

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Disertační práce

2014

MVDr. Karel Kutlvašr

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta lesnická a dřevařská

Katedra myslivosti a lesnické zoologie



**Deponování vybraných chemických prvků
v organismu zajíce polního
(*Lepus europaeus* Pall.)**

Disertační práce

Autor: MVDr. Karel Kutlvašr

Školitel: doc. Ing. Jaroslav Slamečka, CSc.

2014

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma: „Deponování vybraných chemických prvků v organismu zajíce polního (Lepus europaeus Pall.)“ vypracoval samostatně s použitím uvedené literatury a na základě konzultací a doporučení školitele. Souhlasím se zveřejněním disertační práce dle zákona č. 111/1998 Sb. O vysokých školách v platném znění, a to bez ohledu na výsledek její obhajoby.

V Praze dne 30.6.2014

Poděkování:

Děkuji svému školiteli Doc. Ing. Jaroslavu Slamečkovi, CSc. za metodické vedení a cenné rady, všem kolegům, kteří mi jakkoli byli nápomocni při terénních odběrech vzorků a jejich vyhodnoceních.

Abstrakt

Tato disertační práce Deponování vybraných chemických prvků v organismu zajíce polního (*Lepus europaeus* Pall.) řeší problematiku deponování arzenu v jednotlivých biologických matricích zajíce polního. Metabolismus tohoto karcinogenního prvku je intenzivně zkoumán u člověka a některých laboratorních zvířat. Studium mezidruhových rozdílů v deponování a vylučování arzenu z organismu přispívá k pochopení detoxikačních mechanismů.

Zajíc polní představuje v naší přírodě ideálního živočicha využívaného pro biomonitoring. V řadě studií a výzkumů předních českých a slovenských vědeckých pracovišť byl u zajíce především zkoumán výskyt těžkých kovů a organických polutantů. Tato práce navazuje na předešlé výzkumy s ohledem na nové poznatky v objasňování karcinogenity arzenu.

Dalším aspektem práce je posouzení patologických a histologických změn ve zkoumaných tkáních zajíce a porovnání těchto patomorfologických lézí s literárními údaji a dřívějšími výzkumy.

Stanovení koncentrace arzenu bylo provedeno v 11 biologických matricích u 105 dospělých zajíců z různých lokalit České republiky, což představuje 1 155 dílčích analýz. Vyšetřované vzorky zahrnují játra, ledviny, mozek, tukovou tkáň, varlata/vaječníky, kost, srst, trus, plíce, kosterní sval a myokard.

Vysoké průměrné koncentrace arzenu byly zjištěny v srsti ($0,730 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,38$), mozku ($0,399 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,607$) a trusu ($0,364 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,11$). Podstatně nižší koncentrace arzenu obsahovali tuk ($0,057 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,17$), kost ($0,035 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,04$), ledviny ($0,023 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,02$), varlata ($0,024 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,08$), kosterní sval ($0,0086 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,20$), myokard ($0,0048 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,005$), plíce ($0,01474 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,009$), játra ($0,0191 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,02$).

Deponování arzenu z hlediska pohlaví zkoumaných jedinců (51 samců, 54 samic) nevykazuje v jednotlivých analyzovaných tkáních statisticky významné rozdíly.

Nejvyšší koncentrace arzenu byly stanoveny v srsti a v porovnání s příčně pruhovanou svalovinou jsou cca 90× vyšší.

Klíčová slova: zajíc polní, *Lepus europaeus*, biomonitoring, arzen, kontaminace

Abstract

This dissertation „Deposits of selected chemical elements in the organism of the European brown hare (*Lepus europaeus* Pall.)“ addresses questions related to deposits of arsenic in particular biological materials sampled from the European brown hare. The metabolism of this carcinogenic element is being thoroughly investigated in man and in some laboratory animals. The study of differences between various species in the way of deposition and elimination of arsenic from the organism contributes to our understanding of detoxication mechanisms.

European brown hare represents an ideal animal of our wildlife used for biomonitoring. In a number of studies and investigations carried out by leading Czech and Slovak scientific institutes the attention was paid to the occurrence of heavy metals and organic pollutants in populations of the European hare. This work is inspired by previous investigations bringing new findings of carcinogenicity of the arsenic.

Another aim of this work is to evaluate pathological and histological changes in the tissues of hare and a comparison of these changes with previous investigations and published data.

We tested a concentration of arsenic in 11 types of biological samples from 105 adult hare coming from different sites of the Czech Republic, which amounts to 1 155 individual analyses. The investigated samples included liver, kidneys, skeletal muscle, heart, lungs, brain, adipose tissue, testis / ovaries, bone, hair, and scat.

High average concentrations of arsenic were found in hair ($0.730 \text{ gm.kg}^{-1} \pm 0.38$), brain ($0.399 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0.607$) and scat ($0.364 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0.11$). Significantly lower concentrations of arsenic were found in adipous tissue ($0.057 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0.17$), bones ($0.035 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0.04$), kidneys ($0.023 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0.02$), testis ($0.024 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0.08$), skeletal muscle ($0.0086 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0.20$), myocardium ($0.0048 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0.005$), lungs ($0.01474 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0.009$), and liver ($0.0191 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0.02$).

The concentration of arsenic did not reveal significant differences with regard of gender of the investigated animals (51 males, 54 females). The highest concentrations of arsenic were found in hair, and compared to that the level of arsenic found in the skeletal muscle was approximately ninety-fold lower.

Key words: European brown hare, *Lepus europaeus*, biomonitoring, arsenic, contamination

OBSAH

1. ÚVOD	6
2. CÍL PRÁCE.....	8
3. ROZBOR PROBLEMATIKY	9
3.1. Zvěř jako bioindikátor.....	9
3.2. Zajíc polní (<i>Lepus europaeus</i>)	10
3.3. Rizikové prvky	13
3.4. Výskyt a užití arzenu.....	14
3.5. Metabolismus arzenu a akutní toxicita.....	16
3.6. Chronická toxicita	18
3.7. Kancerogenita arzenu.....	20
3.8. Somatické změny	21
4. METODIKA.....	27
4.1. Materiál	27
4.1.1. Původ a rozdělení vyhodnocovaných zajíců.....	27
4.1.2. Charakteristika zkoumaných matric.....	28
4.2. Vyšetření	30
4.2.1. Patomorfologická vyšetření	30
4.2.2. Chemická vyšetření.....	31
4.2.3. Statistická vyhodnocení	31
5. VÝSLEDKY.....	32
6. DISKUZE.....	62
7. ZÁVĚR.....	65
8. POUŽITÁ LITERATURA.....	67

1. ÚVOD

Z hlediska potřeb ekologického monitoringu má nezastupitelnou roli zkoumání metabolismu zvěře ve sledovaných lokalitách.

Fyziologická, ekologická a cenologická zjištění nalézají uplatnění v biologické indikaci tj. informaci o působení, vlivu nebo přítomnosti některého činitele prostředí pomocí jejich odrazu na živých organismech (NOVÁKOVÁ 1987). Využití srovnatelných metod sběru a analýz údajů o daném systému napomáhá pochopení ekologické homeostázy a přispívá k objasnění ekotoxikologických změn.

Pro potřebu hlubší analýzy deponování metabolismu arzenů v jednotlivých živočišných tkáních je v našich podmínkách výhodné využít stávající populace zajecí zvěře.

Zajíc polní (*Lepus europaeus* Pall.) se vyskytuje prakticky v celé Evropě kromě severní Skandinávie, Islandu a Irska. Jeho populace jsou významnou složkou ekosystémů kulturní krajiny. V České republice je plošně rozšířen. Populační dynamika závisí na vzájemných vazbách s prostředím. Na základě mnohaletých sledování je patrná určitá periodicitu v četnosti jednotlivých populací. Literární údaje charakterizující četnost a dynamiku populací zajecí zvěře se mnohdy liší podle období, místa a přesnosti sledování i následného hodnocení. Stejně tak jsou odlišné i názory na příčiny jednotlivých trendů v této problematice.

Zaměření práce na zjišťování obsahu arzenů v jednotlivých tkáních zajíce polního je způsobeno zvýšeným zájmem o metabolismus arzenů v organismu v souvislosti objasněním mechanismu kancerogenity arzenů na molekulární úrovni.

Výzkum zaměřený na stanovení poměrného zastoupení arzenů v různých orgánech a tkáních zajíců vycházel z následujících předpokladů:

Všeobecný výskyt zajíců v celé České republice umožní získat materiál ke zkoumání z různých lokalit s různým stupněm kontaminace arzenem.

Zajíc vzhledem ke svému potravnímu chování a péči o srst postihuje různé druhy kontaminace prostředí.

Intenzivní metabolismus této zvěře zachytí i nižší kontaminaci prostředí.

Zajíc vykazuje i dostatečnou dlouhověkost k postižení chronického působení arzenu.

Deponování arzenu v jednotlivých tkáních u tohoto druhu zvěře je cestou k poznání expozice životního prostředí a s ohledem na další vlivy může napomoci objasnění populační dynamiky.

2. CÍL PRÁCE

Cílem disertační práce bylo:

stanovit koncentrace rizikového prvku arzenu ve vybraných biologických matricích zajíce polního;

na základě matematicko-statistického zpracování zhodnotit případné korelace mezi jednotlivými matricemi;

poměrovým srovnáním depozice arzenu v jednotlivých matricích zajíce přispět k poznání látkového metabolismu tohoto živočišného druhu;

porovnat deponační poměry arzenu v jednotlivých matricích s literárními údaji analýz jiných rizikových prvků;

výsledky porovnat s analýzami prováděnými v humánní populaci;

u sledovaného souboru vyhodnotit patomorfologické léze ve sledovaných tkáních a získané výsledky porovnat s dostupnou literaturou.

3. ROZBOR PROBLEMATIKY

3.1. Zvěř jako bioindikátor

Využití volně žijících ptáků, savců a zvěře v bioindikaci, biodiagnostice a ekologickém monitoringu má na území České republiky dlouhou tradici. Mnohá zjištění a závěry získané v uplynulých 40 letech jsou platné i v současnosti.

Poznání zákonitých vazeb mezi kolísáním výskytu, chování, tělesné kondice, morfologických znaků, fyziologických pochodů, populační dynamiky rostlin a živočichů, velikostí a strukturou jejich společenstev a podmínkami prostředí, zejména výjimečnými a druhotně změněnými, vede k využití těchto odchylek a normálu jako informátorů nebo přímých ukazatelů (indikátorů) o charakteristice, stavu a vývoji prostředí. Tyto odchylky jsou bezprostředními reakcemi na přítomnost nebo působení činitele prostředí, tzv. sekundární indikátory (NOVÁKOVÁ 1987).

Biologická depistáž a monitoring cizorodých látek v organismech savců má z hygienického hlediska velký význam. Slouží především k ochraně potravinového řetězce obyvatelstva. Podobné fyziologické a patologické reakce člověka a jiných savců umožňují na základě těchto depistáží stanovovat hygienické normy pro posuzování potravin, vody a ovzduší. Savce je výhodné užívat jako indikátor environmentální kontaminace (O'BRIEN 1993). Hygienické hledisko v souvislosti s kvalitou zvěřiny zdůrazňují VODŇANSKÝ et al. (2009).

Zejména drobní savci jsou snadno dostupní k monitoringu průmyslových vlivů na životní prostředí. Hraboš polní (*Microtus arvalis*) je velmi vhodný druh jako bioindikátor průmyslového zatížení krajiny (ŠŤASTNÝ et al. 1986). Porovnáním hrabošů z průmyslově exponovaných lokalit Mostecka s kontrolní skupinou z Třeboňska byly pozorovány posuny v poměrech sérových bílkovin připomínající zánětlivé změny (SEDLÁČEK 1992).

Na Slovensku takto provedli analýzu akumulace těžkých kovů ve vybraných orgánech myšice lesní (*Apodemus flavicollis*). Ve své studii porovnávali lokality elektráren Nováky a Mochovce. V játrech, ledvinách, varlatech a dělohách stanovovali koncentrace mědi, železa, manganu, zinku a kadmia (JANČOVÁ et

al. 2006). Obdobná studie upozorňuje na vyšší vhodnost užití jako bioindikátora normíka rudého (*Clethrionomis glareolus*) (MARTINIAKOVÁ et al. 2012). U tohoto druhu bylo v rámci monitoringu zátěže krajiny v Tatranském národním parku diagnostikováno benigní nádorové onemocnění vaječnicků (BUKOVJAN et al. 1995).

3.2. Zajíc polní (*Lepus europaeus*)

Jedním z prvních druhů, u kterého byly hledány stopy antropogenních vlivů na našem území, byl zajíc polní. Impulzem k rozsáhlému výzkumu v 60. letech bylo podezření, že určité poklesy v úlovcích této zvěře jsou odrazem negativních změn v prostředí kulturní krajiny. U souborů čítajících stovky až tisíce jedinců z mnoha desítek lokalit různě zatížených antropogenními faktory byly nalezeny posuny v hodnotách vybraných somatických a populačních parametrů (NOVÁKOVÁ 1987, NOVÁKOVÁ et PAUKERT 1980). Kromě ubiquitárního výskytu je pro jeho využití jako bioindikátora kontaminace prostředí důležitá i jeho hygiena a plošné rozšíření (ČERVENÝ et al. 2004).

Ve vzorcích srsti zajíců z průmyslově exponovaných lokalit ve srovnání s kontrolou byl stanoven nárůst u 14 prvků z celkového počtu 18 analyzovaných. Podobně jako u hraboše polního byla závažným nálezem vysoká hladina As (PAUKERT et OBRUSNÍK 1986). Výsledky vyšetření prokázaly 18x vyšší koncentrace oproti kontrolní skupině.

Pokles hematokritu zajíců z lokalit znečištěných průmyslovými imisemi byl jedním z prvních nálezů studia antropogenních faktorů (NOVÁKOVÁ et HANZL 1968).

Jak ukazují zjištění Bukovjana et al., během častého očišťování srsti perorálně zajíc absorbuje v různé intenzitě i nežádoucí polutanty organického i anorganického charakteru. Ty se následně deponují převážně v tukové tkáni (analoga DDT, izomery HCH, kongenery PCB, ftaláty).

Dynamika výskytu polychlorovaných uhlovodíků u zajíce polního byla zmapována u 75 vyšetřovaných zajíců v jihozápadním Slovensku (SLAMEČKA

et al. 2012). Problematiku výskytu derivátů kyseliny ftalové (ftalátů) v depotním tuku zajíce polního hodnotí česká studie (TOMAN et al. 2011).

Volba zajíce polního jako euryekního druhu pro bioindikaci deteriorizačních procesů, zejména těch, způsobených činností člověka, přináší řadu výhod. Zajíc jako volně žijící živočich plní i funkci varovného indikátora (NOVÁKOVÁ 1987).

Při vyhodnocení populační dynamiky musíme zohlednit fakt, že kromě antropogenního tlaku má na poklesy populací rozhodně vliv tlak predátorů, výkyvy počasí a výskyt různých onemocnění virového, bakteriálního i parazitárního původu (SEMIZOROVÁ 1977, 1982).

Korelace mezi množstvím odlovené zvěře a aktuálním výskytem predátorů v dané oblasti dokumentuje slovenská studie z předchozích let (HELL et al. 1997).

Sezónní vliv predace lišek na zajíce související s obdobím rozmnožování dokumentuje studie z Polské republiky. Analyzuje obsahy zaživadel ulovených lišek v závislosti na hustotě populací zajíce, vzdálenostech od nor a množství hrabošů v okolí (PÁNEK 2009).

Ohniska tvořící infekční onemocnění jsou monitorována diagnostikováním protilátek. Prevalence protilátek tularemie, leptospirózy a brucelózy v 1 051 krevních sérech zajíce polního byla vyhodnocována v loveckých sezonách 2004–2006. Ve studii byly porovnávány i výše titrů proti jednotlivým bakteriálním agens. Posuzovány byly i vlivy pohlaví na seroprevalenci (TREML et al. 2007). Obdobná studie prevalence brucelózy, tularemie a leptospirózy byla provedena na česko-rakouském pomezí (WINKELMAYER et al. 2005).

Velmi přínosná jsou zejména dlouhodobá sledování toxikologické problematiky tohoto druhu na vybraných lokalitách s různou intenzitou antropogenní zátěže. Zaječí zvěř lze úspěšně využít v ekologickém monitoringu zátěže krajiny a biodiagnostice řady xenobiotik, jak prokazují některé dřívější práce, např. PAUKERT et NOVÁKOVÁ (1980), NOVÁKOVÁ et PAUKERT (1982), NOVÁKOVÁ (1987).

Kriteria pro volbu zajíce polního k bioindikaci jsou (NOVÁKOVÁ 1987):

- ubiquitární výskyt
- populační dynamika
- věrnost nevelkému území
- rychlý sled pokolení (možnost posuzování teratogenity)
- stálá expozice (neuchyluje se do nor)
- dlouhověkost (možnost posuzování chronických zátěží)
- rychlý metabolismus (zachycuje i slabé noxy)
- tolerance k působení škodlivin
- stálost fyziologických hodnot a morfologických znaků
- snadná dosažitelnost a přiměřená velikost
- prozatím neovlivněnost umělými farmovými a klecovými chovy.

I přes relativně dobrou plodnost zaječek však populace stagnují a leckde zajíců ubývá (HANSEN-CATTA et al. 2008). Výzkumy prováděné Game and Wildlife Conservancy Trust v Anglii a Národním úřadem pro lov ve Francii se shodují i s výsledky získanými v České republice ohledně negativních vlivů na populační vývoj zajíce. Jedná se o monokultury v zemědělství, mechanizaci, ošetřování pesticidními přípravky na ochranu rostlin, plošně aplikovanými rodenticidy. Dále pak i anarchické a neodborné reintrodukce a automobilový provoz zvyšují zhoubný účinek nekontrolovaného poklesu populací.

Rozsáhlou studii o vlivu automobilové dopravy na populační dynamiku zajíce polního prováděli ve Švýcarsku. Sledovali vliv silnic na prostorové rozložení zajíců, bariérové efekty a vlastní mortalitu. Došli k závěru, že v oblastech s vysokou fragmentací krajiny je třeba vytvořit nerušené rezervoárové oblasti s optimálními podmínkami pro vývoj zajíce (ROEDENBECK et VOSER 2008).

3.3. Rizikové prvky

Rezidua vybraných chemických prvků v tkáních zvěře jsou v různé intenzitě sledována téměř ve všech státech Evropy. Některé výzkumy se zaměřují i na zdravotní stav zvěře a úroveň kontaminace ekosystémů (BUKOVJAN et PÁV 1990). V zahraničí sledovali podobnou problematiku již dříve například na Veterinární univerzitě Vídeň (TATARUCH et al. 1979, 1984, TATARUCH et ONDRESCHKA 1981). Zaznamenali zvýšené koncentrace olova blízko frekventovaných silnic a zvýšené množství rtuti v orgánech zvěře pasoucí se na osení z fungicidy ošetřeného osiva. Podobné výsledky pak byly zaznamenány i v České republice (MACEK 1985, PÁV et al. 1985, PÁV et MÁROVÁ 1987).

V letech 1988–1995 byla provedena toxikologická a histologická vyšetření tkání zaječí zvěře v antropogenně exponovaném území u Týnce nad Sázavou. V této studii byly analyzovány koncentrace arzeny, kadmia, mědi, rtuti, olova a zinku v játrech, ledvinách a svalovině zajíců. Zároveň byly zaznamenány reverzibilní a ireverzibilní histologické defekty různého rozsahu a charakteru (BUKOVJAN et al. 1997).

Sledováním hladin těžkých kovů v játrech i ledvinách zajíce polního a korelacemi mezi těžkými kovy a parametry krevní plazmy se zabývali na Slovensku. Porovnávali tyto parametry ve vztahu k věku zajíců, období a pohlaví. Koncentrace olova byly významně vyšší v játrech zajíců než zaječek. Koncentrace kadmia byly u zaječek významně vyšší než u zajíců (MASSANYI et al. 2003). V další studii stanovovali v plazmě vápník, fosfor, hořčík, sodík, draslík, glukózu, celkové bílkoviny, močovinu, celkové tuky, bilirubin, cholesterol, AST a ALT. Z hormonů v plazmě stanovovali testosteron, androstendiol, estradiol, progesteron a oxytocin. Analýza tkání prokázala akumulaci olova, kadmia a rtuti v játrech a ledvinách zajíců. Žádné významné korelace mezi úrovní těžkých kovů v játrech a ledvinách a biochemickými parametry plazmy zajíců nebyly zjištěny (KOLESÁROVÁ et al. 2008). Studie zkoumající obsah kadmia v orgánech zvěře a domácích zvířat konstatuje, že nejvyšší hladiny kadmia byly u zajíce zjištěny v ledvinách a nejnižší hodnoty byly zaznamenány v reprodukčních orgánech a svalech (TOMAN et MASSANYI 1996).

V letech 1990–1994 byly porovnávány koncentrace olova a kadmia u zajíců v průmyslových a zemědělských oblastech Německa a Slovenska (LUTZ et SLAMEČKA 1997).

Obsahem vybraných těžkých kovů v játrech, ledvinách a břišní svalovině zajíce polního se zabývali i v Polsku. Srovnávali věkové rozdíly a některé korelace mezi železem a kadmiem, zinkem, mědí, manganem a olovem v játrech (MYSLEK et KALISINSKA 2006).

Řada výzkumů se zaměřovala na problematiku kontaminace zvěřiny s průnikem xenobiotik do potravinového řetězce a možným ohrožením zdravotního stavu obyvatelstva. Ze sledovaných chemických prvků jsou v této souvislosti nejdůležitější mnohá stanovení rizikových těžkých kovů ve zvěřině (TOTA et al. 1987, PÁV et MÁROVÁ 1988, BUKOVJAN et al., 1990, MASSÁNYI et al. 2003, SLAMEČKA et al. 1994).

V rámci zjišťování nutriční hodnoty zaječí zvěřiny bylo provedeno stanovení mastných kyselin v intramuskulárním tuku *musculus longissimus lumborum et thoracis* (SLAMEČKA et al. 1998).

V komplexní hygienické studii zvěřiny 71 zajíců ulovených ve východním Chorvatsku byly v jejich ledvinách stanoveny koncentrace kadmia, rtuť, arzenu a olova (SKRIVANKO et al. 2008). Zjištěné koncentrace byly porovnávány s obdobným výzkumem na Slovensku (KRAMÁROVÁ et al. 2005). Pozoruhodné z hlediska metabolismu a deponace jsou i signifikantní rozdíly v koncentraci některých těžkých kovů mezi pohlavími.

3.4. Výskyt a užití arzenu

Arzen je environmetální polutant, který má vážný toxický efekt na živočichy i člověka. Historicky je doložena řada případů intoxikací arzenem. Zejména senzorické a chemické vlastnosti kysličníku arzenitého (arzeniku) ve starověku a středověku předurčovaly jeho sebevražedné a vražedné užití. Arzenik, „utrejch“ je klasickým jedem deratizačním (RIEDL et VONDRÁČEK 1980). Jde o bílý prášek bez zápachu a chuti, levný, mísitelný s cukrem, nesnižující chuť k jídlu, již

v malých dávkách vyvolávající změny imitující tehdy fatální onemocnění. Jeho účinky mají sklon být kumulativní, umožňující travičovi oslabit oběť postupnými malými dávkami před podáním fatální dávky.

V nižších dávkách se různé sloučeniny arzenu používaly v lékařství proti některým infekčním pohlavním chorobám a leukémii.

Diskusi vyvolává tvar křivky odezvy ve vztahu k arzen-indukované karcinogenezi případně toxicitě, a to zejména při nízkých dávkách. Nedávné epidemiologické studie ukázaly, že relativní riziko nádorových onemocnění u populace vystavené dávce menší nebo rovné 60 ppb arzenu v pitné vodě je často nižší, než je riziko u neexponované kontrolní populace. Nízké dávky arzenu tedy patrně mají ochranný účinek proti oxidačnímu stresu a poškození DNA (SNOW et al. 2005).

Dřívější standard Světové zdravotnické organizace (WHO) pro pitnou vodu 50 µg/l podle některých epidemiologických údajů představoval malé bezpečnostní rozpětí s ohledem na rakovinu kůže (PERSHAGEN 1981).

Podle současného doporučení WHO by koncentrace arzenu v pitné vodě neměla překračovat 10 µg/l. Na základě tohoto kritéria lze odhadnout, že desítky milionů lidí jsou v nebezpečí ohrožení arzenem, zejména v některých oblastech ložisek uhlí (NG et al. 2003).

Arzenové preparáty se ve veterinární medicíně dlouhodobě užívaly k ošetření lokálních poranění. U koní se malé dávky arzenu aplikovaly k celkovému zlepšení kondice při prodeji na trzích. V počátcích minulého století byly organické sloučeniny arzenu podávány jako růstový stimulant drůbeži a prasatům. To vedlo i k růstu reziduí arzenu v mase těchto zvířat. V některých zemích se tento postup uplatňuje dosud (NRIAGU 1994).

Zajímavá je hygienická studie o průměrné celkové koncentraci arzenu v kuřecím mase v letech 1989–2000 a odhadované expozici pro spotřebitele kuřecího masa provedená v USA (LASKY et al. 2004). 3–4× vyšší koncentrace arzenu u výkrmových kuřat než u ostatní drůbeže patrně napovídá o růstově stimulační dotaci krmiva arzenem.

Na úrovni sledování hygieny potravin v souvislosti možnou konzumací arzenem, případně metylrtuťí kontaminovaných potravin jsou v určitých oblastech USA vytvářena modelová dietetická doporučení hlavně v souvislosti s prevencí rakoviny (MACINTOSH et al 1997).

Nejvýznamnějšími antropogenními zdroji arzenu je spalování fosilních paliv, nadměrné užívání pesticidů, prostředky na konzervaci dřeva a metalurgický průmysl. Kontaminace prostředí arzenem z antropogenních i přirozených zdrojů je globálním problémem (THORNTON 1999).

Největší zátěže prostředí způsobené arzenem se nacházejí v oblastech dolů metalických rud. V rozsáhlé studii životního prostředí okolí wolframových dolů v jihočínském Shantou byl stanoven obsah arzenu v zemědělské půdě v rozsahu 35–935 mg/kg. Vysoký obsah arzenu byl stanoven i v pitné vodě, zelenině, rýži a rybách. Ve vlasech lidí byl stanoven obsah As 2,92 mg/kg a v moči 164 µg/l (LIU et al. 2010).

Kyslíčnick arzeničný a kyslíčnick arzenitý jsou široce distribuované v prostředí. Vyskytují se společně a vzájemně se přeměňují. Větší zastoupení v prostředí má pětimocná forma (SMITH et al. 1998). Obecně platí, že trojmocné sloučeniny arzenu As³⁺ jsou 5× až 20× toxičtější než As⁵⁺.

3.5. Metabolismus arzenu a akutní toxicita

Arzen je inhibitorem biochemických reakcí. Arzenitany a arzeničnany jsou účinné tím, že poskytují toxické aniony rozpustné ve vodě. Arzenitany reagují s tiolovými skupinami a brzdí tak aktivitu některých enzymů (PISKAČ et KAČMÁR 1985).

V lidské populaci je vstřebávání, metabolismus i vylučování arzenu poměrně dobře a rozsáhle zdokumentováno. Účinek akutní nebo chronické intoxikace závisí na pohlaví, věku, dávce a délce trvání expozice (FOWLER 1977).

Absorpce gastrointestinálním traktem do krevního řečiště je závislá na vodorozpustnosti a chemickém charakteru arzenových sloučenin. Značná část těchto sloučenin je v lidském těle metabolizována a většina je dále vylučována

močí. U lidí je detailně prozkoumána dynamika biometylace arzenu a jeho vylučování. Rovněž tak je prozkoumána dynamika retence arzenu v krvi a tkáních. Pro svoji afinitu ke keratinu se trojmocný arzen As (III) akumuluje ve vlasech a nehtech arzenem exponovaných jedinců (VALENTINE et al. 1979). Tato vlastnost je indikátorem expozice trojmocným arzenem (OLGUIN et al. 1983). Akumulace arzenu ve vlasech umožňuje objasnit travičské případy i z exhumovaných mrtvol. Pro potřeby forenzní medicíny byla provedena studie, kdy vlasy umyté vodou silně kontaminovanou arzenem obsahují identické množství arzenu jako při perorální otravě (HINDMARSH et al. 1999). V oblastech se zvýšenou expozicí arzenu v prostředí byly zjištěny obdobně zvýšené koncentrace arzenu v srsti zajíců a dětských vlasech (NOVÁKOVÁ et al. 1973).

Žlučová a močová exkrece, včetně analýzy arzenových metabolitů, byla po podání anorganického arzenu exaktně zdokumentována u laboratorních potkanů (GREGUS et al. 2000).

Obsah arzenu v lidském těle je 3–4 mg a s věkem obvykle stoupá. Ve většině tkání lidského těla, kromě vlasů, nehtů a zubů je v sušině koncentrace od 0,3 do 140 µg/g. Savci mají tendenci akumulovat arzen v tkáních bohatých na keratin, jako jsou vlasy a nehty. Normální koncentrace arzenu v moči se pohybuje od 5 do 40 µg celkově za den (MANDAL et SUZUKI 2002).

Rozsáhlé srovnání výskytu 18 prvků včetně arzenu v srsti zajíce , hraboše polního a myšice křovinné v různě exponovaných oblastech průmyslovými imisemi potvrdilo kumulaci arzenu metodami instrumentální neutronové aktivační analýzy – INAA (OBRUSNÍK et PAUKERT 1973).

Metabolismus arzenu má rozhodující vliv na jeho toxické účinky. Většina, ale ne všechny savčí druhy, metylují anorganický arzen. Existují rozdíly mezi jednotlivými druhy a lidskou populací v rozsahu metylace anorganického arzenu (GOERING et al. 1999, VAHTER et CONCHA 2001, VAHTER 2002). Metylované formy arzenu jsou vylučovány především močí (VAHTER et CONCHA 2001).

Akutní toxicita arzenu závisí na jeho chemické formě a oxidačním stupni. Základní princip je, že akutní toxicita trojmocného arzenu je větší než pětímocného (HUGHES 2002).

Také se obecně předpokládalo, že organické formy arzenu jsou vlastně výsledkem detoxikace organismu a jsou tedy méně toxické než anorganické sloučeniny arzenu (GEBEL 2002). Některé nové výzkumy porovnávající cytotoxické účinky anorganických a metylovaných sloučenin arzenu toto dogma zpochybňují (STÝBLO et al. 2002).

Selen jako metaloid s podobnými chemickými vlastnostmi jako arzen při současné expozici s arzenem snižuje metylaci anorganického arzenu a tím zvyšuje jeho toxické účinky. Tento efekt byl prokázán na potkaních hepatocytech (STÝBLO et THOMAS 2001).

Akutní intoxikace arzenem vyvolávají místní podráždění, poškození žaludku, střev, jater, ledvin, pokožky a nervových buněk.

3.6. Chronická toxicita

Rozsáhlou rešerší literatury popisující nerakovinné efekty vyvolané expozicí arzenem u lidí, zvířat a v modelech in vitro lze konstatovat výrazné imunotoxikologické účinky vedoucí ke zvýšenému riziku infekcí (DANGLEBEN et al. 2013).

Chronická expozice anorganického arzenu vyvolává vážná poškození nervového a kardiovaskulárního systému, jater a ledvin. U lidí chronicky intoxikovaných arzenem kontaminovanou vodou jsou často pozorovanými symptomy konjunktivitidy, gastroenteritidy, hyperpigmentace a hyperkeratóza kůže, zvláště na místech vystavených tlaku tzv. arzenová melanosa (DAS et al. 1996).

Epidemiologické studie prováděné v západním Bengálsku na populaci 7 683 lidí porovnávaly četnost výskytu nemaligních onemocnění plic v závislosti na pigmentaci kůže, výskytu kožních lézí a koncentraci arzenu v pitné vodě. Byly zjištěny pozitivní korelace. Kromě posouzení chronických bronchitid a kašle byly

prováděny RTG a CT hrudníku. Výsledky byly porovnány s obdobným výzkumem z Bangladéše (GUHA MAZUMDER 2007).

V oblastech Bangladéše se zvýšenou expozicí arzenu v pitné vodě byl u 185 lidí prováděn výzkum enzymatické aktivity laktát dehydrogenázy (LDH) v krvi. Kontrolní skupina 121 lidí pocházela z arzenem neexponovaných oblastí. Výrazné zvýšení aktivity LDH bylo pozorováno s rostoucí koncentrací arzenu ve vodě, vlasech a nehtech. LDH v krvi hraje důležitou roli v predikci poškození buněk a orgánů nebo jako vodítko k diagnóze různých druhů rakoviny (KARIM et al. 2010).

Porovnáním řady studií různých lidských populací vystavených konzumací silně arzenem kontaminované pitné vody existují značné rozdíly v nemocnosti a symptomech onemocnění. Například v západním Bengálsku a vnitřním Mongolsku jsou takto chronicky exponovány statisíce obyvatel. Porovnáním epidemiologických dat nelze vyloučit rozdílnou tumorogenitu mezi mexickým a tchajvanským obyvatelstvem. Některé studie naznačují, že určité andské populace jsou rezistentní ke vzniku nádorů kůže i při dlouhodobé silné expozici arzenem (GEBEL 2000).

Z hlediska pracovního lékařství se provádí v USA monitorování moči, vlasů a nehtů v rizikových provozech. V továrně na pesticidy ve Fort Valley, Georgia byly u 40 pracovníků na konci pracovního týdne stanoveny hodnoty průměrné koncentrace arzenu v moči 11 $\mu\text{g/l}$, v nehtech 0,79 $\mu\text{g/g}$ a ve vlasech 0,78 $\mu\text{g/g}$ (HEWITT et al.1995).

V Sonoře v Mexiku byly stanoveny koncentrace arzenu v moči 7–11letých dětí v závislosti na míře kontaminace pitné vody arzenem (WYATT et al.1998).

Ve skotském Glasgowě byla prováděna postmortální stanovení arzenu v játrech, plicích, ledvinách a slezině u dospělých a dětí. Současně byl stanoven obsah arzenu ve vlasech u 1 250 běžných obyvatel (RAIE 1996). Stanovené průměrné hodnoty v $\mu\text{g/g}$: játra dospělí (n = 9) 0,048, játra děti (n = 9) 0,0099, plíce dospělí (n = 8) 0,044, plíce děti (n = 9) 0,007, slezina dospělí (n = 9) 0,015, slezina děti (n = 8) 0,0049, vlasy 0,650 (n = 1 250) .

V oblasti s vulkanickou aktivitou a termálními prameny v okolí tureckého Izmiru bylo vyšetřeno mateřské mléko 35 žen. Průměrná koncentrace arsenu byla stanovena 4,23 µg/l (ULMAN et al.1998).

V arzenem exponovaných oblastech Německa v Severním Falcku byla provedena rozsáhlá studie u 200 obyvatel zaměřující se na biomonitoring rtuti, arsenu a antimonu. Ve vlasech mužských probandů byly zaznamenány statisticky významně vyšší hladiny arsenu (GEBEL et al. 1998).

Průvodním znakem bývá snížená aktivita kostní dřeně spojená s aplastickou anemií (RIEDL et VONDRÁČEK 1980).

3.7. Kancerogenita arsenu

V souvislosti s průlomovým objasněním kancerogenity arsenu na molekulární úrovni enormně stoupá zájem o objasnění metabolismu arsenu u různých modelových organismů (HUGHES 2002).

Důležitým zjištěním současných výzkumů je detailní popis poklesu opravných mechanismů při replikaci DNA u jedinců vystavených expozici arzenem v pitné vodě (ANDREW et al. 2006).

Arzen je klasifikován Mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC 1980, 1987) jako závažný lidský kancerogen. Tato vlastnost arsenu je v současnosti rovněž velmi intenzivně zkoumána na molekulární úrovni (HUGHES 2002).

Genotoxita je v těchto výzkumech přisuzována hlavně metylovaným formám arsenu (YAMANAKA et al.1997, MASS et al. 2001). Cytotoxické a genotoxické účinky způsobené různými deriváty arsenu jsou studovány stále častěji na buněčných kulturách než na laboratorních zvířatech (DOPP et al.2004).

Karcinogenní působení arsenu se projevuje zejména nádorovým bujením kůže, plic, jater, ledvin a močového měchýře.

V rámci výzkumu mechanismu vzniku rakoviny kůže působením arzenu jsou přínosné pokusy na transgenních myších a kulturách lidských keratinocytů (GERMOLEC et al. 1997).

3.8. Somatické změny

V rámci využívání zajíce polního jako bioindikátora průmyslového zatížení krajiny byly pozorovány různé somatické změny a zaznamenány některé patologické nálezy.

Přestože biochemické, fyziologické, imunologické a morfologické změny demonstrují výsledný efekt toxického působení, nelze vždy jednoznačně dovést příčinnou souvislost.

Komplexní veterinární vyšetření mají vyšší vypovídající hodnotu, než sledování posunu hodnot jednoho parametru. Různě exponované lokality zpravidla vykazují rozdílný počet histopatologických změn konkrétních tkání.

Játra (*hepar*) jsou největší žlázou v těle se značnou regenerační a detoxikační schopností. Jsou vybavena homeostatickým mechanismem schopným zajistit jejich přirozenou optimální funkci. Hepatoportálním krevním oběhem přicházejí do jater ze střevní stěny kromě důležitých živin i různé toxiny. Silné toxické noxy působí patologické změny především parenchymu. Chronické působení toxinů vyvolává destrukci, případně zánik hepatocytů a vazivovatění jaterní tkáně. Působení kancerogenů bývá provázeno tumory jater.

Ledviny (*ren*) jsou základním orgánem vyměšování savců. Kromě udržování stálého objemu tělesných tekutin (isovolemie), zajišťování stálé koncentrace tekutin, stálé koncentrace elektrolytů a stálého osmotického tlaku (isotonie), ledviny zajišťují i stálost pH (isohydrie). Svou funkcí zabraňují hromadění škodlivých zplodin v krvi.

Kosterní svalovina představuje 40–50 % hmotnosti těla. Slouží hlavně k mechanickému pohybu, uvolňuje velké množství tepla k udržení homoiotermie. Příčně pruhovaný sval (*musculus*) je tvořen snopečky a snopci vazivově

spojených myofibril. Myofibrily schopností kontraktility mění chemickou energii na mechanickou a tepelnou.

Srdce (*cor*) je dutý, permanentně namáhaný svalový orgán umožňující aktivní cirkulaci krve v cévách. Srdeční svalovina (*myokard*) je svou mikroskopickou strukturou podobná stavbě kosterního svalu, ale liší se systémem inervace.

Plíce (*pulmo*) zajišťují výměnu plynů mezi vzduchem a krví. Velký objem respirovaného vzduchu kontaminovaného cizorodými látkami anorganického i organického charakteru může i přes některé bariery umožnit prostup těchto xenobiotik stěnou plicních sklípků až do krve a dále do organismu.

Centrální nervový systém představuje vysoce specializovanou funkční a morfologickou buněčnou tkáň. Jako ústřední vyhodnocovací jednotku lze považovat tkáň mozku (*cerebrum*), která je citlivá jak na chemická, tak i mechanická poškození. Nervová tkáň, včetně mozku má prakticky minimální schopnost reparace svých poškození. Je tedy nemožné dlouhodobé přežití zvířat s tímto poškozením ve volné přírodě.

Tuková tkáň je tvořena adipocyty a představuje především energetický reservoár v organismu. Často bývá místem kumulativního výskytu některých xenobiotik zpravidla organického charakteru (izomery HCH, HCB, analoga DDT, kongenery PCB a deriváty kyseliny ftalové), které se v době strádání zpětně mohou uvolňovat do organismu. Tím vzniká jeho praktická druhotná intoxikace (autointoxikace).

Varlata (*testes*) jsou místem tvorby samčích pohlavních buněk, spermií. Jsou také významnou endokrinní žlázou. V Leydigových buňkách varlat se tvoří nejvýznamnější androgen, testosteron. Zejména chronické působení různých xenobiotik způsobuje ve varlatech zánik parenchymatických buněk, vazivovatění a následnou nefunkčnost tohoto orgánu.

Vaječníky (*ovaria*) zaječek jsou mimořádně funkčně a hormonálně aktivní orgán. Schopnost mnohonásobné ovulace úzce souvisí s dynamickými změnami hladin estrogenů a gestagenů. V korové vrstvě se nacházejí folikuly v různém stupni zrání. Dřeň je tvořena řídkým vazivem s vyživujícími cévami a nervovými vlákny.

Kost (*os*) je tvrdá mineralizovaná stavební jednotka kostry. Kostra tvoří mechanickou oporu těla. Kompaktní i spongiózní tkáň kosti je do značné míry tvořena vápenatými solemi a fosfáty. Naproti tomu dřevina kosti vykazuje značnou metabolickou aktivitu. Postupná osifikace distální ulnární epifyzy mladých zajíců bývá při odloveh vyžívána k diferenciaci věku.

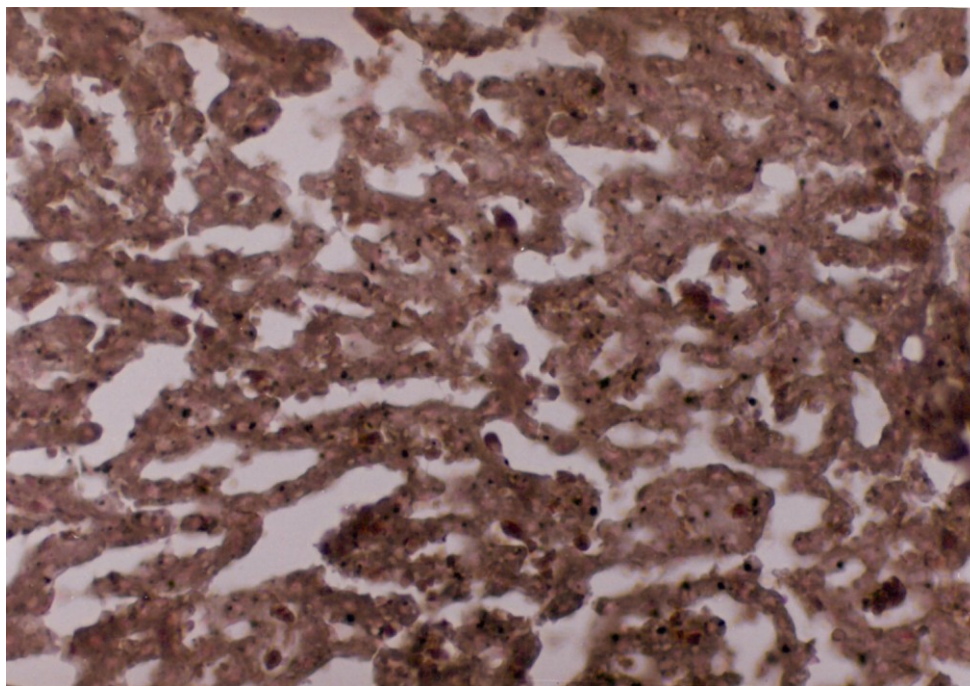
Přestože srst (*villus*) zajíce polního je permanentně vystavena všem zplodinám ovzduší, můžeme na jejím povrchu vzhledem k enormní čistotnosti zajíce zjišťovat pouze aktuální výkyvy. V samotných chlupech tvořených keratinizovanou tkání lze sledovat dlouhodobější výkyvy cizorodých látek v jednotlivých ekosystémech.

Pro zaječí zvěř, obdobně jako i králíka divokého (*Oryctolagus cuniculus* L.), je charakteristická caekotrofie. Jedná se o stav, při kterém dochází k tvorbě dvojího trusu lišícího se svým charakterem i složením. Primární trus je řidší, světleji zbarvený, s nižším obsahem hrubších částí, obsahuje zvýšené množství přirozených vitaminů. Po vypuzení z řitního otvoru je následně v krátké době opět konzumován. Druhý, tzv. definitivní trus, je bobkovitého tvaru, za normální situace u zdravého kusu tvrdý, světle zelené až hnědozelené barvy. Trusem se dostávají z organismu nestrávené části potravy, škodliviny, cizorodé látky, kokcidie a oblí gastrointestinální helminti.

V lokalitách Křinec, Loučeň (okr. Nymburk), Bystřice, Loket (okr. Benešov), Pelhřimov a Kojčice (okr. Pelhřimov) bylo v letech 1981–1983 zjištěno 76,8 % jedinců s patohistologickými změnami různého charakteru a rozsahu. V roce 1961 bylo takto postiženo pouze 65 % vyšetřených zajíců. Nejvíce postiženým orgánem byla játra (43 %), dále plíce (29 %) a nadledviny (28 %). Nejčastější nálezy byly alimentární etiologie (PÁV 1985, BUKOVJAN et al. 1988, 1990). Pokračující sledování v těchto lokalitách vedlo na základě toxikologických a patologických vyšetření k závěru, že se jedná o obraz chronického zatěžování organismu komplexem různých negativních faktorů (PÁV et MÁROVÁ 1988).

V souboru 211 zajíců ulovených v letech 1987–1990 v oblasti středních Čech byla nalezena řada patomorfologických změn. Pouze některé bylo možno

interpretovat jako důsledek působení antropogenních faktorů. Například závažná změna jaterní tkáně – malokapénková steatóza, byla dávana do souvislosti s déletrvající monodietou a podvýživou. Fokální nekrózy jater mohou signalizovat proběhlou intoxikaci (KARPENKO et BUKOVJAN 1992).



Obr.1. Steatóza jater – zajíc (černý sudan, zmraz.řez,260×) – ilustrační histologické foto.

Během období 1981–1993 je možno pozorovat u zajíce nárůst podílu patomorfologických nálezů především na játrech (49,7, 61,4, 64,5 %), ale i na ledvinách (24,6, 42,7, 37,1 %). U ostatních orgánů je možno konstatovat stagnaci, případně i sestupný trend (BUKOVJAN et al. 1995).

Rozbor hlavních příčin ztrát zaječí zvěře v letech 1975–1979 byl z hlediska potřeb Státní veterinární správy vyhodnocován v tehdy na choroby lovné zvěře specializovaném Státním veterinárním ústavu Jihlava (ŠTĚRBA 1982). Za uvedené období bylo vyšetřeno 2 260 zajíců ke stanovení příčiny úhynu. Jako příčina úhynu byly určeny ve 13,2 % alimentární poruchy, v 1,4 % akutní zánět

žaludku, v 20,3 % chronický zánět žaludku, v 10,9 % zánět žaludku a střev a ve 12,4 % případů postižení jater.

O možném mechanismu působení těžkých kovů a chlorovaných uhlovodíků na organismus bylo uvažováno při nálezů extracelulárního ceroidu u 19 jedinců zajíce polního a 5 jedinců ondatry z oblasti středních Čech. Ten je důsledkem degenerativního procesu v tukové tkáni, který je indukován pravděpodobně nedostatkem antioxidantních protektivních látek (KARPENKO et al. 1994, KARPENKO et BUKOVJAN 1995).

Rozsáhlému systematickému a dlouhodobému výzkumu zdravotního stavu a životních podmínek zajíce polního se od roku 1987 na Slovensku věnují pracovníci Výzkumného ústavu živočišné výroby v Nitra. Monitorují pokles populací zajíců zejména v západním Slovensku (SLAMEČKA et al. 1997, HELL et SLAMEČKA 1999). Obdobně byly analyzovány ztráty zaječí zvěře během reprodukčního cyklu ve východním Slovensku (CIBEREJ et KAČÚR 1991).

Vlastní hodnocení zdravotního stavu zajíců na Slovensku je založeno na dlouhodobém soustavném vyhodnocování patologických, serologických a parazitologických vyšetření. Odebrané vzorky krve zajíců jsou vyšetřovány na přítomnost protilátek proti brucelóze, Q-horečce, leptospiróze, toxoplazmóze, chlamydióze a tularemii (JURČÍK et al. 2007). Tak je získán přehled o výskytu infekčních, případně invazních onemocnění. Porovnáváním patologických změn myokardu a parenchymových orgánů v konkrétních honitbách a různých obdobích vyšetření lze sledovat vývojové tendence v morbiditě zajíců za relativně dlouhé období (ŠPENIK et al. 1978, JURČÍK et al. 1995, 2001, 2007, 2011). Z uvedených vyšetřovaných orgánů vykazovaly trvale největší incidenci patologických změn játra. Z popisovaných jaterních defektů se nejčastěji vyskytují poruchy krvení (hyperemie a anemie), dále degenerativní změny lehčího stupně a výskyt malých ohraničených nekrotických ložisek neprominujících na povrch. Méně časté byly tukové degenerace a abscedující hepatitidy. Nejnižší počet patologických změn byl dlouhodobě sledován na myokardu. Patologické změny charakteristické pro brucelózu zajíců popisuje RAJSKÝ a kol. (2012).

Diagnostika nádorů u zvěře je poměrně vzácná. Jistě to souvisí zvláště u zajíců se silným predčním tlakem na nádory oslabený organismus. V rámci dlouhodobých výzkumů zajecí zvěře se podařilo zaznamenat koetální teratom ovaria u zaječky (BUKOVJAN et KARPENKO 1989). U norníka rudého byl v rámci komplexního monitoringu prostředí v Tatranském národním parku také na vaječnicku zaznamenán adenokarcinom (BUKOVJAN et al. 1995). Ze souboru 479 lišek vyšetřovaných v letech 1985–2010 byla zachycena následující nádorová onemocnění: odontom horní čelisti, dva maligní ohraničené tumory mléčné žlázy, cholangiocelulární karcinom a papilom mléčného kanálku (BUKOVJAN et al. 2011).

U silně kachektické samice jezevce byl diagnostikován metastazující adenokarcinom ovaria. Kromě patologické a histologické diagnózy byl imunohistochemicky prokázán protein Ki-67 svědčící o středně silné proliferální aktivitě nádorových buněk (KUTLVAŠR et al. 2014).

V nádorech zvěře klasifikovaných humánním systémem klasifikace nádorů (ICD-O) byly stanovovány obsahy vybraných chemických prvků (BUKOVJAN et KARPENKO 1996, BUKOVJAN et al. 2014).

4. METODIKA

4.1. Materiál

4.1.1. Původ a rozdělení vyhodnocovaných zajíců

V rámci monitoringu arzenů v biologických matricích zaječí zvěře byli cíleně vyšetřováni adultní jedinci obojího pohlaví z modelových lokalit různě zatížených ekosystémů České republiky. Tito jedinci pocházejí v posledních letech především ze zimních odlovů. Obvykle jsou vzorky tkání maximálně využívány k různým vědeckým zkoumáním. Hlavně se jednalo o chrupavky ušních boltců (obr. 2), oční bulby a sleziny. Vyhodnocování zajíců pocházeli ze tří pracovně pojmenovaných oblastí odlovu:

32 kusů (14 samců, 18 samic) Litoměřicko – Mělnicko

42 kusů (22 samců, 20 samic) Hodonínsko

31 kusů (15 samců, 16 samic) Pardubicko – Hradecko

Vzhledem k záměru zmapovat tento živočišný druh ve vztahu k deponování arzenů v maximálním počtu zkoumaných biologických matric, nebylo vhodné takto získané soubory zkoumaných jedinců dále dělit dle místa odlovu a katastrálního území. Statistické hodnocení by v případě dalšího dělení na malé soubory bylo komplikované a méně průkazné. S ohledem na možné rozdíly v metabolismu způsobené pohlavními hormony, byly samostatně posuzovány zaječky a zajíci.

Vzhledem k možnosti srovnání souborů se jedná o adultní jedince, neboť řada autorů prokázala již v minulosti vliv stáří na kumulaci chemických prvků v organismu zaječí zvěře.

Stáří zaječí zvěře bylo určeno běžně používanou terénní metodou (STROH 1931). Jedná se o rychlou palpační metodu, vyžadující určitou praxi hodnotitele. Strohův znak je prominující distální epifyza loketní kosti. Vyskytuje se u juvenilních jedinců do stáří 7–8 měsíců. Přesnější laboratorní metoda založená na posouzení adhezních linií spodní čelisti jedince (CIBEREJ et MAREČEK 1990) byla vzhledem k časové a technické náročnosti pro nás omezeně použitelná.

Porovnáním určování věku zajíců vážením očních čoček se stanovením pomocí prominující distální epifyzy ulny se má zato, že palpační vyšetření podhodnocuje zastoupení tohoročních zajíců, protože nelze takto rozeznat zajíce z brzkých jarních vrhů (HRUŠKA et al. 2011).



Obr. 2. Označený jedinec zajíce polního před pitvou (všechna foto K. Kutlvašr, pokud není uvedeno jinak).

Celkem je předmětem v této práci sledování arsenu u 105 jedinců zaječí zvěře z níž je 51 kusů samčího (58,57 %) a 54 kusů samičího pohlaví (51,43 %). Statisticky se tak prakticky jedná o vyrovnané a tudíž dobře vyhodnotitelné soubory.

4.1.2. Charakteristika zkoumaných matric

Analýzám bylo podrobena celkem 11 biologických matric, jak tkání, tak i trusu a srsti, což představuje celkem 1 155 dílčích analýz sledovaného prvku.

Během klasické pitvy provedené v co nejkratší době po odlovu jedince byly odebírány vzorky orgánů, trusu a srsti k toxikologickým vyšetřením na přítomnost rizikového prvku arzenu.



Obr. 3. Odebrané vzorky tkání od jednotlivých zajíců.

Jednotlivé vzorky jsou označovány číslem pitvaného jedince a zkratkou latinského názvu odebraného orgánu (He – *hepar* – játra, Ren – *ren* – ledvina, Mu – *musculus* – svalovina, Co – *cor* – srdce – *myocard*, Pu – *pulmo* – plíce, Cl – *cerebrum* – mozek, tuk, Tes – *testis* – varle, Ov – *ovarium* – vaječník, Os – *os* – kost – *femur* – stehenní kost, Vill – *villus* – srst, Exk – *excrementum* – výkal – trus).

Z reprodukčních orgánů byla zjišťována koncentrace arzenu jak ve varlatech samců, tak i vaječnicích samic.

4.2. Vyšetření

4.2.1. Patomorfologická vyšetření

Před vlastní pitvou byli odlovení jedinci označeni na zadní končetině hliníkovými štítky s číslem odloveného jedince. Tento identifikační štítek dále provázal soubor odebraných matric až k dalšímu zpracování.

Pitvy byly prováděny v co nejkratší době po odlovu, aby se minimalizovaly postmortální změny orgánů. Kromě nutnosti odběru příslušných matric k analýzám arzenů byly důkladně sledovány patomorfologické změny jednotlivých orgánů.



Obr. 4. Odběr vzorků tkání k histologickému vyšetření.

V rámci prováděných patomorfologických vyšetření byla samostatně věnována pozornost případným patologickým defektům reverzibilního a ireverzibilního charakteru.

Vzorky tkání o rozměrech cca 10 × 10 mm k patohistologickému vyšetření (obr. 4) byly fixovány po dobu nejméně 48 hodin v 10% roztoku formaldehydu. Po jejich dokonalém profixování pak byly zpracovávány rutinní parafinovou histologickou metodou s využitím základních (hematoxylin-eozin), selektivních a

speciálních barvením (Gömöry, Steinova reakce, Perlsova reakce, trichromová barvení, Nisslova modř aj.).

Při zjištění nádorových změn v orgánech je uplatňována klasifikace nádoru dle anglosaského systému ICD-O používaného v humánní onkologii (KARPENKO et BUKOVJAN 1996).

Na přítomnost koncentrace arzenu nebyla však vzhledem ke své velikosti vyšetřována slezina, neboť byly použity k jiným vyšetřením souběžně probíhajícím v rámci sledování tohoto souboru 105 jedinců.

4.2.2. Chemická vyšetření

Vzorky byly uchovávány až do doby analýzy zmražené při -21°C . Vyšetření se po homogenizaci a mineralizaci tzv. suchou cestou či mokrou cestou provádí zpravidla metodou AAS.

4.2.3. Statistická vyhodnocení

U všech získaných dat byla u zajíců testována normalita a homogenita rozdělení. Následně byla provedena jednofaktorová ANOVA k odhalení rozdílu koncentrace v jednotlivých typech tkáně ($p = 0,05$, $F = 51,42$). Poté byl proveden Post-hoc LSD Fisherův test pro odhalení rozdílů mezi jednotlivými typy matric.

5. VÝSLEDKY

Stanovení koncentrace arsenu v jednotlivých biologických matricích bylo provedeno u obou pohlaví v dospělém věku zajíce polního. Prvotní výsledky naměřených hodnot jsou statisticky zpracovány a shrnuty v tabulce č. 1 (zaječky) a v tabulce č. 2 (zajíci); souhrnné výsledky u obou pohlaví viz tabulka č. 3.

Tabulka č. 1. Zaječky – soubor hodnot arzenů v matricích ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) ; statistické vyhodnocení.

	He Játra	Ren Ledviny	Mu Sval	Co Srdce	Pul Plíce	Cl Mozek	Tuk Tuk	Tes Vaječníky	Os Kost	Srst	Výkaly
Průměr	0,01872	0,02929	0,00783	0,00842	0,01729	0,38637	0,07980	0,02224	0,05783	0,72163	0,37860
Min	0,00460	0,00198	0,00240	0,00190	0,00190	0,00140	0,00150	0,00200	0,00198	0,00730	0,06150
první kvartil	0,00688	0,01360	0,00460	0,00390	0,01193	0,00428	0,00285	0,00840	0,01353	0,47588	0,29423
třetí kvartil	0,02170	0,02570	0,00870	0,00695	0,02100	0,96710	0,00475	0,01120	0,02760	1,00700	0,46245
Max	0,09660	0,17960	0,02440	0,05600	0,09650	1,39810	0,69180	0,59810	1,29300	1,39110	0,66010
Medián	0,00950	0,01895	0,00690	0,00490	0,01510	0,00955	0,00360	0,00910	0,01900	0,62480	0,38565
Modus	0,00770	0,01360	0,00510	0,00490	0,01510	0,00610	0,00360	0,00910	0,01460	0,00000	0,39650
Rozptyl	0,00041	0,00146	0,00002	0,00012	0,00021	0,26664	0,04313	0,00653	0,03116	0,12564	0,01568
sm. odch.	0,02000	0,03783	0,00450	0,01081	0,01419	0,51157	0,20575	0,08008	0,17488	0,35116	0,12406

Tabulka č. 2. Zajíci – soubor hodnot arzenů v matricích (mg.kg⁻¹) ; statistické vyhodnocení.

	He Játra	Ren Ledviny	Mu Sval	Co Srdce	Pul Plíce	Cl Mozek	Tuk Tuk	Tes Varlata	Os Kost	Srst	Výkaly
Průměr	0,0192	0,0232	0,0086	0,0048	0,0147	0,3990	0,0565	0,0241	0,0349	0,7309	0,3645
min.	0,0050	0,0024	0,0036	0,0006	0,0012	0,0012	0,0020	0,0063	0,0068	0,2040	0,1010
první kvartil	0,0070	0,0130	0,0048	0,0030	0,0108	0,0051	0,0027	0,0084	0,0124	0,4346	0,2800
třetí kvartil	0,0208	0,0230	0,0089	0,0049	0,0190	0,9671	0,0040	0,0100	0,0210	1,0066	0,4180
max.	0,0970	0,1840	0,0600	0,0390	0,0510	2,3610	0,6910	0,6113	0,1793	1,4610	0,6110
Medián	0,0085	0,0146	0,0070	0,0041	0,0141	0,0069	0,0030	0,0091	0,0185	0,6150	0,3760
Modus	0,0058	0,0141	0,0044	0,0045	0,004	0,0051	0,003	0,0091	0,0141	0,615	0,365
Rozptyl	0,0005	0,0008	0,0001	0,0000	0,0001	11,0575	0,0314	0,0071	0,0022	0,1425	0,0138
sm. odch.	0,0217	0,0284	0,0081	0,0051	0,0091	0,6078	0,1772	0,0845	0,0466	0,3775	0,1174

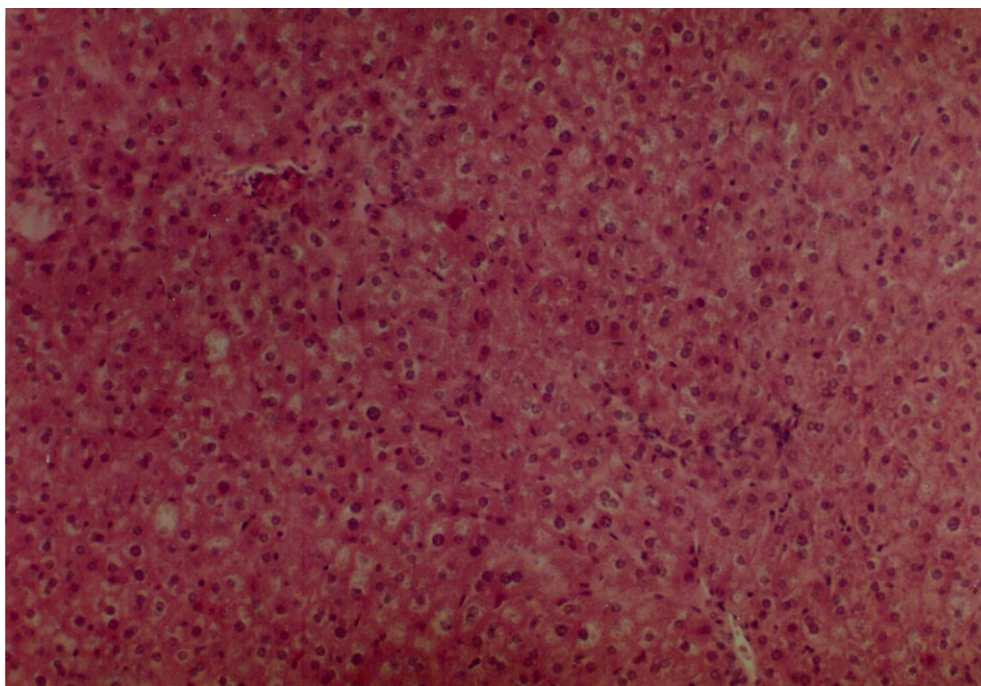
Tabulka č. 3. Soubor dat bez rozlišení pohlaví (mg As .kg⁻¹) ; statistické vyhodnocení.

	He Játra	Ren Ledviny	Mu Sval	Co Srdce	Pul Plíce	Cl Mozek	Tuk Tuk	Tes Varlata	Os Kost	Srst	Výkaly
Průměr	0,01893	0,02636	0,00820	0,00668	0,01605	0,39250	0,06850	0,02314	0,04670	0,72612	0,37175
Min	0,00460	0,00198	0,00240	0,00060	0,00120	0,00120	0,00150	0,00200	0,00198	0,00730	0,06150
první kvartil	0,00700	0,01300	0,00460	0,00360	0,01120	0,00470	0,00270	0,00840	0,01310	0,46100	0,29400
třetí kvartil	0,02110	0,02510	0,00860	0,00570	0,01910	0,96610	0,00410	0,01040	0,02360	0,98910	0,43660
Max	0,09700	0,18400	0,06000	0,05600	0,09650	2,36100	0,69180	0,61130	1,29300	1,46100	0,66010
Medián	0,00910	0,01800	0,00690	0,00460	0,01450	0,00910	0,00310	0,00910	0,01850	0,61500	0,37990
Modus	0,00580	0,01410	0,00400	0,00490	0,01510	0,00550	0,00300	0,00910	0,02100	0,61500	0,36500
Rozptyl	0,00044	0,00115	0,00004	0,00008	0,00015	0,31707	0,03751	0,00683	0,01707	0,13394	0,01480
sm. odch.	0,02084	0,03372	0,00648	0,00872	0,01204	0,56040	0,19274	0,08224	0,13005	0,36424	0,12106

Výsledky zjištěných patomorfologických změn jsou uvedeny u obou pohlaví (zajíci $n = 51$ a zaječky $n = 54$) a jako celek za vyšetřený soubor ($n = 105$).

Stanovením arsenu v jaterní tkáni zajíce polního nebylo zjištěno podstatných rozdílů ve vztahu k pohlaví ($p = 0,05$ tj. při 95% pravděpodobnosti). U zajíců byla průměrná koncentrace tohoto prvku $0,0192 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,012$ a u zaječek pak $0,0187 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,020$. Maximální koncentrace byly rovněž vzájemně srovnatelné (samci $0,097 \text{ mg.kg}^{-1}$ a $0,0966 \text{ mg.kg}^{-1}$. (tab. č. 1, 2).

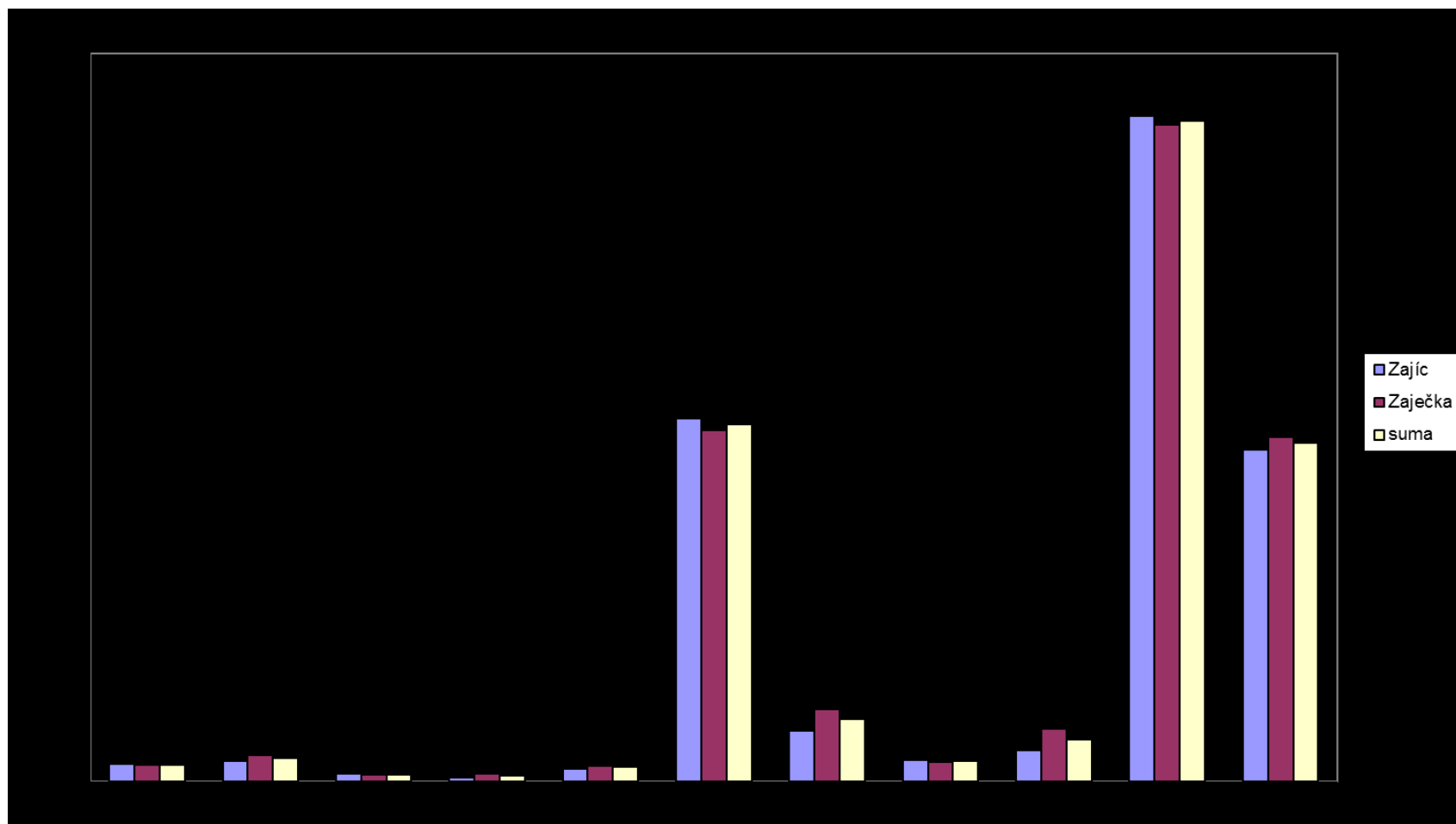
Játra lze vyhodnotit jako nejvíce postižený orgán patomorfologickými lézemi (obr. 1 , 6). Celkově na játrech byly diagnostikovány změny v 55,24 %, přičemž v souboru zajíců výsledky činily 52,94 % a zaječek pak 57,4 %.

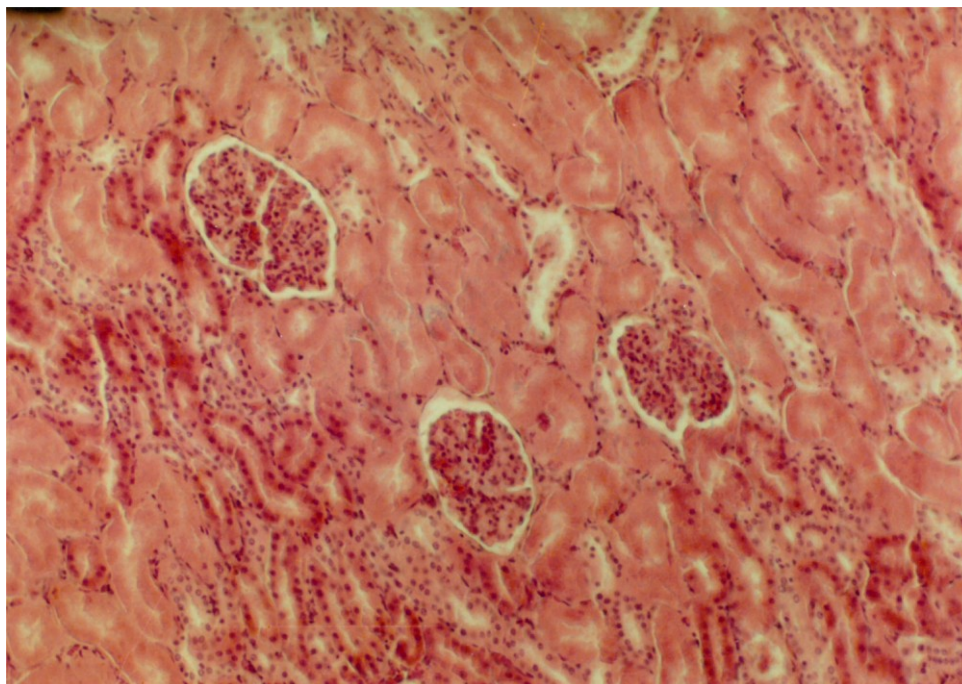


Obr. 6. Anisonukleóza jater, četné binukleární hepatocyty, Eozin, 160 \times .

U zajíce polního byly v ledvinách stanoveny následující hodnoty arsenu, které jsou u obou pohlaví plně srovnatelné a nevykazují žádný významný statistický rozdíl (zajíci $0,0232 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,028$ a zaječky $0,0293 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,038$, $p = 0,05$). V ledvinách byly u obou pohlaví zaznamenány vyšší koncentrace arsenu v porovnání s játry. Podrobná statistika je patrná z tabulek č. 1, 2, 3 a grafu č. 1.

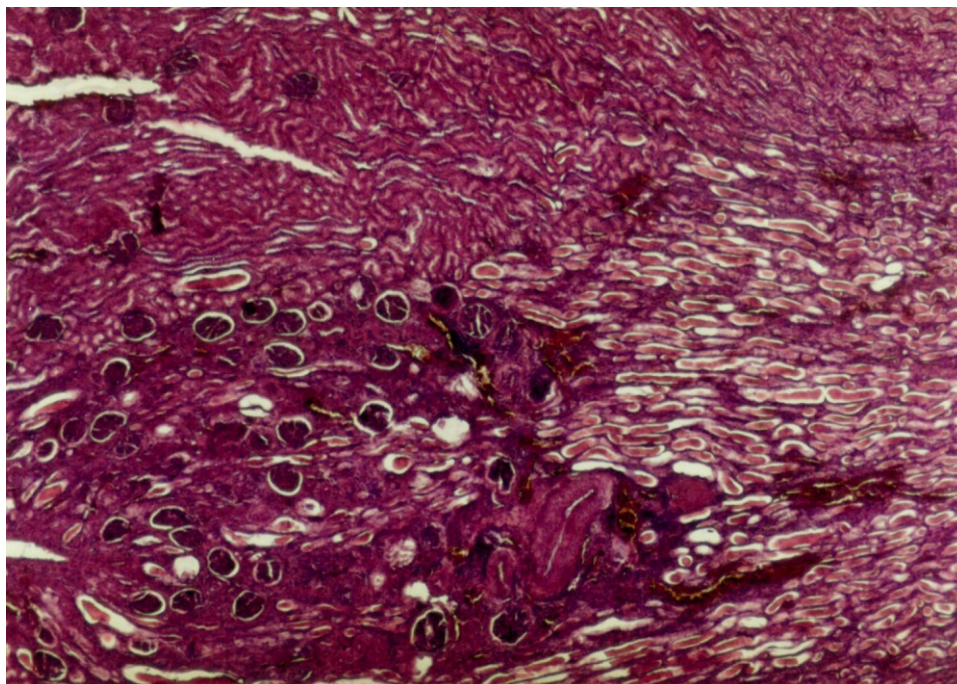
Graf č. 1. Porovnání ukládání arzenu v matricích dle pohlaví; průměrné hodnoty (mg/kg)





Obr. 7. *Nekroza epitelu proximálních tubulů ledviny, HE, 320×.*

Ledviny ve vyhodnoceném souboru lze u zaječí zvěře považovat za druhý nejvíce postižený orgán změnami (obr. 7, 8). V porovnání s játry však byl výskyt změn podstatně nižší a byl srovnatelný s počtem nálezů na respiračním aparátu. Celkem byl tento orgán postižen v 29,52 %, přičemž více nálezů bylo diagnostikováno u zaječek (31,42 %) v porovnání se zajíci (24,56 %).



Obr. 7. Jizvy v ledvině, Eozin, 40×.

Množství arzenu v příčně pruhované svalové tkáni zajíce bylo u obou pohlaví minimálně rozdílné. U samců byla zaznamenána nejvyšší koncentrace arzenu zhruba trojnásobně vyšší oproti samicím (samci $0,0600 \text{ mg.kg}^{-1}$ a samice $0,0244 \text{ mg.kg}^{-1}$). Průměrná hodnota prvku byla u zajíců ve svalovině $0,0086 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,008$ a zaječek pak $0,0078 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,0045$). Souhrn vypočtených hodnot je shrnut v tabulkách č. 1, 2, 3. V rámci histopatlogického vyšetření nebyly u tkáně diagnostikovány žádné patomorfologické léze. Poměrové zhodnocení jednotlivých matric vůči svalu je v tab. 4–6 a v grafu č. 7.

Tabuka č. 4. Porovnání matic vzhledem ke svalu; zajíc.

	sval	játra	ledviny	srdce	pľíce	mozek	tuk	varlata	kost	srst	výkaly
	1,00	1,17	1,88	0,39	0,56	0,78	0,41	1,48	1,48	217,97	57,03
	1,00	0,60	1,56	0,32	0,75	0,17	0,15	0,60	0,60	45,45	21,12
	1,00	0,73	1,75	0,24	1,63	0,15	0,33	0,99	0,99	25,82	12,78
	1,00	4,61	4,97	1,00	6,82	364,47	0,92	2,18	2,18	106,32	54,47
	1,00	1,19	1,66	0,46	0,68	1,66	0,51	1,36	1,36	103,90	67,97
	1,00	0,70	1,35	0,27	1,72	118,45	0,33	0,76	0,76	63,98	43,49
	1,00	1,54	2,22	0,88	1,92	102,45	0,39	0,98	0,98	133,49	43,49
	1,00	1,09	1,74	0,27	1,77	4,00	0,41	11,89	11,89	49,86	35,95
	1,00	1,20	1,84	0,43	0,57	0,83	0,42	1,54	1,54	211,74	57,68
	1,00	4,68	41,82	1,02	3,30	319,32	150,68	2,05	2,05	113,18	60,23
	1,00	0,60	2,44	0,32	0,74	156,36	0,19	0,60	0,60	39,27	8,20
	1,00	7,44	1,62	0,07	2,34	0,20	0,35	1,22	1,22	47,15	68,77
	1,00	1,23	1,98	0,42	0,63	0,92	0,50	1,72	1,72	85,23	81,85
	1,00	3,96	4,18	1,04	5,73	264,51	0,59	1,94	1,94	100,82	64,29
	1,00	0,69	1,74	0,25	1,86	7,79	0,49	1,04	1,04	56,91	36,30
	1,00	4,98	6,50	1,05	6,45	356,61	0,91	2,16	2,16	224,80	115,00
	1,00	4,00	6,89	10,83	4,83	3,86	1,22	2,53	2,53	348,33	108,61
	1,00	0,12	0,21	0,05	0,07	0,09	0,03	0,15	0,15	23,85	6,28
	1,00	5,90	4,50	1,03	3,73	257,75	17,78	2,35	2,35	98,75	65,25
	1,00	0,74	1,96	0,48	0,94	0,43	0,21	0,74	0,74	57,97	32,03
	1,00	0,79	1,69	0,25	1,70	0,19	3,00	0,88	0,88	26,88	76,38
	1,00	1,59	5,70	1,11	2,48	0,93	0,66	1,68	1,68	190,68	85,45

	sval	játra	ledviny	srdce	plíce	mozek	tuk	varlata	kost	srst	výkaly
	1,00	4,83	5,14	1,58	6,97	5,31	1,11	2,33	2,33	176,67	59,72
	1,00	6,79	1,44	0,51	1,79	112,98	0,90	75,47	75,47	66,67	45,06
	1,00	0,71	18,57	0,30	2,01	4,27	0,47	1,16	1,16	70,71	53,57
	1,00	0,45	1,66	0,33	0,75	0,28	0,20	0,51	0,51	67,37	28,36
	1,00	1,39	2,03	0,80	1,81	78,24	0,37	0,87	0,87	78,91	39,75
	1,00	0,61	0,17	0,32	0,85	0,44	0,15	0,60	0,60	47,36	25,07
	1,00	1,12	1,88	0,45	0,62	0,83	0,36	1,33	1,33	184,09	74,09
	1,00	1,19	1,91	0,47	0,57	0,84	0,43	1,64	1,64	186,57	73,57
	1,00	1,44	2,95	0,88	4,90	0,46	0,76	2,66	2,66	100,00	145,85
	1,00	5,24	4,78	0,98	3,63	331,95	168,54	2,22	2,22	93,90	88,05
	1,00	6,59	1,55	0,53	2,65	0,21	0,37	1,29	1,29	49,90	67,03
	1,00	9,32	2,22	0,80	2,27	5,03	0,56	1,51	1,51	65,93	40,85
	1,00	6,47	2,46	0,39	0,74	1,41	0,19	0,59	0,59	41,00	14,33
	1,00	1,09	2,91	0,69	1,64	0,81	0,27	1,23	1,23	93,78	51,49
	1,00	4,57	4,15	0,89	3,24	262,17	137,17	1,98	1,98	104,57	42,61
	1,00	4,39	3,88	0,92	10,41	205,31	0,80	1,94	1,94	125,51	48,16
	1,00	12,01	1,79	0,44	0,54	0,73	0,43	1,64	1,64	197,86	56,71
	1,00	14,88	2,60	0,90	0,96	0,64	0,58	3,02	3,02	243,00	76,20
	1,00	1,23	2,02	0,75	5,83	0,85	0,45	1,52	1,52	230,67	65,17
	1,00	4,47	4,76	1,03	6,61	319,74	0,53	2,24	2,24	109,21	77,89
	1,00	5,28	4,75	0,88	3,60	328,75	166,25	2,28	2,28	98,75	79,50
	1,00	0,73	1,65	0,65	1,72	0,19	0,35	0,97	0,97	26,46	29,24
	1,00	0,62	2,45	0,54	0,08	62,98	0,22	0,60	0,60	40,73	13,18
	1,00	0,62	1,83	0,37	1,40	0,42	0,21	0,69	0,69	94,58	28,17

	sval	játra	ledviny	srdce	plíce	mozek	tuk	varlata	kost	srst	výkaly
	1,00	1,39	2,84	0,71	0,80	1,78	0,61	1,59	1,59	121,76	84,51
	1,00	1,59	3,32	0,91	2,05	1,16	0,45	1,82	1,82	140,45	92,05
	1,00	0,79	2,22	0,50	1,40	0,68	0,27	0,93	0,93	119,80	40,10
	1,00	0,75	1,64	0,37	2,36	0,22	0,33	10,86	10,86	34,69	48,77
	1,00	1,14	2,76	0,86	3,69	0,76	0,39	1,88	1,88	193,16	90,39
Průměr	1,00	2,97	3,78	0,82	2,49	72,38	13,02	3,30	3,30	109,34	56,51
min.	1,00	0,12	0,17	0,05	0,07	0,09	0,03	0,15	0,15	23,85	6,28
první kvartil	1,00	0,75	1,74	0,37	0,78	0,55	0,33	0,95	0,95	53,41	38,02
třetí kvartil	1,00	4,64	4,01	0,90	3,45	107,71	0,71	2,10	2,10	136,97	75,15
max.	1,00	14,88	41,82	10,83	10,41	364,47	168,54	75,47	75,47	348,33	145,85
Medián	1,00	1,23	2,22	0,53	1,79	1,16	0,43	1,52	1,52	98,75	56,71
Rozptyl	0,00	9,96	36,65	2,15	4,83	14691,84	1785,05	110,47	110,47	4974,04	816,96
sm. odch.	0,00	3,12	5,99	1,45	2,18	120,02	41,83	10,41	10,41	69,83	28,30

Tabulka č. 5. Porovnání matic vzhledem ke svalu; zaječky.

	sval	játra	ledviny	srdce	pľíce	mozek	tuk	vaječníky	kost	srst	výkaly
	1,00	3,98	34,20	0,92	2,71	1,00	0,59	1,39	19,14	97,67	72,96
	1,00	1,11	1,92	0,44	0,55	0,63	0,27	2,29	3,24	203,39	57,44
	1,00	0,53	1,56	0,62	0,77	0,17	0,15	0,13	0,67	0,49	4,10
	1,00	0,69	1,73	0,27	1,64	0,17	0,37	1,09	1,64	50,80	25,94
	1,00	1,16	1,46	0,57	0,79	1,56	0,48	1,11	2,61	113,46	68,08
	1,00	4,33	0,53	0,90	6,78	0,70	0,53	2,28	4,25	155,28	107,65
	1,00	0,66	1,64	0,34	1,96	128,64	0,43	0,77	3,82	164,05	56,70
	1,00	1,53	2,57	0,92	0,72	1,15	0,57	2,08	4,45	186,32	74,81
	1,00	4,14	35,22	0,98	3,25	169,61	124,22	1,51	9,02	93,94	53,14
	1,00	0,54	2,50	0,30	0,57	85,31	0,19	0,47	1,44	37,66	8,28
	1,00	6,79	1,68	0,57	2,38	0,21	0,30	2,67	143,67	46,44	67,00
	1,00	1,03	1,97	0,52	0,70	0,88	0,30	1,65	13,99	73,35	70,88
	1,00	4,23	5,90	1,02	5,75	201,69	0,65	2,02	2,90	105,42	69,13
	1,00	6,86	17,44	0,31	1,78	8,26	0,38	1,00	14,42	59,53	36,76
	1,00	6,08	1,37	6,02	1,77	100,92	8,17	64,31	1,57	74,30	24,31
	1,00	4,80	6,16	1,02	6,69	271,11	0,98	2,18	4,42	218,96	113,47
	1,00	4,66	7,84	12,19	5,44	3,81	1,13	2,75	4,66	333,16	140,94
	1,00	4,60	8,50	10,03	5,53	4,17	1,53	2,97	4,53	370,67	138,53
	1,00	9,92	8,79	0,83	5,67	333,79	33,38	3,58	5,67	152,33	108,29
	1,00	0,68	1,81	0,43	0,86	0,43	0,19	0,70	0,55	52,55	25,23
	1,00	0,86	1,82	0,24	12,22	0,23	3,18	0,87	1,08	28,05	79,25
	1,00	5,78	5,15	0,95	3,68	90,02	1,34	2,20	5,12	211,00	92,66

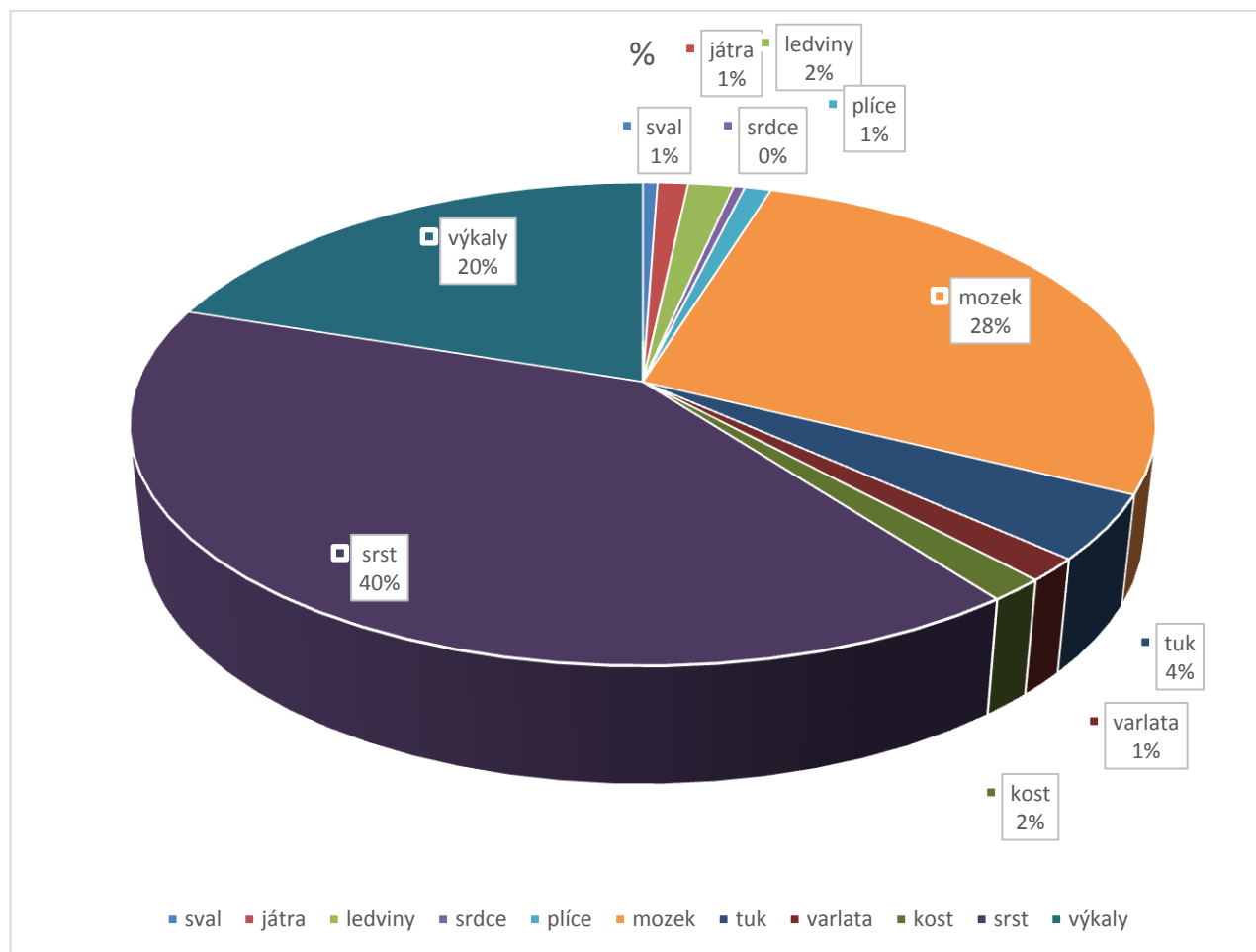
	sval	játra	ledviny	srdce	plíce	mozek	tuk	vaječníky	kost	srst	výkaly
	1,00	0,71	1,66	0,93	1,54	0,25	2,81	0,72	1,69	84,82	36,07
	1,00	1,44	4,78	1,15	2,95	1,07	0,88	1,27	2,37	124,17	88,98
	1,00	0,96	24,45	0,92	2,85	5,96	0,77	1,51	36,04	206,91	78,04
	1,00	0,35	1,31	0,33	0,73	0,28	0,22	0,39	1,93	56,69	29,29
	1,00	1,27	2,55	0,95	1,69	66,80	0,42	1,32	0,68	56,68	31,66
	1,00	0,60	0,18	3,25	0,79	0,46	0,15	0,58	1,39	67,98	32,90
	1,00	1,32	2,37	0,96	0,70	0,80	0,30	1,27	3,54	185,79	74,10
	1,00	1,14	2,03	0,99	0,51	0,83	0,51	2,16	17,56	57,94	85,73
	1,00	1,46	3,00	1,07	5,63	0,63	0,95	2,98	3,66	94,20	90,78
	1,00	5,46	6,43	0,89	3,28	237,20	150,39	3,54	31,57	101,35	137,20
	1,00	6,77	1,55	0,86	2,51	0,30	0,44	1,43	0,98	43,01	33,65
	1,00	0,89	2,63	0,81	2,32	4,05	0,59	1,68	4,94	120,97	62,94
	1,00	5,06	1,93	0,33	0,65	1,26	0,19	0,45	0,40	37,45	20,92
	1,00	1,14	3,50	0,80	1,84	0,93	0,36	1,20	17,70	69,23	30,89
	1,00	5,11	4,83	0,87	3,37	221,98	140,24	21,52	27,74	130,17	53,28
	1,00	4,47	2,00	0,90	3,08	197,14	132,98	2,39	4,65	278,39	94,45
	1,00	4,45	6,04	0,96	10,63	224,94	0,84	2,00	4,69	263,49	104,41
	1,00	12,83	2,14	0,74	0,58	0,80	0,52	2,14	3,16	183,41	69,74
	1,00	1,31	2,19	0,83	6,12	0,93	0,49	1,78	0,34	221,44	69,63
	1,00	4,15	4,75	0,95	6,45	241,53	0,83	2,28	4,53	147,28	72,15
	1,00	5,53	5,65	0,95	3,88	349,53	166,78	2,25	5,38	124,65	101,38
	1,00	5,53	6,97	0,95	4,11	318,97	176,58	2,34	3,89	102,92	86,53
	1,00	0,75	1,78	0,71	1,85	0,23	0,39	1,15	1,13	27,28	31,51
	1,00	0,53	1,80	0,77	2,13	0,34	0,42	1,07	0,94	24,59	28,12

	sval	játra	ledviny	srdce	plíce	mozek	tuk	vaječníky	kost	srst	výkaly
	1,00	0,63	2,43	0,53	0,12	63,29	0,27	0,59	1,66	51,37	15,39
	1,00	1,03	1,71	0,92	0,52	0,71	0,36	1,17	2,84	176,13	47,59
	1,00	0,38	1,05	1,02	0,48	0,12	0,09	0,37	0,29	25,76	13,75
	1,00	0,86	0,26	0,78	4,08	0,22	0,20	1,07	1,24	33,08	17,26
	1,00	4,87	4,97	1,03	6,82	358,97	1,08	2,53	4,16	234,47	121,61
	1,00	1,51	1,80	0,94	0,86	1,88	0,57	1,78	3,25	120,31	80,59
	1,00	0,70	1,95	0,84	1,87	120,01	0,27	0,61	1,76	66,41	46,40
Průměr	1,00	2,96	4,90	1,30	2,95	72,62	17,81	3,12	8,36	119,72	63,40
min.	1,00	0,35	0,18	0,24	0,12	0,12	0,09	0,13	0,29	0,49	4,10
první kvartil	1,00	0,86	1,74	0,64	0,79	0,63	0,32	1,02	1,59	56,68	31,97
třetí kvartil	1,00	4,76	5,10	0,96	4,03	115,24	1,05	2,27	4,88	173,11	86,33
max.	1,00	12,83	35,22	12,19	12,22	358,97	176,58	64,31	143,67	370,67	140,94
Medián	1,00	1,45	2,17	0,90	2,18	1,41	0,51	1,51	3,40	102,13	67,54
Rozptyl	0,00	7,36	51,25	4,48	6,72	12260,25	2235,55	80,01	412,19	6768,14	1235,06
sm. odch.	0,00	2,69	7,09	2,10	2,57	109,70	46,84	8,86	20,11	81,50	34,82

Tabulka č. 6. Statistické vyhodnocení souboru dat bez rozlišení pohlaví.

	sval	játra	ledviny	 srdce	plíce	mozek	tuk	vaječníky	kost	srst	výkaly
Průměr	1,00	2,96	4,35	1,07	2,73	72,50	15,48	3,21	5,90	114,68	60,05
min.	1,00	0,12	0,17	0,05	0,07	0,09	0,03	0,13	0,15	0,49	4,10
první kvartil	1,00	0,75	1,74	0,44	0,79	0,63	0,33	0,97	1,13	56,68	33,65
třetí kvartil	1,00	4,68	4,75	0,95	3,68	112,98	0,90	2,20	3,89	164,05	79,25
max.	1,00	14,88	41,82	12,19	12,22	364,47	176,58	75,47	143,67	370,67	145,85
Medián	1,00	1,39	2,19	0,81	1,87	1,26	0,47	1,51	1,93	98,75	57,68
Rozptyl	0,00	8,54	44,06	3,38	5,80	13311,41	2003,24	93,89	269,64	5867,69	1034,14
sm. odch.	0,00	2,91	6,61	1,83	2,40	114,82	44,54	9,64	16,34	76,24	32,00

Graf č. 7. Matrice vzhledem k výkalům; průměrné hodnoty.



Stanovení průměrné koncentrace arsenu v myokardu zajíce polního je odlišné u obou pohlaví. Dvojnásobně vyšší byla u samic ($0,00842 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,0108$) oproti samcům ($0,0048 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,0051$). Výsledky mezi sledovanými soubory na stanovené hladině významnosti však nebyly průkazné ($p=0,05$). V porovnání mezi situací v deponování arzeny mezi kosterní příčně pružovanou svalovinou a svalovinou myokardu nebyly zjištěny rovněž statisticky významné rozdíly a ve vyhodnocení s ostatními sledovanými markery lze obě svaloviny považovat jako biologické matrice nejméně zatížené sledovaným prvkem.

Na srdečním svaly byly diagnostikovány patomorfologické defekty pouze vzácně. Celkově byl myokard postižen pouze ve třech případech, což představuje 2,86 % (samci 1,36 % a samice 3,72 %).

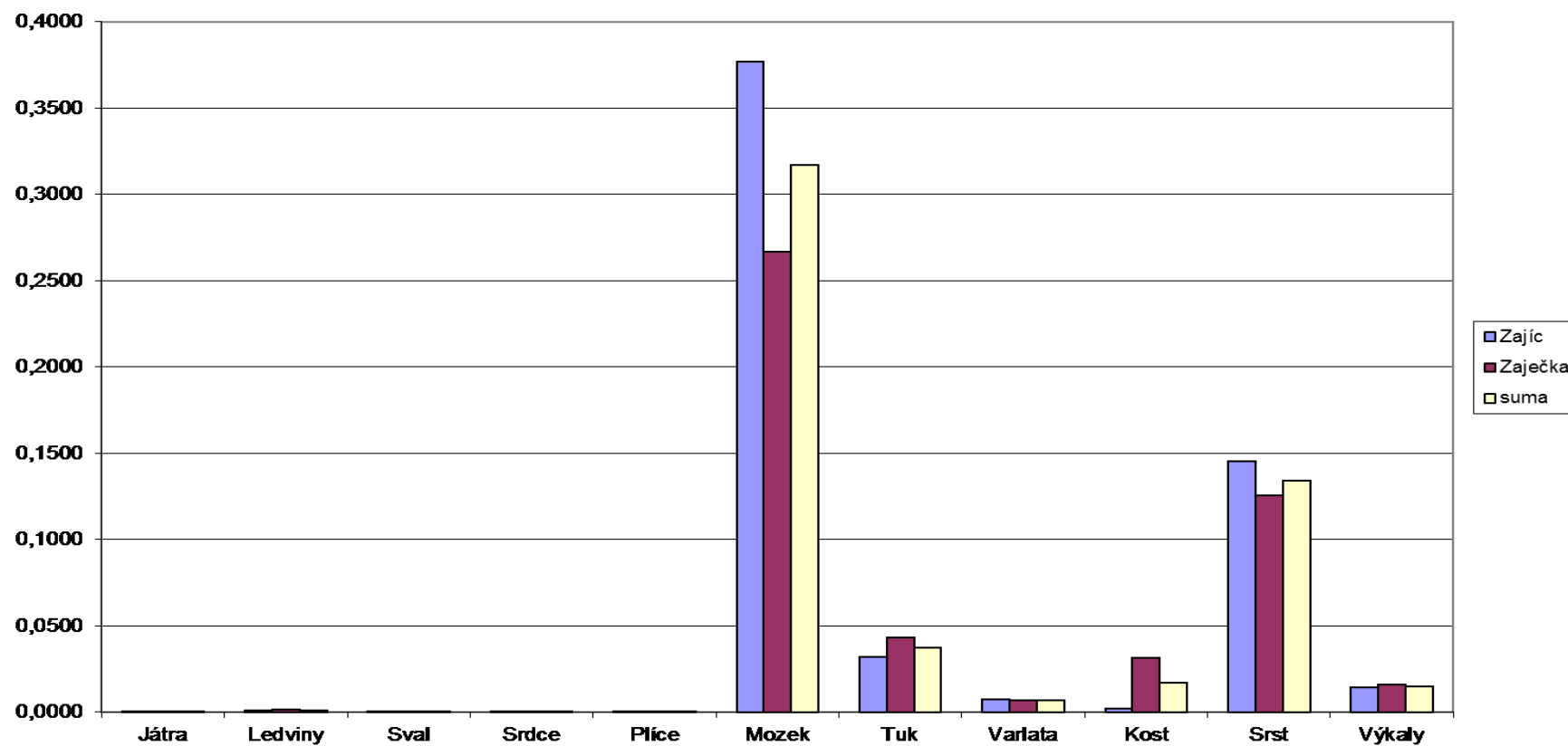
Při stanovení arzeny v plicní tkáni zajíce polního bylo zjištěno prakticky shodné vyhodnocení mezi oběma pohlavími (zajíci $0,0147 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,0091$ a zaječky $0,01729 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,014$), přičemž však vyšší maximální koncentrace prvku byla zjištěna u samců v porovnání se samicemi ($0,0965 \text{ mg.kg}^{-1}$ a $0,051 \text{ mg.kg}^{-1}$).

Na respiračním aparátu, potažmo pak plicích, se nacházely defekty relativně často. Celkově byl orgán postižen v 27,61 %, u zaječek pak poněkud méně (24,90 %) v porovnání se zajíci (31,37 %).

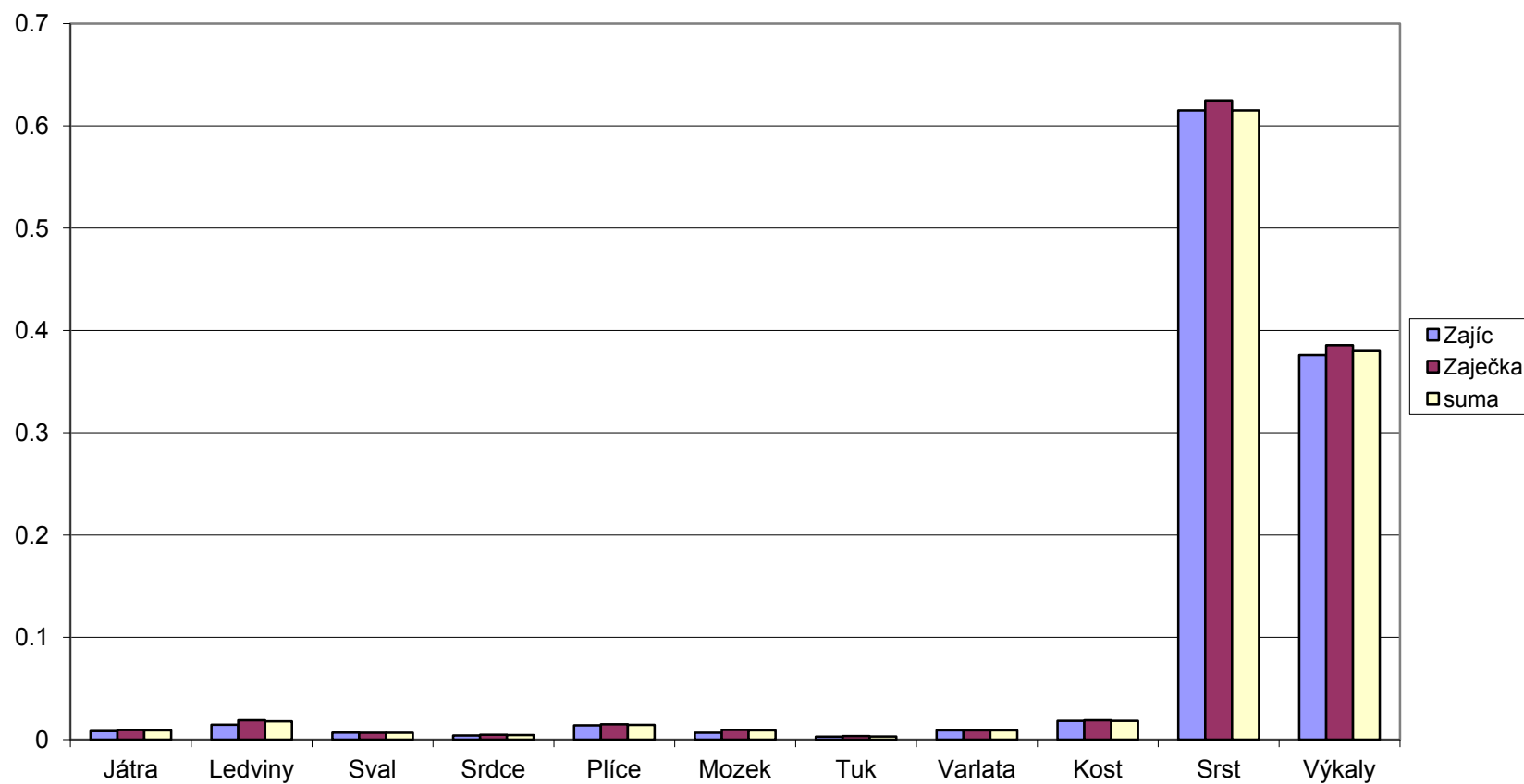
Vysoké hladiny arsenu v porovnání s některými tkáněmi mimo srsti a výkalů však byly zaznamenány v centrálním nervovém systému. Průměrná koncentrace prvku u zajíců číla $0,386 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,511$ a byla srovnatelná se situací u zaječek ($0,399 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,607$). Relativně vysoké hodnoty nad $1,00 \text{ mg.kg}^{-1}$ byly v souboru samců zaznamenány celkem v 11 případech v porovnání se samicemi, u kterých tuto hodnotu překročilo devět jedinců. Pozitivní korelace pak byla zaznamenána mezi ledvinami a mozkem ($r=0,240$). Maximální koncentrace arzeny u samců byla $1,398 \text{ mg.kg}^{-1}$ a u samic pak $1,361 \text{ mg.kg}^{-1}$.

Centrální nervový systém byl výskytem patomorfologických změn dotčen v menší míře. V rámci celkového vyhodnocení souboru byly diagnostikovány léze drobného nespecifického charakteru v pěti případech, což znamená 4,76 % výskytu (samci 3,92 % a samice 5,66 %).

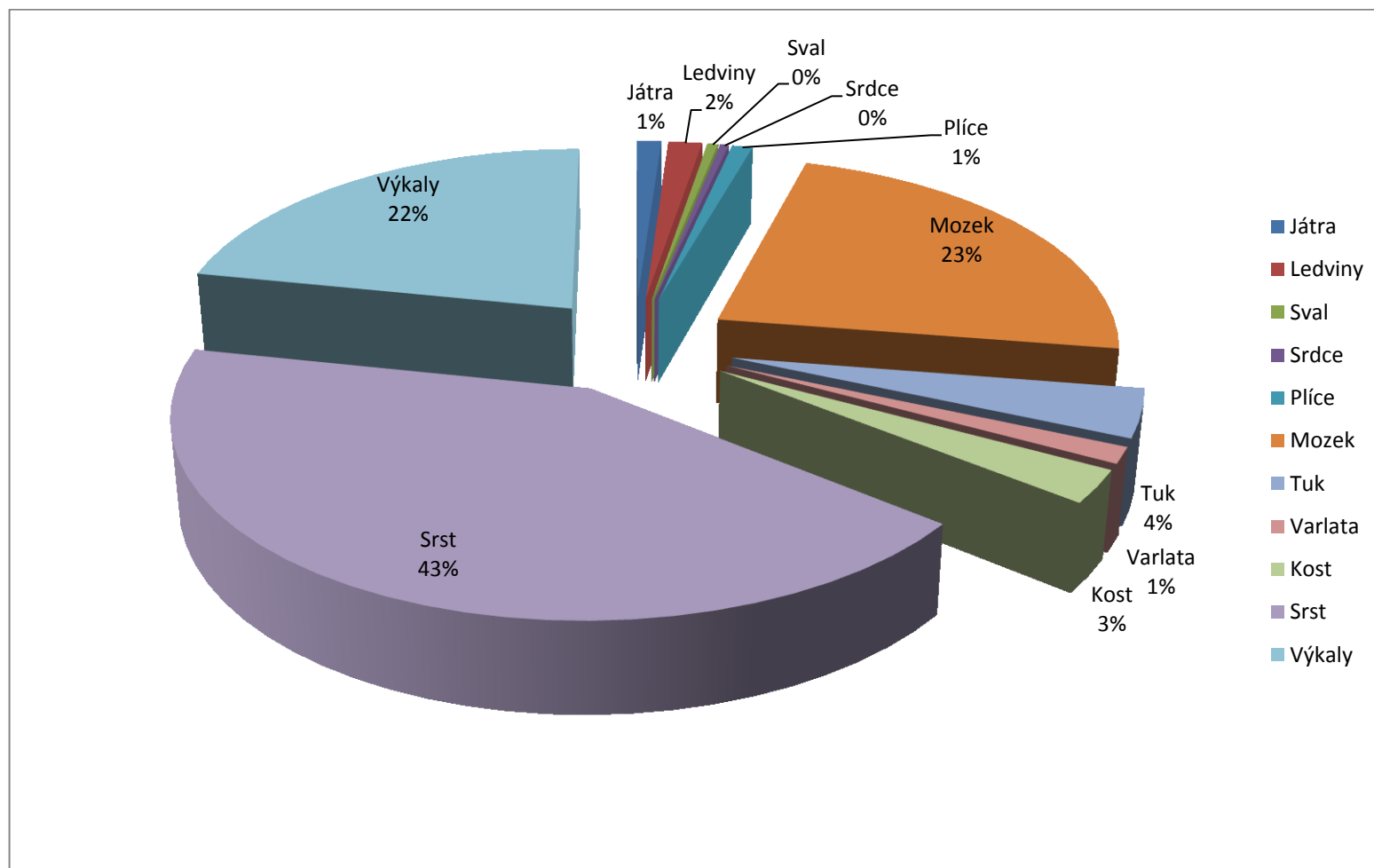
Graf č. 2. Rozptyl hodnot arzenu v jednotlivých matricích.



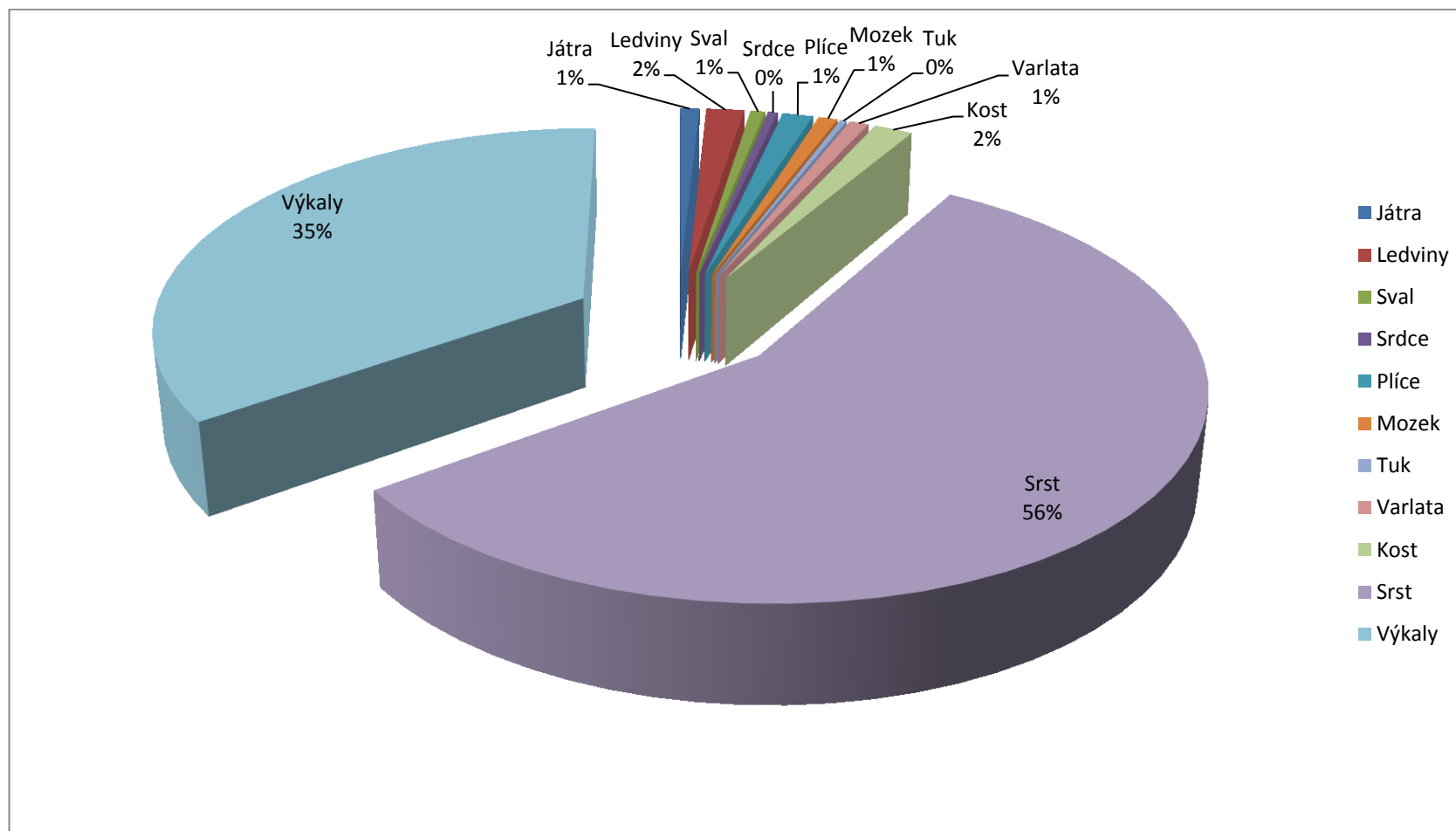
Graf č. 3. Porovnání ukládání arzenu v matricích ($\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) ; střední hodnoty.



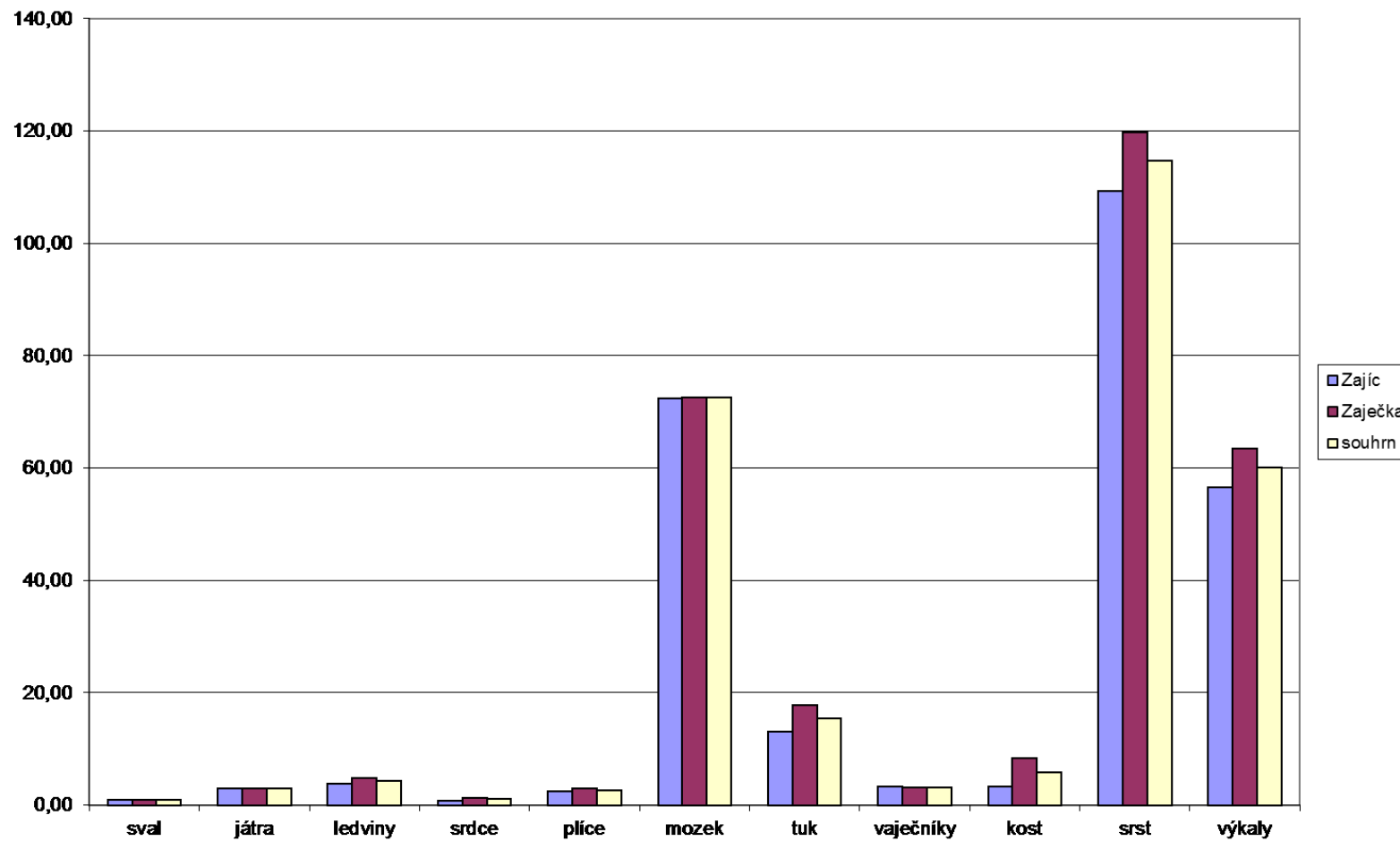
Graf č 4. Analýza poměru ukládání arzenu v matricích; průměrné hodnoty.



Graf č. 5. Analýza poměru ukládání arzenu v matricích vycházející ze středních hodnot.



Graf č. 6. Poměrné porovnání ukládání matric vzhledem ke svalu.



Množství arsenu v tukové tkáni u sledovaných jedinců zajíce polního bylo relativně vysoké v porovnání například s parenchymovými orgány. U zaječek byla nižší koncentrace ($0,0565 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,177$) oproti samcům ($0,0798 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,205$), výsledky však nebyly mezi pohlavími statisticky významné ($p=0,05$). Vzájemné korelace byly zaznamenány pouze mezi markery tuk a srst ($r=0,300$), dále pak i mezi tukovou tkání a kosterním svalem ($r=-0,160$). V rámci patomorfologických vyšetření byl zaznamenán v depotní tukové tkáni pouze jeden záchyt, a to u zaječky, diagnostikovaný jako výskyt extracelulárního kurvilamelárního ceroidu. Celkově byl tudíž tuk postižen ojediněle, pouze v 0,95 %.

U sledovaných jedinců zajíce polního byla zjištěna koncentrace arzenu ve varlatech $0,0241 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,084$ a vaječnicích pak $0,0222 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,080$. Jednalo se o minimálně se lišící koncentrace s rozptylem v rámci souboru u zajíců hodnotou 0,0071 a zaječek pak 0,0065. Četnost výskytu patomorfologických změn na reprodukčním aparátu byla u obou pohlaví velmi rozdílná. Defekty u zajíců byly zaznamenány pouze v 3,92 % a u zaječek pak podstatně více (14,81 %).

V kostní tkáni sledovaných jedinců zajíce polního byly stanoveny hodnoty sledovaného prvku arzenu oproti játrům, ledvinám, myokardu a kosterní svalovině relativně vyšší. K vyšetření byly použity stehenní kosti, ve kterých byla zaznamenána u samic průměrná koncentrace $0,0578 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,174$ a samců pak poněkud nižší $0,0319 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,046$ (tabulky č.1–3). Při vzájemném porovnání hodnot však nebyly zjištěny na sledované hladině významnosti žádné průkazné rozdíly.

Nejvyšší koncentrace arzenu byly detekovány v srsti zaječí zvěře. K vyšetření byla použita srst ze tří odběrových míst, a to v druhé polovině hřbetu, levé a pravé lopatce ve formě smíšeného vzorku. U zajíců byla zjištěna průměrná koncentrace v srsti $0,731 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,377$ a u zaječek pak $0,721 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,351$. Mezi soubory nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl. Významné statistické rozdíly byly však zaznamenány mezi koncentracemi arzenu v srsti a ostatními vyšetřovanými markery.

Koncentrace arzenu ve výkalech zajíce polního vykazuje v souborech minimální rozptyl naměřených hodnot (samci $0,0138 \text{ mg.kg}^{-1}$ a samice $0,0156 \text{ mg.kg}^{-1}$). Průměrná koncentrace prvku ve výkalech zajíců činila zhruba polovinu hodnot zaznamenaných v souborech při vyšetřování srsti ($0,3645 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,0138$). Prakticky shodná byla situace i u zaječek, kde průměr naměřených hodnot činil $0,378 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,1568$ (viz tabulky č. 7 a 8). Obsah arzenu ve výkalech dokazuje, že tento prvek se z organismu vylučuje přirozenou cestou a v podmínkách, kdy zvěř není vystavena neustálé kontaminaci se s ní umí vypořádat.

Tabulka č. 7. Porovnání matric vzhledem výkalům – zajíci.

sval	Játra	ledviny	srdce	plic	mozek	Tuk	varlata	kost	srst	výkaly
0,0175	0,0205	0,0329	0,0068	0,0099	0,0137	0,0071	0,0260	0,0260	3,8219	1
0,0474	0,0285	0,0738	0,0152	0,0354	0,0079	0,0070	0,0285	0,0285	2,1523	1
0,0782	0,0574	0,1366	0,0188	0,1277	0,0119	0,0257	0,0772	0,0772	2,0198	1
0,0184	0,0845	0,0913	0,0184	0,1251	6,6908	0,0169	0,0401	0,0401	1,9517	1
0,0147	0,0175	0,0244	0,0067	0,0100	0,0244	0,0075	0,0200	0,0200	1,5287	1
0,0230	0,0161	0,0310	0,0061	0,0396	2,7233	0,0075	0,0175	0,0175	1,4709	1
0,0230	0,0354	0,0510	0,0202	0,0440	2,3557	0,0089	0,0226	0,0226	3,0694	1
0,0278	0,0305	0,0485	0,0075	0,0492	0,1113	0,0113	0,3308	0,3308	1,3872	1
0,0173	0,0209	0,0319	0,0075	0,0098	0,0143	0,0073	0,0266	0,0266	3,6709	1
0,0166	0,0777	0,6943	0,0170	0,0547	5,3019	2,5019	0,0340	0,0340	1,8792	1
0,1220	0,0735	0,2973	0,0396	0,0905	19,0711	0,0234	0,0735	0,0735	4,7900	1
0,0145	0,1082	0,0235	0,0010	0,0340	0,0029	0,0051	0,0178	0,0178	0,6857	1
0,0122	0,0151	0,0242	0,0051	0,0077	0,0112	0,0061	0,0210	0,0210	1,0413	1
0,0156	0,0616	0,0651	0,0162	0,0892	4,1146	0,0092	0,0302	0,0302	1,5683	1
0,0276	0,0190	0,0480	0,0068	0,0514	0,2146	0,0136	0,0286	0,0286	1,5680	1
0,0087	0,0433	0,0565	0,0091	0,0561	3,1010	0,0079	0,0188	0,0188	1,9547	1
0,0092	0,0368	0,0634	0,0997	0,0445	0,0355	0,0113	0,0233	0,0233	3,2072	1
0,1592	0,0186	0,0329	0,0072	0,0106	0,0135	0,0053	0,0236	0,0236	3,7958	1
0,0153	0,0904	0,0690	0,0157	0,0571	3,9502	0,2724	0,0360	0,0360	1,5134	1
0,0312	0,0231	0,0612	0,0150	0,0294	0,0135	0,0066	0,0231	0,0231	1,8096	1
0,0131	0,0103	0,0221	0,0033	0,0223	0,0025	0,0393	0,0115	0,0115	0,3519	1
0,0117	0,0186	0,0668	0,0130	0,0290	0,0109	0,0077	0,0197	0,0197	2,2314	1

sval	Játra	ledviny	srdce	plíce	mozek	Tuk	varlata	kost	srst	výkaly
0,0167	0,0809	0,0860	0,0265	0,1167	0,0888	0,0186	0,0391	0,0391	2,9581	1
0,0222	0,1507	0,0321	0,0112	0,0397	2,5071	0,0200	1,6748	1,6748	1,4795	1
0,0187	0,0133	0,3467	0,0056	0,0376	0,0797	0,0088	0,0216	0,0216	1,3200	1
0,0353	0,0160	0,0587	0,0116	0,0265	0,0100	0,0072	0,0179	0,0179	2,3759	1
0,0252	0,0351	0,0510	0,0201	0,0455	1,9683	0,0093	0,0218	0,0218	1,9852	1
0,0399	0,0242	0,0068	0,0128	0,0339	0,0174	0,0060	0,0239	0,0239	1,8892	1
0,0135	0,0151	0,0254	0,0061	0,0084	0,0112	0,0049	0,0180	0,0180	2,4847	1
0,0136	0,0161	0,0260	0,0064	0,0078	0,0115	0,0058	0,0223	0,0223	2,5359	1
0,0069	0,0099	0,0202	0,0060	0,0336	0,0032	0,0052	0,0182	0,0182	0,6856	1
0,0114	0,0596	0,0543	0,0111	0,0413	3,7701	1,9141	0,0252	0,0252	1,0665	1
0,0149	0,0984	0,0231	0,0079	0,0395	0,0031	0,0056	0,0192	0,0192	0,7444	1
0,0245	0,2282	0,0544	0,0195	0,0556	0,1232	0,0137	0,0369	0,0369	1,6141	1
0,0698	0,4512	0,1716	0,0274	0,0516	0,0981	0,0135	0,0409	0,0409	2,8605	1
0,0194	0,0213	0,0564	0,0134	0,0318	0,0157	0,0052	0,0239	0,0239	1,8215	1
0,0235	0,1071	0,0974	0,0209	0,0760	6,1531	3,2194	0,0464	0,0464	2,4541	1
0,0208	0,0911	0,0805	0,0191	0,2161	4,2627	0,0165	0,0403	0,0403	2,6059	1
0,0176	0,2118	0,0315	0,0078	0,0096	0,0128	0,0076	0,0290	0,0290	3,4887	1
0,0131	0,1953	0,0341	0,0118	0,0126	0,0084	0,0076	0,0396	0,0396	3,1890	1
0,0153	0,0189	0,0309	0,0115	0,0895	0,0130	0,0069	0,0233	0,0233	3,5396	1
0,0128	0,0574	0,0611	0,0132	0,0848	4,1047	0,0068	0,0287	0,0287	1,4020	1
0,0126	0,0664	0,0597	0,0110	0,0453	4,1352	2,0912	0,0286	0,0286	1,2421	1
0,0342	0,0251	0,0563	0,0221	0,0589	0,0065	0,0121	0,0333	0,0333	0,9048	1
0,0759	0,0472	0,1859	0,0407	0,0060	4,7789	0,0166	0,0452	0,0452	3,0905	1
0,0355	0,0220	0,0650	0,0133	0,0499	0,0149	0,0073	0,0244	0,0244	3,3577	1

sval	Játra	ledviny	srdce	plice	mozek	Tuk	varlata	kost	srst	výkaly
0,0118	0,0165	0,0336	0,0084	0,0095	0,0211	0,0072	0,0188	0,0188	1,4408	1
0,0109	0,0173	0,0360	0,0099	0,0222	0,0126	0,0049	0,0198	0,0198	1,5259	1
0,0249	0,0198	0,0553	0,0123	0,0348	0,0170	0,0067	0,0232	0,0232	2,9877	1
0,0205	0,0154	0,0337	0,0076	0,0484	0,0046	0,0068	0,2228	0,2228	0,7114	1
0,0111	0,0126	0,0306	0,0095	0,0408	0,0085	0,0043	0,0208	0,0208	2,1369	1

Tabulka č. 8. Porovnání matric vzhledem k výkalům – zaječky.

sval	Játra	ledviny	srdce	plic	mozek	tuk	varlata	kost	srst	výkaly
0,0137	0,0546	0,4687	0,0126	0,0371	0,0137	0,0081	0,0191	0,0191	1,3386	1
0,0174	0,0194	0,0334	0,0076	0,0095	0,0110	0,0048	0,0399	0,0399	3,5411	1
0,2439	0,1285	0,3805	0,1512	0,1886	0,0407	0,0358	0,0325	0,0325	0,1187	1
0,0386	0,0267	0,0666	0,0105	0,0633	0,0067	0,0143	0,0419	0,0419	1,9586	1
0,0147	0,0171	0,0214	0,0084	0,0116	0,0229	0,0070	0,0164	0,0164	1,6665	1
0,0093	0,0402	0,0049	0,0084	0,0629	0,0065	0,0049	0,0211	0,0211	1,4424	1
0,0176	0,0117	0,0289	0,0060	0,0346	2,2687	0,0076	0,0135	0,0135	2,8933	1
0,0134	0,0204	0,0343	0,0124	0,0096	0,0154	0,0076	0,0277	0,0277	2,4905	1
0,0188	0,0779	0,6627	0,0185	0,0613	3,1919	2,3376	0,0284	0,0284	1,7679	1
0,1208	0,0656	0,3020	0,0358	0,0686	10,3057	0,0224	0,0567	0,0567	4,5496	1
0,0149	0,1013	0,0250	0,0085	0,0355	0,0032	0,0045	0,0398	0,0398	0,6932	1
0,0141	0,0145	0,0278	0,0074	0,0098	0,0125	0,0043	0,0233	0,0233	1,0348	1
0,0145	0,0612	0,0853	0,0148	0,0832	2,9177	0,0093	0,0292	0,0292	1,5250	1
0,0272	0,1866	0,4745	0,0085	0,0484	0,2246	0,0104	0,0272	0,0272	1,6197	1
0,0411	0,2499	0,0562	0,2477	0,0730	4,1513	0,3361	2,6453	2,6453	3,0562	1
0,0088	0,0423	0,0542	0,0090	0,0590	2,3893	0,0086	0,0192	0,0192	1,9297	1
0,0071	0,0330	0,0557	0,0865	0,0386	0,0271	0,0080	0,0195	0,0195	2,3639	1
0,0072	0,0332	0,0614	0,0724	0,0399	0,0301	0,0111	0,0214	0,0214	2,6756	1
0,0092	0,0916	0,0812	0,0077	0,0523	3,0823	0,3082	0,0331	0,0331	1,4067	1
0,0396	0,0270	0,0717	0,0169	0,0340	0,0171	0,0076	0,0278	0,0278	2,0826	1
0,0126	0,0109	0,0230	0,0030	0,1541	0,0029	0,0401	0,0110	0,0110	0,3539	1
0,0108	0,0624	0,0555	0,0103	0,0397	0,9716	0,0145	0,0237	0,0237	2,2772	1

sval	Játra	ledviny	srdce	plíce	mozek	tuk	varlata	kost	srst	výkaly
0,0277	0,0196	0,0460	0,0258	0,0427	0,0068	0,0780	0,0199	0,0199	2,3516	1
0,0112	0,0162	0,0537	0,0129	0,0332	0,0121	0,0099	0,0143	0,0143	1,3956	1
0,0128	0,0123	0,3133	0,0118	0,0365	0,0764	0,0099	0,0193	0,0193	2,6514	1
0,0341	0,0119	0,0446	0,0113	0,0249	0,0097	0,0074	0,0134	0,0134	1,9356	1
0,0316	0,0401	0,0805	0,0300	0,0533	2,1103	0,0132	0,0417	0,0417	1,7905	1
0,0304	0,0183	0,0054	0,0988	0,0242	0,0141	0,0044	0,0177	0,0177	2,0662	1
0,0135	0,0179	0,0319	0,0129	0,0095	0,0108	0,0040	0,0171	0,0171	2,5073	1
0,0117	0,0133	0,0236	0,0115	0,0059	0,0097	0,0059	0,0251	0,0251	0,6758	1
0,0110	0,0161	0,0330	0,0118	0,0621	0,0070	0,0105	0,0328	0,0328	1,0376	1
0,0073	0,0398	0,0469	0,0065	0,0239	1,7289	1,0962	0,0258	0,0258	0,7387	1
0,0297	0,2013	0,0459	0,0257	0,0746	0,0088	0,0132	0,0426	0,0426	1,2783	1
0,0159	0,0141	0,0419	0,0129	0,0368	0,0643	0,0093	0,0267	0,0267	1,9221	1
0,0478	0,2417	0,0921	0,0158	0,0313	0,0603	0,0090	0,0213	0,0213	1,7898	1
0,0324	0,0367	0,1133	0,0258	0,0595	0,0302	0,0118	0,0389	0,0389	2,2410	1
0,0188	0,0959	0,0906	0,0163	0,0632	4,1661	2,6320	0,4039	0,4039	2,4431	1
0,0106	0,0473	0,0212	0,0095	0,0326	2,0873	1,4080	0,0253	0,0253	2,9475	1
0,0096	0,0426	0,0579	0,0092	0,1018	2,1544	0,0080	0,0192	0,0192	2,5237	1
0,0143	0,1839	0,0308	0,0106	0,0083	0,0114	0,0075	0,0308	0,0308	2,6299	1
0,0144	0,0187	0,0314	0,0119	0,0879	0,0134	0,0071	0,0256	0,0256	3,1804	1
0,0139	0,0575	0,0658	0,0132	0,0894	3,3475	0,0114	0,0315	0,0315	2,0412	1
0,0099	0,0545	0,0557	0,0094	0,0382	3,4478	1,6451	0,0222	0,0222	1,2296	1
0,0116	0,0639	0,0806	0,0109	0,0474	3,6864	2,0408	0,0271	0,0271	1,1895	1
0,0317	0,0237	0,0566	0,0225	0,0587	0,0072	0,0125	0,0366	0,0366	0,8658	1
0,0356	0,0190	0,0641	0,0273	0,0757	0,0120	0,0149	0,0380	0,0380	0,8747	1

sval	Játra	ledviny	srdce	plice	mozek	tuk	varlata	kost	srst	výkaly
0,0650	0,0407	0,1580	0,0344	0,0080	4,1115	0,0176	0,0386	0,0386	3,3374	1
0,0210	0,0216	0,0359	0,0193	0,0109	0,0149	0,0076	0,0247	0,0247	3,7013	1
0,0727	0,0274	0,0760	0,0739	0,0349	0,0086	0,0066	0,0271	0,0271	1,8728	1
0,0579	0,0495	0,0152	0,0450	0,2363	0,0130	0,0114	0,0617	0,0617	1,9162	1
0,0082	0,0400	0,0409	0,0084	0,0560	2,9520	0,0089	0,0208	0,0208	1,9282	1
0,0124	0,0187	0,0224	0,0117	0,0107	0,0234	0,0071	0,0221	0,0221	1,4929	1
0,0216	0,0151	0,0421	0,0182	0,0402	2,5866	0,0057	0,0132	0,0132	1,4313	1
0,0243	0,0383	0,0521	0,0251	0,0542	2,2961	0,0101	0,0237	0,0237	2,8647	1

6. DISKUZE

Získané výsledky stanovení koncentrace arzenu v jednotlivých matricích zajíce polního lze porovnávat s obdobnými stanoveními prováděnými v humánní populaci.

S ohledem na omezené možnosti získávání lidských tkání, zejména parenchymatózních orgánů, však jsou takto vyšetřené malé soubory tkání méně průkazně statisticky hodnotitelné. Naopak jsou v lidské populaci lépe podchycena stanovení arzenu v mateřském mléce.

S věkem stoupající tendence koncentrace arzenu se v lidském těle pohybuje v rozmezí 3-4 mg. Kromě vlasů nehtů a zubů je v ostatních lidských tkáních koncentrace arzenu v od 0,3 do 140 μg (MANDAL et SUZUKI 2002). Kumulační schopnost arzenu se výrazně projevuje v tkáních bohatých na keratin (vlasy, nehty). Běžné množství vylučovaného arzenu v moči je 5-40 μg za den. V srsti vyšetřovaných zajíců byly stanoveny nejvyšší koncentrace arzenu ze všech zkoumaných matric. Absolutně i poměrově to vyjadřují tabulky č. 4 – 6 a graf č. 7.

Hygiena práce sleduje v rizikových provozech koncentrace arzenu ve vlasech, nehtech a moči. Pravidelným týdenním monitorováním 40 pracovníků v továrně na pesticidy (Fort Valley, Georgia, USA) byly stanoveny tyto průměrné koncentrace arzenu: 11 $\mu\text{g}/\text{l}$ v moči, 0,79 $\mu\text{g}/\text{g}$ v nehtech, 0,78 $\mu\text{g}/\text{g}$ ve vlasech (HEWITT et al.1995).

Pro porovnání našich výsledků vyšetřovaných zajíců s obdobně zkoumanými lidskými tkáněmi je velice důležitá skotská sledující postmortální stanovení arsenu v játrech, plicích, ledvinách a slezině u dospělých a dětí. Zároveň lze naše výsledky porovnávat se stanovením obsahu arzenu ve vlasech 1 250 běžných obyvatel. Stanovené průměrné hodnoty v $\mu\text{g}/\text{g}$: játra dospělí (n = 9) 0,048, játra děti (n = 9) 0,0099, plíce dospělí (n = 8) 0,044, plíce děti (n = 9) 0,007, slezina dospělí (n = 9) 0,015, slezina děti (n = 8) 0,0049, vlasy 0,650 (n = 1 250) (RAIE 1996). Srovnáním poměru koncentrace arzenu v játrech a vlasech sledované humánní populace s poměrem jater a srsti ve sledovaném souboru zajíců sledujeme výraznou shodu (graf. č. 1). V orgánech dospělých lidí byly

stanovovány zhruba o jeden řád vyšší hodnoty arzenu než u dětí. V našem souboru adultních zajíců jsme věkovou závislost nemohli prokázat ani vyloučit.

Rozsáhlá studie lidské populace zkoumající obsahy rtuti, arzenu a antimonu v exponovaných oblastech Německa zaznamenala statisticky významně vyšší koncentrace arzenu ve vlasech mužů (GEBEL et al. 1998).

Tato pohlavní závislost nebyla v našich stanoveních v porovnání mezi pohlavími zaznamenána (graf č. 1).

Výsledky patomorfologických lézí lze srovnat s obdobnými, které byly získány vyhodnocením zdravotního stavu zaječí zvěře jak v České, tak i Slovenské republice. Mozku se oproti parenchymovým a reprodukčním orgánům začala věnovat pozornost poněkud později. První ucelené výsledky pochází z let 1989-1993 (BUKOVJAN 1994), kdy se na něm vyskytovaly defekty v porovnání se získanými výsledky v rámci této práce relativně častěji 13,98 %. Ve všech případech převládal však lehký, výjimečně pak střední charakter poškození tohoto orgánu. V našem případě se jednalo o souhrn drobných nespecifických změn hemisfér a mozkového pontu (satelitóza, tygrolýza), doplněných difusně rozptýlenými lymfocytárními infiltráty. Obdobný nález je však popisován u zaječí zvěře i v případě subklinické formy aflatoxykózy B1 (BUKOVJAN et al. 1992).

Na Slovensku udává JURČÍK et al. (2011) průměrný výskyt defektů na respiračním aparátu zaječí zvěře 30,36 % , ale s relativně vysokým rozpětím (9,60 – 72,20 %), což je srovnatelné i s výsledky této práce 27,61 % (zaječky 24,90 % a zajíci 31,37 %) a dřívějšími zjištěními PÁVA et al. (1985) – 31,3 %. Nižší výskyt defektů pak uvádí SOLČIANSKÝ (1989), a to celkově 15 %, naopak vyšší výskyt pak BUKOVJAN (1994) 36,20 %.

Postižení myokardu změnami je u všech srovnatelných prací rozdílné. PÁV et al. (1985) uvádějí u zaječí zvěře 33,1 %, BUKOVJAN (1994) pouze 7,43 % a JURČÍK et al., 17,73 % s vysokým rozmezím do 42,8 %.

Obdobně jako v případě našich výsledků (57,4 %) lze konstatovat soulad se závěry jiných prací zabývajících se patomorfologickými vyšetřeními zaječí zvěře, že nejvíce defektů se nachází na játrech. U zaječí zvěře uvádí výskyt změn na tomto orgánu PÁV (1985) 49,7 %, JURČÍK (1993) v rozmezí 19,6–52,6 %,

BUKOVJAN (1991) 61,4 %, SOLČIANSKÝ 47,3 % a JURČÍK et al. (2011) za období 25 let 51,62 %. Při vyhodnocení výsledků této práce byly defekty označované jako lehké zaznamenány celkem v 62,96 %, střední pak v 19,22 % a těžké v 7,41 %.

Ledviny lze považovat za druhý, nejvíce změnami postižený orgán. V našem případě je to 29,52 %, což se blíží výsledkům PÁVA et al. (1985) – 24,6 %, na rozdíl od dřívějších výsledků BUKOVJANA (1994) – 37,10 % a současných závěrů JURČÍKA et al. (2011) – 39,93 %. Výskyt charakteru změn činil ve vyhodnoceném souboru zaječí zvěře v případě: lehkých změn 64,29 %, středních 28,57 % a těžkých 7,14 %.

U reprodukčních orgánů zaječek lze konstatovat shodu ve výskytu lézí s výsledky BUKOVJANA (1991) z let 1986–1989 kdy uvádí 17,3 %. Vyšší výskyt pak popisuje ŠEBOVÁ (1990) a to 22,10 % v letech 1988–1989 a shodně pak i BUKOVJAN (1994) v pozdějších letech 1989–1993 (22,85%).

7. ZÁVĚR

Na základě vyhodnocených individuálních zjištění koncentrací arzenu u obojího pohlaví adultní zaječí zvěře lze formulovat tyto dílčí závěry.

1. Lze konstatovat, že ukládání arzenu ve sledovaných biologických matricích má podobný charakter, liší se mezi sebou pouze koncentracemi. Při porovnání všech matric mezi zajíci a zaječkami byla prokázána shoda a vzájemná korelace. Prakticky to znamená, že deponování tohoto prvku je u obou pohlaví plně srovnatelné.
2. Za základní poznatek je nutno považovat fakt, že na základě vyhodnocení výsledků korelují mezi sebou vztahy v deponování arzenu mezi tukem a kosterní svalovinou (koeficient $r = -0,160$), svalem a srstí ($r = 0,300$), játry a ledvinami ($r = -0,030$) i ledvinami a mozkiem ($r = 0,240$).
3. Vyšší průměrná koncentrace arzenu byla zjištěna v mozku ($0,399 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,607$), v exkrementech ($0,3644 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,11$) a zhruba dvojnásobná oproti nim pak v srsti ($0,730 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,38$). O řád nižší byly pak koncentrace v tuku ($0,0565 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,17$) a stehenních kostech ($0,0349 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,04$).
4. Přibližně shodné koncentrace byly pak v případě ledvin ($0,0232 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,02$) a varlat ($0,0240 \pm 0,08$). V porovnání mezi koncentrací arzenu v kosterní svalovině a myokardu lze konstatovat vyšší hodnoty ve svalu ($0,0086 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,20$) oproti myokardu ($0,0048 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,005$).
5. Nízké hodnoty v porovnání s ostatními matricemi pak byly zaznamenány v plicích ($0,01474 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,009$) i v játrech ($0,0191 \text{ mg.kg}^{-1} \pm 0,02$). Právě v těchto orgánech lze předpokládat naopak vyšší koncentrace oproti ostatním sledovaným matricím, a to vzhledem k jejich uplatnění v organismu, tj. k nepřetržité respirační funkci a metabolické aktivitě.
6. Zaječí zvěř při stejném stáří a bez rozlišení pohlaví lze plně využít v rámci bioindikace k monitorování rizikového prvku arzenu v přirozených ekosystémech.

7. Shodné výsledky a závěry deponování dříve sledovaných chemických prvků případně jejich forem (olovo, kadmium, rtuť, methylrtuť) jsou v rozporu s deponováním arzenu v organismu zaječí zvěře. Nepotvrdila se především zvýšená deponace uvedených rizikových prvků v jaterní a ledvinné tkáni u zaječí zvěře v porovnání s ostatními markery

8. POUŽITÁ LITERATURA

1. Andrew A. S., Burges J. L., Meza M. M., Demidenko E., Waugh M. G., Hamilton J. W., Karagas, M. R., 2006: Arsenic Exposure is Associated with Decreased DNA Repair in Vitro and in Individuals Exposed to Drinking Water Arsenic. *Environ. Health Prospect* 114/8: 1193–1198.
2. Bukovjan K., Bukovjanová E., Dvořák M., Karpenko A., Páv J., Šebesta J., Zahradníková W., 1988: Health of the European hare and its environment on the model Area Loučeň in Central Bohemia. *Práce VÚLHM*, 72: 105–174.
3. Bukovjan K., Bukovjanová E., Dvořák M., Karpenko A., Šebesta M., Zahradníková W., 1990: Vliv zátěže životního prostředí na zdravotní stav zajíce polního (*Lepus europaeus* Pall.). *Folia venatoria*, 20: 91–111.
4. Bukovjan K., Hallmannová A., Karpenko A., Prošek J., 1992: Erkennung von Aflatoxin B1 in den Geweben des freilebenden Wildes (*Lepus europaeus*, *Phasianus colchicus*, *Capreolus capreolus*, *Anas platyrhynchos*). *Journal of Veterinary Medicine, Series B*, 39: 695–708.
5. Bukovjan K., Hanzal V., Karpenko A., Bukovjanová E., 1995: Koncentrace vybraných chemických prvků v tkáních bioindikátorů s ohledem na jejich zdravotní stav. Sborník referátů. Mezinár. věd. konf. k 35. výr. zal. fak., Zemědělská fakulta JU, Č. Budějovice: 57–61.
6. Bukovjan K., Hoffmann V., Bukovjanová E., 1993: Výskyt reziduí organických cizorodých látek v tukové tkáni zajíců polních (*Lepus europaeus* Pall.) *Lesnictví-Forestry*, 39: 308–312.
7. Bukovjan K., Karpenko A., 1989: Koetální teratom ovaria u zajíce polního. *Folia Venatoria*, 20: 331–335.
8. Bukovjan K., Karpenko A., Chovancová B., 1995: Adenofibrom ovaria normálníka rudého. *Veterinářství*, 4/95: 165.

9. Bukovjan K., Karpenko A., 1996: Koncentrace chemických prvků v nádorech zvěře klasifikovaných systémem ICD-O. Veterinářství 10/96: 423–425.
10. Bukovjan K., Kutlvašr K., Feureisel J., Ježek M., Havránek F., 2011: Auftreten von Tumoren beim Rotfuchs (*Vulpes vulpes* L.). Beiträge zur Jagd- und Wildforschung, Bd. 36 (2011): 297–300.
11. Bukovjan K., Páv J., 1990: Vnější vlivy působící na zajíce a jeho životní prostředí. II. Myslivost, 40, 4: 83.
12. Bukovjan K., Toman A., Kutlvašr K., Marada P., Kodet R., Sláma P., Kříkava L., 2014: Contents of chemical elements in tissues of European badger (*Meles meles* L.) affected by ovarian tumour – A case report. Acta Veterinaria Brno, 83(2): 139–143.
13. Bukovjan K., Wittlingerová Z., Černá E., 1997: Chemical elements in tissues and histological changes in tissues of hares (*L. europaeus* Pall.). Scientia Agriculturae Bohemica, 28 (3): 215–226.
14. Ciberej J., Kačúr M., 1991: Koeficient prežívania a straty počas reprodukčného cyklu pri zajacoch poľných (*Lepus europaeus* Pall.) na Východoslovenskej nížine. Folia venatoria, 21: 123–129.
15. Ciberej J., Maraček I., 1990: Určovanie veku zajaca poľného (*Lepus europaeus* Pall.) podľa periosteálnych línií v profile sánkovej kosti. Folia venatoria, 20:
16. Červený J., Kamler J., Kholová H., Koubek P., Martínková N., 2004: Encyklopedie myslivosti. Ottovo nakladatelství, Praha, 594 pp.
17. Dangleben N. L., Skibola C. F., Smith M. T., 2013 : Arsenic immunotoxicity: a review. Environ. Health 12(1). 73 doi: 10.1186/1476-069X-12-73.
18. Das D., Samanta G., Mandal B. K., Chowdhury T. R., Chanda C. R., Chowdhury P. R., Basu G. K., Chakraborti D., 1996: Arsenic in groundwater

- in six districts of West Bengal, India. *Environ. Geochem. and Health*, 18: 5–15.
19. Dopp E., Hartmann L. M., Florea A. M., von Recklinghausen U., Pieper R., Shokouhi B., Rettenmeier A. W., Hirner A. V., Obe G., 2004: Uptake of inorganic and organic derivatives of arsenic associated with induced cytotoxic and genotoxic effects in Chinese hamster ovary (CHO) cells. *Toxicol. Appl. Pharmacol.*, 201(2): 156–165.
 20. Fowler B. A., 1977: Toxicology of Environmental Arsenic. In “Toxicology of Trace Elements.” (R. A. Goyer and M. A. Mehlman, eds.), Wiley and Sons, New York: 79–122.
 21. Gebel T., 2000: Confounding variables in the environmental toxicology of arsenic. *Toxicology*, 144 (1–3): 155–162.
 22. Gebel T., 2002: Arsenic Methylation is a process of detoxification through accelerated excretion. *International Journal of Hygiene and Environmental Health*, 205 (6): 505–508.
 23. Gebel T., Suchenwirth R. H., Behmke C., Plessow, Claussen K., Schultze E., Dunkelberg H., 1998: Biological monitoring of persons in areas with increased soil mercury, arsenic and antimony content. *Gesundheitswesen*, 60: 580–585.
 24. Germolec D. R., Spalding J., Boorman G. A., Wilmer J. L., Yoshida T., Simeonova P. P., Bruccoleri A., Kayama F., Gaido K., Tennant R., Burlinson F., Dong W., Lang R. W., Luster M. I., 1997: Arsenic can mediate skin neoplasia by chronic stimulation of keratinocyte-derived growth factors. *Mutation Research*, 386 (3): 209–218.
 25. Goering P. L., Aposhian H. V., Mass M. J., Cebrian M., Beck B. D., Waalkes M. P., 1999: The enigma of arsenic carcinogenesis: role of metabolism. *Toxicol. Sci.*, 49 (1): 5–14.

26. Gregus Z., Gyurasics A., Csnaky I., 2000: Biliary and urinary excretion of inorganic arsenic: monomethylarsenous acid as major biliary metabolite in rats. *Toxicol. Sci.*, 56 (1): 18–25.
27. Guha Mazumder D. N., 2007: Arsenic and non-malignant lung disease. *J Environ. Sci. Health A, Tox Hazard Subst. Environ. Eng.*, 42 (12): 1859–1867.
28. Hansen-Catta P. H., 2008: *Myslivočká encyklopedie*. Fortuna libri, Praha, 408 pp.
29. Hell P., Flák P., Slamečka J., 1997: The correlation between the hunting bag records of red deer, roe deer, and brown hare with those of their primary predators in Slovakia. *Zeitschrift für Jagdwissenschaft*, 43: 73–84.
30. Hell P., Slamečka J., 1999: *Zajačia zver*. PaR PRESS, Bratislava, 152 pp.
31. Hewitt D. J., Millner G. C., Nye A. C., Simmons H. F., 1995: Investigation of arsenic exposure from soil at superfund site. *Environ. Res.*, 68:73–81.
32. Hindmarsh J. T., Dekerkhove D., Grime G., Powell J., 1999: Hair arsenic as an index of toxicity. *Arsenic Exposure and Health Effects*: 41–49.
33. Hruška J., Matoušková J., Ernst M., Slamečka J., 2011: Populační dynamika zajíce polního v letech 2008–2010 na základě stanovení hmotnosti očních čoček. *Zajac polný před štvrtstoročím a dnes: Zborník vedeckých prác z konferencie s medzinárodnou účasťou: Jaroslav Slamečka, Dušan Mertin – red. 1. vyd. Nitra: CVŽV Nitra, 2011, str. 17-240, ISBN 978-80-89418-11-4*
34. Hughes M. F., 2002: Arsenic toxicity and potential action. *Toxicology Letters*, 133: 1–16.
35. Jančová A., Massányi P., Naď P., Koréneková B., Skalická M., Drábeková J., Baláž I., 2006: Accumulation of heavy metals in selected organs of yellow-necked mouse (*Apodemus flavicolis*). *Ekológia (Bratislava)*, 25 (1): 19–26.

36. Jurčík R., Hell P., Slamečka J., 1995: Der gesundheitliche Zustand des Feldhasen (*Lepus europaeus*) in der südwestslowakischen Agrarlandschaft. In: Säugetierkd. Inf., Jena, 4 (19): 23–32.
37. Jurčík R., Slamečka J., Hell P., Massányi P., 2001: Health status of brown hare in south-west Slovakia. Proceedings of abstracts „The Decline of European Hares“, Berlin, 18.–22. April:
38. Jurčík R., Slamečka J., Mertin D., Hell P., Gašparík J., Massányi P., 2007: Súčasný zdravotný stav zajaca poľného (*Lepus europaeus*) v revíroch juhozápadného Slovenska. Folia venatoria, 36–37: 89–98.
39. Jurčík R., Slamečka J., Mertin D., Gašparík J., Ondruška L., Trusinová M., 2011: Zdravotný stav zajacov poľných z juhozápadného Slovenska z pohľadu štvrtstoročia. Zajac poľný pred štvrtstoročím a dnes: Zborník vedeckých prác z konferencie s medzinárodnou účasťou: Jaroslav Slamečka, Dušan Mertin – red. 1. vyd. Nitra: CVŽV Nitra, 2011, str. 9-16, ISBN 978-80-89418-11-4
40. Karim M. R., Salam K. A., Hossain E., Islam K., Ali N., Hague A., Saud Z. A., Yeasmin T., Hossain M., Miyataka H., Himeno S., Hossain K., 2010: Interaction between chronic exposure via drinking water and plasma lactate dehydrogenase activity. Sci. Total Environ., 409 (2): 278–283.
41. Karpenko A., Bukovjan K., 1992: Histopathologische Befunde beim Feldhasen im Rahmen von Kontrollfängen in den Jahren 1987 bis 1990. Z. Jagdwiss., 38: 171–177.
42. Karpenko A., Bukovjan K., 1995: Nález extracelulárneho ceroidu v tukové tkáni ondatry pižmové. Veterinárství, 7/95: 306–308.
43. Karpenko A., Bukovjan K., 1996: Nádory divoce žijící zvěře. Československá patologie, 32(2): 78–83.
44. Karpenko A., Elleder M., Bukovjan K., 1994: Extracelulární ceroid v tukové tkáni zajíce polního (*Lepus europaeus* Pall.). Čs. Patol., 30: 97–102.

45. Kolesárová A., Slamečka J., Jurčík R., Tataruch F., Lukáč N., Kováčik J., Capcarová M., Valent M., Massányi P., 2008: Environmental levels of cadmium, lead and mercury in brown hares and their relation to blood metabolic parameters. *Journal of Environmental Science and Health, Part A-Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering*, 43: 646–650.
46. Kramárová M., Massányi P., Slamečka J., Tataruch F., Jančová A., Gašparík J., Fabiš M., Kováčik J., Toman R., Gálová J., Jurčík R., 2005: Distribution of cadmium and lead in liver and kidney of some wild animals in Slovakia. *J Environ. Sci. Health A –Tox. Hazard. Subst. Environ. Eng.*, 40: 593–600.
47. Kutlvašr K., Bukovjan K., Kodet R., 2014: Bilateral low grade serous adenocarcinoma of the ovaries in a badger (*Meles meles* L.) and its association with a borderline serous ovarian tumour: A case report. *Veterinarni Medicina*, 59 (1): 44–50.
48. Lasy T., Slunce W. Y., Kadry A., Hoffman M. K., 2004: Mean total arsenic concentrations in chicken 1989–2000 and estimated exposures for consumers of chicken. *Environmental Health Perspectives*, 112 (1): 18–21.
49. Liu C. P., Luo C. L., Gao Y., Li F. B., Lin L. W., Wu C. A., Li X. D., 2010: Arsenic contamination and potential health risk implications at an abandoned tungsten mine, southern China. *Environmental pollution*, 158(3): 820–826.
50. Lutz W., Slamečka J., 1997: Comparisons of lead and cadmium concentrations in brown hares (*Lepus europaeus* Pallas) in agricultural and industrial areas of Germany and Slovakia. *Zeitschrift für Jagdwissenschaft*, 43: 176–185.
51. Macek D., 1985: Negativní biologické účinky Agronalu (rtuťnatého mořidla osiv) na bažantí zvěř. *Veterinářství*, 35, 8: 369–370.
52. Macintosh D. L., Williams P. L., Hunter D. J., Sampson L. A., Morris S. C., Willett W. C., Rimm E. B., 1997: Evaluation of a food frequency questionnaire food composition approach for estimating dietary intake of

- inorganic arsenic and methylmercury. *Cancer Epidemiology Biomarkers and Prevention*, 6 (12): 1043–1050.
53. Mandal B. K., Suzuki K. T., 2002: Arsenic round the world: a review. *Talanta* 58: 201–235.
54. Martiniakova M., Omelka R., Jancova A., Formicki G., Stawarz R., Bauerova M., 2012: Accumulation of risk elements in kidney, liver, testis, uterus and bone of free-living wild rodents from a polluted area in Slovakia. *J. Environ. Sci. Health Part A*, 47: 1202–1206.
55. Mass M. J., Tennant A., Roop B. C., Cullen W. R., Styblo M., Thomas D. J., Kligerman A. D., 2001: Methylated trivalent arsenic species are genotoxic. *Chem. Res. Toxicol.*, 14 (4): 355–361.
56. Massányi P., Tataruch F., Slamečka J., Toman R., Jurčík R., 2003: Accumulation of lead, cadmium and mercury in liver and kidney of the brown hare (*Lepus europaeus*) in relation to season, age, and sex in the West Slovakian Lowland. *J. Environ. Sci. Health Part A*, 38, 7: 1299–1309.
57. Myslek P., Kalisinska E., 2006: Contents of selected heavy metals in the liver, kidneys and abdominal muscle of the brown hare (*Lepus europaeus* Pallas 1778) in Central Pomerania, Poland. *Polish Journal of Veterinary Sciences*, 9: 31–41.
58. Ng J. C., Wang J., Shraim A., 2003 : A global health problem caused by arsenic from natural sources. *Chemosphere*, 52 (9): 1353–1359.
59. Nováková E., 1987 : Využití volně žijících ptáků a savců, zvláště zvěře, v bioindikaci, biodiagnostice a ekologickém monitoringu. VŠZ Praha, 174 s.
60. Nováková E., Hanzl R., 1968: Erytrogram zajíce polního (*Lepus europaeus* Pall.) v kulturní krajině. *Lynx (Praha)*, 9: 38–60.
61. Nováková E. et al., 1973: Influence of industrial immissions on cation contents in the hair of common hare (*Lepus europaeus* Pall.). XI. International Congress of Game Biologists, Stockholm: 423–438.

62. Nováková E., Paukert J., 1980: Der Feldhase (*Lepus europaeus* Pall.) als Bioindikator der Landschaftsökologie. In: Bioindikation auf Ebene der Individuen, MLU Halle: 26.
63. Nováková E., Paukert J., 1982: Rozmnožovací koeficient zajíce polního (*Lepus europaeus* Pall.) a kumulace některých prvků v jeho srsti. Folia venatoria, 12: 225–238.
64. Nriagu J. O., 1994: Arsenic in the Environment. Vol.1. New York: Wiley.
65. O'Brien D. J., Kaneene J. B., Prppenga R. H., 1993: The use of mammals as sentinels for human exposure to toxic contaminants in the environment. Environmental Health Perspectives, 99:
66. Obrusník I., Paukert J., 1983: Indication of environmental pollution by means of INAA of the hair of some free living mammals. Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry, 83/2: 397–406.
67. Olguin A., Jauge P., Cebrian M., Albores A., 1983: Arsenic levels in blood, urine, hair and nails from chronically exposed human population. Proc. West Pharmacol. Soc., 26: 175–177.
68. Panek M., 2009: Factors affecting predation of red foxes (*Vulpes vulpes*) on brownhares (*Lepus europaeus*) during the breeding season in Poland. Wildlife Biology, 15: 345–349.
69. Paukert J., Obrusník I., 1986: The hair of the common hare (*Lepus europaeus* Pall.) and common vole (*Microtus arvalis* Pall.) as indicator of the environmental pollution. J. Hyg. Epidem. Microbiol. Immunol., 30: 27–32.
70. Páv J., 1985: Zdravotní stav zajíců v různých zemědělských oblastech. Závěrečná zpráva VÚLHM, Jiloviště-Strnady, 65 pp.
71. Páv J., Márová M., Piskač A., Kačmár P. et al., 1985: Veterinární toxikologie. Praha, SZN, 256 pp.

72. Páv J., Márová M., 1987: Výskyt olova, kadmia a rtuti v orgánech a svalovině zajíců. *Folia Venatoria*, 18: 151–170.
73. Pershagen G., 1981 : The carcinogenicity of arsenic. *Environ. Health. Perspect.*, 40: 93–100.
74. Piskač A., Kačmár P., 1985: Veterinární toxikologie. SZN Praha, 256 s.
75. Raie R. M., 1996: Regional variation in As, Cu, Hg, and Se and interaction between them. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 35: 248–252.
76. Rajský D., Forejtek P., Sugár L., 2012: Atlas patológie zveri. Medial Net s.r.o., 304 s.
77. Riedl O., Vondráček V., 1980: Klinická toxikologie. Avicenum, Praha, 820 s.
78. Roedenbeck I. A., Voser P., 2008: Effects of roads on spatial distribution, abundance and mortality of brown hare (*Lepus europaeus*) in Switzerland. *European Journal of Wildlife Research*, 54: 425–437.
79. Sedláček F., 1992: Ein Einfluss der Umwelt von industriell exponierten Lokalisationen auf die Serumproteinzusammensetzung bei der Feldmaus (*Microtus arvalis*). *VDI Berichte (Düsseldorf)*, 901: 955–966.
80. Semizorová I., 1977: Vliv změn prostředí na produkci zajíců v Čechách a na Moravě. *Zprávy Čs. zool. spol.*, 10–12: 5–6.
81. Semizorová I., 1982: Reprodukční ukazatelé zaječí zvěře v současných podmínkách. *Folia Venatoria*, 12: 117–125.
82. Skrivanko M., Hadziosmanovic M., Ctvrtila Z., Zdolec N., Flipovic I., 2008: The hygiene and duality of hare meat (*Lepus europaeus* Pall.) from Eastern Croatia. *Archiv für Lebensmittelhygiene*, 59: 180–184.
83. Slamecka J., Capcarova M., Jurcik R., Kolesarova A., Ondruska L., Gasparik J., Lukac N., Mertin D., 2012: The occurrence and dynamics of polychlorinated hydrocarbons in brown hare (*Lepus europaeus*) in south-western Slovakia. *Journal of Environmental Science and Health, Part A*:

- Toxic/Hazardous Substances and Environmental Engineering, 47 (9): 1217–1223.
84. Slamečka J., Hell P., Jurčík R., 1997: Brown hare in Westslovak Lowland. Acta Sc. Nat. Brno, 31(3–4): 115 pp.
 85. Slamečka J., Jurčík R., Tataruch F., 1994: Kumulacia ťažkých kovov v orgánoch zajaca poľného (*Lepus europaeus* Pall.) na juhozápadnom Slovensku. Folia Venatoria, 24: 77–87.
 86. Slamečka J., Palanská O., Jurčík R., Hell P., Mojto J., Ondrejčka R., 1998: Meat quality of brown hares (*Lepus europaeus* Pall.) -2. Composition of fatty acids in intramuscular fat of m. longissimus lumborum et thoracis. Fleischwirtschaft, 78: 824–826.
 87. Smith E., Naidu R., Alston A. M., 1998: Arsenic in the soil environment: A review. Adv. Agronom., 64: 149–195.
 88. Snow E. T., Sykora P., Durham T. R., Klein C. B., 2005: Arsenic, mode of action at biologically plausible low doses: what are the implications for low dose cancer risk? Toxicol. Appl. Pharmacol., 207: 557–564.
 89. Špenik M., et al., 1978: Zdravotná situácia v zajačej populácii vo vybraných oblastiach Slovenska v rokoch 1976–1977. Zborník referátov z medzinárodného seminára o chove a ochrane zajaca poľného. Komárno: 84–115.
 90. Stroh G., 1931: Zwei sichere Altersmerkmale beim Hasen. Tierärztlichen Wochenschrift, 12, 180-181.
 91. Stýblo M., Thomas D. J., 2001: Selenium modifies the metabolism and toxicity of arsenic in primary rat hepatocytes. Toxicol. Appl. Pharmacol., 172 (1): 52–61.
 92. Stýblo M., Drobná Z., Jaspers I., Lin S., Thomas D. J., 2002: The role of biomethylation in toxicity and carcinogenicity of arsenic: a research update. Environ. Health. Perspect., 110 (Suppl 5):767–771.

93. Šťastný K., Bejček V., Paukert J., Sedláček F., 1986: Hraboš polní (*Microtus arvalis*) – bioindikátor průmyslového zatížení krajiny. Zprávy Čs. zool. spol., 19–20: 85–86.
94. Štěrba F., 1982: Hlavní příčiny ztrát zaječí zvěře v letech 1975–1979. Folia Venatoria, 12: 239–259.
95. Tataruch F., 1979: Belastung freilebender Tiere in Österreich mit Umweltschadstoffen. Ztsch. Jagdwissensch., 25: 159–166.
96. Tataruch F., 1984: Untersuchungen zur Schwermetallbelastung der Feldhasen (*Lepus europaeus*) in Österreich. Habilitationsschrift. Forschungsinstitut für Wildtierkunde und Ökologie der Veterinärmedizinisch. Univ. Wien: 162 pp.
97. Tataruch F., Ondersheka K., 1981: Levels of the environmental pollutants in wild animals in Austria (2). Amounts of lead and cadmium in the organs of European brown hare. Z. f. Jagdwiss., 27: 153–160.
98. Tataruch F., Ondersheka K., 1981: Belastung freilebender Tiere in Österreich mit Umwelt-schadstoffen (III). Gehalt an Quecksilberin Organen von Feldhasen. Z. f. Jagdwiss., 27: 226–270.
99. Thornton I., 1999: Arsenic Exposure and Health Effects. Amsterdam: Elsevier: 191–199.
100. Toman A., Bukovjan K., Kutlvašr K., Zhorný O., Havránek F., 2011: Koncentrace derivátů kyseliny ftalové v tuku zajíce polního (*Lepus europaeus* Pall.). Zajac polný před štvrtstoročím a dnes: Zborník vedeckých prác z konferencie s medzinárodnou účasťou: Jaroslav Slamečka, Dušan Mertin – red. 1. vyd. Nitra: CVŽV Nitra, 2011, str. 79-80, ISBN 978-80-89418-11-4
101. Toman R., Massányi P., 1996: Cadmium in selected organs of fallow-deer (*Dama dama*), sheep (*Ovis aries*), brown hare (*Lepus europaeus*) and rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) in Slovakia. Journal of Environmental Science and

- Health Part A- Environmental Science and Engineering and Toxic and Hazardous Substance Control, 31: 1043–1051.
102. Tota J., 1987: Sledování výskytu chemických prvků u volně žijící zvěře a ovcí v Severomoravském kraji. Veterinářství, 37,2: 82–86.
103. Treml F., Pikula J., Bandouchová H., Horáková J., 2007: European brown hare as a potential source of zoonotic agents. Veterinární medicína, 52: 451–456.
104. Ulman C., Gezer S., Anal O., Ore R. T., Kirca U., 1998: Arsenic in human and cow's milk: A reflection of environmental pollution. Water, Air, and Soil Pollution, 101(1–4): 411–416.
105. Valentine J. L., Kang H. K., Spirey G., 1979: Arsenic levels in blood, urine and hair in response to exposure via drinking water. Environ. Res., 20: 24–32.
106. Vahter M., Concha G., 2001: Role of metabolism in arsenic toxicity. Pharmacol. Toxicol., 89 (1): 1–5.
107. Vahter M., 2002: Mechanisms of arsenic biotransformation. Toxicology letters, 181–182: 211–217.
108. Vodňanský M., Forejtek P., Winkelmaier R., Paulsen P., Rajský D., Malena M., Večerek V., Lebersorger P., Zedka H-F., 2009: Hygiena zvěřiny. Středoevropský institut ekologie zvěře, Brno-Wien-Nitra, Institut ekologie zvěře VFU Brno, 176 s.
109. Winkelmaier R., Vodňanský M., Paulsen P., Gansterer A., Treml F., 2005: Explorative study on the seroprevalence of Brucella-, Francisella-, and Leptospira antibodies in the European hare (*Lepus europaeus* Pallas) of the Austrian-Czech border region. Wien. Tierärztl. Wschr., 92: 131–135.
110. Wyatt C. J., Lopez Quiroga V., Olivas Acosta R. T., Olivia Mendez R., 1998: Excretion of arsenic (As) in urine of children, 7–11 years, exposed to elevated levels of As in the city water supply in Hermosillo, Sonora, Mexico. Environ. Res., 78: 19–24.

111. Yamanaka K., Hayashi H., Tachikawa M., Kato K., Hasegawa, Oku N., Okada S., 1997: Metabolic methylation is a possible genotoxicity-enhancing proces of inorganic arsenics. 394 (1–3): 95–101.