

Česká zemědělská univerzita v Praze

Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů

Katedra veterinárních disciplín



Vliv změny diety na jaterní testy u laboratorního potkana

Diplomová práce

Autor práce: Bc. Barbora Knytllová

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

© 2015 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv změny diety na jaterní testy u laboratorního potkana" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 10. dubna 2015

Poděkování

Ráda bych touto cestou poděkovala doc. Ing. Aleně Fučíkové, CSc., vedoucí mé diplomové práce, za ochotu a trpělivost, ale především za odborné rady, připomínky a názory, které mi velmi pomohly k napsání této práce.

Vliv změny diety na jaterní testy u laboratorního potkana

Souhrn

Cílem této diplomové práce bylo popsat vliv přídavku řepkového extrahovaného šrotu (bez přídavku selenu a obohaceného selenem) jako náhrady sójového extrahovaného šrotu v dietě na zdravotní stav laboratorního potkana. Byly analyzovány vybrané hematologické a biochemické ukazatele laboratorního potkana. Experiment probíhal ve spolupráci s Fyziologickým ústavem Akademie věd České republiky v Praze. Do pokusu č. 1 bylo zařazeno 24 samců potkana kmene Wistar, kteří byli rozděleni do 4 skupin (1 kontrolní a 3 pokusné). Každá skupina byla krmena dietou s odlišným zastoupením řepkového extrahovaného šrotu bez přídavku selenu. Do pokusu č. 2 bylo zařazeno 32 samců potkana kmene Wistar, kteří byli rozděleni do 4 skupin (1 kontrolní a 3 pokusné). Každá skupina byla krmena dietou s odlišným zastoupením řepkového extrahovaného šrotu obohaceného selenem.

Po ukončení experimentu byla v pokusu č. 1 hodnocena hmotnost potkanů ve stáří 90 dní a aktivita laktátdehydrogenázy a γ -glutamyltransferázy. V pokusu č. 2 byl z hematologických ukazatelů hodnocen počet červených a bílých krvinek, střední objem erytrocytu, hematokrit a koncentrace hemoglobinu. Z biochemických ukazatelů byla analyzována aktivita alkalické fosfatázy, alaninaminotransferázy, γ -glutamyltransferázy a laktátdehydrogenázy. Dalším hodnoceným parametrem byla také hmotnost potkanů ve stáří 30 a 90 dní. Všechny sledované parametry byly následně statisticky vyhodnoceny a byla stanovena nulová hypotéza H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým bez přídavku selenu a se selenem negativně neovlivní zdravotní stav zvířat.

Mezi zjištěnými hematologickými hodnotami, hodnotami hmotností a aktivitami alkalické fosfatázy a γ -glutamyltransferázy u pokusných skupin potkanů nebyly zjištěny statisticky významné rozdíly v porovnání s kontrolní skupinou. U získaných hodnot alaninaminotransferázy a laktátdehydrogenázy v pokusu č. 2 byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi pokusnými skupinami potkanů, kteří byli krmeni řepkovým extrahovaným šrotem obohaceným selenem a kontrolní skupinou potkanů. Aktivity obou enzymů mohou být ovlivněny obsahem glukosinolátů v krmivu či onemocněním jater. Získané hodnoty však spadaly do fyziologického rozmezí. Řepkový extrahovaný šrot tedy lze doporučit jako adekvátní náhradu sójového extrahovaného šrotu ve výživě zvířat.

Klíčová slova: potkan, selen, řepkový šrot, jaterní enzymy, hematologie

Effect of changes in diet on liver function tests at the laboratory rat

Summary

The aim of this thesis was to describe the effect of addition of rapeseed meal (without the addition of selenium and selenium-enriched) as a substitute for soybean meal in the diet on the health of rats. Selected haematological and biochemical parameters of rats were analysed. The experiment was conducted in collaboration with the Institute of Physiology of the Academy of Sciences of the Czech Republic in Prague. Experiment no. 1 included 24 male Wistar rats, which were divided into 4 groups (1 control and 3 experimental). Each group was fed by a diet with a different proportion of rapeseed meal without the addition of selenium. Experiment no. 2 included 32 male Wistar rats, which were divided into 4 groups (1 control and 3 experimental). Each group was fed by a diet with a different proportion of rapeseed meal enriched with selenium.

After the experiment no. 1, activity of γ -glutamyl transferase and lactate dehydrogenase and the weight of the rats at the age of 90 days were evaluated. After the experiment no. 2, haematological parameters (the number of red and white blood cell, mean corpuscular volume, hematocrit and hemoglobin), biochemical parameters (activity of alkaline phosphatase, alanine aminotransferase, γ -glutamyl transferase and lactate dehydrogenase) and the weight of the rats at the age of 30 and 90 days were evaluated. All monitored parameters were statistically evaluated and it was determined the null hypothesis H_0 : replacing soybean meal by rapeseed meal without the addition of selenium and enriched with selenium has no negative impact on the health of the animals.

There were no statistically significant differences among the observed haematological values, weight values and alkaline phosphatase and γ -glutamyltransferase values in comparison with the control group. The significant differences were found in the experiment no. 2 in the values of alanine aminotransferase and lactate dehydrogenase between experimental groups of rats, which were fed by rapeseed meal enriched with selenium and control group of rats. The activities of both enzymes can be affected by a glucosinolate content in the feed or some liver disease. However, these values are still in the physiological range. Rapeseed meal can be recommended as an adequate substitute for soybean meal in animal nutrition.

Keywords: laboratory rat, selenium, rapeseed meal, liver enzymes, hematology

Obsah

1 Úvod	8
2 Cíl práce	9
3 Literární rešerše	10
3.1 Využití laboratorních zvířat	10
3.1.1 Koncepce tří R.....	10
3.1.2 Laboratorní potkan.....	11
3.2 Sója luštinatá	14
3.2.1 Botanická charakteristika.....	16
3.2.2 Odrůdy sóji.....	17
3.2.3 Sójový extrahovaný šrot.....	18
3.3 Řepka olejná	19
3.3.1 Botanická charakteristika.....	20
3.3.2 Odrůdy řepky.....	22
3.3.3 Řepkový extrahovaný šrot.....	24
3.4 Hematologie	27
3.4.1 Tvorba a vývoj krevních buněčných elementů.....	28
3.4.2 Hematologické vyšetření.....	32
3.4.3 Hematologické parametry.....	33
3.5 Biochemie	35
3.5.1 Alaninaminotransferáza (ALT).....	35
3.5.2 γ -glutamyltransferáza (GMT).....	36
3.5.3 Alkalická fosfatáza (ALP).....	37
3.5.4 Laktátdehydrogenáza (LDH).....	38
3.5.5 Selen.....	39

4	Materiál a metodika	41
4.1	Materiál	41
4.1.1	Experiment	41
4.1.2	Výživa potkanů	42
4.1.3	Ukončení experimentu	44
4.2	Metodika	45
4.2.1	Stanovení hematologických ukazatelů	45
4.2.2	Stanovení biochemických ukazatelů	45
4.2.3	Statistické vyhodnocení výsledků	46
5	Výsledky	47
5.1	Pokus č. 1	47
5.1.1	Hmotnost potkanů	47
5.1.2	Biochemické ukazatele	48
5.2	Pokus č. 2	49
5.2.1	Hmotnost potkanů ve stáří 30 dní	49
5.2.2	Hmotnost potkanů ve stáří 90 dní	50
5.2.3	Biochemické ukazatele	51
5.2.4	Hematologické ukazatele	55
6	Diskuze	59
7	Závěr	63
8	Seznam literatury	64
9	Seznam obrázků	70
10	Seznam zkratk	71

1 Úvod

Řepka olejná patří v současné době k nejvíce pěstovaným olejninám na území České republiky. Řadí se mezi plodiny s vysokou rentabilitou výroby a uplatnění nachází především v potravinářství, krmivářství, ale také ve výrobě bionafty.

Jako krmivo je do krmných dávek hospodářských zvířat přidávána nejčastěji ve formě extrahovaného šrotu, výlisků nebo pokrutin. Tyto produkty jsou především hodnotným zdrojem bílkovin, ale také energie.

Jedním z důvodů použití řepkového extrahovaného šrotu ve výživě hospodářských zvířat je náhrada dosud používaného sójového extrahovaného šrotu, který musí být z velké části do zemí EU dovážen. Sójový extrahovaný šrot je významným bílkovinným jadrným krmivem, vykazuje však jinou nutriční hodnotu než šrot řepkový. Liší se především v obsahu dusíkatých látek, vlákniny a látek antinutričních. K značnému pokroku pěstování sóji ve světě přispěly geneticky modifikované odrůdy. Česká republika však z hlediska přírodních podmínek plně neodpovídá vysokým pěstitelským nárokům sóji. Tato plodina je náročná na teplo, zároveň však vyžaduje dostatečnou vlhkost prostředí. Naproti tomu řepka lépe odolává chladu, vyznačuje se vyšší odolností proti suchu, dobrou stabilitou porostu a vysokým výnosem. Pěstování řepky je produkčně i ekonomicky úspěšné v nížinách, ale srovnatelně i ve vyšších polohách. Nejvyšší kvalitu, výnosy a jistotu produkce má však v bramborářských oblastech. Řepka je také výbornou předplodinou pro následně seté obilniny a je považována za významného přerušovače obilních sledů.

Ze zjevných ekonomických důvodů, ale i z důvodu rozdílného živinového složení sójového extrahovaného šrotu, se tato práce zaměřila na vliv řepkového extrahovaného šrotu na fyziologické ukazatele zdraví zvířat. Jako modelový organismus byl při tomto experimentu použit laboratorní potkan.

2 Cíl práce

Práce zahrnuje dva pokusy. Cílem prvního pokusu je posouzení vlivu přídavku řepkového šrotu do diety laboratorního potkana a následné testování zdravotního stavu prostřednictvím hematologických ukazatelů a jaterních testů. Cílem druhého pokusu je testování řepkového šrotu obohaceného selenem a následná hematologická a biochemická vyšetření. Hypotéza práce spočívá v předpokladu, že náhrada sójového šrotu řepkovým bez přídavku selenu a se selenem negativně neovlivní zdravotní stav zvířat.

3 Literární rešerše

3.1 Využití laboratorních zvířat

Užití zvířat jako živého pokusného objektu je jednou z významných složek biologických, lékařských či veterinárních výzkumů. Využívání pokusných zvířat můžeme nalézt již ve starověku, kdy se anatomii zvířat zabývali staří Egypťané. V dnešní době je stále důležitějším rysem snaha o zmírnění utrpení zvířat během pokusu, omezení počtu užitých zvířat nebo jejich úplná náhrada jiným vhodným modelem.

3.1.1 Koncepce tří R

Koncepti tří R poprvé publikovali dva britští vědci. Russel a Burch se roku 1959 ve své knize „The principles of Humane Experimental Technique“ zabývají otázkou, zda by bylo možné nahradit používání zvířat „nevnímající“ alternativou, jako je např. tkáňová kultura, nižší organismus nebo počítačová simulace. Hlavní myšlenkou bylo snížit utrpení zvířat během experimentů na nich prováděných na minimum (Festing a Lovell, 1996). Tato kniha poskytla mnoho informací a významných nápadů a náhledů, mnoho z nich je relevantních dnes, stejně jako byly před více než 35 lety (Balls, 1997). Tři R jsou počáteční písmena slov replacement, reduction a refinement.

Replacement (náhrada) – alternativní metoda, která nezahrnuje používání živých zvířat. Taková náhrada je např. počítačová simulace experimentu. Některé živočišné orgány mohou být nahrazeny rostlinnými zdroji, např. při studiu dýchání můžeme použít mitochondrie z řepy nebo brambory místo běžně používaných potkaních jater, apod. (Williams Pecková, 2004).

Reduction (redukce, snížení) – snížení počtu zvířat zařazovaných do experimentu. Přispívá k postupnému snižování a zdokonalování v užívání zvířat, aniž by byla ohrožena kvalita výzkumu, lidské zdraví nebo životní prostředí (De Greeve et al., 2004).

Refinement (zjemnění) – snaha o snížení až úplné vyloučení bolestivých a stresujících podnětů a experimentálních postupů. Vychází z biologických potřeb zvířete a jim odpovídající technologie chovu a podmínek životního prostředí tak, aby mohly být splněny veškeré fyziologické požadavky příslušného druhu a udržena homeostáza organismu (Bartoš et al., 2007).

3.1.2 Laboratorní potkan

Dnešní laboratorní potkani byli vyšlechtěni z potkana divokého (*Rattus norvegicus*), jenž má původ v Asii, jižním Rusku a severní Číně. Do konce 18. století se divoká forma potkana rozšířila po celé planetě, a to především díky své význačné schopnosti adaptace. Od 18. a počátku 19. století byli potkani odchováni v individuálních chovech, což dalo základ vzniku jednotlivých kmenů (Klír, 1995a). O pokusech na zvířatech jako takových se začíná mluvit od počátku druhé poloviny 19. století. První záznam o experimentálním využití potkanů pochází z roku 1856, kdy byl sledován vliv adenektomie. Do té doby byly pokusy prováděny na běžných hospodářských zvířatech. Vzhledem ke stoupající potřebě pokusných zvířat byla hledána vhodná alternativa. Zavedení potkanů a myši v laboratořích mělo značné výhody, dané především jejich dobrou adaptabilitou v zajetí, malými nároky na prostor, ustájení a potravu a krátkým reprodukčním cyklem (Klír, 1995b). Laboratorní potkan by měl mít kompaktní, silnou a celistvou tělesnou stavbu. Samice mívají delší a štíhlejší tělo na rozdíl od mohutných samců. Průměrná délka těla od čenichu ke kořeni ocasu je 20 – 25 cm při hmotnosti 250 – 750 g. Ocas je u kořene silný, zužující se na konci do špičky. Jeho délka dosahuje přibližné délky těla. Srst je hustá, lesklá, dobře přiléhá k tělu, přičemž na ocase, tlapkách a prstech by mělo být krátké jemné osrstění (Kendíková et al., 2004).

Domestikaci potkanů doprovází řada morfologických a sociálních změn. Jedním z důsledků domestikace je ztráta plachosti, snížení agresivity (a tedy i snížení kousavosti) a vymizení únikové vzdálenosti. Dalším znakem domestikace je pokles hmotnosti mozku a zvýšené ukládání tuku, což může být významným faktorem při metabolických a farmakologických pokusech (Hlavička, 1995). Domestikace má také vliv na sociální uspořádání a narušuje složité sociální postavení potkanů, do kterého by člověk neměl zasahovat, pokud mají být potkani použiti v experimentech. Potkani jsou noční živočichové, aktivní nejvíce v noci a časně ráno. Metabolicky jsou nejvíce aktivní za svítání a při západu slunce, naopak během dopoledne je metabolická aktivita nejnižší. Potkani, zvláště albinotičtí jedinci, jsou světloplachá zvířata, pro která je světlo stresujícím faktorem (Živná, 2001). Jedním z typů chování, které přetrvává i přes značný vliv domestikace, jsou různé druhy komfortního chování. Toto chování je druhově typické a přetrvává u všech domestikovaných zvířat. Nejčastějším typem komfortního chování je čištění srsti či značkování (Hlavička, 1995).

I přes kmenové rozdíly je potkan neagresivní a snadno cvičitelné zvíře. Pro utvrzení neagresivní povahy je důležitá častá manipulace se zvířetem. Přiměřené zacházení se zvířaty

se pozitivně projeví i na jejich adaptabilitě. Nevhodná manipulace, nedostatečná výživa a zvukové projevy od jiných potkanů mohou nežádoucím způsobem změnit jejich chování (Živná, 2001).



Obrázek 1: Laboratorní potkan kmene Wistar (janvier-labs.com).

Ustájecí prostory pro laboratorní zvířata by měly mít voděodolné a snadno omyvatelné zdi a podlahu. Osvětlení by mělo být kontrolováno automatickým časovým spínačem situovaným mimo místnost, kde jsou zvířata umístěna. Vybavení klecí závisí na mnoha faktorech, např. na druhu zvířete, typu experimentu, apod. Optimální teplota v místnosti záleží také na druhu zvířete, pro každé je tedy nutné nainstalovat individuální kontrolor teploty prostředí. Stejně tak musí být kontrolována vlhkost prostředí, jelikož zvýšená nebo snížená vlhkost vede ke zdravotním komplikacím. Optimální vlhkost a teplota by měly být denně kontrolovány (Ruitenberga a Peters, 1986; Moore, 2000). I přesto, že je u potkanů potřeba úkrytu vlivem domestikace částečně potlačena, preferují temnější kouty klece. Cítí se lépe v tmavých, malých a omezených prostorech (Živná, 2001).

Standardizaci krmení laboratorních zvířat nejlépe umožňují granulované krmné směsi. Pro hlodavce a králíky jsou nejčastěji používány tvrdé granule (pelety), které částečně uspokojují potřebu hlodání u těchto zvířat. Vyšší trvanlivost je dána nízkým obsahem vody, při použití vhodných krmítek zajišťují dostatečnou hygienu při krmení a snížení ztráty krmiva (Bartoš et al., 2007).

Tabulka 1: Některé biologické údaje o laboratorním potkanovi (Kendíková et al., 2004).

Porodní hmotnost	5 – 6 g
Zdvojnásobení porodní hmotnosti, otevírání zvukovodu	5. den
Růst srsti	od 7. dne
Otevírání očí, první příjem pevné potravy	11. – 13. den
Konec laktace	20. – 27. den (při hmotnosti 35 – 50 g)
Odstav mláďat	28. – 35. den (při hmotnosti 50 – 85 g)
Pohlavní dospělost - samci	65. – 110. den (při hmotnosti 250 – 300 g)

Pohlavní dospělost - samice	65. – 110. den (při hmotnosti 200 – 250 g)
Tělesná dospělost	170. – 200. den
Estrální cyklus samice	4 – 5 dní
Doba vhodná ke krytí	8 – 11 hodin po začátku říje
Délka březosti	21 – 23 dní (porod většinou 22. den dopoledne)
Počet mláďat ve vrhu	4 – 24 (nejčastěji 8 – 16)
Chovnost	350 – 440 dní
Nástup sterility - samci	450. – 500. den
Nástup sterility - samice	370. – 450. den
Délka života	2 – 3,5 roku
Tělesná teplota	35,9 – 37,5°C
Dechová frekvence	75 – 115 vdechů / min. (ideálně 94)
Tepová frekvence – novorozená mláďata	81 – 241 tepů / min. (ideálně 161)
Tepová frekvence – dospělí potkani	261 – 600 tepů / min. (ideálně 382)
Potřeba pevné potravy /den	5 g / 100 g tělesné hmotnosti
Potřeba vody / den	8 – 11 ml / 100 g tělesné hmotnosti

3.1.2.1 Nomenklatura potkanů

Potkany je možno rozdělovat do dvou skupin podle toho, zda se jedná o zvířata inbrední či outbrední. Zvířata inbrední se označují jako rod, zvířata outbrední jako kmen. Opakované křížení bratra se sestrou po 20 generací dává vznik inbrednímu rodu. V rodokmenech těchto zvířat se používá označení např. F334/Han (rod potkanů Fischer odchovaný v Hannoveru). Outbrední kmen má naopak méně než 1% příbuznost v generaci. V rodokmenech je užíváno odlišné značení od inbredních kmenů. Např. outbrední potkani kmene Fischer odchovaní v Hannoveru se označují Han:F334. Odlišné kmene a rody laboratorních potkanů vykazují biologickou variabilitu, včetně hematologických a biochemických parametrů a variabilitu v odpovědích na anestetika. Tyto odlišné parametry jsou také běžné v kmenech a rodech od různých dodavatelů. Během experimentu by proto nemělo docházet ke změně dodavatelů potkanů (Hořín, 1995).

Tabulka 2: Krevní parametry laboratorního potkana (Knotková a Knotek, 2000).

Celkový objem krve	55 – 70 ml / kg
Tlak krve systolický	12 – 25 kPa
Tlak krve diastolický	7 – 19 kPa
Hematokrit	0,36 – 0,48 l / l
Hemoglobin	110 – 180 g / l

Srážlivost krve	2 – 4 minuty
-----------------	--------------

Tabulka 3: Cytologie krve laboratorního potkana (Knotková a Knotek, 2000).

Erytrocyty	5,5 – 9,5 x 10 ¹² / l
Leukocyty	6,0 – 17,0 x 10 ⁹ / l
Neutrofilní granulocyty	1,0 – 3,9 x 10 ⁹ / l
Eozinofilní granulocyty	0 – 0,7 x 10 ⁹ / l
Bazofilní granulocyty	0 – 0,1 x 10 ⁹ / l
Lymfocyty	7,5 – 9,7 x 10 ⁹ / l
Monocyty	0 – 0,6 x 10 ⁹ / l
Trombocyty	500 – 1300 x 10 ⁹ / l

Tabulka 4: Biochemický profil krve laboratorního potkana (Knotková a Knotek, 2000).

Celková bílkovina	56 – 76 g / l
Albumin	38 – 48 g / l
Globuliny	18 – 30 g / l
Glukóza	2,8 – 7,5 mmol / l
Močovina	0,8 – 3,5 mmol / l
Kreatinin	17,5 – 70,8 μmol / l
Bilirubin	3,4 – 10,3 μmol / l
Sodík	143 – 156 mmol / l
Draslík	5,4 – 6,4 mmol / l
Vápník	2,6 – 3,2 mmol / l
Fosfor	1,7 – 2,7 mmol / l
Chloridy	105 – 110 mmol / l

3.2 Sója luštinatá

Sója luštinatá se řadí k nejstarším kulturním rostlinám a je čtvrtou nejrozšířenější plodinou na světě, hned po kukuřici, pšenici a rýži. Je také nejvíce pěstovanou luskovinou a olejninou na světě. Nejvíce je pěstována v USA, Brazílii, Argentině, Číně a Indii (Houba et al., 2009). Výměra sóji přesahuje 100 mil. ha a její průměrný světový výnos se pohybuje kolem 2,3 t/ha. Z hlediska produkce oleje je sója hned po palmě olejné nejvýznamnější

světovou olejninou na světě (Baranyk et al., 2010). Plochy sóji v ČR se roku 2006 blížily 10 000 ha. Při pěstování sóji lze v našich podmínkách počítat s náklady jako u jarního ječmene (cca 13 000 Kč/ha). Pro rentabilní pěstování musí být výnos sóji nad 2,4 t/ha. Sója pěstovaná ve vhodných oblastech ČR je považována za nejrentabilnější luskovinu (Homolka a Kudrna, 2006). Pěstování sóji je také velmi prospěšné pro úrodnost půdy, zejména díky způsobu a hloubce jejího zakořeňování, osvojování živin a poutání vzdušného dusíku. Zlepšuje fyzikální, chemický a biologický stav půdy. Má vynikající předplodinovou hodnotu, především pro ozimou pšenici (Štranc et al., 2012). K značnému pokroku pěstování sóji ve světě přispěly geneticky modifikované odrůdy. V roce 2006 tyto odrůdy ve světě zaujímaly přes 50 % celkové sklizňové plochy (Houba et al., 2009). Je však nutné poznamenat, že geneticky modifikovaná sója může ovlivnit některé funkce orgánů, např. jater (Annovi et al., 2008).

Sója je důležitá nejen v zemědělském, potravinářském a krmivářském průmyslu, ale také v průmyslu chemickém, farmaceutickém či v kosmetickém. Obsahuje nejvíce bílkovin ze všech pěstovaných polních plodin u nás, a to bílkovin plnohodnotných (Baranyk et al., 2010).

Plnotučná sója se může přidávat do krmných dávek pro všechna zvířata, a to především z důvodu vysokého obsahu energie a dusíkatých látek, ale také díky chutnosti (Zeman et al., 2006). Doporučuje se přidávat do krmné dávky vysokoprodukčním dojnícím, kde výrazně zvýší energetickou hodnotu krmiva (Kudrna et al., 1998). Při zkrmování sóji přežvýkavcům je tuk do určité míry chráněn před bachorovou mikroflórou. Využití plnotučné sóji je závislé jak na ceně sójového oleje, tak na ceně sójového extrahovaného šrotu. Většinou se však sója zkrmuje po odtučnění, tedy po extrakci tuku. Vyluštěné sójové boby jsou napařovány a následně jsou zpracovány pomocí extruze, toustování, mikronizace, apod. (Zeman et al., 2006). Sója je využívána ve formě pokrutin, šrotu a dalších produktů, které vznikají při výrobě sójového mléka, kaseinu, lecitinu, apod. Do krmné dávky může být přidána v podobě sena i v zeleném stavu. Jako siláž je nejčastěji zkrmována spolu s kukuřicí v poměru 1:3 (Štranc et al., 2012).

Sója se mimo jiné vyznačuje vynikajícím aminokyselinovým složením. Obsahuje esenciální mastné kyseliny, jako jsou např. methionin, lysin či tryptofan. Vysoká kvalita sójové bílkoviny tak může vyvážit nedostatečné zastoupení esenciálních aminokyselin v některých krmných obilovinách a jejich vedlejších produktech (Krider, 1984). Vysoká stravitelnost sójových bílkovin snižuje potřebu jaderných krmiv v krmné dávce a zefektivňuje tak živočišnou produkci. Stravitelnost sójových pokrutin se udává okolo 90 % a šrotu až 97

%. V pokrutinách však při jejich průmyslové výrobě zůstává mnohem více biologicky prospěšných látek pro zdraví zvířat, především vitaminů (Štranc et al., 2012).

Určitou nevýhodou sóji je obsah antinutričních látek, které snižují biologickou hodnotu a produkční účinnost krmiv. Zejména u monogastrů mohou vyvolat dietetické poruchy. Zkrmování surových sójových bobů může být proto pro zvířata nebezpečné. Částečnou výjimku tvoří dospělý skot, zejména skot ve výkrmu, který může přijímat v krmné dávce menší množství neupravených bobů. Většinu antinutričních látek je možno inaktivovat teplotou. Termickou úpravou sóji je zároveň dosaženo vyšší stravitelnosti živin, někdy i vyšší skladovatelnosti (Homolka a Kudrna, 2006).

3.2.1 Botanická charakteristika

Sója luštinatá (*Glycine max* (L.) Merrill) je řazena mezi luskoviny, tj. do čeledi bobovitých (*Fabaceae*). Původem pochází z Asie. Sója je rostlina krátkodenní a s ohledem na svůj původ je náročná na intenzitu záření a jeho spektrální složení. Kulturní sója je jednoletá bylina, která se svým vzhledem podobá keříčkovitému fazolu. Má silný kulový kořen, z něhož se větví dlouhé postranní kořeny, které mohou prorůst do hloubky až dvou metrů. Činností bakterií rodu *Rhizobium* se na těchto postranních kořenech vytvářejí hlízkky, jejichž množství závisí na afinitě odrůdy a bakterií, na vlastnostech půdy, zejména její vlhkosti, provzdušněnosti, pH, teplotě apod. Rostliny jsou 0,2 - 2 metry vysoké v závislosti na odrůdě a růstových podmínkách (Štranc et al., 2008; Baranyk et al., 2010). Květy jsou drobné, mají bělavou až fialovou barvu a jsou samosprašné. Semena pěstovaných odrůd se odlišují velikostí, tvarem a barvou. Ta může být žlutá, zelená nebo černá (Pelikán et al., 2012).



Obrázek 2: Sója luštinatá (web2.mendelu.cz).

Plodem sóji je chlupatý podlouhlý lusk, mezi semeny mírně zaškrčený, různého tvaru, velikosti i barvy. Délka lusků může být od 3 do 7 cm a jejich počet na rostlině se pohybuje od

10 do 400. Lusky obsahují jedno až čtyři semena kulovitého až elipsoidního tvaru. V našich podmínkách se nejlépe daří sóji žlutotemenné, jejíž odrůdy jsou nejprošlechtěnější (Baranyk et al., 2010). Po sklizni je nutné semena dosušit na 12% vlhkost, jinak by mohlo dojít k jejich plesnivění (Pelikán et al., 2012).



Obrázek 3: Sója luštinatá - semena (herbsandayurveda.wordpress.com).

Přírodní podmínky v ČR však plně neodpovídají požadavkům sóji. Tato plodina je dosti náročná na teplo, zároveň ale vyžaduje dostatečnou vlhkost prostředí, především v generativním období (Houba et al., 2009).

3.2.2 Odrůdy sóji

V Katalogu OECD (Organisation for Economic Cooperation and Development) je registrováno 2011 odrůd sóji, ve Společném katalogu Evropské unie pak 301 a v České republice 11 odrůd. Jedná se o jednu domácí odrůdu s názvem Rita a o zahraniční odrůdy, např. Bohemians, Brunensis, Moravians či Tundra (Pelikán et al., 2012). V ČR dlouho panovalo přesvědčení, že zde pro sóju nejsou vhodné klimatické podmínky. Až vyšlechtění nové odrůdy na konci 20. století, ke kterému došlo v Kanadě ve stejných zeměpisných šířkách, se stalo novým impulsem pro pěstování sóji ve střední Evropě. Velký význam zde měla reakce rostliny na světelné podmínky, a to tvorbou generativních orgánů s přijatelnou dobou dozrávání. Důležité bylo sladit růst rostliny s podmínkami prostředí tak, aby nebyl přechod do generativního období příliš rychlý. Sója by pak lusky nasazovala příliš nízko a krátilo by se také období kvetení. Zajištění dobrého výnosu vyžaduje časný termín setí, což může být v našich podmínkách v rozporu s nízkými jarními teplotami (Houba et al., 2009). Sója je citlivá na náhlé ochlazení především v době kvetení. Bylo zjištěno, že při pěstování sóji v podmínkách ČR není rozhodující výše průměrné roční teploty, ale teplota vegetačního období (Štranc et al., 2008).

3.2.3 Sójový extrahovaný šrot

Sójový extrahovaný šrot je nejdůležitějším bílkovinným jadrným krmivem pro hospodářská zvířata. Ceněný je především díky vysokému obsahu dusíkatých látek (41 – 50 %) a dostatečnému obsahu lyzinu. Využívá se u všech druhů a kategorií zvířat (Zeman et al., 2006). Při výrobě sójového extrahovaného šrotu se sójové boby při extrakci tuku odslupkují, endosperm je šrotován a extrahován extrakčním činidlem. Následně je odstředěn tuk a zbytek extrakčního činidla se odpaří. Výsledný produkt je nazýván sójový extrahovaný šrot I. jakosti a obsahuje nad 48 % dusíkatých látek. Jestliže se do tohoto produktu vrátí část slupek oddělených při extrakci, vznikne sójový extrahovaný šrot II. jakosti. Má 43 - 48 % N-látek a vlivem přidání slupek je obsah vlákniny 2 - 6 %. V případě, že je podíl přidaných slupek vyšší a obsah N-látek klesne pod 38 - 43 %, hovoříme o sójovém extrahovaném šrotu III. jakosti, jenž je vhodný přidávat do krmné dávky pouze přežvýkavcům. SEŠ I. jakosti je vhodný do krmných směsí pro nejranější období výživy telat, jehňat, selat či krů'at. Pro všechny ostatní druhy a kategorie zvířat je vhodný šrot II. jakosti (Dvořáčková et al., 2011). Obsah tuku v sójovém extrahovaném šrotu je ovlivněn extrakčním postupem. V případě, že tento postup není adekvátní, může šrot vykazovat příliš vysoký podíl oleje, který zvyšuje jeho energetickou hodnotu a je zde větší riziko žluknutí při pozdějším skladování. Z těchto důvodů je preferován 1% obsah tuku v sójovém extrahovaném šrotu. Minimální hladina je 0,1 %, přičemž většina šrotů obsahuje okolo 0,5 % tuku. Z hlediska skladovatelnosti sójového extrahovaného šrotu je hodnocen také maximální obsah vlhkosti, který by neměl překročit 12 %. Se stoupající vlhkostí se zvyšuje riziko výskytu plísní. Vyšší vlhkost také snižuje nutriční hodnotu krmiva, především koncentraci živin (Britzman, 2001).

Hodnota krmiva je snižována také přítomností některých látek, které mohou být pro zvířata toxické (Kudrna et al., 1998). Surové sójové boby obsahují především inhibitory proteáz, a to trypsinové a chymotrypsinové inhibitory. Přítomnost těchto inhibitorů má za následek nedostatečné trávení proteinů. Inhibitory mohou způsobit zvětšení pankreatu o 50 až 100 %, negativně ovlivňují růst zvířat a produkci vajec (Britzman, 2001). Dalšími antinutričními látkami obsaženými v sóji jsou lektiny. Jsou to toxické rostlinné albuminy, které mohou aglutinovat erythrocyty. Bývají též označovány jako toxalbuminy či fytohematoglutiny (Homolka a Kudrna, 2006). Sója dále obsahuje saponiny, které mohou v bacheru způsobit bouřlivou fermentaci za tvorby velkého množství plynů a především pěny. Tato pěna nemůže být odstraněna eruktací. Enormně rozšířený bacher narušuje krevní oběh a dýchání, což může vést až úhynu zvířete (Kudrna et al., 1998).

Při zařazování SEŠ do krmných dávek a směsí je rozhodující obsah vlákniny, dusíkatých látek a methioninu (resp. sirmých aminokyselin; Dvořáčková et al., 2011).

Tabulka 5: Obsah živin v sójovém extrahovaném šrotu v absolutní sušině (Sommer et al., 1994 in Homolka a Kudrna, 2006).

	NL (g)	NEL (MJ)	NEV (MJ)	PDIN (g)	PDIE (g)	vláknina (g)	Ca (g)	P (g)
Sójový extrahovaný šrot	500,50	8,04	8,38	358,30	249,50	72,10	3,10	7,40

Tabulka 6: Degradovatelnost proteinu a intestinální stravitelnost proteinu nedegradovaného v bacheru u sójového extrahovaného šrotu (Homolka a Kudrna, 2006).

	Degradovatelnost proteinu		Intestinální stravitelnost proteinu	
	Enzymatická metoda	Vyjádřeno regresní rovnicí	Enzymatická metoda	Vyjádřeno regresní rovnicí
Sójový extrahovaný šrot	77 %	70 %	90 %	98 %

3.3 Řepka olejná

Řepka olejná se v současné době řadí v České republice mezi hlavní olejninu. Její hektarová výměra tvoří zhruba tři čtvrtiny z celkového rozsahu pěstovaných olejnin. Od roku 1980, kdy byla u nás řepka pěstována na rozloze asi 64 tis. ha, se její výměra zvyšuje, v roce 2005 byla sklizena z 271 tis. ha. Růst její produkce je zapříčiněn především celosvětově zvýšeným požadavkem trhu na rostlinné oleje a tuky pro výživu lidí (Herzig et al., 2007; Homolka a Kudrna, 2006).

Řepka patří mezi plodiny s příznivou rentabilitou výroby, její využití je dnes především v potravinářství, ale také při výrobě bionafty. Při zpracování řepky vzniká vysoký podíl řepkových pokrutin, výlisků a řepkového šrotu, které dnes nalézají uplatnění ve výživě hospodářských zvířat. Je však důležité, aby tyto vedlejší produkty byly zařazovány do krmných dávek tak, aby nebyla negativně ovlivněna kvalita živočišných produktů – masa, mléka a vajec, a v neposlední řadě je také nutno myslet na zdravotní stav hospodářských zvířat (Herzig et al., 2007).

Jak již bylo řečeno, produkty průmyslového zpracování řepky jsou využívány ve výživě přežvýkavců, prasat a drůbeže jako zdroj hodnotných bílkovin, ale také jako zdroj energie. Může docházet ke zkrmování i nezpracovaných řepkových semen, v tomto případě je však nutné semeno narušit, např. mletím. Využití řepky pro výrobu oleje má staletou tradici, zatímco ke krmivářským účelům jsou její vedlejší produkty využívány až od druhé poloviny 20. století, tedy od té doby, kdy byla vyšlechtěna a rozšířena dvounulová řepka s nízkým obsahem antinutričních látek, zejména glukosinolátů (Homolka a Kudrna, 2006). Přítomnost glukosinolátů a jejich štěpných produktů má za následek zhoršení chutnosti krmiva. Tyto látky mohou také přecházet do mléka či vajec, čímž narušují jejich chuť a vůni. Některé štěpné produkty glukosinolátů mohou být pro zvířata strumigenní - negativně ovlivňují činnost štítné žlázy. Mohou také poškozovat játra nebo vyvolávat poruchy plodnosti (Zeman et al., 2006).



Obrázek 4: Řepka olejná (cit.vfu.cz).

3.3.1 Botanická charakteristika

Řepka olejná se řadí mezi dvouděložné rostliny čeledi brukvovitých (*Brassicaceae*). Řepková semena jsou získávána z několika druhů, které patří do rodu *Cruciferae*. Tam řadíme hořčici hnědou (*Brassica juncea*), řepku (*Brassica napus*) a řepici (*Brassica campestris*; Herzig et al., 2007). Řepka jako kulturní plodina nemá s největší pravděpodobností žádného planého předka. Pravděpodobně vznikla křížením brukve zelné a brukve řepáku (vodnice), jako tzv. amfiallotetraploid s 38 chromozomy v oblasti středozemního genového centra. Významné pěstitelské oblasti se nacházejí na indickém subkontinentu, v Číně, západní Sibiři,

Kazachstánu, severním Kavkaze, v Evropě pak od řeky Dněpru až po Britské ostrovy, včetně Skandinávie, Pobaltí a Bílé Rusi. V Severní Americe pak zvláště v Kanadě, dále v Argentině, severní Africe, Austrálii i na Novém Zélandu (Baranyk et al., 2010).

Řepka olejná je pěstována ve formě ozimé nebo jarní. V západní a střední Evropě převažuje ozimá řepka, a to díky větší výnosnosti. Jarní forma je zde uplatňována jako náhradní plodina za vyhynulou řepku ozimou. Řepka olejná je díky svému kořenovému systému a příznivému poměru mezi nadzemní a podzemní hmotou zimovzdorná, vyznačuje se odolností proti suchu, dobrou stabilitou porostu a vysokým výnosem. Vytváří hroznovitá květenství, kde květy jsou tvořeny čtyřmi korunními plátky, jejichž zbarvení může být od světle žluté až po tmavě žlutou. Barva je podmíněna geneticky a v rámci rodu brukev se objevují značné rozdíly (Baranyk et al., 2007). Plody řepky olejně jsou úzké, asi 4 cm dlouhé, tobolky. V každé tobolce se nachází v závislosti na odrůdě 14 až 40 malých kulatých semen. Semeno řepky se skládá z osemení, endospermu a klíčku. Barva semene je modročerná až černá dle zralosti. Semena řepky ozimé bývají o něco větší než semena řepky jarní. Hlavní částí semene je klíček, v němž se nachází tuk (Herzig et al., 2007).



Obrázek 5: Řepka olejná - semena (cit.vfu.cz).

Z ekologického hlediska jsou důležité dva limitující faktory omezující pěstování řepky ozimé. Prvním faktorem je dostatek vláhy v letním období pro založení porostu, tím druhým vhodný průběh počasí během zimního období, které umožňuje přezimování porostů. Řepka je významným činitelem při zvyšování půdní úrodnosti díky produkci velkého množství biomasy kořenů i nadzemní hmoty. Její vegetační rytmus, způsob zakořeňování a půdní pokryv nadzemní hmotou je významným protierozním činitelem (Baranyk et al., 2010).

3.3.2 Odrůdy řepky

Rozvoj pěstování řepky olejné lze rozdělit do několika základních etap podle způsobu využití produktů získaných z řepkového semene – oleje a pokrutin. Až do 80. let 20. stol. byl řepkový olej používán k průmyslovým účelům, v menší míře jako stolní olej. Pokrutiny byly omezeně zkrmovány hospodářským zvířatům kvůli vysokému obsahu glukosinolátů. Do této doby byly pěstovány tradiční odrůdy řepky olejné, které se vyznačovaly vysokým obsahem kyseliny erukové a glukosinolátů. Období od 80. let 20. stol. můžeme nazvat obdobím bezerukových „0“ odrůd. Díky nástupu těchto odrůd se řepkový olej stal významným stolním olejem a důležitou surovinou pro výrobu dalších potravin (Vašák et al., 2000). Semena tohoto typu řepky však obsahovala vysoké množství glukosinolátů (až 100 μmol GSL/g semene). Tato skutečnost byla posledním faktorem bránícím plnohodnotnému využití řepkového semene. V roce 1974 se v Kanadě podařilo šlechtěním dosáhnout snížení obsahu GSL a zároveň kyseliny erukové. Tyto odrůdy byly označeny jako dvounulové („00“). Snížení obsahu GSL bylo dosaženo hlavně díky snížení alkenylglukosinolátů, zatímco obsah indolylglukosinolátů zůstal téměř neovlivněn. Pro kanadský řepkový extrahovaný šrot se začal používat název kanolový. Tento termín byl přijat Kanadskou radou pro kanolu a dnes se z něj stala obchodní značka, která zahrnuje všechny odrůdy řepky obsahující méně než 2 % kyseliny erukové a méně než 30 μmol GSL/g beztukové sušiny (Herzig et al., 2007). Geny pro snížení obsahu celkových glukosinolátů omezují jejich ukládání v semeni, nesnižují však jejich syntézu v rostlině. Obsah glukosinolátů v rostlině určuje především její genotyp. Mezi jednotlivými odrůdami existují značné rozdíly (Baranyk et al., 2007). Vyšší obsah glukosinolátů byl zjištěn u řepky pěstované v tropických oblastech než v mírném klimatickém pásu (Tripathi a Mishra, 2007).

Tabulka 7: Šlechtitelský pokrok u řepky olejné v ČR (Baranyk et al., 2010).

Období (přibližné)	Charakteristika odrůd	Využití
Do r. 1975	odrůdy s nevyhovující kvalitou – vysoký obsah kyseliny erukové (KE) v oleji a glukosinolátů (GSL) ve šrotu	malé možnosti využití; olej hlavně pro technické účely
1975 - 1985	tzv. „0“ odrůdy se sníženým obsahem KE (do 5 %), ale vysokým obsahem GSL	rozšíření pro potravinářské využití; prakticky bez krmivářského uplatnění; zvýšení osevních ploch
1985 - 2010	„00“ odrůdy s minimálním	bezproblémové potravinářské

	obsahem KE a nízkým obsahem GSL (zprvu do 30 $\mu\text{mol/g}$ semene, od r. 2005 do 18 $\mu\text{mol/g}$ semene v osivu)	využití, přidávání šrotů a výlisků do krmných směsí; zvýšení osevních ploch
Od r. 1995	rozšíření hybridních odrůd (nejdříve na bázi systému MSL Lembke, později Ogu-INRA)	stejně použití jako „00“ odrůdy, uplatnění heterózního efektu v podobě vyšších výnosů, obecně lepší odolnost rostlin proti stresům
Od r. 2000	výkonné liniové odrůdy s velmi nízkým obsahem GSL, nové trendy – změněná skladba mastných kyselin v oleji, žlutosemenné odrůdy, polotrpasličí odrůdy, využití GM technologií, atd.	nárůst osevních ploch, šlechtění odrůd se „speciálním složením“ olejů, potravinářské účely, MEŘO pro výrobu bionafty, tolerance k herbicidům, mrazuvzdornost, odolnost k chorobám a škůdcům, atd.

Počet odrůd řepky ozimé, které jsou zapsané ve Státní odrůdové knize, je kolem šedesáti. Počet odrůd ve Společném katalogu odrůd a druhů (EU) se pohybuje kolem 600. V ČR se pěstuje 50 - 60 odrůd řepky. Při výběru je třeba posuzovat odrůdy nejen podle dosaženého výnosu, ale také podle odolnosti vůči houbovým chorobám, k polehání a v neposlední řadě podle kvalitativních ukazatelů. Podíl hybridů u řepky ozimé se v ČR pohybuje kolem 20 - 25 % z prodaného osiva. Uváděný přínos hybridů ve vnosu semen 10-15 % bývá v praxi zpravidla nižší. Hybridní odrůdy dávají proti liniím vyšší výnos asi o 10 % jen při vysoké intenzitě pěstování. Při běžné pěstitelské technologii se výnos navýší pouze o cca 5 %. Hybridy tedy vyžadují úrodnou půdu a vysokou intenzitu pěstování. Většina hybridů na jaře velmi rychle obnovuje vegetaci. Pokud se v tomto období vyskytnou mrazy, patří tyto odrůdy k nejvíce postiženým (Bečka et al., 2007).

Tabulka 8: Tržní požadavky na kvalitu řepky (Homolka a Kudrna, 2006).

Požadavek	Řepka, řepice (ČSN 462300-2)	Řepka „Canola“ (AOF – CSO – 1)
Olejnatost (% při 8% vlhkosti)	42	40
Vlhkost nejvýše (%)	8,0	8,0

Nečistoty nejvýše (%)	2,0	3,0
Max. obsah kyseliny erukové (%)	2,0	2,0
Porostlá a poškozená semena (%)	max. 5,0	max. 5,0 + 3,0 + 2,0 zelená + 7,0 zlomků
Glukosinoláty „00“ odrůd nejvýše (μmol/g semene)	25,0	max. 30,0 (μmol/g beztukové sušiny)

3.3.3 Řepkový extrahovaný šrot

Řepkový extrahovaný šrot je vysokoproteinové krmivo, které se získává po extrakci tuku z řepkového semene. Je druhým nejvýznamnějším zdrojem proteinů (po sójovém extrahovaném šrotu), vyznačuje se dobrým aminokyselinovým profilem, je tedy ideálním krmivem pro hospodářská zvířata (Yanxing et al., 2013). Má žlutozelenou až žlutohnědou barvu a nacházejí se v něm černé zbytky slupek. O jeho využití ve výživě hospodářských zvířat rozhoduje především hladina glukosinolátů a cena (Vašák et al., 2000). Z hlediska výživné hodnoty je v řepkovém extrahovaném šrotu pro hospodářská zvířata kladen důraz na obsah proteinů. Semena řepky obsahují 20 - 25 % dusíkatých látek, šlechtitelským cílem je zvýšit jejich podíl na 30 %. Kromě šlechtění na geneticky podmíněný vyšší obsah bílkovin v semeni je jednou z možností zvýšit jejich obsah snížením tloušťky osemení – šlechtění na žlutosemennost. Zároveň se tím sníží obsah vlákniny na polovinu, tedy na zhruba 6 %, tím pádem se zvýší využitelnost krmiva (Baranyk et al., 2007).

Tabulka 9: Složení řepkového extrahovaného šrotu v % (Vašák et al., 2000).

	Vlhkost	Bílkoviny	Tuk	Vláknina	Popeloviny	Bezdusíkatý extrakt
ŘEŠ	8 - 12	30 - 36	2 - 12	8 - 12	7 - 12	26 - 30

Kvalita řepkových šrotů pro krmivářské účely je definována zákonem č. 91/1996 Sb. V prováděcí vyhlášce o krmivech č. 451/2000 Sb. zákona v souladu s požadavky veterinářů je definován obsah antinutričních látek – rozkladných produktů glukosinolátů (Bečka et al., 2007). V řepce se nachází kolem deseti druhů glukosinolátů, přičemž nejvíce jsou zastoupeny progoitrin, gikonapin a hydroxyglukobrasicin. Odrůdy s nízkým obsahem kyseliny erukové

(„0“) dosahují celkového obsahu GSL 100 - 150 $\mu\text{mol/g}$ semene. U odrůd s nízkým obsahem GSL („00“) byl jejich obsah výrazně snížen. V Evropě je u těchto odrůd řepky vyžadován obsah GSL do 18 $\mu\text{mol/g}$ semene. Glukosinoláty nejsou sami o sobě pro zvířata příliš škodlivé. Podléhají však enzymové hydrolýze, ale i chemickému štěpení za různých podmínek. Následkem toho jsou produkty, které již jsou pro organismus toxické (Baranyk et al., 2007). Glukosinoláty jsou v rostlinných buňkách uloženy odděleně od hydrolytických enzymů. Ty jsou aktivovány po mechanickém porušení pletiv a buněk, substrát s enzymem se tak dostávají do styku. Samotné štěpení vyvolává řada izoenzymů, které jsou souhrnně označovány jako myrosinázy. Charakter štěpeného glukosinolátu, hodnota pH a řada dalších faktorů určuje průběh enzymatické reakce. Enzymatická hydrolýza začíná odštěpením glukózy za vzniku nestálého meziprojektu. Z něj se pak uvolní hydrogensíranový anion a různé biologicky účinné látky v závislosti na pH (Herzig et al., 2007).



Obrázek 6: Řepkový extrahovaný šrot (krmiva-kratonohy.cz).

Mezi významné antinutriční látky řepkového semene patří fenolické sloučeniny. Fenolické sloučeniny a jejich deriváty se v rostlinách běžně vyskytují a zhoršují jejich chuť, barvu i vůni. Mohou vytvářet komplexy s esenciálními aminokyselinami, jako je lysin nebo methionin, které se pak stávají pro organismus nestravitelné. Řepková semena obsahují široké spektrum fenolických sloučenin. Jsou odvozené od kyseliny benzoové a skořicové a vyskytují se ve formě volných fenolických kyselin, rozpustných esterů a glykosidů fenolických kyselin. Jejich celkový obsah v řepkovém extrahovaném šrotu je 1,35 – 2,27 % (Vašák et al., 2000). Fenolické kyseliny jsou toxické pro bachorovou mikroflóru (např. poškozují blánu mikrobů). Zatímco rezistence buněčných stěn vůči mikrobiální degradaci je pro rostlinu výhodná, pro přežvýkavce se stává překážkou (Míka et al., 2001).

Hlavní fenolické sloučeniny řepkového šrotu jsou deriváty kyseliny sinapové, které představují více než 73 % volných fenolických kyselin. Kyselina sinapová je hlavní fenolickou kyselinou v surovém řepkovém oleji a vykazuje antioxidační vlastnosti, což je při výrobě řepkového oleje žádoucí. Avšak tyto antioxidační aktivity zabraňují efektivnímu vstřebávání bílkovin z řepkového krmiva. Kyselina sinapová způsobuje také hořkou chuť krmiva a to je pak zvířaty hůře přijímáno (Yanxing et al., 2013). Důsledkem přítomnosti této kyseliny je rybí zápach u vajec slepic snášejících vejce s hnědou skořápkou (Baranyk et al., 2007).

Další nežádoucí sloučeninou řepkového semen je fytin. Jedná se o sůl kyseliny fytové a tvoří až několik procent sušiny semene. V řepkovém semeni je základním zdrojem fosforu, obvykle obsahuje 50 – 80 % celkového fosforu. Fytin vytváří chelátové komplexy s ionty jedno- a dvojmocných kovů (Cu, Mg, Zn či Fe), následkem čehož nemohou být tyto kovy organismem využity. Redukce fytinu zvýší nutriční hodnotu semene, avšak zredukuje koncentraci fosforu, což může být nežádoucí z pěstitelského hlediska (Houba et al., 2009).

Třísloviny neboli taniny (z anglického tannins) patří do různorodé skupiny přirozených polyfenolů. Vyznačují se rozpustností ve vodě a schopností srážet bílkoviny. Reakcí s bílkovinami způsobují inhibici řady enzymů. Dále mohou reagovat s bílkovinami střevní stěny, a tím zhoršovat podmínky pro vstřebávání živin. Velké dávky tříslovin v krmné dávce mohou poškodit sliznici střeva, čímž dojde k jejich resorpci. Tento stav může vyústit v poškození jater a ledvin. Přítomnost taninů v krmivu způsobuje svíravou chuť (Zeman et al., 2006). Řepkový extrahovaný šrot obsahuje asi 2 – 3 % tříslovin, nacházejí se především v osemeni. Na snížení obsahu tříslovin v krmivu má tedy vliv odslupkování semen řepky či zkrmování žlutosemenné odrůdy (Vašák et al., 2000).

Při zkrmování řepky je vždy důležité si uvědomit, že glukosinoláty souvisí s obsahem dusíkatých látek, tudíž jich bude více v řepkovém extrahovaném šrotu než ve výliskách nebo samotném semeni (Homolka a Kudrna, 2006).

Tabulka 10: Nutriční hodnota krmiv z řepky (Vašák et al., 2000).

Krmivo	sušina (g)	dusíkaté látky (g)	NEL (MJ)	vláknina (g)	tuky (g)
řepkové semeno	920	200	11,1	95	400
řepkové výlisky za studena	920	330	8,5	110	150
řepkové výlisky za tepla	920	360	7,4	130	95
extrahované šroty	920	360	6,2	115	45
zelená píče	150	35	1,05	45	7
sláma	900	95	2,5	350	3

Nemalý význam má, především ve výživě lidí, také řepkový olej. Rostlinné oleje (nazývané také triglyceridy či triacylglyceroly), včetně řepkového, jsou z chemického hlediska estery vyšších mastných kyselin (MK) a trojsytného alkoholu glycerolu. Každý rostlinný olej se vyznačuje specifickými vlastnostmi, které jsou dané unikátním složením látek, z nichž je tvořen. Mezi základní charakteristiky řepkového oleje patří nízký obsah nasycených MK (5 - 8 %) vzhledem k celkovému obsahu MK. Dále se vyznačuje vysokým obsahem mononenasyčené kyseliny olejové (50 - 60 %), polynenasycené kyseliny linolové (20 - 26 %), polynenasycené alfa-linolenové kyseliny (9 - 10 %), což je vysoce ceněno ze zdravotního hlediska. Dále má řepkový olej příznivý poměr omega-3 a omega-6 mastných kyselin, přijatelný obsah tokoferolů a nízký obsah nežádoucí kyseliny erukové (do 2 %; Lynch et al., 1991; Baranyk et al. 2007).

3.4 Hematologie

Hematologie je vědní disciplína zabývající se tvorbou, složením a funkcí krve a krvetvorných orgánů za fyziologických či patologických podmínek. Jejím úkolem je také diagnostika a terapie těchto patologických změn (Doubek et al., 2003). Krev je životně důležitý orgán, jehož úkolem je transport kyslíku, oxidu uhličitého, dalších metabolitů, vody a tepla. Krev má také funkci regulační, kterou zajišťují různé informační molekuly, nárazníkové systémy, apod. Krev se skládá z celulórního oddílu, který je tvořen krevními buňkami. Mezi ně patří erythrocyty, leukocyty a trombocyty (Svoboda et al., 2001). Tekutý oddíl krve představuje plazma. Jedná se o nažloutlou průhlednou tekutinu, v níž jsou rozpuštěny

elektrolyty, živiny, produkty metabolismu, vitaminy, bílkoviny a plyny. Plazma je z 90 % tvořena vodou. Mezi úkoly plazmatických bílkovin patří humorální imunita, srážení krve zachování koloidně-osmotického tlaku (který zabezpečuje konstantní objem krve), transport ve vodě nerozpustných látek a ochrana některých substancí před jejich odbouráváním v krvi a následném vyloučení ledvinami (např. hem; Silbernagl a Lang, 2001). Krev a krve tvorné orgány jsou svými funkcemi významně provázány s imunitním systémem. Buňky imunitního systému jsou přítomny v celém organismu a jejich distribuce je zprostředkována oběhovým systémem. Nejvíce se shromažďují v lymfatických orgánech. Lymfatické orgány imunitního systému jsou rozděleny na primární, ve kterých probíhá tvorba krevních elementů, a sekundární, jež jsou místem imunitní odpovědi (Toman et al., 2009). Množství krve vyjádřené na 1 kg živé hmotnosti se u dospělých savců pohybuje v rozmezí od 55 do 90 ml. U mladých zvířat je množství krve na jednotku hmotnosti vyšší (Doubek et al., 2003). Objem krve u potkanů představuje asi 70 ml / kg ž. hm., u dospělého samce lze tedy předpokládat asi 15 – 20 ml krve (Brown a Rosenthal, 1997).

3.4.1 Tvorba a vývoj krevních buněčných elementů

Proces tvorby krevních buněčných elementů je nazýván hematopoéza, neboli krve tvornost. Fyziologický proces krve tvornosti se označuje jako euplastický. Hlavním krve tvorným orgánem u plodu jsou slezina a játra obsahující pluripotentní kmenové buňky, které se působením hemopoetických růstových faktorů diferencují na myeloidní, erytroidní a lymfoidní prekurzory. Tyto kmenové buňky se samy reprodukuje, takže jejich počet zůstává po celý život stálý (Silbernagl a Lang, 2001). Hlavním místem postnatální krve tvornosti je červená (aktivní) kostní dřev a zároveň je také místem, ve kterém probíhá zrání B lymfocytů. Lymfocyty, které pocházejí z lymfoidních prekurzorů, potřebují ještě dále dozrát. Tento proces probíhá v brzlíku a kostní dřev. Všechny ostatní prekurzorové buňky proliferují a dozrávají až do své konečné podoby v kostní dřev a odtud se nakonec dostávají do krve (Jílek, 2002).

3.4.1.1 Erytrocyty

Savčí erytrocyty jsou vysoce specializované buňky vznikající z nediferencované pluripotentní kmenové buňky. Během svého zrání ztrácí cytoplazmatické organely – jádro, mitochondrie a ribozomy. Mají okrouhlý bikonkávní tvar, což má význam především pro zvětšení difúzní plochy pro krevní plyny (povrch erytrocytu je tím větší asi o 1/3). Díky svému tvaru se erytrocyt lépe přizpůsobí lumenu kapilár. Tuto vlastnost, deformabilitu, mají

především díky své membráně, která je tvořena mj. fosfolipidy a sacharidy, ale také skeletálními proteiny (spektrinem, aktinem, apod.; Svoboda et al., 2001). Živý erytrocyt má podle druhu savce průměr od 2,5 do 8 μm a tloušťku 2 μm . Erytrocyt potkana má průměrnou velikost 6,2 μm . V organismu se nachází více než $300 \cdot 10^9$ erytrocytů na 1 kg ž. hm. Hlavní funkcí erytrocytů je transport dýchacích plynů. Tato funkce je úzce spojena s červeným krevním barvivem – hemoglobinem, který je součástí erytrocytů. Podíl hemoglobinu na hmotnosti erytrocytu činí asi 34 % (Doubek et al., 2003). Délka života erytrocytu v obvodové krvi je 110 – 120 dní. U drobných savců je jejich životnost kratší (Pecka, 2006).

3.4.1.2 Leukocyty

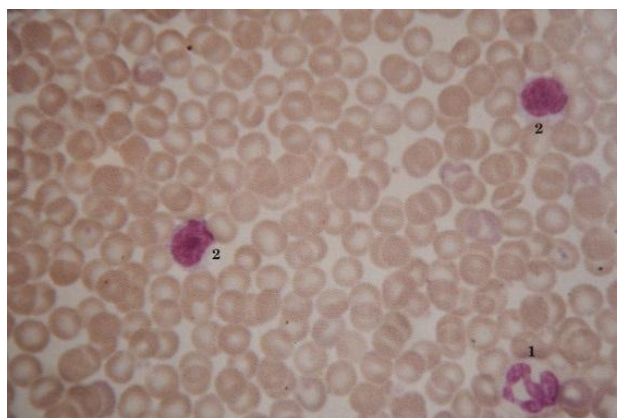
Leukocyty neboli bílé krvinky se především zúčastňují obranných reakcí organismu. Dělí se podle přítomnosti či absence specifických granulí v organismu na granulocyty a agranulocyty.

Granulocyty jsou rozděleny do tří skupin podle barvitelnosti granul, která jsou obsažena v cytoplazmě těchto buněk. První skupinou jsou neutrofilny, které tvoří přes 90 % granulocytů v krvi. Migrují mezi tkáněmi a pronikají rychle do zánětlivých ložisek, kde pohlcují mikroorganismy. V krvi přežívají jen několik hodin (Jackson Liang Jao a Lai Guan, 2012). Neutrofilní granulocyty představují u potkana 12 – 38 % cirkulujících bílých krvinek (Doubek a kol., 2003). Druhou skupinu tvoří eozinofily. Tyto buňky se vyznačují schopností zničit mnohobuněčné parazity toxickými produkty a kyslíkovými metabolity. Jsou také schopny usmrcovat infekční larvální stádia helmintů. V krvi nepřežívají déle než týden (Meeusen a Balic, 2000). Třetí skupinou granulocytů jsou bazofily, které mají spolu s žírnými buňkami klíčovou úlohu v zánětlivých reakcích. U těchto buněk je hustota granulí druhově specifická. Délka života bazofilních granulocytů v krevním oběhu je maximálně týden (Kawakami a Galli, 2002).

Agranulocyty jsou buňky různého tvaru s kompaktním jádrem. V jejich cytoplazmě se mohou vyskytovat primární (azurofilní) granule a vakuoly. Mezi agranulocyty patří lymfocyty a monocyty (Svoboda et al., 2001).

Lymfocyty vznikají z lymfatických kmenových buněk v kostní dřeni. Hlavními populacemi lymfocytů jsou T a B lymfocyty, zajišťující specifickou imunitu. Dále mezi lymfocyty patří NK buňky (natural killers – přirození zabijáci) podílející se na nespecifické imunitě. T lymfocyty vznikají dozráváním kmenových buněk v brzlíku. Jsou odpovědné za buňkami zprostředkovanou specifickou imunitu a rozpoznávají antigeny pomocí receptoru TCR – specifický receptor T lymfocytů pro antigen. Vážou antigeny, které byly nejdříve

rozloženy na malé peptidy a navázány na receptory MHC (major histocompatibility komplex) na povrchu buňky, která prezentuje antigen nebo na povrchu cílové buňky (Stites a Terr, 1991). Představují nadpoloviční většinu lymfocytů cirkulujících v krvi (asi 70 %). Pronikají přes stěnu krevních cév do tkání a odtud se lymfatickým oběhem dostávají přes lymfatické uzliny zpět do krve (Nečas et al., 2000). Zvláštním typem T lymfocytů jsou tzv. pomocné T lymfocyty (Th - helper), které mimo jiné vykonávají pomoc B lymfocytům. Po aktivaci Th buněk dochází k tvorbě celé řady růstových a diferenciacních faktorů – cytokinů, které jsou důležité pro okamžitou aktivaci B lymfocytů produkujících protilátky (Stites a Terr, 1991). Pomocné T buňky se rozlišují na Th 1 a Th 2 lymfocyty. Funkčně nejdůležitější rozdíl mezi těmito dvěma typy Th lymfocytů je produkce různých cytokinů. Vzájemný poměr těchto diferenciovaných lymfocytů má vliv na výslednou imunitní odpověď (Xu et al., 1991). Dalším typem jsou tzv. cytotoxické T lymfocyty (Tc), které svým receptorem rozpoznávají antigen navázaný na infikované buňce (např. virem), nádorové buňce či buňce transplantovaného orgánu a dokážou navodit smrt takovéto buňky (Silbernagl a Lang, 2001). B lymfocyty vznikají v kostní dřeni (u ptáků ve Fabriciově burze). Jejich hlavní funkcí je produkce protilátek. Pomocí receptoru BCR (specifického receptoru B lymfocytů pro antigeny), který je tvořen membránovým imunoglobulinem (IgM), jsou schopny rozpoznat antigen. Vazba antigenu na BCR je prvním signálem pro B lymfocyt, který začíná reagovat. Zdrojem druhého signálu jsou především Th lymfocyty, které tvoří řadu cytokinů (účinných faktorů, které formují aktivitu buňky; Jílek, 2002). NK buňky jsou lymfocyty, které mají zásadní cytotoxickou a regulační roli při specifické imunitní odpovědi a zánětu. Jsou schopny ničit nádorové buňky nebo buňky infikované virem (Bernardini et al., 2012; Liu et al., 2012).

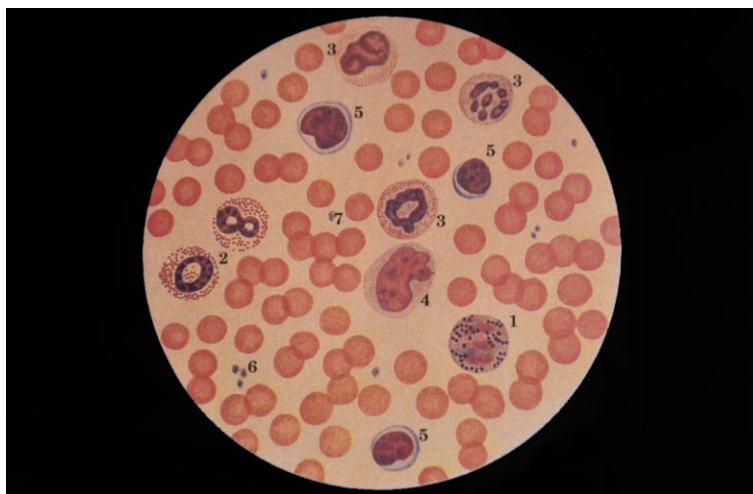


Obrázek 7: (1) Neutrofilní granulocyt, (2) lymfocyty laboratorního potkana v periferní krvi (Doubek et al., 2003).

Monocyty se uplatňují v nespecifické imunitě jako součást mononukleárního fagocytárního systému. Zralé monocyty jsou většinou nepravidelného tvaru z důvodu přítomnosti různých výběžků (pseudopodií). Dosahují velikosti 15 – 22 μm . V cytoplazmě mohou být přítomny vakuoly a jemné azurofilní granule (Doubek et al., 2003). Po několika dnech života v krevním oběhu přestupují monocyty do tkání, kde plní roli makrofágů. Makrofágy jsou ústředními buňkami vrozené imunity, mají schopnost fagocytovat cizorodé částice nebo vyvolat zánětlivou reakci. Některé tkáňové makrofágy jsou označovány specifickými názvy, např. Langerhansovy buňky v epidermis kůže, Kupfferovy buňky jater nebo mikroglie v CNS. Významně se také účastní reakcí specifické imunity, a to prezentací antigenu T lymfocytům (Harvey, 2001).

3.4.1.3 Trombocyty

Savčí trombocyty neboli krevní destičky jsou bezjaderné fragmenty. Nejsou buňkami v pravém slova smyslu, protože nemají jádro a nejsou schopny se replikovat. Na povrchu cytoplazmatické membrány jsou přítomny glykoproteiny, které brání uchycení destiček k nepoškozené cévní stěně a naopak umožňují adhezenci ke stěně poškozené (Harvey, 2001). Membrána dále obsahuje značné množství fosfolipidů, které se podílejí na procesu zástavy krvácení (hemostáze). Hlavním regulačním hormonem trombocytů je trombopoetin, který je produkován v játrech a ledvinách a stimuluje produkci a diferenciaci megakaryocytů, vznikajících z hematopoetické kmenové buňky v kostní dřeni. Délka života trombocytů v periferní krvi je přibližně 10 dnů (Kittnar et al., 2011).



Obrázek 8: Hemogram u laboratorního potkana. Vysvětlivky: (1) Bazofilní neutrofil, (2) eozinofilní granulocyty, (3) neutrofilní granulocyty, (4) monocyty, (5) lymfocyty, (6) trombocyty, (7) erytrocyty (Doubek et al., 2003).

3.4.2 Hematologické vyšetření

Laboratorní vyšetření je proces, který se skládá z kontrolovaných a navzájem na sebe navazujících činností. Biochemické a hematologické nálezy využívané v klinické praxi jsou výsledkem činnosti klinických laboratoří (tj. laboratorního vyšetření). Předmětem laboratorního vyšetření je stanovení hodnot biochemických a hematologických veličin, ale také veličin cytologických a dalších (Doubek et al., 2010). Laboratorní vyšetření krve lze rozdělit do tří fází.

3.4.2.1 Preanalytická fáze

Fáze preanalytická zahrnuje přípravu pacienta a odběrového materiálu. Během procesu je se zvířetem zacházeno klidně za dodržování zásad asepse a antisepte. Důležitá je správná volba a správné použití antikoagulačního (případně konzervačního) prostředku ve správném poměru. Antikoagulanty vždy ovlivňují složení vzorku krve. Mohou vyvazovat vápník a hořčík a tím snižovat jejich koncentraci ve vzorku. Většinou se jedná o sodné soli, tudíž je ve vzorku zvýšené množství sodíku. Některé antikoagulanty mohou snižovat aktivitu enzymů. Neméně důležité je správné označení odebraných (primárních) vzorků, ale i vzorků zpracovaných (sekundárních), a to především kvůli vyloučení jejich záměny. Preanalytická fáze rozhoduje o správnosti výsledku z více než 50 %, přesto však v praxi bývá podceňována (Svoboda et al., 2000). Místo odběru vzorku je druhově odlišné. U potkanů se krev často odebírá z *vena caudalis lateralis*, neboli laterální ocasní žíly. Doba odběru je nejlépe ráno, nalačno (doporučována je hladovka po dobu 6 hodin), po periodě odpočinku. Zvířatům samozřejmě nesmí být před plánovaným odběrem podávány žádné léky. Odebírání krve probíhá pokud možno ve stále stejné poloze zvířete, za minimálního tlaku. Odběr na hemokoagulační vyšetření musí být obzvláště šetrný. Krev je většinou odebírána do zkumavek s antikoagulačním prostředkem, nativní krev je používána již méně často (Doubek et al., 2003). Pro stanovení většiny krevních parametrů se jako antikoagulant používá chelatonát trojdraselný, který vyvazuje kalciové kationty a udržuje krev nebo plazmu v nesrážlivém stavu. U hemokoagulačních stanovení se využívá citrát sodný, který má také schopnost vyvazovat ionty vápníku. Při jemnějším vyšetření, zejména fyziologických vlastností krvinek, se používají antikoagulanty s pufracími schopnostmi. K vyšetřením, u kterých je předpokládána snížená odolnost membrány erytrocytů nebo zvýšená citlivost erytrocytů, jsou využívány antikoagulanty heparinového typu (Pecka et al., 2010). Krev určená k hematologickému vyšetření se používá buď nezpracovaná (tzv. plná) nebo její části.

Krevní plazma je získávána centrifugací krve a oddělením plazmy co nejdříve po odběru krve. Krevní sérum je získáváno centrifugací a odsátím séra co nejdříve po odběru a srážení krve, které probíhá při teplotě 37 °C po dobu 30 – 60 minut (Doubek et al., 2003).

3.4.2.2 Analytická fáze

Obsahem analytické fáze je kvalitativní nebo kvantitativní stanovení, tj. určení přítomnosti nebo množství sledovaného parametru či vlastnosti. Analytická fáze zahrnuje přípravu vzorku, který musí být šetrně promíchán a temperován. Další postup je dle konkrétních použitých metod. Vlastní vyšetření je v dnešní době plně automatizováno (Svoboda et al., 2000).

3.4.2.3 Postanalytická fáze

Při použití manuálních a některých přístrojových metod v analytické fázi zahrnuje fáze postanalytická výpočty. Výsledky jsou zaznamenávány a archivovány, případně odeslány na další klinická pracoviště. Nejdůležitější částí této fáze je správné hodnocení a interpretace výsledků, což je ve vztahu se správným využitím referenčních hodnot (Doubek et al., 2010).

3.4.3 Hematologické parametry

3.4.3.1 Počet erytrocytů (RBC – red blood cells)

Počet erytrocytů udává množství těchto buněk v jednom litru krve. Stanovení probíhá za pomoci mikroskopu nebo analyzátoru krvinek. Počet červených krvinek na jednotku objemu krve vykazuje značný pohlavní dimorfismus. Tento rozdíl je zapříčiněn především účinkem pohlavních hormonů na erythropoézu. Dále je množství erytrocytů ovlivněno věkem, ale také např. fyzickou aktivitou (Kittnar et al., 2011). Fyziologicky zvýšené hodnoty se vyskytují u mláďat. K patologickému zvýšení množství erytrocytů dochází při primární polycytémii (*polycythaemia vera*), dehydrataci, při extrémní fyzické námaze nebo při šokových a stresových stavech (Harvey, 2001). Snížené hodnoty bývají u vrozených anémií, a to při aplastických i hemolytických, ale také u získaných anémií, které mohou doprovázet některá onemocnění. Při zvýšeném příjmu tekutin může dojít k tzv. efektu zředění, což následně ovlivní měřené hodnoty. Ke snížení počtu erytrocytů může dojít také při nedostatečném přísunu kyseliny listové a železa v krmivu (Sedláček, 2006).

3.4.3.2 Počet leukocytů (WBC – white blood cells)

Počet leukocytů vyjadřuje počet těchto buněk v jednom litru krve. Hematologické změny bílých krvinek jsou obecně závislé na druhu zvířete. Nejčastější příčinou snížení počtu bílých krvinek je infekce, ať už virová nebo protozoární. Obvykle je tento stav způsoben neutropenií, tedy snížením počtu neutrofilních granulocytů. K tomuto stavu dochází kvůli snížené tvorbě samotných neutrofilů nebo kvůli jejich rychlé destrukci. Zvýšení počtu bílých krvinek je běžnou reakcí na zánětlivé procesy v organismu (Halouzka, 1998). Leukocyty jsou, kromě krve, měřeny také v moči, kde mohou signalizovat zánět močových cest. Hodnoty leukocytů mohou být ovlivněny tělesnou zátěží a stresem (Sedláček, 2006). Reakce na zánětlivý stav může být druhově odlišná. Např. pes, kočka a prase reagují na bakteriální infekci masivním zvýšením počtu neutrofilních granulocytů. Na druhé straně u koně je zvýšení mírné, u skotu dokonce žádné (Doubek et al., 2010).

3.4.3.3 Hematokrit (HCT)

Hematokrit udává poměr objemu erytrocytů k celkovému objemu krve. Stanovuje se na základě objemového podílu, který zaujmou erytrocyty k objemu celé krve po centrifugaci za standardních podmínek. Jeho hodnota je za normálních podmínek vyšší v žilní krvi (v důsledku hydratace a zvětšení červených krvinek) a naopak fyziologicky nižší během gravidity (vlivem naředění krve). Hodnoty hematokritu mohou sloužit k posouzení stupně anémie (Pecka et al., 2010; Kittnar et al., 2011). Zvýšení hodnot hematokritu může být způsobeno hypoxickými stavy, dehydratací, extrémní fyzickou námahou, renálními tumory či aplikací glukokortikoidů. Snížení hodnoty hematokritu nastává při anémii, v poslední třetině gravidity nebo při některých hemolýzách (Svoboda et al., 2000). Pokud vydělíme hodnoty hematokritu počtem erytrocytů, získáme hodnotu středního objemu erytrocytu (Pecka et al., 2010).

3.4.3.4 Střední objem erytrocytu (MCV – mean cell volume)

Střední objem erytrocytu je hematologickým parametrem, který vyjadřuje průměrný objem buňky v hodnocených erytrocytech. Tato hodnota udává, zda jsou červené krvinky normální velikosti, či jsou příliš malé nebo velké (Sedláček, 2006). Střední objem erytrocytu je zjišťován přímým měřením na analyzátoch krvinek, nebo výpočtem podle vzorce. Histogram erytrocytů podle MCV reprezentuje křivku závislosti středního objemu erytrocytů na jejich četnosti. Histogram informuje o normocytóze (normální stav MCV), mikrocytóze

(snížený MCV) a makrocytóze (zvýšený MCV). Zvýšení středního objemu erytrocytu může značit hypoosmolální stavy. Naopak snížení může nastat při mikrocytární anémii (především z nedostatku železa; Pecka, 2006).

3.4.3.5 Koncentrace hemoglobinu (HGB)

Hlavní funkcí hemoglobinu, nebo-li krevního barviva, je transport krevních plynů – kyslíku a oxidu uhličitého. Molekula hemoglobinu obsahuje čtyři vazebná místa pro molekuly kyslíku. Je-li na hemoglobin navázán kyslík, je tento derivát označován jako oxyhemoglobin, bez kyslíku pak deoxyhemoglobin a s navázaným oxidem uhličitým jako karbaminohemoglobin. Podíl hemoglobinu na hmotnosti erytrocytu je asi 34 %. Zvýšení koncentrace hemoglobinu v krvi může zapříčínovat dehydratace, hematologické malignity, hypoxické stavy, extrémní fyzická námaha, stres, šok či aplikace glukokortikoidů. Průkaz zvýšeného hemoglobinu v moči je příčinou rozpadu většího množství červených krvinek (hemolýza). Snížení koncentrace hemoglobinu může být způsobeno anémií či poslední třetinou gravidity (Sedláček, 2006; Kittnar et al., 2011).

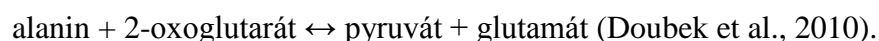
3.5 Biochemie

Aktivita jaterních enzymů se zvyšuje v případě hepatocelulárního poškození nebo při indukci jejich syntézy, což může být způsobeno regenerací, účinkem některých léčiv či cholestázou (městnáním žluči). Změření aktivity těchto enzymů nám však neposkytuje informace o funkčnosti jater. Hodnoty jaterních enzymů mohou být v normálním rozmezí i při letálním selhání jater. Na druhou stranu může být funkce jater dostačující za současného zvýšení aktivity jaterních enzymů. V praxi lze enzymy pro určení správné diagnózy využívat pouze při opakovaném stanovení nebo v kombinaci s jaterní biopsií (Svoboda et al., 2000).

3.5.1 Alaninaminotransferáza (ALT)

Aminotransferázy, dříve označovány také jako transaminázy, jsou enzymy, které za účasti koenzymu pyridoxalfosfátu přenášejí NH_2 skupinu aminokyselin na α oxoskupinu, především kyseliny α oxoglutarové. Produktem této reakce je nejčastěji kyselina glutamová, která je následně aerobně dehydrogenována v mitochondriích, čímž se obnoví α oxoglutarát potřebný pro další průběh transaminačních reakcí. Transaminační reakci tohoto typu podléhá většina známých aminokyselin. Jednou z nejčastěji stanovovaných aminotransferáz pro klinickou diagnostiku je alaninaminotransferáza (Blahovec a Šlesárová, 1991).

ALT katalyzuje reakci:



Stanovení sérové alaninaminotransferázy (ALT) je běžné, snadno dostupné a levné laboratorní vyšetření v klinické praxi. Aktivita ALT se měří nejen pro detekci onemocnění jater, ale také pro sledování celkového zdraví. Aktivita ALT je ovlivněna různými faktory, včetně virové hepatitidy či konzumací alkoholu a léků (Liu et al., 2014). Tento cytoplazmatický enzym vykazuje nejvyšší aktivitu v hepatocytech. Katalyzuje reverzibilní reakce alaninu a 2 - oxoglutarátu za vzniku pyruvátu a glutamátu. Aminotransferázy dávají informace především o hepatocelulárním poškození. V hepatocytech je ALT uložena v cytosolu, při poškození buňky se tedy snadno uvolňuje. Příčinou zvýšené aktivity ALT může být poškození jater různého původu (infekce, intoxikace, traumata, šok, neoplazie či portosystémový zkrat), ale také myokarditida (hlavně u koní), akutní zánět slinivky břišní nebo horečka. Při rozsáhlých akutních nekrózách jater může jejich aktivita během jednoho dne stoupnout až stonásobně. ALT je charakteristickým enzymem pro jaterní tkáň, vyskytuje se však také v myokardu, ledvinách a ve svalech, avšak jejich koncentrace zde je mnohonásobně nižší (Svoboda et al., 2000; Pavlík, 2013).

3.5.2 γ -glutamyltransferáza (GMT)

GMT, nazývána také jako γ -glutamyltranspeptidáza, je glykoproteinový enzym, který má za úkol katalyzovat přenos γ -glutamylového zbytku na vhodný akceptor, tím může být peptid či bílkovina (Racek et al., 1999). Ve spojení s peptidázou hraje GMT hlavní roli v regulaci intracelulárního glutationu, a to hydrolýzou extracelulárního tripeptidu glutationu na jeho tři hlavní komponenty - aminokyseliny kyselinu glutamovou, cystein a glycin. Tyto aminokyseliny pak mohou být ihned využity k syntéze glutationu podle potřeb dané buňky. Významnou funkcí tohoto enzymu je detoxikace xenobiotik, včetně ekologicky významných látek a karcinogenů tím, že je činí více rozpustnými ve vodě, čímž dochází k jejich snadnějšímu vyloučení z těla. GMT je klíčovým enzymem v metabolismu endogenních mediátorů, jako jsou např. leukotrieny a prostaglandiny. Bylo také prokázáno, že GMT se přímo účastní některých reakcí jater a ledvin na jejich poškození (Lieberman et al., 1995). Spolu s ALT je součástí testu poškození hepatocytů. GMT je také považována za indikátora oxidačního stresu, tedy nerovnováhy mezi oxidačními a antioxidačními reakcemi, a to ve prospěch oxidačních procesů. Spolehlivě také indukuje karcinom jater či jeho metastáze. Jedná se o enzym, který je velmi stabilní (Doubek et al., 2010).

GMT se vyskytuje především v ledvinách (na lumenálním povrchu buněk proximálního tubulu) a slinivce břišní (v exokrinní části orgánu – na lumenálním povrchu epitelálních buněk vnitřních vývodů). Její aktivita v krvi však pochází hlavně z jater. Je lokalizována v mikrozomech a membránách žlučových pólů hepatocytů. Dále je přítomna v mléčné žláze (v membránách žláznatého epitelu), méně pak v tenkém střevě (v mikrokřivkách enterocytů) a ve stopových množstvích v kosterním svalstvu, myokardu a plicích. Existují však zde druhové rozdíly – GMT se nenachází v játrech kočky (Blahovec a Šlesárová, 1991).

Svou aktivitou je GMT podobná alkalické fosfatáze, v mnoha případech je však při diagnostickém vyšetření doporučováno stanovení obou těchto enzymů. Je především ukazatelem cholestatického poškození (Svoboda et al., 2000). Její hodnoty se zvyšují při zánětlivých a jiných onemocněních jater, při poškození jater léky nebo organickými rozpouštědly (např. tetrachlormetanem), při těžkých anémiích (v důsledku hypoxického poškození jater), akutním zánětu slinivky břišní či poškození ledvinných tubulů. Její hodnoty jsou ovlivněny také pravidelnou konzumací alkoholu (Sedláček, 2006; Doubek et al., 2010).

3.5.3 Alkalická fosfatáza (ALP)

Fosfatázy jsou lysozomální enzymy, které uvolňují kyselinu orthofosforečnou z vazby s alkoholy nebo aromatickými monoestery. V buněčných organelách a cytoplazmě existuje široké spektrum fosfatáz. Dle pH se rozlišují dva typy fosfatáz – alkalická a kyselá fosfatáza, které se vzájemně liší v některých vlastnostech. Alkalická fosfatáza je na rozdíl od kyselé aktivována Mg^{2+} , méně pak Mn^{2+} , Zn^{2+} a Co^{2+} . Kyselá fosfatáza je, na rozdíl od alkalické, inhibována fluoridy (Pecka et al., 2010).

Alkalická fosfatáza je enzym, který při alkalickém pH (optimum okolo pH = 10) hydrolyticky štěpí různé estery kyseliny fosforečné. V krevním séru se jedná o směs enzymů, pocházejících převážně z jater (žlučové cesty), kostí (osteoblasty), placenty, ledvin (buněk proximálního tubulu) a trávicího traktu (enterocyty; Blahovec a Šlesárová, 1991). V játrech je ALP lokalizována na cytoplazmatických membránách žlučových pólů hepatocytů a epitelu žlučovodů. Uvnitř buněk se vyskytuje v mnohem menší míře než ALT (Svoboda et al., 2000). Střevní alkalická fosfatáza má zásadní úlohu při homeostáze a udržení zdravého střevního epitelu. Jejím úkolem je defosforilovat toxické mikrobiální ligandy, jako jsou např. lipopolysacharidy. Schopnost alkalické fosfatázy detoxikovat tyto ligandy je nezbytná při ochraně organismu před sepsí při zánětlivých střevních onemocněních. Další významnou vlastností střevní ALP je schopnost regulace střevní mikroflóry. V tomto směru je důležitým faktorem krmivo, které může měnit expresi a aktivitu střevní ALP (Estaki et al., 2014).

Ve všech tkáních je enzym lokalizován v cytoplazmatické membráně, kde se podílí na transportu látek přes tuto membránu. Hodnoty ALP v krevním séru jsou značně závislé na věku. U mladých a rostoucích zvířat je hodnota vyšší. Hlavním zdrojem ALP v krevním séru mláďat je kostní enzym, v důsledku vysoké osteoblastické aktivity. Přítomnost tohoto kostního enzymu pak může komplikovat případnou diagnostiku. Fyziologicky vyšší hladina ALP je také u zvířat v pozdějším stadiu gravidity (Blahovec a Šlesárová, 1991). Zvýšení aktivity alkalické fosfatázy je dále pozorováno při stresu, zánětlivých stavech a po podání glukokortikoidů (Pecka et al., 2010). Syntéza ALP může být také indukována poškozením hepatocytů solemi žlučových kyselin. Tyto kyseliny navíc uvolňují ALP svým detergentním působením na membrány. ALP je především ukazatelem cholestatického poškození jater, i když je v malé míře uvolňována také při rozpadu hepatocytů (Svoboda et al., 2000). Zvýšení její aktivity v séru může být také důsledkem různého onemocnění kostí – rachitis, osteomalacie, či primární nebo sekundární nádory kostí. Naopak ke snížení aktivity ALP dochází při tzv. hypofosfatazémii. Jedná se o autozomálně recesivní dědičné onemocnění, při kterém je močí vylučováno nadměrné množství fosfoetanolaminu (Racek et al., 1999).

3.5.4 Laktátdehydrogenáza (LDH)

Jedná se o koncový enzym anaerobní fáze metabolismu sacharidů, proto se LDH vyskytuje prakticky ve všech tkáních. Úkolem laktátdehydrogenázy je katalyzovat reverzibilní přeměnu pyruvátu na laktát za účasti koenzymu NADH + H⁺, resp. NAD⁺. LDH je také základním enzymem pro udržování redoxní rovnováhy (Gaspar et al., 2014).

LDH katalyzuje reakci:



Vyskytuje se především ve svalech, játrech, erytrocytech, aj. a vytváří několik izoenzymů, které se označují jako LDH₁ až LDH₅. Tyto izoenzymy mají navzájem odlišné fyzikálně - chemické vlastnosti, což se projevuje různou elektroforetickou mobilitou, afinitou k substrátu (laktátu a pyruvátu), citlivostí k inaktivaci teplem a k některým inhibičním látkám, např. močovíně či oxalátu. Označení číslem jedna až pět vyjadřuje rychlost elektroforetické mobility – LDH₁ se pohybuje nejrychleji, zatímco LDH₅ nejpomaleji. Jaterní izoenzym LDH₅ tvoří hlavní složku jeho celkové aktivity v plazmě (Blahovec a Šlesárová, 1991; Svoboda et al., 2000; Doubek et al., 2010). Pro srdce je pak charakteristický LDH₁. Tento izoenzym vykazuje nejvyšší aktivitu v nízkých koncentracích pyruvátu, naopak je silně inhibován jeho

nadbytečným množstvím, což má za následek oxidaci laktátu. Izoenzymy LDH₂, LDH₃ a LDH₄ se nacházejí v různých orgánech ve variabilním množství (Kaneko et al., 2008).

Laktátdehydrogenáza se nepřímo podílí i na imunitních reakcích organismu. Podle Daifuky et al. (2014) bylo prokázáno, že LDH, uvolněná z poškozených buněk a tkání, má schopnost aktivovat tkáňové makrofágy.

Příčinou zvýšené aktivity LDH v séru může být hemolýza, infarkt myokardu, onemocnění jaterního parenchymu, onemocnění svalů či leukémie. Hodnoty laktátdehydrogenázy mohou být také ovlivněny vyšší tělesnou zátěží (Racek et al., 1999).

Při diagnostickém stanovení aktivity LDH je nutno respektovat, že se jedná o nespecifický enzym indukující různá tkáňová poškození, která mohou být prezentována četnými svalovými onemocněními (charakterizovanými např. tkáňovou nekrózou), ale také mnohými jaterními poruchami, apod. (Kaneko et al., 2008). Pro uspokojivé diagnostické výsledky je proto vhodnější stanovit konkrétní izoenzymy, které jsou již charakteristické pro různé tkáně. Při diagnóze infarktu myokardu využít stanovení izoenzymu LDH₁, poškození hepatocytů izoenzym LDH₅, apod. (Blahovec a Šlesárová, 1991).

3.5.5 Selen

Selen je považován za jeden z nejvíce kontroverzních stopových prvků. Na jedné straně se jedná o prvek esenciální, jenž je v zemské kůře nerovnoměrně rozdělen, tudíž ho na některých územích může být nedostatek jak v lidské stravě, tak ve výživě zvířat. Nedostatek selenu je celosvětový problém, který souvisí se zvýšenou citlivostí k různým chorobám, ale také se snížením hospodářské produkce. Na straně druhé je selen při vysokých dávkách silně toxický a nemalý význam má také kontaminace životního prostředí (Lyons et al., 2007).

Selen má velký význam v oblasti zdraví a reprodukce u lidí i zvířat a patří mezi jeden z nejdůležitějších antioxidantů. Významně se podílí také na tvorbě hormonů štítné žlázy, na zdraví a kvalitě kůže a srsti či zachování zraku. Spolu s vitamínem E napomáhá v prevenci proti nádorovým a kardiovaskulárním onemocněním. Příznivě působí proti virovým infekcím. Selen funguje jako katalyzátor v metabolismu jater, kde inhibuje toxické účinky těžkých kovů. Reakcí selenu s těmito kovy vznikají nerozpustné sloučeniny selenidy (Mosnáčková et al., 2003). Nejvíce selenu se nachází v cibulovité zelenině, zejména je-li pěstována na půdě s vysokým obsahem selenu. Selen se v organismu neukládá do zásoby, proto má jeho nedostatek či úplná absence v krmivu za následek jeho rychlý deficit. S těla je vylučován převážně močí (Racek et al., 1999).

Selen je však nejen esenciální prvek a důležitý antioxidant, ale při vyšších dávkách také prvek toxický. Chronické vystavení vysokým dávkám selenu se může projevit zánětem dýchacích cest, edémem plic, krvácivostí, kožními změnami a depresemi. Charakteristický je česnekový dech, který je způsoben dimethyldiselenidem a kovová chuť v ústech. Ve vážnějších případech se může objevit cirhóza jater a žluté zbarvení sliznic a kůže (Kaneko et al., 2008).

Rostliny přijímají selen z půdy v podobě anorganických sloučenin a přetvářejí ho na selenoaminokyseliny, zejména selenomethionin (SeMet) a selenocystein (SeCys). V současné době je známo asi třicet selenoproteinů, jejich funkce však byla objasněna pouze u některých. Větší část selenoproteinů je tvořena intracelulárními antioxidantními enzymy, které se podílejí na inaktivaci volných radikálů a redukcí peroxidu vodíku a lipidů. Jeden z nejznámějších enzymů, jehož aktivita ve tkáních má vztah k obsahu selenu v organismu, je glutathionperoxidáza, která katalyzuje štěpení peroxidu vodíku a jiných hydroperoxidů, čímž chrání tkáň před oxidačním poškozením (Racek et al., 1999; Skřivan, 2009). Při nedostatku selenu v organismu výrazně klesá aktivita tohoto enzymu, a tak mnohé z projevů jeho deficitu je možné vysvětlit sníženou antioxidantní ochranou organismu. Nedostatek selenu má vliv na snížení imunity a může souviset také s rozvojem mnohých nemocí, jako jsou nádorová onemocnění, selhání ledvin, cirhóza jater, svalová dystrofie, oční zákal či zánět slinivky břišní. Některé vědecké studie také poukazují na souvislost mezi nízkou koncentrací selenu v krvi a zvýšeným počtem kardiovaskulárních onemocnění (Mosnáčková et al., 2003). Dlouhodobý těžký deficit selenu se může projevit tzv. Keshanskou chorobou, která byla popsána v některých oblastech Číny. Mezi příznaky této nemoci patří kardiomyopatie a obdobné postižení kosterních svalů (Racek et al., 1999).

Při nedostatku selenu v půdě a tedy i v krmivech musí být jeho koncentrace v krmných směsích zvyšována (Netto et al., 2014). Krmiva jsou doplňována různými zdroji selenu, avšak jeho organické formy jsou biologicky dostupnější a méně toxické než formy anorganické (seleničitany). Jednou z možností dodání selenu do krmné dávky je zkrmování různých doplňkových krmiv, jako např. speciálně upravené řasy chlorelly. Chlorella je pomocí heterotrofní kultivace obohacena organicky vázanou formou selenu. Tento technologický postup je umožněn tím, že řasa, stejně jako jiné mikroorganismy, je schopna zabudovat selen do biomasy na různých úrovních. Bylo dokázáno, že přídavek tohoto produktu do krmiva hospodářských zvířat má lepší účinky na specifické fyziologické a fyzikální parametry zvířat, než po běžném přidání seleničitanu. Chlorella navíc obsahuje další biologicky významné látky a je používána jako potravinový doplněk (Doucha et al., 2009). Zdrojem organického

selenu mohou být v krmivech také selenem obohacené kvasnice. V nich tvoří selenomethionin 54 – 74 % celkového selenu. Nejvyšší povolené množství selenu v krmivech pro zvířata je 0,5 mg / kg sušiny (Skřivan, 2009).

V oblastech s vyšší koncentrací selenu v půdě může být v krmivech zvyšováno množství mědi a síry, které působí jako antagonisté selenu. Takto fortifikovaná krmiva slouží jako preventivní opatření proti případné otravě selenem (Netto et al., 2014).

Optimalizace selenu v krmivu má vliv nejen na zdravotní stav zvířat, ale také na hospodářskou produkci. Přináší zvýšení efektivity v produkci vajec (zvýšení hmotnosti vajec, vyšší intenzita snášky, prodloužení skladovatelnosti vajec, aj.), masa i mléka a samozřejmě také zvýšení kvality těchto produktů (Lyons et al., 2007).

Česká republika patří mezi oblasti s nízkým obsahem selenu v půdě a v rostlinách, domácí potraviny proto nejsou jeho dostatečným zdrojem pro lidi i zvířata. Deficit selenu v potravinách může být odstraněn příjmem potravinových doplňků nebo konzumováním živočišných produktů zvířat, kterým bylo krmivo selenem obohaceno (Skřivan, 2009).

4 Materiál a metodika

4.1 Materiál

4.1.1 Experiment

Pokus č. 1 byl započat 12. 7. 2013 a odběry byly provedeny 27. 8. 2013 ve Fyziologickém ústavu Akademie věd České republiky v Praze. Do studie bylo zařazeno 24 samců potkana kmene Wistar narozených 1. 6. 2013. Zvířata byla rozdělena do 4 skupin po 6 potkanech a chována v klecích typu E4 o ploše 1 730 cm². V místnosti, ve které byla zvířata chována, byla zajištěna průměrná teplota 22 °C a řízený světelný režim (12 hodin světla a 12 hodin tmy) z důvodu absence přirozeného zdroje světla. Skupina č. 1 byla zvolena jako kontrolní a skupiny č. 2, 3 a 4 byly zvoleny jako pokusné. Byla stanovována aktivita LDH a GMT a hmotnost potkanů ve stáří 90 dní. Stanovení hematologických ukazatelů bylo předmětem jiných diplomových prací (Tůmová, 2014; Tvrdá 2014).

Pokus č. 2 byl započat 5. 8. 2014 a odběry byly provedeny 7. 10. 2014 ve Fyziologickém ústavu Akademie věd České republiky v Praze. Do studie bylo zařazeno 32 samců laboratorního potkana kmene Wistar narozených 1. 7. 2014. Tělesná hmotnost potkanů ve stáří 30 dnů se na začátku experimentu pohybovala v rozmezí 116 – 146 g. Zvířata byla rozdělena do 4 skupin po 8 potkanech a chována v klecích typu E4 o ploše 1 730 cm².

V místnost byla zajištěna průměrná teplota 22 °C a řízený světelný režim (12 hodin světla a 12 hodin tmy). Skupina 1 skládající se z potkanů číslo 1 – 8 byla zvolena jako kontrolní skupina, se kterou byly následně porovnávány zjištěné hematologické a biochemické hodnoty skupin 2, 3 a 4.

4.1.2 Výživa potkanů

Kontrolní skupina potkanů byla krmena dietou ST - 1. Jedná se o kompletní krmnou směs, která je určena pro výživu laboratorních myší a potkanů převážně v SPF chovech. Směs vyrábí a dodává firma Velaz s.r.o. Chovným skupinám zvířat, ale i mladým zvířatům, je předkládána v suché granulované formě do zásobních krmítek ad libitum, přičemž zvířata musí mít neustálý přístup k čisté pitné vodě. Krmivo je určeno ke sterilizaci v autoklávech při teplotě 127 °C a tlaku 150 kPa po dobu cca 20 minut. Průměrná denní spotřeba pro dospělé zvíře činí 18 - 20 g u potkanů a 5 - 7 g u myší.

Krmivo obsahuje krmné suroviny získané z ryb, respektive z jiných mořských živočichů a je zakázáno ho zkrmovat přežvýkavcům.

Doba použitelnosti krmiva je 4 měsíce od data výroby. Krmivo je vyráběno po 20kg nebo 40kg baleníh.

Tabulka 11: Výsledky vyšetření krmiv: 1. 11. 2008, zakázka - objednatel Velaz s.r.o. (zkoušeno Státním veterinárním ústavem Praha, oddělením chemie, které je akreditováno Českým institutem pro akreditaci, o.p.s. po č. 1176.1.).

Vzorek	Jednotky	ST - 1 Lysá nad Labem	ST - 1 Lysá nad Labem – autoklávováno
Kobalt	mg/kg	0,53±10 %	0,42±10 %
Měď	mg/kg	14,70±12 %	16,00±9 %
Mangan	mg/kg	83,20±15 %	75,80±11 %
Železo	mg/kg	237,0±12 %	267,0±12 %
Zinek	mg/kg	125,0±11 %	103,0±11 %
Selen	mg/kg	0,27±15 %	0,25±15 %
Vitamin A	m.j./kg	29 300±15 %	18 300±15 %
Škrob	g/100g	32,07±1,7 %	33,04±1,7 %
Cukry	g/100g	1,94±3,6 %	1,74±3,6 %
Vláknina	g/100g	5,00±8,4 %	4,94±8,4 %
Tuk	g/100g	4,04±3,0 %	3,16±3,0 %
N-látky	g/100g	23,95±1,0 %	18,45±1,4 %
Popel	g/100g	5,58±1,6 %	5,68±1,6 %
Sušina	g/100g	89,09±0,2 %	89,47±0,2 %

Pozn.: autoklávováno při 127 °C 20 minut

Použité metody:

Zinek – SOP č. 02 (AAS – plamen)

Měď – SOP č. 02 (AAS – plamen)

Mangan – SOP č. 02 (AAS – plamen)

Železo – SOP č. 02 (AAS – plamen)

Měď – SOP č. 75 (ICP – MS)

Kobalt – SOP č. 75 (ICP – MS)

Mangan – SOP č. 75 (ICP – MS)

Selen – SOP č. 75 (ICP – MS)

Vitamin A – HPLC - FLD

Popel – SOP č. 26 (gravimetrie)

Sušina – SOP č. 25 (gravimetrie)

Tuk – SOP č. 21

Vláknina – ČSN EN ISO 6865

N-látky – SOP č. 23 (Kjeldahl)

Škrob – SOP č. 36 (polarimetr)

Cukry – SOP č. 35

Tabulka 12: Požadavky laboratorního potkana na obsah živin v krmné dávce (Bartoš et al., 2007).

SNL (%)	Tuk (%)	Vláknina (%)	Popel (%)	Ca (%)	P (%)	Mg (%)
12,0-24,0	3,4-8,0	≥ 6	1,61-2,51	0,50	0,40	0,04
K (%)	Vit. A (m.j.)	Vit. D (m.j.)	Vit. E (m.j.)	Cholin (mg)	Vit. C (mg)	Energie (kcal)
0,36	400-4000	300-1000	30-40	1000-2000	není nutno dodávat v dietě	10,4-14,6

Složení krmné směsi ST - 1: pšenice (46 %), sójový extrahovaný šrot toastovaný (22 %), rybí moučka (12 %), kukuřice (6 %), pšeničné otruby (5 %), oves setý (3 %), úsušky píce vojtěšky mladé - horkovzdušné (2,5 %), pšeničná krmná mouka (1,5 %), kvasnice, mletý vápenec (1,2 %), dihydrogenfosforečnan vápenatý, sůl kamenná, DL – methionin, L – lysin, vitaminy A, E a D3, pentahydrát síranu měďnatého, seleničitan sodný, antioxidanty (butylhydroxyanisol, butylhydroxytoluen, etoxyquin).

Tabulka 13: Jakostní znaky v 1 kg krmné směsi ST - 1.

vlhkost	12,5 %
dusíkaté látky	24 %
vláknina	4,4 %
tuk	3,4 %
popel	6,8 %
lysin	14 g
methionin	4,8 g

vápník (Ca)	11 g
fosfor (P)	7,2 g
sodík (Na)	1,8 g
vitamin A	28 000 m.j.
vitamin D	2 200 m.j.
vitamin E	100 mg
měď (Cu)	20 mg
selen (Se)	0,38 mg

Třem pokusným skupinám potkanů byl SEŠ v dietě nahrazen rozdílným množstvím ŘEŠ. Ve skupině č. 2 bylo 30 % SEŠ ve směsi ST - 1 nahrazeno ŘEŠ, ve skupině č. 3 bylo nahrazeno 60 % SEŠ a ve skupině č. 4 dieta obsahovala pouze ŘEŠ. Zastoupení ŘEŠ udává následující tabulka.

Tabulka 14: Zastoupení ŘEŠ a SEŠ v dietách u jednotlivých skupin potkanů.

	Skupina č. 1	Skupina č. 2	Skupina č. 3	Skupina č. 4
SEŠ	100 % (22 % ST - 1)	70 % (15,4 % ST - 1)	40 % (8,8 % ST - 1)	0 % (0 % ST - 1)
ŘEŠ	0 % (0 % ST - 1)	30 % (6,6 % ST - 1)	60 % (13,2 % ST - 1)	100 % (22 % ST - 1)

4.1.3 Ukončení experimentu

Po ukončení experimentu byla zvířata uspána intraperitoneálním podáním anestetik, obsahujících účinné látky xylozin (Xylapan) a ketamin (Narketan). Obě látky byly ředěny v poměru 1:1 a aplikovány v množství 0,15 ml/100 g živé hmotnosti zvířete. Zvířatům v celkové anestezii byla otevřena dutina břišní a proveden odběr krve ze zadní duté žíly. Pro stanovení hematologických ukazatelů byla krev odebrána do standardizovaných zkumavek s antikoagulanciem K₂EDTA (draselná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové). Vybrané biochemické ukazatele byly vyšetřeny z krevní plazmy, jako protisrážlivý prostředek byl ve standardizovaných zkumavkách použit heparin.



Obrázek 9: Fixace laboratorního potkana (lfp.cuni.cz)

4.2 Metodika

4.2.1 Stanovení hematologických ukazatelů

Pro stanovení hematologických ukazatelů byl použit hematologický analyzátor MEK-5208K od firmy NIHON KOHDEN. Analýzu krevního obrazu je nutno provést v den odběru z nesrážlivé krve, čímž zamezíme získání nepřesných výsledků v důsledku pozdního měření. Všechny hematologické ukazatele byly vyšetřeny z nesrážlivé krve z K_2EDTA . Tímto způsobem byl naměřen počet erytrocytů (RBC), počet leukocytů (WBC), hematokrit (HCT), střední objem erytrocytu (MCV) a koncentrace hemoglobinu (HGB).

Principem měření je impedanční analýza. Počty a velikosti krevních elementů jsou dány měřením změny elektrického odporu (impedance) při průchodu jednotlivých buněk průtokovou měřicí kyvetou umístěnou mezi dvěma elektrodami. Používá se metoda hydrodynamické fokusace (unášení jednotlivých buněk proudem kapaliny) ve vodivém roztoku. Při průchodu částice mezi elektrodami vzniká impedanční impulz, po jehož analýze přístroj vydává kvantitativní (počet impulzů) a kvalitativní (velikost impulzů) informace o jednotlivých buňkách.

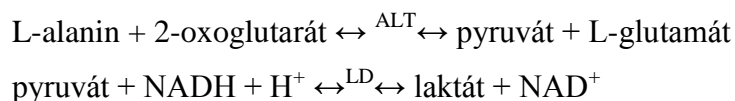
4.2.2 Stanovení biochemických ukazatelů

Pro stanovení vybraných biochemických parametrů byl použit spektrofotometr Libra 22 od firmy Fisher Scientific. Reagencia, použitá ke stanovení koncentrací ALT, GMT, ALP a LDH v krevní plazmě, jsou dodávána firmou Erba Lachema s.r.o. se sídlem v Brně v podobě komerčně vyráběných souprav BioLaTest.

Princip stanovení koncentrace ALT ($\mu\text{kat/l}$):

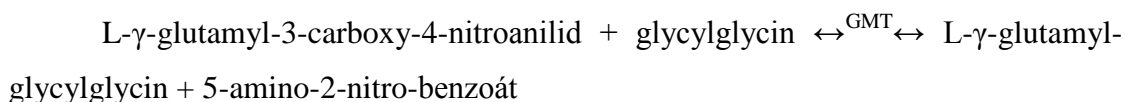
ALT katalyzuje transaminační reakci, při které je reverzibilně přenášena aminoskupina z L-alaninu na 2-oxoglutarát za vzniku pyruvátu a L - glutamátu. Jako kofaktor slouží

pyridoxalfosfát. Pyruvát je dále redukován NADH za přítomnosti laktátdehydrogenázy na laktát a NAD^+ . Katalytická koncentrace je úměrná poklesu absorbance při vlnové délce 340 nm.



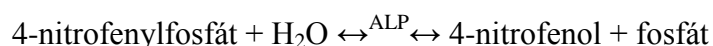
Princip stanovení koncentrace GMT ($\mu\text{kat/l}$):

GMT katalyzuje přenos γ -glutamylové skupiny na jiné peptidy, aminokyseliny nebo vodu. Katalytická koncentrace je úměrná poklesu absorbance při vlnové délce 405 nm.



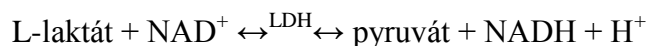
Princip stanovení koncentrace ALP ($\mu\text{kat/l}$):

ALP (alkalická fosfohydroláza monoesterů kyseliny orthofosforečné) štěpí v N-methyl-D-glukaminovém pufru 4-nitrofenylfosfát na 4-nitrofenol a fosfát. ALP je aktivována chloridem sodným. Mírou katalytické koncentrace enzymu je množství uvolněného 4 - nitrofenolu, který se stanovuje fotometricky kinetickým postupem při vlnové délce 405 nm.



Princip stanovení koncentrace LDH ($\mu\text{kat/l}$):

LDH katalyzuje přeměnu laktátu na pyruvát za současně probíhající redukce NAD^+ na NADH. Přírůstek NADH měřený při vlnové délce 340 nm je přímo úměrný katalytické koncentraci laktátdehydrogenázy.



4.2.3 Statistické vyhodnocení výsledků

Statistické zpracování naměřených dat bylo provedeno pomocí počítačového programu STATISTICA 12 firmy StatSoft ČR, s.r.o. Pro zjištění vlivu rozdílného obsahu řepkového extrahovaného šrotu v dietě potkanů na vybrané hematologické a biochemické ukazatele byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA) s následným

vícenásobným párovým porovnáním skupin pomocí Tukeyova testu. Pro porovnání skupin byla stanovena nulová hypotéza H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým bez přídavku selenu a se selenem negativně neovlivní zdravotní stav zvířat.

Testování probíhalo na hladině významnosti $\alpha = 0,05$. Jako popisné charakteristiky v rámci jednotlivých skupin byly použity aritmetický průměr, směrodatná odchylka a rozptyl.

5 Výsledky

5.1 Pokus č. 1

5.1.1 Hmotnost potkanů ve stáří 90 dní

V tabulce č. 15 jsou uvedeny základní popisné charakteristiky hmotnosti laboratorních potkanů ve stáří 90 dní.

Tabulka 15: Hmotnost potkanů ve stáří 90 dní – popisné charakteristiky

SKUPINA	POČET POTKANŮ	PRŮMĚR (g)	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA (g)	ROZPTYL
1	6	487,17	11,47	131,47
2	6	462,83	25,78	664,81
3	6	463,5	22,68	514,25
4	6	500,67	41,84	1750,89

Pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou a kontrolní skupinou č. 1 byl použit test ANOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 16. Hodnota p je větší než hladina významnosti α , a proto přijímáme nulovou hypotézu H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým bez přídavku selenu negativně neovlivnila zdravotní stav zvířat. Mezi skupinami nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl.

Tabulka 16: Hmotnost potkanů – ANOVA

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro hmotnost (g)				
	Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	Suma čtverců SČ	Stupně volnosti	Průměr čtverců PČ	Testovací kritérium F	Pravděpodobnost p
Abs. člen	5496051	1	5496051	5984,213	0,000000
Skupina	6221	3	2074	2,258	0,112913
Chyba	18369	20	918		

5.1.2 Biochemické ukazatele

V tabulce č. 17 jsou uvedeny základní popisné charakteristiky pro laktátdehydrogenázu.

Tabulka 17: LDH - popisné charakteristiky

SKUPINA	POČET POTKANŮ	PRŮMĚR (μkat/l)	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA (μkat/l)	ROZPTYL
1	6	6,11	1,51	2,29
2	5	6,61	1,12	1,25
3	6	6,25	1,64	2,7
4	6	6,48	2,44	5,96

Pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou a kontrolní skupinou č. 1 byl použit test ANOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 18. Hodnota p je větší než hladina významnosti α , a proto přijímáme nulovou hypotézu H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým bez přídavku selenu negativně neovlivnila zdravotní stav zvířat. Mezi skupinami nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl.

Tabulka 18: LDH – ANOVA

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro LDH (μkat/l)				
	Sigma-omezená parametrizace				
	Dekompozice efektivní hypotézy				
	Suma čtverců SČ	Stupně volnosti	Průměr čtverců PČ	Testovací kritérium F	Pravděpodobnost p
Abs. člen	925,7984	1	925,7984	244,5487	0,000000
Skupina	0,8266	3	0,2755	0,0728	0,973845
Chyba	71,9291	19	3,7857		

V tabulce č. 19 jsou uvedeny základní popisné charakteristiky pro γ -glutamyltransferázu.

Tabulka 19: GMT - popisné charakteristiky

SKUPINA	POČET POTKANŮ	PRŮMĚR (μkat/l)	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA (μkat/l)	ROZPTYL
1	6	0,044	0,022	0,0005
2	5	0,07	0,035	0,0012
3	6	0,062	0,029	0,0008
4	5	0,078	0,03	0,0009

Pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou a kontrolní skupinou č. 1 byl použit test ANOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 20. Hodnota p je větší než hladina významnosti α , a proto přijímáme nulovou hypotézu H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým bez přídavku selenu negativně neovlivnila zdravotní stav zvířat. Mezi skupinami nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl.

Tabulka 20: GMT – ANOVA

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro GMT ($\mu\text{kat/l}$)				
	Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	Suma čtverců SČ	Stupně volnosti	Průměr čtverců PČ	Testovací kritérium F	Pravděpodobnost p
Abs. člen	0,087884	1	0,087884	86,26574	0,000000
Skupina	0,003624	3	0,001208	1,18570	0,343105
Chyba	0,018338	18	0,001019		

5.2 Pokus č. 2

5.2.1 Hmotnost potkanů ve stáří 30 dní

V tabulce č. 21 jsou uvedeny základní popisné charakteristiky hmotnosti laboratorních potkanů ve stáří 30 dní.

Tabulka 21: Hmotnost potkanů ve stáří 30 dní - popisné charakteristiky

SKUPINA	POČET POTKANŮ	PRŮMĚR (g)	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA (g)	ROZPTYL
1	8	125,14	8,13	66,12
2	8	131,1	10,17	103,48
3	8	130,65	8,09	65,51
4	8	128,64	5,7	32,46

Pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou a kontrolní skupinou č. 1 byl použit test ANOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 22. Hodnota p je větší než hladina významnosti α , a proto přijímáme nulovou hypotézu H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým obohaceným selenem negativně neovlivnila zdravotní stav zvířat. Mezi skupinami nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl.

Tabulka 22: Hmotnost potkanů – ANOVA

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro hmotnost 30 dní (g)				
	Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	Suma čtverců SČ	Stupně volnosti	Průměr čtverců PČ	Testovací kritérium F	Pravděpodobnost p
Abs. člen	531532,1	1	531532,1	6952,944	0,000000
Skupina	177,0	3	59,0	0,772	0,519532
Chyba	2140,5	28	76,4		

5.2.2 Hmotnost potkanů ve stáří 90 dní

V tabulce č. 23 jsou uvedeny základní popisné charakteristiky hmotnosti laboratorních potkanů ve stáří 90 dní.

Tabulka 23: Hmotnost potkanů ve stáří 90 dní - popisné charakteristiky

SKUPINA	POČET POTKANŮ	PRŮMĚR (g)	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA (g)	ROZPTYL
1	8	508,41	47,34	2241,16
2	8	534,16	36,43	1327,32
3	8	495,9	40,97	1678,43
4	8	544,76	61,03	3724,68

Pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou a kontrolní skupinou č. 1 byl použit test ANOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 24. Hodnota p je větší než hladina významnosti α , a proto přijímáme nulovou hypotézu H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým obohaceným selenem negativně neovlivnila zdravotní stav zvířat. Mezi skupinami nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl.

Tabulka 24: Hmotnost potkanů – ANOVA

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro hmotnost 90 dní (g)				
	Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	Suma čtverců SČ	Stupně volnosti	Průměr čtverců PČ	Testovací kritérium F	Pravděpodobnost p
Abs. člen	8679757	1	8679757	3386,152	0,000000
Skupina	12210	3	4070	1,588	0,214506
Chyba	71773	28	2563		

5.2.3 Biochemické ukazatele

V tabulce č. 25 jsou uvedeny základní popisné charakteristiky pro alkalickou fosfatázu.

Tabulka 25: ALP - popisné charakteristiky

SKUPINA	POČET POTKANŮ	PRŮMĚR (μkat/l)	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA (μkat/l)	ROZPTYL
1	8	0,38	0,22	0,05
2	7	0,34	0,15	0,02
3	8	0,29	0,14	0,02
4	8	0,24	0,14	0,02

Pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou a kontrolní skupinou č. 1 byl použit test ANOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 26. Hodnota p je větší než hladina významnosti α , a proto přijímáme nulovou hypotézu H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým obohaceným selenem negativně neovlivnila zdravotní stav zvířat. Mezi skupinami nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl.

Tabulka 26: ALP – ANOVA

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro ALP (μkat/l)				
	Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	Suma čtverců SČ	Stupně volnosti	Průměr čtverců PČ	Testovací kritérium F	Pravděpodobnost p
Abs. člen	2,987831	1	2,987831	94,30885	0,000000
Skupina	0,091441	3	0,030480	0,96210	0,424855
Chyba	0,855396	27	0,031681		

V tabulce č. 27 jsou uvedeny základní popisné charakteristiky pro alaninaminotransferázu.

Tabulka 27: ALT - popisné charakteristiky

SKUPINA	POČET POTKANŮ	PRŮMĚR (μkat/l)	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA (μkat/l)	ROZPTYL
1	8	0,67	0,08	0,01
2	7	0,81	0,11	0,01
3	8	0,595	0,07	0,005
4	8	0,8	0,16	0,02

Pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou a kontrolní skupinou č. 1 byl použit test ANOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 28. Hodnota p je menší než hladina významnosti α , a proto zamítáme nulovou hypotézu H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým obohaceným selenem negativně neovlivnila zdravotní stav zvířat a přijímáme alternativní hypotézu H_1 : náhrada sójového šrotu řepkovým obohaceným selenem ovlivnila zdravotní stav zvířat. Alespoň mezi dvěma skupina existuje statisticky významný rozdíl. Proto byl tento ukazatel podroben dalšímu vyhodnocení pomocí Tukeyova testu. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 29. Bylo zjištěno, že existuje statisticky významný rozdíl mezi skupinami č. 2 a č. 3 a také mezi skupinami č. 3 a č. 4.

Tabulka 28: ALT – ANOVA

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro ALT ($\mu\text{kat/l}$) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	Suma čtverců SČ	Stupně volnosti	Průměr čtverců PČ	Testovací kritérium F	Pravděpodobnost p
Abs. člen	15,97112	1	15,97112	1181,651	0,000000
Skupina	0,24601	3	0,08200	6,067	0,002701
Chyba	0,36493	27	0,01352		

Tabulka 29: ALT - Tukeyův test

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná ALT ($\mu\text{kat/l}$) Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy Chyba: meziskup. PČ = ,01352, sv = 27,000				
	Skupina	1 ,67375	2 ,80714	3 ,59500	4 ,80000
1	1		0,144279	0,537568	0,156880
2	2	0,144279		0,007936	0,999450
3	3	0,537568	0,007936		0,007920
4	4	0,156880	0,999450	0,007920	

V tabulce č. 30 jsou uvedeny základní popisné charakteristiky pro laktátdehydrogenázu.

Tabulka 30: LDH - popisné charakteristiky

SKUPINA	POČET POTKANŮ	PRŮMĚR (μkat/l)	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA (μkat/l)	ROZPTYL
1	8	4,06	0,54	0,29
2	7	4,68	1,09	1,18
3	8	5,03	1,495	2,24
4	8	8,03	3,16	10,00

Pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou a kontrolní skupinou č. 1 byl použit test ANOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 31. Hodnota p je menší než hladina významnosti α , a proto zamítáme nulovou hypotézu H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým obohaceným selenem negativně neovlivnila zdravotní stav zvířat a přijímáme alternativní hypotézu H_1 : náhrada sójového šrotu řepkovým obohaceným selenem ovlivnila zdravotní stav zvířat. Alespoň mezi dvěma skupinami existuje statisticky významný rozdíl. Proto byl tento ukazatel podroben dalšímu vyhodnocení pomocí Tukeyova testu. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 32. Bylo zjištěno, že existuje statisticky významný rozdíl mezi kontrolní skupinou č. 1 a skupinou č. 4 a také mezi skupinami č. 2 a č. 4 a č. 3 a č. 4.

Tabulka 31: LDH – ANOVA

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro LDH (μkat/l)				
	Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	Suma čtverců SČ	Stupně volnosti	Průměr čtverců PČ	Testovací kritérium F	Pravděpodobnost p
Abs. člen	917,9454	1	917,9454	228,3779	0,000000
Skupina	74,1006	3	24,7002	6,1452	0,002527
Chyba	108,5242	27	4,0194		

Tabulka 32: LDH - Tukeyův test

Č. buňky	Tukeyův HSD test; proměnná LDH ($\mu\text{kat/l}$)				
	Přibližné pravděpodobnosti pro post hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 4,0194, sv = 27,000				
	Skupina	1	2	3	4
		4,0637	4,6829	5,0275	8,0287
1	1		0,932274	0,772197	0,002746
2	2	0,932274		0,987156	0,016417
3	3	0,772197	0,987156		0,028128
4	4	0,002746	0,016417	0,028128	

V tabulce č. 33 jsou uvedeny základní popisné charakteristiky pro γ -glutamyltransferázu.

Tabulka 33: GMT - popisné charakteristiky

SKUPINA	POČET POTKANŮ	PRŮMĚR ($\mu\text{kat/l}$)	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA ($\mu\text{kat/l}$)	ROZPTYL
1	8	0,07	0,03	0,0007
2	6	0,07	0,01	0,0002
3	8	0,096	0,04	0,002
4	8	0,09	0,03	0,0008

Pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou a kontrolní skupinou č. 1 byl použit test ANOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 34. Hodnota p je větší než hladina významnosti α , a proto přijímáme nulovou hypotézu H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým obohaceným selenem negativně neovlivnila zdravotní stav zvířat. Mezi skupinami nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl.

Tabulka 34: GMT – ANOVA

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro GMT ($\mu\text{kat/l}$)				
	Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	Suma čtverců SČ	Stupně volnosti	Průměr čtverců PČ	Testovací kritérium F	Pravděpodobnost p
Abs. člen	0,191813	1	0,191813	168,8577	0,000000
Skupina	0,005600	3	0,001867	1,6434	0,203653
Chyba	0,029535	26	0,001136		

5.2.4 Hematologické ukazatele

V tabulce č. 35 jsou uvedeny základní popisné charakteristiky pro počet červených krvinek (RBC).

Tabulka 35: RBC - popisné charakteristiky

SKUPINA	POČET POTKANŮ	PRŮMĚR (T/l)	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA (T/l)	ROZPTYL
1	8	7,71	1,004	1,007
2	7	7,73	0,492	0,242
3	8	7,93	0,571	0,326
4	8	7,97	0,84	0,705

Pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou a kontrolní skupinou č. 1 byl použit test ANOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 36. Hodnota p je větší než hladina významnosti α , a proto přijímáme nulovou hypotézu H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým obohaceným selenem negativně neovlivnila zdravotní stav zvířat. Mezi skupinami nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl.

Tabulka 36: RBC – ANOVA

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro RBC (T/l)				
	Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	Suma čtverců SČ	Stupně volnosti	Průměr čtverců PČ	Testovací kritérium F	Pravděpodobnost p
Abs. člen	1894,774	1	1894,774	2841,413	0,000000
Skupina	0,421	3	0,140	0,210	0,888403
Chyba	18,005	27	0,667		

V tabulce č. 37 jsou uvedeny základní popisné charakteristiky pro hematokrit (HCT).

Tabulka 37: HCT - popisné charakteristiky

SKUPINA	POČET POTKANŮ	PRŮMĚR (%)	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA (%)	ROZPTYL
1	8	51,58	7,93	62,93
2	7	50,91	4,09	16,71
3	8	50,63	2,68	7,197
4	8	50,39	5,82	33,93

Pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou a kontrolní skupinou č. 1 byl použit test ANOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 38. Hodnota p je větší než hladina významnosti α , a proto přijímáme nulovou hypotézu H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým obohacným selenem negativně neovlivnila zdravotní stav zvířat. Mezi skupinami nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl.

Tabulka 38: HCT – ANOVA

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro HCT (%)				
	Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	Suma čtverců SČ	Stupně volnosti	Průměr čtverců PČ	Testovací kritérium F	Pravděpodobnost p
Abs. člen	79969,89	1	79969,89	2274,295	0,000000
Skupina	6,33	3	2,11	0,060	0,980324
Chyba	949,39	27	35,16		

V tabulce č. 39 jsou uvedeny základní popisné charakteristiky pro střední objem erytrocytu (MCV).

Tabulka 39: MCV - popisné charakteristiky

SKUPINA	POČET POTKANŮ	PRŮMĚR (fl)	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA (fl)	ROZPTYL
1	8	66,75	2,49	6,19
2	7	66,00	3,63	13,14
3	8	63,75	1,98	3,94
4	8	63,13	3,06	9,36

Pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou a kontrolní skupinou č. 1 byl použit test ANOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 40. Hodnota p je větší než hladina významnosti α , a proto přijímáme nulovou hypotézu H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým obohacným selenem negativně neovlivnila zdravotní stav zvířat. Mezi skupinami nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl.

Tabulka 40: MCV – ANOVA

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro MCV (fl) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	Suma čtverců SČ	Stupně volnosti	Průměr čtverců PČ	Testovací kritérium F	Pravděpodobnost p
Abs. člen	130161,7	1	130161,7	14177,97	0,000000
Skupina	71,6	3	23,9	2,60	0,072718
Chyba	247,9	27	9,2		

V tabulce č. 41 jsou uvedeny základní popisné charakteristiky pro počet bílých krvinek (WBC).

Tabulka 41: WBC - popisné charakteristiky

SKUPINA	POČET POTKANŮ	PRŮMĚR (G/l)	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA (G/l)	ROZPTYL
1	8	10,5	1,72	2,98
2	7	8,74	2,03	4,13
3	8	8,16	2,36	5,56
4	8	10,51	2,52	6,36

Pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou a kontrolní skupinou č. 1 byl použit test ANOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 42. Hodnota p je větší než hladina významnosti α , a proto přijímáme nulovou hypotézu H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým obohaceným selenem negativně neovlivnila zdravotní stav zvířat. Mezi skupinami nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl.

Tabulka 42: WBC – ANOVA

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro WBC (G/l) Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	Suma čtverců SČ	Stupně volnosti	Průměr čtverců PČ	Testovací kritérium F	Pravděpodobnost p
Abs. člen	2776,372	1	2776,372	506,0740	0,000000
Skupina	34,525	3	11,508	2,0977	0,123982
Chyba	148,125	27	5,486		

V tabulce č. 43 jsou uvedeny základní popisné charakteristiky pro koncentraci hemoglobinu (HGB).

Tabulka 43: HGB - popisné charakteristiky

SKUPINA	POČET POTKANŮ	PRŮMĚR (g/l)	SMĚRODATNÁ ODCHYLKA (g/l)	ROZPTYL
1	8	140,88	6,35	40,36
2	7	134,00	7,48	56,00
3	8	135,25	5,21	27,19
4	8	136,63	9,86	97,23

Pro porovnání jednotlivých skupin mezi sebou a kontrolní skupinou č. 1 byl použit test ANOVA. Výsledky jsou uvedeny v tabulce č. 44. Hodnota p je větší než hladina významnosti α , a proto přijímáme nulovou hypotézu H_0 : náhrada sójového šrotu řepkovým obohaceným selenem negativně neovlivnila zdravotní stav zvířat. Mezi skupinami nebyl potvrzen statisticky významný rozdíl.

Tabulka 44: HGB – ANOVA

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro HGB (g/l)				
	Sigma-omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	Suma čtverců SČ	Stupně volnosti	Průměr čtverců PČ	Testovací kritérium F	Pravděpodobnost p
Abs. člen	577254,9	1	577254,9	9113,218	0,000000
Skupina	207,2	3	69,1	1,090	0,370105
Chyba	1710,3	27	63,3		

6 Diskuze

V našem experimentu byli potkani rozděleni do čtyř skupin, v prvním pokusu po šesti a ve druhém pokusu po osmi jedincích. První skupina byla zvolena jako kontrolní a krmena dietou se 100% zastoupením sójového extrahovaného šrotu. Ve druhé skupině bylo 30 % sójového šrotu nahrazeno řepkovým, ve třetí skupině 60 % a dieta čtvrté skupiny obsahovala 100 % řepkového extrahovaného šrotu.

U potkanů byly sledovány vybrané biochemické a hematologické ukazatele a také jejich hmotnost ve stáří 30 a 90 dní. Po statistickém vyhodnocení dat byla 2., 3. a 4. skupina porovnána s kontrolní skupinou č. 1 a byl zjišťován vliv různého zastoupení řepkové extrahovaného šrotu v dietě na biochemické a hematologické parametry zvířat.

V prvním pokusu byl řepkový extrahovaný šrot v dietě potkanů bez přídavku selenu. Po ukončení experimentu byla vyhodnocována hmotnost potkanů ve stáří 90 dní a aktivita jaterních enzymů laktátdehydrogenázy a γ -glutamyltransferázy. U všech sledovaných parametrů nebyly nalezeny žádné statisticky významné rozdíly mezi skupinami zvířat.

Ve druhém experimentu byl zkrmovaný řepkový šrot obohacen selenem. Po ukončení experimentu byla vyhodnocována hmotnost potkanů ve stáří 30 a 90 dní, aktivita enzymů alaninaminotransferázy (ALT), γ -glutamyltransferázy (GMT), alkalické fosfatázy (ALP) a laktátdehydrogenázy (LDH) a vybrané hematologické parametry – počet červených krvinek (RBC), počet bílých krvinek (WBC), hematokrit (HCT), střední objem erytrocytu (MCV) a koncentrace hemoglobinu (HGB).

Zjištěná hmotnost potkanů ve stáří 30 dní se pohybovala od 116 do 146 g, ve stáří 90 dní pak od 410 do 614 g. Nejvyšší průměrné hmotnosti u 90 dní starých potkanů bylo dosaženo ve skupině č. 4. To může být způsobeno vyšším obsahem tuku v řepkovém extrahovaném šrotu, který byl v dietě zkrmované této skupině zastoupen v nejvyšší míře. Podle Herziga et al. (2007) je ŘEŠ energetičtější krmivem v porovnání např. se slunečnicovým extrahovaným šrotem. ŘEŠ se vyznačuje příznivým obsahem netto energií a je proto doporučován do krmných dávek skotu. Nejvyšší obsah tuku mají podle Dvořáčkové et al. (2011) řepkové výlisky (60 – 180 g tuku/kg), řepkové pokrutiny mají obsah tuku o něco nižší (40 – 60 g tuku/kg). Nejnižším obsahem tuku se z řepkových krmiv vyznačuje řepkový extrahovaný šrot s obsahem tuku do 40 g/kg. Po statistickém porovnání jednotlivých skupin mezi sebou však nebyly nalezeny žádné významné rozdíly v hmotnosti zvířat.

Dále byla sledována aktivita čtyř jaterních enzymů. Podle Živné (2001) je aktivita některých enzymů u laboratorního potkana variabilnější než u člověka. Jedná se především o

LDH a ALP. Tento fakt zdůvodňuje závislostí na odběrové technice, na způsobu uložení, apod. Ne všechny enzymy mají u hlodavců, stejně jako u člověka, význam. Pro játra potkana je specifická např. ALT, zatímco enzym aspartátaminotransferáza má u potkana malou diagnostickou hodnotu.

Námi naměřené hodnoty ALP se pohybovaly v rozmezí od 0,03 do 0,84 $\mu\text{kat/l}$. Nejvyšší průměrné aktivity (0,38 $\mu\text{kat/l}$) dosahovala ALP u kontrolní skupiny a postupně se snižovala, u skupiny č. 4 dosahovala aktivity 0,24 $\mu\text{kat/l}$. Baker et al. (1979) udávají normální aktivitu ALP u laboratorního potkana v intervalu od 16 do 48 King-Armstrong units/dl, přičemž samci mají významně vyšší fyziologické hodnoty než samice. Zvýšená aktivita tohoto enzymu se může vyskytnout u zvířat krměných živinově chudým krmivem. Mezi jednotlivými skupinami v našem experimentu nebyly v aktivitě ALP nalezeny statisticky významné rozdíly.

Získané parametry ALT v našem experimentu dosahovaly hodnot od 0,49 do 1,11 $\mu\text{kat/l}$. Vyšší průměrné hodnoty se vyskytovaly u skupiny č. 2 a č. 4 Sharp a Villano (2013) uvádějí rozmezí aktivity ALT od 52 do 224 IU/l, což odpovídá 0,88 – 3,81 $\mu\text{kat/l}$. V našem experimentu byly zjištěny statisticky významné rozdíly mezi druhou a třetí a také mezi třetí a čtvrtou skupinou. Tripathi a Mishra (2007) uvádějí, že příčinou zvýšené aktivity jaterních enzymů může být zvýšený obsah glukosinolátů v krmivu. Jak již bylo řečeno, tyto antinutriční látky mohou mít ve vyšších koncentracích hepatotoxické účinky. Podle Tripathiho a Mishry (2007) je maximální hranice glukosinolátů 0,5 $\mu\text{mol/g}$ diety. Vysoká hladina glukosinolátů v ŘEŠ pravděpodobně nebude příčinou rozdílů v aktivitě ALT v našem experimentu, jelikož naměřené hodnoty stále spadají do fyziologického rozmezí. Czech a Grela (2004) zjistili při pokusu na prasatech, že aktivita ALP, ALT a LDH může být ovlivněna obsahem fytátů v krmivu a aktivitou mikrobiální fytázy. Vyšší dostupnost fytátů má za následek zvýšení aktivity ALP, ALT a LDH. Mimo jiné mají také vliv na řadu hematologických ukazatelů.

Parametry LDH v našem pokusu dosahovaly hodnot 1,89 – 14,16 $\mu\text{kat/l}$. Nejvyšších průměrných hodnot (8,03 $\mu\text{kat/l}$) dosahovala skupina č. 4., což činí dvojnásobek průměrné hodnoty aktivity LDH v porovnání s kontrolní skupinou. Dle Bakera et al. (1979) se hodnoty aktivity LDH významně liší v závislosti na použité metodě měření. Aktivita LDH v pokusu, který provedli Lohitnavy a Sinhaseni (1998) dosahovala u kontrolní skupiny potkanů hodnot 2,48 – 3,128 $\mu\text{kat/l}$.

Získané parametry GMT se pohybovaly v intervalu od 0,022 do 0,153 $\mu\text{kat/l}$. Mezi testovanými skupinami potkanů a kontrolní skupinou nebyly nalezeny žádné statisticky významné rozdíly. Avšak studie Ibrahima et al. (1980) poukázala na mírné zvýšení aktivity

GMT indikující poškození jater u nosnic krmných dietou s vysokým podílem ŘEŠ. Milks et al. (1985) prokázali příznivý účinek selenu na snižování aktivity GMT, která prezentovala karcinogenní poškození jater.

Přídavek selenu do ŘEŠ pravděpodobně neměl na námi měřené jaterní enzymy významný vliv. Podle dostupné literatury má selen vliv především na aktivitu antioxidantních enzymů, jako je superoxidodismutáza, glutathionperoxidáza, glutathiontransferáza či glutathionreduktáza. Dle Ozkana et al. (2007) má selen ochranný účinek na změnu aktivity těchto enzymů při vystavení organismu oxidativnímu stresu. Ve studii provedené Whangerem (1971) byly hladiny plazmatických jaterních enzymů výrazně vyšší u potkanů, u nichž byl zjištěn deficit selenu a vitamínu E. Také byla zaznamenána výrazně nižší aktivita LDH v játrech potkanů s jaterními nekrózami.

Posledními sledovanými parametry byly vybrané hematologické ukazatele. Získané hodnoty počtu erytrocytů se pohybovaly v rozmezí od 5,82 do 9,51 T/l. Sharp a Villano (2013) ve své publikaci uvádějí počet erytrocytů v rozmezí $5 - 10 \times 10^{12}/l$. Dle Knotkové et al. (2000) se počet erytrocytů pohybuje od $5,5 - 9,5 \times 10^{12}/l$. Podle Živné (2001) je fyziologická hranice počtu červených krvinek u laboratorního potkana 9×10^{12} v litru krve. Baker et al. (1979) ve své publikaci uvádějí rozmezí $6,5 - 8,5 \times 10^{12}$. Námi naměřené hodnoty tedy spadají do fyziologického rozmezí uváděného v odborné literatuře.

Získané hodnoty hematokritu se pohybovaly v rozmezí od 38,6 do 66,3 %. Knotková et al. (2000) udává hodnoty hematokritu v rozmezí od 0,36 do 0,48 l/l. Živná (2001) uvádí hodnoty hematokritu od 35 do 45 %, Sharp a Villano (2013) 35 – 57 % a Baker et al. (1979) uvádějí hodnoty od 40,5 do 54 %. Susic et al. (1992) udávají o něco vyšší rozmezí od 35 do 61 %.

Naměřené hodnoty středního objemu erytrocytu dosahovaly hodnot od 57 do 70 fl. Dle Sharpa a Villana (2013) se střední objem erytrocytu u laboratorního potkana pohybuje v intervalu od 46 do 65 fl. Baker et al. (1979) udávají interval vyšší, a to od 48 do 71 fl. Naše naměřené hodnoty odpovídají fyziologickému rozmezí právě těchto autorů.

Získané hodnoty počtu leukocytů se pohybovaly v rozmezí 5,4 – 15,7 G/l. Knotková et al. (2000) udává hodnotu počtu leukocytů v intervalu od 6,0 do $17,0 \times 10^9$ na litr krve, Sharp a Villano (2013) uvádějí o něco širší interval od 3,0 do 17×10^9 na litr krve. Získané hodnoty v našem experimentu spadají do referenčního rozmezí uváděného v dostupné literatuře.

Hodnota koncentrace hemoglobinu se v našem experimentu pohybovala v rozmezí od 126 do 151 g/l. Dle Knotkové et al. (2000) se fyziologická koncentrace hemoglobinu pohybuje v intervalu od 110 do 180 g/l. Živná (2001) a Sharp a Villano (2013) udávají

stejnou hodnotu koncentrace hemoglobinu u laboratorního potkana v rozmezí 110 – 190 g/l. Nými naměřené hodnoty spadají do fyziologického rozmezí uvedeného v těchto pramenech.

U všech sledovaných hematologických parametrů nebyly nalezeny žádné statisticky významné rozdíly mezi skupinami zvířat.

7 Závěr

Cílem této práce bylo zhodnocení vlivu přídavku řepkového šrotu do diety laboratorního potkana a následné testování zdravotního stavu prostřednictvím vybraných hematologických a biochemických ukazatelů. V prvním pokusu byl zvířatům zkrmovaný řepkový extrahovaný šrot bez přídavku selenu, ve druhém pokusu byl šrot obohacen selenem. Hypotéza práce spočívá v předpokladu, že náhrada sójového šrotu řepkovým bez přídavku selenu a se selenem negativně neovlivní zdravotní stav zvířat.

V pokusu č. 1 byla hodnocena aktivita jaterních enzymů laktátdehydrogenázy a γ -glutamyltransferázy a hmotnost potkanů ve stáří 90 dní. U žádné z naměřených hodnot nebyl v porovnání s kontrolní skupinou potvrzen statisticky významný rozdíl.

V pokusu č. 2 byl z hematologických parametrů testován počet červených a bílých krvinek, hematokrit, střední objem erytrocytu a koncentrace hemoglobinu. U žádné z naměřených hodnot nebyl v porovnání s kontrolní skupinou potvrzen statisticky významný rozdíl. Z biochemických ukazatelů byla hodnocena aktivita čtyř jaterních enzymů. U alkalické fosfatázy a γ -glutamyltransferázy nebyly mezi skupinami zjištěny žádné statisticky významné rozdíly. U naměřených hodnot alaninaminotransferázy se vyskytovaly vyšší hladiny u skupiny č. 2 a č. 4 v porovnání se skupinou č. 3 a kontrolní skupinou. Příčinou by mohl být případný zvýšený obsah glukosinolátů v krmivu, které mohou mít ve vyšších koncentracích hepatotoxické účinky. U získaných hodnot laktátdehydrogenázy byly zjištěny zvýšené hodnoty u skupiny č. 4 v porovnání s kontrolní skupinou. Příčinou zvýšené aktivity může být nadměrný obsah glukosinolátů v krmivu, ale také hemolýza či onemocnění jaterního parenchymu nebo svalů. Hodnoty laktátdehydrogenázy mohou být také ovlivněny vyšší tělesnou zátěží.

Jelikož se hladiny hodnot alaninaminotransferázy a laktátdehydrogenázy u laboratorních potkanů nacházejí ve fyziologických hodnotách, lze podle výsledků našeho experimentu potvrdit nulovou hypotézu, že přídavek řepkového extrahovaného šrotu negativně neovlivní vybrané fyziologické hodnoty potkana. Řepkový extrahovaný šrot lze tedy doporučit jako adekvátní náhradu sójového extrahovaného šrotu ve výživě zvířat.

8 Seznam literatury

- Annovi G., Baldelli B., Battistelli S., Biggiogera M., Boraldi F., Malatesta M., Quaglino D.** 2008. A long term study on female mice fed on a genetically modified soybean: effects on liver aging. *Histochemistry and cell biology*. 130 (5). 967-977.
- Balls M. (ed.).** 1997. The Three Rs concept of alternatives to animal experimentation : Proceedings of the 2nd World congress on alternatives and animal use in the life sciences, held in Utrecht, the Netherlands, 20-24 October 1996. European Centre for the Validation of Alternative Methods. Ispra. p. 27-41.
- Baker H. J., Lindsey J. R., Weisbroth S. H. (eds.).** 1979. The Laboratory Rat, Volume I: Biology and Disease. Academic Press. London. p. 435. ISBN: 0-12-074901-7.
- Baranyk P. a kol.** 2007. Řepka: pěstování, využití, ekonomika. Profi Press. Praha. 208 s. ISBN: 9788086726267.
- Baranyk P. a kol.** 2010. Olejníny. Profi Press s.r.o. Praha. ISBN: 9788086726380.
- Bartoš L., Hořavová P., Jebavý L., Rödler P. (eds.).** 2007. Ochrana, chov a využití pokusných zvířat 1. díl (Chov, zoohygiena, experimentální práce a legislativní normy). Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. Brno. 255 s.
- Bečka D. a kol.** 2007. Řepka ozimá – pěstitelský rádce. Kurent, s.r.o. České Budějovice. 57 s. ISBN: 9788087111055.
- Bernardini G., Gismondi A., Santoni A.** 2012. Chemokines and NK cells: Regulators of development, trafficking and functions. *Immunology Letters*. 145 (1-2). 39-46.
- Blahovec J., Šlesárová L.** 1991. Enzymy a klinická enzymologie. Zenit Press. Košice. 127 s. ISBN: 80-7143-004-8.
- Britzman D. G. (ed.).** 2001. Sójový extrahovaný šrot: výborný zdroj proteinu do krmných směsí pro drůbež. American soybean association. Brusel. 14 s.
- Brown A. S., Rosenthal K. L.** 1997. Drobní savci – otázky a odpovědi ve veterinární medicíně. Medicus veterinarius. Plzeň. 192 s. ISBN: 80-902224-7-1.
- Czech A., Grela E. R.** 2004. Biochemical and haematological blood parameters of sows during pregnancy and lactation fed the diet with different source and activity of phytase. *Animal feed science and technology*. 116 (3-4). 211-223.
- Daifuku M., Nishi K., Okamoto T., Sugahara T.** 2014. Activation of J774.1 murine macrophages by lactate dehydrogenase. *Cytotechnology*. 66 (6). 937-943.
- De Greeve P., De Leeuw W., van Zutphen B. F. M.** 2004. Trends in animals use and animal alternatives. *Atla-Alternatives to Laboratory Animals*. 32. 13-19.

- Doubek J. a kol.** 2003. Veterinární hematologie. Noviko a.s. Brno. 464 s. ISBN: 80-86542-02-5.
- Doubek J. a kol.** 2010. Interpretace základních biochemických a hematologických nálezů u zvířat. Noviko s.r.o. Brno. 104 s. ISBN: 978-80-86542-22-5.
- Doucha J., Kotrbáček V., Lívanský K., Zachleder V.** 2009. Production of Chlorella biomass enriched by selenium and its use in animal nutrition: a review. *Applied microbiology and biotechnology*. 83 (6). 1001-1008.
- Estaki M., DeCoffe D., Gibson D. L.** 2014. Interplay between intestinal alkaline phosphatase, diet, gut microbes and immunity. *World Journal of Gastroenterology*. 20 (42). 15 650 – 15 656.
- Festing M, Lovell D. (eds.).** 1996. Reducing the use of laboratory animals in toxicological research and testing by better experimental design. Leicester University. Leicester. p. 128-140.
- Gaspar P., Al-Bayati F. A. Y., Andrew P. W., Neves A. R., Yesilkaya H.** 2014. Lactate Dehydrogenase Is the Key Enzyme for Pneumococcal Pyruvate Metabolism and Pneumococcal Survival in Blood. *Infection and Immunity*. 82 (12). 5099-5109.
- Halouzka R. (ed.).** 1998. Systémová veterinární patologie. Ústav patologické morfologie. Brno. 112 s. ISBN: 80-85114-23-2.
- Harvey J. W. (ed.).** 2001. Atlas of veterinary hematology – Blood and bone marrow of domestic animals. W. B. Saunders company. p. 228. ISBN: 978-0-7216-6334-0.
- Herzig I., Straková E., Suchý P. (eds.).** 2007. Vědecký výbor výživy zvířat. Nutriční a dietetická hodnota tuzemských proteinových krmiv jako alternativa sóji a sójových produktů. Část II – řepka a řepkové produkty. Výzkumný ústav živočišné výroby. Praha. 112 s.
- Hlavička P. (ed.).** 1995. Požadavky vyplývající z etologie laboratorních zvířat. V: Knotek Z. (ed.). Použití zvířat v experimentální práci. Společnost pro vědu o laboratorních zvířatech. Brno. s. 30 – 39.
- Homolka P., Kudrna V. (eds.).** 2006. Vědecký výbor výživy zvířat. Náhrada krmiv živočišného původu u přežvýkavců. Výzkumný ústav živočišné výroby. Praha. 62 s.
- Hořín P. (ed.).** 1995. Vybrané aspekty genetiky laboratorních zvířat. V: Knotek Z. (ed.). Použití zvířat v experimentální práci. Společnost pro vědu o laboratorních zvířatech. Brno. s. 7-12.
- Houba M., Hochman M., Hosnedl V. (eds.).** 2009. Luskoviny – pěstování a užití. Kurent s.r.o. České Budějovice. 133 s. ISBN: 9788087111192.

- Ibrahim I., Hill R., Humphreys D. J., Stodulski J. B. J.** 1980. Plasma enzyme-activities indicative of liver-cell damage in laying fowl given a diet containing 20-percent of rapeseed meal. *Research in veterinary science*. 28 (3). 330-335.
- Jackson LiangYao L., Lai Guan Ng.** 2012. Peeking into the secret life of neutrophils. *Immunologic Research*. 53 (1-3). 168-181.
- Jílek P. (ed.).** 2002. *Základy imunologie*. ANYWAY. Praha. 76 s. ISBN:8023885944.
- Kaneko J. J., Bruss M. L., Harvey J. W. (eds.).** 2008. *Clinical Biochemistry of Domestic Animals*. Elsevier. Amsterdam. p. 916. ISBN: 978-0-12-370491-7.
- Kawakami T., Galli S. J.** 2002. Regulation of mast-cell and basophil function and survival by IgE. *Nature Reviews Immunology*. 2 (10). 773-786.
- Kendíková I. a kol.** 2004. Více o morčatech a laboratorních potkanech – plemena, zajímavosti, veterinární rady. *Základní organizace chovatelů morčat a jiných drobných hlodavců*. Praha. 36 s.
- Kittnar O. a kol.** 2011. *Lékařská fyziologie*. Grada Publishing a.s. Praha. 800 s. ISBN: 978-80-247-3068-4.
- Klír P. (ed.).** 1995a. Původ nejčastěji užívaných laboratorních zvířat. V: Knotek Z. (ed.). *Použití zvířat v experimentální práci*. Společnost pro vědu o laboratorních zvířatech. Brno. s. 4 – 7.
- Klír P. (ed.).** 1995b. Požadavky na kvalitu laboratorních zvířat. V: Knotek Z. (ed.). *Použití zvířat v experimentální práci*. Společnost pro vědu o laboratorních zvířatech. Brno. s. 13 – 17.
- Knotková Z., Knotek Z. (eds.).** 2000. *Drobní savci – fyziologické hodnoty, léky a jejich dávkování*. Noviko a.s. Brno. 69 s. ISBN: 8090267637.
- Krider J. L. (ed.).** 1984. Soybean meal versus other protein sources for swine. *American soybean association*. Hudson. p. 41.
- Kudrna V. a kol.** 1998. *Produkce krmiv a výživa skotu*. Agrospoj Praha. Praha. 362 s.
- Lieberman M. W., Barrios R., Carter B. Z., Habib G. M., Lebovitz R. M., Rajagopalan S., Sepulveda A. R., Shi Z. Z., Wan D. F.** 1995. Gamma-glutamyl-transpeptidase - what does the organization and expression of a multipromoter gene tell us about its functions. *American Journal of Pathology*. 147 (5). 1175-1185.
- Liu Z. T., Peng T., Que S. P., Xu J.** 2014. Alanine Aminotransferase-Old Biomarker and New Concept: A Review. *International journal of medical sciences*. 11 (9). 925-935.
- Liu W., Yang A. S., Yang X. L.** 2012. Serum proteins opsonization and phagocytic uptake of PEG-modified PLGA nanoparticles: Effect of particle size. *Biotechnology, Chemical and Materials Engineering*. 393 (395). 939-942.

- Lohitnavy O., Sinhaseni P.** 1998. Methomyl toxicity and lactate dehydrogenase activity. *Arh hig rada toksikol.* 49 (3). 231-238.
- Lynch G. P., Norton S., Paroczay E., Solomon M. B.** 1991. Influence of rapeseed meal, whole rapeseed and soybean meal on fatty acid composition and cholesterol content of muscle and adipose tissue from ram lambs. *Journal of Animal Science.* 69 (10). 4055-4061.
- Lyons M. P., Papazyan T. T., Surai P. F.** 2007. Selenium in food chain and animal nutrition: Lessons from nature. *Asian-australasian journal of animal sciences.* 20 (7). 1135-1155.
- Meeusen E. N. T., Balic A.** 2000. Do Eosinophils have a Role in the Killing of Helminth Parasites? *Parasitology Today.* 16 (3). 95-101.
- Milks M. M., Ali I. I., Couri D., Wilt S. R.** 1985. The effects of selenium on the emergence of aflatoxin-b1-induced enzyme-altered foci in rat-liver. *Fundamental and applied toxicology.* 5 (2). 320-326.
- Míka V., Gaisler J., Kalač P., Klejdus B. (eds.).** 2001. Fenolické látky v lučních rostlinách. Výzkumný ústav rostlinné výroby. Praha. 116 s. ISBN: 80-86555-07-0.
- Moore, D. M. (ed.).** (2000). *The Animal Medicine and Science - Series II.* University of Washington Health Sciences Center for Educational Resources. Seattle 23 s. ISBN 1-55910-051-6.
- Mosnáčková J., Kováčiková E., Pastorová J. (eds.).** 2003. Selén v potravinách – odborná příručka. Výzkumný ústav potravinářský Bratislava. 36 str. ISBN: 80-89088-22-8.
- Nečas E. a kol.** 2000. *Obecná patologická fyziologie.* Karolinum. Praha. 380 s. ISBN: 802460051.
- Netto A. S., Correa L. B., Zanetti M. A.** 2014. Effects of Dietary Selenium, Sulphur and Copper Levels on Selenium Concentration in the Serum and Liver of Lamb. *Asian-australasian journal of animal sciences.* 27 (8). 1082-1087.
- Ozkan A., Ayhan A. G., Fiskin K.** 2007. Effect of vitamin E and selenium on antioxidant enzymes in brain, kidney and liver of cigarette smoke-exposed mice. *Biologia.* 62 (3). 360-364.
- Pavlík A. (ed.).** 2013. *Metody hodnocení vnitřního prostředí hospodářských zvířat.* Mendelova univerzita v Brně. Brno. 46 s. ISBN: 978-80-7375-736-6.
- Pecka M. (ed.).** 2006. *Laboratorní hematologie v přehledu – fyziologie a patofyziologie krevní buňky.* Finidr s.r.o. Český Těšín. 304 s. ISBN: 80-86682-00-5.
- Pecka M., Bláha M. (eds.).** 2010. *Praktická hematologie – laboratorní metody.* Infiniti art. Český Těšín. 343 s. ISBN: 978-80-903871-9-5.

- Pelikán J., Hýbl M. (eds.).** 2012. Rostliny čeledi *Fabaceae* LINDL. (bobovité) České republiky. Zemědělský výzkum, spol. s.r.o. Troubsko. 230 s. ISBN: 9788090508026.
- Racek J. a kol.** 1999. Klinická biochemie. Galén. Praha. 161 s. ISBN: 80-7262-023-1.
- Ruitenbergh E. J., Peters P. W. J. (eds.).** 1986. World Animal Science, C2 – Laboratory Animals – Laboratory animal models for domestic animal production. Elsevier Science Publishers B.V. Amsterdam, p. 350. ISBN: 0-444-42464-4.
- Sedláček P. (ed.).** 2006. Jak se vyznat v laboratorních hodnotách. Eminent. Praha. 148 s. ISBN: 80-7281-256-4.
- Sharp P., Villano J. S. (eds.).** 2013. The Laboratory Rat – Second Edition. CRC Press. Boca Raton. p. 399. ISBN: 978-1-4398-2986-8.
- Silbernagl S., Lang F. (eds.).** 2001. Atlas patofyziologie člověka. Grada Publishing. Praha. 404 s. ISBN: 8071699683.
- Skřivan M. (ed.).** 2009. Zvýšení obsahu selenu ve vejcích. Výzkumný ústav živočišné výroby, v. v. i. Praha. 13 s. ISBN: 978-80-7403-031-4.
- Stites D. P., Terr A. I. (eds.).** 1994. Základní a klinická imunologie. Victoria Publishing. Praha. 744 s. ISBN: 8085605376.
- Susic D., Bell R. D., Jovovic D., Kentera D., Mandal A. K., Panajotovic D., Veljkovic D.** 1992. The effect of acute and chronic hematocrit changes on cardiovascular hemodynamics in spontaneously hypertensive rats. American journal of hypertension. 5 (10). 713 – 718.
- Svoboda M. a kol.** 2000. Nemoci psa a kočky 1. díl. Noviko a.s. Brno. 1014 s. ISBN: 8090259529.
- Svoboda M. a kol.** 2001. Nemoci psa a kočky 2. díl. Noviko a.s. Brno. 1019 - 2038 s. ISBN: 8090259537.
- Štranc D., Štranc J., Štranc P. (eds.).** 2008. Novinky v pěstování sóji a lupiny v ČR. Ústav zemědělských a potravinářských informací. Praha. 12 s. ISBN: 9788072711925.
- Štranc D., Štranc J., Štranc P. (eds.).** 2012. Sója je významná plodina a komodita. Sborník ze seminářů s mezinárodní účastí. ČZU Katedra rostlinné výroby FAPPZ. Praha. 53 s. ISBN: 978-80-87111-32-1.
- Toman M. a kol.** 2009. Veterinární imunologie. Grada Publishing a.s. Praha. 392 s. ISBN: 9788024724645.
- Tripathi M. K., Mishra A. S.** 2007. Glucosinolates in animal nutrition: A review. Animal Feed Science and Technology. 132 (2007). 1–27.

- Tůmová N.** 2014. Vliv přídatku řepkového šrotu na biochemické a hematologické ukazatele u laboratorního potkana. Diplomová práce. Česká zemědělská univerzita. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Praha. 56 s.
- Tvrďák J.** 2014. Náhrada sójového šrotu řepkovým v dietě laboratorního potkana. Diplomová práce. Česká zemědělská univerzita. Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů. Praha. 73 s.
- Vašák J. (ed.).** 2000. Řepka. Agrospoj. Praha. 321 s. ISBN: 8023942360.
- Whanger P.D.** 1971. Enzyme changes in rats with terminal liver necrosis due to vitamin-e and selenium deficiencies. *Biochemical Medicine*. 5 (6). 528-536.
- Williams-Pecková M.** 2004. Alternatives to animal experiments in undergraduate education – Situation in the Czech Republic, Společnost pro zvířata – ZO_SOP (Society for Animals), in cooperation with the RSPCA, p. 19.
- Xu Y. H., Cheever A. W., Macedonia J., Pearce E., Sher A.** 1991. Dynamic Analysis of Splenic Lymphocyte-Th1 and Lymphocyte-Th2 Functions in Mice Infected with *Schistosoma-Japonicum*. *Infection and Immunity*. 59 (9). 2934-2940.
- Yanxing N., Chuyun W., Mei Y., Mulan J., Shuangxi H.** 2013. Effect of Microwave Treatment on Sinapic Acid Derivatives in Rapeseed and Rapeseed Meal. *Journal of the American Oil Chemists' Society*. 90 (2). 307-313.
- Zeman L. a kol.** 2006. Výživa a krmení hospodářských zvířat, Praha: Profi Press. ISBN 80-86726-17-7.
- Živná H.** 2001. Základy práce s potkanem v laboratoři. Solichte. Hradec Králové. 59 s. ISBN: 8023877615.

Elektronické zdroje

- Dvořáčková J., Doležal P., Hladký J., Vyskočil I.** Hodnocení výživné hodnoty krmiv. [online]. Ústav výživy zvířat a pícninářství. 2011. [cit. 2015-03-03]. Dostupné z http://web2.mendelu.cz/af_222_multitext/cvicebnice/krmivo.php?krmivo=33.

9 Seznam obrázků

Obr. 1: Laboratorní potkan kmene Wistar (str. 12)

Obr. 2: Sója luštinatá (str. 16)

Obr. 3: Sója luštinatá – semena (str. 17)

Obr. 4: Řepka olejná (str. 20)

Obr. 5: Řepka olejná – semena (str. 21)

Obr. 6: Řepkový extrahovaný šrot (str. 25)

Obr. 7: Neutrofilní granulocyt, (2) lymfocyty laboratorního potkana v periferní krvi (str. 30)

Obr. 8: Hemogram u laboratorního potkana. Vysvětlivky: (1) Bazofilní neutrofil, (2) eozinofilní granulocyty, (3) neutrofilní granulocyty, (4) monocyt, (5) lymfocyty, (6) trombocyty, (7) erytrocyty (str. 31)

Obr. 9: Fixace laboratorního potkana (str. 45)

10 Seznam zkratek

α	hladina významnosti
ANOVA	analýza rozptylu
ALP	alkalická fosfatáza
ALT	alaninaminotransferáza
BCR	specifický receptor B lymfocytů pro antigeny
CNS	centrální nervová soustava
GMT	γ -glutamyltransferáza
GSL	glukosinoláty
HCT	hematokrit
HGB	hemoglobin
H_0	nulová hypotéza
H_1	alternativní hypotéza
K_2EDTA	draselná sůl kyseliny ethylendiamintetraoctové
LDH	laktátdehydrogenáza
MCV	střední objem erytrocytu
MEŘO	methylester řepkového oleje
MHC	hlavní histokompatibilní komplex (major histocompatibility complex)
MK	mastné kyseliny
NAD^+	nikotinamidadenindinukleotid
NADH	redukovaný nikotinamidadenindinukleotid
NK buňky	přirození zabíječi (natural killers)
NL	dusíkaté látky
NEL	netto energie laktace
NEV	netto energie výkrmu
OECD	Organizace pro hospodářskou spolupráci a rozvoj (Organisation for Economic Cooperation and Development)
p	hodnota pravděpodobnosti
PDIN	protein skutečně strávený v tenkém střevě limitovaný obsahem dusíkatých látek
PDIE	protein skutečně strávený v tenkém střevě limitovaný obsahem energie
RBC	počet červených krvinek (red blood cells)
ŘEŠ	řepkový extrahovaný šrot

SeCys	selenocystein
SeMet	selenomethionin
SEŠ	sójový extrahovaný šrot
SNL	stravitelné dusíkaté látky
ST - 1	kompletní krmná směs firmy Velaz, s.r.o. pro laboratorní myši a potkany
Tc	cytotoxické lymfocyty
Th	pomocné lymfocyty (helper)
WBC	počet bílých krvinek (white blood cells)