojde k vytvoření fibrinové zátky a místo tekutého séra získáme gel. Více v kapitole 3.4 Biochemické vyšetření.

Biochemické vyšetření krve bylo prováděno na přístroji Arkray Spotchem EZ (SP-4430). Biochemický analyzátor používá reagenční proužky (stripy) a funguje metodou suché chemie. Přístroje na principu suché chemie využívají reflexní fotometrii.

Reagenční stripy jsou napuštěny chemickými činidly v suché formě. Reagens jsou přidáním vzorku rozředěna a v reaktivní vrstvě dochází k barevné reakci. Vzorek byl aplikován automatickou pipetou na reaktivní plochu nebo selektivní disky, proběhne reakce a fotometricky je měřeno množství světla odraženého od povrchu. Stripy mohou mít jednu nebo několik reakčních ploch, což umožňuje individuální a definovaný testovaný panel. Stripy, které firma dodává, jsou členěny do různých typů panelů, obsahující různé skupiny parametry. Z jednoho vzorku měří až 9 parametrů současně. Pro naše testování byl použit Panel V, obsahující BUN, GLU, ALP, T-PRO, GPT, CREA.

K samostatnému měření musíme krev ze zkumavky K₃EDTA přepipetovat do zkumavky pro integrovanou centrifugu přístroje. Je třeba napipetovat přesné množství krve po risku a to 250 µl, pokud bude krve méně, přístroj vzorek vyhodnotí jako chybný a vzorek krve nebude vyšetřen.

Biochemický analyzátor potřebuje po svém zapnutí čas na zahřátí na pokojovou teplotu, to trvá 10 minut, poté se na displeji zobrazí hlavní MENU. Analyzátor správně pracuje při teplotách 10-30°C.

Před vlastním měření je třeba zvolené stripy vyndat z ledničky a nechat 20 minut temperovat. Během temperování přístroje si připravíme i příslušnou zkumavku o objemu 250 µl a nepipetujeme do ní správné množství krve, ze vzorku odstraníme bubliny, nečistoty, které by mohly způsobit nepřesnosti v měření. Zkumavku uzavřeme, pokud nedojde k okamžitému měření krve. V nabídce (MENU) zmáčkneme tlačítko (START), dojde k vysunutí měřicí desky, kde do centrifugy umístíme zkumavku se vzorkem a centrifugu uzavřeme. Do prostoru pro pipety umístíme vždy novou pipetu (špičku). Je třeba nedotýkat se konců špiček, neumývat špičky, jsou speciálně ošetřené pro přesné dávkování vzorku. Do prostoru pro měření umístíme reagenční stripy Arkray, je třeba nepoužívat expirované, zdeformované, zbarvené nebo jinak poškozené stripy, nevystavovat stripy dlouhému působení světla a vzduchu a nedotýkat se při manipulaci reagenčních políček stripů. Po umístění zkumavky, reagenčního stripu a pipety zmáčkneme znovu tlačítko (START) a přístroj započne měření. Samotné měření trvá od 8 do 15 minut, vždy záleží na množství měřených parametrů. Výsledky lze zjistit na displeji přístroji a dále pomocí přídatné tiskárny získat i v tištěné formě.

4.3 Statistické zpracování naměřených hodnot

V diplomové práci jsou jednotlivé hodnoty propočítané pomocí základních statistických hodnot. K výpočtům byl použit Microsoft Excel a program Statistica. Mezi základní statistické hodnoty řadíme střední hodnotu (aritmetický průměr), chybu střední hodnoty, modus, medián, směrodatnou odchylku, rozptyl výběru, minimum, maximum, hladinu spolehlivosti (95 %), interval spolehlivosti. Dále test normality (Chí-kvadrát) a Friedmanova analýza rozptylu, v odborné literatuře uváděn jako Friedmanův test. Typickým použitím jsou situace, kdy u stejných (n) jednotek je sledován určitý znak, při (k) různých podmínkách.

Dále jsou analyzovány jednotlivé ukazatele a testuje se hypotéza, zda jsou nezávislé na měsíci měření.

4.3.1 Základní statistické hodnoty

Střední hodnota – je parametr rozdělení náhodné veličiny, který je definován jako vážený průměr daného rozdělení.

Modus – (\tilde{x}) představuje nejčastěji se vyskytující hodnotu proměnné.

Medián – (\hat{x}) představuje prostřední hodnotu náhodného souboru, který je seřazen od nejmenší hodnoty po největší. V případě sudého počtu hodnot je medián aritmetickým průměrem hodnot na dvou prostředních místech.

Směrodatná odchylka – je definována jako kladná druhá odmocnina z rozptylu „ s^2 “ (resp. z rozptylu „ σ^2 “). Udává střední stupeň kolísání hodnot znaku „ X_i “ od průměru ve stejných jednotkách, v jakých je uveden sledovaný znak.

Rozptyl výběru „ σ^2 “ – je nejvýznamnější mírou variability, která se měří současně variabilitu hodnot kolem aritmetického průměru s variabilitou ve smyslu vzájemných odchylek jednotlivých hodnot znaku.

Test normality – χ^2 (*chí kvadrát*)- je rozdělení pravděpodobnosti, které je často využíváno ve statistice. Velký význam má pro určování, zdali množina dat vyhovuje dané distribuční funkci.

5. VÝSLEDKY

Celkem bylo testováno 12 psů (6 fen a 6 psů) ve věku 1 – 7 let, kterým bylo po dobu jednoho roku odebírána krev každý měsíc na základní hematologické a biochemické vyšetření.

V tabulkách jednotlivých psů jsou, zaznamenávány výsledky všech měření po dobu celého roku a to pro jednotlivé měřené parametry. Výsledky měření jsou uvedeny v tabulkách č. 1 – 12 přílohy. Z důvodu obrovského množství dat a ukazatelů jsme v práci vyhodnotili ve výsledcích 3 hematologické ukazatele a 3 biochemické ukazatele. Z hematologického vyšetření jsme vybrali tyto parametry: WBC, RBC, PLT. Z biochemického profilu jsme vybrali: BUN, T-PRO, ALP. Pro testování nulové hypotézy jsme stanovili tuto hypotézu H_0 : měsíc nemá vliv na hodnotu ukazatele (hodnoty ukazatele se v průběhu roku neliší).

5.1 Leukocyty (WBC)

U psa č. 1 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 7,2, chyba střední hodnoty 0,47353, medián 6,8, modus 6,6, směrodatná odchylka 1,707337, rozptyl výběru 2,915. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 6,222682 a hodnoty maxima 8,177318. Referenční hodnoty základních hematologických parametrů jsou pro leukocyty (WBC): $6,0 - 17,0 \cdot 10^9/l$. Pes č. 1 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 2 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 13,96154, chyba střední hodnoty 0,623836, medián 13,5, směrodatná odchylka 2,249273, rozptyl výběru 5,059231. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 12,674 a hodnoty maxima 15,24907. Pes č. 2 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 3 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 9,053846, chyba střední hodnoty 0,652963, medián 8,9, směrodatná odchylka 2,354292, rozptyl výběru 5,542692. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 7,706196 a hodnoty maxima 10,4015. Pes č. 3 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 4 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 13,76154, chyba střední hodnoty 0,852187, medián 12,9, modus 12,4, směrodatná odchylka 3,072604, rozptyl výběru 9,440897. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 12,00271 a hodnoty maxima 15,52037. Pes č. 4 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 5 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 11,75385, chyba střední hodnoty 0,296694, medián 11,8, modus 13,1, směrodatná odchylka 1,069747, rozptyl výběru 1,144359. Interval spolehlivosti se v minimu 11,1415 rovnal a hodnoty maxima 12,36619. Pes č. 5 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 6 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 9,638462, chyba střední hodnoty 0,436704, medián 9,1, modus 10,1, směrodatná odchylka 1,574557, rozptyl výběru 2,479231. Interval spolehlivosti se v minimu 8,73715 rovnal a hodnoty maxima 10,53977. Pes č. 6 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 7 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 8,092308, chyba střední hodnoty 0,377994, medián 7,6, modus 7,6, směrodatná odchylka 1,362878, rozptyl výběru 1,857436. Interval spolehlivosti se v minimu 7,312166 rovnal a hodnoty maxima 8,87245. Pes č. 7 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 8 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 9,769231, chyba střední hodnoty 0,398456, medián 9,9, směrodatná odchylka 1,436654, rozptyl výběru 2,063974. Interval spolehlivosti se v minimu 8,946858 rovnal a hodnoty maxima 10,5916. Pes č. 8 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 9 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 9,938462, chyba střední hodnoty 0,502881, medián 9,2, modus 8,9, směrodatná odchylka 1,813164, rozptyl výběru 3,287564. Interval spolehlivosti se v minimu 8,900566 rovnal a hodnoty maxima 10,97636. Pes č. 9 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 10 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 8,046154, chyba střední hodnoty 0,428117, medián 7,7, modus 6,9, směrodatná odchylka 1,543597, rozptyl výběru 2,382692. Interval spolehlivosti se v minimu 7,162564 rovnal a hodnoty maxima 8,929744. Pes č. 10 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 11 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 10,58462, chyba střední hodnoty 0,370178, medián 10,3, modus 10,3, směrodatná odchylka 1,334695, rozptyl výběru 1,78141. Interval spolehlivosti se v minimu 9,820606 rovnal a hodnoty maxima 11,34862. Pes č. 11 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 12 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 7,330769, chyba střední hodnoty 0,476416, medián 6,7, modus 6,7, směrodatná odchylka 1,717743, rozptyl výběru 2,950641. Interval spolehlivosti se v minimu 6,347495 rovnal a hodnoty maxima 8,314044. Pes č. 12 se nachází v mezích referenčních hodnot.

Hodnoty naměřených leukocytů a výpočty aritmetického průměru a hodnot rozptylu jsou uvedeny v tabulce č. 13, výpočty jsou uvedeny jak pro jednotlivé psy za celý rok tak pro celou skupinu v konkrétním měsíci a i zde při porovnání referenčních hodnot s výsledky námi naměřenými jsou všichni psi v mezích referenčních hodnot.

Statisticky jsem vyhodnotila test Normality, kdy výsledky testu zda přijmout hypotézu normality nebo ne jsou pro hodnoty WBC uvedeny v tabulce č. 19, kdy hodnota (N) je celkový počet hodnot, (W) je hodnota testovacího kritéria a (p) je hodnota, dle níž jsme porovnávali, zda přijmout hypotézu normality nebo ne. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 19 testu Normality, duben 2012 nesplňuje test Normality (nelze použít ANOVA).

Dále jsem stanovila nulovou hypotézu H_0 : jednotlivé měsíce během roku nemají vliv na hodnotu ukazatele (hodnoty ukazatele se v průběhu roku neliší). Hodnota p je nejnižší hladina významnosti, na které zamítáme H_0 , tedy pokud $p <$ zvolená hladina významnosti ($\alpha=0,05$), zamítáme H_0 . Hodnota (r) je průměrný koeficient pořadové korelace. Ukazatel Coeff. of Concordance je obdoba Spearmanova korelačního koeficientu.

Použila jsem program statistika a výpočet Friedman. ANOVA and Kendall Coeff. Of Concordance (Spreadsheet3), výslednou hodnotou pro leukocyty (WBC) je hodnota $p = 0,12661$. Z výsledků je zřejmé, že nedochází k zamítnutí hypotézy ($p > 0,05$ – nezamítáme H_0). Výsledky Friedmanova testu jsou uvedeny v přílohách v tabulce č. 25 a č. 26.

5.2 Erytrocyty (RBC)

U psa č. 1 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 6,422308, chyba střední hodnoty 0,181949, medián 5,99, modus 5,97, směrodatná odchylka 0,656025, rozptyl výběru 0,430369. Interval spolehlivosti se v minimu 6,046784 rovnal a hodnoty maxima 6,797831. Referenční hodnoty základních hematologických parametrů jsou pro erytrocyty (RBC) $5,5 - 8,5 \cdot 10^9/l$. Pes č. 1 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 2 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 6,24, chyba střední hodnoty 0,452931, medián 5,68, modus 5,47, směrodatná odchylka 1,633065, rozptyl výběru 2,6669. Interval spolehlivosti se v minimu 5,305197 rovnal a hodnoty maxima 7,174803. Pes č. 2 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 3 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 6,467692, chyba střední hodnoty 0,27474, medián 6,3, směrodatná odchylka 0,99059, rozptyl výběru 0,981269. Interval spolehlivosti se v minimu 5,900656 rovnal a hodnoty maxima 7,034728. Pes č. 3 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 4 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 6,434615, chyba střední hodnoty 0,217602, medián 6,84, modus 6,96, směrodatná odchylka 0,784576, rozptyl výběru 0,61556. Interval spolehlivosti se v minimu 5,985506 rovnal a hodnoty maxima 6,883725. Pes č. 4 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 5 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 6,245385, chyba střední hodnoty 0,207663, medián 6,4, směrodatná odchylka 0,748739, rozptyl výběru 0,56061. Interval spolehlivosti se v minimu 5,81679 rovnal a hodnoty maxima 6,67398. Pes č. 5 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 6 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 6,594615, chyba střední hodnoty 0,326549, medián 6,6, směrodatná odchylka 1,177388, rozptyl výběru 1,386244. Interval spolehlivosti se v minimu 5,920652 rovnal a hodnoty maxima 7,268579. Pes č. 6 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 7 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 6,138462, chyba střední hodnoty 0,256837, medián 5,96, modus 5,96, směrodatná odchylka 0,926039, rozptyl výběru 0,857547. Interval spolehlivosti se v minimu 5,608376 rovnal a hodnoty maxima 6,668547. Pes č. 7 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 8 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 6,353846, chyba střední hodnoty 0,246516, medián 6,34, směrodatná odchylka 0,888824, rozptyl výběru 0,790009. Interval spolehlivosti se v minimu 5,845063 rovnal a hodnoty maxima 6,862629. Pes č. 8 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 9 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 6,086154, chyba střední hodnoty 0,144469, medián 6,17, směrodatná odchylka 0,520889, rozptyl výběru 0,271326. Interval spolehlivosti se v minimu 5,787985 rovnal a hodnoty maxima 6,384323. Pes č. 9 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 10 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 6,389231, chyba střední hodnoty 0,183923, medián 6,24, směrodatná odchylka 0,663142, rozptyl výběru 0,439758. Interval spolehlivosti se v minimu 6,009633 rovnal a hodnoty maxima 6,768828. Pes č. 10 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 11 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 6,259231, chyba střední hodnoty 0,331621, medián 6,35, modus 6,69, směrodatná odchylka 1,195676, rozptyl výběru 1,429641. Interval spolehlivosti se v minimu 5,574799 rovnal a hodnoty maxima 6,943663. Pes č. 11 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 12 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 6,062308, chyba střední hodnoty 0,216262, medián 5,95, modus 5,94, směrodatná odchylka 0,779745, rozptyl výběru 0,608003. Interval spolehlivosti se v minimu 5,615964 rovnal a hodnoty maxima 6,508651. Všechna zvířata se nachází v mezích referenčních hodnot. Pes č. 12 se nachází v mezích referenčních hodnot.

Hodnoty naměřených erytrocytů a výpočty aritmetického průměru a hodnot rozptylu jsou uvedeny v tabulce č. 14, výpočty jsou uvedeny jak pro jednotlivé psy za celý rok tak pro celou skupinu v konkrétním měsíci.

Statisticky jsem hodnotila test Normality, kdy výsledky testu zda přijmout hypotézu normality nebo ne, jsou uvedeny v tabulce č. 20 pro hodnoty WBC. Hodnota (N) je celkový počet hodnot, (W) je hodnota testovacího kritéria a (p) je hodnota dle ní jsme porovnávali, zda přijmout hypotézu normality nebo ne. Test Normality nespĺňuje: říjen 2012, listopad 2012 a březen 2013 (nelze použít ANOVA).

Dále jsem stanovila nulovou hypotézu H_0 : jednotlivé měsíce nemají vliv na hodnotu ukazatele (hodnoty ukazatele se v průběhu roku neliší). Hodnota p je nejnižší hladina významnosti, na které zamítáme H_0 , tedy pokud $p < z$ volená hladina významnosti ($\alpha=0,05$), zamítáme H_0 .

Hodnota (r) je průměrný koeficient pořadové korelace. Ukazatel Coeff. of Concordance je obdoba Spearmanova korelačního koeficientu.

Použila jsem program statistika a výpočet Friedman. ANOVA and Kendall Coeff. Of Condordance (Spreadsheet3), výslednou hodnotou pro erytrocyty (RBC) je hodnota $p = 0,35271$. Z výsledků je zřejmé, že nedochází k zamítnutí hypotézy ($p > 0,05$ – nezamítáme H_0). Výsledky Friedmanova testu jsou uvedeny v tabulce č. 26 a č. 27.

5.3 Trombocyty (PLT)

U psa č. 1 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 310,4615, chyba střední hodnoty 21,42776, medián 308, směrodatná odchylka 77,25889, rozptyl výběru 5968,936. Interval spolehlivosti se v minimu 266,2368 rovnal a hodnoty maxima 354,6863. Referenční hodnoty základních hematologických parametrů jsou pro trombocyty $170 - 500 \cdot 10^9/l$. Pes č. 1 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 2 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 386,9231, chyba střední hodnoty 40,62326, medián 374, směrodatná odchylka 146,4693, rozptyl výběru 21453,24. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 303,0808 a hodnoty maxima 470,7654. Pes č. 2 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 3 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 397,3846, chyba střední hodnoty 31,80057, medián 381, směrodatná odchylka 114,6586, rozptyl výběru 13146,59. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 331,7515 a hodnoty maxima 463,0178. Pes č. 3 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 4 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 503,6154, chyba střední hodnoty 50,9548, medián 462, směrodatná odchylka 183,7201, rozptyl výběru 33753,09. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 398,4498 a hodnoty maxima 608,7809. Pes č. 4 má vysokou hodnotu maxima intervalu spolehlivosti, nenachází se v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 5 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 365,6154, chyba střední hodnoty 24,98937, medián 335, směrodatná odchylka 90,10044, rozptyl výběru 8118,09. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 314,0399 a hodnoty maxima 417,1909. Pes č. 5 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 6 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 443,2308, chyba střední hodnoty 29,48993, medián 437, směrodatná odchylka 106,3274, rozptyl výběru 11305,53. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 382,3666 a hodnoty maxima 504,095. Pes č. 6 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 7 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 565,4615, chyba střední hodnoty 61,46467, medián 507, modus 826, směrodatná odchylka 221,614, rozptyl výběru 49112,77. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 438,6047 a hodnoty maxima 692,3184. Pes č. 7 má vysokou hodnotu maxima intervalu spolehlivosti, nenachází se v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 8 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 453,3846, chyba střední hodnoty 62,9401, medián 417, směrodatná odchylka 226,9337, rozptyl výběru 51498,92. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 323,4826 a hodnoty maxima 583,2866. Pes č. 8 má vyšší hodnotu maxima intervalu spolehlivosti, nenachází se v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 9 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 460,7692, chyba střední hodnoty 41,25129, medián 439, modus 375, směrodatná odchylka 148,7336, rozptyl výběru 22121,69. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 375,6308 a hodnoty maxima 545,9077. Pes č. 9 má vyšší hodnotu maxima intervalu spolehlivosti, nenachází se v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 10 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 486,7692, chyba střední hodnoty 53,45777, medián 478, směrodatná odchylka 192,7447, rozptyl výběru 37150,53. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 376,4378 a hodnoty maxima 597,1006. Pes č. 10 má vyšší hodnotu maxima intervalu spolehlivosti, nenachází se v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 11 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 501,1538, chyba střední hodnoty 71,64199, medián 396, směrodatná odchylka 258,3089, rozptyl výběru 66723,47. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 353,292 a hodnoty maxima 649,0156. Pes č. 11 má vysokou hodnotu maxima intervalu spolehlivosti, nenachází se v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 12 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 482,2308, chyba střední hodnoty 60,99382, medián 482, směrodatná odchylka 219,9163, rozptyl výběru 48363,19. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 356,3457 a hodnoty maxima 608,1158. Pes č. 12 má vysokou hodnotu maxima intervalu spolehlivosti, nenachází se v mezích referenčních hodnot.

Hodnoty naměřených trombocytů (PLT) a výpočty aritmetického průměru a hodnot rozptylu jsou uvedeny v tabulce č. 15, výpočty jsou uvedeny jak pro jednotlivé psy za celý rok tak pro celou skupinu v konkrétním měsíci.

Statisticky jsem hodnotila test Normality, kdy výsledky testu zda přijmout hypotézu normality nebo ne, jsou uvedeny v tabulce č. 21 pro hodnoty PLT. Hodnota (N) je celkový počet hodnot, (W) je hodnota testovacího kritéria a (p) je hodnota dle ní jsme porovnávali, zda přijmout hypotézu normality nebo ne. Test Normality nesplňuje: září 2012 (nelze použít ANOVA).

Dále jsem stanovila nulovou hypotézu H_0 : jednotlivé měsíce nemají vliv na hodnotu ukazatele (hodnoty ukazatele se v průběhu roku neliší). Hodnota p je nejnižší hladina významnosti, na které zamítáme H_0 , tedy pokud $p <$ zvolená hladina významnosti ($\alpha=0,05$), zamítáme H_0 . Hodnota (r) je průměrný koeficient pořadové korelace. Ukazatel Coeff. of Concordance je obdoba Spearmanova korelačního koeficientu.

Použila jsme program statistika a výpočet Friedman. ANOVA and Kendall Coeff. Of Concordance (Spreadsheet3), výslednou hodnotou pro trombocyty (PLT) je $p = 0,00006$. Z této naměřené hodnoty je zřejmé, že dochází k zamítnutí hypotézy ($p < 0,05$ - zamítáme H_0). Výsledky Friedmanova testu jsou uvedeny v přílohách v tabulce č. 26 a č. 28.

5.4 Močovina

U psa č. 1 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 6,238462, chyba střední hodnoty 0,097756, medián 6,3, modus 6,3, směrodatná odchylka 0,352464, rozptyl výběru 0,124231. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 6,036703 a hodnoty maxima 6,44022. Referenční hodnoty základních biochemických parametrů jsou pro močovinu (BUN) 2,0 – 7,0 mmol/l. Pes č. 1 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 2 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 8,715385, chyba střední hodnoty 0,33643, medián 9, modus 9,8, směrodatná odchylka 1,213017, rozptyl výběru 1,47141. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 8,021026 a hodnoty maxima 9,409743. Pes č. 2 přesahuje nepatrně meze referenčních hodnot.

U psa č. 3 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 9,061538, chyba střední hodnoty 0,296462, medián 9,1, modus 9,1, směrodatná odchylka 1,068908, rozptyl výběru 1,142564.

Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 8,449672 a hodnoty maxima 9,673405. Pes č. 3 přesahuje nepatrně meze referenčních hodnot.

U psa č. 4 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 7,538462, chyba střední hodnoty 0,44815, medián 7,5, modus 7,5, směrodatná odchylka 1,615827, rozptyl výběru 2,610897. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 6,613526 a hodnoty maxima 8,463397. Pes č. 4 přesahuje nepatrně meze referenčních hodnot.

U psa č. 5 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 8,653846, chyba střední hodnoty 0,843574, medián 8,1, směrodatná odchylka 3,04155, rozptyl výběru 9,251026. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 6,912795 a hodnoty maxima 10,3949. Pes č. 5 přesahuje nepatrně meze referenčních hodnot.

U psa č. 6 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 7,353846, chyba střední hodnoty 0,263754, medián 7,4, modus 7,3, směrodatná odchylka 0,950978, rozptyl výběru 0,904359. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 6,809485 a hodnoty maxima 7,898207. Pes č. 6 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 7 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 11,68462, chyba střední hodnoty 0,758613, medián 10,2, modus 9,8, směrodatná odchylka 2,735217, rozptyl výběru 7,48141. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 10,11892 a hodnoty maxima 13,25031. Pes č. 7 přesahuje meze referenčních hodnot.

U psa č. 8 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 10,3, chyba střední hodnoty 0,263117, medián 10,1, modus 9,7, směrodatná odchylka 0,948683, rozptyl výběru 0,9. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 9,756952 a hodnoty maxima 10,84305. Pes č. 8 přesahuje nepatrně meze referenčních hodnot.

U psa č. 9 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 6,938462, chyba střední hodnoty 0,242725, medián 6,9, modus 6,7, směrodatná odchylka 0,875156, rozptyl výběru 0,765897. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 6,437503 a hodnoty maxima 7,43942. Pes č. 9 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 10 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 12,33846, chyba střední hodnoty 0,660666, medián 12, modus 14,3, směrodatná odchylka 2,382064, rozptyl výběru 5,674231. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 10,97491 a hodnoty maxima 13,70201. Pes č. 10 přesahuje nepatrně meze referenčních hodnot.

U psa č. 11 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 9,3, chyba střední hodnoty 0,379946, medián 9,3, modus 10,5, směrodatná odchylka 1,369915, rozptyl výběru 1,876667.

Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 8,51583 a hodnoty maxima 10,08417. Pes č. 11 přesahuje nepatrně meze referenčních hodnot.

U psa č. 12 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 7,2, chyba střední hodnoty 0,339116, medián 6,5, modus 6,5, směrodatná odchylka 1,222702, rozptyl výběru 1,495. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 6,500098 a hodnoty maxima 7,899902. Pes č. 12 se nachází v mezích referenčních hodnot.

Hodnoty naměřené močoviny (BUN) a výpočty aritmetického průměru a hodnot rozptylu jsou uvedeny v tabulce č. 16, výpočty jsou uvedeny jak pro jednotlivé psy za celý rok tak pro celou skupinu v konkrétním měsíci.

Statisticky jsem hodnotila test Normality, kdy výsledky testu zda přijmout hypotézu normality nebo ne, jsou uvedeny v tabulce č. 22 pro hodnoty BUN.

Hodnota (N) je celkový počet hodnot, (W) je hodnota testovacího kritéria a (p) je hodnota dle ní jsme porovnávali, zda přijmout hypotézu normality nebo ne. Test Normality nesplňuje: duben 2012 (nelze použít ANOVA).

Dále jsem stanovila nulovou hypotézu H_0 : jednotlivé měsíce nemají vliv na hodnotu ukazatele (hodnoty ukazatele se v průběhu roku neliší). Hodnota p je nejnižší hladina významnosti, na které zamítáme H_0 , tedy pokud $p <$ zvolená hladina významnosti ($\alpha=0,05$), zamítáme H_0 . Hodnota (r) je průměrný koeficient pořadové korelace. Ukazatel Coeff. of Concordance je obdoba Spearmanova korelačního koeficientu.

Použila jsem program statistika a výpočet Friedman. ANOVA and Kendall Coeff. Of Concordance (Spreadsheet3), výsledná hodnota p pro močovinu (BUN), je $p = 0,40349$. Z výsledků je zřejmé, že nedochází k zamítnutí hypotézy ($p > 0,05$ -nezamítáme H_0). Výsledky Friedmanova testu jsou uvedeny v přílohách v tabulce č. 26 a č. 29.

5.5 ALP

U psa č. 1 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 0,83, chyba střední hodnoty 0, medián 0,83, modus 0,83, směrodatná odchylka 0, rozptyl výběru 0. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 0,83 a hodnoty maxima 0,83. Referenční hodnoty základních biochemických parametrů jsou pro ALP 0,1 – 4,0 ukat/l. Pes č. 1 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 2 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 0,847692, chyba střední hodnoty 0,012616, medián 0,83, modus 0,83, směrodatná odchylka 0,045489, rozptyl výběru 0,002069.

Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 0,821653 a hodnoty maxima 0,873731. Pes č. 2 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 3 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 0,969231, chyba střední hodnoty 0,050769, medián 0,89, modus 0,83, směrodatná odchylka 0,183051, rozptyl výběru 0,033508. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 0,864448 a hodnoty maxima 1,074013. Pes č. 3 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 4 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 1,113846, chyba střední hodnoty 0,065178, medián 0,98, modus 0,96, směrodatná odchylka 0,235001, rozptyl výběru 0,055226. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 0,979326 a hodnoty maxima 1,248366. Pes č. 4 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 5 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 0,893077, chyba střední hodnoty 0,044483, medián 0,83, modus 0,83, směrodatná odchylka 0,160384, rozptyl výběru 0,025723. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 0,801269 a hodnoty maxima 0,984884. Pes č. 5 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 6 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 0,83, chyba střední hodnoty 0, medián 0,83, modus 0,83, směrodatná odchylka 0, rozptyl výběru 0. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 0,83 a hodnoty maxima 0,83. Pes č. 6 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 7 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 0,83, chyba střední hodnoty 0, medián 0,83, modus 0,83, směrodatná odchylka 0, rozptyl výběru 0. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 0,83 a hodnoty maxima 0,83. Pes č. 7 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 8 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 0,896154, chyba střední hodnoty 0,021048, medián 0,85, modus 0,83, směrodatná odchylka 0,075888, rozptyl výběru 0,005759. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 0,852714 a hodnoty maxima 0,939594. Pes č. 8 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 9 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 0,850769, chyba střední hodnoty 0,020769, medián 0,83, modus 0,83, směrodatná odchylka 0,074885, rozptyl výběru 0,005608.

Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 0,807904 a hodnoty maxima 0,893635. Pes č. 9 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 10 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 0,83, chyba střední hodnoty 0, medián 0,83, modus 0,83, směrodatná odchylka 0, rozptyl výběru 0.

Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 0,83 a hodnoty maxima 0,83. Pes č. 10 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 11 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 0,841538, chyba střední hodnoty 0,011538, medián 0,83, modus 0,83, směrodatná odchylka 0,041603, rozptyl výběru 0,001731. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 0,817724 a hodnoty maxima 0,865353. Pes č. 11 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 12 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 0,87, chyba střední hodnoty 0,04, medián 0,83, modus 0,83, směrodatná odchylka 0,144222, rozptyl výběru 0,0208. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 0,787444 a hodnoty maxima 0,952556. Pes č. 12 se nachází v mezích referenčních hodnot.

Hodnoty naměřené pro parametr ALP a výpočty aritmetického průměru a hodnot rozptylu jsou uvedeny v tabulce č. 17, výpočty jsou uvedeny jak pro jednotlivé psy za celý rok tak pro celou skupinu v konkrétním měsíci.

Statisticky jsem hodnotila test Normality, kdy výsledky testu zda přijmout hypotézu normality nebo ne, jsou uvedeny v tabulce č. 23 pro hodnoty ALP.

Hodnota (N) je celkový počet hodnot, (W) je hodnota testovacího kritéria a (p) je hodnota dle ní jsme porovnávali, zda přijmout hypotézu normality nebo ne. Test Normality nesplňuje žádný měsíc (nelze použít ANOVA). Již z tabulky je vidět, že hodnoty jsou konstantní a tedy rozložení nemůže být normální.

Dále jsem stanovila nulovou hypotézu H_0 : jednotlivé měsíce nemají vliv na hodnotu ukazatele (hodnoty ukazatele se v průběhu roku neliší). Hodnota p je nejnižší hladina významnosti, na které zamítáme H_0 , tedy pokud $p <$ zvolená hladina významnosti ($\alpha=0,05$), zamítáme H_0 . Hodnota (r) je průměrný koeficient pořadové korelace. Ukazatel Coeff. of Concordance je obdoba Spearmanova korelačního koeficientu.

Použily jsem program statistika a výpočet Friedman ANOVA and Kendall Coeff. Of Concordance (Spreadsheet3), výsledkem pro ALP je hodnota $p = 0,14135$. Z výsledků je zřejmé, že nedochází k zamítnutí hypotézy ($p > 0,05$ -nezamítáme H_0). Výsledky Friedmanova testu jsou uvedeny v přílohách v tabulce č. 26 a č. 30.

5.6 Celková bílkovina (T-PRO)

U psa č. 1 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 51,46923, chyba střední hodnoty 5,598871, medián 60, modus 60, směrodatná odchylka 20,18702, rozptyl výběru 407,5156. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 39,91373 a hodnoty maxima 63,02473. Referenční hodnoty základních biochemických parametrů jsou pro hodnoty celkové bílkoviny (T-PRO) 63 – 71 g/l. Pes č. 1 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 2 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 61,76923, chyba střední hodnoty 1,050969, medián 62, modus 62, směrodatná odchylka 3,789324, rozptyl výběru 14,35897. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 59,60014 a hodnoty maxima 63,93832. Pes č. 2 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 3 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 57,30769, chyba střední hodnoty 0,915568, medián 57, modus 61, směrodatná odchylka 3,301126, rozptyl výběru 10,89744. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 55,41805 a hodnoty maxima 59,19733. Pes č. 3 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 4 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 72,92308, chyba střední hodnoty 0,746458, medián 72, modus 72, směrodatná odchylka 2,691392, rozptyl výběru 7,24359. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 71,38246 a hodnoty maxima 74,46369. Pes č. 4 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 5 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 66,07692, chyba střední hodnoty 1,028202, medián 66, modus 66, směrodatná odchylka 3,707235, rozptyl výběru 13,74359. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 63,95482 a hodnoty maxima 68,19903. Pes č. 5 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 6 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 62,84615, chyba střední hodnoty 0,57564, medián 62, modus 65, směrodatná odchylka 2,075498, rozptyl výběru 4,307692. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 61,65809 a hodnoty maxima 64,03422. Pes č. 6 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 7 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 53,76923, chyba střední hodnoty 0,825506, medián 54, modus 57, směrodatná odchylka 2,976403, rozptyl výběru 8,858974. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 52,06547 a hodnoty maxima 55,47299. Pes č. 7 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 8 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 58,84615, chyba střední hodnoty 1,137057, medián 58, modus 55, směrodatná odchylka 4,099719, rozptyl výběru 16,80769. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 56,49938 a hodnoty maxima 61,19292. Pes č. 8 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 9 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 63,61538, chyba střední hodnoty 0,957685, medián 64, modus 64, směrodatná odchylka 3,452981, rozptyl výběru 11,92308. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 61,63882 a hodnoty maxima 65,59195. Pes č. 9 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 10 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 59,61538, chyba střední hodnoty 0,820713, medián 60, modus 60, směrodatná odchylka 2,959123, rozptyl výběru 8,75641. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 57,92152 a hodnoty maxima 61,30925. Pes č. 10 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 11 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 59,30769, chyba střední hodnoty 1,070494, medián 59, modus 58, směrodatná odchylka 3,85972, rozptyl výběru 14,89744. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 57,0983 a hodnoty maxima 61,51708. Pes č. 11 se nachází v mezích referenčních hodnot.

U psa č. 12 byly naměřeny tyto hodnoty: střední hodnota 63, chyba střední hodnoty 1,527525, medián 62, modus 55, směrodatná odchylka 5,507571, rozptyl výběru 30,33333. Interval spolehlivosti se v minimu rovnal 59,84734 a hodnoty maxima 66,15266. Pes č. 12 se nachází v mezích referenčních hodnot.

Hodnoty naměřené pro celkovou bílkovinu (T-Pro) a výpočty aritmetického průměru a hodnot rozptylu jsou uvedeny v tabulce č. 18, výpočty jsou uvedeny jak pro jednotlivé psy za celý rok tak pro celou skupinu v konkrétním měsíci.

Statisticky jsem hodnotila test Normality, kdy výsledky testu zda přijmout hypotézu normality nebo ne, jsou uvedeny v tabulce č. 24 pro hodnoty (T-Pro). Hodnota (N) je celkový počet hodnot, (W) je hodnota testovacího kritéria a (p) je hodnota dle ní jsme porovnávali, zda přijmout hypotézu normality nebo ne. Test Normality nesplňuje žádný měsíc (nelze použít ANOVA). Již z tabulky je vidět, že hodnoty jsou konstantní a tedy rozložení nemůže být normální.

Dále jsem stanovila nulovou hypotézu H_0 : jednotlivé měsíce nemají vliv na hodnotu ukazatele (hodnoty ukazatele se v průběhu roku neliší). Hodnota p je nejnižší hladina významnosti, na které zamítáme H_0 , tedy pokud $p < \alpha$ zvolená hladina významnosti ($\alpha=0,05$), zamítáme H_0 . Hodnota (r) je průměrný koeficient pořadové korelace. Ukazatel Coeff. of Concordance je obdoba Spearmanova korelačního koeficientu.

Použila jsem program statistika a výpočet Friedman ANOVA and Kendall Coeff. Of Concordance (Spreadsheet3), výsledkem pro (T-Pro) je hodnota $p = 0,00195$. Z výsledků je zřejmé, že dochází k zamítnutí hypotézy ($p < 0,05$ -zamítáme H_0). Výsledky Friedmanova testu jsou uvedeny v tabulce č. 26 a 31.

6. Diskuze

Do sledování byli zařazeni psi plemene Border Kolie ve věku 1 - 7 let. Ve skupině byli psi v různém stupni zátěže – od sportovního využití až po běžný chovatelský režim. Všechna zvířata byla v době odběru klinicky zdravá, bez zjevných zdravotních potíží. Ani majitelé nepopisovali změnu zdravotního stavu svého psa.

Naměřené hodnoty byly porovnány s referenčními hodnotami uváděnými v dostupné literatuře. Svoboda et al. (2000) uvádí pro leukocyty (WBC) tyto referenční hodnoty v rozmezí $6,0 - 17,0 \cdot 10^9/l$. Holt (2008) uvádí referenční hodnoty $5,5 - 17,0 \cdot 10^9/l$. Referenční hodnoty byly porovnány s výpočty intervalu spolehlivosti, které jsou uvedeny v kapitole 5. Výsledky. Všechna zvířata (pes č. 1 - č. 12) se pro hodnotu leukocytů (WBC) nacházejí v mezích referenčních hodnot.

Pro hodnoty erytrocytů (RBC) uvádí Svoboda et al. (2000) tyto referenční hodnoty $5,5 - 8,5 \cdot 10^{12}/l$ a Holt (2008) uvádí $5,4 - 8,0 \cdot 10^{12}/l$. Referenční hodnoty byly porovnány s výpočty intervalu spolehlivosti, které jsou uvedeny v kapitole 5. Výsledky. Všechna zvířata (pes č. 1 - č. 12) se pro hodnotu erytrocytů (RBC) nacházejí v mezích referenčních hodnot.

Pro hodnoty trombocytů (PLT) uvádí Svoboda et al. (2000) tyto referenční hodnoty od 200 do $500 \cdot 10^9/l$ a Holt (2008) uvádí od 170 do $500 \cdot 10^9/l$. Referenční hodnoty byly porovnány s výpočty intervalu spolehlivosti, které jsou uvedeny v kapitole 5. Výsledky. Psi č. 1, č. 2, č. 3 se svými hodnotami intervalu spolehlivosti nacházejí v mezích referenčních hodnot. Psi č. 4 – 12 nejsou v referenčních mezích.

Pro hodnoty močoviny (BUN) uvádí Niemand et al. (1996) tyto referenční hodnoty od 2,5 do 8,3 mmol/l a Holt (2008) uvádí 2,0 – 7,0 mmol/l. Referenční hodnoty byly porovnány s výpočty intervalu spolehlivosti, které jsou uvedeny v kapitole 5. Výsledky. Psi č. 1, č. 6, č. 9, č. 12 se svými hodnotami intervalu spolehlivosti nacházejí v mezích referenčních hodnot. Psi č. 2, č. 3, č. 4, č. 8, č. 10, č. 11 mají nepatrně vyšší hodnoty intervalu spolehlivosti v maximu. Psi č. 5 a č. 7 nejsou v mezích referenčních hodnot.

Pro hodnoty ALP uvádí Holt (2008) referenční hodnoty od 0,1 do 4,0 ukat/l. Referenční hodnoty byly porovnány s výpočty intervalu spolehlivosti, které jsou uvedeny v kapitole 5. Výsledky. Všichni psi se nacházejí v mezích referenčních hodnot.

Pro hodnoty celkové bílkoviny (T-PRO) uvádí Holt (2008) tyto referenční hodnoty v rozmezí 63 – 71 g/l a Niemand et al. (1996) uvádí maximální hodnotu 75,0 g/l.

Referenční hodnoty byly porovnány s výpočty intervalu spolehlivosti, které jsou uvedeny v kapitole 5. Výsledky. Referenční hodnoty byly porovnány s výpočty intervalu spolehlivosti, které jsou uvedeny v kapitole 5. Všichni psi se nacházejí v mezích referenčních hodnot.

Nejvíce se od referenčních hodnot lišily hodnoty trombocytů (PLT). I když jsou hematologické analyzátory velice spolehlivé i přesto většina laboratoří stále provádí kontrolní mikroskopické vyšetření krve a to hlavně v případech, kdy jsou naměřené hodnoty ve vyšší míře mimo referenční hodnoty. Běžně se i humánní praxi stále používá kontrolní diferenciální rozpočet krve.

Stále je třeba počítat s laboratorní chybou při odběru krve, přepravě krve, manipulací, skladováním vzorku. Analyzátor může způsobit laboratorní chybu nasátím nečistot, sraženin atd., proto je důležité pravidelně provádět servis přístrojů, dodržovat správné postupy při vyšetřování vzorku analyzátozem, provádět pravidelné kontroly, kalibrace, čištění atd.

7. Závěr

1. Cílem této práce bylo zmapování hematologických a biochemických ukazatelů u plemene Border Kolie. Skupině 12 psů (6 fen a 6 psů) byla za stejných podmínek po dobu 12 měsíců odebírána krev na hematologické a biochemické vyšetření.
2. Odebraná krev byla vyšetřována na hematologické ukazatele jako WBC, RBC, HGB, HTC, MCV, MCH, MCHC, PLT, LY, MO, EO, PCT. Z biochemických ukazatelů jsme vyšetřovali BUN, GLU, ALP, T-PRO, GPT, CREA. K hodnocení byla vybrána tři hematologické a tři biochemické ukazatele.
3. Z hematologického profilu jsme vybrali hodnotu leukocytů (WBC), erytrocytů (RBC) a trombocytů (PLT) z biochemického profilu jsme vybrali jeden ukazatel funkce ledvin a to močovinu/UREA (BUN), z ukazatelů jaterní funkce ALP a měřeného profilu celkovou bílkovinu (T-PRO).
4. Ke statistickému zpracování výsledků byl použit tabulkový procesor Microsoft Excel. Hodnotila jsem běžné statistické popisné charakteristiky (střední hodnota, chyby střední hodnoty, modus, medián, směrodatná odchylka, rozptyl výběru, interval spolehlivosti, aritmetický průměr, rozptyl).
5. Dále jsem použila program statistica k výpočtu Testu Normality a Friedmanova testu - Friedman ANOVA and Kendall Coeff. of Concordance (Spreadsheet3). Statisticky byl vypočítán interval spolehlivosti podle, kterého jsme porovnávali, zda u jednotlivých psů a jednotlivých měřených hodnot jsou hodnoty v mezích referenčních hodnot. Dále byla stanovena nulová hypotéza H_0 : měsíc nemá vliv na hodnotu ukazatele (hodnoty ukazatele se v průběhu roku neliší). Hodnota p je nejnižší hladina významnosti, na které zamítáme H_0 , tedy pokud $p < zvolená$ hladina významnosti ($\alpha=0,05$), zamítáme H_0 .
6. Většina ukazatelů se v průběhu roku nelišila, ale i přesto byly některé hodnoty při výpočtu intervalu spolehlivosti mimo referenční mez. Stejně tomu bylo s nulovou hypotézou, kdy došlo k zamítnutí tak i potvrzení nulové hypotézy u různých měřených parametrů, psů a měsíců. Vše je uvedeno v kapitole 5. Výsledky.

8. POUŽITÁ LITERATURA

Allison R. W., Meinkoth, J. H. (eds.). 2008. Veterinary clinics of North America – Praxe malých zvířat, klinická patologie a diagnostické techniky. Nakladatelství Pierot, spol.s.r.o. 408 s. ISBN: 978-80-7353-088-4

Biefeld, H., 1999. Psi- plemena, výchova, chov. Knižní klub Praha. 208 s. ISBN: 80-7176-906-1

Bolter, C. P., Critz, J. B. 1974. Changes in plasma enzyme activity elicited by running exercise in the dog. Proc Soc Exp Biol Med. p. 1359-62

Braun, J. P., Briend, M. C., Marchal, A. 2006. Stability of selected hematology variables in canine blood kept at room temperature in EDTA for 24 and 48 hours. Vet Clin Pathol. p. 35 (1): 18-23. ISBN: 1416038280

Ceron, J. J., Martinez- Subiela S. (eds.). 2004. The effects of different anticoagulants on routine canine plasma biochemistry. Vet J. p. 167: 294-301

Císařovský, M., 1995. Plemena psů od A-Z. Nakladatelství Brázda s.r.o. Praha. 275 s. ISBN: 80-209-0256-2.

Cornelius, C. E., Kaneko, J. J., 1960. Serum transaminases activities in cats with hepatic necrosis. J Am Vet Med Assoc. p. 62-66

Dawson, H., Hoff, B., Grift, E. (eds.). 1996. Validation of the Coulter AcT Diff hematology analyzer for analysis of blood of common domestic animals. Vet Clin Pathol. p. 25 (1) : 14-22

Day M., Mackin, A., Littlewood, J. 2000. Manual of Canine and Feline Haematology and Transfusion Medicine. Copyright BSAVA. p. 313. ISBN: 0 90521439 0

Freeman, K. P., Evans, E. W., Lester, S. 1999. Quality control for in-hospital veterinary laboratory testing. J Am Vet Med Assoc. p. 215 :928-9

Dossin, O., Rives, A., Germain, C. (eds.). 2005. Pharmacokinetics of liver transaminases in healthy dogs: potential clinical relevance for assessment of liver damage. In: abstrakt 152. ACVIM manual Meeting, J Vet Intern Med.

Doubek, J. (eds.). 2003. Veterinární hematologie, Noviko a. s. 451 s. ISBN: 80-86542-02-5

Doubek, J., Šlosárová, S., Řehánková, K. (eds.). 2007. Interpretace základních biochemických a hematologických nálezů zvířat. Noviko a.s. 74 s. ISBN: 80-86542-16-5

Fogle, B., 1995. Ilustrovaná encyklopedie psů. Fortuna print. 312 s. ISBN: 80-7321-158-0

Forsyth, S. 2008. World Small Animal Veterinary Association Congress 2008. Dublin. Ireland. Copyright World Small Animal Veterinary Association. p. 728. ISBN: 978055410062

Hamilton, J. M., Wright, J., Kight, D. 1973. Alkaline phosphatase levels in canine mammary neoplasia. Vet. Rec. p. 121

Hoffmann, W. E. 1977a. Diagnostic value of canine serum alkaline phosphatase and alkaline phosphatase isoenzymes. J Am Hosp Assoc. p.283-5

Hoffman W. E., Dorner J. L. 1977b. Disappearance rate of intravenous injected canine alkaline phosphatase isoenzymes. Am J Vet Res. p. 1553-5

Holt, P. E., 2008. Urologická onemocnění psa a kočky-vyšetření, diagnostika a léčba. Manson Publishing Ltd. 176 s. ISBN: 978-80-903710-9-5

Horiuchi, S., Kamimoto, Y., Morino, Y. 1985. Hepatic clearance of rat liver aspartate aminotransferase isozymes In: evidence for endocytotic uptake via different binding sites on sinusoidal liver cells. Hepatology. p. 376-82

Horney, B. S., Farmer, A. J., Honor, D. J. (eds.). 1994. Agarose gel electrophoresis of alkaline phosphatase isoenzymes in the serum of hyperthyroid cats. Vet Clin Pathol. p. 103-11

Kammermann –Lüscher, B. 1974. Die interpretation des weissen Blutbildes beim Hund 1. und 2. Tierärztl. Praxis. p. 2: 215 und 2:307

Karlson P., Gerok, W. 1987. Pathobiochemie In: Pathochemie Georg Thieme Verlag Stuttgart. 1982. Werner Gross. academia Praha. 480 s. ISBN-13: 978-3133578158

Kelner, P., 1986. Enzymaktivitäten in Organen In: Zellfraktionen und Körperflüssigkeiten des Hundes unter spezieller Berücksichtigung klinisch-diagnostischer Aspekte. I. Teil. Schweiz. Arch. Tierhk. p. 128:1

Kelner, P., Wall, L. 1982. Plasma-Enzymaktivitäten beim Hund: Einfluss von Alter und Geschlecht. Schweiz. Arch. Tierhk. p. 124:83

Keller P., 1982. Plasma – Enzymaktivitäten beim Hund: Einfluss von Alter und Geschlecht. Schweiz. Arch. Tierhk. p. 124:83.

King, J. M. 1963. The correlation of liver function tests with the hepatic lesion in dog fed toxic peanut meal. College of Veterinary Medicine. Cornell University

Kraft, W., Ghermai, A. K. (eds.). 1983. Vergleich der Serumaktivitäten von AST, ALT, GLDH, ALP und GGT in der Diagnostik der Leberkrankungen des Hundes. Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. p. 96:421

Kučera, J., Vlašín, M., Kohout, P. 2007. Nefrologie a urologie psa a kočky. Noviko a.s. Brno. 337 s. ISBN: 978-80-86542-17-1

Lanevski, A., Kraner, J. W. 1996. Comparison of two dry chemistry analyzers and wet chemistry analyzer using canine serum. Vet Clin Pathol. p. 25 (1):10-3

Marvan, F. (eds.). 1992. Morfologie hospodářských zvířat. Vydala Vysoká škola zemědělská v Praze a Vysoká škola zemědělská Brno. 296 s. ISBN: 80-209-0226-0

Mcleavy, A., 2008. Border kolie- péče a výcvik. Ottovo nakladatelství. 80 s. ISBN: 978-80-7360-512-4.

Meyer, D. 1983. Serum gamma-glutamyltransferase as a liver test in cats with toxic and obstructive hepatic disease. J Am Hosp Assoc. p. 1023-6

- Mills, J. N., Ng, C. Y. 1985. Clinical and haematological feature of haemangiosarcoma in dogs. Aust Vet J. p. 62 (1): 1-4
- Mooreová, S., 2002. Kolie. Fortuna print. 160 s. ISBN: 8086144704.
- Murray R. K., Daryl, K., Granner, P. A. (eds.). 1998. Harperova Biochemie. Nakladatelství H & H. 871 s. ISBN: 80-85787-38-5
- Niemand, H. G., Suter P. F. (eds.). 1996. Klinická praxe u psů. H & H Bratislava. 780 s. ISBN: 80-88700-26-4
- Norman, E. J., Barron, R. C. J. (eds.). 2001. Prevalence of low automated platelet counts in cats: comparison with prevalence of trombocytopenia based on blood smear estimation. Vet clin patol. p. 30 (3): 137-40
- Reece, W. O., 1998. Fyziologie zvířat. Grada Publishing. 449 s. ISBN: 80-7169-547-5
- Sepesy L. M., Center, S. A. (eds.). 2006. Vacuolar hepatopathy in dogs. J Am Vet Med Assoc 246-252
- Solter, P. F., Hoffmann W. E. 1995. Canine corticosteroid-induced alkalit phosphatase in serum was solubilized by phospholipase activity in vivo. Am J Physiol. p. 278-86
- Svoboda M., Senior, D. F., Doubek, Jaroslav. (eds.). 2000. Nemoci psa a kočky I. Díl. Česká asociace veterinárních lékařů. Noviko, a.s. ISBN: 80-902595-2-9
- Svoboda, M., Senior F. D., Doubek, J. (eds.). 2001. Nemoci psa a kočky II. Díl. ČAVLMZ, Noviko a.s. 1019-2038 s. ISBN: 80-902595-3-7
- Strombeck, D. R., 1990. Small Animal Gastroenterology. In: Davis, C. A. Stonegate Publishing, ISBN-10: 0685353842
- Toman, M., (eds.). 2000. Veterinární imunologie. Grada Publishing. 413 s. ISBN: 80-7169-727-3
- Trojan, S. (eds.). 1999. Lékařská fyziologie. Grada Publishing. 589 s. ISBN: 80-7169-788-5

- Tvedten, H., Weiss, D. J. 2000. Classification and laborator evaluation of anemia. In: Feldman EC, Zinkl JG, Jain NC, editors. Schalm's ´ veterinary hematology. 5th edition. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins. p. 143-150. ISBN-10: 0683306928
- Valentine, B. A., Blue, J. T., Shelley, S. M. (eds.). 1990. Increased serum alanine aminotransferase activity associates with muscle necrosis in the dog. *J Vet Intern Med*, p. 4:140-3
- Van Hoof, V. O., Deng, J. T., DeBrow, M. E., 1997. How do plasma membranes reach the circulation. *Clin Chim Acta*. p. 266:23-31
- Verhoef, E., 2006. Encyklopedie psi. Rebo Productions. 265 s. ISBN: 80-7234-600-8
- Villiers, L., Blackwoodd, E. 2005. BSAVA manual Canine and Feline pathology, Copyrigh BSAVA. p. 442. ISBN: 0-905214-79-X
- Weiss, D. J., Kristensen, A., Papenfuss, N. 1994. Qualitative evaluation of irregularly spiculated red blood cells in the dogs. *Vet Pathol*. p. 31 (6): 654-7
- Wiedmeyer, C. E., Solter, P. E., Hoffmann, W. E. 2002. Alkaline phosphatase expression of alkaline phos-phatase isoenzymes in hepatic tissues from glukocorticoid- theated dogs. *Am J Vet Res*. p. 1089-95
- Young, D. S., Bernes, E. W. Jr. 2001. Specimen collection and other preanalytical variables. In: Burtis CA, Ashwood ER, editors. *Tierz fundamentals of clinical chemismy*. 5th edition. Phila-dephia. WB Saunders. p. 30-54
- Zinkl, J. G., Bush, R. M., Cornelius, C. E. (eds.). 1971. Comparative studies on plasma and tissue sorbitol, glutamic, lactic, and hydroxybutyric dehydrogenace and transaminace activities in the dog. *Res Vet Sci*. p. 12:211-4

9. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK

WBC: počet bílých krvinek (G/l)

RBC: počet červených krvinek (T/l)

HGB: koncentrace hemoglobin (g/100 ml)

HCT: hematokrit %

MCV: střední objem krvinek (fl)

MCH: střední obsah hemoglobinu v červených krvinkách (pg)

MCHC: střední barevná koncentrace (g/100 ml)

PLT: počet krevních destiček (G/l)

LY %: relativní počet lymfocytů

MO %: relativní počet monocytů

GR %: relativní počet granulocytů

EO %: relativní počet eozinofilů

LY: absolutní počet lymfocytů

MO: absolutní počet monocytů

GR: absolutní počet granulocytů

EO: absolutní počet eozinofilů

PCT: trombokrit (relativní počet krevních destiček)

BUN: močovina (UREA) diamid kyseliny uhličitě, biochemický ukazatel glomerulární funkce

CRE: Kreatinin, cyklický imid kreatinu, ukazatel glomerulární funkce

ALT: alaninaminotransferáza, enzym poukazující na jaterní poškození

ALP: alkalická fosfatáza, jaterní enzym

TP : celková bílkovina

GLU: Glukóza, krevní cukr

CNS: centrální nervová soustava

ARS: akutní renální insuficience

CRI:chronická renální insuficience

10. PŘÍLOHY

Graf č. 1: graf testu Normalit pro WBC (duben 1)

Graf č. 2a: graf testu Normalit pro RBC (březen 2013)

Graf č. 2b: graf testu Normalit pro RBC (říjen 2012)

Graf č. 2c: graf testu Normalit pro RBC (listopad 2012)

Graf č. 3: graf testu Normalit pro PLT (září 2012)

Graf č. 4: graf testu Normalit pro BUN (duben 2012)

Graf č. 5: graf testu Normalit pro ALP

Graf č. 6a: graf testu Normalit pro T-PRO (duben 2012)

Graf č. 6b: graf testu Normalit pro T-PRO (březen 2013)

Graf č. 6 c: graf testu Normalit pro T-PRO (srpen 2012)

Tabulka č. 1: Naměřené hodnoty krve u psa č. 1 od dubna 2012 do dubna 2013

Tabulka č. 2: Naměřené hodnoty krve u psa č. 2 od dubna 2012 do dubna 2013

Tabulka č. 3: Naměřené hodnoty krve u psa č. 3 od dubna 2012 do dubna 2013

Tabulka č. 4: Naměřené hodnoty krve u psa č. 4 od dubna 2012 do dubna 2013

Tabulka č. 5: Naměřené hodnoty krve u psa č. 5 od dubna 2012 do dubna 2013

Tabulka č. 6: Naměřené hodnoty krve u psa č. 6 od dubna 2012 do dubna 2013

Tabulka č. 7: Naměřené hodnoty krve u psa č. 7 od dubna 2012 do dubna 2013

Tabulka č. 8: Naměřené hodnoty krve u psa č. 8 od dubna 2012 do dubna 2013

Tabulka č. 9: Naměřené hodnoty krve u psa č. 9 od dubna 2012 do dubna 2013

Tabulka č. 10: Naměřené hodnoty krve u psa č. 10 od dubna 2012 do dubna 2013

Tabulka č. 11: Naměřené hodnoty krve u psa č. 11 od dubna 2012 do dubna 2013

Tabulka č. 12: Naměřené hodnoty krve u psa č. 12 od dubna 2012 do dubna 2013

Tabulka č. 13: tabulka hodnot leukocytů naměřených u psů č. 1-12 od dubna 2012 do dubna 2013 s výpočty průměrů a rozptylu pro jednotlivé psy a pro jednotlivé měsíce

Tabulka č. 14: tabulka hodnot leukocytů naměřených u psů č. 1-12 od dubna 2012 do dubna 2013 s výpočty průměrů a rozptylu pro jednotlivé psy a pro jednotlivé měsíce

Tabulka č. 15: tabulka hodnot leukocytů naměřených u psů č. 1-12 od dubna 2012 do dubna 2013 s výpočty průměrů a rozptylu pro jednotlivé psy a pro jednotlivé měsíce

Tabulka č. 16: tabulka hodnot leukocytů naměřených u psů č. 1-12 od dubna 2012 do dubna 2013 s výpočty průměrů a rozptylu pro jednotlivé psy a pro jednotlivé měsíce

Tabulka č. 17: tabulka hodnot leukocytů naměřených u psů č. 1-12 od dubna 2012 do dubna 2013 s výpočty průměrů a rozptylu pro jednotlivé psy a pro jednotlivé měsíce

Tabulka č. 18: tabulka hodnot leukocytů naměřených u psů č. 1-12 od dubna 2012 do dubna 2013 s výpočty průměrů a rozptylu pro jednotlivé psy a pro jednotlivé měsíce

Tabulka č. 19: Statistický výpočet testu normality pro hodnotu WBC

Tabulka č. 20: Statistický výpočet testu normality pro hodnotu RBC

Tabulka č. 21: Statistický výpočet testu normality pro hodnotu PLT

Tabulka č. 22: Statistický výpočet testu normality pro hodnotu BUN

Tabulka č. 23: Statistický výpočet testu normality pro hodnotu ALP

Tabulka č. 24: Statistický výpočet testu normality pro hodnotu T-PRO

Tabulka č. 25: Tabulka Friedmanova testu pro hodnotu WBC

Tabulka č. 26: Výsledky Friedmanova testu, nejdůležitější hodnota (p) dle níž zamítáme nebo potvrzujeme nulovou hypotézu.

Tabulka č. 27: Tabulka Friedmanova testu pro hodnotu RBC

Tabulka č. 28: Tabulka Friedmanova testu pro hodnotu PLT

Tabulka č. 29: Tabulka Friedmanova testu pro hodnotu BUN

Tabulka č. 30: Tabulka Friedmanova testu pro hodnotu ALP

Tabulka č. 31: Tabulka Friedmanova testu pro hodnotu T-PRO

Obrázek č. 1 a č.2: Hematologický analyzátor

Obrázek č. 3 a č.4: Biochemický analyzátor

Obrázek č. 5: Typy používaných zkumavek (sérová zkumavka, heparinová zkumavka, K3EDTA)

Obrázek č. 6: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havlíková)

Obrázek č. 7: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havlíková)

Obrázek č. 8: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havlíková)

Obrázek č. 9: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havlíková)

Obrázek č. 10: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havlíková)

Obrázek č. 11: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havlíková)

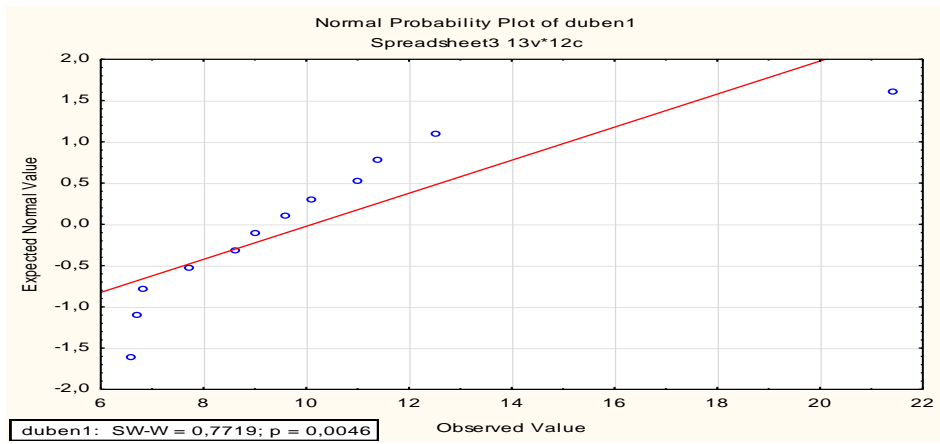
Obrázek č. 12: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havlíková)

Obrázek č. 13: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havlíková)

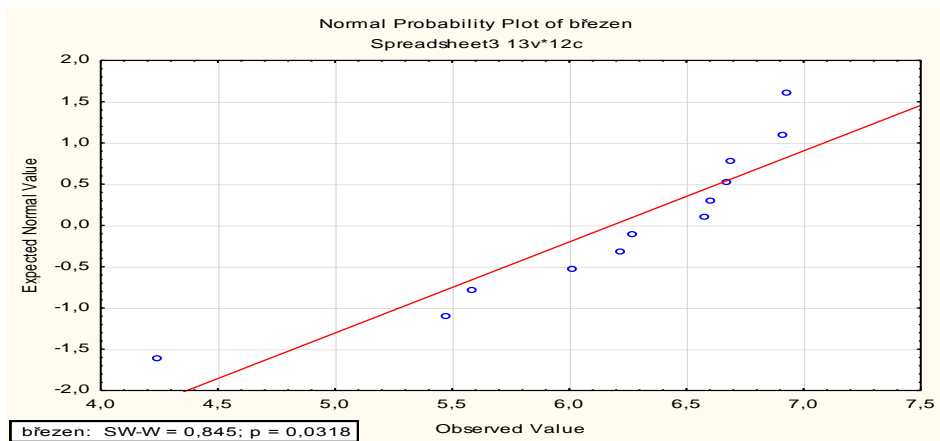
Obrázek č. 14: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havlíková)

Obrázek č.15: Psi plemene Border Kolie (foto Prejsová Karolína)

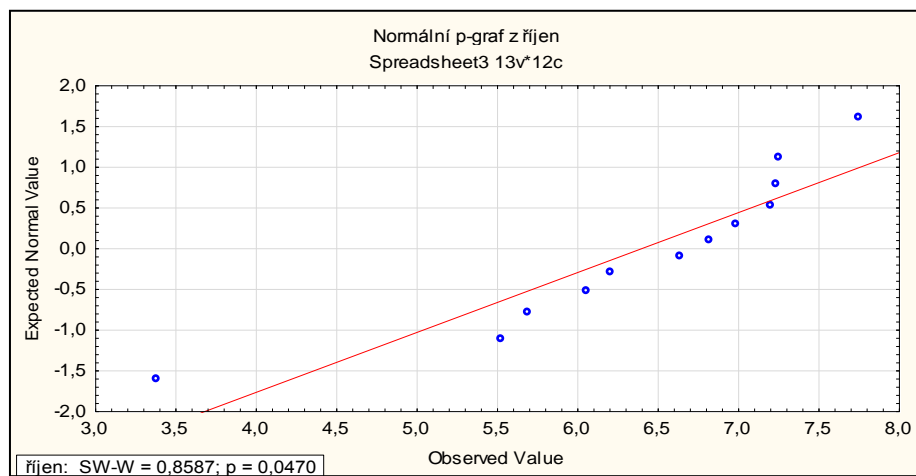
Graf č. 1: graf testu Normalit pro WBC (duben 1)



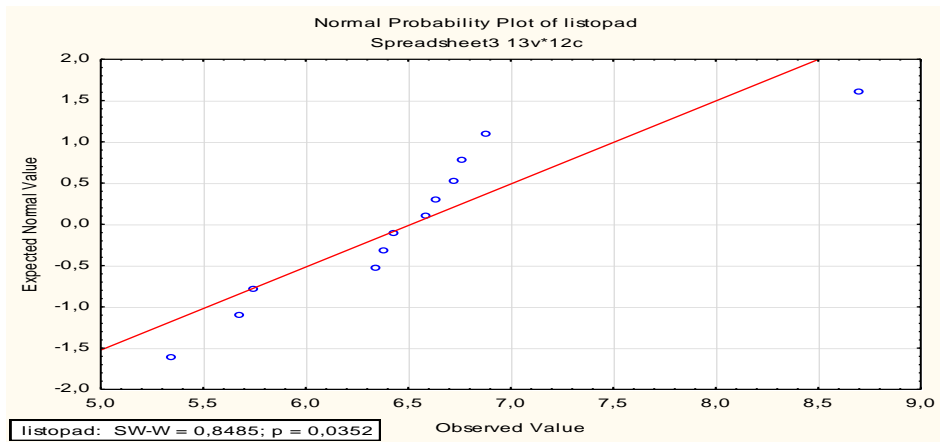
Graf č. 2a : graf testu Normalit pro RBC (březen 2013)



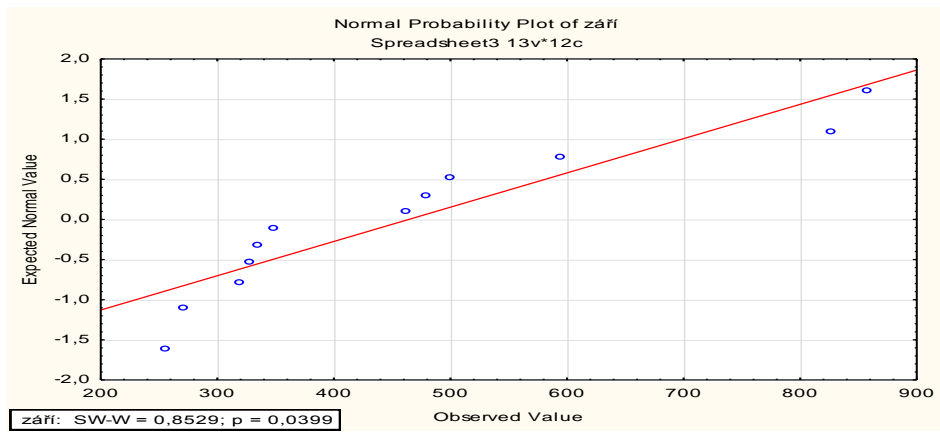
Graf č. 2b : graf testu Normalit pro RBC (říjen2012)



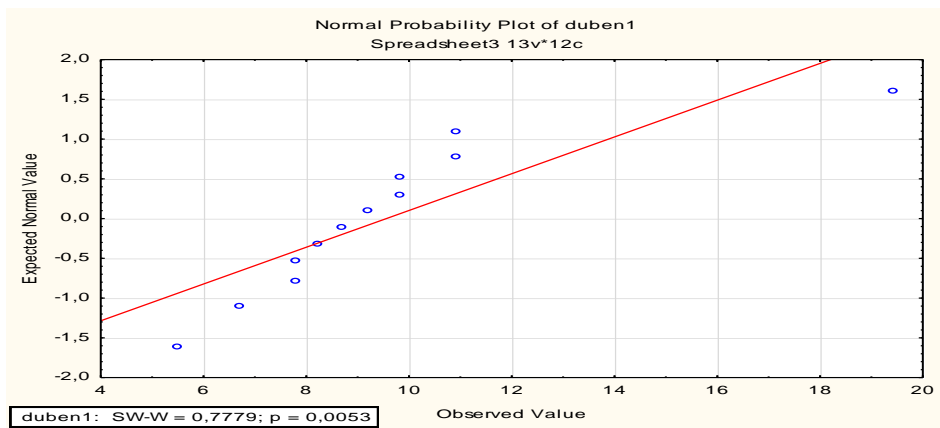
Graf č. 2c : graf testu Normalit pro RBC (listopad 2012)



Graf č. 3: graf testu Normalit pro PLT (září 2012)



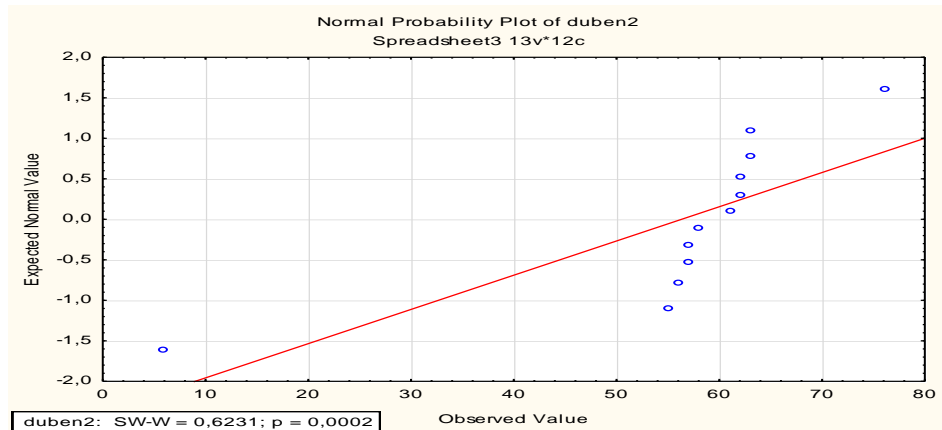
Graf č. 4: graf testu Normalit pro BUN (duben 2012)



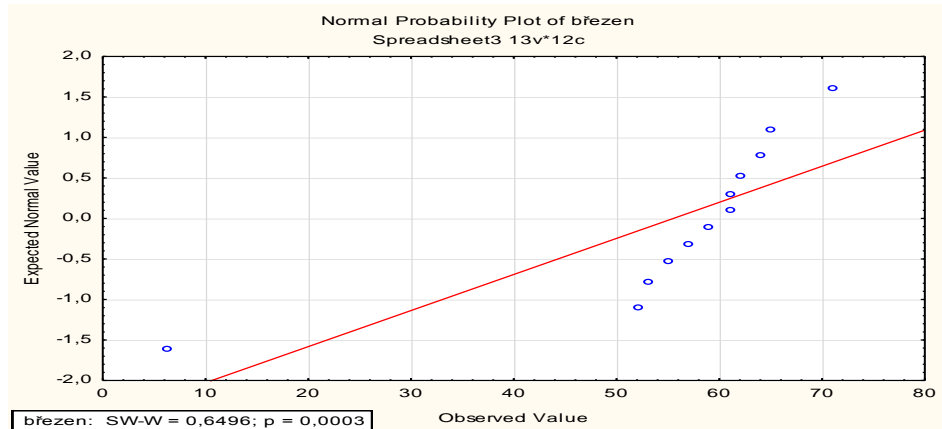
Graf č. 5: graf testu Normalit pro ALP

Již z tabulky č. 23 je vidět, že hodnoty jsou konstantní a tedy rozložení nemůže být normální. A z toho důvodu neuvádíme 12 grafů.

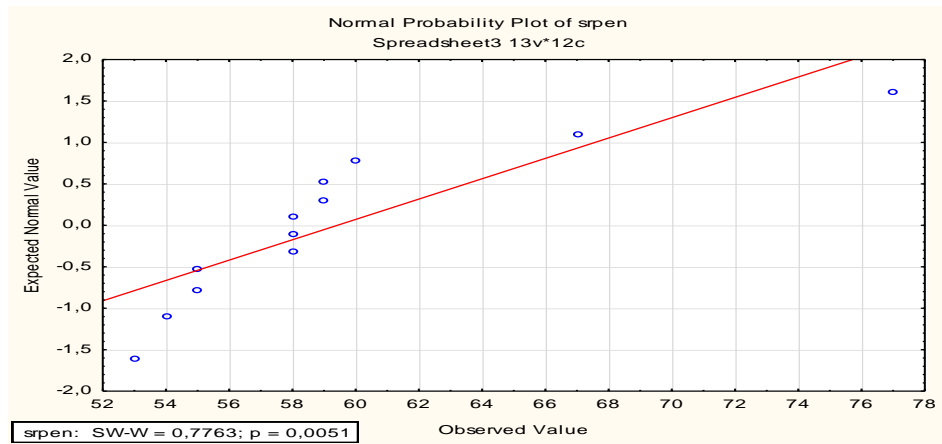
Graf č. 6 a: graf testu Normalit pro T-PRO (duben 2012)



Graf č. 6 b: graf testu Normalit pro T-PRO (březen 2013)



Graf č. 6 c: graf testu Normalit pro T-PRO (srpen 2012)



Tabulka č. 19: Statistický výpočet testu normality pro hodnotu WBC

	Tests of Normality (WBC)		
duben 1	12	0,771867	0,004565
květen	12	0,981251	0,988140
červen	12	0,899619	0,156833
červenec	12	0,968953	0,899531
srpen	12	0,872629	0,070571
září	12	0,936180	0,450230
říjen	12	0,941385	0,516227
listopad	12	0,960536	0,791448
prosinec	12	0,916514	0,258343
leden	12	0,908606	0,204742
únor	12	0,933615	0,420011
březen	12	0,941837	0,522228
duben 2	12	0,945120	0,567080
	N	(W)	p

Tabulka č. 20: Statistický výpočet testu normality pro hodnotu RBC

	Tests of Normality (RBC)		
duben 1	12	0,957518	0,747898
květen	12	0,915219	0,248739
červen	12	0,949628	0,631554
červenec	12	0,974269	0,949995
srpen	12	0,919468	0,281535
září	12	0,947493	0,600677
říjen	12	0,85867	0,047049
listopad	12	0,848521	0,035202
prosinec	12	0,954616	0,705111
leden	12	0,963158	0,827782
únor	12	0,904087	0,179087
březen	12	0,844976	0,031843
duben 2	12	0,940246	0,501262
	N	(W)	p

Tabulka č. 21: Statistický výpočet testu normality pro hodnotu PLT

	Tests of Normality (PLT)		
duben 1	12	0,966994	0,876909
květen	12	0,943063	0,538746
červen	12	0,875678	0,077174
červenec	12	0,988358	0,999289
srpen	12	0,948039	0,608517
září	12	0,852884	0,039858
říjen	12	0,908000	0,201105
listopad	12	0,941565	0,518609
prosinec	12	0,963355	0,830429
leden	12	0,968767	0,897471
únor	12	0,950822	0,649039
březen	12	0,917845	0,268565
duben 2	12	0,899392	0,155781
	N	(W)	p

Tabulka č. 22: Statistický výpočet testu normality pro hodnotu BUN

	Tests of Normality (BUN)		
duben 1	12	0,777917	0,005313
květen	12	0,923910	0,319987
červen	12	0,899916	0,158225
červenec	12	0,902063	0,168644
srpen	12	0,966752	0,873989
září	12	0,910325	0,215403
říjen	12	0,934859	0,434466
listopad	12	0,959338	0,774333
prosinec	12	0,949291	0,626642
leden	12	0,890751	0,120496
únor	12	0,948143	0,610021
březen	12	0,926612	0,345576
duben 2	12	0,956177	0,728190
	N	(W)	p

Tabulka č. 23: Statistický výpočet testu normality pro hodnotu ALP

	Tests of Normality (ALP)		
duben 1	12	0,721300	0,001362
květen	12	0,589991	0,000089
červen	12	0,326928	0,000001
červenec	12	0,487107	0,000014
srpen	12	0,425232	0,000005
září	12	0,326928	0,000001
říjen	12	0,392684	0,000003
listopad	12	0,484298	0,000014
prosinec	12	0,582415	0,000077
leden	12	0,588238	0,000086
únor	12	0,588026	0,000085
březen	12	0,514137	0,000023
duben 2	12	0,478073	0,000012
	N	(W)	p

Tabulka č. 24: Statistický výpočet testu normality pro hodnotu T-PRO

	Tests of Normality (T-PRO)		
duben 1	12	0,909084	0,207652
květen	12	0,918117	0,270699
červen	12	0,933444	0,418048
červenec	12	0,918223	0,271538
srpen	12	0,776336	0,005106
září	12	0,980882	0,986913
říjen	12	0,904287	0,180157
listopad	12	0,936678	0,456270
prosinec	12	0,891916	0,124739
leden	12	0,931006	0,390897
únor	12	0,920422	0,289425
březen	12	0,649638	0,000288
duben 2	12	0,623066	0,000168
	N	(W)	p

Tabulka č. 25: Tabulka Friedmanova testu pro hodnotu WBC

	Average Rank	Sum of Ranks	Mean	Std.Dev.
duben 1	6,416667	77,0000	10,11667	4,046510
květen	6,000000	72,0000	9,56667	2,745023
červen	7,291667	87,5000	10,05000	3,426236
červenec	5,708333	68,5000	9,41667	2,553726
srpen	7,208333	86,5000	9,89167	2,962327
září	8,666667	104,0000	10,42500	3,334428
říjen	5,000000	60,0000	8,99167	2,579450
listopad	9,208333	110,5000	10,94167	3,389143
prosinec	7,291667	87,5000	10,14167	2,345773
leden	7,083333	85,0000	10,02500	2,540624
únor	5,125000	61,5000	9,15000	2,311434
březen	8,958333	107,5000	10,31667	2,512816
duben 2	7,041667	84,5000	10,02500	2,022656

Tabulka č. 26: Výsledky Friedmanova testu, nejdůležitější hodnota (p) dle níž zamítáme nebo potvrzujeme nulovou hypotézu.

	ANOVA Chi Sqr.	p	Coeff. of Concordance	Aver. rank r
WBC	17,65403	0,12661	0,12260	0,04283
RBC	13,22780	0,35271	0,09186	0,00930
PLT	40,38662	0,00006	0,28046	0,21505
BUN	12,53814	0,40349	0,08707	0,00408
ALP	17,22470	0,14135	0,11962	0,03958
T-PRO	31,02398	0,00195	0,2154	0,14412

Tabulka č. 27: Tabulka Friedmanova testu pro hodnotu RBC

	Average Rank	Sum of Ranks	Mean	Std.Dev.
duben 1	5,166667	62,0000	5,943333	0,666529
květen	6,583333	79,0000	6,234167	0,375414
červen	5,958333	71,5000	6,064167	0,628048
červenec	7,375000	88,5000	6,240000	0,356880
srpen	6,458333	77,5000	6,307500	0,569835
září	6,958333	83,5000	6,295833	1,334163
říjen	8,250000	99,0000	6,395000	1,165048
listopad	7,583333	91,0000	6,514167	0,840903
prosinec	5,916667	71,0000	6,142500	1,047613
leden	9,500000	114,0000	7,049167	1,433695
únor	8,208333	98,5000	6,660833	0,936196
březen	6,958333	83,5000	6,180833	0,774496
duben 2	6,083333	73,0000	5,974167	1,141741

Tabulka č. 28: Tabulka Friedmanova testu pro hodnotu PLT

	Average	Sum of	Mean	Std.Dev.
	Rank	Ranks		
duben 1	3,625000	43,5000	324,5000	85,4959
květen	4,750000	57,0000	352,4167	121,5270
červen	9,583333	115,0000	526,5833	165,9367
červenec	7,416667	89,0000	416,0000	200,0386
srpen	3,041667	36,5000	278,4167	110,9066
září	6,875000	82,5000	464,1667	203,3411
říjen	7,750000	93,0000	471,5000	188,0080
listopad	6,833333	82,0000	435,4167	153,3086
prosinec	9,791667	117,5000	600,0000	202,2209
leden	8,583333	103,0000	512,1667	198,3389
únor	7,583333	91,0000	439,7500	106,8373
březen	7,333333	88,0000	445,3333	109,0974
duben 2	7,833333	94,0000	537,1667	236,1047

Tabulka č. 29: Tabulka Friedmanova testu pro hodnotu BUN

	Average	Sum of	Mean	Std.Dev.
	Rank	Ranks		
duben 1	8,458333	101,5000	9,558333	3,491668
květen	6,291667	75,5000	8,633333	2,947212
červen	8,166667	98,0000	9,933333	3,949530
červenec	4,458333	53,5000	7,725000	2,297875
srpen	6,083333	73,0000	8,058333	1,210153
září	7,541667	90,5000	8,491667	1,676283
říjen	8,375000	100,5000	9,058333	2,707383
listopad	7,166667	86,0000	8,716667	1,739819
prosinec	6,250000	75,0000	8,408333	1,828292
leden	6,708333	80,5000	8,691667	2,168560
únor	8,041667	96,5000	9,241667	2,464828
březen	7,125000	85,5000	9,175000	2,443219
duben 2	6,333333	76,0000	8,408333	1,547114

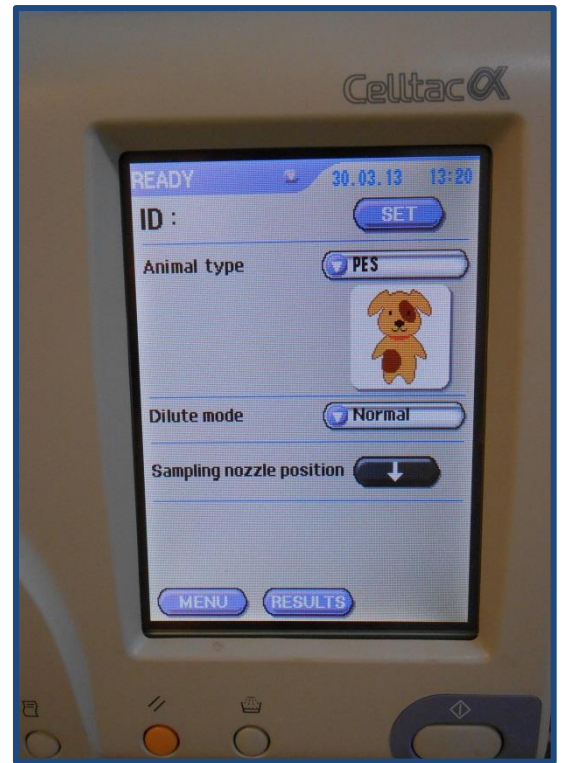
Tabulka č. 30: Tabulka Friedmanova testu pro hodnotu ALP

	Average	Sum of	Mean	Std.Dev.
	Rank	Ranks		
duben 1	8,916667	107,0000	1,000833	0,227255
květen	7,208333	86,5000	0,900000	0,136781
červen	5,791667	69,5000	0,835000	0,017321
červenec	6,333333	76,0000	0,847500	0,042239
srpen	7,208333	86,5000	0,898333	0,191208
září	6,500000	78,0000	0,885833	0,193412
říjen	6,958333	83,5000	0,879167	0,146192
listopad	6,791667	81,5000	0,865000	0,085653
prosinec	6,666667	80,0000	0,855833	0,049444
leden	7,083333	85,0000	0,865833	0,065569
únor	8,166667	98,0000	0,932500	0,193067
březen	7,000000	84,0000	0,866667	0,085102
duben 2	6,375000	76,5000	0,853333	0,054661

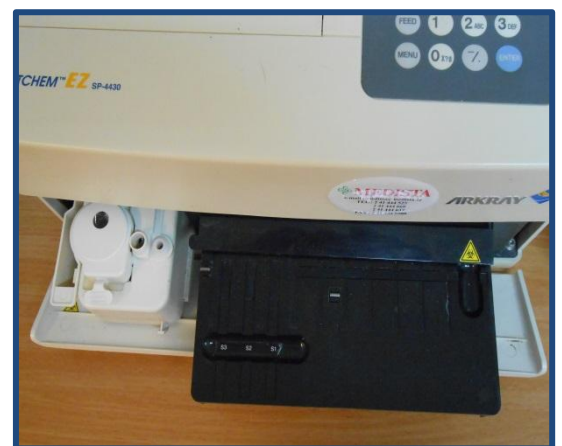
Tabulka č. 31: Tabulka Friedmanova testu pro hodnotu T-PRO

	Average	Sum of	Mean	Std.Dev.
	Rank	Ranks		
duben 1	10,62500	127,5000	65,08333	5,91544
květen	6,45833	77,5000	60,41667	5,58339
červen	8,04167	96,5000	62,33333	5,72607
červenec	4,79167	57,5000	59,91667	6,30236
srpen	4,95833	59,5000	59,41667	6,62582
září	6,83333	82,0000	61,33333	5,33144
říjen	7,54167	90,5000	61,75000	4,26668
listopad	7,79167	93,5000	61,83333	6,24985
prosinec	7,08333	85,0000	61,83333	5,70221
leden	9,20833	110,5000	63,58333	5,53433
únor	7,66667	92,0000	62,08333	5,99179
březen	4,58333	55,0000	55,51667	16,42956
duben 2	5,41667	65,0000	56,32500	16,81650

Obrázek č. 1 a č.2: Hematologický analyzátor



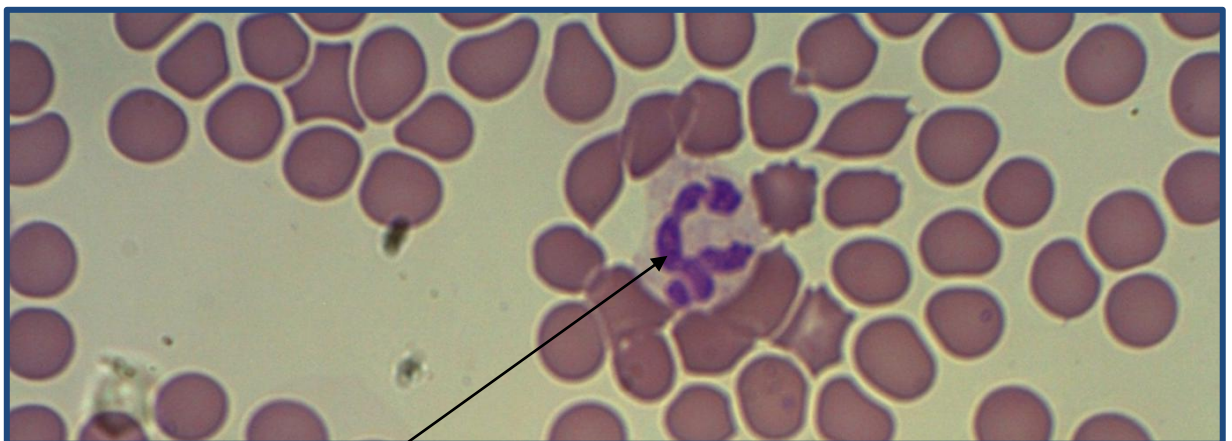
Obrázek č. 3 a č.4: Biochemický analyzátor



Obrázek č. 5: Typy používaných zkumavek (sérová zkumavka, heparinová zkumavka, K3EDTA)

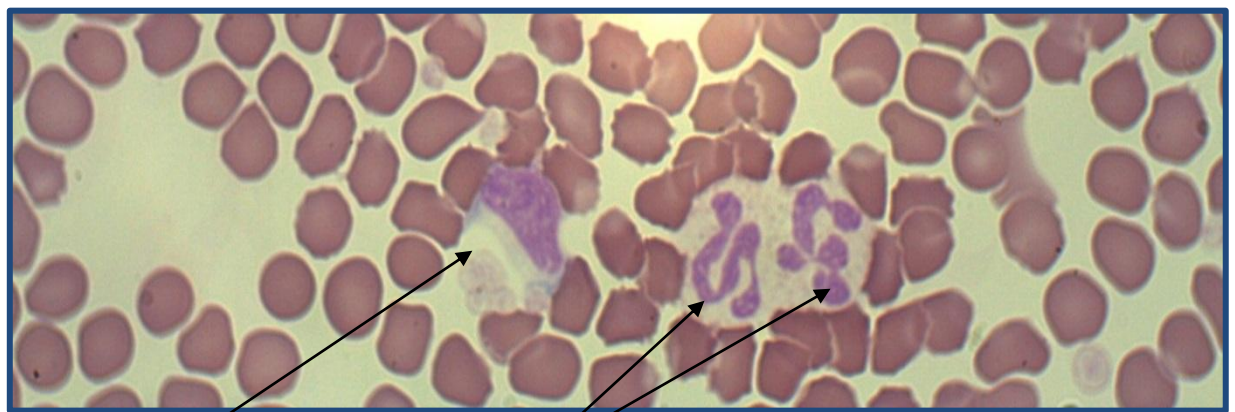


Obrázek č. 6: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havlíková)



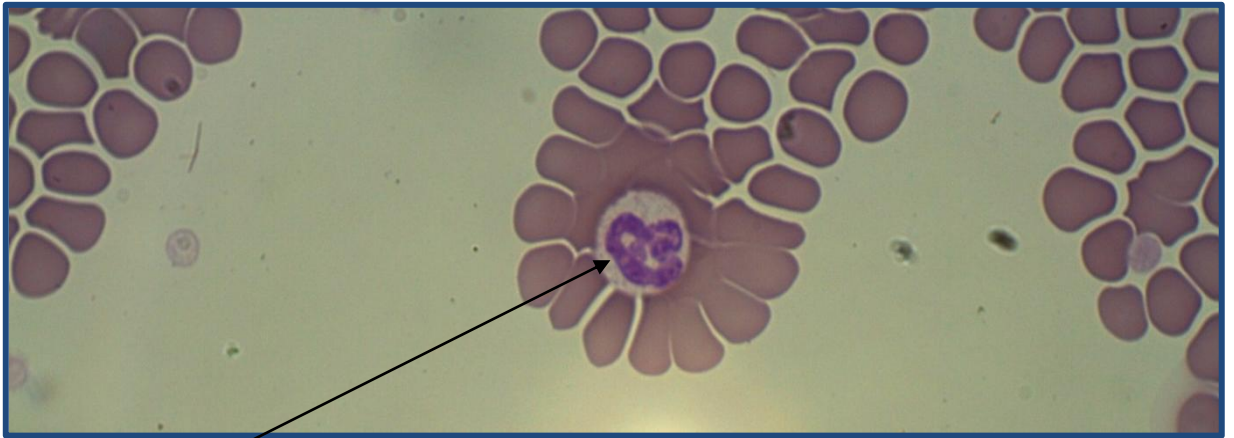
Segmentovaný neutrofil

Obrázek č. 7: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havlíková)



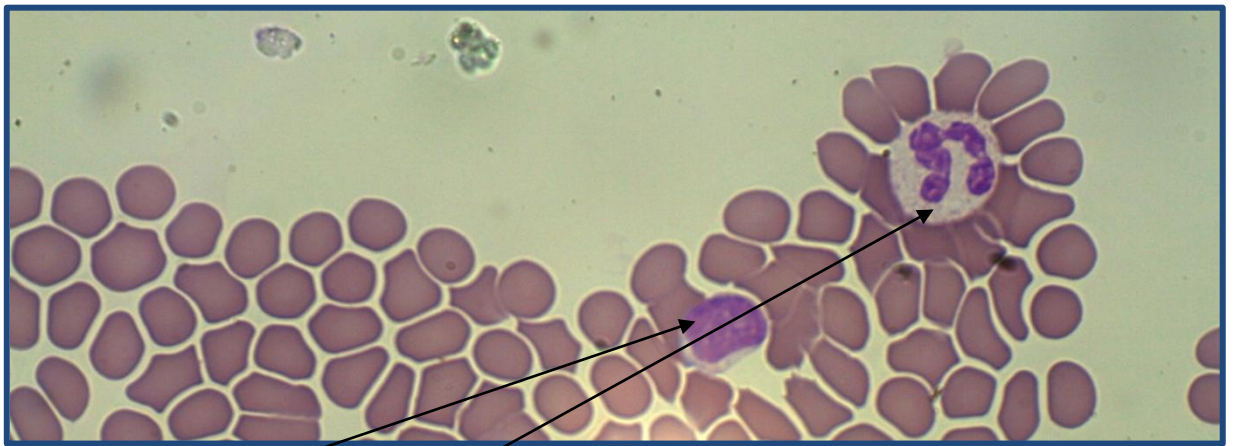
Monocyt a segmentované neutrofilly

Obrázek č. 8: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havliková)



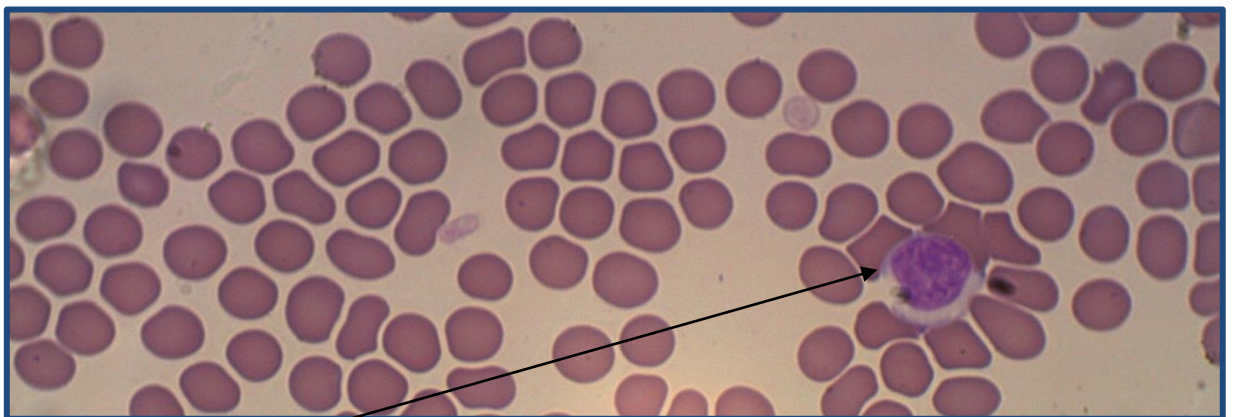
Neutrofil

Obrázek č. 9: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havliková)



Lymfocyt a *neutrofil*

Obrázek č. 10: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havliková)



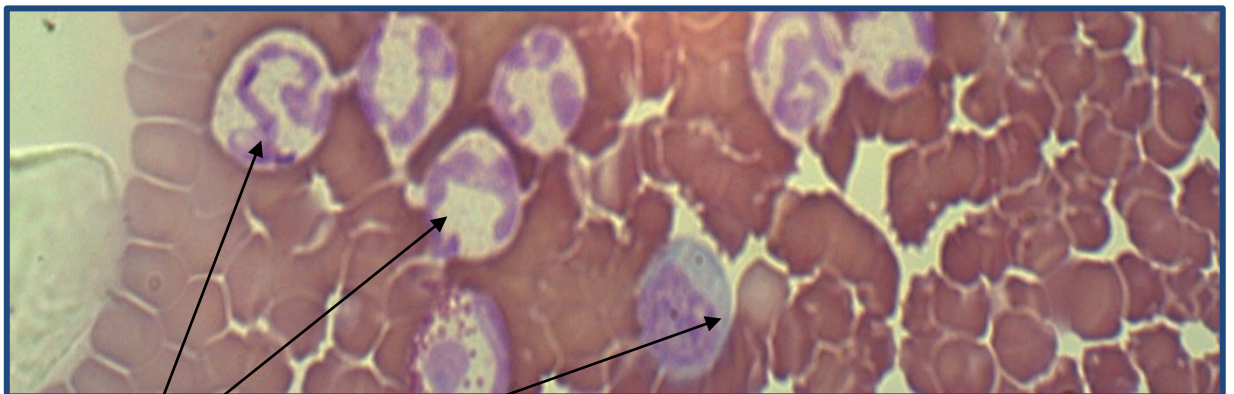
Lymfocyt

Obrázek č. 11: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havliková)



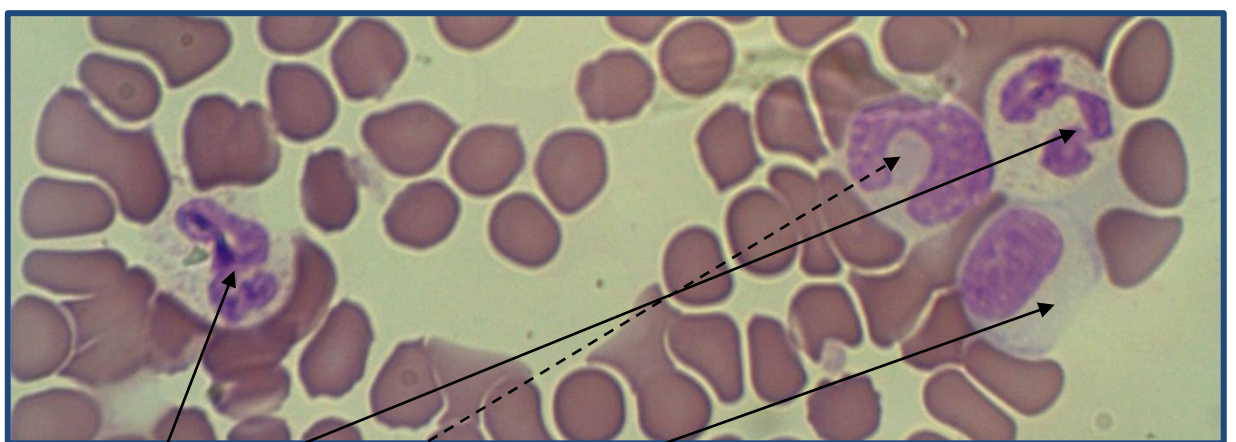
Neutrofil

Obrázek č. 12: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havliková)



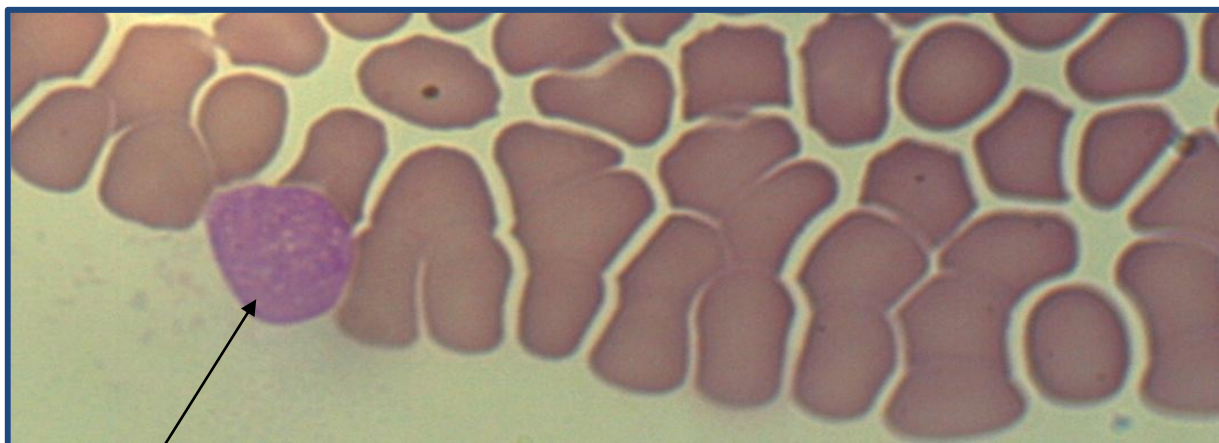
Neutrofilů a lymfocyt

Obrázek č. 13: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havliková)



Neutrofilů monocyty

Obrázek č. 14: Mikroskopické foto krevního nátěru (foto Bc.Havlíková)



Lymfocyt

Obrázek č.15: Psi plemene Border Kolie (foto Prejšová Karolína)

