

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra veterinárních disciplín



**Vliv kadmia v dietě laboratorního potkana na
biochemické a hematologické ukazatele**

Diplomová práce

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

Autor práce: Bc. Lenka Zmeškalová

Praha 2012

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem diplomovou práci na téma Vliv kadmia v dietě laboratorního potkana na biochemické a hematologické ukazatele vypracovala samostatně a použila jen pramenů, které cituji a uvádím v příložené bibliografii.

V Praze dne:

.....
podpis autora práce

Poděkování

Na prvním místě bych ráda poděkovala vedoucí diplomové práce doc. Ing. Aleně Fučíkové, CSc. za odborné vedení, trpělivost a pomoc při zpracování této práce. Dále bych chtěla poděkovat pracovníkům Fyziologického ústavu AV ČR za možnost spolupráce na prováděných pokusech. A v neposlední řadě bych chtěla poděkovat rodině a přátelům za pomoc a morální podporu, bez které by tato práce nemohla vzniknout.

SOUHRN

Vliv toxických látek z kontaminovaného prostředí může vyvolat negativní změny fyziologických pochodů rostlin a živočichů. Zejména v lokalitách ovlivněných průmyslovým znečištěním je nutné znát účinky kontaminantů, které se do živočichů nejčastěji dostávají jako součást potravy.

V České republice se nacházejí oblasti s výskytem rizikových prvků v půdě. Skrze zemědělskou produkci je možný vstup těchto látek i do lidských organizmů.

Tato diplomová práce se zabývá vlivem zvýšené hladiny kadmia v půdě a rostlinách na změny v živém organismu prostřednictvím hematologických a biochemických ukazatelů. Cílem této práce je ověřit hypotézu, dle které přechází kadmium z půdy do rostlin a následně do těla živočicha a způsobuje odlišnosti v hematologických a biochemických hodnotách.

Pro ověření hypotézy byli laboratorní potkani krmeni dietou s různým obsahem kadmia, a následně byly stanoveny hematologické a biochemické parametry. Součástí krmných směsí byly vzorky půd ze třech oblastí v České republice. Některé skupiny potkanů přijímaly kadmium i ve vodě. Potkani byli také rozděleni podle pohlaví, generace a délky expozice působení kadmia.

Laboratorně byly z krve a krevního séra potkanů stanoveny hodnoty počtu erytrocytů, střední objem erytrocytů, hematokrit, počet leukocytů a obsah hemoglobinu. Dále byla zjišťována aktivita enzymu aspartátaminotransferázy. Získané hodnoty byly porovnány s hodnotami stanovenými u jedinců z kontrolní skupiny a s hodnotami ostatních skupin v rámci experimentu.

Statisticky významné rozdíly byly pomocí analýzy rozptylu zjištěny mezi hodnotami počtu leukocytů v rámci experimentu, do kterého byli zařazeni samci, kteří byli krmeni dietami s různým obsahem kadmia po dobu 60 dní. V experimentu, kde samci přijímali různé množství kadmia v krmné dávce a zároveň i ve vodě po dobu 60 dní, byl statisticky významný rozdíl zjištěn v počtu erytrocytů a hematokritu. V dalším experimentu, kdy samice přijímaly krmné dávky s nestejným obsahem kadmia 110 dní, nebyl zjištěn statisticky průkazný rozdíl v žádném ze zkoumaných parametrů. Nejvíce změn ve zkoumaných fyziologických hodnotách bylo prokázáno v experimentu se skupinami potkanů z druhé generace, kterým byla 110 dní podávána dieta s odlišným obsahem kadmia. V tomto experimentu se statisticky průkazně lišily hodnoty hematokritu, hemoglobinu, počtu leukocytů a středního objemu erytrocytů.

Provedené experimenty nevyloučily vznik změn v některých z vybraných hematologických parametrů způsobených vlivem kadmia.

Klíčová slova: kadmium, laboratorní potkan, hematologické hodnoty, AST

SUMMARY

Influence of toxic substances from contaminated environment may bring about negative changes of physiological processes of plants and animals. Especially in localities influenced by industrial pollution, it is necessary to know effects of contaminants which most often get into animals as part of food.

In the Czech Republic, there are areas with occurrence of high-risk elements in the soil. Through agricultural production, there is also a possibility of entry of these substances into human organisms.

This diploma thesis deals with the influence of an increased level of cadmium in the soil and plants on changes in the living organism through hematological and biochemical indicators. The goal of this thesis is to verify a hypothesis according to which cadmium passes from the soil into plants and subsequently into the body of an animal, and causes differences in hematological and biochemical values.

To verify the hypothesis, laboratory rats were fed on a diet with a various content of cadmium, and subsequently there were stipulated hematological and biochemical parameters. Part of feeding mixtures were samples of soils from three areas in the Czech Republic. Some groups of rats also took in cadmium in water. Rats were also divided according to their sex, generation, and length of exposure to cadmium effect.

Laboratorily, there were stipulated values of the number of erythrocytes, medium volume of erythrocytes, hematocrits, number of leucocytes, and content of hemoglobin from blood and blood serum of rats. Further, there was ascertained an activity of an aspartateaminotransferase enzyme. Obtained values were compared with values stipulated with individuals from a control group and with values of other groups within the experiment.

Statistically significant differences were ascertained - by an analysis of dispersion - between the values of the number of leucocytes within the experiment in which male animals were included which were fed on diets with a various content of cadmium for 60 days. In the experiment where male animals took in a various amount of cadmium in the feeding ration and at the same time also in water for 60 days, a statistically important difference was ascertained in the number of erythrocytes and hematocrit. In another experiment where female animals took in feeding rations with a different content of cadmium for 110 days, no statistically provable difference was ascertained in any of the examined parameters. Most changes in the examined physiological values were proved in the experiment with groups of rats from the second generation which were fed on a diet for 110

days with a different content of cadmium. In this experiment, values of hematocrit, hemoglobin, number of leucocytes and medium volume of erythrocytes statistically provably differed.

The experiments carried out did not exclude occurrence of changes in some of the selected hematological parameters caused by the effect of cadmium.

Key words: cadmium, laboratory rat, hematological values, AST

OBSAH

1. ÚVOD	11
2. VĚDECKÁ HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE.....	12
3. LITERÁRNÍ REŠERŠE	13
3.1. Laboratorní potkan	13
3.1.1. Historie a původ	13
3.1.2. Taxonomie	14
3.1.3. Biologie.....	15
3.1.4. Chování a způsob života	15
3.1.5. Fyziologické a hematologické hodnoty	17
3.2. Kadmium.....	18
3.2.1. Výskyt v přírodě a vlastnosti	18
3.2.2. Toxicita	19
3.2.3. Kontaminace atmosféry, půdy a vodních zdrojů	19
3.2.4. Příjem kadmia rostlinami a živočichy.....	20
3.2.5. Účinky na organismus	20
3.2.5.1. Plíce	20
3.2.5.2. Krev a kardiovaskulární systém.....	20
3.2.5.3. Ledviny a játra	21
3.2.5.4. Kosterní soustava.....	21
3.2.5.5. Reprodukce samic.....	22
3.2.5.6. Reprodukce samců.....	22
3.2.5.7. CNS a trávicí trakt	23
3.3. Hematologie	23
3.3.1. Funkce krve.....	23
3.3.2. Obecné charakteristiky krve	24
3.3.2.1. Objem krve	24
3.3.2.2. Hematokrit	24
3.3.2.3. Viskozita.....	25
3.3.2.4. Osmotický tlak.....	25
3.3.2.5. Onkotický tlak.....	25
3.3.2.6. pH krve	25
3.3.2.7. Barva.....	26

3.3.2.8. Teplota	26
3.3.2.9. Chuť a vůně	26
3.3.3. Krevní plazma	26
3.3.3.1. Složení krevní plazmy	26
3.3.4. Krevní elementy	27
3.3.4.1. Hematopoéza	27
3.3.4.2. Erytrocyty	28
3.3.4.3. Leukocyty	31
3.3.5. Antikoagulační látky	35
3.4. AST (Aspartátaminotransferáza)	35
4. MATERIÁL A METODY	37
4.1. Materiál	37
4.1.1. Příprava krmných směsí	37
4.1.2. Zařazení zvířat do experimentu	38
4.1.2.1. Experiment č. 1	38
4.1.2.2. Experiment č. 2	38
4.1.2.3. Experiment č. 3	38
4.1.2.4. Experiment č. 4	38
4.1.3. Ukončení experimentu	39
4.2. Metodika	39
4.2.1. Stanovení hematologických ukazatelů	39
4.2.1.1. Stanovení počtu erytrocytů, středního objemu erytrocytů a hematokritu	39
4.2.1.2. Stanovení počtu leukocytů a obsahu hemoglobinu	40
4.2.2. Stanovení aktivity aspartátaminotransferázy (AST)	40
4.2.3. Statistické zpracování dat	40
5. VÝSLEDKY	42
5.1. Experiment č. 1	42
5.1.1. Hematologické a biochemické ukazatele	42
5.1.2. Hmotnosti zvířat	44
5.2. Experiment č. 2	45
5.2.1. Hematologické a biochemické ukazatele	45
5.2.2. Hmotnosti zvířat	48
5.3. Experiment č. 3	48
5.3.1. Hematologické a biochemické ukazatele	48
5.3.2. Hmotnosti zvířat, velikost vrhu a jeho hmotnost	51

5.4. Experiment č. 4	52
5.4.1. Hematologické ukazatele	52
5.4.2. Hmotnosti zvířat.....	56
5.5. Grafické srovnání všech skupin v experimentech.....	57
6. DISKUSE.....	62
7. ZÁVĚR	66
8. SEZNAM LITERATURY	67
9. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ	73

1. ÚVOD

Kontaminace životního prostředí je významným problémem pro zdraví živočišných a rostlinných organismů i celkovou rovnováhu ekosystému. Zejména v lokalitách ovlivněných průmyslovým znečištěním je důležité znát vliv toxických látek na případné změny nejen ve fyziologických pochodech organismů. Takové vlivy lze například zkoumat na potkanech. Ti se velmi často používají jako laboratorní zvířata kvůli jejich snadnému přizpůsobení se danému experimentu, rychlému rozmnožování a malým nárokům na ustájení či potravu. Úspěšně se výsledky kontaminace prokazují zejména sledováním hematologických a biochemických ukazatelů u zvířat, která byla vystavena působení toxických látek. Kontaminanty se do organismu dostávají mnoha způsoby, často jsou nežádoucí složkou potravy.

Kadmium je toxický kov, který se kumuluje v organismu a může způsobovat řadu zdravotních problémů. Jsou to například neurologická, imunologická nebo dokonce i nádorová onemocnění. Ohroženy jsou také plíce, játra či ledviny. Obsah kadmia v potravě navíc ovlivňuje metabolismus sacharidů, vstřebávání a ukládání minerálů, například mědi, železa či zinku.

V České republice se nachází několik oblastí, vyznačujících se zvýšeným obsahem rizikových prvků v půdě. U naměřených vysokých hodnot hrozí reálné riziko kontaminace zemědělské produkce, a tedy i ohrožení zdraví lidí. Jako modelová lokalita, ze které byly odebrány vzorky půdy, která byla přidávána do diety, byla použita oblast města Kutná Hora, která je proslavená středověkou těžbou stříbrných rud. Další oblastí bylo vybráno povodí řeky Litavky, kde byly v dřívějších dobách soustředěny proplachovny rud.

2. VĚDECKÁ HYPOTÉZA A CÍLE PRÁCE

Cílem této práce bylo zhodnocení změn některých parametrů krevního obrazu a biochemických ukazatelů, které mohou poukazovat na fyziologické změny organismu v důsledku zvýšené hladiny kadmia v těle. Hodnoty byly stanoveny u laboratorních potkanů, kteří byli krmeni dietou s různým obsahem kadmia, jehož pohyb byl sledován v krvi a séru.

Hypotéza pokusu vychází z předpokladu pohybu kadmia z půdy do rostlin a následně do těla živočicha. Předpokládáme, že potkani krmeni dietou s nejvyšším obsahem kadmia, budou mít naměřené hodnoty odlišné od normálových hodnot.

3. LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1. Laboratorní potkan

3.1.1. Historie a původ

Potkan byl jako druh primárně domestikován kvůli vědeckým účelům (Suckow et al., 2006). Dnešní laboratorní potkani byli vyšlechtěni z divokého potkana *Rattus norvegicus*. Původní areál rozšíření divokého potkana byla Indie a Čína, odkud lodní dopravou expandoval do celého světa a dnes je tak druhem rozšířeným kosmopolitně (Kocourek, 2000).

Existuje nepodložená domněnka, že se potkan v Evropě používal před rokem 1850 na výživové experimenty. První obecně uznávaný záznam o použití potkana pro pokusné účely je studie z roku 1856 francouzského biologa Philipeauxe, který zkoumal vliv adrenalectomie (odstranění nadledviny) na bílých potkanech. V roce 1863 publikoval anglický chirurg Savory svůj první pokus, ve kterém hodnotil nutriční využití bílkoviny u savců. Ve svém experimentu použil černé, hnědé a bílé potkany. Jako první začal pro vědecké účely chovat potkany německý biolog Crampe. Ten během let 1877 až 1885 choval jak albinotické, tak i divoké jedince (Suckow et al., 2006). Od roku 1895 se potkan používal jako model pro studium lidské fyziologie. Potkani se také využívali a využívají pro pokusy psychologické. Takový experiment provedl jako první americký psycholog W. S. Small v roce 1900 na univerzitě v Massachusetts. Umisťoval potkany do bludišť a zkoumal jejich chování (Barnett, 2001).

Jednotlivé kmeny a rody potkanů byly vytvořeny v individuálních chovech během 19. století (Sharp et La Regina, 1998). Kmen Wistar – albino byl vyšlechtěn v roce 1920 v institutu Wistar ve Philadelphii. Z tohoto institutu se rozšířil do celého světa (Tucker, 1997). Dalším známým kmenem laboratorních potkanů je Long - Evans, který byl vytvořen doktorem Longem a Evansem v roce 1915. V současnosti je uznáváno přes 50 kmenů (Živná, 2001). Laboratorní potkani jsou nejčastěji bílí, ale existuje mnoho barevných mutací jako například černá, krémová, hnědá, stříbřitá, a dokonce i mutace bez srsti (Kocourek, 2000).

3.1.2. Taxonomie

Říše: Živočichové (Animalia)

Kmen: Strunatci (Chordata)

Podkmen: Obratlovci (Vertebrata)

Třída: Savci (Mammalia)

Podtřída: Živorodí (Theria)

Infratřída: Placentálové (Eutheria)

Řád: Hlodavci (Rodentia)

Podřád: Myomorpha

Nadčeleď: Muroidea

Čeleď: Myšovití (Muridae)

Rod: *Rattus*

Druh: Potkan (*Norvegicus*)

(Wilson et Reeder, 2005)

Potkan patří do řádu hlodavci, který z evolučního hlediska představuje skupinu poměrně mladou. Hlodavci svým početným zastoupením převažují nad všemi ostatními řády savců. I přes značnou rozmanitost ve vzhledu a způsobu života existuje mezi hlodavci několik společných rysů. Především jde o utváření chrupu, v němž úplně chybí špičáky. Řezáky jsou přeměněné v hlodáky, které jsou bezkoenné a dorůstají celý život (Anděra, 1999). Pokud nedochází k jejich obrušování, přerůstají, spirálovitě se stácejí a přestávají být funkční. Všichni hlodavci mají vedle sebe 2 hlodáky v horní a 2 v dolní čelisti (Zejda et al., 2002). Zubní vzorec potkana je 1003/1003 (Sharp et La Regina, 1998). Tvar čelistního kloubu a mohutný žvýkací sval umožňují hlodavcům pouze předozadní pohyb čelistí. Trávicí trakt je přizpůsoben příjmu převážně rostlinné stravy (Anděra, 1999; Anděra et Horáček, 2005). Čich mají hlodavci velmi dobře vyvinutý a je základem jejich vnímání (Stejskal et al., 1993).

Laboratorní potkany můžeme dělit do dvou skupin, a to na zvířata inbrední nebo outbrední. Obecně jsou inbrední zvířata označována jako rod a outbrední jako kmen. Rod vzniká opakovaným křížením bratra se sestrou po 20 generací. Naopak kmen má méně než 1 % příbuznosti v generaci (Živná, 2001).

3.1.3. Biologie

Díky mnoha výzkumným pracím patří potkan k nejlépe prozkoumaným živočichům (Hanzlová et Stachová, 1999). Velikost těla je i přes vysoký počet kmenů konstantní. Patrný je značný sexuální dimorfismus, kdy samci jsou všeobecně větší než samice (Kendíková, 2004). Tělesná hmotnost samce v dospělosti dosahuje 450 - 520 g, samice 250 - 300 g (Živná, 2001). Délka těla se pohybuje v rozpětí od 160 do 270 mm (Anděra et Horáček, 2005).

Na rozdíl od myši domácí a krysy obecné má potkan zepředu mírně zaoblenou hlavu s krátkými ušními boltci, které při přehnutí dosahují nejvýše k zadnímu koutku oka (Hagen et al., 2001). Výška ušního boltce je 18 - 22 mm (Anděra et Horáček, 2005).

Lysý ocas potkana, který je kratší než tělo, má kulatý průřez, u kořene je zesílený a směrem dozadu se ztenčuje. Je tvořen 160 – 205 šupinatými kroužky a je 125 – 230 mm dlouhý. Ochranná funkce ocasu spočívá v jeho svléknutí z kůže či ulomení při úniku z nebezpečí (Velenská, 2007). Kvůli tomuto jevu nikdy potkana při manipulaci neuchopujeme za ocas, ale držíme ho za volnou hřbetní kožní řasu a druhou rukou ho podepíráme zespodu. Další funkce ocasu jsou termoregulační a rovnovážná. Zvláštností potkana je, že nemá žlučník (Suckow et al., 2006).

3.1.4. Chování a způsob života

Přes poměrně krátkou dobu domestikace se potkani chováním ale i morfologicky výrazně odlišili od svých divoce žijících předků (Kocourek, 2000). Ve srovnání s nimi mají laboratorní potkani menší mozek, játra, ledviny i nadledviny a srdce (Barnett, 2001). Mezi další rozdíly patří časnější pohlavní dospělost, ztráta výrazné sezónnosti v reprodukci, větší plodnost a kratší délka života u laboratorního potkana (Sharp et La Regina, 1998). Také u nich došlo ke ztrátě plachosti, vymizení únikové vzdálenosti a snížení agresivity. Je pro ně typická neofobie, proto je nutné jim při změně diety poskytnout dost času na adaptaci, jinak může dojít ke zkreslení výsledků experimentu (Živná, 2001). Častý handling pomáhá zvířatům snáze se přizpůsobit novému prostředí a podmínkám pokusu (Sharp et La Regina, 1998).

Potkan je všežravec a jeho potrava se v přírodě skládá převážně z rostlinné složky, která je tvořena hlavně semeny, ovocem, obilovinami a trávou (Zejda et al., 2002). Živočišnou složku tvoří hmyz či drobní obratlovci. Díky schopnosti plavat a potápět se, dokáže ulovit i pomalejší ryby (Stejskal et al., 1993).

Potkani jsou zvířata převážně s noční aktivitou. Maximum jejich činnosti je přibližně jednu hodinu po západu slunce, kdy opouští úkryty (Stejskal et al., 1993).

Velmi důležitý je u potkanů sociální kontakt. Zvířata žijí v rodinách s jasnou hierarchií. Rodiny vytvářejí kolonie, ve kterých se členové rozeznávají podle specifického pachu (Hagen et al., 2001). Samci si pečlivě značkují svá území, avšak nebojují mezi sebou, a tak není problém umístit v pokusu více jedinců dohromady (Sharp et La Regina, 1998). Kolonie si reguluje početní stav a kvalitu potomstva tím, že se submisivní jedinci nezapojují do reprodukce. V sociálním chování hraje důležitou roli sluch. Zvířata používají k různým druhům komunikace ultrazvuk o frekvencích 22 až 90 kHz. Ovšem vysoká intenzita zvuků může u potkanů způsobit stres, metabolické změny i pokles plodnosti. Reakce na hluk vede k poklesu příjmu potravy, nárůstu hmotnosti nadledvin a zvýšení počtu leukocytů, kromě eozinofilů, kterých ubývá (Anděra, 1999; Živná, 2001).

Potkan se množí prakticky celý rok. Březost trvá 22 - 24 dní a dle kondice rodičů, hlavně matky, může být ve vrhu 7 – 11 mlád'at (Hagen et al., 2001). Sharp et La Regina (1998) uvádějí 3 – 18 mlád'at ve vrhu. Jedno mládě váží 5 - 7 g (Hanzlová et Stachová, 1999). Samice rodí výhradně ve dne, noční porody tvoří méně než 5 % (Kendíková, 2004). Mlád'ata potkanů jsou nidikolní. Stejně jako u všech myšovitých se rodí holá, slepá a bez funkční termoregulace, proto jsou závislá na rodičovské péči. Jednotlivé vrhy mlád'at společně sají od všech matek, takže v případě úhynu jedné z nich, je o její potomky postaráno. Oči se mlád'atům otevírají zhruba po 14 dnech života. Do 10 dní od narození se potkanům vytváří plnohodnotná srst a asi po dalších 10 dnech mohou být odstaveni od matky (Hanzlová et Stachová, 1999). Dle Velenské (2007) potkaní mléko tvoří z 72,5 % voda, z 12,6 % tuk, z 9,2 % bílkovina, ze 3,3 % cukr a z 1,4 % minerální látky.

Potkani se obvykle dožívají 2 - 3,5 let (Živná, 2001).

3.1.5. Fyziologické a hematologické hodnoty

Hematologické a biochemické hodnoty se liší podle věku, kmene a pohlaví dospělého potkana (Živná, 2001). V tabulce č. 1 jsou uvedeny konkrétní parametry krve.

Tabulka č. 1 Hodnoty jednotlivých složek krve potkana

parametr	(Živná, 2001)	(Hanzlová et Stachová, 1999)	(Knotková et Knotek, 2000)
objem krve	70 ± 45 ml/ kg		55 - 70 ml/kg
objem plazmy	7,8 ml		
počet erytrocytů	7 - 10 x 10 ¹² /l	7,2 - 9,6 x 10 ⁶ / mm ³	5,5 - 9,5 x 10 ¹² /l
hematokrit	35 – 45 %	40 - 50 %	36 - 48 %
hemoglobin	110 - 190 g/l	148 g/l	110 - 180 g/l
velikost erytrocytů	6,5 μm		
retikulocyty	0 - 25 %		
počet leukocytů	5 - 25 x 10 ⁹ /l	8 - 14 x 10 ³ /mm ³	6 – 17 x 10 ⁹ /l
neutrofilly	18 - 36 %	13 - 30 %	1 - 3,9 x 10 ⁹ /l
eosinofily	1 - 4 %	0 - 1 %	0 - 0,7 x 10 ⁹ /l
basofily	0 - 1 %	0 %	0 - 0,1 x 10 ⁹ /l
lymfocyty	62 - 75 %	65 - 77 %	7,5 - 9,7 x 10 ⁹ /l
monocyty	1 - 6 %	0 – 4 %	0 - 0,6 x 10 ⁹ /l
počet trombocytů	200 - 350 x 10 ⁹ /l		500 – 1300 x 10 ⁹ /l
AST	0,69 - 1,11 μkat/l		
pH arteriální krve	7,47 ± 0,04		
průměrný objem erytrocytu (MCV)	46 - 65 fl		
průměrná barevná koncentrace Hb (MCHC)	310 - 400 g/l		
průměrný obsah hemoglobinu (MCH)	18 - 23 pg		

3.2. Kadmium

Název tohoto prvku je odvozený z řeckého *kadmia* označující zinkovou rudu. Kadmium bylo objeveno v roce 1817 profesorem F. Stromeyerem a továrníkem O. Hermannem v Německu (Jirkovský et al., 1985; Greenwood et Earnshaw, 1993).

3.2.1. Výskyt v přírodě a vlastnosti

Kadmium se v přírodě nachází jako minerál greenockit (CdS), ale jediným jeho technicky využitelným zdrojem jsou zinkové rudy, například sfalerit (ZnS s kubickou krystalickou strukturou) a wurtzit (ZnS s hexagonální krystalickou strukturou), které obsahují 0,2 až 0,4 % kadmia (Jirkovský et al., 1985; Greenwood et Earnshaw, 1993; Makovníková, 2000). Kadmium tvoří $11 \cdot 10^{-6}$ % zemské kůry, na její 1 kg připadá 0,2 mg kadmia, více je ho obsaženo v zásaditých horninách zemské kůry (Milbauer, 1957; Makovníková, 2000).

Čerstvě připravené kadmium je stříbřitá až bílá pevná látka s namodralým leskem. Struktura greenockitu je založena na typicky kovovém hexagonálním uspořádání, které je ale deformováno. Proto má kadmium menší hustotu a nižší pevnost v tahu. Do kovové vazby jsou totiž u kadmia zapojeny pouze vnější elektrony, vazba je proto slabší a kadmium při ohýbání praská (Greenwood et Earnshaw, 1993).

Kadmium na vlhkém vzduchu ztrácí lesk, slučují se s kyslíkem, sírou, fosforem a při zahřívání i s halogeny (Greenwood et Earnshaw, 1993). Má vysokou afinitu k tvorbě kationtů a komplexních sloučenin hlavně s chlorem (Makovníková, 2000). V neoxidujících kyselinách se kadmium rozpouští za vzniku vodíku, při reakcích s oxidujícími kyselinami vznikají různé oxidy. Kadmium je dále součástí například hydridů a halogenidů (Greenwood et Earnshaw, 1993). Všechny sloučeniny kadmia jsou jedovaté (Jirkovský et al., 1985).

Protože kadmium odolává korozi, je využíváno pro tvorbu ochranných povlaků, ale jeho použití je spojeno s nebezpečím pro životní prostředí. Dále je tento kov v malém množství přítomen v bateriích a lehce tavitelných slitinách. Jeho sloučeniny slouží jako stabilizátory například proti působení UV či tepelného záření (Greenwood et Earnshaw, 1993). Využívá se také k regulaci toku neutronů v jaderných reaktorech (Engels et Nowak, 1977).

3.2.2. Toxicita

Kadmium je jedním z nejtoxičtějších chemických prvků a v současné době patří k nejnebezpečnějším jedům vnějšího prostředí, do kterého proniká z komunálních odpadů, při zpracování rud, kovů a barviv, ve formě superfosfátů používaných při hnojení, z čistírenských kalů, při spalování plynů, olejů, plastů, uhlí a nafty. Jeho přítomnost je prokázána i ve výfukových plynech a v tabákovém kouři (Greenwood et Earnshaw, 1993; Sova, 1997).

Normy WHO povolují pro člověka maximální týdenní příjem kadmia 400 – 500 μg (Sova, 1997). Denní příjem kadmia člověkem je 10 – 111 μg . Obecně jsou účinky kadmia kancerogenní, mutagenní a teratogenní (Makovníková, 2000). Misra et al. (1998) zkoumali kancerogenní účinky kadmia na hlodavcích. Efekt kadmia vedoucí k poškození DNA byl variabilní dle druhu buněčných linií. Nárůst poškození DNA bylo pozorováno při podávání dávek kadmia, které zcela zastavily buněčný růst. Přetrvává proto názor, že kadmium nemá přímo genotoxické účinky.

3.2.3. Kontaminace atmosféry, půdy a vodních zdrojů

Do atmosféry se kadmium dostává zejména při jeho těžbě a zpracování. Globálně jsou největším zdrojem procesy spalování. Dalším zdrojem obsahu kadmia v ovzduší je větrná eroze kontaminovaných půd po hnojení fosfáty. To může způsobovat i kontaminaci vodních zdrojů, ke které přispívá znečištění skrze odpadní vody vzniklé jak při zpracování samotného kovu, tak i v mnoha průmyslových odvětvích. Ve vodě jsou kovy přítomny jako kationty či anionty nebo ve formě komplexních organických či anorganických sloučenin. V takovéto podobě má kadmium schopnost akumulovat v sedimentech i ve vodních organizmech (Cibulka et al., 1991).

Obsah kadmia v půdě je třikrát vyšší než v zemské kůře (Makovníková, 2000). Koncentrace kadmia v půdách se pohybuje v rozmezí 0,01 – 15 mg/kg. Přirozený obsah kadmia se ale významně liší dle matečné horniny, intenzity zvětrávání a následného transportu prvku mezi prostředími. V půdě se nachází mnoho forem kadmia, například vodorozpustné, organicky vázané, v oxidech železa a manganu, ve formě karbonátů, fosforečnanů a sulfidů. V půdě kadmium setrvává déle než ve vodě a v atmosféře (Cibulka et al., 1991). Výstupy kadmia z půdy představují 13 – 23 % vstupů, přičemž 50 % kadmia, které z půdy odejde, je přeneseno do úrody (Makovníková, 2000).

3.2.4. Příjem kadmia rostlinami a živočichy

Kadmium je rostlinami přijímáno hlavně kořeny. V rámci mimokořenového systému je kov přijímán z atmosféry prostřednictvím povrchu listů. Příjem kadmia kořeny rostlin je v lineární závislosti na koncentraci volného iontu Cd^{2+} v prostředí. Pohyb ke kořenům se děje difuzí a hromadným půdním tokem. V blízkosti kořenů dochází k navázání kovu do organických kyselin, které rostlina vylučuje. Tím se zvyšuje difuzní gradient a příjem prvku je tak urychlen. Bioakumulace kadmia závisí kromě jeho koncentrace v prostředí a formě na hodnotě pH či teplotě prostředí. Se vzrůstající hodnotou pH obsah kadmia v pletivech rostlin klesá. Příjem kadmia rostlinami se snižuje v přítomnosti zinku. Antifytotoxický účinek má vápník (Cibulka et al., 1991).

Kadmium je přijímáno především inhalačně a alimentární cestou (Cibulka et al., 1991). 25 % přijatého kadmia se hromadí v organismu (Makovníková, 2000). A to především v ledvinách a v játrech, ale i v pankreatu (Greenwood et Earnshaw, 1993; Sova, 1997).

Akumulace kadmia a doba jeho přetrvávání v organismu závisí na době trvání vystavení vlivu kadmia, jeho celkové dávce a formě, ve které různé organizmy kov přijímají (Cibulka et al., 1991).

Nadlimitní nálezy kadmia byly kromě orgánů zvířat, ve kterých se tento kov hromadí, prokázány také v bramborách, máku, mrkvi a sóje (Sova, 1997).

3.2.5. Účinky na organismus

3.2.5.1. Plíce

Prvním cílovým orgánem při inhalačním příjmu kadmia jsou plíce, ze kterých se kadmium dostává krví do jater. Inhalované kadmium způsobuje plicní edémy a krevní výrony v dýchacím traktu. Kadmium způsobuje v plicích zvýšení počtu neutrofilů a makrofágů (Cibulka et al., 1991).

3.2.5.2. Krev a kardiovaskulární systém

Následkem působení kadmia může být anémie, snížení koncentrace hemoglobinu a hodnoty hematokritu. Anémii může předcházet souběžný příjem kyselin obsahující železo při dietě s vyšším obsahem kadmia, jelikož právě snížená absorpce železa v gastrointestinálním traktu je cestou, jakou kadmium iniciuje mechanismus vzniku anémie.

Dále může kadmium způsobovat destrukci erytrocytů, která poté souvisí s nižší produkcí hemoglobinu. Chronické působení kadmia cestou *per os* má u potkanů za následek zvýšení krevního tlaku (Friberg et al., 1992).

3.2.5.3. Ledviny a játra

Vliv kadmia na ledviny způsobuje hypertrofii až degradaci epitelu proximálních tubulů s následnou fibrózou (Cibulka et al., 1991). Glomerulus nemusí být poškozen (Friberg et al., 1992). Dlouhodobý příjem kadmia i v malých množstvích může ale vést k selhání ledvin a k lézím (Greenwood et Earnshaw, 1993). Výsledkem ledvinových dysfunkcí bývá proteinurie, glykosurie a aminoacidurie (Friberg et al., 1992).

Játra jsou hlavním cílovým orgánem toxicity kadmia u potkanů (Friberg et al., 1992). Jaterní tkáň je vlivem kadmia poškozena prostřednictvím poklesu aktivit jaterních enzymů. Je znám také diabetogenní efekt, čímž kadmium způsobuje deficit glykogenu a hyperglykémii. Antitoxický vliv na tuto poruchu metabolismu sacharidů způsobenou kadmii má zinek (Cibulka et al., 1991). Tato skutečnost byla prokázána například na potkanech kmene Wistar, kteří jsou vůči kadmii zvláště rezistentní. Při podávání kadmia v kombinaci se zinkem se játrech a ledvinách obsah kadmia sníží (Shimada et al., 2004). Antitoxický účinek byl prokázán také u selenu, který je významným antioxidantem. Vlivem kadmia dochází k oxidačnímu stresu. Antioxidační působení podporuje obranný systém potkaních jater i ledvin. U zvířat vystavených vlivu kadmia také dochází v játrech ke snížení obsahu vitamínu C a zvýšení vitamínu E (Ognjanović et al., 2008).

Chronické intoxikace malými dávkami kadmia se mohou projevit nekrózami jater až prekancerózními účinky (Cibulka et al., 1991). Působení kadmia vlivem nadměrného příjmu *per os* způsobuje dystrofické změny jater i ledvin, a dokonce i srdce. Morfologické změny jater jsou však i následkem vystavení inhalačního působení kadmia (Friberg et al., 1992).

3.2.5.4. Kosterní soustava

Kadmium je schopno způsobit snížení pevnosti kostí při jejich vývinu, jelikož rostoucí kosti přijímají kadmium více, než kosti plně vyvinuté. Vlivem tohoto kovu dochází ke snížení obsahu minerálních látek v kostní tkáni a ztenčení kostí (Cibulka et al., 1991). Dieta se zvýšeným obsahem kadmia má za následek snížení obsahu vápníku a zinku v kostech. Histopatologické procesy, zahrnující úbytek osteoklastů a změny ve struktuře kostí, mohou vyústit v osteomalácii, osteoporózu či osteosklerózu (Friberg et al., 1992). Při primárním

poškození ledvin kadmíem je negativní účinek tohoto kovu na kosterní tkáň sekundárním projevem, který je způsobený poruchou aktivace vitamínu D v ledvinách. Kadmium může nahradit dvojmocný kov, který je nutný pro aktivaci enzymů, které jsou důležité pro metabolismus vláknitých složek pojivových a podpůrných tkání (kolagen, elastin) a způsobit tak ireverzibilní vazbu enzymu na substrát (Cibulka et al., 1991).

Kadmiu se váže k SH skupinám cysteinových zbytků v bílkovinách a inhibuje tak enzymy obsahující skupinu SH. Rovněž může inhibovat působení enzymů obsahující zinek, jehož atom může v molekulách nahradit (Greenwood et Earnshaw, 1993).

3.2.5.5. Reprodukce samic

Kadmium narušuje reprodukční procesy. Způsobuje snížení počtu folikulů, a tím i snížení počtu primárních zárodečných buněk. V případě působení kadmia v průběhu organogeneze embrya se přednostně lokalizuje v buňkách nervové trubice, střevech a končetinách zárodka (Cibulka et al., 1991). Výsledkem přítomnosti kadmia je zpožděný embryonální vývoj i následný růst (Friberg et al., 1992). Významný je účinek kadmia v průběhu březosti. Transplacentární pohyb kovů během březosti kolísá. Malé dávky kadmia v časných stádiích gravidity nemají zdaleka tak patologické následky jako působení kovu na konci gravidity, kdy může kadmium způsobit poškození fetální části placenty (Cibulka et al., 1991). Kadmium tak může být příčinou vysoké embryonální mortality a nízké porodní váhy mláďat (Friberg et al., 1992). V průběhu březosti však dokáže placenta množství kadmia akumulovat a minimalizovat tak jeho přenos do fetálního oběhu (Cibulka et al., 1991). Nahromadění kadmia v ovariích je příčinou inhibice procesu zrání krysích oocytů. Poškození vaječníků potkanů vlivem kadmia však není závislé pouze na jeho dávce, ale také na věku samice (Cibulka et al., 1991). U samic může kadmium způsobovat až neplodnost (Sova, 1997).

3.2.5.6. Reprodukce samců

Narušení reprodukce samců vlivem kadmia spočívá v poškození drobných cév ve varlatech, což vede ke vzniku lézí, které vyúsťují k degradaci semenotvorného epitelu (Cibulka et al., 1991). Efekt kadmia spočívá ve zvýšení propustnosti kapilár, proto dochází k úniku obsahu cév do intersticia, kde vznikají otoky. Dále dochází ke snížení průtoku krve kapilárami a k ischemii. Celkově může dojít až k nekróze buněk varlat (Friberg et al., 1992). Rezistence proti účinkům kadmia, indukující takové poškození testikulární tkáně, je

autozomálně recesivní vlastnost, definována jako CDM lokus (Wang et al., 2006). Vliv kadmia může vést také k nádorovému bujení Leydigových buněk. Antitoxický účinek na patologické změny samčího pohlavního systému způsobené kadmíem má zinek (Cibulka et al., 1991).

Kadmium zhoršuje motilitu a přežitelnost spermií a může vést až ke sterilitě. Inhibuje totiž enzymy nutné pro glykolýzu, která je zdrojem ATP pro spermie. Příjem kadmia v pitné vodě výrazně snižuje oplození schopnost potkaních spermií a způsobuje pokles množství spermií v ejakulátu (Cibulka et al., 1991; Sova, 1997).

3.2.5.7. CNS a trávicí trakt

Kadmium působí i na centrální nervový systém (Milbauer, 1957). Blokuje přenos vápníku v nervových zakončeních a tím blokuje uvolnění neurotransmiterů (Cibulka et al., 1991).

V trávicím traktu kadmium způsobuje záněty žaludeční sliznice (Milbauer, 1957). Příjem většího množství kadmia *per os* totiž způsobuje nekrózy žaludeční a intestinální mukózy (Friberg et al., 1992).

3.3. Hematologie

Krev, obsahující 80 % vody a 20 % sušiny, je tělesná tekutina stálého složení proudící v uzavřeném cévním systému. Cirkulace je nezbytnou podmínkou pro naplnění jejích funkcí (Doubek et al., 2003). Aby se krev uvedla do pohybu, musí na ni působit síla, jejímž zdrojem je tepající srdce. Při systole dochází v srdci k přetlaku, který vhání krev do míst o nižším tlaku (Romanovský et al., 1988). Krev se skládá z krevní plazmy, ve které jsou suspendovány buněčné elementy, a to erytrocyty, leukocyty a trombocyty. Dále se v krvi nachází rozpuštěné transportované látky (Reece, 1998).

3.3.1. Funkce krve

Krev plní v organismu celou řadu životně důležitých funkcí. Mezi hlavní patří funkce transportní, regulační a obranná (Doubek et al., 2003).

Při transportní funkci dochází k přivádění kyslíku z plic do tkání a odvádění oxidu uhličitého z tkání do plic. K buňkám jsou rozváděny živiny vstřebané v zažívacím traktu, naopak zplodiny metabolismu jsou odváděny k exkrečním orgánům (Sova et al., 1990). Krev

je přenašečem hormonů, které transportuje k cílovým buňkám, a podílí se tak na humorálním řízení organismu (Frandsen et al., 2009).

Regulační funkcí krve jsou pochody, které vytvářejí a udržují homeostázu. Jde o stálost pH (izohydrie), stálost osmotického tlaku (izoosmie), stálost vzájemného poměru iontů (izoionie), vyrovnávání obsahu vody v organismu a pomocí termoregulačních mechanismů jde o udržení stálé tělesné teploty orgánů a tkání (Sova et al., 1990).

Obrannou funkci krve zabezpečují leukocyty a imunoglobuliny, které jsou součástí imunitního systému (Doubek et al., 2003).

3.3.2. Obecné charakteristiky krve

3.3.2.1. Objem krve

Krevní buňky tvoří přibližně 2/5 a krevní plazma 3/5 celkového objemu krve (Marvan et al., 2003). Dle Reece (1998) představuje objem krve zhruba 7 - 10 % tělesné hmotnosti zvířete, Sova et al. (1990) uvádějí 7,1 – 7,6 %. Hubená zvířata s vyvinutější svalovou soustavou mají větší množství krve, naopak zvířata s větším množstvím tělního tuku mají krve méně (Frandsen et al., 2009). Kromě tělesné konstituce může být kapacita krve ovlivněna věkem (mladé zvíře má větší objem), fyzickou námahou, výživou či březostí. U zvířete bez fyzické zátěže obíhá v krevním řečišti 50 % veškeré krve, zbylých 50 % se nachází v zásobárnách. Ty tvoří z 20 % játra, z 15 % slezina, z 10 % kůže. Zbytek krve se nachází v ostatních orgánech a tkáních. Náhlé ztráty čtvrtiny až poloviny objemu krve většinou způsobí smrt zvířete (Sova et al., 1990).

3.3.2.2. Hematokrit

Hematokrit udává procentuální podíl krvinek z celkového objemu krve, je však obecně považován za ukazatele celkového počtu erytrocytů. Hodnota hematokritu se pohybuje v rozmezí od 35 do 45 % (Frandsen et al., 2009).

Zjištění hematokritové hodnoty se provádí odstředěním sloupce nesrážlivé krve, který se rozdělí na jednotlivé složky podle specifických hmotností. Červené krvinky se hromadí nejnižší a tvoří sloupec, který se označuje jako PCV (packed cell volume). Leukocyty společně s trombocyty leží v podobě tenké bělavé vrstvičky nad nimi a nejvýše se nachází krevní plazma (Reece, 2011). Ze sloupce krvinek tvoří vrstva leukocytů a trombocytů necelé 1 % (Sova et al., 1990).

3.3.2.3. Viskozita

Závisí na počtu buněčných elementů, teplotě a koncentraci plazmatických proteinů, z nichž je důležitý vzájemný poměr albuminů a globulinů (Sova et al., 1990; Doubek et al., 2003). Relativní viskozita krve za teploty 37 °C se pohybuje v rozmezí 3 – 4. Pro srovnání voda má viskozitu 1. Hustota krve je zhruba 1,055 g/ml (Randall et al., 1997).

3.3.2.4. Osmotický tlak

Osmotický tlak krve je dán přítomností solí (především NaCl) a organických látek (především bílkovin) (Sova et al., 1990). Vyjadřuje rozdíl mezi plazmou a vodou na ideální semipermeabilní membráně a jeho hodnota přibližně odpovídá 750 kPa (Doubek et al., 2003).

Roztoky, které mají shodný osmotický tlak s krví, se nazývají izotonické. Dáme-li izolované erythrocyty do roztoku, který má nižší osmotický tlak (hypotonický roztok) než krev, tekutina proniká přes membránu erythrocytu do jejího nitra, krvinka se zvětšuje, až nakonec praská a uvolní se hemoglobin. Je-li krvinka v hypertonickém roztoku, který má osmotický tlak vyšší než krev, dochází k úniku vody z ní, krvinka se zmenšuje a nakonec rovněž praská (Sova et al., 1990).

3.3.2.5. Onkotický tlak

Je tvořen tlakem plazmatických bílkovin proti intersticiu a je součástí osmotického tlaku, ze kterého tvoří jen 3,3 – 4,0 kPa. Přestože je tento tlak relativně nízký, uplatňuje se při tvorbě tkáňového moku a jeho zpětném převodu do krve i při tvorbě moče v ledvinách (Sova et al., 1990; Doubek et al., 2003).

3.3.2.6. pH krve

Tato hodnota udává koncentraci vodíkových iontů v krvi, je relativně stálá a u savců se pohybuje v rozmezí 7,3 – 7,5 pH. Výkyv této hodnoty o 0,3 - 0,4 mimo uvedené rozmezí na obě strany může mít za následek smrt (Sova et al., 1990). Žilná krev má pH o něco nižší než krev tepenná. Náravníkové systémy krve, mezi něž patří systém hydrogenuhličitanový, proteinový a fosfátový zabraňují větším výkyvům pH (Reece, 2011). Pokles pH se označuje jako acidémie nebo acidóza, naopak vzestup se označuje jako alkalémie nebo alkalóza (Frandsen et al., 2009).

3.3.2.7. Barva

Červená barva krve je zapříčiněna přítomností hemoglobinu v červených krvinkách. Podle nasycenosti hemoglobinu kyslíkem se může barva měnit od jasně červené až po modravě fialovou (Reece, 2011). Žilná krev je tmavě červená, protože obsahuje hemoglobin, který není tolik saturován kyslíkem, na rozdíl od tepenné krve, jejíž barva je jasně červená. Při hemolýze se uvolní hemoglobin a roztok se zbarví lakově červeně (Sova et al., 1990).

3.3.2.8. Teplota

Teplota krve je v průměru o málo vyšší než tělesná teplota měřená v konečníku. Nejteplejší krev se nachází v játrech a nejchladnější díky ochlazování v kůži a plicích (Sova et al., 1990).

3.3.2.9. Chut' a vůně

Vlivem obsahu solí v krvi je chuť mírně slaná. Vůni krve, která není příliš specifická, určují těkavé mastné kyseliny, které vznikly jako produkty metabolismu (Sova et al., 1990).

3.3.3. Krevní plazma

Krevní plazma je tekutina nažloutlé barvy, která je dána přítomností bilirubinu vzniklého při degradaci hemoglobinu (Reece, 2011). Krevní plazmu získáme přidáním antikoagulační látky do čerstvě vytékající krve. Pokud se ale krev nechá srazit, vytvoří se krevní koláč. Z něho se poté odděluje krevní sérum, které neobsahuje fibrinogen a některé další koagulační faktory (Sova et al., 1990).

3.3.3.1. Složení krevní plazmy

Krevní plazma obsahuje 91 – 92 % vody a 8 – 9 % sušiny, která je převážně tvořena plazmatickými bílkovinami. Dále se v krevní plazmě nachází malé množství organických látek nebílkovinné povahy a látky anorganické (Marvan et al., 2003). Součástí plazmy jsou i plyny O₂, CO₂, N₂ a také hormony, vitaminy a enzymy (Doubek et al., 2003).

Nejpočetnější složkou organických látek jsou plazmatické bílkoviny, jejichž koncentrace se u savců pohybuje v rozmezí 60 - 80 g/l (Sova et al., 1990). Plazmatické

bílkoviny se dělí na albuminy, které jsou zastoupeny až 80 %, globuliny (alfa_{1,2}, beta_{1,2} a gama) a fibrinogen, kterého je nejméně (Reece, 1998).

Plazmatické bílkoviny mají transportní funkci, podílejí na srážení krve, udržují erytrocyty v suspenzi, mohou krátkodobě sloužit jako zdroj bílkovin při hladovění, uplatňují se při imunitních reakcích organismu a podílejí se na udržování homeostázy (Sova et al., 1990).

Z anorganických látek jsou v krevní plazmě přítomny kationty sodíku, které významně napomáhají udržování osmotického tlaku. Z dalších kationtů se v plazmě nachází vápník, který se podílí na procesu srážení krve, draslík a hořčík (Doubek et al., 2003). Na rozdíl od intracelulární tekutiny je v krevní plazmě vysoká koncentrace sodíku a nízká koncentrace draslíku (Kay, 1998). Nejdůležitějšími anionty jsou chlorovodíkové, hydrogenuhličitanové a hydrogenfosforečnanové (Reece, 1998).

Koncentrace jednotlivých látek v krevní plazmě je stálá a za fyziologických podmínek se nachází v tzv. referenčním rozmezí, které je dáno především druhovou příslušností, věkem a pohlavím (Doubek et al., 2010).

3.3.4. Krevní elementy

3.3.4.1. Hematopoéza

Erytrocyty, leukocyty a trombocyty vznikají v kostní dřeni z nediferenciovaných kmenových buněk. Z těchto buněk vzniká více vývojových krevních řad, ze kterých se formují zralé krevní buňky, a proto se kmenové buňky označují jako pluripotentní. Výchozí kmenové buňky se také označují jako totipotentní, což znamená, že tvoří základ pro všechny krevní buňky. Rozeznáváme 5 vývojových řad a to erytrocytovou, granulocytovou, lymfocytovou, monocytovou a megakaryocytovou. Z pluri/totipotentních kmenových buněk se vytváří progenitorové kmenové buňky, ze kterých se utváří prekurzorové kmenové buňky. Tyto prekurzorové kmenové buňky mají schopnost diferenciaci a přeměny ve zralé krevní elementy jednotlivých řad (Doubek et al., 2003). Během vývoje se krvinka postupně zmenšuje a v erytrocytové řadě dochází k vypuzení jádra (Sova et al., 1990).

Krevní elementy vznikají extravaskulárně a přes stěnu dřeňových sinusoidů pronikají do krve. Tento přechod krevních elementů probíhá několika způsoby. Erytrocyty prostupují díky své schopnosti deformability, leukocyty diapedézí (aktivním pohybem pomocí

pseudopodií) a zralé trombocyty strhává proudící krev z výběžků megakaryocytů (Doubek et al., 2003).

V časném embryonálním vývoji se tvoří krevní elementy v mezodermu žloutkového váčku a krvevorbba probíhá uvnitř cév. Asi v první třetině gravidity začíná krvevorbba ve slezině a hlavně v játrech. V polovině gravidity se začne uplatňovat jako základní krvevorbvný orgán kostní dřeň a hematopoéza v ostatních orgánech postupně zaniká (Sova et al., 1990). Po narození je krvevorbba soustředěna do červené kostní dřene, která vyplňuje prostory mezi trámci spongiózní kostní tkáně všech kostí. S přibývajícím věkem této kostní dřene ubývá a v dospělosti je krvevorbba zachována jen ve spongióze obratlů, žeber, hrudní kosti a v menších kostech končetin. Krvinky jsou v periferní krvi doplňovány průběžným vyplavováním z krvevorbvných orgánů (Marvan et al., 2003).

Krvevorbba je řízena hormonálně prostřednictvím růstových faktorů hematopoetinů. Jsou to tkáňové hormony, které vznikají především v ledvinách a patří mezi ně erythropoetin, granulopoetin, lymfopoetin a trombopoetin (Doubek et al., 2003).

3.3.4.2. Erytrocyty

Slovo erytrocyt pochází z řeckého slova *erythro* – červený a *cyte* – buňka. Červené krvinky tvoří největší a nejdůležitější část krevních buněk (Frandsen et al., 2009). Erytrocyt je plochá, bezjaderná a nepohyblivá buňka bikonkávního tvaru. Tento tvar poskytuje krvince o 30 % větší povrch oproti kouli o stejném objemu (Marvan et al., 2003). Charakteristický tvar je udržován uspořádáním molekuly hemoglobinu a přítomností kontraktilních bílkovin v membráně erytrocytu. Základní složkou červenýchrvinek je červené krevní barvivo – hemoglobin, které vyplňuje asi 1/3 červené krvinky. Zbylé 2/3 jsou vyplněny vodou a stromatem (Reece, 2011).

Celkově je erytrocyt pružná buňka a při průchodu tenkými kapilárami má schopnost deformability, která umožňuje dočasné změny tvaru (Reece, 1998). Díky této schopnosti mohou erytrocyty procházet otvory menšími než 2 μm (Doubek et al., 2010). Na povrchu erytrocytu se nachází průchodná membrána pro ionty Na^+ , K^+ a Cl^- . Obsah sodíku a chlóru je větší vně buňky, draslíku uvnitř (Sova et al., 1990). Koncentrace Na^+ v erytrocytu je $33,5 \pm 3,5$ mmol/l a koncentrace K^+ je v erytrocytu $104,7 \pm 15,4$ mmol/l (Kaneko et al., 2008).

Velikost potkaníchrvinek je 6,2 μm a vyznačují se výraznou anizocytózou, čili stavem, kdy všechny krvinky nemají stejnou velikost, některé krvinky jsou menší (mikrocyty)

a některé větší (makrocyty). Povrch erythrocytu činí asi 130 - 160 μm^2 a jeho životnost je u potkana kratší než 60 dní (Doubek et al., 2003).

Zvýšení počtu erythrocytů nad fyziologickou mez se nazývá erythrocytóza či erythrocytemie naopak snížení pod mez nazýváme erythrocytopenie. Vyšší počet erythrocytů je fyziologický u mláďat (Doubek et al., 2010). Mezi počtem erythrocytů a jejich velikostí platí nepřímá úměra (Sova et al., 1990). Celkový počet červených krvinek se může stanovit přesným naředěním krve a jejich spočítáním v počítací komůrce pomocí mikroskopu. Po přepočtu faktorem ředění zjistíme absolutní počet červených krvinek v 1 μl krve (Reece, 2011).

Erythrocyty se vyznačují ojedinělou schopností přenosu kyslíku, který je přiváděn do tkání cirkulující krví. Díky nepřítomnosti mitochondrií, které erythrocyt ztratil během procesu zrání, snižuje krvinka spotřebu kyslíku na minimum, a tak dochází k přenosu kyslíku téměř bez ztrát. Další funkcí erythrocytů je transport CO_2 z tkání do plic, transport živin či vytváření krevních faktorů (Sova et al., 1990).

Tvorba a zánik erythrocytů

Tvorba červených krvinek se nazývá erythropoéza (Reece, 1998). Erythrocyt vzniká tzv. erythrocytovou řadou, jejíž výchozí prekurzorovou kmenovou buňkou je proerythroblast, ze kterého vznikají po několika děleních další vývojová stádia a to erythroblasty bazofilní, polychromatofilní a ortochromatofilní. Na úrovni ortochromatofilního erythrocytu dochází k vypuzení jádra (enukleaci). Signálem pro tento proces je změna metabolické aktivity. Dalším vývojovým stupněm je retikulocyt, který zůstává v kostní dřeni 2 – 3 dny (Doubek et al., 2003). Retikulocyt někdy bývá označen jako proerythrocyt a obsahuje ještě zbytky buněčných organel, jako jsou mitochondrie a ribozomy (Doubek et al., 2010). Finálním stádiem této řady je zralý erythrocyt. U potkana tvoří polychromatofilní erythrocyty 1 – 18 % erythrocytů, retikulocyty dosahují 2 – 5 %, u mladých zvířat až 20 %. Denně je produkováno asi $2 \cdot 10^{11}$ erythrocytů (Doubek et al., 2003).

Při regulaci erythropoézy se uplatňuje hormon erythropoetin, který se tvoří v juxtaglomerulárním aparátu ledvin (Sova et al., 1990). Reece (2011) udává ještě 5% tvorbu erythropoetinu v játrech. Erythropoetin se řadí mezi glykoproteiny a má molekulovou hmotnost 34 kDa. Produkce erythropoetinu je stimulována hypoxií (Kaneko et al., 2008). Nedostatek O_2 ve tkáních vyvolá zvýšenou tvorbu erythropoetinu, tím dojde ke zvýšení produkce erythrocytů a ke zvýšení transportní kapacity krve pro přenos kyslíku (Sova et al., 1990). Nově vzniklé

erythrocyty se v krvi objevují až po zhruba 5 dnech od zahájení jejich tvorby (Reece, 2011). Dále je erythropoéza stimulována adrenalinem, prolaktinem či androgeny, naopak estrogény ji inhibují. Skutečnost, že samčí pohlavní hormony erythropoézu stimulují a samičí ji tlumí, je příčinou rozdílů v počtech erythrocytů mezi pohlavími (Sova et al., 1990).

Během stárnutí červená krvinka prodělává metabolické změny, při kterých se membrána stává tužší a křehčí, erythrocyt mění tvar a ztrácí svou pružnost (Reece, 1998). Antigenní změny povrchu erythrocytů ovlivní jejich zachycení ve specializovaných buňkách MPS (mononukleární fagocytární systém) ve slezině, játrech a kostní dřeni. Z 10 % dochází k hemolýze starých erythrocytů přímo v cévách. Během hemolýzy se z krvinek uvolňuje hemoglobin, který se za fyziologických okolností nevyloučí z těla, ale dojde k jeho přeměně (Doubek et al., 2003).

Hemoglobin

Je součástí erythrocytů a jeho koncentraci ovlivňuje kromě věku také pohlaví, hmotnost či zdravotní stav jedince. Hemoglobin tvoří 90 % sušiny erythrocytu a zbylou část sušiny tvoří bílkoviny, lipidy, glukóza, minerální látky a enzymy (Sova et al., 1990). Z celkové hmotnosti erythrocytu tvoří hemoglobin 34 %. K hemoglobinizaci dochází již ve stádiu bazofilního erythroblastu. Hemoglobin je hemoprotein, tvořený z 96 % bílkovinou globinem a ze 4 % hemem. Základem hemu je protoporfyrin s centrálním atomem dvojmocného železa (Doubek et al., 2003). Globin je složen ze čtyř polypeptidových řetězců, z nichž každý obsahuje jeden hem. Jedna molekula hemoglobinu tak obsahuje 4 atomy železa a může nést 4 molekuly kyslíku. Díky přítomnosti hemoglobinu může krev transportovat asi 60 krát víc kyslíku, než kdyby byl kyslík pouze rozpuštěn v krevní plazmě (Reece, 2011).

Na železo hemu se v plicích váže O_2 a během tohoto procesu, který se nazývá oxygenace, vzniká z hemoglobinu oxyhemoglobin. Tato vazba ovšem není pevná a reakce je vratná. V tkáních se kyslík předá buňkám a oxyhemoglobin se redukuje zpět na hemoglobin. Ten se v tkáních slučuje s částí CO_2 a vzniká karbaminohemoglobin, který transportuje CO_2 z tkání do plic. Kromě O_2 a CO_2 se může na hemoglobin navázat ještě oxid uhelnatý za vzniku karboxyhemoglobinu, který na sebe nemůže vázat O_2 (Sova et al., 1990).

Globin je syntetizován v ribozomech a syntéza hemu probíhá v několika krocích v mitochondriích a v cytosolu. Zdrojem železa je plazmatický transferrin. V období prenatálního vývoje se vyskytuje u živočichů fetální hemoglobin, který má vyšší afinitu ke kyslíku a odlišné zastoupení peptidového řetězce (Doubek et al., 2003). Jeho funkcí je zajistit

v embryonálním vývoji přenos O₂ z vnějšího prostředí do tkání plodu, účast na odstraňování CO₂ a podílí se na udržování acidobazické rovnováhy. Po narození jeho koncentrace klesá, až dojde k nahrazení adultní formou (Sova et al., 1990).

Sedimentace erytrocytů

Krvinky jsou v proudící krvi rovnoměrně rozptýlené, ale nechá-li se nesrážlivá krev v kolmo postavené zkumavce, dochází postupně k sedimentaci, čili k rozdělení součástí krve dle hustoty. Červené krvinky neklesají izolovaně, ale mají schopnost se shlukovat a vytvářet válečkové agregáty, které klesají rychleji ke dnu (Sova et al., 1990).

Sledování sedimentace slouží k posouzení zdravotního stavu zvířete. U zdravého jedince je sedimentace poměrně stálá. Na sedimentační rychlost působí přítomnost fibrinogenu v plazmě, složení plazmatických bílkovin a velikosti elektrického náboje. Vyjadřuje se v mm za daný čas (Doubek et al., 2010).

Parametry erytrocytů

Jsou údaje, které jsou vypočítané po určení počtu erytrocytů, změření hodnoty hematokritu a obsahu hemoglobinu. Tyto parametry se vztahují k jednomu erytrocytu a základní hodnoty jsou: MCV (mean corpuscular volume) střední objem erytrocytů, MCH (mean corpuscular hemoglobin) střední obsah hemoglobinu, MCHC (mean corpuscular hemoglobin concentration) střední barevná koncentrace (Reece, 2011). Mezi další hodnoty erytrocytu patří MCD (mean corpuscular diameter) střední průměr erytrocytů, MCT (mean corpuscular thickness) střední tloušťka erytrocytů (Doubek et al., 2003).

3.3.4.3. Leukocyty

Leukocyt pochází z řeckého slova *leuco* – bílý a *cyte* – buňka (Frandsen et al., 2009). Od červených krvinek se bílé odlišují svou funkcí, morfologickou stavbou, početním zastoupením a délkou života. Leukocyty jsou jaderné a bezbarvé buňky kulovitého tvaru. Svou velikostí přesahují erytrocyty, ale jejich koncentrace v krvi je asi 1 000 krát nižší (Marvan et al., 2003). Celkový počet bílých krvinek se u savců pohybuje v od 7 - 15 G/l (Reece, 1998). Mezi pohlavími není v počtu leukocytů rozdíl, avšak počet se významně mění v průběhu dne a noci. Ráno jsou hodnoty nižší a večer naopak vyšší. Na četnost leukocytů se z fyziologických vlivů uplatňuje především příjem potravy, věk (mladá zvířata mají více leukocytů) či gravidita. Zvýšení celkového počtu leukocytů nad fyziologické rozmezí se

označuje jako leukocytóza, pokles jako leukopénie (Sova et al., 1990). K leukocytóze dochází při bakteriálních infekcích, leukopénie souvisí s počátkem infekce virové (Reece, 2011). Bílé krvinky mají schopnost samostatného améboidního pohybu, díky němuž jsou schopné po přilnutí ke krevní kapiláře procházet skrz endotel do tkání (Sova et al., 1990).

V průměru je životnost bílých krvinek podstatně kratší než červených. Většina granulocytů žije jen několik dní, agranulocyty mohou žít i desítky let (Reece, 2011).

Bílé krvinky zajišťují především obranné reakce v organismu. Na obranných reakcích se podílejí buď samy (buněčná imunita), nebo produkcí protilátek (humorální imunita) (Marvan et al., 2003).

Leukocyty rozlišujeme na granulocyty, které mají v cytoplazmě specifická granula a na agranulocyty, které granula v cytoplazmě přítomny nemají. Jednotlivé druhy leukocytů se strukturně i funkčně odlišují (Doubek et al., 2003). Určení procentuálního zastoupení jednotlivých typů bílých krvinek se označuje jako diferenciální rozpočet leukocytů. Je to postup, kdy se v obarveném krevním nátěru (leukogram) odliší a spočítají jednotlivé typy bílých krvinek. U potkana je procentuální zastoupení lymfocytů vyšší než neutrofilů (Reece, 1998).

Granulocyty

Jsou to buňky o velikosti 10 – 20 μm s granulemi v cytoplazmě (Sova et al., 1990). Jádro granulocytů má různý tvar dle stáří buňky. Jádra zralých forem jsou laločnatá nebo segmentovaná, mladší formy mají zakřivené jádro bez segmentace (Reece, 2011). Prekurzorovou kmenovou buňkou granulocytů je myeloblast, ze kterého se diferencuje větší promyelocyt, myelocyt (neutrofilní, eozinofilní a bazofilní), metamyelocyt (neutrofilní, eozinofilní a bazofilní) a nakonec se vytváří neutrofilní, eozinofilní a bazofilní granulocyt. K diferenciaci a zrání granulocytů dochází v kostní dřeni a denní produkce granulocytů je $1 \cdot 10^{11}$ (Doubek et al., 2003).

Granulocyty představují rychlou linii obrany organismu proti cizorodým částicím, jejich obranyschopnost a doba života je však krátká (Randall et al., 1997). Funkční zapojení granulocytů rozhoduje o tom, kde dojde k jejich zániku. Může to být ve slezině, v játrech nebo v plicích (Doubek et al., 2003).

Existují tři typy granulocytů nazývané podle afinity jejich granul ke kyselým a zásaditým barvivům: neutrofilní, bazofilní a eozinofilní (Reece, 2011).

Neutrofilly

Neutrofilní granula se nebarví výrazně ani kyselými ani zásaditými barvivy avšak slabě přijímají oba typy barviv, takže jsou narůžovělé (Reece, 2011). Jejich velikost je 10 – 15 μm a v krvi často přežívají jen několik hodin, poté se dostávají do tkání, kde dochází k jejich zániku (Sova et al., 1990). Vzhledem k jejich rozměrům se nazývají mikrofágy. Jádro je tvořené 2 – 5 segmenty, u mladých krvinek je tyčinkovité (Marvan et al., 2003). Neutrofilly se pohybují améboidně, jsou schopné pronikat stěnou cév nebo tkání a fagocytují mikroby, které pronikly do organismu. Při zánětu se jejich počet rychle zvyšuje (Sova et al., 1990). Ze všech leukocytů se jich v krvi nachází nejvíce. Neutrofilní granulocyty tvoří u potkana 12 – 38 % cirkulujících bílých krvinek (Doubek et al., 2003).

Eozinofily

Granula eozinofilů intenzivně přijímají kyselé barvivo eozín a barví se do jasně červeně. Dosahují velikosti 14 - 20 μm , dožívají se 6 - 7 dní a v periferní krvi tvoří 3 – 6 % z celkového počtu leukocytů (Sova et al., 1990). Jejich jádro je tvořeno dvěma segmenty (Marvan et al., 2003). V periferní krvi žijí déle než neutrofilly, ale jejich celkový počet je daleko menší. Eozinofily tlumí zánětlivé a alergické reakce, k jejich zmnožení dochází při parazitárních onemocněních (Reece, 1998).

Bazofily

Jsou buňky velké 10 - 18 μm . V celkovém počtu leukocytů je jich necelé 1 % (Sova et al., 1990). Jejich jádro má často dva segmenty. Délka života bazofilů je maximálně týden. Se zásaditými barvivy se cytoplazmatická granula barví modře (Doubek et al., 2003). Granula obsahují histamin či serotonin, což jsou látky, které zahajují zánětlivou odpověď organismu (Reece, 1998).

Agranulocyty

Agranulocyty jsou leukocyty bez specifických granul. Mají velké nečleněné jádro kulovitého nebo ledvinovitého tvaru. Agranulocyty rozlišujeme na monocyty a lymfocyty (Marvan et al., 2003).

Lymfocyty

Jsou okrouhlé buňky o velikosti 6 – 18 μm , které se účastní mnoha imunitních reakcí (Sova et al., 1990). Prekurzorovou kmenovou buňkou lymfocytu je lymfoblast, ze kterého se diferencuje prolymfocyt, posledním zralým stádiem je lymfocyt (Doubek et al., 2003). Morfologicky se mohou lymfocyty rozlišit na malé a velké. Malé mají rozměry 9 – 11 μm a tvoří 90 % všech lymfocytů. Jejich kulovité jádro zaujímá převážnou část buněčného těla. Velikost velkých lymfocytů je 12 – 15 μm a tvoří zhruba 10 %. Na rozdíl od malých lymfocytů mají objemnější cytoplazmu, avšak velikost jádra se nemění (Marvan et al., 2003). Předpokládá se, že velké lymfocyty představují nezralé formy, zatímco malé jsou zralejšími vývojovými stádii (Reece, 1998).

Lymfocyty se nenacházejí pouze v krvi, ale také v lymfě a lymfatických tkáních. Rozlišujeme dva typy lymfocytů, a to B a T lymfocyty, které byly nazvány podle místa diferenciaci. T lymfocyty dozrávají v thymu a B lymfocyty byly poprvé objeveny u ptáků v burse Fabricii, kterou ovšem savci nemají. U savců dochází k dozrávání B lymfocytů v kostní dřeni (Reece, 2011). Asi 95 % lymfocytů žije několik dní, malé množství lymfocytů přežívá až několik let (Marvan et al., 2003). Obecně lze říci, že T lymfocyty žijí déle (100 - 200 dnů), než B lymfocyty (2 - 4 dny) (Reece, 1998).

T lymfocyty se uplatňují v buněčně zprostředkované imunitní reakci, kdy dochází k tvorbě velkého počtu lymfocytů, které likvidují antigeny (Reece, 1998). Rozlišujeme 3 různé typy T lymfocytů: cytotoxické (napadají buňky transplantovaných orgánů, útočí na rakovinné buňky), pomocné (napomáhají aktivaci cytotoxických či supresorových a jsou nejpočetnější z T lymfocytů) a supresorové (potlačují aktivitu cytotoxických a pomocných, a zabraňují tak nadměrné imunitní reakci) (Reece, 2011). Z místa dozrávání T lymfocyty druhotně osidlují mízní orgány, jako jsou mízní uzliny či slezina, ve kterých tvoří kolonie a mohou opět přecházet zpět do krve. T lymfocyty jsou odpovědné za odmítání transplantátů a některé alergické reakce (Sova et al., 1990).

B lymfocyty rozeznávají cizorodé látky a při styku s nimi se diferencují v buňky, které secenerují specifické protilátky a nenapadají tak cizorodé látky přímo (Sova et al., 1990).

Monocyty

Prekurzorovou kmenovou buňkou monocytu je monoblast, ze kterého se vyvine promonocyt a z něho následně nezralý monocyt, který se vyplaví do krve. Monocyty jsou leukocyty nepravidelného tvaru a jejich velikost se pohybuje v rozmezí 15 - 22 μm . Jsou tak

největšími buňkami v krvi (Doubek et al., 2003). Monocyty mají podlouhlé, ledvinovité nebo laločnaté jádro, které je uloženo excentricky (Sova et al., 1990). Hlavní uplatnění monocytů je ve tkáních, kde dozrávají a přeměňují se na tkáňové makrofágy, které fagocytují bakteriální buňky. Monocyty nacházíme v plicích, játrech, mozku či kůži. Jejich počet se zvyšuje při chronických infekcích. Životnost monocytu je podle druhu tkáně i několik měsíců (Reece, 2011).

3.3.5. Antikoagulační látky

Jsou prostředky, které inhibicí některých koagulačních faktorů zabraňují srážení krve. Nejznámější antikoagulační látky jsou citrát sodný, K_2EDTA nebo Na_2EDTA . Nesrážlivá krev se používá při počítání červených a bílých krvinek, při stanovení hemoglobinu a dalších hematologických vyšetřeních (Sova et al., 1990).

3.4. AST (Aspartátaminotransferáza)

Aminotransferázy jsou enzymy, které hrají v organismu významnou roli v metabolismu aminokyselin. Jsou závislé na pyridoxal 5'-fosfátu (PLP), který funguje jako nosič aminoskupiny. Dle specifity substrátu můžeme tyto enzymy rozdělit do čtyř skupin, které spojuje transaminační aktivita. Aminotransferázy přenášejí aminoskupinu z aminokyselin na oxokyseliny (Velick et Vavra, 1962).

Zástupcem první skupiny je aspartátaminotransferáza (AST). Eukaryotická AST se vyskytuje ve dvou izoenzýmech, cytosolové a mitochondriální, které jsou z 50 % díky svým sekvencím aminokyselin homologní (Velick et Vavra, 1962). Za fyziologických okolností prostupují v malé míře oba izoenzymy do krevního řečiště (Ehrmann et Hůlek, 2010). Prokaryotická AST zahrnuje pouze jeden druh a s eukaryotickou formou je homologní ze 40 % (Velick et Vavra, 1962).

Trojrozměrná struktura AST je dimerní. Tento enzym se skládá ze dvou identických podjednotek a reverzibilně katalyzuje transaminaci. Každá podjednotka se skládá z 396 aminokyselin a z pyridoxal 5'-fosfátu, který je kofaktorem. Každá podjednotka je rozdělena na velkou a malou doménu. Po vazbě inhibitoru, 2-methyl-L-aspartátu, se malá doména natáčí směrem k velké a uzavírá tak aktivní stranu molekuly enzymu. Ačkoliv tento pohyb provádí doména malá, místo zodpovědné za konformační změny se nachází nad přechodem molekuly AST v malou doménu (Okamoto et al., 1994).

AST, dříve nazývána glutamát-oxalacetát transamináza (GOT), je enzym přenášející aminoskupinu, účastní se glukoneogeneze a katalyzuje reverzibilní reakci aspartátu s 2-oxoglutarátem za vzniku glutamátu a oxalacetátu. 2-oxoglutarát je hlavním sběračem aminoskupiny, z glutamátu vznikají některé aminokyseliny jako například glutamin, histidin, arginin (Thrall et al., 2004; Doubek et al., 2010). PLP z molekuly AST reaguje s aminokyselinou za vzniku aldiminu, posunem vazby v molekule vzniká ketimin, ze kterého se odštěpí oxokyselina. V následné reakci dochází k regeneraci PLP v molekule AST. Těmito dvěma reakcemi probíhá každá transaminace (Kuramitsu et al., 1990).

AST není orgánově specifický enzym. Jeho aktivita je vysoká v játrech, kosterní a srdeční svalovině a v erythrocytech. Dále se nachází v ledvinách, mozku a pankreatu. Vyšší koncentrace AST se nachází v mitochondriích (Kaneko et al., 2008).

AST je nejčastěji používaný enzym indikující hepatocelulární poškození (Ehrmann et Hůlek, 2010). Ke zvýšení aktivity AST může dojít při poškození jater v důsledku infekce, sepse, intoxikace a traumat (Doubek et al., 2010). K nárůstu hodnoty AST od normálu také může dojít při svalovém zranění (Thrall et al., 2004). Naopak pokles hodnoty může signalizovat problém v gastrointestinálním traktu (Kaneko et al., 2008).

AST v séru je stabilní za pokojové teploty, zchlazené či zmrazené. Stejně jako množství AST v jednotlivých tkáních je i poločas rozpadu druhově specifický. U koně je tato hodnota nejvyšší, a to 7 až 8 dní. Naopak u psa je poločas rozpadu AST pouze 163 minut (Kaneko et al., 2008).

4. MATERIÁL A METODY

4.1. Materiál

Na souboru zvířat kmene Wistar byl studován vliv toxicity kadmia na hematologické a biochemické ukazatele. Potkani použiti v experimentech byli chováni ve Fyziologickém ústavu Akademie věd ČR v Krči. Zvířata byla umístěna v chovných klecích typu K 5, kde byly podestýlkou dřevěné hobliny. Potkani byli krmeni a napájeni *ad libitum*. Denní světelný režim byl řízen automaticky na 12 hodin světla a 12 hodin tmy. Teplota v místnosti byla 20 °C a relativní vlhkost 50 ± 10 %.

4.1.1. Příprava krmných směsí

V oblastech Suchdola, Kutné Hory a řeky Litavky bylo odebráno cca 30 kg půdy. Poté byla půda vysušena, zhomogenizována a byly stanoveny obsahy rizikových prvků a základní fyzikálně-chemické parametry. Jak je zřejmé z tabulky č. 2., obsah Cd byl v jednotlivých půdách odlišný. Odebrané vzorky půdy byly použity pro přípravu krmných směsí. Krmná směs pro potkany se skládala z 50 % pšeničného šrotu, 13 % rybí moučky, 14 % sojového extrahovaného šrotu, 0,28 % CaHPO₄, 1,12 % krmného vápence, 4 % vojtěškových úsušků, 1 % minerálních doplňků, 7,5 % krmných kvasnic, 4,5 % pšeničných klíčků a 10 % ovesného šrotu. K této směsi pak byly přimíchány podíly jednotlivých vzorků půdy tak, aby podíl půdy představoval 10 % celkového objemu krmné směsi. Část pokusných potkanů přijímala kadmium v pitné vodě v množství 20 či 10 mg Cd na 1 l vody. Na přípravu 20 mg Cd v 1 l vody bylo potřeba 32,68 mg soli CdCl₂. Na přípravu 10 mg Cd v 1 l vody bylo potřeba 16,34 mg soli CdCl₂. Jako kontrola byla použita standardní krmná směs pro laboratorní potkany.

Tabulka č. 2 Celkový obsah kadmia v krmných směsích a v půdách (mg · kg⁻¹)

prvek	směs Suchdol	směs Kutná Hora	směs Litavka	kontrola	půda Suchdol	půda Kutná Hora	půda Litavka
Cd	0,801	3,05	8,01	0,34	1,02	16,7	37,5

4.1.2. Zařazení zvířat do experimentu

Ve všech pokusech byli použiti laboratorní potkani kmene Wistar.

4.1.2.1. Experiment č. 1.

Do pokusu číslo 1 bylo zařazeno celkem 40 samců, kteří byli rozděleni do 4 skupin po 10 zvířatech. Každá skupina byla krmena jinou dietou. Všechny skupiny byly krmeny dietou od 30. do 90. dne věku. První skupina byla kontrolní a byla krmena standardní krmnou směsí pro laboratorní potkany. Další 3 skupiny byly krmeny dietou s obsahem půdy z vybraných lokalit. V tomto experimentu docházelo ve všech skupinách k vážení zvířat ve 30 a v 90 dnech.

4.1.2.2. Experiment č. 2.

Do tohoto pokusu bylo zařazeno 30 samců, kteří byli rozděleni do 5 skupin po 6 zvířatech. Každá skupina byla krmena odlišnou dietou. První skupina byla kontrolní a byla krmena standardní krmnou směsí pro laboratorní potkany. Další 3 skupiny byly krmeny dietou s obsahem půdy z vybraných lokalit. Poslední skupině bylo kadmium podáváno v pitné vodě a to v množství 20 mg Cd/l. Všechny skupiny byly krmeny od 30 do 90 dní. V těchto dnech také docházelo k vážení zvířat.

4.1.2.3. Experiment č. 3.

Do tohoto experimentu bylo zařazeno celkem 30 samic. Ty byly rozděleny do 5 skupin po 6 zvířatech. První skupina byla kontrolní a byla krmena standardní krmnou směsí pro laboratorní potkany. Další 3 skupiny byly krmeny dietou s obsahem půdy z vybraných lokalit. Poslední skupině bylo kadmium podáváno v pitné vodě a to v množství 20 mg Cd/l. Všechny skupiny byly krmeny od 30 do 140 dní. V těchto dnech probíhalo vážení zvířat. Samice byly během experimentu připuštěny. Po porodu byly ve vrhu spočítány mláďata a celý vrh byl zvážen. Další vážení vrhu proběhlo 30 dní po porodu.

4.1.2.4. Experiment č. 4.

Do pokusu číslo 3 bylo zařazeno 100 zvířat. Zvířata byla rozdělena podle pohlaví na samce a samice do dvou skupin po 50 jedincích. Každá skupina byla dále rozdělena do 5 podskupin po 10 zvířatech. Každá podskupina byla krmena jinou dietou. První podskupina

u samců a u samic byla kontrolní a byla krmena standardní krmnou směsí pro laboratorní potkany. Další 3 podskupiny samců a samic byly krmeny dietou s obsahem půdy z vybraných lokalit. Poslední podskupině samců a samic bylo kadmium podáváno v pitné vodě a to v množství 10 mg Cd/l. Všechny podskupiny byly krmeny od narození do 110. dne věku, kdy před ukončením experimentu došlo ke zvážení zvířat.

4.1.3. Ukončení experimentu

Po ukončení každého experimentu byla zvířata uspaná anestetikem NARKAMON (účinná látka ketamin) o koncentraci 25 mg/ml a analgetikem ROMETAR (účinná látka xylazin) o koncentraci 10 mg/ml. Látky se podávaly intraperitoneálně v poměru 1 : 1 a dávkovány přibližně 0,15 ml na 100 g živé hmotnosti zvířete. Po uspání byla zvířatům injekční stříkačkou odebrána krev ze zadní duté žíly. Krev každého potkana byla rozdělena vždy do dvou plastových zkumavek. Jedna z těchto zkumavek byla opatřena K₂EDTA (draselná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové). Z této nesrážlivé krve byly stanoveny hodnoty: počet erytrocytů (Er), hematokrit (Hk), obsah hemoglobinu (Hb), střední objem erytrocytů (MCV) a počet leukocytů (Le). Srážlivá krev z druhé zkumavky byla odstředěna a vzniklé sérum bylo použito pro stanovení aminotransferázy (AST).

4.2. Metodika

4.2.1. Stanovení hematologických ukazatelů

Pro stanovení hodnot hematologických ukazatelů byl použit přístroj NIHON KOHDEN MEK 5208 K. Byla použita nesrážlivá krev odebraná od pokusných laboratorních potkanů. Počet krevních elementů v plné krvi byl stanoven již v den odběru. Delší uchování vzorků by mohlo být příčinou nepřesného stanovení hodnot.

4.2.1.1. Stanovení počtu erytrocytů, středního objemu erytrocytů a hematokritu

Pro stanovení byly použity vzorky krve, které byly naředěny v poměru 1 : 40 000. Jako ředící roztok byl použit ISOTONAC 3 MEK 640. Před každým měřením byly vzorky důkladně promíchány, aby nedocházelo k sedimentaci. Poté byl vzorek zpracován přístrojem, který byl nastaven do polohy RBC/HCT. Po měření byly z displeje odečteny hodnoty počtu

erytrocytů a hematokritu. Následně byl přístroj přepnut do polohy RBC/MCV a v tomto modu byla odečtena hodnota středního objemu erytrocytů.

4.2.1.2. Stanovení počtu leukocytů a obsahu hemoglobinu

Původní vzorky krve byly naředěny v poměru 1 : 200, jako ředící roztok byl opět použit ISOTONAC 3 MEK 640. Pro samotné stanovení počtu leukocytů a obsahu hemoglobinu byla nutná hemolýza erytrocytů. Jako hemolytické činidlo byl použit roztok LYSE – C NK v množství 3 kapky na 1 již naředěný vzorek. Měření následovalo po působení roztoku po dobu minimálně 30 sekund, maximálně 10 minut. Následně byly vzorky důkladně promíchány a měřeny přístrojem nastaveným v poloze WBC/Hb a z displeje byly odečteny hodnoty počtu leukocytů a obsahu hemoglobinu.

4.2.2. Stanovení aktivity aspartátaminotransferázy (AST)

Pro stanovení katalytické koncentrace AST v séru pokusných potkanů byla použita souprava umožňující měření konverze NAD^+/NADH při 340 nm. Pro stanovení AST byla použita biochemická souprava firmy BIO – LA – TEST. Absorbance byly měřeny na spektrofotometru LIBRA 22 od firmy Fisher Scientific. Změna absorbance za určitou dobu byla vynásobena start vzorkem uvedeným v protokolu k testovací soupravě.

Pracovní roztok byl připraven smícháním 4 dílů činidla R1 s 1 dílem činidla R2. V 500 ml vzniklé směsi byl obsažen Tris pufr o pH 7,8 o koncentraci 80 mmol/l, L-aspartát o koncentraci 240 mmol/l, LDH o koncentraci vyšší než 10 $\mu\text{kat/l}$, MDH o koncentraci vyšší než 10 $\mu\text{kat/l}$, 2-oxoglutarát o koncentraci 12 mmol/l a NADH o koncentraci 0,18 mmol/l.

Jednotlivé vzorky byly pro měření postupně připraveny vždy smícháním 1 ml pracovního roztoku s 0,1 ml séra ve zkumavkách. Obsah každé zkumavky byl poté promíchán, ihned přelit do kyvety a umístěn do spektrofotometru, kde probíhalo měření. Absorbance byla měřena při vlnové délce 340 nm. Každá naměřená hodnota byla vynásobena start vzorkem, jehož hodnota byla 29,08, čímž byly zjištěny výsledné koncentrace AST v séru potkanů.

4.2.3. Statistické zpracování dat

Naměřená data byla zpracována ve statistickém programu STATISTICA verze 9 pomocí analýzy rozptylu. Tato metoda umožňuje vyhodnotit průkaznost rozdílu mezi

průměry tří a více nezávislých výběrových souborů. Pro podrobnější vyhodnocení byl použit Tukeyho test.

5. VÝSLEDKY

5.1. Experiment č. 1

5.1.1. Hematologické a biochemické ukazatele

V tabulkách č. 3 – 8 jsou shrnuty základní popisné statistiky všech naměřených parametrů.

Tabulka č. 3 Počet erytrocytů

skupina	průměr [T/l]	počet potkanů	směrodatná odchylka [T/l]	rozptyl [T/l]
kontrolní skupina	8,17	10	0,62	0,39
Suchdol	7,57	10	1,04	1,08
Kutná Hora	7,85	10	0,90	0,81
Litavka	7,48	10	1,49	2,22

Tabulka č. 4 Hematokrit

skupina	průměr [%]	počet potkanů	směrodatná odchylka [%]	rozptyl [%]
kontrolní skupina	48,73	10	3,59	12,86
Suchdol	45,10	10	5,08	25,80
Kutná Hora	46,28	10	4,22	17,85
Litavka	45,72	10	9,22	85,02

Tabulka č. 5 Obsah hemoglobinu

skupina	průměr [g/100 ml]	počet potkanů	směrodatná odchylka [g/100 ml]	rozptyl [g/100 ml]
kontrolní skupina	14,24	10	0,80	0,64
Suchdol	14,03	10	0,39	0,16
Kutná Hora	14,81	10	1	1,01
Litavka	14,94	10	1,73	2,98

Tabulka č. 6 Počet leukocytů

skupina	průměr [G/l]	počet potkanů	směrodatná odchylka [G/l]	rozptyl [G/l]
kontrolní skupina	7,72	10	1,45	2,1
Suchdol	6,40	10	1,2	1,45
Kutná Hora	6,89	10	2,55	6,51
Litavka	9,55	10	2,59	6,7

Tabulka č. 7 MCV

skupina	průměr [fl]	počet potkanů	směrodatná odchylka [fl]	rozptyl [fl]
kontrolní skupina	59,6	10	2,63	6,93
Suchdol	59,9	10	2,81	7,88
Kutná Hora	59,2	10	2,30	5,29
Litavka	61,1	10	2,23	4,99

Tabulka č. 8 AST

skupina	průměr [μkat/l]	počet potkanů	směrodatná odchylka [μkat/l]	rozptyl [μkat/l]
kontrolní skupina	1,3	6	0,38	0,14
Suchdol	1,14	4	0,30	0,09
Kutná Hora	1,23	3	0,09	0,01
Litavka	1,42	6	0,32	0,1

Tabulka č. 9 Výsledky analýzy rozptylu jednotlivých naměřených parametrů

hodnoty	p	α	závěr
Er	0,47	0,05	$p > \alpha$
Hk	0,55	0,05	$p > \alpha$
Hb	0,2	0,05	$p > \alpha$
Le	0,01	0,05	$p < \alpha$
MCV	0,37	0,05	$p > \alpha$
AST	0,57	0,05	$p > \alpha$

V případě hodnocení dat pomocí analýzy rozptylu je za statisticky průkazný rozdíl alespoň mezi jednou dvojicí skupin považován závěr, kdy $p < \alpha$. Z výsledků z tabulky č. 9 je tedy patrné, že alespoň mezi jednou dvojicí skupin byl zjištěn s 95% pravděpodobností rozdíl. Tento rozdíl byl zjištěn u parametru počet leukocytů. Hodnoty tohoto parametru byly proto podrobeny dalšímu vyhodnocení. V rámci Post-hoc analýzy byl použit Tukeyův test.

Tabulka č. 10 Podrobnější vyhodnocení analýzy rozptylu u parametru počet leukocytů

Tukeyův test pro nestejný počet pozorování				
skupina	kontrolní skupina	Suchdol	Kutná Hora	Litavka
kontrolní skupina		bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu
Suchdol	bez rozdílu		bez rozdílu	rozdíl **
Kutná Hora	bez rozdílu	bez rozdílu		rozdíl *
Litavka	bez rozdílu	rozdíl **	rozdíl *	

*... $p < 0,05$

**... $p < 0,01$

Z výsledků v tabulce č. 10 jsou patrné rozdíly s 95% pravděpodobností mezi skupinami Litavka a Kutná Hora a s 99% pravděpodobností mezi skupinami Litavka a Suchdol.

5.1.2. Hmotnosti zvířat

Ve 30 dnech se v průměru nejtěžší zvířata nacházela ve skupině Litavka. Průměrná váha zvířat v této skupině se pohybovala v rozmezí $262,02 \pm 23,79$ g. Naopak v průměru nejméně vážila zvířata ve skupině Suchdol, a to $252,20 \pm 17,43407$ g.

V 90 dnech se v průměru nejtěžší zvířata nacházela v kontrolní skupině ($522,39 \pm 22,26$ g), nejméně vážila v průměru opět zvířata ze skupiny Suchdol ($506,18 \pm 21,9$ g).

Tabulka č. 11 Výsledky analýzy rozptylu živé hmotnosti ve 30 a v 90 dnech

hodnoty	p	α	závěr
živá hmotnost ve 30 dnech	0,69	0,05	$p > \alpha$
živá hmotnost v 90 dnech	0,56	0,05	$p > \alpha$

Z tabulky č. 11 je zřejmé, že mezi žádnou skupinou nebyl s 95% pravděpodobností prokázán rozdíl.

5.2. Experiment č. 2

5.2.1. Hematologické a biochemické ukazatele

V tabulkách č. 12 - 17 jsou shrnuty základní popisné statistiky všech naměřených parametrů.

Tabulka č. 12 Počet erytrocytů

skupina	průměr [T/l]	počet potkanů	směrodatná odchylka [T/l]	rozptyl [T/l]
kontrolní skupina	6,99	6	1,42	2,02
Suchdol	7,27	6	0,92	0,85
Kutná Hora	7,97	6	0,49	0,24
Litavka	8,46	6	0,7	0,49
voda 20 mg Cd/l	8,18	5	0,5	0,25

Tabulka č. 13 Hematokrit

skupina	průměr [%]	počet potkanů	směrodatná odchylka [%]	rozptyl [%]
kontrolní skupina	43,2	6	8,49	71,99
Suchdol	45,12	6	4,92	24,22
Kutná Hora	50,17	6	4,88	23,77
Litavka	54,52	6	4,32	18,62
voda 20 mg Cd/l	50,44	5	3,77	14,2

Tabulka č. 14 Obsah hemoglobinu

skupina	průměr [g/100 ml]	počet potkanů	směrodatná odchylka [g/100 ml]	rozptyl [g/100 ml]
kontrolní skupina	14,13	6	0,77	0,59
Suchdol	14,38	6	1,1	1,21
Kutná Hora	15,08	6	1,48	2,2
Litavka	15,97	6	1,49	2,23
voda 20 mg Cd/l	14,76	5	0,86	0,75

Tabulka č. 15 Počet leukocytů

skupina	průměr [G/l]	počet potkanů	směrodatná odchylka [G/l]	rozptyl [G/l]
kontrolní skupina	12,98	6	2,32	5,39
Suchdol	11,55	6	3,8	14,43
Kutná Hora	8,55	6	2,55	6,52
Litavka	10,67	6	2,07	4,29
voda 20 mg Cd/l	10,1	5	2,51	6,31

Tabulka č. 16 MCV

skupina	průměr [fl]	počet potkanů	směrodatná odchylka [fl]	rozptyl [fl]
kontrolní skupina	62	6	1,41	2
Suchdol	62	6	3,69	13,6
Kutná Hora	63	6	3,35	11,2
Litavka	64,5	6	2,35	5,5
voda 20 mg Cd/l	61,6	5	1,82	3,3

Tabulka č. 17 AST

skupina	průměr [μkat/l]	počet potkanů	směrodatná odchylka [μkat/l]	rozptyl [μkat/l]
kontrolní skupina	1,58	6	0,18	0,03
Suchdol	1,6	6	0,29	0,09
Kutná Hora	1,37	5	0,1	0,01
Litavka	1,26	4	0,33	0,11
voda 20 mg Cd/l	1,47	4	0,1	0,01

Tabulka č. 18 Výsledky analýzy rozptylu jednotlivých naměřených parametrů

hodnoty	p	α	závěr
Er	0,046	0,05	p < α
Hk	0,01	0,05	p < α
Hb	0,12	0,05	p > α
Le	0,1	0,05	p > α
MCV	0,38	0,05	p > α
AST	0,13	0,05	p > α

Z výsledků z tabulky č. 18 je patrné, že byl zjištěn s 95% pravděpodobností rozdíl mezi skupinami u parametrů počet erytrocytů a hematokrit. Hodnoty těchto parametrů byly proto podrobeny dalšímu vyhodnocení.

Tabulka č. 19 Podrobnější vyhodnocení analýzy rozptylu u parametru počet erytrocytů

Tukeyův test pro nesejný počet pozorování					
skupina	kontrolní skupina	Suchdol	Kutná Hora	Litavka	voda 20 mg Cd/l
kontrolní skupina		bez rozdílu	bez rozdílu	rozdíl *	bez rozdílu
Suchdol	bez rozdílu		bez rozdílu	rozdíl *	bez rozdílu
Kutná Hora	bez rozdílu	bez rozdílu		bez rozdílu	bez rozdílu
Litavka	rozdíl *	rozdíl *	bez rozdílu		bez rozdílu
voda 20 mg Cd/l	bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu	

* ...p < 0,05

** ...p < 0,01

Z výsledků v tabulce č. 19 je v parametru počet erytrocytů patrný s 95% pravděpodobností rozdíl mezi kontrolní skupinou a skupinou Litavka a mezi skupinami Suchdol a Litavka.

Tabulka č. 20 Podrobnější vyhodnocení analýzy rozptylu u parametru hematokrit

Tukeyův test pro nestejný počet pozorování					
skupina	kontrolní skupina	Suchdol	Kutná Hora	Litavka	voda 20 mg Cd/l
kontrolní skupina		bez rozdílu	bez rozdílu	rozdíl *	bez rozdílu
Suchdol	bez rozdílu		bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu
Kutná Hora	bez rozdílu	bez rozdílu		bez rozdílu	bez rozdílu
Litavka	rozdíl *	bez rozdílu	bez rozdílu		bez rozdílu
voda 20 mg Cd/l	bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu	

*... $p < 0,05$

**... $p < 0,01$

Z tabulky č. 20 je patrný s 95% pravděpodobností rozdíl mezi kontrolní skupinou a skupinou Litavka v parametru hematokrit.

5.2.2. Hmotnosti zvířat

U hodnoty hmotnosti ve 30 dnech nebyl s 95% pravděpodobností prokázán rozdíl. Hodnota $p(0,95) > \alpha(0,05)$. V průměru nejtěžší zvířata se nacházela ve skupině Suchdol ($253,18 \pm 12,57$ g.) V průměru nejméně vážila zvířata ze skupiny Litavka ($247,53 \pm 7,62$ g).

Průměrná nejtěžší váha samců vážených v 90 dnech byla $523,6 \pm 30,99$ g. Tito samci se nacházeli ve skupině voda 20 mg Cd/l. Průměr nejlehčích zvířat, nacházejících se ve skupině Litavka, byl $499,27 \pm 51,01$ g. Mezi hmotností naměřenou v 90 dnech nebyl z 95 % prokázán statisticky významný rozdíl. Hodnota $p(0,72) > \alpha(0,05)$.

5.3. Experiment č. 3

5.3.1. Hematologické a biochemické ukazatele

V tabulkách č. 21 - 26 jsou shrnuty základní popisné statistiky všech naměřených parametrů.

Tabulka č. 21 Počet erytrocytů

skupina	průměr [T/l]	počet potkanů	směrodatná odchylka [T/l]	rozptyl [T/l]
kontrolní skupina	7,04	6	0,48	0,23
Suchdol	8,36	6	1,02	1,05
Kutná Hora	8,02	6	1,2	1,45
Litavka	8,52	6	0,88	0,77
voda 20 mg Cd/l	7,54	6	1,83	3,36

Tabulka č. 22 Hematokrit

skupina	průměr [%]	počet potkanů	směrodatná odchylka [%]	rozptyl [%]
kontrolní skupina	47,45	6	5,54	30,69
Suchdol	54,93	6	6,33	40,11
Kutná Hora	53,47	6	9,3	86,55
Litavka	55,55	6	5,25	27,52
voda 20 mg Cd/l	50,1	6	11,66	136

Tabulka č. 23 Obsah hemoglobinu

skupina	průměr [g/100 ml]	počet potkanů	směrodatná odchylka [g/100 ml]	rozptyl [g/100 ml]
kontrolní skupina	6,92	6	2,05	4,21
Suchdol	7,02	6	2,98	8,89
Kutná Hora	8,85	6	1,95	3,8
Litavka	12,02	6	10,09	101,77
voda 20 mg Cd/l	6,77	6	2,12	4,49

Tabulka č. 24 Počet leukocytů

skupina	průměr [G/l]	počet potkanů	směrodatná odchylka [G/l]	rozptyl [G/l]
kontrolní skupina	13,37	6	1,28	1,63
Suchdol	16,77	6	2,24	5,03
Kutná Hora	15,02	6	2,7	7,29
Litavka	16,93	6	1,25	1,55
voda 20 mg Cd/l	14,35	6	3,26	10,63

Tabulka č. 25 MCV

skupina	průměr [fl]	počet potkanů	směrodatná odchylka [fl]	rozptyl [fl]
kontrolní skupina	69,67	6	4,59	21,07
Suchdol	65,83	6	3,87	14,97
Kutná Hora	66,5	6	4,32	18,7
Litavka	65,33	6	3,93	15,47
voda 20 mg Cd/l	66	6	4,52	20,4

Tabulka č. 26 AST

skupina	průměr [μkat/l]	počet potkanů	směrodatná odchylka [μkat/l]	rozptyl [μkat/l]
kontrolní skupina	1,98	4	0,45	0,2
Suchdol	1,58	5	0,32	0,1
Kutná Hora	1,94	5	0,81	0,65
Litavka	1,77	6	0,39	0,15
voda 20 mg Cd/l	1,72	4	0,12	0,01

Tabulka č. 27 Výsledky analýzy rozptylu jednotlivých naměřených parametrů

hodnoty	p	α	závěr
Er	0,22	0,05	$p > \alpha$
Hk	0,38	0,05	$p > \alpha$
Hb	0,33	0,05	$p > \alpha$
Le	0,051	0,05	$p > \alpha$
MCV	0,43	0,05	$p > \alpha$
AST	0,7	0,05	$p > \alpha$

Z výsledků z tabulky č. 27 je patrné, že s 95% pravděpodobností nebyl zjištěn rozdíl mezi žádnou dvojicí skupin.

5.3.2. Hmotnosti zvířat, velikost vrhu a jeho hmotnost

Tabulka č. 28 Výsledky analýzy rozptylu hmotnostních parametrů u samic

hodnoty	p	α	závěr
živá hmotnost ve 30 dnech	0,92	0,05	$p > \alpha$
živá hmotnost ve 140 dnech	0,09	0,05	$p > \alpha$
velikost vrhu	0,17	0,05	$p > \alpha$
hmotnost vrhu den po porodu	0,11	0,05	$p > \alpha$
hmotnost vrhu 30 dní po porodu	0,03	0,05	$p < \alpha$

Z tabulky č. 28 je patrné, že s 95% pravděpodobností je statisticky průkazný rozdíl v parametru hmotnost vrhu ve 30 dnech po porodu. Následující analýzou, jejíž výsledky se nacházejí v tabulce č. 29, byl zjištěn statisticky průkazný rozdíl s 95% pravděpodobností mezi skupinou voda 20 mg Cd/l a skupinou Litavka.

Tabulka č. 29 Podrobnější vyhodnocení analýzy rozptylu u hmotnosti vrhu 30 dní po porodu

Tukeyův test					
skupina	kontrolní skupina	Suchdol	Kutná Hora	Litavka	voda 20 mg Cd/l
kontrolní skupina		bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu
Suchdol	bez rozdílu		bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu
Kutná Hora	bez rozdílu	bez rozdílu		bez rozdílu	bez rozdílu
Litavka	bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu		rozdíl *
voda 20 mg Cd/l	bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu	rozdíl *	

*...p < 0,05

**...p < 0,01

Ve 30 dnech se v průměru nejtěžší samice nacházely ve skupině voda 20 mg Cd/l, kde byla průměrná hmotnost $189,28 \pm 14,3$ g. Naopak v průměru nejméně, a to $183,4 \pm 14,34$ g vážily samice ze skupiny Litavka.

V průměru nejvíce vážící samice ve 140 dnech se nacházely ve skupině voda 20 mg Cd/l. Průměrná váha této skupiny byla $366,57 \pm 34,7$ g. Naopak nejméně vážily samice ve skupině Litavka, kde se průměrná váha pohybovala v rozmezí $326,13 \pm 24,21$ g. V této skupině se nacházely i nejméně početné vrhy. Průměrný počet mláďat v jednom vrhu byl $13 \pm 2,37$ mláďat. Nejpočetnější vrhy měly samice patřící do skupiny voda 20 mg Cd/l, kde bylo v průměrném vrhu $15,67 \pm 1,97$ mláďat.

Nejtěžší vrhy vážené v den porodu se nacházely ve skupině Kutná Hora ($101,09 \pm 14,71$ g) a ve 30 dnech ve skupině voda 20 mg Cd/l ($1429,83 \pm 275,02$ g). Ve skupině Litavka byly hodnoty hmotnosti naměřené v den porodu i ve 30 dnech stáří nejnižší. V den porodu se průměrná hmotnost vrhu pohybovala v rozmezí $86,78 \pm 14,78$ g, ve 30 dnech byla tato hodnota $1076 \pm 195,02$ g.

5.4. Experiment č. 4

5.4.1. Hematologické ukazatele

V tabulkách č. 30 - 34 jsou shrnuty základní popisné statistiky všech naměřených parametrů.

Tabulka č. 30 Počet erytrocytů

skupina	průměr [T/l]	počet potkanů	směrodatná odchylka [T/l]	rozptyl [T/l]
kontrolní skupina	7,74	20	0,67	0,45
Suchdol	7,86	16	0,8	0,64
Kutná Hora	7,78	20	0,55	0,3
Litavka	7,31	20	0,43	0,19
voda 10 mg Cd/l	7,36	20	1,01	1,03

Tabulka č. 31 Hematokrit

skupina	průměr [%]	počet potkanů	směrodatná odchylka [%]	rozptyl [%]
kontrolní skupina	51,66	20	4,26	18,11
Suchdol	49,28	16	4,68	21,86
Kutná Hora	51,21	20	3,86	14,92
Litavka	47,55	20	3,35	11,22
voda 10 mg Cd/l	47,63	20	7,07	49,8

Tabulka č. 32 Obsah hemoglobinu

skupina	průměr [g/100 ml]	počet potkanů	směrodatná odchylka [g/100 ml]	rozptyl [g/100 ml]
kontrolní skupina	13,93	20	1,16	1,34
Suchdol	14,55	16	0,59	0,35
Kutná Hora	14,44	20	0,77	0,6
Litavka	14,81	20	0,96	0,91
voda 10 mg Cd/l	13,3	20	0,84	0,7

Tabulka č. 33 Počet leukocytů

skupina	průměr [G/l]	počet potkanů	směrodatná odchylka [G/l]	rozptyl [G/l]
kontrolní skupina	9,33	20	2,51	6,28
Suchdol	14,03	16	6,08	36,94
Kutná Hora	17,1	20	14,13	199,55
Litavka	18,24	17	6,4	40,94
voda 10 mg Cd/l	18,54	19	11,45	131,11

Tabulka č. 34 MCV

skupina	průměr [fl]	počet potkanů	směrodatná odchylka [fl]	rozptyl [fl]
kontrolní skupina	66,85	20	3,31	10,98
Suchdol	62,75	16	2,93	8,6
Kutná Hora	65,75	20	2,02	4,1
Litavka	65,05	20	2,76	7,63
voda 10 mg Cd/l	64,85	20	3,47	12,01

Tabulka č. 35 Výsledky analýzy rozptylu jednotlivých naměřených parametrů

hodnoty	p	α	závěr
Er	0,06	0,05	$p > \alpha$
Hk	0,02	0,05	$p < \alpha$
Hb	0,000004	0,05	$p < \alpha$
Le	0,01	0,05	$p < \alpha$
MCV	0,002	0,05	$p < \alpha$

Z výsledků z tabulky č. 35 je patrné, že alespoň mezi jednou dvojicí skupin byl zjištěn s 95% pravděpodobností rozdíl u parametrů hematokrit, obsah hemoglobinu, počet leukocytů a MCV. Hodnoty těchto parametrů byly proto podrobeny dalšímu vyhodnocení.

Tabulka č. 36 Podrobnější vyhodnocení analýzy rozptylu u parametru hematokrit

Tukeyův test pro nesejný počet pozorování					
skupina	kontrolní skupina	Kutná Hora	Suchdol	Litavka	voda 10 mg Cd/l
kontrolní skupina		bez rozdílu	bez rozdílu	rozdíl **	rozdíl *
Kutná Hora	bez rozdílu		bez rozdílu	rozdíl **	bez rozdílu
Suchdol	bez rozdílu	bez rozdílu		bez rozdílu	bez rozdílu
Litavka	rozdíl **	rozdíl **	bez rozdílu		bez rozdílu
voda 10 mg Cd/l	rozdíl *	bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu	

*...p < 0,05

**...p < 0,01

Z výsledků v tabulce č. 36 jsou patrné rozdíly s 95% pravděpodobností v parametru hematokrit mezi kontrolní skupinou a skupinou voda 10 mg Cd/l, s 99% pravděpodobností jsou patrné rozdíly mezi kontrolní skupinou a skupinou Litavka a mezi skupinami Litavka a Kutná Hora.

Tabulka č. 37 Podrobnější vyhodnocení analýzy rozptylu u parametru obsah hemoglobinu

Tukeyův test pro nesejný počet pozorování					
Skupina	kontrolní skupina	Kutná Hora	Suchdol	Litavka	voda 10 mg Cd/l
kontrolní skupina		bez rozdílu	bez rozdílu	rozdíl *	bez rozdílu
Kutná Hora	bez rozdílu		bez rozdílu	bez rozdílu	rozdíl **
Suchdol	bez rozdílu	bez rozdílu		bez rozdílu	rozdíl **
Litavka	rozdíl *	bez rozdílu	bez rozdílu		rozdíl **
voda 10 mg Cd/l	bez rozdílu	rozdíl **	rozdíl **	rozdíl **	

*...p < 0,05

**...p < 0,01

Z výsledků v tabulce č. 37 jsou patrné s 99% pravděpodobností v parametru obsah hemoglobinu rozdíly mezi skupinami voda 10 mg Cd/l a Suchdol, voda 10 mg Cd/l a Kutná Hora a voda 10 mg Cd/l a Litavka. S 95% pravděpodobností byl zjištěn rozdíl mezi kontrolní skupinou a skupinou Litavka.

Tabulka č. 38 Podrobnější vyhodnocení analýzy rozptylu u parametru počet leukocytů

Tukeyův test pro nestejný počet pozorování					
skupina	kontrolní skupina	Kutná Hora	Suchdol	Litavka	voda 10 mg Cd/l
kontrolní skupina		bez rozdílu	bez rozdílu	rozdíl *	rozdíl *
Kutná Hora	bez rozdílu		bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu
Suchdol	bez rozdílu	bez rozdílu		bez rozdílu	bez rozdílu
Litavka	rozdíl *	bez rozdílu	bez rozdílu		bez rozdílu
voda 10 mg Cd/l	rozdíl *	bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu	

*...p < 0,05

**...p < 0,01

Z výsledků v tabulce č. 38 jsou patrné rozdíly s 95% pravděpodobností mezi kontrolní skupinou a skupinou voda 10 mg Cd/l a kontrolní skupinou se skupinou Litavka.

Tabulka č. 39 Podrobnější vyhodnocení analýzy rozptylu u parametru MCV

Tukeyův test pro nestejný počet pozorování					
skupina	kontrolní skupina	Kutná Hora	Suchdol	Litavka	voda 10 mg Cd/l
kontrolní skupina		bez rozdílu	rozdíl **	bez rozdílu	bez rozdílu
Kutná Hora	bez rozdílu		rozdíl *	bez rozdílu	bez rozdílu
Suchdol	rozdíl **	rozdíl *		bez rozdílu	bez rozdílu
Litavka	bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu		bez rozdílu
voda 10 mg Cd/l	bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu	bez rozdílu	

*...p < 0,05

**...p < 0,01

Z výsledků v tabulce č. 39 jsou patrné rozdíly s 95% pravděpodobností v parametru MCV mezi skupinami Kutná Hora a Suchdol, s 99% pravděpodobností jsou patrné rozdíly mezi kontrolní skupinou a skupinou Suchdol.

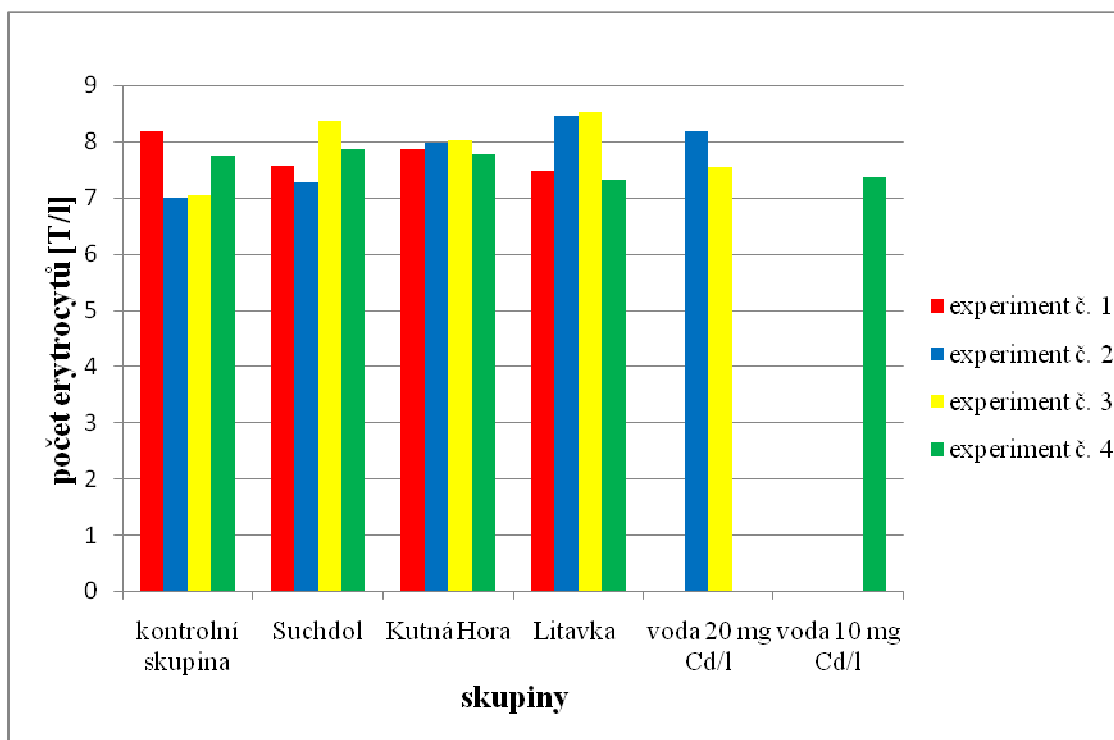
5.4.2. Hmotnosti zvířat

Ve 110 dnech se v průměru nejtěžší zvířata nacházela ve skupině Suchdol. Průměrná váha zvířat v této skupině byla 419,72 ± 139,12 g. Naopak v průměru nejméně vážila zvířata

ve skupině Kutná Hora, a to $370,8 \pm 87,66$ g. Analýzou rozptylu nebyl 95% pravděpodobností prokázán rozdíl mezi žádnou dvojicí skupin, $p(0,72) > \alpha(0,05)$.

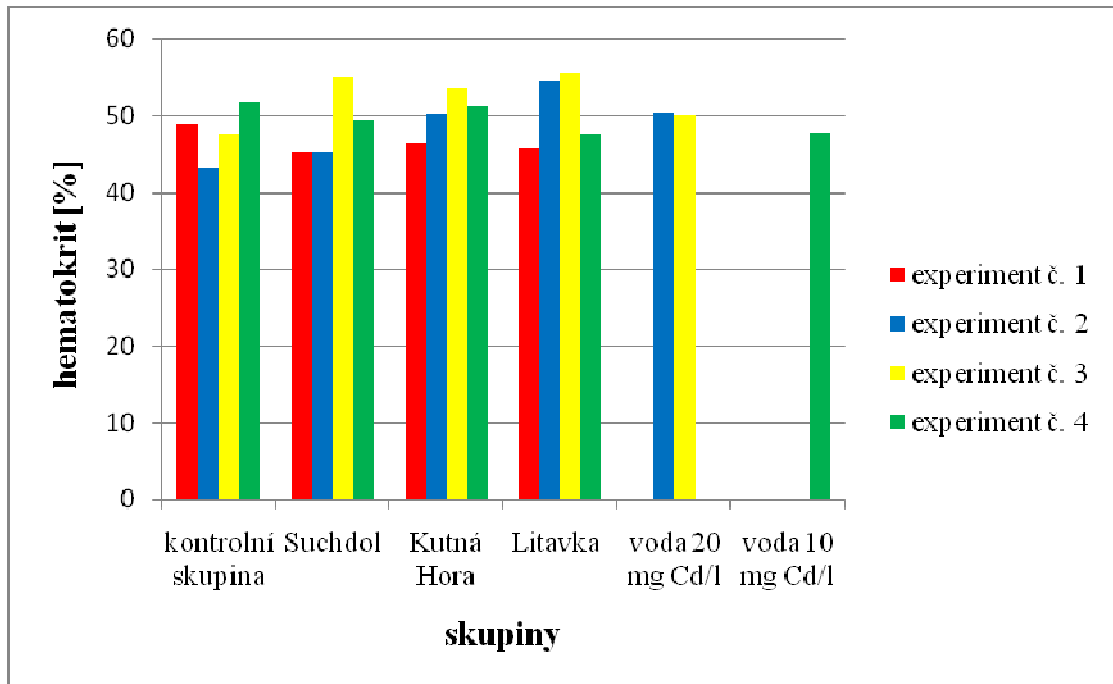
5.5. Grafické srovnání všech skupin v experimentech

Graf č. 1 Průměrné hodnoty počtu erytrocytů u jednotlivých skupin všech experimentů



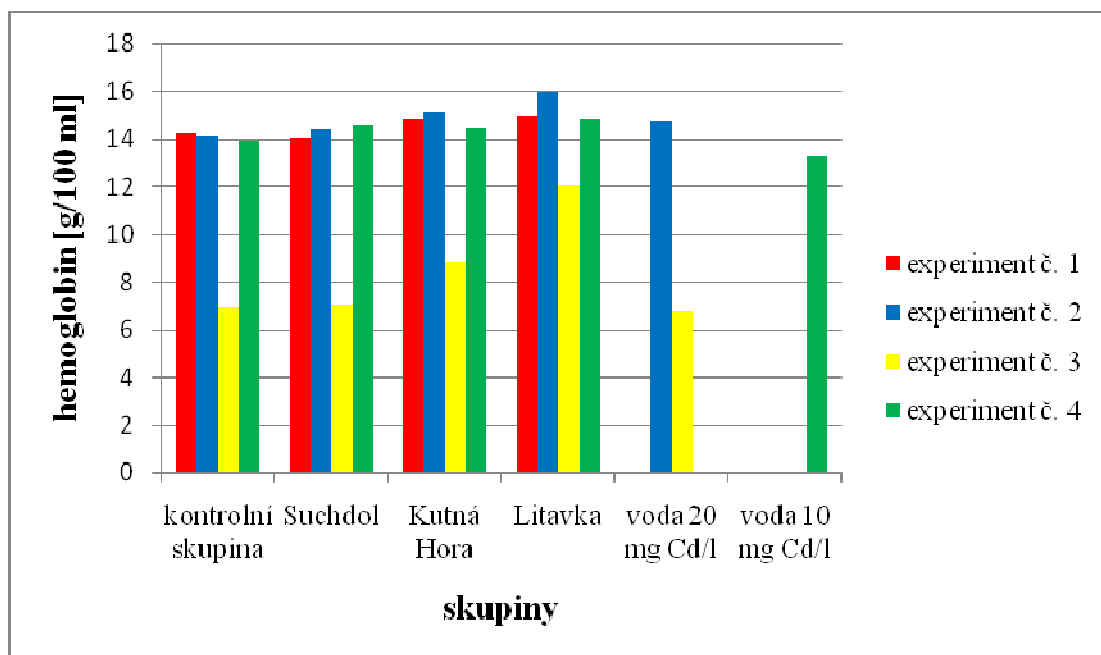
V grafu č. 1 jsou uvedeny pro srovnání průměrné počty erytrocytů u všech skupin a ve všech experimentech. Ve srovnání kontrolní skupiny se skupinami vystavenými zvýšenému vlivu kadmia není okometricky patrný výrazný rozdíl v počtu erytrocytů v žádném z experimentů.

Graf č. 2 Průměrné hodnoty hematokritu u jednotlivých skupin všech experimentů



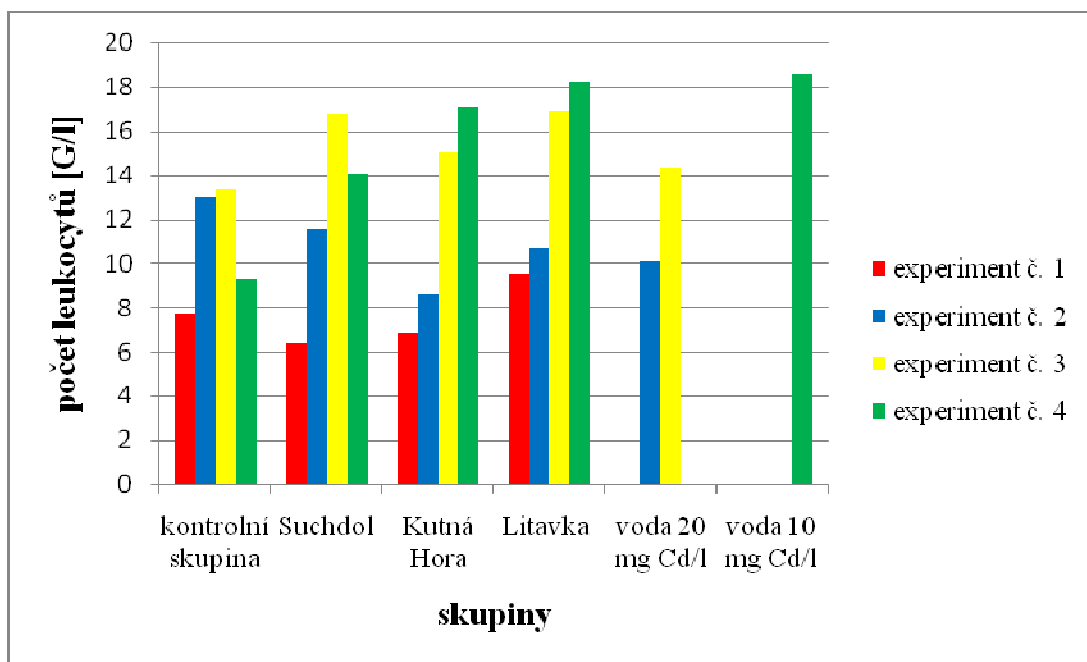
V grafu č. 2 jsou uvedeny pro srovnání průměrné hodnoty hematokritu u všech skupin a ve všech experimentech. Ve srovnání kontrolní skupiny se skupinami vystavenými zvýšenému vlivu kadmia není okometricky patrný výrazný rozdíl v hodnotě hematokritu v žádném z experimentů.

Graf č. 3 Průměrné hodnoty obsahu hemoglobinu u jednotlivých skupin všech experimentů



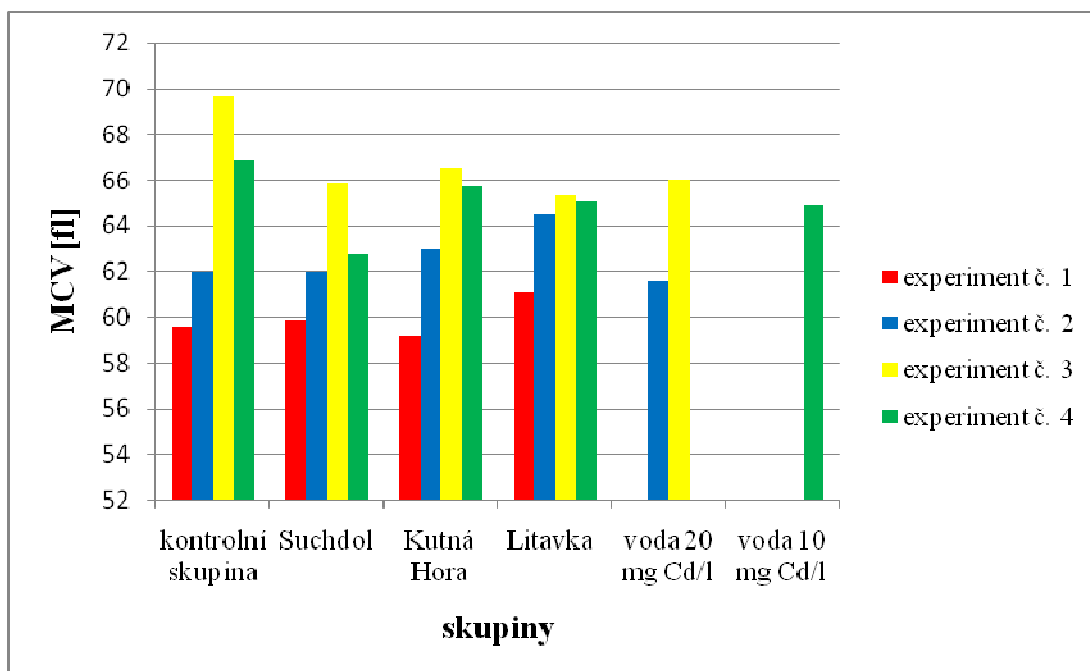
V grafu č. 3 jsou uvedeny pro srovnání průměrné obsahy hemoglobinu u všech skupin a ve všech experimentech. V experimentu č. 3, do kterého byly zařazeny samice, vykazovaly všechny skupiny nižší hodnoty obsahu hemoglobinu oproti ostatním experimentům. Tyto samice byly matkami druhé generace zvířat v experimentu č. 4.

Graf č. 4 Průměrné hodnoty počtu leukocytů u jednotlivých skupin všech experimentů



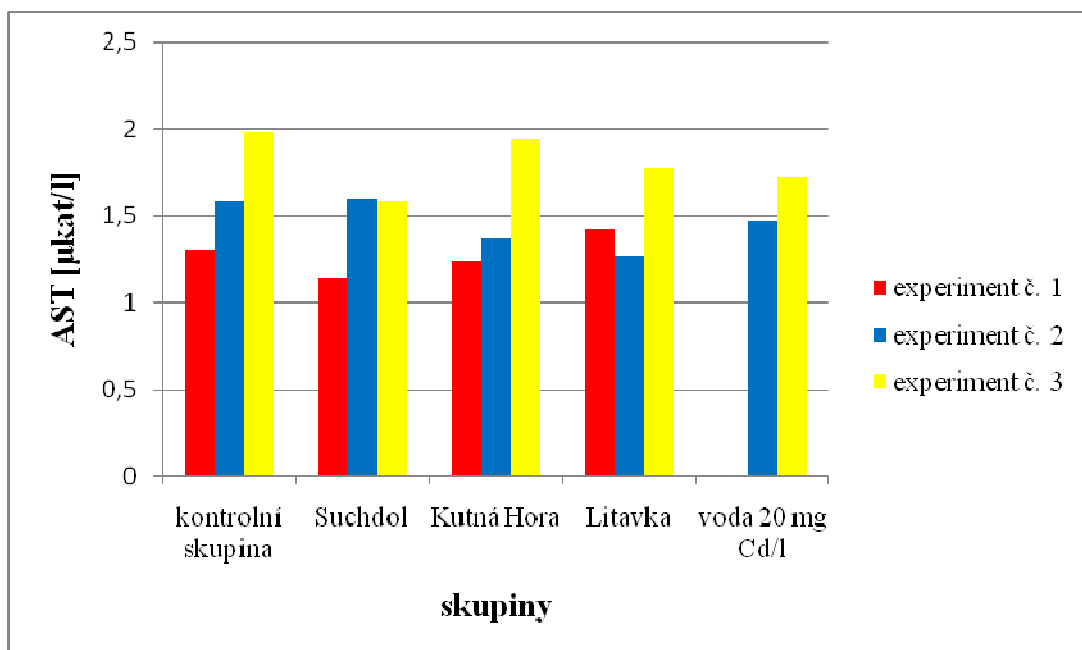
V grafu č. 4 jsou uvedeny pro srovnání průměrné počty leukocytů u všech skupin a ve všech experimentech. V experimentu č. 4 je zřejmé zvýšení počtu leukocytů u skupin zvířat vystavených vlivu kadmia oproti průměrné hodnotě kontrolní skupiny.

Graf č. 5 Průměrné hodnoty MCV u jednotlivých skupin všech experimentů



V grafu č. 5 jsou uvedeny pro srovnání průměrné hodnoty MCV u všech skupin a ve všech experimentech. V experimentu č. 3 je patrné snížení této hodnoty u všech skupin ve srovnání se skupinou kontrolní.

Graf č. 6 Průměrné hodnoty AST u jednotlivých skupin všech experimentů



V grafu č. 6 jsou uvedeny pro srovnání průměrné hodnoty MCV u všech skupin a ve všech experimentech, kde došlo k jejich měření. Ve srovnání kontrolní skupiny se skupinami vystavenými zvýšenému vlivu kadmia není okometricky patrný výrazný rozdíl v hodnotě AST v žádném z experimentů.

6. DISKUSE

Vlivem toxických prvků na organizmy se zabývalo již mnoho autorů (Cibulka et al., 1991; Sova, 1997; Kataranovski et al., 1998; Vosylienė, 1999; Borges et al., 2008). Hlavními orgány, ve kterých se kadmium u živočichů kumuluje, jsou játra a ledviny. Proto byly negativní účinky toho kovu, který je organizmy přijímán nejčastěji společně s potravou, studovány zejména na těchto orgánech (Friberg et al., 1992; Greenwood et Earnshaw, 1993; Sova, 1997). K prováděným experimentům, sloužícím k detekci fyziologických změn vyvolaných vlivem kadmia, jsou vhodnými zkoumanými živočichy zástupci hlodavců (Misra et al., 1998; Noël et al., 2004).

V našich experimentech byli použiti laboratorní potkani kmene Wistar. Pro stanovení možných fyziologických změn podmíněných účinkem kadmia, jsme v našich experimentech podávali potkanům kadmium v množstvích 0,801, 3,05, 8,01 mg/kg krmné dávky a v pitné vodě v množství 10 a 20 mg/l. Kontrolní skupina přijímala standardní krmnou směs pro potkany s obsahem kadmia 0,34 mg/kg. Experimenty probíhaly 60 nebo 110 dní. Změny vyvolané možným vlivem kadmia jsme studovali na základě hodnot hematologických a biochemických ukazatelů, které již dle řady provedených experimentů nežádoucí vliv kadmia také odrážejí.

Nejčtenější difference v hodnotách hematologických ukazatelů byly zjištěny v experimentu, do kterého byla zařazena mláďata potkanů. Matky těchto mláďat byly vystaveny vlivu zvýšeného množství kadmia v dietě, avšak fyziologické parametry matek nevykazovaly oproti kontrolní skupině žádné rozdíly. Obsahy hemoglobinu matek byly zřetelně nižší, než obsahy hemoglobinu ostatních skupin zkoumaných zvířat.

Ve srovnání s kontrolní skupinou samic byl patrný pokles hodnoty MCV u všech skupin samic vystavených vlivu kadmia v dietě. Počet leukocytů, hodnota hematokritu, obsah hemoglobinu a hodnota MCV u jejich mláďat však byly v porovnání s kontrolní skupinou statisticky rozdílné. Tento výsledek může být zapříčiněn možným transplacentárním přenosem kadmia z matky na plod, které ve svých experimentech zjistili Cibulka et al. (1991). Transplacentární přenos těžkých kovů (olova, kadmia a rtuti) potvrdili také Al-Saleh et al. (2011) na základě svých experimentů, ve kterých hodnotili predikce vyššího obsahu těžkých kovů u novorozenců, u jejichž matek byly stanoveny vysoké hladiny těchto rizikových prvků.

Nejvýraznější rozdíl oproti kontrolní skupině byl zjištěn v experimentu s mláďaty. Tento rozdíl byl zjištěn v počtu leukocytů. Nárůst počtu leukocytů byl zjištěn u všech skupin

v rámci toho experimentu, při kterém byla zvířata vystavena vlivu kadmia v dietě i v pitné vodě.

Fučíková et al. (1995) ve svých experimentech potvrdili, že potkani, vystavení dietě s vyšším obsahem kadmia, mají zvýšený obsah tohoto kovu v játrech a v ledvinách. Potkaním samcům byla 28 dní podávána krmná dávka s 0,03% a 0,9% obsahem kadmia v organické formě (krmné kvasnice) a s 0,09% obsahem kadmia ve formě anorganické (CdCl_2). Obsah kadmia v játrech a ledvinách byl vyšší u potkanů, kteří přijímali větší dávky kovu v potravě. U těchto zvířat byla také zjištěna vyšší koncentrace hemoglobinu. Kessels et al. (1990) ve svých experimentech zjistili naopak snížení hemoglobinu u krav chovaných v prostředí kontaminovaným kadmiiem.

Rozdílný obsah hemoglobinu byl v našich experimentech detekován pouze u hematologických hodnot mláďat potkanů, jejichž matky byly účinku kadmia vystaveny již před a v době březosti. Z našich výsledků lze konstatovat, že změny v koncentraci hemoglobinu vyvolají spíše vyšší dávky kadmia.

Mimo akumulaci kadmia v ledvinách a játrech byly potvrzeny i jeho negativní účinky na reprodukční systém samců i samic (Cibulka et al., 1991; Friberg et al., 1992; Sova, 1997), kosterní soustavu (Cibulka et al., 1991; Friberg et al., 1992; Noël et al., 2004), trávicí trakt (Milbauer, 1957; Friberg et al., 1992), plíce (Cibulka et al., 1991), CNS (Milbauer, 1957) i kardiovaskulární systém (Friberg et al., 1992).

Kadmium bylo klasifikováno jako rizikový faktor osteoporózy. Noël et al. (2004) provedli pokus se samicemi potkanů, které přijímaly 13 týdnů kadmium v krmné dávce ve formě CdCl_2 v množstvích 0,001, 0,005 a 0,02 % z krmné dávky. Následně byly stanoveny obsahy vybraných minerálních látek z jater potkanů. Z výsledků bylo patrné, že obsah železa, hořčíku a selenu se vlivem působení kadmia snížil, na rozdíl od množství mědi, zinku a manganu, jejichž koncentrace stoupla. Vznik osteoporózy zřejmě dle těchto experimentů souvisí s nedostatkem železa v organismu.

Waalkes et al. (1988) zkoumali kancerogenní účinky kadmia. Ve svých dvouletých experimentech aplikovali injekčně různé dávky kadmia (1, 2,5, 5, 10, 20, 40 $\mu\text{mol/kg}$) ve formě CdCl_2 potkaním samcům. V místě vpichu byly detekovány četné, většinou zhoubné nádory. Vliv kadmia způsobil degeneraci testikulární tkáně, která často vyústila v nádorové změny, zejména Leydigových buněk. Dávky kadmia způsobily také léze prostaty. Ty se v některých případech rozvinuly až v nádorové bujení. K tomu docházelo pouze v případě podávání takových dávek kovu, které způsobily výrazné degenerace testikulární tkáně

a atrofii prostaty. Takovou dávkou bylo stanoveno množství 2,5 $\mu\text{mol/kg}$, kadmium ve vyšších dávkách nádory prostaty nezpůsobilo.

Podle Friberga et al. (1992) má kadmium negativní vliv i na reprodukci samic. Naše experimenty tuto skutečnost nepotvrdily. Potkaní samice, které přijímaly kadmium před zabřeznutím i po celou dobu březosti, měly velmi početné vrhy.

Hassan et al. (2008) ve svých experimentech zkoumali vliv kadmia na CNS mláďat. Během kojení podávali potkaním samicím CdCl_2 v množství 50 mg/l pitné vody. U mláďat těchto samic bylo pozorováno výrazné snížení motorické aktivity. Vývoj mláďat po porodu (otevírání očí, vzhled chrupu a srsti) nebyl kadmii významně ovlivněn. Opožděn byl sestup varlat a otevření vaginálního otvoru. Z výsledků experimentů také vyplývá, že negativní účinek kadmia na CNS do jisté míry vyvažuje vitamin E.

Sakowska et al. (1989) zkoumali vliv kadmia přijímaného v dietě potkaních samců, jejichž krmná dávka po dobu 42 dní obsahovala 0,005, 0,01 a 0,02 % kadmia. Ve výsledcích svých pokusů detekovali zvýšený obsah kadmia zejména v játrech a krvi zvířat. Dalším výsledkem jejich experimentů bylo snížení hodnot hematokritu a hemoglobinu v plazmě, pozorovali také výskyt anémie. Vliv kadmia na vznik anémie potvrdili i Waner et Gur (1993), kteří ve svých experimentech podávali kadmium potkanům 35 dní v pitné vodě, ze které tvořilo 0,002 a 0,02 %. Za negativní vliv kadmia podmiňující anémii byla označena skutečnost, že tento kov má nežádoucí účinek na absorpci hemoglobinu. Statisticky významné rozdíly v hodnotě hematokritu byly v našich experimentech také prokázány. Větší odlišnosti nabývaly tyto hodnoty s rostoucí dávkou kadmia.

Lafuente et al. (2004) uvádějí, že podávání kadmia v pitné vodě potkanům po dobu 30 dní ve formě CdCl_2 v množství 0,0005, 0,001, 0,0025, 0,005, 0,01 % krmné dávky, způsobuje změny v počtu lymfocytů, v závislosti na množství přijímaného kadmia. Malé dávky tohoto kovu dle závěrů z těchto experimentů inhibují humorální a buněčnou imunitní odpověď organismu, zatímco větší dávky mají účinek opačný. Od přijímaného množství kadmia 0,001 % v krmné dávce byly zjištěny vyšší koncentrace tohoto kovu v játrech potkanů. Námi zjištěné změny v počtu leukocytů vyvolané expozicí kadmia byly zjištěny u zvířat, která byla vystavena vyšším dávkám tohoto kovu.

Mnoho vědců zkoumalo účinky kadmia prostřednictvím studia jaterních enzymů (Fučíková et al., 1995; Borges et al. 2008). Sakowska et al. (1989) detekovali vlivem kadmia zvýšení aktivity aspartátaminotransferázy a alaninaminotrasferázy. V našich experimentech však nebyl vliv tohoto kovu na hodnotu AST potvrzen. V žádném z experimentů nebyl totiž patrný průkazný rozdíl v hodnotě AST.

Protože nejčastěji zjištěné statisticky významné rozdíly hematologických hodnot byly zjištěny u skupin potkanů, kteří přijímali největší množství kadmia ve své krmné dávce, lze tedy předpokládat, že vyšší dávky kadmia mohou způsobovat fyziologické změny organismů.

7. ZÁVĚR

Z výsledků našich experimentů je patrné, že expozice kadmia může podmiňovat vznik fyziologických změn v organismu. Téměř ve všech zkoumaných hematologických parametrech byl v některém z experimentů prokázán statisticky významný rozdíl. Průkazné rozdíly v námi zkoumaných parametrech byly prokázány mezi skupinami zvířat, které přijímaly maximálně odlišné dávky kadmia. Expozice většího množství tohoto kovu vyvolala více statisticky významných změn. Naše experimenty tedy potvrdily stanovenou hypotézu, podle které kadmium přechází z půdy do rostlin a následně do těla živočichů, ve kterém může způsobit změny v hodnotách hematologických a biochemických parametrů.

Ačkoliv naše experimenty účinek kadmia na organismus částečně prokázaly, v budoucím zkoumání by bylo jistě vhodné studovat negativní vliv kadmia převážně z jater a ledvin, ve kterých se tento kov hromadí, nebo například z kostní či nervové tkáně, ve které byl významný vliv kadmia také prokázán. Hematologické hodnoty zřejmě nemohou negativní působení kadmia jednoznačně potvrdit či vyvrátit.

Otázkou je také vhodnost potkanů kmene Wistar k prováděným pokusům, neboť podle některých názorů je právě tento kmen na vliv kadmia částečně rezistentní.

Pro větší průkaznost výsledků našich experimentů by bylo vhodné zařadit do pokusů více zkoumaných potkanů, z nichž někteří by působení kadmia nebyli vystaveni vůbec. Na základě našich zjištění by bylo také vhodné více se v dalších experimentech zaměřit na sledování možnosti a míry transplacentárního přenosu těžkých kovů. Tato cesta přenosu je zřejmě jedním z hlavních důvodů, proč jsme nejvíce změn v hematologických ukazatelích detekovali ve skupině mláďat potkaních samic, které přijímaly kadmium společně s krmnou dávkou před zabřeznutím i v době březosti.

8. SEZNAM LITERATURY

- Al-Saleh, I., Shinwari, N., Mashhour, A., Mohamed, G. E. N., Rabah, A.** 2011. Heavy metals (lead, cadmium and mercury) in maternal, cord blood and placenta of healthy women. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*. 214 (2). 79–101.
- Anděra, M.** 1999. Svět zvířat II. Savci (2) – Šelmy, luskouni, hrabáči, hlodavci. Albatros. Praha. 147 s. ISBN: 8000006774.
- Anděra, M., Horáček, I.** 2005. Poznáváme naše savce. Sobotáles. Praha. 2. vydání. 328 s. ISBN: 8086817083.
- Barnett, S. A.** 2001. The Story of Rats: Their Impact on Us, and Our Impact on Them. Allen & Unwin. Crows Nest. p. 196. ISBN: 1865085197.
- Borges, L. P., Brandão, R., Godoi, B., Nogueira, C. W., Zeni, G.** 2008. Oral administration of diphenyl diselenide protects against cadmium-induced liver damage in rats. *Chemico-Biological Interactions*. 171 (1). 15-25.
- Cibulka, J., Domažlická, E., Kozák, J., Kubizňáková, J., Mader, P., Machálek, E., Maňková, B., Musil, J., Pařízek, J., Píša, J., Pohunková, H., Reisnerová, H., Svobodová, Z.** 1991. Pohyb olova, kadmia a rtuti v biosféře. Acadimia. Praha. 432 s. ISBN: 8020004017.
- Doubek, J., Bouda, J., Doubek, M., Fürll, M., Knotková, Z., Pejřilová, S., Pravda, D., Scheer, P., Svobodová, Z., Vodička, R.** 2003. Veterinární hematologie. Noviko a. s. Brno. 464 s. ISBN: 8086542025.
- Doubek, J., Šlosárková, S., Řeháková, K., Bouda, J., Scheer, P., Piperisová, I., Tomenendálová, J., Matalová, E.** 2010. Interpretace základních biochemických a hematologických nálezů u zvířat. NOVIKO s. r. o. Brno. 2. vydání. 102 s. ISBN: 9788086542225.
- Ehrmann, J., Hůlek, P.** 2010. Hepatologie. Grada Publishing a. s. Praha. 590 s. ISBN: 9788024731186.
- Engels, S., Nowak, A.** 1977. Chemické prvky – Historie a současnost. SNTL. Praha. 368 s.

- Frandsen, R. D., Wilke, W. L., Fails, A. D.** 2009. Anatomy and Physiology of Farm Animals. WILEY-BLACKWELL. Iowa. 7th ed. p. 512. ISBN: 9780813813943.
- Friberg, L., Elinder, C. G., Kjellström, T.** 1992. Cadmium. WHO. Vammala. p. 280. ISBN: 9241571348.
- Fučíková, A., Slámová, A., Száková, J., Cibulka, J., Heger, J.** 1995. The influence of dietary cadmium on haematological parameters and phagocytic activity of leukocytes in rats. *Živočišná Výroba*. 40 (1). 15-18.
- Greenwood, N. N., Earnshaw, A.** 1993. Chemie prvků, svazek II. Informatorium. Praha. 1635 s. ISBN: 8085427389.
- Hagen, H., Hagen, W., Reichholf, J. H., Markl, J., Markl, B., Gräff, S., Heckner-Bisping, U., Hey-Reidt, P., Moeller, H. F., Weinhold, U., Keller, E.** 2001. Zoologická encyklopedie. Savci – Zajíci, hlodavci, šelmy. Euromedia Group k. s. Praha. 160 s. ISBN: 8024206730.
- Hanzlová, A., Stachová, D.** 1999. Malé hlodavce: Choroby a chov. Hajko & Hajková. Bratislava. 123 s. ISBN: 8088700477.
- Hassan, A. A., Alrasool E. M. A., Jasem, H. M.** 2008. Effect of cadmium on CNS function and development in rat offspring: effect of vitamin E. *Iraqi Journal of Veterinary Sciences*. 22 (1). 31-37.
- Jirkovský, R., Tržil, J., Mažáriová, G.** 1985. Abeceda chemických prvkov. ALFA vydavateľstvo technickej a ekonomickej literatúry. Bratislava. 2. vydanie. 224 s.
- Kaneko, J. J., Harvey, J. W., Bruss, M. L.** 2008. Clinical Biochemistry of Domestic Animals. Elsevier Academic Press. Amsterdam. 6th ed. p. 916. ISBN: 9780123704917.
- Kataranovski, M., Kataranovski, D., Savic, D., Jovčić, G., Bogdanovic, Z., Jovanovic, T.** 1998. Granulocyte and plasma cytokine activity in acute cadmium intoxication in rats. *Physiological Research*, 47 (6). 453-461.
- Kay, I.** 1998. Introduction on Animal Physiology. BIOS Scientific Publishers. Oxford. p. 214. ISBN: 0387915184.

- Kendíková, I.** 2004. Více o morčatech a laboratorních potkanech: plemena, zajímavosti, veterinární rady. Základní organizace chovatelů morčat a jiných drobných hlodavců. Praha. 36 s.
- Kessels, B. G. F., Wensing, T., Wentink, G. H., Schotman, A. J. H.** 1990. Clinical, chemical, and hematological parameters in cattle kept in cadmium-contaminated area. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology*. 44 (2). 339-344.
- Knotková, Z., Knotek, Z.** 2000. Drobní savci: Fyziologické hodnoty, léky a jejich dávkování. NOVIKO a. s. Brno. 69 s. ISBN: 8090267637.
- Kocourek, I.** 2000. Drobní savci v teráriích a klecích. *RATIO*. Úvaly. 113 s. ISBN: 8086351009.
- Kuramitsu, S., Hiromi, K., Hayashi, H., Morino, Y., Kagamiyama, H.** 1990. Pre-steady-state kinetics of Escherichia coli aspartate aminotransferase catalyzed reactions and thermodynamic aspects of its substrate specificity. *Biochemistry*. 29 (23). 5469-5476.
- Lafuente, A., González-Carracedo, A., Esquifino, A. I.** 2004. Differential effects of cadmium on blood lymphocyte subsets. *BioMetals*. 17 (4). 451-456.
- Makovníková, J.** 2000. Distribúcia kadmia, olova, medi a zinku v pôde a jej hodnotenie so zreteľom na potenciály a bariéry transportu kovov do rastlín. Výskumný ústav pôdoznaectva a ochrany pôdy. Bratislava. 126 s. ISBN: 8085361671.
- Marvan, F., Hampl, A., Hložánková, E., Kresan, J., Massanyi, L., Vernerová, E.** 2003. Morfologie hospodářských zvířat. Brázda s. r. o. Praha. 3. vydání. 328 s. ISBN: 8020903194.
- Milbauer, J.** 1957. Chemické prvky. PRÁCE nakladatelství ROH. Praha. 231 s.
- Misra, R. R., Smith, G. T., Waalkes, M. P.** 1998. Evaluation of the direct genotoxic potential of cadmium in four different rodent cell lines. *Toxicology*. 126 (2). 103-114.
- Noël, L. Guérin, T., Kolf-Clauw, M.** 2004. Subchronic dietary exposure of rats to cadmium alters the metabolism of metals essential to bone health. *Food and Chemical Toxicology*. 42 (8). 1203–1210.

- Ognjanović, B. I., Marković, S. D., Pavlović, S. Z., Žikić, R. V, Štajn, A. Š., Saičić, Z. S.** 2008. Effect of Chronic Cadmium Exposure on Antioxidant Defense System in Some Tissues of Rats: Protective Effect of Selenium. *Physiological Research*. 57 (3). 403-411.
- Okamoto, A., Higuchi, T., Hirotsu, K., Kuramitsu, S., Kagamiyama, H.** 1994. X-Ray Crystallographic Study of Pyridoxal 5'-Phosphate-Type Aspartate Aminotransferases from *Escherichia coli* in Open and Closed Form. *The Journal of Biochemistry*. 116 (1). 95–107.
- Randall, D., Burggren, W., French, K.** 1997. *Eckert Animal Physiology: Mechanisms and Adaptations*. W. H. Freeman and Company. New York. 4th ed. p. 727. ISBN: 0716724146.
- Reece, W. O.** 1998. *Fyziologie domácích zvířat*. Grada Publishing a. s. Praha. 456 s. ISBN: 8071695475.
- Reece, W. O.** 2011. *Fyziologie a funkční anatomie domácích zvířat*. Grada Publishing a. s. Praha. 2. vydání. 480 s. ISBN: 9788024732824.
- Romanovský, A., Činčerová, A., Čížek, F., Dvořák, P., Kaprálek, F., Kubišta, V., Nedvídek, J., Opatrný, Z., Pazourek, J., Pikálek, P., Seifert, J., Slavíková, Z., Váňa, J., Závada, V.** 1988. *Obecná biologie*. SPN. Praha. 2. vydání. 695 s. ISBN: 1437088.
- Sakowska, E., Witkowska, J., Morawiec, M.** 1989. Effect of various cadmium doses in the diet on the body of growing rats. *Roczniki Państwowego Zakładu Higieny*. 40 (4-6). 313-319.
- Sharp, P. E., La Regina, M. C.** 1998. *The Laboratory Rat*. CRC PRESS. Boca Raton. p. 214. ISBN: 0849325651.
- Shimada, H., Takamure, Y., Shimada, A., Yasutake, A., Waalkes, M. P., Imamura, Y.** 2004. Strain differences of cadmium-induced hepatotoxicity in Wistar–Imamichi and Fischer 344 rats: involvement of cadmium accumulation. *Toxicology*. 203 (1-3). 189-197.
- Sova, Z.** 1997. Nálezy kadmia, rtuťi a olova v hospodářských a volně žijících zvířatech, v krmivech a potravinách v České republice v roce 1995. *ÚZPI*. 1. 1–4.
- Sova, Z., Bukvaj, J., Koudelka, K., Kroupová, V., Pješčak, M., Podaný, J.** 1990. *Fyziologie hospodářských zvířat*. SZN. Praha. 2. vydání. 469 s. ISBN: 8020900926.

- Stejskal, V., Tolar, V., Verner, P. H.** 1993. Ochrana před hlodavci a šváby. ÚZPI. Praha. 296 s. ISBN: 8085120291.
- Suckow, M. A., Weisbroth, S. H., Franklin, C. L.** 2006. The Laboratory Rat. Elsevier Academic Press. Burlington. 2nd ed. p. 912. ISBN: 0120749033.
- Thrall, M. A., Baker, D. C., Campbell, T. W., DeNicola, D., Fettman, M. J., Lassen, E. D., Rebar, A., Weiser, G.** 2004. Veterinary Hematology and Clinical Chemistry. Lippincott Williams & Wilkins. Baltimore. p. 618. ISBN: 9780781768504.
- Tucker, M. J.** 1997. Diseases of the Wistar Rat. Taylor & Francis. London. p. 254. ISBN: 0748405216.
- Velenská, N.** 2007. Hlodavci. Robimaus. Rudná u Prahy. 167 s. ISBN: 9788090335721.
- Velick, S. F., Vavra, J.** 1962. A Kinetic and Equilibrium Analysis of the Glutamic Oxaloacetate Transaminase Mechanism. The Journal of Biological Chemistry. 237 (7). 2109-2122.
- Vosylienė, M. Z.** 1999. The Effect of Heavy Metals on Haematological Indices of Fish. Acta Zoologica Lituonica. 9 (2). 76-82.
- Waalkes, M. P., Rehm, S., Riggs, C. W., Bare, R. M., Devor, D. E., Poirier, L. A., Wenk, M. L., Henneman, J. R., Balaschak M. S.** 1988. Cadmium Carcinogenesis in Male Wistar [CrI:(WI)BR] Rats: Dose-Response Analysis of Tumor Induction in the Prostate and Testes, and at the Injection Site. Cancer Research. 48 (16). 4656-4663.
- Waner, T., Gur, E.** 1993. Effects of cadmium on erythrocytic parameters. Veterinary Clinical Pathology. 22 (1). 25-27.
- Wang, B., Schneider, S. N., Dragin, N., Girijashanker, K., Dalton, T. P., He, L., Miller, M. L., Stringer, K. F., Soleimani, M., Richardson, D. D., Nebert, D. W.** 2007. Enhanced cadmium-induced testicular necrosis and renal proximal tubule damage caused by gene-dose increase in a Slc39a8-transgenic mouse line. American Journal of Physiology Cell Physiology. 292 (4). 1523-1535.

Wilson, D. E., Reeder, D. M. 2005. Mammal Species of the World – A Taxonomic and Geographic Reference. The Johns Hopkins university Press. Baltimore. 3rd ed. p. 2142. ISBN: 0801882214.

Zejda, J., Zapletal, M., Pikula, J., Obdržálková, D., Heroldová, M., Hubálek, Z. 2002. Hlodavci v zemědělské a lesnické praxi. Agrospoj s. r. o. Praha. 284 s. ISBN: 8070842350.

9. SEZNAM POUŽITÝCH ZKRATEK A SYMBOLŮ

α	hladina významnosti
AST	aspartátaminotransferáza
ATP	adenosintrifosfát
Er	počet erytrocytů
GOT	glutamát-oxalacetát transamináza
Hb	obsah hemoglobinu
Hk	hematokrit
Le	počet leukocytů
MCD	střední průměr erytrocytů (mean corpuscular diameter)
MCH	střední obsah hemoglobinu (mean corpuscular hemoglobin)
MCHC	střední barevná koncentrace (mean corpuscular hemoglobin concentration)
MCT	střední tloušťka erytrocytů (mean corpuscular thickness)
MCV	střední objem erytrocytů (mean corpuscular volume)
MPS	mononukleární fagocytární systém
p	testovací kritérium
PCV	objem červených krvinek (packed cell volume)
PLP	pyridoxal 5'-fosfát
RBC	červené krvinky (red blood cells)
WBC	bílé krvinky (white blood cells)
WHO	Světová zdravotnická organizace (World Health Organization)