

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra zoologie a rybářství**



**Česká zemědělská  
univerzita v Praze**

**Vliv předávkování zinkem a infekce tasemnicí  
na biochemické parametry v krevním séru**

**Diplomová práce**

**Bc. Kristýna Švábíková  
Udržitelný rozvoj biosféry**

**prof. Ing. Ivana Jankovská, Ph.D.**

© 2020 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv předávkování zinkem a infekce tasemnicí na biochemické parametry v krevním séru" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 24.7.2020

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala prof. Ing. Ivaně Jankovské, Ph.D. za odborné vedení této práce, potřebné materiály, ochotu, laskavost, trpělivost a za věnovaný čas, při kterém se mi dostávalo velmi cenných rad a připomínek. Také bych ráda poděkovala své rodině bez jejíž pomoci, by nebylo možné tuto práci dokončit.

# Vliv předávkování zinkem a infekce tasemnicí na biochemické parametry v krevním séru

## Souhrn

Tato diplomová práce se snaží přiblížit a popsat problematiku možných homeostatických změn vlivem zinku a infekce tasemnicí (*Hymenolepsis diminuta*) na biochemické parametry v krevním séru. Výzkum byl proveden na 44 potkanech během šestitýdenního období. Potkani byli rozděleni do 6 skupin: (1) 00 = kontrolní skupina potkanů (nezatížená), (2) OT = potkani infikovaní tasemnicí krysí (*Hymenolepsis diminuta*), (3) M0 = potkani předávkovaní mléčnanem zinečnatým, (4) MT = potkani předávkovaní mléčnanem zinečnatým a infikovaní tasemnicí krysí (*H. diminuta*), (5) P0 = potkani jimž byl do potravy přidán prášek z hyperakumulující rostliny Zn a Cd huseníčku Hallerova (*Arabidopsis halleri*), (6) PT = potkani kterým bylo podáno krmivo obohacené o prášek z *A. halleri* a zároveň byli nakaženi tasemnicí krysí (*H. diminuta*). Skupiny potkanů 00 a OT byly krmeny standardní směsí pro potkany (ST-1). Čtrnáct z následujících biochemických parametrů bylo měřeno ze vzorků krve (sérum): celkový protein (TP), albumin (ALBU), močovina (UREA), glukóza (GLU), triacylglyceroly (TAG), neesterifikované mastné kyseliny (NEMK), cholesterol (CHOL), alkalická fosfatáza (ALP), aspartátaminotransferáza (AST), kyselina močová (UA), Mg, Ca, P a Zn. Potkani, kterým byla podána hyperakumulující rostlina *A. halleri* a byli infikováni tasemnicí krysí (PT), měli výrazně nižší koncentraci zinku v krvi. Toto zjištění podporuje teorii, že tasemnice mohou akumulovat značné množství některých kovů a snižovat jejich koncentrace v hostitelských tkáních. Potkani ze skupiny (PT) měli také významně vyšší hladiny močoviny (UREA) a cholesterolu (CHOL) v krvi než potkani ze zbývajících skupin, zatímco hladiny aspartátaminotransferázy (AST) byly u této skupiny potkanů (PT) výrazně nižší. Koncentrace fosforu byla také významně nižší u potkanů krmených *A. halleri* než u jiných skupin. Je zajímavé, že hladiny celkových proteinů (TP) byly vyšší u potkanů infikovaných tasemnicí. Skupina potkanů předávkovaná mléčnanem zinečnatým (M0) měla výrazně nižší hladinu glukózy (GLU) v krevním séru než všechny ostatní skupiny. Toto zjištění může znamenat, že vysoké dávky mléčnanu zinečnatého mohou pomoci snížit hladinu glukózy v krvi. Potkani krmení směsí obohacenou o hyperakumulující rostlinu Zn a Cd *A. halleri* (P0) měli významně vyšší koncentrace alkalické fosfatázy (ALP) v krevním séru než potkani ze zbývajících skupin, což může poukazovat na poškození jater způsobené rostlinou *A. halleri*. Nebyly pozorovány žádné významné rozdíly v hladinách kyseliny močové (UA), neesterifikovaných mastných kyselin (NEMK), albuminu (ALBU), Ca, Mg a triacylglycerolu (TAG).

**Klíčová slova:** zinek, potkan, krev, sérum, parametr

# The zinc supplement overdose and the tapeworm infection impact on biochemical parameters in the blood serum.

## Summary

In this paper, we describe the possibly homeostatic changes induced by a zinc supplement and a tapeworm infection. This study was performed on 44 Wistar male rats during a six-week period. The rats were divided into 6 groups: (1) O0=control/non affected; (2) OT=rats infected with tapeworms (*Hymenolepis diminuta*); (3) MO=rats overdosed with zinc lactate; (4) MT=rats overdosed with zinc lactate and infected with tapeworms (*H. diminuta*); (5) PO=rats given Zn and Cd hyperaccumulating plant (*Arabidopsis halleri*) powder in feed mixture; and (6) PT= rats given Zn and Cd hyperaccumulating plant (*Arabidopsis halleri*) powder in feed mixture and infected with tapeworms. Rat groups O0 and OT were fed a standard mixture (ST-1). Fourteen of the following biochemical parameters were measured from blood (serum) samples: total protein (TP), albumin (ALBU), urea (UREA), glucose (GLU), triacylglycerols (TAG), non-esterified fatty acids (NEFA), cholesterol (CHOL), alkaline phosphatase (ALP), aspartate aminotransferase (AST), uric acid (UA), Mg, Ca, P and Zn. Rats given *A. halleri* and infected with tapeworms (PT) had significantly lower zinc concentrations in the blood. This finding supports the earlier presumption that tapeworms can accumulate some metals in high quantity and thus decrease the metals concentration in host's tissue. Phosphorus concentrations were also significantly lower in rats fed *A. halleri* than those of other groups. Rats infected with tapeworms and fed *A. halleri* (PT) had significantly higher urea (UREA) levels in blood than did the rats from the remaining groups. Rats given overdoses of zinc lactate (MO) exhibited significantly lower glucose (GLU) levels. This finding may mean high doses of zinc lactate can help lower blood glucose levels. Interestingly, total protein (TP) levels were higher in rats with tapeworm infection. Cholesterol (CHOL) levels were the highest in rats with tapeworm infection and fed *A. halleri* (PT). *A. halleri* and tapeworm infection (PT) significantly decreased AST levels in rat serum; rats from group PO had significantly higher alkaline phosphatase (ALP) concentrations in their blood serum than did rats from the remaining groups. High ALP levels may indicate a Zn/Cd burden as well as liver damage brought on by the consumption of hyperaccumulating plants. No significant differences were observed in levels of the uric acid, non-esterified fatty acids, albumin, Ca, Mg and triacylglycerol levels.

**Keywords:** zinc, rat, blood, serum, parameter

# Obsah

|            |                                                                                         |           |
|------------|-----------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| <b>1</b>   | <b>Úvod.....</b>                                                                        | <b>8</b>  |
| <b>2</b>   | <b>Vědecká hypotéza a cíle práce.....</b>                                               | <b>9</b>  |
| <b>3</b>   | <b>Literární rešerše.....</b>                                                           | <b>10</b> |
| <b>3.1</b> | <b>Vybrané krevní parametry.....</b>                                                    | <b>10</b> |
| 3.1.1      | Glukóza (GLU).....                                                                      | 10        |
| 3.1.2      | Močovina (UREA).....                                                                    | 11        |
| 3.1.3      | Kyselina močová (UA).....                                                               | 11        |
| 3.1.4      | Neesterifikované mastné kyseliny (NEMK).....                                            | 12        |
| 3.1.5      | Triacylglycerol (TAG).....                                                              | 12        |
| 3.1.6      | Cholesterol (CHOL).....                                                                 | 13        |
| 3.1.7      | Celkový protein (TP).....                                                               | 13        |
| 3.1.8      | Albumin (ALBU).....                                                                     | 14        |
| 3.1.9      | Alkalická fosfatáza (ALP).....                                                          | 14        |
| 3.1.10     | Aspartátaminotransferáza (AST).....                                                     | 15        |
| 3.1.11     | Hořčík (Mg).....                                                                        | 15        |
| 3.1.12     | Zinek (Zn).....                                                                         | 15        |
| 3.1.13     | Vápník (Ca).....                                                                        | 16        |
| 3.1.14     | Fosfor (P).....                                                                         | 16        |
| <b>3.2</b> | <b>Krevní parametry jako biomarkery zatížení těžkých kovů.....</b>                      | <b>17</b> |
| <b>3.3</b> | <b>Vliv stopových prvků na složení krve, moči a výkalů.....</b>                         | <b>19</b> |
| <b>3.4</b> | <b>Vliv kadmia (Cd).....</b>                                                            | <b>23</b> |
| 3.4.1      | Vliv kadmia na organismus.....                                                          | 23        |
| 3.4.2      | Vliv kadmia a nano-zinku na biochemické parametry v krevním séru.....                   | 24        |
| <b>3.5</b> | <b>Vliv zinku (Zn).....</b>                                                             | <b>25</b> |
| 3.5.1      | Metabolismus zinku.....                                                                 | 26        |
| 3.5.1.1    | Vstřebávání.....                                                                        | 26        |
| 3.5.1.2    | Transport.....                                                                          | 26        |
| 3.5.1.3    | Vylučování.....                                                                         | 26        |
| 3.5.2      | Vliv zinku na organismus.....                                                           | 27        |
| 3.5.2.1    | Nedostatek zinku.....                                                                   | 27        |
| 3.5.2.2    | Předávkování zinkem.....                                                                | 27        |
| 3.5.3      | Vliv zinku na poškození jater.....                                                      | 28        |
| 3.5.4      | Vliv Zn na obsah glykogenu v játrech a složení krevní plazmy po zatížení organismu..... | 28        |
| 3.5.5      | Vliv Zn na jeho hodnoty v krevním séru a moči.....                                      | 29        |

|            |                                                                 |           |
|------------|-----------------------------------------------------------------|-----------|
| 3.5.6      | Mléčnan zinečnatý .....                                         | 31        |
| <b>3.6</b> | <b>Vliv rostlinných extraktů na složení krevního séra .....</b> | <b>32</b> |
| 3.6.1      | Vliv petržele zahradní ( <i>Petroselinum crispum</i> ) .....    | 32        |
| 3.6.2      | Vliv máty klasnaté ( <i>Mentha spicata</i> ) .....              | 33        |
| 3.6.3      | Vliv kotvice japonské ( <i>Trapa japonica</i> ) .....           | 35        |
| <b>3.7</b> | <b>Huseníček Hallerův (<i>Arabidopsis halleri</i>) .....</b>    | <b>36</b> |
| <b>3.8</b> | <b>Tasemnice krysí (<i>Hymenolepsis diminuta</i>) .....</b>     | <b>37</b> |
| 3.8.1      | Stavba těla .....                                               | 37        |
| 3.8.2      | Rozmnožování .....                                              | 38        |
| 3.8.3      | Schopnost akumulace těžkých kovů .....                          | 38        |
| <b>4</b>   | <b>Metodika .....</b>                                           | <b>40</b> |
| <b>4.1</b> | <b>Příprava experimentu .....</b>                               | <b>40</b> |
| <b>4.2</b> | <b>Experimentální zvířata .....</b>                             | <b>40</b> |
| <b>4.3</b> | <b>Vlastní experiment .....</b>                                 | <b>40</b> |
| 4.3.1      | Metody biochemické analýzy .....                                | 41        |
| 4.3.2      | Použité statistické metody .....                                | 42        |
| <b>5</b>   | <b>Výsledky .....</b>                                           | <b>43</b> |
| <b>6</b>   | <b>Diskuze .....</b>                                            | <b>47</b> |
| <b>7</b>   | <b>Závěr .....</b>                                              | <b>51</b> |
| <b>8</b>   | <b>Literatura .....</b>                                         | <b>52</b> |
| <b>9</b>   | <b>Samostatné přílohy .....</b>                                 | <b>I</b>  |

# 1 Úvod

Zinek je prvkem výjimečného biologického významu. Hraje důležitou roli v celé řadě metabolických procesů v živých organismech. Ve velkých dávkách je ale toxický. S doplňkovým podáváním zinku roste pravděpodobnost jeho toxicity, především pak chronické. Je dokázáno, že nízká hladina zinku v krvi je spojená s depresí. Aby se předešlo nedostatku zinku, hojně se doporučuje podávání potravinových doplňků s jeho obsahem. Rizika spojená s předávkováním zinkem bývají ale mnohdy podceňována. Oxid zinečnatý, jeden z nejčastěji používaných potravinových doplňků v USA, a uhličitán zinečnatý jsou téměř nerozpustné a velice málo vstřebatelné. Byly popsány nízké koncentrace zinku v krvi po podávání oxidu zinečnatého i uhličitánu zinečnatého v porovnání s podáváním octanu zinečnatého a síranu zinečnatého (Allen 1998). Také mléčnan neboli laktát zinečnatý je organismem velmi dobře přijímán (Yang et al. 1994) Aby se předešlo škodlivým účinkům, denní dávka u zdravého člověka by neměla překročit 20mg (Maret & Sandstead 2006).

Kadmium a zinek jsou úzce příbuzné kovy s podobnými chemickými vlastnostmi. Na rozdíl od kadmia je však zinek nezbytným prvkem pro aktivaci mnoha enzymů a hormonů (Hejazy & Koohi 2017). Zinek snižuje absorpci a akumulaci Cd, a může tak snižovat toxické účinky kadmia. O interakcích nízkých dávek toxických směsí kovů s esenciálními kovy existuje jen málo informací. Cobbina et al. (2015) uvádí, že expozice nízkým dávkám směsí kovů (Pb, Hg, As a Cd) ovlivnila homeostázu toxických a esenciálních kovů v tkáních potkanů. Zinek hraje důležitou roli v široké škále metabolických procesů v lidském i zvířecím systému, je však toxický při nadměrném požití. Doplňkový Zn ve stravě zvyšuje pravděpodobnost toxicity zinku, zejména chronického typu (Mizari et al. 2012).

Biochemické parametry jsou důležitými ukazateli zdravotního stavu jedince (jak zvířat, tak lidí). Jaterní biochemické parametry jsou zvláště důležité, protože Cd poškozuje především játra a ledviny. Tyto prediktivní markery detekují patologii jater ještě předtím, než dojde ke změnám klinických a histopatologických parametrů (Ramaiah 2007).

Některé rostliny, včetně huseníčku Hallerova (*Arabidopsis halleri*), mohou tolerovat nebo dokonce akumulovat velmi vysoké koncentrace zinku a kadmia. Tyto rostliny jsou známé jako hyperakumulátory a mohou výrazně urychlit zavedení toxických prvků vázaných na zeminu do potravinového řetězce. Kromě toho lze tyto druhy použít také při fytořemediaci a monitorování těžkých kovů v životním prostředí (He et al. 2005).

Většina prvků nalezených u zvířat vstupuje orálně a následně se vstřebává do trávicího traktu. Tento absorpční proces významně narušuje gastrointestinální parazity. To platí zejména pro vrtějše a tasemnice, které přijímají živiny skrz tegument, metabolicky aktivní povrch těla. Tasemnice jsou schopny akumulovat velké množství kovů, čímž snižují jejich koncentrace v hostitelských tkáních (Sures et al. 2002). Tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*) je běžným parazitem hlodavců (včetně laboratorních hlodavců), ale je známo, že také infikuje lidi. Z tohoto důvodu může *H. diminuta* sloužit jako slibný model pro helmintovou terapii, protože vytváří dlouhodobou, stabilní kolonii v hostitelích a moduluje imunitní systém bez způsobení bakteriální dysbiózy (Kosik-Bogacka et al. 2010; Wegener Parfrey et al. 2017).



## **2 Vědecká hypotéza a cíle práce**

Hypotéza: Předávkování zinkem a infekce tasemnicí významně ovlivňuje vybrané biochemické ukazatele v krevním séru.

Cílem práce bylo objasnit vliv zinku a infekce tasemnicí na biochemické parametry v krevním séru laboratorních potkanů.

## 3 Literární rešerše

### 3.1 Vybrané krevní parametry

Biochemické parametry jsou důležitými ukazateli zdravotního stavu jedince, jak zvířat, tak lidí a také prostředí ve kterém žijí (Dimitrijević et al. 2013). Zhruba 8% hmotnosti lidského organismu tvoří krev. Skládá se z krevních buněk, buněčných fragmentů a z plazmy. Krevní plazma je vodný roztok bílkovin, organických i anorganických nízkomolekulárních látek. Mezi nejdůležitější funkce krve můžeme zařadit transport látek, významně se podílí na udržování vnitřního prostředí (homeostázy) a také se podílí na obranném systému organismu (Matouš et al. 2010).

Odebráním krve a přidáním protisrážlivých látek s následnou centrifugací, která je nutná k oddělení krevních elementů získáme krevní plazmu. Pokud bychom protisrážlivé látky nepřidaly, vzniklo by krevní sráženín a dostali bychom tak krevní sérum (Ledvina et al. 2009).

#### 3.1.1 Glukóza (GLU)

Nejrozšířenějším sacharidem je cukr glukóza. Většina sacharidů z potravy je do krve resorbována jako glukóza nebo jsou na ni přeměněna v játrech. Také je to glukóza, ze které se mohou tvořit všechny ostatní sacharidy v těle (Murray et al. 2002). V krvi živočichů je přítomná D-glukóza, která je zdrojem energie pro většinu organismů (Kluda 2016).

Glukóza je hlavním metabolickým palivem všech tkání savců s výjimkou přežvýkavců. Je přeměňována na jiné významné sacharidy, které mají specifické funkce. Patří sem například glykogen jako zásobní forma, ribóza v nukleových kyselinách, galaktóza, jejímž zdrojem je laktóza v mléce a také některé komplexní lipidy v kombinaci s bílkovinami. Nemoci spojené se sacharidy jsou *diabetes mellitus*, galaktosémie (vrozená porucha metabolismu sacharidů), nemoci ze stárádání glykogenu a nesnášenlivost mléka. Krevní glukóza pochází z potravy, protože většina stravitelných sacharidů ji nakonec vytvoří. Sacharidy z potravy jsou aktivně tráveny a jako své součásti obsahují glukózu, galaktózu a fruktózu, které se pak ve střevě uvolňují. Ty jsou pak transportní žílou dopraveny do jater. Tam se fruktóza a galaktóza snadno přemění na glukózu (Murray et al. 2002).

Požité sacharidy i vnitřní zásoby jsou zdrojem krevní glukózy. Koncentrace glukózy v krvi (glykémie) u zdravého člověka v žilní krvi nalačno činí 3,61-5,59 mmol/l. Za zvýšenou koncentraci glukózy se označují hodnoty v rozmezí 5,60-6,99 mmol/l (Ledvina et al. 2009).

Základním projevem hyperglykémie je například *Diabetes mellitus*, onemocnění nadledvin, nebo hypofýzy, onemocnění pankreatu, centrální nervové soustavy apod. Přičemž u hypoglykémii (snížená koncentrace glukózy v krvi), která je fyziologická u novorozenců, v těhotenství, při laktaci a značném svalovém vypětí (též u diabetiků) je příčinou hyperinsulinismus a nedostatečné ukládání glykogenu (Masopust 1998).

### 3.1.2 Močovina (UREA)

Močovina ( $\text{CON}_2\text{H}_4$ ) je organická nízkomolekulární látka, která byla izolována z moče již v roce 1773 (Rouelle) a její syntéza z kyanatanu amonného (Wohler 1828) vyvrátila do té doby platný názor, že organické sloučeniny mohou vytvářet jen živé organismy. Z organismu savců močovina odstraňuje buněčný jed amoniak, který je konečným produktem utilizace bílkovin (Štěpánová et al. 1995). Savci, žraloci, některé kostnaté ryby a většina obojživelníků vylučují dusík v podobě močoviny a ptáci, plazi a hmyz v podobě kyseliny močové. Syntéza močoviny nastává v játrech, poté je krevním oběhem transportována do ledvin, odkud se pak vylučuje močí (Klouda 2016).

Močovina má vysoce polární molekulu a je dobře rozpustná ve vodě. Je to hlavní konečný dusíkatý produkt metabolismu u člověka (Matouš et al. 2010). Metabolismus dusíkatých látek je komplikovaný. Nejprve se z aminokyselin uvolňuje dusík jako toxický amoniak, který se pak dále zpracovává na konečný produkt metabolismu-močovinu (Ledvina et al. 2009).

Přibližně polovinu dusíkatých látek v krevním séru a plazmě tvoří močovina. Její hodnoty se pohybují mezi 2,5-8,3 mmol/l (Ledvina et al 2009). U zdravých jedinců je hladina močoviny poměrně stálá a závisí na příjmu tekutin, přísunu bílkovin (množství i složení), katabolismu bílkovin a na vylučování ledvinami. Snížená koncentrace močoviny v plazmě zvaná hypourémie pod 3 mmol/l vede k poškození jater. Sníženou hladinu močoviny můžeme také pozorovat ve třetím trimestru těhotenství, nebo při nadměrném přísunu tekutin a nízkém příjmu bílkovin. Naopak zvýšená koncentrace močoviny v plazmě zvaná hyperurémie nastává při akutním a chronickém poškození funkcí ledvin, těžkém srdečním selhání, zvýšené spotřebě energie, vysokoproteinové dietě, dehydrataci a po některých léčivech (Štěpánová et al. 1995).

### 3.1.3 Kyselina močová (UA)

Kyselina močová (acidum uricum,  $\text{C}_5\text{H}_4\text{N}_4\text{O}_3$ ) vzniká z purinových bází uvolňujících se z nukleových kyselin a vylučuje se močí. Je konečným produktem katabolismu purinů u člověka, ostatních primátů, morčat, ptáků a některých plazů. Její rozklad probíhá primárně v játrech a je vylučována ledvinami do moči. (Matouš et al. 2010). Ptáci ji syntetizují z amoniaku, jelikož jde o sůl s dvojmocnými kationty je málo rozpustná, a proto udržuje netoxické prostředí ve vajíčku během vývoje mláďat (Štěpánová et al. 1995).

Hladina kyseliny močové v plazmě je závislá na metabolismu nukleových kyselin, na složení potravy a jejím vstřebávání a vylučování močí (Štěpánová et al. 1995). Murray et al. (2002) uvádějí, že koncentrace kyseliny močové v plazmě a séru je u mužů mezi 200-420  $\mu\text{mol/l}$  a u žen mezi 140-340  $\mu\text{mol/l}$ .

Snížená koncentrace kyseliny močové (hypourikémie) může nastat při výrazném snížení příjmu potravy živočišného původu, sníženým odbouráváním endogenních nukleových kyselin a sníženým vstřebáváním v tubulech ledvin (Štěpánová et al. 1995). Matouš et al. (2010) uvádějí, že zvýšená koncentrace (hyperurikémie) naopak může nastat při transportních poruchách, nádorovém bujení, či po ozáření. Vyšší hladinu kyseliny močové,

můžeme také pozorovat při onemocnění dnou, kdy koncentrace kyseliny močové stoupá nejenom v plazmě, ale i v jiných tekutinách, v kloubní tekutině a v podkoží (Štěpánová et al. 1995), po nadměrné tělesné námaze, po hladovění nebo naopak při dietě s vysokým podílem tuků. Dále pak vyšší hodnoty mají jedinci s krevní skupinou B a novorozenci v prvních dnech po narození (Masopust 1998).

#### **3.1.4 Neesterifikované mastné kyseliny (NEMK)**

Mezi fyziologicky nejvýznamnější lipidy patří mastné kyseliny a jejich estery společně s cholesterolem a dalšími steroidy. Vyskytují se v přírodních tucích hlavně jako estery, mohou být ale přítomné i v neesterifikované podobě, a to jako volné mastné kyseliny, které jsou vázané na albumin jako transportní forma v krevní plazmě (Murray et al. 2002). Mastné kyseliny mají v organismu řadu důležitých úloh. V triglyceridech jsou zdrojem metabolické energie, v tukové tkáni slouží jako mechanické a tepelné izolátory a ve formě fosfolipidů jsou strukturními složkami membrán (Tvrzická et al. 2009).

Neesterifikované mastné kyseliny se enzymově uvolňují z lipidů a v plazmě se okamžitě váží na bílkovinu albumin. Poločas jejich existence v krvi je řádově v minutách a jejich množství je velmi proměnlivé. Hlavně v období hladovění (mobilizaci tuků) bývá jejich obrat výrazně zvýšen, protože v tu chvíli se stávají hlavním energetickým zdrojem pro organismus (Ledvina et al. 2009).

Zvýšené koncentrace NEMK působí toxicky na plazmatické membrány, což může mít za následek arytmie, protrombogenní účinky apod. V kombinaci se zvýšenou koncentrací glukózy urychlují vznik reaktivních kyslíkatých a dusíkatých sloučenin i iniciaci a rozvoj endoteliální dysfunkce, což má za následek onemocnění cév (Tvrzická et al. 2009). NEMK jsou v plazmě za fyziologických podmínek přítomny pouze ve velmi nízkých koncentracích 0,5–1,0 mmol/l (Murray et al. 2002).

#### **3.1.5 Triacylglycerol (TAG)**

Rostlinné a živočišné tuky a oleje se z velké části skládají z triacylglycerolů, které se mohou označovat i jako triglyceridy nebo neutrální tuky. Triacylglyceroly jsou derivátem mastných kyselin a jsou jejich hlavní zásobní formou (Alberts et al. 1997). Slouží jako zásobárny energie živočichů a jsou v nich nejhojněji zastoupenou třídou lipidů, i když nejsou složkami biomembrán (Voet & Voet 1995).

Mastné kyseliny slouží v buňkách jako koncentrované zásoby potravy, které při odbourávání poskytují na jednotku hmotnosti asi šestkrát více využitelné energie než glukóza. Jsou uskladněny v cytoplazmě mnohých buněk ve formě kapének molekul triacylglycerolů, skládajících se ze tří řetězců mastných kyselin připojených k molekule glycerolu. Tyto molekuly představují živočišné tuky, které se vyskytují v mase, másle a smetaně, a rostlinných olejích (Alberts et al. 1997).

U živočichů plní triacylglyceroly také transportní funkci, kde jsou součástí lipoproteinů, transportujících v krvi a lymfě triacylglyceroly získané trávením z potravy, případně vytvořené

játry. Další funkcí triacylglycerolů je izolace a ochrana. Tepelně izolují celá těla (tučňák, tuleň) a orgány. Mechanicky chrání například střeva a ledviny. Již dlouho průmyslově využívanou reakcí při výrobě mýdla je alkalická hydrolýza tuků, již vzniká glycerol a alkalické soli mastných kyselin (Klouda 2016). Ledvina et al. (2009) uvádějí, že hodnoty triacylglycerolu v krevním séru a plazmě se pohybují mezi 0,9-1,7 mmol/l.

### **3.1.6 Cholesterol (CHOL)**

Cholesterol se řadí do skupiny tuků (lipidů), což jsou látky biologického původu rozpustné v organických rozpouštědlech, ale ve vodě jsou nerozpustné nebo jen částečně nerozpustné (Murray et al. 2002). Cholesterol je nejčastější živočišný steroid, který je klasifikován jako sterol. Je významnou složkou lipoproteinů krevní plazmy, živočišných plazmatických membrán a v menší míře se vyskytuje v membránách vnitrobuněčných organel a je důležitou látkou, která určuje vlastnosti membrán (Voet & Voet 1995).

Ve všech buňkách těla je cholesterol široce rozšířen, zejména pak v nervové tkáni. Četný je jeho výskyt ve spojení s mastnými kyselinami jako cholesteryl-ester. Jak již bylo zmíněno, cholesterol je důležitou součástí membrán a vznikají z něj všechny ostatní steroidy v těle. Patří mezi ně hormony kůry nadledvin, pohlavní hormony, žlučové kyseliny a vitamíny D (Murray et al. 2002). Hodnoty cholesterolu se v krevním séru a plazmě pohybují podle Ledvina et al. (2009) mezi 3,8-5,0 mmol/l.

### **3.1.7 Celkový protein (TP)**

Největší složkou krve jsou bílkoviny. Plazmatické bílkoviny můžeme rozdělit na albuminy, globuliny a fibrinogeny. Jsou směsí jednoduchých i složených bílkovin krevní plazmy. Pro organismus jsou mimořádně důležité. Důležité jsou především při udržování a stabilizaci krevního objemu. Ochrannou funkci před krevními ztrátami má fibrinogen. Téměř veškeré plazmatické bílkoviny se tvoří v játrech a liší se strukturou a funkcí. Z lékařského hlediska je důležité sledování nejen koncentrace celkové bílkoviny, ale také koncentrace jednotlivých bílkovin, které při změnách koncentrací mohou být reakcí na akutní záněty různého původu (Matouš et al. 2010).

Celkové bílkoviny krevního séra mají spíše tendenci k poklesu než k vzestupu. K poklesu celkových bílkovin dochází jednak při narušení syntézy (nemoci jater), nebo také při nevyhovujícím vstřebávání natrávených bílkovin ve střevě, nebo z nedostatečné dodávky bílkovin potravou. Příčinou poklesu bílkovin je často snížení albuminů v krvi (poměr mezi albuminy a globuliny se snižuje). Snížení tohoto poměru je doprovázeno chronickými chorobami jater a ledvin, ale někdy unikají albuminy střevem z těla ven. Avšak zvyšování koncentrace albuminů v krevním séru je ojedinělým příznakem (Ledvina et al. 2009). Hodnoty celkového proteinu v krevním séru u dospělého člověka podle Murray et al. (2002) činí 60-80 g/l.

### 3.1.8 Albumin (ALBU)

Albumin je rozpustný monomerní protein, který představuje asi polovinu celkového množství proteinů v krevním séru (Voet & Voet 1995). Je nejhojněji rozpuštěnou látkou v krevní plazmě. Téměř 40 % albuminu je obsaženo v krevní plazmě a tvoří hlavní část plazmatických bílkovin. Zbytek albuminu je obsaženo v extracelulárním prostoru. Za syntézu albuminů jsou zodpovědná játra. Nachází se ale také v intersticiální tekutině (tkáňovém moku), kde se nachází ve vyšším počtu než v krevní plazmě. Únik albuminu do tkáňového moku je odpovědí organismu na trauma (Schneiderka et al. 2004). Albuminy jsou tvořeny jedním polypeptidovým řetězcem mající elipsoidní tvar. Mezi jejich základní funkce se řadí udržování osmotického tlaku krve, vazba na transport mnohých látek jako jsou např. neesterifikované mastné kyseliny, bilirubin, léčiva i jedy (Ledvina et al. 2009).

Podle Murray et al. (2002) se hodnoty albuminu v krevním séru u dospělého člověka pohybují mezi 35-55 g/l. Masopust (1998) uvádí, že snížení hodnot albuminu je projev nedostatečnosti jaterní funkce.

Autoři studie Fan et al. (2017) zkoumali vliv přítomnosti albuminu v krevním séru na prognózu vývoje chronického onemocnění ledvin ve 3. až 4. stadiu u starších pacientů původem z Číny. Sérový albumin (ALBU) se často používá jako nutriční index ke sledování výživy pacientů s různými chorobami. Cílem studie bylo vyzkoumat vliv přítomnosti albuminu v krevním séru na prognózu vývoje chronického onemocnění ledvin (CKD) ve 3. až 4. stadiu u starších pacientů. Do výzkumu byli zahrnuti pacienti s CKD ve 3. až 4. stádiu. Bylo zjištěno, že pacienti skupiny s vyšším albuminem byly výrazně mladší, měli nižší hodnoty urey v krvi, natriuretických peptidů i cystatinu C oproti skupině s nižším albuminem v séru. Tito pacienti také vykazovali naopak vyšší hodnoty v krevním séru pro hemoglobin, celkový protein, vápník a enzym superoxid dismutázy. Výsledky autorů Fan et al. (2017) naznačují, že pacienti s vyššími hodnotami albuminu v séru mají lepší prognózu než pacienti s hodnotami nižšími. Nízké hodnoty albuminu tak představují nezávislý rizikový faktor ovlivňující prognózu vývoje nemoci u pacientů s chronickým onemocněním ledvin ve 3. až 4. stádiu.

### 3.1.9 Alkalická fosfatáza (ALP)

Měření hladiny enzymu alkalické fosfatázy (ALP) má zásadní význam při diagnostice možného výskytu onemocnění kostí a jater. Protože buňky epitelu sliznice, které vystylají žlučový systém jater, resp. vývodový systém žlučových cest jsou zdrojem ALP, bezproblémový průtok žluči játry, žlučovými cestami a do žlučníku je důležitý pro zachování správné hladiny tohoto enzymu v krvi. Pokud jsou funkce jater, žlučodů nebo žlučníku omezeny nebo přímo blokovány, enzym ALP není vyměšován systémem žlučových cest ve žluči a dostane se do krevního oběhu. Přítomnost ALP v krevním séru je měřítkem integrity hepato-biliárního systému a správnosti toku žluče do tenkého střeva. Vyšší koncentrace ALP je typickým ukazatelem onemocnění žlučodů. Příčinou snížení hladiny ALP v séru může být zapříčiněno nedostatkem zinku, vitamínu C (např. kurděje), hypotyreózou (onemocnění štítné žlázy), nedostatkem kyseliny listové, hypofosfatázií (onemocnění způsobené nedostatečnou

produkcí alkalické fosfatázy), celiakii, podvýživou spojenou s nízkým příjmem proteinů (včetně průvodního jevu podvýživy, snížené produkce žaludečních šťáv), nedostatečnou funkcí příštítných tělísek, perniciozní anémií způsobenou nedostatkem vitamínu B12, nebo nedostatkem vitamínu B6 (Kaslow 2014).

Referenční hodnoty pro laboratorní vyšetření v krevním séru na ALP u dospělých se pohybuje mezi 0,7-2,3  $\mu\text{kat/l}$  (k vyjádření enzymových aktivit se používá pojem katalytická koncentrace, jejíž jednotkou je katal na litr, který odpovídá přeměně jednoho molu substrátu za 1 s/1 l, Murray et al. 2002). Zvýšená hladina ALP je považována za důkaz buněčné nekrózy. Zvýšení hodnot ALP v krevním séru nastává při chorobách jater a žlučových cest, chorobách kostí, nefropatii, chorobách trávicího ústrojí apod. (Masopust 1998).

### **3.1.10 Aspartátaminotransferáza (AST)**

Aspartátaminotransferáza (dále jen AST) je buněčný enzym, který se vyskytuje mimo jiné v játrech, srdci (myokardu), v kosterním systému, ledvinách, mozku a v červených krvinkách a běžně se využívá jako marker při testech odhalujících onemocnění jater. Je také velmi důležitým enzymem pro přenos aminokyselin (Zhang et al. 2004).

Hodnoty AST v krevním séru u dospělého člověka se pohybují v rozmezí 0,22-0,87  $\mu\text{kat/l}$  (Murray et al. 2002). Zvýšení hodnot AST v krevním séru nastává při lézi myokardu, onemocnění kosterního svalstva, jater, krve a při dalších chorobách (Masopust 1998).

### **3.1.11 Hořčík (Mg)**

Jako slabá projímadla se využívají hořečnaté sloučeniny ( $\text{MgSO}_4$ ), nebo jako léky snižující překyselení žaludku zvaná antacida ( $\text{Mg}_3(\text{PO}_4)_2$ ), protože jejich roztoky reagují slabě zásaditě. Rozpustný chlorid hořečnatý se používá k doplnění hořečnatých kationtů v organismu. Více než polovina hořčíku v organismu je uložena v kostní tkáni ve fosfátech. V plazmě je většina hořčíku ionizovaná ( $\text{Mg}^{2+}$ ) a část je vázána na bílkoviny, především na albumin.  $\text{Mg}^{2+}$  je důležitým kofaktorem velkého množství enzymů a snižuje nervosvalovou dráždivost (Matouš et al. 2010).

Hořčík a jeho koncentrace v krevním séru a plazmě u dospělého člověka je v rozmezí hodnot 0,75-1,25 mmol/l (Murray et al. 2002). Při nedostatku Mg se v ledvině zvyšuje resorpce vápníku a naopak. Důležitý je také pro činnost myokardu. Zvýšení Mg v krvi může nastat při selhání ledvin, po operacích, po infuzi glukózy, při intoxikaci alkoholem apod. Snížení hodnot v krvi může být způsoben jeho trvalým nedostatkem v potravě, ztrátám trávicím ústrojím, v těhotenství, předávkováním vitamínem D nebo při onemocnění ledvin (Masopust 1998).

### **3.1.12 Zinek (Zn)**

Zinek je prvkem nezbytným pro růst rostlin a vývoj živočichů. Ovšem jeho vyšší koncentrace mohou být životu nebezpečné. Páry chloridu zinečnatého a zinkový prach poškozují dýchací ústrojí a bílé krvinky. Akutní otrava se projevuje zvracením a průjmem.

Vysoký příjem zinku snižuje vstřebávání mědi a způsobuje její nedostatek, totéž platí i obráceně. V tenkém střevě se vstřebává zinečnatý kationt a váže se na albumin. Množství vstřebaného kationtu  $Zn^{2+}$  má za následek nejenom snížení vstřebávání měďnatých kationtů ale také i kademnatých, olovnatých a rtuťnatých.  $Zn^{2+}$  je důležitý pro buněčnou imunitu, dělení buněk a je součástí mnoha enzymů. Nezbytný je při tvorbě vaziva, spermií a při hojení ran a podporuje vstup glukózy do buněk, protože je součástí hormonu inzulinu (Matouš et al. 2010).

Zinek je v krvi vázán ze 75 % v plazmě (především v bílkovinách), z 22 % na erytrocytech a ze 3 % na leukocytech. Pokud je zinek podáván intravenózně (nitrožilně), pak rychle z krve mizí a objevuje se ve vysoké koncentraci v pankreatu, játrech, slezině, v ledvinách a v nízkých koncentracích ve svalech a v mozku. V játrech potkanů je zinek, podobně jako měď a kadmium zčásti vázán na bílkovinu zvanou metalothionein (Bencko et al. 1995).

Při nedostatku zinku dochází ke zpomalení hojení ran a regeneraci tkání. Zinek zasahuje do syntézy látek důležitých pro činnost imunitního systému (Ledvina et al. 2009). Hodnoty zinku u dospělého člověka se v krevním séru pohybují mezi 7,65-22,95  $\mu\text{mol/l}$  (Murray et al. 2002).

### 3.1.13 Vápník (Ca)

Vápník je elektropozitivním prvkem, který s vodou tvoří hydroxid vápenatý  $\text{Ca(OH)}_2$  a jeho roztok reaguje zásaditě. Převážná část vápníku v těle je uložena v zubech a kostech, kde neustále dochází k remodelaci a vápník zde slouží také jako pohotová zásoba. Zbylá část vápníku je vázána na bílkoviny a je obsažen v extracelulární tekutině. Metabolismus vápníku velmi úzce souvisí s metabolismem fosfátů, a proto stoupne-li koncentrace fosfátů, může pak dojít k poklesu ionizovaného vápníku z důvodu tvorby nerozpustného fosforečnanu vápenatého. Pouze ionizovaný vápník  $\text{Ca}^{2+}$  je fyziologicky aktivní. Je nezbytný pro svalovou kontrakci, hemokoagulaci a snižuje nervosvalovou dráždivost.  $\text{Ca}^{2+}$  se využívá při alergických stavech, kde snižuje propustnost membrán a kapilárních stěn. Šťavelan vápenatý, jakožto nerozpustná sůl je součástí ledvinových kaménků (Matouš et al. 2010).

Murray et al. (2002) uvádějí obsah ionizovaného vápníku v krevním séru u dospělého člověka v rozmezí hodnot 1,05-1,3  $\text{mmol/l}$  a celkový vápník v krevním séru se u dospělých lidí pohybuje v rozmezí hodnot 2,1-2,6  $\text{mmol/l}$ .

### 3.1.14 Fosfor (P)

Ze známých modifikací elementárního fosforu, je toxický pouze bílý fosfor ( $\text{P}_4$ ). Ostatní modifikace nejsou toxické z důvodu nerozpustnosti ve vodě a v tucích. Pro organismus je nejdůležitější středně silná kyselina trihydrogenfosforečná ( $\text{H}_3\text{PO}_4$ ). Vápenaté a hořečnaté fosfáty tvoří důležitou součást kostní tkáně a fosfátové anionty jsou součástí pufrovacích systémů krve a moči, které jsou nezbytné pro zachování stálosti vnitřního prostředí (homeostázy). S cukry, lipidy, nukleosidy a dalšími organickými sloučeninami, tvoří kyselina fosforečná životně důležité estery nebo anhydridy (Matouš et al. 2010).



Murray et al. (2002) uvádějí, že fosfor se v krevním séru u dospělého člověka nachází v hodnotách 1-1,5 mmol/l.

### 3.2 Krevní parametry jako biomarkery zatížení těžkých kovů

Zvířata žijící v prostředí znečištěném stopovými kovovými prvky mohou tyto prvky snadno akumulovat ve tkáních svého těla. V okamžiku, kdy množství těchto prvků dosáhne úrovně, při které přestanou fungovat přirozené obranné mechanismy zvířete, může docházet k modifikaci některých fyziologických funkcí a jejich parametrů. Nespočet studií již odhalilo nejrůznější formy škodlivých účinků působení přemíry stopových kovových prvků na drobné savce a jako důsledky byly zjištěny genetické poruchy (Scheirs et al. 2006; Sanchez-Chardi et al. 2008), negativní vlivy na imunitní systém (Propst et al. 1999; Tersago et al. 2004), nebo změny histologického charakteru (Sanchez-Chardi et al. 2009).

Většina výzkumů však díky svému přístupu vyžadovala zabít zkoumané zvíře. Takový přístup však může být nevhodný, jedná-li se například o zástupce vzácného druhu, kdy není záhodno zasahovat do reprodukční dynamiky populace, nebo víme-li, že tato populace je nebo bude sledována z hlediska počtu jejich zástupců a neměli bychom tak zasahovat do přirozeně vyvíjejícího se stavu. Biomarkery můžeme sledovat a vyhodnocovat relativně neinvasivními metodami, mezi něž patří například odběr vzorku krve. Hematologický obraz je považován za citlivý a včasný indikátor toxických dopadů stopových kovových prvků na organismus (Rogival et al. 2006).

Několik studií konstatovalo hematologické změny v reakci na přítomnost stopových kovových prvků u laboratorních potkanů (Bersenyi et al. 2003), ovšem studie v této oblasti provedené na volně žijících malých hlodavcích zůstávají nepočtené (Gorritz et al. 1996; Nunes et al. 2001). Ačkoliv se hodnoty mohou měnit v závislosti na různých faktorech jako je věk, pohlaví, genetické předpoklady (Biser et al. 2004) počet krevních buněk poskytuje obecný přehled o stavu zdraví jedince (Tersago et al. 2004). Přesněji řečeno, počet erytrocytů, hematokritů (podíl erytrocytů na celkovém objemu krve) a koncentrace hemoglobinu se považují za indikátory míry kapacity přenosu kyslíku krví (Tersago et al. 2004) a změny v počtu leukocytů se interpretuje často jako nespecifický indikátor obrany těla proti nemoci (Rogival et al. 2006).

Autoři studie Tête et al. (2014) ve své předchozí studii vyhodnocovali vliv v organismu akumulovaného kadmia a olova a analyzovali histologické změny na játrech a ledvinách u populace myšic křovinných (*Apodemus sylvaticus*) žijících v krajině vysoce zamořené právě těmito dvěma prvky. Zvířata chytili na starých hutích, ve kterých se získával zinek a olovo, v místě zvaném Metaleurop Nord v severní Francii. Ukázalo se, že se stupeň kontaminace v játrech a ledvinách zvyšuje u jedinců, kteří žili na místech s vyšší mírou zamoření a že jedinci, žijící na nejzamořenějších místech vykazují závažnější patologické změny sledovaných orgánů, než jedinci ze sledované skupiny žijící na vybraném kontrolním místě. Jedinci, u nichž koncentrace Pb a Cd překročila práh referenční hodnoty stupnice LOAEL (nejnižší dávka, při které byl pozorován škodlivý účinek) měli více sledovatelných patologických projevů

než jedinci s množstvím Pb a Cd pod LOAEL prahem. Výsledky ukázaly, že myšice křovinné žijící v okolí Metaleurop Nord, byly v ohrožení vlivů těžkých kovů jejich důsledků v podobě histologických změn na orgánech. V této předchozí studii Tête et al. (2014) histologické analýzy poskytly důkazy o negativním vlivu kovů na orgány zvířat, nicméně se jednalo o metody, jež vyžadují usmrtit zkoumané zvíře a nemohou tak být použity pro výzkum populací, jejichž počet a reprodukční dynamika má být dále sledována. Ačkoliv v době provádění výzkumu Tête et al. (2014) věděli o těchto nedostatcích a cítili potřebu využít i metodu, jež by nevyžadovala usmrcení zvířete, neměli k dispozici žádnou studii založenou na histologické analýze, která by umožňovala prostřednictvím srovnání parametrů krevního obrazu vyhodnotit závislost podoby krevního obrazu a stavu jater a ledvin.

V další studii Tête et al. (2015) tak mohli navázat na výsledky výše zmíněného výzkumu a vyhodnotit vztah mezi jednotlivými parametry krevního obrazu (počet hematokritů, poměr zastoupení leukocytů a erytrocytů) a zdravotního stavu zkoumaných orgánů. Cílem jejich studie bylo pozorovat reakci parametrů krevního obrazu ve vysoce zamořeném prostředí při koncentracích kadmia a olova v játrech a ledvinách. Aby Tête et al. (2015) podpořili využití krevního obrazu jako šetrné metody bez nutnosti usmrtit zvíře, jako další dílčí cíl si vytyčili prostudovat potenciální vztah mezi histologickou analýzou a hematologickými parametry.

Populace drobných savců žijících na znečištěných místech jsou vystaveny působení mnoha chemických látek. Olovo a kadmium, stopové prvky nepatřící do skupiny esenciálních prvků, se hromadí v různých orgánech a je prokázán jejich škodlivý vliv. Aby Tête et al. (2015) pro ekotoxikologické metody postulovali způsob odhalení přítomnosti těchto kovů v organismu, hledali markery rozeznatelné, aniž by muselo dojít ke smrti zkoumaného subjektu a zaměřili se proto na studium vztahů mezi parametry krevního obrazu (množství hematokritů, leukocytů a erytrocytů) a množstvím olova a kadmia v půdě, v ledvinách a játrech myšice křovinné (*Apodemus sylvaticus*). Chytali do pastí jedince žijící v prostředí vykazujícím vysokou míru kontaminace kadmiiem, olovem a zinkem. Výsledky ukázaly, že sledované hematologické parametry nejsou závislé na individuální charakteristice vyšetřovaného jedince (věk, pohlaví apod.). Tyto parametry se lišily v závislosti na míře znečištění podle stejného vzorce, jaký vykazovalo ukládání kadmia v orgánech u těchto myšic. Tête et al. (2015) nenalezli žádný vztah mezi proměnou parametrů krevního obrazu a koncentrací olova v orgánech myšic nebo v prostředí, ve kterém žily. Počet hematokritů a leukocytů klesl s narůstající výší koncentrace kadmia v ledvinách anebo v játrech. Hladina hematokritů navíc byla nízká u zvířat, která vykazovala koncentraci kadmia v játrech v hodnotách přesahující prahové hodnoty stupnice LOAEL. Sledované změny parametrů byly interpretovány jako možné riziko, že působení kadmia může mít negativní dopad na schopnost přenášet kyslík krví (tzn. riziko anémie). Předkládaná studie Tête et al. (2015) naznačuje, že některé parametry krevního obrazu, zejména počet hematokritů, mohou být využity jako biomarkery při šetrné, téměř neinvazivní metodě vyhodnocení míry působení kadmia na organismus.

### 3.3 Vliv stopových prvků na složení krve, moči a výkalů

Chemické prvky vstupují do těla různými cestami. Jsou přijímány ze vzduchu, z tekutin, potravou, léky, tedy dýchací i trávicí soustavou i kůží. V těle jsou dále shromažďovány a distribuovány krví (prostřednictvím např. svalů, jater, ledvin) a dále vylučovány potem, odrůstem vlasů, močí a stolicí (Almeida et al. 2008). Během procesu transportu a transformace různých stopových prvků v těle směřujícímu k jejich konečnému využití a spotřebě může dojít k nejrůznějším interakcím mezi těmito prvky jako výsledku činnosti metabolismu a jeho regulačních systémů (Windisch 2002). Interakce mohou být synergické, kdy jeden prvek může podporovat akumulaci nebo funkci prvku druhého, nebo antagonistické, při nichž jeden z prvků spouští absorpci nebo spotřebu či úplné využití prvku druhého (Rahil-Khazen et al. 2002).

Vzájemné interakce mezi toxickými prvky a prvky zásadními pro výživu organismu byly zkoumány již na zvířatech žijících v oblastech zamořených těžkými kovy a v experimentálních podmínkách (Koh & Judson 1986), ale informace o vztahu mezi kovy a jejich vlivu na fungování těla u organismu žijícím v přirozeném prostředí s nízkou expozicí mohou být zásadním zdrojem poznání dynamiky vztahů mezi těmito prvky a toho, jakým způsobem s nimi zachází lidský metabolismus.

Většina odborné literatury popisující interakci stopových prvků a lidského organismu se zabývá pouze zkoumáním vlivu kovů na 1 nebo 2 biologické činitele v konkrétním čase. K dispozici je jen velmi málo komplexních studií o korelaci stopových prvků přijímaných stravou a jejich výskytem v krvi, moči nebo ve stolici zdravého člověka. Vyšetření vzorku jater a ledvin může indikovat způsob distribuce a vliv kovů na tělo v různých tkáních, nicméně takové vzorky lze odebrat pouze ze zvířat nebo při pitvě člověka (Alonso et al. 2002).

Odběry krve, moči i stolice se běžně používají pro zjištění zdravotního stavu. Aby Wang et al. (2012) prozkoumali vliv stopových prvků přijímaných ve stravě na trojici biologických činitelů (krev, moč, stolice) a následnou vzájemnou interakci těchto činitelů, sesbírali u skupiny 120 svobodných čínských mužů vzorky jejich stravy (formou rozboru duplikátů složení denního příjmu), krve (neregulovaný odběr), moči a stolice; vždy úhrnem za posledních 72 hodin. Následně byla provedena analýza korelace mezi toxickými prvky (Cd, Pb) a prvky nezbytnými pro lidskou výživu (Zn, Cu, Fe, Mn, Se, I). Množství kadmia přijatého potravou vysoce pozitivně korelovalo s množstvím kadmia ve stolici a krvi. Data mohou přinést informaci o tom, jaké množství konkrétních stopových prvků do těla dostáváme a jak ovlivňuje množství jejich příjmu ve stravě množství naměřené v krvi, moči a stolici.

Negativní korelaci Wang et al. (2012) objevili u železa přijímaného stravou ve vztahu ke kadmium a olovu, kdy byl jeho vyšší obsah detekován spolu s nižším obsahem kadmia, resp. olova v krvi a stolici; výskyt kadmia přímo koreloval s výskytem zinku a selenu ve vzorcích moči a stolice, v krevních vzorcích výskyt kadmia negativně koreloval s výskytem selenu, stejně jako výskyt olova. Zaznamenán byl extrémně silný vztah mezi výskytem selenu a jódu v moči. Rovněž v moči se objevily další dvě silné přímé korelace mezi selenem a železem, resp. jódem a železem. Další podrobný výzkum těchto vzájemných vztahů považuje Wang et al. (2012) pro pochopení celé problematiky za zásadní.

Ve většině případů byly naměřené střední hodnoty a mediány hodnot u všech prvků v rámci běžného rozmezí, nicméně je důležité si uvědomit, že rozdíly mezi hodnotami jednotlivých prvků bývají ukazateli individuální různorodosti (různé pohlaví, činnost metabolismu, historie a současnost vystavení působení vlivů životního prostředí, místo pobytu, stravovací návyky). Tyto faktory přispívají k faktu, že některé z hodnot u jednotlivých prvků se odlišují od běžných hodnot (Almeida et al. 2008).

### **Kadmium**

Vysoce signifikantní pozitivní korelace ( $\uparrow\uparrow$ ) byla objevena mezi kadmii přijatým ve stravě a jeho obsahem v krvi a stolici. Hlavní zdroje výskytu kadmia v organismu pocházejí z potravy a tabáku, zatímco přítomnost kadmia v krvi je považována za indikátor míry expozice kadmii organismu v přirozeném prostředí (jak v současnosti, tak jako pozůstatek z expozice v minulosti, Ellingsen et al. 1997). Co se týče kadmia ve stolici, nebyl tento problém dosud řádně zkoumán. Wang et al. (2012) prokazovaná silná pozitivní korelace ( $\uparrow\uparrow$ ) mezi obsahem kadmia ve stolici a stravě ukazuje, že úroveň množství kadmia je potenciálním ukazatelem kadmia v přijímané stravě. K ověření této hypotézy jsou potřeba hlubší výzkumy.

Wang et al. (2012) uvádějí, že kadmium reaguje se zinkem, příjem kadmia stravou tak rovněž v této studii prokazoval vysoce signifikantní pozitivní korelaci ( $\uparrow\uparrow$ ) s obsahem zinku ve stolici. Relevantní experimentální studie v minulosti ukázaly, že kadmium umožňuje organismu efektivnější vylučování zinku, které bylo zkoumáno a prokázáno u potkanů. Možným vysvětlením tohoto jevu je v literatuře uváděný pokles absorpce zinku organismem vlivem vazeb na kadmium (Coppens-Jeager & Wilhelm 1989), což vyústí ve zvýšenou exkreci zkonsumovaného, ale neabsorbovaného zinku stolicí. Dále kadmium a zinek vykazovaly signifikantní pozitivní korelaci ( $\uparrow\uparrow$ ) při vylučování, jak močí, tak stolicí. Interakce mezi kadmii a zinkem při metabolismu jsou zmiňovány v souvislosti s jejich společnou tendencí vazby na metalothionein (MT) a na jejich schopnost vyvolat s ním syntézu (Brzoska et al. 2000). Mnoho autorů uvádí, že metalothionein hraje důležitou roli v prevenci toxicity kadmia v organismu tím, že formuje Cd-MT komplex (Brzoska & Moniuszko-Jakoniuk 2001). Tato interakce bývá popisována v situacích při nízkém stupni vystavení organismu kadmii jak u lidí (Rahil-Khazen et al. 2002), tak u zvířat (Alonso et al. 2002) a může tedy ukazovat, že kadmii zprostředkovávají vlivy na metabolismus stopových kovů (včetně zinku) mohou nastat i při vystavení organismu prostředí jen mírně kadmii kontaminovaném.

Příjem kadmia stravou vykazoval signifikantní negativní korelaci ( $\uparrow\downarrow$ ) s množstvím selenu v moči, ale naopak pozitivní korelaci ( $\uparrow\uparrow$ ) s množstvím selenu ve stolici. Byla rovněž objevena pozitivní korelace ( $\uparrow\uparrow$ ) kadmia a selenu v moči i stolici. Nicméně tyto dva prvky vykazovaly negativní korelaci ( $\uparrow\downarrow$ ) v krvi, a to ve shodě se zveřejněnými studiemi, které zmiňují statisticky signifikantní negativní korelace ( $\uparrow\downarrow$ ) kadmia a selenu v krvi pro všechny sledované subjekty nehledě na to, zda se jednalo o kuřáky (vyšší příjem kadmia), nebo nekuřáky (Ellingsen et al. 1997). Byly také předloženy významné experimentálně podložené důkazy u lidí i zvířat týkající se biologické interakce mezi kadmii a selenem (Abdulla & Chmielnicka 1989). Jedním z důvodů je to, že selen umí měnit vazby kadmia na proteiny v plazmatu a tím ovlivňuje biodostupnost kadmia. Rovněž Wang et al. (2012)

objevili, že železo přijímané ve stravě vykazuje negativní korelaci ( $\uparrow\downarrow$ ) s množstvím kadmia v krvi a stolici, stejně jako s množstvím olova v krvi a stolici. Tento nález může být považován za relevantní, neboť již bylo experimentálně prokázáno, že železo ve stravě může napomoci absorpci a uchování kadmia a olova u zvířat (Flanagan et al. 1980). Ačkoliv o tomto jevu u člověka se ví méně, je možné tvrdit, že nízký obsah železa může ovlivnit citlivost organismu na potenciální přítomnost těžkých kovů včetně kadmia a olova. Mangan přijímaný stravou vykazoval negativní korelaci ( $\uparrow\downarrow$ ) s kadmíem obsaženým v krvi a ve stolici. Kadmium a mangan vykazovaly negativní korelaci ( $\uparrow\downarrow$ ) v moči, ale pozitivní ( $\uparrow\uparrow$ ) ve stolici. Vazby manganu a kadmia byly popsány u ovcí vystavených kadmíem kontaminované potravě (Doyle & Pfander 1975) a u lidí po vystavení nízkým koncentracím kadmia v životním prostředí (Rahil-Khazen et al. 2002). Ačkoliv byla statistická signifikance těchto vazeb nízká, důkazy naznačují, že tyto prvky interagují rovněž v živém organismu.

### **Olovo**

Signifikantní negativní korelace ( $\uparrow\downarrow$ ) byla objevena mezi olovem přijatým stravou a množstvím selenu v krvi a moči. Tento vztah byl popsán již v minulosti s následujícími závěry: a) nárůst absorpce olova organismem přichází v okamžiku, kdy klesal příjem selenu stravou, b) nízký stav selenu v organismu umožňuje lepší absorpci olova (Branay et al. 2002). Dále ve výzkumu Wang et al. (2012) vykazoval vztah olova a selenu negativní korelaci ( $\uparrow\downarrow$ ) v krvi, opět v souladu s předchozími studii, které uvádějí negativní korelaci ( $\uparrow\downarrow$ ) mezi olovem v krvi a selenem v krvi (včetně selenu v séru) u dětí vystavených působení olova v regionu Katowice v Polsku (Osman et al. 1998). Pokusy na zvířatech ukázaly, že selen umí částečně redukovat např. neurotoxické (Nehru & Iyer 1994) nebo nefrotoxické (Flanagan 1980) účinky olova na organismus. Interakce mezi olovem a selenem bývá spouštěna olovem, jež ovlivňuje stav selenu formováním Pb-Se komplexů, nebo selenem, kdy selen ovlivňuje metabolismus olova organismem. Může docházet také k propojení těchto jevů a interakce je vzájemná, mechanismus není ještě vědou zcela pochopen. Množství olova přijatého stravou vykazovalo negativní korelaci ( $\uparrow\downarrow$ ) s množstvím zinku v moči. Množství zinku přijatého stravou negativně korelovalo ( $\uparrow\downarrow$ ) s množstvím olova v krvi a ve stolici. Objevila se signifikantní pozitivní korelace ( $\uparrow\uparrow$ ) olova a zinku v moči. Experimentální studie již ukázaly, že exkrece zinku je zvyšována přítomností olova v organismu a že nedostatek zinku usnadňuje absorpci olova (Goyer 1997), i když mechanismy ani této interakce nejsou dosud zcela jasné.

### **Selen a železo**

Koncentrace selenu v nehtech, krvi a moči byla zaznamenána mnoha studii jako spolehlivý indikátor příjmu selenu stravou (Yoneyama et al. 2008, Hunter et al. 1990). Současná pozorování rovněž prokazují, že denní vylučování selenu močí bylo dlouhodobě výzkumníky přehlíženo, ve srovnání např. s koncentrací selenu v krvi, jako indikátor krátkodobosti příjmu selenu do těla (Hawkes 2003). Ve studii Wang et al. (2012) se prokazovala pozitivní korelace selenu ( $\uparrow\uparrow$ ) v komplexech strava – krev a strava – stolice (korelace selenu na ose strava – moč byla na hranici statistické významnosti, pravděpodobnou příčinou byl nesoulad jednotkového vyjádření pro vzorek moči nebo fakt, že vzorek nebyl dostatečně velký).

Wang et al. (2012) dále objevili, že selen v moči a jód v moči vykazují přímou (↑↑) vysoce signifikantní korelaci. Podobné vazby selenu a jódu byly popsány ve vzorku populace průměrných žen mezi 18 a 65 lety (Kvicala et al. 1995) a žen těhotných v polském Krakově (Szybinski et al. 2009). Blízká vazba mezi selenem a metabolismem jódu byla velice intenzivně zkoumána jak biochemiky, tak epidemiology (Beckett & Arthur 2005). V krátkosti: na fungování biologických ovladačů metabolismu selenu a jódu jsou založeny zejména schopnosti ledvin pomocí exkrece udržovat koncentrace prvků v určité homeostázi, kde není absorpce prvků nijak regulována (Windisch 2002). Navíc, silně pozitivní korelace (↑↑) se ukazovaly v moči u selenu a železa a u jódu a železa. Příjem železa potravou vykazoval signifikantní pozitivní (↑↑) korelaci se selenem v krvi a moči a s jódem v moči. Nedostatek železa a jódu je i dnes velký veřejný zdravotní problém, který postihuje více než 30 % globální populace, zejména děti. Nedostatek se vždy týká obou těchto prvků zároveň (Zimmermann 2006), ale mechanismus této vazby zůstává nejasný.

### **Zinek**

Interakce mezi zinkem a mědí je dostatečně popsána (Blanco-Pendelo et al. 2006). Ve studii Wang et al. (2012) množství zinku přijímaného potravou vykazovalo pozitivní korelaci (↑↑) s množstvím mědi v moči. Měď přijatá potravou vykazovala negativní (↑↓) korelaci se zinkem v krvi, ale pozitivní korelaci (↑↑) se zinkem ve stolici. Dále byla pozitivní korelace (↑↑) zaznamenána mezi zinkem a mědí jak v moči, tak ve stolici. Všechny výše zmíněné nálezy jsou zřejmě důsledkem aktivit homeostatického mechanismu, který reguluje úroveň množství obou kovů. Byla také objevena silná pozitivní korelace (↑↑) zinku a železa jak v krvi, tak ve stolici. Zinek přijatý potravou vykazoval negativní korelaci (↑↓) s množstvím železa v krvi a v moči, ale pozitivně koreloval s množstvím železa ve stolici, což naznačuje vzájemnou závislost těchto dvou kovů v organismu. Interakce je pravděpodobně způsobená podobnými chemickými vlastnostmi, železo a zinek jsou přechodné kovy a mají identickou konfiguraci vnějšího elektronového obalu (Wang et al. 2012). Dvě pozitivní korelace (↑↑) zinku a selenu Wang et al. (2012) objevili ve vzorcích stravy a stolice. Zinek a selen vykazovaly také vysoce signifikantní korelaci v moči a stolici. Důsledky interakce mezi zinkem a selenem byly popsány při dřívějších pokusech na zvířatech, ve kterých přerodělování zinku spouštělo pokles vylučování selenu močí zkoumaných zvířat, a kdy byl také za přítomnosti selenu pozorován viditelný pokles vylučování zinku stolicí (Chmielnicka et al. 1988). Mechanismy těchto interakcí nejsou známy.

Naměřené výsledné hodnoty stopových prvků Wang et al. (2012) jsou obecně srovnatelné s výsledky ostatních autorů. Velké množství stopových prvků vykazovalo korelace mezi množstvím prvku přijatého stravou a množstvím ve třech vybraných biologických činitelích (krev, moč, stolice) i vzájemné korelace množství prvků mezi těmito činiteli. Je třeba zmínit, že korelace neznamená kauzalitu čili nám nedovoluje rozhodnout, zda se jedná o příčinu a následek (Brzoska et al. 2000). Předložená popisná statistická data mohou zformovat základy pro další návazná vysvětlení daných jevů. Experimentální pokusy a nové studie pokoušející se identifikovat interakce a povahu vzorců vazeb mezi stopovými prvky jsou velice potřebné. Aby se dalo lépe porozumět komplexitě svazků a vazeb probíhajících

v organismu během metabolismu stopových prvků, je důležité prohloubení znalostí týkající se vzájemných reakcí stopových prvků.

### 3.4 Vliv kadmia (Cd)

Kadmium je měkký kov stříbritého lesku, který je pro svou odolnost vůči korozi využíván některými moderními technologiemi. Nepatří mezi esenciální prvky jako je tomu u zinku, ale působí velmi toxicky na živé organismy. Protože mají kadmium a zinek podobný atomový poloměr, může ho kadmium nahrazovat v biochemických strukturách organismu a měnit jejich funkčnost např. způsobit inaktivaci některých enzymů. V půdě se kadmium vyskytuje přirozeně jako stopový prvek, ale kontaminací může být jeho koncentrace více jak tisíckrát zvýšena (Kafka & Punčochářová 2002).

Je také jedním z nejnebezpečnějších anorganických znečišťovatelů ekosystému. Není biologicky rozložitelné, na rozdíl od jiných organických sloučenin a má velmi dlouhý poločas rozpadu. Pravidelně se vyskytuje v rudách společně se zinkem, mědí a olovem. Proto je sopečná činnost jedna z přirozených důvodů pro dočasné zvýšení koncentrace environmentálního kadmia. Kadmium je široce používáno v průmyslových procesech jako antikorozní činidlo, stabilizátor v PVC výrobcích, barevný pigment, neutronový absorbér v jaderných elektrárnách a ve výrobě nikel-kadmiových bateriích. Fosforečná hnojiva také vykazují velké zatížení kadmiem. Ačkoli některé produkty obsahující kadmium mohou být recyklovány, velká část obecného znečištění kadmiem je způsobeno skládkováním a spalováním odpadů znečištěných kadmiem (Jarup 2003).

#### 3.4.1 Vliv kadmia na organismus

Kadmium je jedním z toxických těžkých kovů, které představují vážné zdravotní riziko. Toxicita kadmia byla diagnostikována v mnoha orgánech, jako jsou ledviny, játra, mozek, kosti, dýchací a reprodukční systémy (Klassen et al. 2009). K expozici kadmia dochází při požití kontaminované potravy a vody nebo při vdechování znečištěného vzduchu (Godt et al. 2006). Mezinárodní agentura pro výzkum rakoviny klasifikovala tento kov a jeho sloučeniny jako lidský karcinogen skupiny 1 (IARC 1993).

Kadmium mohou velmi snadno vstřebávat jedinci mající nedostatek vápníku, železa, zinku, anebo je jejich strava ochuzená o proteiny. Protein metalothionein (MT) je vázán na kadmium a je možné, že pomáhá chránit před toxickými účinky kadmia. MT většinou zachytí jen velmi malé množství kadmia. Tvorbu tohoto proteinu zvyšuje opakované vystavení nízkým dávkám kadmia, a proto je možné, že krátkodobá expozice kadmia při vysokých dávkách může být nebezpečnější, než dlouhodobá expozice při dávkách nízkých (Stoeppeler 1991).

Vstřebávání kadmia je možné rozdělit na 3 způsoby: gastrointestinální, plicní a dermální. Příjem lidským gastrointestinálním traktem je přibližně 5 % požitého množství kadmia v závislosti na přesné dávce a složení výživy. Průměrný kuřák má příjem 30  $\mu\text{g}$  Cd za den (Schwarz 1993). Toto množství může zvýšit několik faktorů, například nízký příjem vitamínu D, vápníku a stopových prvků, jako je zinek a měď (Godt et al. 2006).

Strava s vysokým obsahem vlákniny zvyšuje příjem kadmia potravou (Jarup et al. 1998). Nejdůležitějším metabolickým parametrem pro absorpci kadmia u člověka je nejspíše nedostatek železa. Lidé s nízkými zásobami železa vykazovali o 6 % vyšší příjem kadmia než lidé s vyrovnanou zásobou železa (Flanagan et al. 1978). To je hlavní důvod, proč je vyšší resorpce kadmia u lidí s anémií a obvyklým deficitem železa, jako jsou děti nebo menstrující ženy (Gunshin et al. 1997).

Hlavním zdrojem inhalační intoxikace kadmiem je cigaretový kouř. Lidské plíce vstřebávají 40–60 % kadmia z tabákového kouře (Elinder et al. 1976). Průměrný nekuřák, ve věku 50 let má tělesnou zátěž kadmiem 15 mg. Zatímco srovnatelný celoživotní kuřák vykazuje hodnotu 30 mg. Kuřáci mají obecně hladinu kadmia v krvi 4–5krát vyšší než nekuřáci (Jarup 1998).

Obecné klinické příznaky toxicity Cd u savců zahrnují anémii, poškození varlat, jater a ledvin, zvětšené klouby, šupinaté poškození kůže, snížený růst a zvýšenou úmrtnost (Neathery & Miller 1975). Toxickým účinkům kadmia může být sníženo nebo zabráněno zinkem, kobaltem, selenem nebo thio-sloučeninami (Flick et al. 1971). Mezi hlavní symptomy akutní otravy kadmiem patří nevolnost, zvracení, průjem, křeče trávicího ústrojí, bolesti hlavy a intenzivní salivace (slinění). Pokud je člověk vystaven vysoké expozici jsou uvedené příznaky následovány šokem ze ztráty tekutin, akutním selháním ledvin, plic, srdce a smrtí v průběhu 24 hodin až 14 dnů. Při perorálním podání je letální dávka pro člověka 350–8900 mg Cd. Dávka, která nevyvolá při perorálním podání žádný účinek (tzv. no-effect level) je odhadována na 3 mg Cd<sup>2+</sup> (Bencko et al. 1995).

K rozsáhlé otravě kadmiem došlo v Japonsku v údolí Jintsu. Oběti byly postiženy chorobou zvanou itai-itai, což v japonštině znamená bolí, bolí. Příznaky jsou výsledkem bolestivé osteomalacie (onemocnění kostí) v kombinaci s poruchou ledvin. Otrava kadmiem v údolí řeky Jintsu byla způsobena zavlažováním a hnojením rýže vodou, která pocházela z dolu Kamioka, kde se těžily sulfidické rudy, ze kterých se získával zinek, olovo a kadmium. Takto vypěstovaná rýže, kterou oběti zkonsumovali, v sobě obsahovala velké množství kadmia (Hall 1972).

### **3.4.2 Vliv kadmia a nano-zinku na biochemické parametry v krevním séru**

Kadmium a zinek jsou úzce příbuzné kovy s podobnými chemickými vlastnostmi. Pravděpodobně mají společnou kinetickou cestu - tj. absorpce, distribuce a vylučování z hlediska biologických účinků (Jemai et al. 2010). Oproti kadmiu je zinek nezbytným prvkem pro činnost mnoha enzymů a hormonů. Četné studie prokázaly, že léčba některými dávkami doplňku zinku u zvířat pod vlivem kadmia snižuje absorpci a akumulaci kadmia a zmírňuje některé z jeho toxických účinků. Kromě toho je zinek účinným induktorem metalothioneinů (Klassen et al. 2009).

Nano-zinek je relativně nový produkt, který se používá v mnoha komerčních výrobcích, včetně kosmetiky, produktů osobní hygieny, antibakteriálních látek, barev, textilu a potravinářských obalů. Používá se také jako přísada do potravin pro lidi a zvířata. Má také protizánětlivé účinky (Cho et al. 2011). Očekává se, že nanomateriály budou účinnější



než jejich ekvivalenty z důvodu jejich větší povrchové reaktivity a schopnosti proniknout do buněk a organismů (Xiong et al. 2011). Ionty zinku indukují syntézu metalothioneinu (MT). Ding et al. (2009) odhalili, že částice ZnO s nano velikostí jsou silnějšími induktory metalothioneinu než zinek v játrech kuřat *Arbor Acres*. Výzkum autorů Hejazy a Koohi (2017) hodnotil dopad různých velikostí a dávek nano-zinkových částic používaných výhradně anebo v kombinaci s kadmiiem na některé biochemické parametry u samic potkanů Wistar.

Kadmium (Cd), jak již bylo zmíněno, je toxická látka znečišťující a poškozující životní prostředí a zdraví při práci s hlášenými toxickými účinky na ledviny, játra, plíce, kosti a imunitní systém. Na základě své fyzikálně-chemické podobnosti s kadmiiem vykazuje zinek (Zn) ochranné účinky proti toxicitě kadmia a jeho hromadění v těle. Nano-zinek a oxid nano-zinečnatý (ZnO), ještě nedávno používaný v potravinách a farmaceutických výrobcích, může uvolňovat velké množství  $Zn^{2+}$ . Výzkum Hejazy a Koohi (2017) byl proveden za účelem zkoumání silnějších vlastností kovového zinku a subakutní intoxikací potkanů kadmiiem. Sedmdesát pět potkanů Wistar bylo umístěno do klecí v 15 skupinách. Chlorid kademnatý ( $CdCl_2$ ) byl přidán do pitné vody za účelem vyvolání toxicity kadmiiem. Různé velikosti (15, 20 a 30 nm) a dávky nanozinkových částic (3, 10, 100 mg/kg tělesné hmotnosti) byly podávány samostatně a současně s  $CdCl_2$  (2–5 mg / kg tělesné hmotnosti) po dobu 28 dní. Experimentální zvířata byla usmrcena a následně byly stanoveny biochemické parametry v jejich séru po orální expozici nano-zinkem a kadmiiem. Hematokrit (HCT je procentuální vyjádření objemu erytrocytů v jednotce krve) se významně zvýšil a doba srážení krve se významně snížila u potkanů ošetřených nanozinkem. AST (aspartátaminotransferáza), ALT (alaninaminotransferáza), triacylglycerol (TAG), celkový cholesterol (TP), LDL cholesterol a NEMK (neesterifikované mastné kyseliny) se významně zvýšily u potkanů ošetřených kadmiiem a nano-zinkem ve srovnání s kontrolní skupinou. Naopak (ALBU) albumin, celkový protein (TP) a HDL cholesterol se významně snížily u potkanů ošetřených kadmiiem a nano-zinkem ve srovnání s kontrolní skupinou. Zdá se, že při orálním podání nano-zinku jsou menší velikosti s malými dávkami a větší velikosti s vysokými dávkami toxicitější než kovový zinek. V několika případech byl také pozorován inverzní vztah závislý na dávce. Tento výzkum ukázal, že i přes větší velikosti zinku, není menší velikosti částic nano-zinku pro ochranu před intoxikací kadmiiem vhodná (Hejazy & Koohi 2017).

### 3.5 Vliv zinku (Zn)

V přírodě se zinek vyskytuje v hojném množství jako minerální prvek, ale zřídka kdy jako čistý prvek. Modravě bílým kovem je zinek v krystalické formě, který tvoří s ostatními kovy průmyslově důležité slitiny. Často využívané jsou slitiny s mědí (mosaz) a slitiny s mědí a cínem (bronz). Zinek je za normální teploty křehký, ale pokud se zahřeje na teplotu 100-150 °C pak je tažný a dá se válcovat a vytahovat na dráty. Ovšem pokud se zahřeje nad 200 °C se stane opět křehkým a jde rozetřít na prach. Patří k nejsnáze těkajícím kovům. Jako součást minerálů je obsažen v rudách. V průmyslu je zinek využíván k výrobě nekorozičních slitin, železa, galvanizaci oceli a pozinkováním drátů a železných plechů slouží k ochraně před korozí.

V gumárenství se oxid zinečnatý využívá jako zinková běloba při výrobě barev a v zemědělství slouží Zn-karbamát jako pesticid. V lékařství se při léčbě stavů spjatých s deficitem zinku podává ZnSO<sub>4</sub> (Bencko et al. 1995).

Zinek se řadí mezi těžké kovy společně s dalšími jako je měď, kadmium, olovo, rtuť, chrom, nikl, mangan, železo a také polokovy selen a arsen. Těžkými kovy jsou označovány takové kovy, které mají specifickou hmotnost vyšší než 5 g.cm<sup>-3</sup> (např. kadmium, olovo a rtuť). Zinek je také zařazován mezi stopové prvky a to jsou takové prvky, které jsou v organismu nebo v životním prostředí přítomné ve velmi nízkých koncentracích (Kafka & Punčochářová 2002).

### 3.5.1 Metabolismus zinku

#### 3.5.1.1 Vstřebávání

Zinek je vstřebáván hlavně v tenkém střevě a pouze malé množství se vstřebává v tlustém střevě a v žaludku. Uvolněný zinek může v průběhu trávení tvořit koordinační komplexy s aminokyselinami, fosfáty a dalšími organickými kyselinami. Využití zinku snižují oxaláty (silné dikarboxylové kyseliny), tanin (tríslovina) a nadbytek Cu, Fe a Cd. Při dietě bohaté na bílkoviny se Zn dobře vstřebává, kdežto přítomnost sacharidů jeho vstřebávání snižuje. Při podání Zn, se vstřebává 58-77 % dávky, ale při jeho nedostatku je vstřebávání zvýšeno. V okamžiku, kdy Zn vstoupí do buňky střevní sliznice, je vázán na bílkovinu metalothionein. Ta zajišťuje transport Zn přes střevní sliznici do krevního oběhu. Vysoký obsah Zn stimuluje syntézu metalothioneinu. Velká část Zn zůstává vázána na tuto bílkovinu a je vylučována po odloupení slizničních buněk do střevního lumenu (Ledvina et al. 2009).

#### 3.5.1.2 Transport

Nejdůležitější volná a snadno dostupná zásoba Zn v organismu je vázána na transportní plazmatické proteiny, i když představují asi jen 0,1 % z celkového množství Zn v těle. Zinek je v krvi transportován vázaný na protein albumin (60-80 %) a méně na  $\alpha$ -2-makroglobulin a transferrin. Dále je také vázán na volné aminokyseliny histidin a cystin. Zn je transportován do jater a odtud dále uvolňován do krevního oběhu. Nejrychlejší obrat Zn vykazují játra, ledviny a pankreas, méně pak svaly a erytrocyty a nejméně kosti a centrální nervový systém. 80 % Zn v krvi je obsaženo v erytrocytární karboanhydráze a Cu/Zn oxididismutáze. Krev obsahuje pětkrát více Zn než plazma (Cousins et al. 2006).

#### 3.5.1.3 Vylučování

Hlavní vylučovací cestou Zn z organismu u člověka i u experimentálních zvířat je stolice. Po perorální expozici je Zn primárně vylučován přes gastrointestinální trakt a vyloučen stolicí přibližně 70–80 % požitě dávky (Davies & Nghtingale 1975). Hlavními zdroji zinku ve stolici jsou pankreatická šťáva, žluč a transport přes krevní stěnu. Zinek je normální složkou pankreatické šťávy. Asi tři čtvrtiny Zn jsou vylučovány trávicím ústrojím a zbytek močí (Bencko et al. 1995).

### 3.5.2 Vliv zinku na organismus

Zinek je esenciální kov, který je nezbytný pro správnou funkci organismu. Podílí se na biochemických procesech, které ovlivňují imunitní odpověď organismu a působí jako neuromodulátor ve excitačních synapsích mozku. Zinek se také uplatňuje při reakci na stresující podněty. Zinek je nezbytným faktorem genové exprese a je důležitý na buněčné úrovni, při zachování integrity buněčných stěn. Ovlivňuje stárnutí organismu. V přírodě se zinek vyskytuje v hojném množství jako minerální prvek, ale zřídka kdy jako čistý prvek. V některých oblastech ovlivněných lidskou činností se jeho koncentrace zvyšují a velké množství tohoto kovu se může dostat do potravinových zásob (Sloup et al. 2017). Zinek (Zn) je jednou z nejdůležitějších živin pro zdraví zvířat. Velké množství proteinů, klíčových enzymů a transkripční faktorů jsou vázány na zinek a jejich funkčnost je na něm závislá. Zn je také zapojen do mnoha biochemických procesů, kterým je například buněčné dýchání, buněčné využití kyslíku, exprese DNA a RNA, udržování celistvosti buněčné membrány, sekvestrace volných radikálů, a ochrana před peroxidací lipidů. Lidské tělo obsahuje 1,5–2,5 g Zn, 60 % ve svalu a 30 % v kostech. Doporučená dávka zinku je 11 mg/den pro dospělé muže a 8 mg/den pro dospělé ženy (Erdman et al. 2012).

#### 3.5.2.1 Nedostatek zinku

Množství zinku v těle dospělého člověka je 2–3 g, z nichž asi 0,1 % je doplňováno. Na tomto základě a na základě odhadů biologické dostupnosti zinku jsou pro zjevně zdravé jedince vydávána dietní doporučení. Zn je spojován s mnoha fyziologickými defekty, včetně poruch kůže, anorexie, úbytku na váze, zpomalení růstu a narušení neurologického a imunitního systému. Nedostatek Zn u dětí potlačuje růst, chuť k jídlu, zrání kostí a vývoj pohlavních orgánů, což ale, může být zvráceno léčbou zinkem. Nedostatek tohoto kovu také způsobuje změny v činnosti některých enzymů. Podílí se také na údržbě střevní struktury a má zásadní vliv na funkčnost střevní imunity. Pokud je Zn v organismu nedostatek, způsobuje scvrknutí a zploštění střevních klků a tato změna v morfologii snižuje absorpci povrchové plochy a dochází tak k podstatnému snížení počtu klků. Naopak suplementace Zn vede ke zrychlení regenerace sliznice (Sun et al. 2011). Nedostatek Zn ve výživě je celosvětovým problémem. Největší riziko nedostatečného příjmu Zn stravou je v Africe, na Středním východě a na jihu Ameriky. S nedostatečným příjmem Zn je spojená proteinová energetická podvýživa (Wessells & Brown 2012). Úbytek Zn je spojen s poruchami hormonů, cytokinů (proteinů, uplatňujících se při odpovědi imunitního systému) a enzymů podílejících se na růstu a vývoji kostí. Bylo prokázáno, že nedostatečný příjem Zn u lidí i zvířat způsobuje zpomalení růstu a zpoždění zrání kostí (Sun et al. 2011).

#### 3.5.2.2 Předávkování zinkem

Předávkování Zn není možné běžnou stravou. V případech, kdy se doplňky stravy obohacené o Zn užívají ve vysokých dávkách, může být metabolismus jiných kovů narušen.

Dietní Zn má anantagonistický účinek na absorpci Cu. Zvířata, kterým bylo podáno malé množství Zn měla v těle více Cu než zvířata krmená vysokými dávkami Zn (Fisher et al. 1981). Pokud se zinek užívá v extrémně vysokých dávkách, vstřebává se ve střevech na úkor ostatních kovových iontů, a množství Cu, Fe, Co nebo Cr klesá. Pokud je užívání extrémně vysokých dávek dlouhodobé, mohou se objevit příznaky anémie (Brown et al. 2001).

### **3.5.3 Vliv zinku na poškození jater**

Role zinku při předcházení změn funkce jater a metabolismu karbohydrátů vyvolaných přítomností kadmia byla zkoumána autory studie Nakamura et al. (1983) na samicích laboratorních potkanů. Zvířata byla rozdělena do 4 skupin. Skupině I bylo do krmiva přidáno 200 mg kadmia na 1 g krmné směsi. Skupině II 200 mg Zn ve stejném poměru. Skupině III rovněž 200 mg, tentokrát však obou prvků (Zn i Cd) ve stejném poměru. Skupina IV byla jako skupina kontrolní krmena běžnou krmnou směsí. 11., 26. a 40. týden byla vždy 1/3 jedinců z každé skupiny z pokusu vyjmuta a těmto jedincům Nakamura et al. (1983) ve vzorcích krevního séra změřili hladinu aktivity ALT (alaninaminotransferáza, jaterní enzym) a ALP (alkalická fosfatáza, jaterní enzym) hodnotu glukózy a inzulínu. 26. a 40. týden hladina ALT v séru jedinců skupiny I byla významně vyšší ve srovnání s jedinci skupiny III a IV; hladina glukózy v séru jedinců skupiny I byla nižší než u jedinců ze skupiny III. 40. týden pokusu hladina inzulínu v séru jedinců skupiny I byla významně vyšší než u jedinců skupiny III. Z těchto dat Nakamura et al. (1983) usuzují, že perorálně podávaný zinek zamezuje výskytu změn jaterních funkcí vyvolaných přítomností kadmia v organismu a působí také na regulaci hladiny glukózy v krvi potkanů.

### **3.5.4 Vliv Zn na obsah glykogenu v játrech a složení krevní plazmy po zatížení organismu**

Přestože je role zinku pro fungování metabolismu dobře známa, jeho vliv na fyzický výkon nebyl dosud plně prozkoumán a vědecky formulován. Studie autorů Baltaci et al. (2003) týkající se zinku a fyzické námahy se zaměřily hlavně na jeho distribuci do tkání při odpovědi těla na fyzickou zátěž (Cordova 1992). Některé závěry hovoří o poklesu hladiny zinku v plazmě po zátěži (Khaled et al. 1999). Nižší koncentrace zinku v plazmě může dle těchto studií vést k poklesu koncentrace Zn ve svalech. Protože několik z enzymů, jež vytváří při metabolických procesech, na nichž se podílejí, energii, potřebuje jako účastníka těchto procesů právě zinek, zmíněný pokles množství zinku ve svalech vede ke snížení výdrže a výkonu (Cordova & Alvarez-Mon 1995). Tyto výsledky naznačují, že zinek může představovat stimulační faktor pro funkční změny v systémech a tkáních zapojených do vzniku svalového vyčerpání či poškození svaloviny (Cordova & Navas 1998). Leptin je hormon syntetizovaný a vylučovaný tukovou tkání. Jeho role pro energetickou rovnováhu je dobře popsána (Moschos et al. 2002). Výzkum v minulých letech prokázal, že existuje pozitivní korelace mezi množstvím zinku a množstvím leptinu v organismu (Chen et al. 2000). Ačkoliv bylo publikováno několik různorodých výsledků v této oblasti, ukazuje se, že fyzická zátěž může měnit sekreci leptinu (Fisher et al. 2001).

Cílem studie autorů Baltaci et al. (2003) bylo určit, jak množství přijímaného zinku ovlivňuje obsah glykogenu v játrech a hladinu laktátu a leptinu v plazmě potkanů, kteří bezprostředně před odebráním krevních vzorků plavali po určitou dobu ve vodě. Potkani byli rozděleni do 4 skupin po 10 jedincích. Jedinci skupiny A vykazovali nedostatek zinku v těle, jedincům skupiny B byl Zn naopak do těla dodáván. Jedinci ze skupiny C představovali první kontrolní skupinu, jež ovšem podnikla před odebráním vzorků plavecký výkon. Skupina D byla běžná kontrolní skupina. Hladina laktátu v plazmě u jedinců skupiny A (s nedostatkem Zn) byla statisticky významně vyšší než u všech ostatních skupin. Hladina laktátu ve vzorcích plazmy jedinců skupiny C (plavci) byla statisticky významně vyšší než u jedinců skupiny B. Glukóza v plazmě ve vzorcích jedinců skupiny A byla významně vyšší než u jedinců ostatních skupin a stejný parametr u skupiny B byl významně nižší než u skupiny D (kontrolní skupina). Obsah glykogenů v játrech u jedinců skupiny A byl statisticky významně nižší než u jedinců ostatních skupin. Tyto výsledky naznačují, že nedostatek zinku má negativní vliv na výše zmíněné parametry a jeho doplnění do těla má dopad zcela opačný (Baltaci et al. 2003).

### **3.5.5 Vliv Zn na jeho hodnoty v krevním séru a moči**

Zinek je esenciální prvek a účastní se na mnoha základních biochemických reakcích probíhajících ve štítné žláze. Nedostatek Zn je všeobecný zdravotní problém v rozvojových zemích, nicméně znalost problematiky vlivu zinku na funkci štítné žlázy byla dosud jen omezená. Zinek je nutný k zajištění správné funkce 1,5'-dejodázy, enzymu potřebného k přeměně hormonu thyroxinu na aktivnější formu trijodthyronin (Maxwell & Volpe 2007).

Výzkum Wady a Kinga (1986) jako první pojmenoval vztah mezi hladinou Zn v těle a hladinou hormonů štítné žlázy a vliv doplňování Zn do stravy na funkci těchto hormonů. Popsali významný pokles hladiny volného trijodthyroninu (fT3) a volného thyroxinu (fT4) u pacientů se strumou u obou pohlaví, u nichž byl předtím zaznamenán nedostatek Zn v těle. Proto se tedy může (nedostatečné) množství přijatého zinku označit jako faktor ovlivňující pokles hladiny hormonů štítné žlázy u pacientů se strumou (Wada & King 1986).

Z nedávných výzkumů vyplývá, že špatná funkce štítné žlázy je druhé nejběžnější onemocnění žláz s vnitřní sekrecí u lidí i zvířat. Dobrý stav štítné žlázy je dán přítomností mnoha stopových prvků umožňujících jak syntézu, tak metabolismus hormonů tohoto orgánu (Nazifi et al. 2009). Vedle jódu se i několik dalších mikronutrientů (Olivieri et al. 1996) podílí na metabolismu tyroxinu a trijodthyroninu, ovšem jen malé množství studií se zaměřilo na výzkum možnosti, že deficit marginálního mikronutrientu může vysvětlovat negativní změny funkce štítné žlázy, ke kterým dochází u starších lidí (Fabris 1994). Role Zinku na fungování štítné žlázy není zcela objasněna, ovšem jeho nedostatek nebo naopak přemíra ve stravě může prokazatelně nepříznivě ovlivnit metabolismus hormonů štítné žlázy (Arthur & Beckett 1995). Prokázán byl rovněž vliv nedostatku zinku na vytváření strumy (Hampel et al. 1997).

Je známo několik typů hormonů, jež působí na metabolismus zinku z pohledu fyziologického a biochemického (Prasad 1998). Bylo již prokázáno, že z pohledu interakce se zinkem jsou nejdůležitějšími z nich hormony, které produkuje štítná žláza (Freake et al.

2001). Vady růstu štítné žlázy a jiné endokrinologické nedostatečnosti způsobuje právě nedostatek zinku (Brown 2003). Interakce zinku a hormonů štítné žlázy byla zkoumána (Aihara et al. 1984) a nedostatek zinku byl popsán jako stimulant vzniku strumy (Kralik et al. 1996).

Podle všech informací, které jsou k dispozici, nebyla dosud prezentována žádná studie zabývající se výzkumem koncentrace zinku u pacientů a patientek s onemocněním štítné žlázy v Pákistánu. V této zemi, stejně jako v dalších rozvojových zemích je podvýživa velkým problémem a nedostatek základních mikronutrientů (jódu, zinku, železa) je zcela běžným jevem jak ve venkovské, tak v městské populaci. V těchto populacích je tedy zaznamenán velice častý výskyt různých fyziologických poruch (Afridi et al. 2005).

Autoři studie Kandhro et al. (2009) zkoumali přítomnost zinku v odebraných biologických vzorcích a hodnoty hormonů štítné žlázy u 60 pacientů a 72 patientek se strumou, kterým byl po 6 měsících doplňován zinek do výživy (5 dní v týdnu, 30 mg za den) a následně tyto hodnoty srovnat s jedinci, kteří touto vadou štítné žlázy netrpí (kontrolní vzorek 106 mužů a 120 žen mezi 16 a 30 lety). Určení hladiny zinku ve tkáních a tělních tekutinách bývá využíváno jak pro získání informací o zdravotním stavu z hlediska kvality výživy, tak při diagnóze nemocí. Dále se může tímto způsobem odhalit případná intoxikace organismu nebo určení míry zamoření prostředí, ve kterém se zkoumaný subjekt pohybuje (Brettell et al. 2005). Aby Kandhro et al. (2009) mohli stopové prvky v těle odhalit, potřebovali velmi citlivé přístroje jako je např. atomový absorpční spektrometr.

Výsledky ukázaly významný pokles průměrné hodnoty Zn v krevním séru, a naopak jeho zvýšení ve vzorcích moči jak u pacientů, tak u patientek ve srovnání s kontrolní skupinou. U pacientů se strumou u obou pohlaví byly nalezeny nižší průměrné hodnoty volného trijodthyroninu a tyroxinu než u zdravých zástupců kontrolní skupiny stejného věku. To stojí u zkoumané skupiny v kontrastu s naměřením vyšších průměrných hodnot hormonů, které funkce štítné žlázy stimulují. Patogeneze strumy lze dle závěrů výzkumu spojovat se změnami v rovnováze základních stopových prvků, zejména zinku v krevním séru a moči. Pokles zinku v séru a zvýšení jeho hladiny v moči spolu se zhoršením stavu štítné žlázy u pacientů se strumou mohou vést ke zhoršení procesu metabolismu některých látek řízeného tímto orgánem (Kandhro et al. 2009). Nižší hodnoty zinku v séru a vyšší hodnoty zinku v moči mohou odrážet sníženou schopnost organismu absorbovat zinek, a to zejména u pacientů se sníženou funkcí štítné žlázy, kteří potřebují ke zdárnému prospívání přijímat zinek ve výživě v dodatečném množství. Korelace množství zinku v séru a v moči byla u pacientů obou pohlaví při srovnání s dalšími biologickými parametry vzorků vyšší s přítomností volného thyroidu (fT4). Pokud by se tedy zahrnula čistě pouze hypofunkce štítné žlázy (s vyloučením ostatních poruch) může se konstatovat, že přítomnost trijodthyroninu (fT3), thyroxinu (fT4) a TSH (thyreotropin hormonu) v séru je spolehlivým ukazatelem nedostatku zinku. Po 6 měsících podávání speciální výživy obsahující zinek měli pacienti s hypofunkcí štítné žlázy stále nižší hodnoty zinku v porovnání s kontrolní skupinou. Bylo pozorováno, že stav hodnot Zn a hormonů produkovaných štítnou žlázou se u pacientů se strumou po doplnění zinku do stravy (šestiměsíční výživový režim) zlepšil (Kandhro et al. 2009).

### 3.5.6 Mléčnan zinečnatý

Produkty látkové přeměny, metabolity i cizorodé látky (xenobiotika) jsou v těle transportovány zejména krví. Interakce různých kovových sloučenin s biologickými systémy je velice důležitá pro fungování organismu. Laktát zinečnatý nebo též mléčnan zinečnatý je forma zinku, která je nejnáze stravitelná v trávicím ústrojí. Mléčnan zinečnatý je lidským organismem i organismem zvířat dobře přijímán a je proto využíván při výrobě potravinových doplňků a v kosmetice (Sloup et al. 2016). Laktáty vznikají při procesu anaerobní glykolýzy. Jsou také startovací látkou zpětného procesu přeměny v glukózu, tzv. glukogeneze. Zvýšené dávky laktátu v krmivu podporují formování glukózy v játrech (Coriho cyklus). Laktát produkovaný anaerobní glykolýzou je při tomto metabolickém procesu krví dopraven ze svalů do jater, kde je složitě přeměněn zpět na glukózu. Ta se vrací krví zpět do svalů, kde je, zjednodušeně řečeno, metabolizován zpět na laktát (Nelson & Cox 2005).

Biologická dostupnost mléčnanu zinečnatého byla zkoumána autory studie Yang et al. (1994). Snažili se porovnat biodostupnost mléčnanu zinečnatého a glukonátu zinečnatého (používající se také jako doplněk stravy). Výzkum provedli na potkanech, kteří byli rozděleni do šesti skupin. První tři skupiny byly krmeny dietní potravou s obsahem 20, 40 a 80 mg/kg mléčnanu zinečnatého. Další 3 skupiny byly krmeny stejně, ale místo mléčnanu zinečnatého dostávali glukonát zinečnatý. Všechna zvířata byla usmrcena po čtyřech týdnech krmení a následně byl stanoven obsah zinku v krevním séru, játrech a kostech. Výsledky ukázaly, že mléčnan zinečnatý měl mnohem vyšší relativní biologickou dostupnost, než glukonát zinečnatý pravděpodobně kvůli jeho menší molekulové hmotnosti (Yang et al 1994).

Kolektiv autorů studie Sloup et al. (2016) se snažil zjistit a pojmenovat možné změny vybraných chemických hodnot po podávání vysokých dávek mléčnanu zinku, běžně užívaného v lidských potravinových doplňcích, na experimentální skupině laboratorních potkanů (*Rattus norvegicus* var. *alba*) a poukázat na možné účinky předávkování doplňovaným zinkem u savců. Autoři studie Sloup et al. (2016) předpokládali, že předávkování Zn ve formě per orálního podávání laktátu zinečnatého vede k nerovnováze glukózy a dalších biochemických hodnot v krevním séru. Pokus byl prováděn na 18 laboratorních potkanech po dobu šesti týdnů. Dvanácti zvířatům (pokusná skupin) byl přidáván do krmiva laktát zinečnatý (120 mg/1, potkan/1 týden). Kontrolní skupina o šesti potkanech (kontrolní skupina) byla krmena běžnou krmnou směsí pro potkany (ST-1). V krevních vzorcích odebraných během pokusu těmto zvířatům bylo měřeno šestnáct biochemických hodnot: celková bílkovina, albumin, močovina, glukóza, triacylglyceroly, neesterifikované mastné kyseliny, cholesterol, kreatinin, alkalická fosfatáza, aspartátaminotransferáza, kyselina močová, hořčík, vápník, fosfor a stopové prvky železo a zinek. V porovnání s kontrolní skupinou byly u potkanů, kterým byl podáván laktát zinečnatý, v krevních vzorcích zjištěny zvýšené hodnoty glukózy, kyseliny močové, močoviny, železa, hořčíku, vápníku, triacylglycerolů, celkové bílkoviny, albuminu a alkalické fosfatázy. Hodnoty aspartátaminotransferázy, neesterifikovaných mastných kyselin, cholesterolu, kreatininu, fosforu a zinku byly oproti kontrolní skupině naopak nižší. Statisticky významné

rozdíly mezi hodnotami naměřenými u zkoumaných skupin zvířat byly zjištěny pouze v koncentraci glukózy, aspartátaminotransferázy, alkalické fosfatázy, kyseliny močové a fosforu. Výzkum odhalil statisticky významné rozdíly v koncentracích glukózy, aspartátaminotransferázy, alkalické fosfatázy, triacylglycerolu a fosforu mezi potkany pokusné skupiny, jimž byl laktát zinečnatý podáván v potravě a kontrolní skupinou potkanů vyživovaných běžným krmivem. Vyšší dávky laktátu zinečnatého zásadně zvýšily hladinu glukózy, alkalické fosfatázy a triacylglycerolu, zatímco zásadně snížily hladinu aspartátaminotransferázy a fosforu (Sloup et al. 2016).

### 3.6 Vliv rostlinných extraktů na složení krevního séra

#### 3.6.1 Vliv petržele zahradní (*Petroselinum crispum*)

Petržel je světle zelená dvouletka z čeledi miříkovitých. Původem ze Středomoří se postupně rozšířila do celé Evropy, Afriky a Asie. Je běžně využívána jako příloha do polévek, salátů, k masu a do omáček (Maria 2006). Lidé její listy, kořeny a semínka používají v domácí medicíně jako příměs do klystýru, jako čajový odvar k pití, k redukci vysokého krevního tlaku a jako posilující prostředek funkce močového měchýře (Steve 2000). Například v ajurvédě je petržel užívána k zastavení krvácení z nosu, při léčbě hematomů, jako náprava pigmentových skvrn a jiných poruch pokožky, při zápachu z úst, při bolesti uší a otitidě (zánět středního ucha), k vyvolání menstruace i k utišení bolestí jí doprovázejících. Myristicin a apiol, které rostlina obsahuje, pomáhají zvýšit hladinu estragonu v těle, což prospívá při menopauze. Větší množství však může způsobit zvýšenou kontrakci děložního svalstva, proto může být petržel nebezpečná pro těhotné ženy; požití 10 kapek některých olejních výtažků petržele způsobuje potrat. Petržel se také používá jako prostředek k zastavení nadměrné laktace (Awe & Banjoko 2013).

Užívat petržel se nedoporučuje při onemocnění ledvin a srdce, protože v těle zadržuje vodu. Protizánětlivé vlastnosti a příznivý vliv na imunitní systém člověka však lidé využívají při zánětech močových cest, nefritidě, k léčbě cyst a při prevenci tvorby ledvinových kamenů. V domácí medicíně se petržel využívá při léčbě obezity a jako tišící prostředek svědění hmyzího štípnutí. Petržel zvyšuje denní objem vyloučené moči, protože svým složením zastavuje činnost sodno-draselné pumpy (rovněž nazývaná „Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup> ATPáza“) v ledvinách, čímž dochází k vstřebávání draslíku a k zvýšenému vylučování sodíku a vody z těla (Kreydiyyeh & Usta 2002).

Podíváme-li se na výsledky výzkumu interakce mezi průmyslovými léčivy a bylinnými léčivy, uvidíme, že u petržele je známa kontraindikace vůči účinné látce warfarinu (obsažen ve značce léku Coumadin), což je způsobeno jejím vysokým obsahem vitamínu K. Užívání petržele při diuréze (vylučování moči) je rovněž kontraindikací, petržel diurézu, jak je výše uvedeno, umocňuje a pacientovi hrozí nebezpečné odvodnění. Petržel by neměli požívat ani pacienti, kteří aktuálně berou aspirin a léky jej obsahující, protože vzniká riziko alergické reakce (Awe & Banjoko 2013). Přítomnost myristicinu v petrželi, který působí jako narkotikum ovlivňující centrální nervový systém, omezuje její požívání u pacientů, kteří užívají opioidy, hrozilo by nebezpečí křečí a serotoninového syndromu (Jakovljvic et al. 2002). Je také na místě



zmínit, že požití petržele je velice nebezpečné pro domácí zvířata, například pro koně, kočky a psy, protože jim v petrželi obsažený furokumarin způsobuje fotosenzitivní vředovité a mokravé povrchové reakce na kůži a napadá také oči. Reakce bývají tak závažné, že se neobejdou bez návštěvy zvěrolékaře (Awe & Banjoko 2013).

Při využití petržele například v kuchyni nebo v bylinné léčbě je nutné dbát zvýšenou opatrnost na to, kde byla konkrétní rostlina vypěstována. U petržele pěstované v půdě zamořené neupravenou odpadní vodou bylo prokázáno, že velice dobře absorbuje a udržuje těžké kovy, což z ní dělá jejich potenciální zdroj pro konzumenty (Keser & Buyuk 2012).

Petržel je velice dobrým zdrojem železa, vápníku, fosforitých sloučenin a antioxidantů, jakými jsou například luteolin, Vitamin C vitamín A a zinek (Popovic et al. 2007). Tyto antioxidanty zřejmě z petržele dělají dobrý prostředek na péči o játra i jejich léčbu. Vedle této synergické podpory funkce jater je dle jedné ze studií ale třeba dávat pozor na možné negativní protichůdné účinky při spolupůsobení látek obsažených v petrželi s tetrachlormetanem (CCl<sub>4</sub>) na játra savců (Nehal & Belal 2011).

Zatímco pokusy s petrželí provedené v oblasti fytochemie a farmakologie přinesly dosud nejednotné výsledky týkající se jejich hepatotoxických účinků a pokusy využívající k měření hepatotoxicity biochemické a hematologické parametry nejsou dosud dostupné. Studie autorů Awe & Banjoko (2013) vyhodnocuje míru toxicity petržele na ledviny a játra konzumenta a využívá k tomuto vyhodnocení analýzu právě jak biochemických, tak hematologických parametrů. Zmíněný extrakt způsobuje značný nárůst aktivity alaninaminotransferázy (ALT) a hodnot dusíku močoviny v krvi při dávkách 100 mg/kg. Při nižších dávkách nebyly žádné další biochemické a hematologické parametry ovlivněny. Váha jater nebyla nijak ovlivněna ani po 8 týdnech trvajícím přísunu dávek podávaných ve výši dle protokolu pokusu. Při pitvě těl zkoumaných zvířat vystaveným nižším dávkám toxické potravy nenalezli žádné změny struktury tkáně orgánů. U skupiny vystavené dávkám  $\geq 1000$  mg/kg pozorovali zánětlivé změny a nekrózu tkáně. Awe & Banjoko (2013), se zaměřili na zhodnocení míry toxicity lihového extraktu listů této rostliny při využití porovnání některých biochemických a hematologických parametrů. Výsledky studie ukázaly, že lihový extrakt listů petržele zahradí je hepatotoxický a nefrotoxický (poškozuje játra a ledviny) při ústně podávaných dávkách dlouhodobě přesahujících 1000 mg/kg. Při nižších dávkách nebyla zjištěna žádná zásadní toxicita přípravku. Při zacházení s výtažky této rostliny je tedy třeba obezřetnosti, je nutné vyhnout se předávkování a hlídat dosud zjištěné kontraindikace přípravku vůči některým jiným léčivům. Rostlina by navíc měla být držena mimo dosah domácích zvířat a neměli bychom ji pěstovat v půdě znečištěné odpadními vodami, protože rostlina umí velice dobře akumulovat toxické látky (Awe & Banjoko 2013).

### **3.6.2 Vliv máty klasnaté (*Mentha spicata*)**

Přidávání antibiotik do krmiva drůbeže je zakázáno. Jako alternativa se v poslední době v průmyslovém chovu objevuje využívání léčivých rostlin s účinnými látkami jako fyto-genního aditiva krmných směsí (Castanon 2007). Tyto látky souhrnně někdy nazývané fyto-biotika,

či rostlinné výtažky, jsou z pohledu biochemika sekundárními metabolity, které mají následně (např. po požití) pozitivní vliv na zdraví a produktivitu zvířete (Windisch et al. 2008).

Ačkoliv mnoho in vitro pokusů potvrdilo antimikrobiální účinky rostlinných olejů a výtažků (Hussain et al. 2010), znalosti o tom, jakým způsobem tyto procesy fungují a jak se dají uplatnit při chovu drůbeže, jsou omezeny. Tyto fyto-genetické činitele mají zejména svými čtyřmi funkčními složkami stimulační i tlumící účinky na aktivitu mikrobů v organismu a na endogenní sekreci gastrointestinálního traktu. Mezi tyto složky patří alkaloidy (známo více než 10 000 druhů jejich sloučenin), fenolické sloučeniny, terpenoidy (rovněž známo více než 10 000 druhů jejich sloučenin) a triterpenoidní saponiny (Yang et al. 2009).

Léčivá rostlina máta klasnatá obsahuje esenciální oleje s antimikrobiálními a antioxidačními vlastnostmi (Hussain et al. 2010), jejichž konečné účinky jsou připisovány přítomnosti terpenoidů jako např. monoterpenů (Younis et Beshir 2004). Hlavními zástupci oksyložených monoterpenů v mátě klasnaté jsou karvon, karveol ve formě cis (-) a limonen, tvořící více než 80 % celkového obsahu esenciálních olejů v mátě klasnaté (Hussain et al. 2010).

Esenciální oleje rostlinných výtažků jsou hydrofobní molekuly, které mohou mít významný dopad na aktivitu mikrobů v těle tím, že mění propustnost buněčné membrány (Burt 2004). V tomto ohledu bylo již potvrzeno, že gramnegativní bakterie jsou citlivější na přítomnost a působení esenciálních olejů než grampozitivní bakterie. Hussain et al. (2010) nicméně ukázali, že grampozitivní bakterie, např. *Staphylococcus aureus* a *Bacillus subtilis* jsou na působení esenciálních olejů citlivější než gramnegativní bakterie jako např. než *Escherichia coli* a *Pasteurella multocida*. Ačkoliv tyto bioaktivní substance z výtažků rostlin mohou zlepšovat výživnost krmiva a podporovat růst u ptáků, musíme pamatovat na to, že některé z nich drůbeži neprospívají a kvůli obsahu jedovatých látek mohou být přímo škodlivé (Wallace et al. 2010). V posledních letech rozsáhlé in vitro výzkumy ukázaly antimikrobiální a antioxidační vlastnosti výtažků z léčivých rostlin. Pokusy ověřující tyto výsledky in vivo, tedy přímo na živých organismech, jsou stále nepočtené. Studie autorů Ghazaghi et al. (2014) posuzuje účinky bylinného prášku máty klasnaté na prospívání, na parametry krevního obrazu, na mikrobiální faunu ileu tenkého střeva a na rovnováhu antioxidantů a oxidantů v mase (svalovině) v chovu křepelky japonské.

Ghazaghi et al. (2014) se v pokusu zaměřili na zhodnocení účinku podávání máty klasnaté (*Mentha spicata*) na růst, vývin kostry, krevní hodnoty, antimikrobiální aktivitu vnitřních orgánů (střev) a na kvalitu masa v chovu křepelky japonské. Tři sta jedinců sedm dní starých křepelčích kuřat bylo krmeno pěti různými pokusnými krmnými směsmi s různým obsahem máty klasnaté (0 %, 1 %, 2 %, 3 % a 4 % obsahu směsi) až do 35. dne jejich života. Provedení statistické analýzy ukázalo, že konverzní poměr krmiva nebyl přidáním máty do směsi nijak zásadně ovlivněn. Statistický významný vliv příměsí máty v různém poměru k základní složce krmiva bylo však zaznamenáno mezi 7. a 14., 7. až 21 a 7 až 28. dnem života u parametrů nárůstu tělesné hmotnosti a množství přijaté potravy). V počátečním stádiu pokusu zapříčinily vyšší dávky máty klasnaté u chovaných křepelk významný pokles těchto parametrů. V rámci celého experimentu nebyly zaznamenány žádné významné vlivy na růst a vývin kostry. Sušená máta klasnatá svým hypocholesterolemickým účinkem ovlivnila složení

látek v krevním séru. Provedení regresní analýzy odhalilo, že nejnižší hladiny cholesterolu u sledovaných jedinců může být dosaženo, krmíme-li je směsí obsahující 1,17 % máty klasnaté. Významné změny a rozdíly v hodnotách proteinových složek v krevním séru (tzn. hodnoty celkové bílkoviny, vč. např. albuminu) Ghazaghi et al. (2014) nezaznamenali. Antioxidační účinek plátků masa se v porovnání s kontrolní skupinou (0 % máty v krmivu) zvýšil u skupiny křepelek krmených směsí obsahující (1 % a 2 % máty klasnaté). Oxidativní stabilita (rovnováha mezi antioxidanty a oxidanty) je ale spíše přítomna ve svalovině stehen v porovnání se svalovinou prsou. Závěrem Ghazaghi et al. (2014) konstatují, že lepší kvality masa a zlepšených hodnot krevního obrazu se dosahuje v chovu křepelek japonských při podávání menšího množství sušené máty klasnaté v krmivu. Větší dávky této rostliny mohou u kuřat těchto ptáků pomoci vylepšit mikrobiální ekosystém tenkého střeva.

### 3.6.3 Vliv kotvice japonské (*Trapa japonica*)

Cukrovka je civilizační choroba spojená s životním stylem, často se objevuje již u střední a mladé generace. Počet lidí s tímto onemocněním každým rokem stoupá. Za hlavní faktory způsobující diabetes jsou považovány dědičné dispozice a vliv vnějšího prostředí, zejména stravy obsahující nadměrné množství cukru (Symonds 2009). Trávením škrob a cukr degradují působením enzymů alfa-amylázy a alfa-glukosidázy na monosacharidy, které jsou z tenkého střeva tělem absorbovány a využívány jako energie pohánějící metabolismus. Diabetes a prediabetické stavy se odrážejí na vysoké hladině cukru v krvi (vysoká glykémie), což může způsobit zdravotní komplikace, například retinopatii, nefropatii nebo neuropatii (Forbes & Cooper 2013). Proto musí být u pacientů s cukrovkou regulována hladina cukrů v krvi. Mnoho studií již prokázalo, že některé potraviny a přírodní produkty pomáhají tuto hladinu regulovat. Je známo, že mezi látky, jež napomáhají hladinu cukru snižovat, patří katechin obsažený v zeleném čaji (Matsumoto et al. 1993), polyfenoly v listech tomelu japonského (Kawakami et al. 2010), polyfenoly obsažené v extraktu z jablečného listu (Shirosaki et al. 2012) a v extraktu ze slupky ostnaté tobolek jedlého kaštanu (Tsujiita & Takaku 2008).

Vodní ořech je jednoletka divoce rostoucí na řekách, rybnících, jezerech, v bažinách a potocích Asie a Evropy. Její trnitá semínka přezimují na dně, na jaře vyraší a plodí pak na podzim. Rostliny tohoto rodu prospívají vodnímu prostředí, čistí vodu a potlačují vymývání výživných solí fosforu a dusíku. V asijské kuchyni se jejich plody upravují vařením ve vodě či nad párou, chutí se podobají jedlým kaštanům. Známe mnoho druhů této rostliny: *Trapa japonica*, čínskou variantu *Trapa bicornis*, ďábelský vodní ořech *Trapa natans* v česku známý jako kotvice plovoucí, princeznin vodní ořech *Trapa incisa* a mnoho dalších variet, jež se přirozeně kříží (Suriyagoda et al. 2007).

Plody vodních ořechů obsahují velké množství škrobu (Hizukuri et al. 1988) a jsou tak jako potravina využívány po uvaření, nebo k destilaci alkoholu. Obsahují také mnoho vlákniny (Wang et al. 2009). Ačkoliv je vodní ořech již dlouho využíván v čínské medicíně, o jeho fyziologických účincích a o složení aktivních látek v něm obsažených se toho ví málo. Pro výzkum autorů Yasuda et al. (2014) byla použita slupka plodu, jež se při zpracování

většinou nevyužívá a vyhazuje se. V tom spočívají dvě potenciální výhody: šetrnost k životnímu prostředí při využití odpadu a možnost zvýšit ekonomickou hodnotu plodiny, což může stimulovat místní ekonomiku. Yasuda et al. (2014) se zaměřili na výzkum a popis účinku polyfenolů obsažených ve slupce druhu *Trapa japonica*. In vitro proběhlo ověření jejich účinku na glykolitické enzymy. In vivo pak proběhlo na pokusných myších ověření vlivu těchto polyfenolů na hladinu cukru v krvi.

Kotvice, lidově vodní ořechy, jsou jednoleté vodní rostliny vyskytující se v Asii a v Evropě. Tradičně se jich využívá v kuchyni pro běžnou úpravu jako potraviny i jako léčivých rostlin, nicméně o účinných látkách těchto rostlin a jejich fyziologických účincích toho mnoho není známo. Při pokusu autorů Yosuda et al (2014) extrahovali polyfenoly ze slupky plodu druhu *Trapa japonica* a popsali jejich účinky na hladinu cukru v krvi (glykémii). V extraktu byly přítomny zejména tři hydrolitické polyfenoly (WCP). Tyto polyfenoly jsou podle pozorování autorů Yosuda et al. (2014) aktivní jako inhibitory činnosti enzymů alfa-amylázy (AMS; štěpí polysacharidy např. škroby) a alfa-glukosidázy (vstřebává glukózu). Zatímco epigalokatechin galát (EGCG) v zeleném čaji aktivitu alfa-amylázy nesnižuje, WCP ji snižují o více než 80 % při 0,1 mg/ml. Řízené podávání 40 mg/kg WCP laboratorním potkanům u nich významně snížilo, jak prokázaly testy tolerance glukózy, hodnoty cukrů v krvi a hodnoty inzulínu v séru. WCP prokazují vysoce antioxidantní účinky a současně, na rozdíl např. od antioxidantů zeleného čaje (EGCG) inhibují (tlumí) aktivitu glykolytických enzymů, například aktivitu alfa-amylázy. U zkoumaných laboratorních potkanů podání surových hydrolitických polyfenolů WCP (40 mg/kg) významně snížilo glykémii a hladinu inzulínu v séru. Schopnost redukovat sekreci inzulínu je ojedinělým rysem, jež nevidíme ani u zmiňovaných katechinů v zeleném čaji. Protože WCP inhibují zvyšování krevních cukrů a redukují sekreci inzulínu, mohly by se stát velice prospěšnými potravinovými aditivami, efektivně napomáhajícími zvládnout průběh *diabetes mellitus* druhého typu (Yosuda et al. 2014).

### 3.7 Huseníček Hallerův (*Arabidopsis halleri*)

Huseníček Hallerův (*Arabidopsis halleri* nebo též *Cardaminopsis halleri*) je nižší vytrvalá bylina s nadzemními výběžky a obvyklou výškou až kolem 50 cm. Vyskytuje se v horách a pahorkatinách střední Evropy, především v Karpatech, Alpách, pohořích ČR, Německa, na severu Balkánského poloostrova a v Apeninách. Je to původní druh na našem území roste ve všech pohraničních horách, na Křivoklátsku a v kaňonovitých údolích některých řek, kterými je splavován až do nížin. Stanovištěm *A. halleri* jsou vlhké louky a prameniště, okolí potoků a řek a vlhké okraje cest a železnic. Vyhledává kyselé půdy a může růst i na světlých místech v lesích, zejména v olšínách. Jeho výskyt vypovídá o přítomnosti dlouhodobě otevřených míst v krajině např. dno Macochy nebo kaňony řek. Kdežto v pohořích, kde je trvalé zalesnění, jako jsou Beskydy nebo Šumava, dosud téměř neroste (Rybka 2015).

Některé rostliny, včetně *Arabidopsis halleri*, mohou tolerovat nebo dokonce akumulovat velmi vysoké koncentrace kadmia a zinku. Tyto rostliny jsou známé jako hyperakumulátory a mohou výrazně urychlit zavedení toxických prvků vázaných

na zeminu do potravinového řetězce. Kromě toho lze tyto druhy použít také ve fytořemediaci a monitorování těžkých kovů v životním prostředí (Zhenli et al. 2005)

Termín „hyperakumulátor“ původně používal Brooks et al. (1977) k popisu rostlin, které mohou akumulovat více než  $1000\mu\text{g Ni g}^{-1}$  suchých listů. Přibližně 400 taxonů suchozemských rostlin, patřících do 45 čeledí, bylo dosud identifikováno jako hyperakumulátor různých těžkých kovů (Baker et al. 2000).

Bylo prokázáno, že *A.halleri* akumuluje více zinku, než kadmia (Zhao et al. 2016). V listech *A. halleri* je Zn vázán hlavně na malát nebo jiné organické kyseliny. Cd se také váže na organické kyseliny, složky buněčných stěn a v menší míře na molekuly thiolu (Sarret et al. 2002). Dříve publikované práce naznačují, že kovy v rostlinách se snáze vstřebávají než kovy v anorganických formách, které se uměle přidávají do krmiv pro zvířata (Čadková et al. 2013).

### 3.8 Tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*)

Tasemnice krysí (*Hymenolepis diminuta*) je běžný parazit potkanů, krys, myší a ojediněle i lidí (Kalaivani et al.2014). Patří do řádu Cyclophyllidea. Jedná se o nejpočetnější řád tasemnic parazitujících u obojživelníků, plazů a především u ptáků a savců včetně člověka. *H. diminuta* je kosmopolitně rozšířená a velmi často se používá jako experimentální model a to díky snadnému chovu potměnků z rodu *Tribolium* jako hostitelů a definitivních hostitelů potkanů. Využívá dvouhostitelský cyklus, při kterém využívá hmyz jako mezihostitele, zvláště blechy a brouky a jako definitivní hostitelé slouží hlodavci (krysy, potkani), ale i člověk. K nákaze dojde po požití infikovaného mezihostitele (Volf & Horák 2007).

#### 3.8.1 Stavba těla

Tasemnice krysí (*H. diminuta*) je dlouhá asi 60 cm, výjimečně až 90 cm. Na rozdíl od jiných tasemnic jí chybí rostelární háčky na hlavičce (scolexu), kterými by zraňovala hostitele. Má dlouhé válcové tělo se 4 sacími stroji a apikálním orgánem v jeho skeletu bez rostelárních háčků. *H. diminuta* postrádá jakoukoli stopu zažívacího traktu a prostřednictvím vnějšího obalu (tegument) absorbuje všechny potřebné látky. Tělo tasemnice tvoří skolex (hlavička) a segmentovaná strobila (tělo). Na skolexu jsou umístěny přichycovací orgány, které jsou velmi nápadné. Velká část tasemnic patřící do řádu Cyclophyllidea má terminálně uložený zasunovatelný chobotek (rostellum). Tělo je tvořeno jednotlivými články, které fungují jako samostatné reprodukční jednotky. Přítomnost mikrotrichů (přeměněné mikroklky), které jsou přikryty glykolaxem jsou typickým znakem, povrchu těla tasemnic. Jelikož tasemnice nemají střeva je povrchové syncitium hlavním místem příjmu živin (Volf & Horák. 2007, Pappas 2000).

### 3.8.2 Rozmnožování

Tasemnice jsou až na výjimku hermafroditi, a tak je v každém článku samčí i samičí reprodukční soustava. K oplození dochází nejčastěji mezi dvěma tasemnicemi anebo mezi články na stejné strobile neboli těle (u velkých druhů tasemnic, které jsou ve střevě samotné). Vajíčka se do vnějšího prostředí dostávají se stolicí definitivního hostitele, a to buď izolovaně po opuštění článku uterinním pórem, nebo uvnitř jednoho či několika článků. První larva tzv. lykofora se vytváří ve vajíčku v mateřském organismu, nebo až ve vnějším prostředí. Larvy druhého, případně třetího stádia jsou v mezihostitelích označovány jako cysticerkoidy. Dospělé tasemnice žijí v trávicí soustavě definitivních hostitelů a přenos mezi nimi se většinou realizuje perorálně. Larvy tasemnic mohou významně ovlivňovat chování mezihostitelů, jejich metabolismus a hormonální regulaci. Některé tasemnice mohou dokonce omezovat pohyb a únikové reakce hostitelů (Volf & Horák. 2007).

Jakmile je dospělá tasemnice (*H. diminuta*) uchycena v hostiteli, může produkovat více než 250 000 vajíček denně. V období mírně přesahujícím jeden rok by tedy jediná tasemnice mohla vyprodukovat sto milionů vajíček a kdyby všechna tato vajíčka dosáhla zralosti, bylo by to rovno 20 tunám tkání tasemnice. Existuje velmi nízká šance, že každé vajíčko dosáhne reprodukční zralosti, a proto *H. diminuta* klade tolik vajíček (Pappas et al. 1999).

### 3.8.3 Schopnost akumulace těžkých kovů

Je dokázáno, že gastrointestinální helminti dokážou absorbovat některé těžké kovy a škodlivé prvky ze střev svých hostitelů (de Buron et al. 2009). Zejména se jedná o dospělé jedince tasemnic (Cestoda) a vrtějšů (Acanthocephala), kteří dokážou akumulovat tyto prvky ve větší míře, než tkáň jejich hostitele (Jirsa et al. 2008). Tasemnice mohou akumulovat značné množství některých kovů a snižovat jejich koncentrace v hostitelských tkáních (Sures et al. 2002).

Jankovská et al. (2016) zkoumali účinky rostlinného vázaného zinku (Zn) a kadmia (Cd) na absorpci prvků a jejich interakce v systému parazit-hostitel, které byly zkoumány pomocí modelového experimentu. Samci potkanů Wistar byli rozděleni do čtyř skupin (C, P, TC a TP). Skupiny TC a TP byly infikovány tasemnicí krysí (*Hymenolepis diminuta*). Skupiny C a TC byly krmeny standardní směsí hlodavců (ST-1) a dostávaly 10,5 mg Zn za týden, zatímco skupiny P a TP byly krmeny směsí doplněnou Zn/Cd hyperakumulační rostlinou *Arabidopsis halleri* v dávce 236 mg Zn/týden a 3,0 mg Cd/týden. Potkani byli usmrceni po 6 týdnech a hladiny Cd a Zn byly stanoveny v tkáních potkanů a tasemnic. Výsledky ukazují, že přítomnost tasemnice měla vliv na koncentrace Cd a Zn v hostitelské tkáni. Většina tkání u infikovaných potkanů měla statisticky významně nižší koncentrace Zn a Cd než neinfikovaní potkani. Tasemnice nahromadily více zinku a kadmia než většina hostitelských tkání. Toto důležité zjištění potvrzuje schopnost tasemnic akumulovat určité prvky (těžké kovy) z hostitelského těla do svého vlastního těla. Tasemnice tedy mohou snížit koncentrace těžkých kovů v hostitelských tkáních a díky schopnosti akumulovat škodlivé látky z těla hostitele, jsou tasemnice slibným modelem pro využití v helmintové terapii (Jankovská et al. 2016).

Parazitní helminti se vyvinuli společně s imunitním systémem savců v průběhu mnoha tisíciletí a jako takoví se stali pozoruhodně účinnými modulátory, aby podpořili své vlastní přežití. Jejich schopnost měnit, anebo potlačovat imunitní odpovědi by mohla být pro hostitele prospěšná tím, že by pomohla kontrolovat nadměrné zánětlivé reakce. Předklinické studie naznačily příznivý účinek infekce střevními červy na zánětlivé střevní onemocnění, astma a atopii. Terapie helminty byla navržena jako možný způsob léčby autoimunitních a jiných zánětlivých poruch u lidí (Helmbly 2015).

V devadesátých letech bylo stanoveno, že několik helmintů (především akantů v rybách) je schopno akumulovat značné koncentrace těžkých kovů (Thielen et al. 2004). Informace o tom, zda paraziti v suchozemských obratlovcích mohou sloužit jako indikátoři znečištění životního prostředí těžkými kovy, jakož i výhody, které poskytují svým hostitelům, zůstávají nekonzistentní (Jankovská et al. 2010). Protože tasemnice (Cestody) jsou hojnější u suchozemských savců, než jsou vrtějši (Acanthocephala), a tedy potenciálně užitečnější v pasivním i aktivním biomonitoringu. Sures et al. (2002) uvádějí ve své hlavní biomonitorovací studii, že model hostitel-parazit může být použit jako bioindikátor ke sledování znečištění životního prostředí (zejména v městských oblastech), tak jako prostředek ke snížení těžkých kovů v orgánech a tkáních.

## 4 Metodika

### 4.1 Příprava experimentu

Pokus probíhal na České zemědělské univerzitě v Praze, Fakultě agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, v pokusné a demonstrační stáji. Pokus byl prováděn na 44 samcích potkanů Wistar (*Rattus norvegicus* var. *alba*), každý s počáteční tělesnou hmotností 150 g. Během aklimatizačního období (3 týdny) byl potkanům umožněn přístup k vodě a ke standardnímu krmení pro hlodavce ST-1. Zvířata byla umístěna do klimatizované místnosti s konstantní teplotou (21–23 °C) a hladinou vlhkosti (přibližně 70 %). Po uplynutí 3 týdnů, které je také vyžadováno, aby se tasemnice krysí (*H. diminuta*) plně rozvinuly v hostiteli, byl každý potkan umístěn do metabolické klece (potkan/klec). Tam měli potkani volný přístup k vodě po celou dobu šesti týdnů.

### 4.2 Experimentální zvířata

Jako experimentální zvířecí model byl použit laboratorní potkan Wistar (*Rattus norvegicus* var. *Alba*) infikovaný běžnou krysí tasemnicí (*H. diminuta*). Potkani byli získáni od firmy Velaz, Česká republika a každý vzorek vážil na začátku experimentu  $150 \pm 5$  g. Během aklimatizačního období, které trvalo 3 týdny, byl potkanům umožněn neomezený přístup jak k vodě, tak ke standardní krmné směsi ST-1 (kompletní krmná směs pro myši a krysy v kleci, výrobce Velaz, Česká republika).

Obsah kvality na 1 kg směsi ST-1 byly následující: 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 28000 m.j.; vitamin D 2200 m.j.; vitamin E (alfatokoferol) - 100 mg; měď (Cu) 20 mg; selen (Se) 0,38 mg ([www.velaz.cz/produkt/st-1/](http://www.velaz.cz/produkt/st-1/)).

### 4.3 Vlastní experiment

Hlavním cílem pokusu bylo zjistit, které biochemické parametry mohou sloužit jako indikátory zátěže Zn a infekce tasemnicí. Tento pokus byl proveden na 44 samcích potkanů Wistar v průběhu šesti týdnů. Potkani byli rozděleni do 6 skupin: (1) 00 = kontrolní skupina / neovlivnění potkani; (2) 0T = potkani infikovaní tasemnicí krysí (3) M0 = potkani předávkovaní mléčnanem zinečnatým; (4) MT = potkani předávkovaní mléčnanem zinečnatým a infikovaní tasemnicí krysí; (5) P0 = potkani, kterým byl podán prášek z hyperakumulační rostliny Zn a Cd (*Arabidopsis halleri*) v krmné směsi; a (6) PT = potkani, kterým byl podán prášek z hyperakumulační rostliny Zn a Cd (*Arabidopsis halleri*) v krmné směsi a kteří byli infikováni tasemnicí krysí (*H. diminuta*).

Dvanáct potkanů (6 P0, 6 PT) dostalo krmnou směs obsahující Zn (a Cd) hyperakumulační rostliny (*Arabidopsis halleri*); 18 potkanům (12 M0, 6 MT) byl podán mléčnan zinečnatý v krmné směsi a 14 potkanů (6 0T a 8 z kontrolní skupiny 00) bylo krmeno standardní směsí pro potkany. Potkani ze skupin 0T, MT a PT byly infikováni tasemnicí krysí (*Hymenolepis*



*diminuta*). Ze vzorků krve (séra) bylo měřeno čtrnáct biochemických parametrů: celkový protein (TP), albumin (ALBU), močovina (UREA), glukóza (GLU), triacylglyceroly (TAG), neesterifikované mastné kyseliny (NEMK), cholesterol (CHOL), alkalická fosfatáza (ALP), aspartátaminotransferáza (AST), kyselina močová (UA), Mg, Ca, P a Zn.

Potkani ve skupinách 00 a 0T byli krmeni komerčně vyráběným krmivem (ST-1), zatímco potkanům ve skupinách M0 a MT byla podávána stejná směs obohacená mléčnanem zinečnatým. Skupiny P0 a PT byly krmeny stejnou komerční krmnou směsí obsahující prášek z hyperakumulační rostliny Zn a Cd (*Arabidopsis halleri*) z celých výhonků. Ve fázi květu, byl odebrán vzorek nadzemní biomasy *A. halleri*, který se nacházel v oblastech kontaminovaných Pb, Cd a Zn v okolí Příbrami. Rostlina *A. halleri* byla sušena při laboratorní teplotě (20 ° C) a homogenizována. Denní dávka krmné směsi 25 g obsahovala 20,5 mg Zn (skupiny M0, MT; P0; PT) a 0,41 mg Cd (skupiny P0 a PT); potkani dostali denní dávku pouze 6x týdně (v neděli jim nebylo podáno žádné krmivo); 6 x 20,5 mg Zn = 123 mg Zn za týden; 6 x 0,41 mg Cd = 2,46 mg Cd za týden. Jak je uvedeno v Tabulce 1, potkani ze skupin (0T, MT, PT) byli infikováni tasemnicí krysí (*H. diminuta*).

Infekce potkanů byla zahájena cysticerkoidy (larvami tasemnic) získanými z laboratorních brouků potemníků (*Tribolium confusum*), které byly infikovány po požití vajíček tasemnice odebraných z exkrementů dříve infikovaných potkanů. K rozvoji cysticerkoidů u potemníků došlo během 20denního období. Cysticerkoidy byly poté shromážděny, suspendovány v roztoku glukózy a podány potkanům orálně pomocí mikropipet. Každý potkan byl infikován třemi cysticerkoidy. Infekce tasemnicí byla ověřena koprologickým vyšetřením, které ukázalo přítomnost vajíček tasemnice v exkrementech potkanů.

**Tabulka 1-** vlastní experiment

| skupina | počet potkanů | Zn/týden (mg) | Cd/týden (mg) | <i>H. diminuta</i> |
|---------|---------------|---------------|---------------|--------------------|
| PT      | 6             | 123           | 2,46          | +                  |
| P0      | 6             | 123           | 2,46          | -                  |
| MT      | 6             | 123           | -             | +                  |
| M0      | 12            | 123           | -             | -                  |
| 0T      | 6             | 10,5          | -             | +                  |
| 00      | 8             | 10,5          | -             | -                  |

#### 4.3.1 Metody biochemické analýzy

Krev byla potkanům odebrána z oblasti *cavum abdominis* (dutina břišní), ke srážení vzorků docházelo při laboratorní teplotě. Vzorky prošly odstředěním v centrifuze o síle 1000 *g* po dobu 15 minut. Takto oddělené sérum bylo zamraženo při teplotě – 80 °C až do samotné analýzy. Ze vzorků krve (séra) bylo měřeno čtrnáct biochemických parametrů: celkový protein (TP), albumin (ALBU), močovina (UREA), glukóza (GLU), triacylglyceroly (TG),

neesterifikované mastné kyseliny (NEMK), cholesterol (CHOL), alkalická fosfatáza (ALP), aspartátaminotransferáza (AST), kyselina močová (UA), hořčík (Mg), vápník (Ca), fosfor (P) a zinek (Zn).

Zinek byl stanoven manuální metodou, která byla provedena pomocí spektrofotometru (Libra S6; Biochrom, Cambourne, UK). K provedení kolorimetrické metody byla použita komerční souprava Randox Zinc (Randox Laboratories Ltd., Crumlin, Velká Británie). Ostatní krevní parametry byly stanoveny spektrofotometricky pomocí automatického analyzátoru ERBA XL 200 (Erba Diagnostics Mannheim GmbH, Mannheim, Německo) v laboratoři Katedry veterinárních věd, Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů, ČVUT v Praze. Analýza byla provedena s komerčními soupravami (konkrétně od společnosti Randox NEFA (Randox Laboratories Ltd.) a dalšími soupravami od společnosti Erba Diagnostics Mannheim GmbH.

#### **4.3.2 Použité statistické metody**

Pro hodnocení navrhované hypotézy byl použit parametrický t-test v programu Mathematica 9 (Wolfram). Normalita dat nebyla testována, byla testována shoda rozptylů pomocí f-testu. Významnost odlišnosti alespoň jedné skupiny, byla testována statistickou metodou ANOVA. Pro výchozí hypotézu (předávkování zinkem a infekce tasemnicí signifikantně ovlivňuje vybrané biochemické ukazatele v krevním séru) byla zvolena p-hodnota ve výši 0,05. Mathematica 9 (Wolfram) byla použita pro všechny výpočty a statistickou analýzu.

## 5 Výsledky

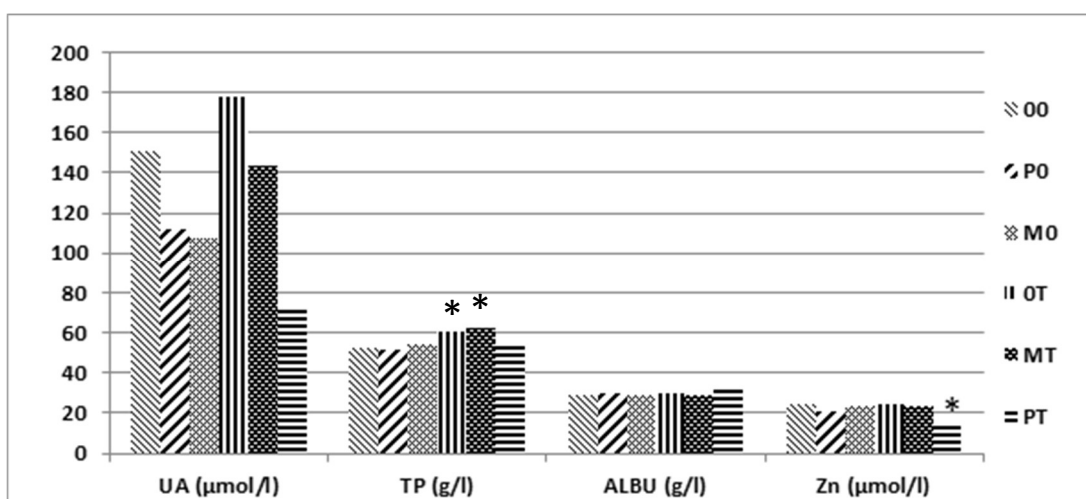
Jako fyziologické hodnoty sledovaných biochemických parametrů byly použity hodnoty potkanů z kontrolní skupiny (00). Tito potkani nebyli ovlivněni žádným faktorem.

### UA (kys. močová)

Mezi všemi skupinami potkanů nebyly žádné významné rozdíly v koncentracích kyseliny močové. Proto ani *H. diminuta* ani Zn/Cd hyperakumulační rostlina *A. halleri* neměly vliv na hladiny kyseliny močové (UA, Graf 1).

### TP (celkový protein)

Kontrolní skupina potkanů (00) měla hladinu celkové bílkoviny (TP) 52,15 g/l, (Tabulka 2). Hladiny celkových proteinů (PT) u potkanů s infekcí tasemnicí (OT) 60,80 g/l a (MT) 62,20 g/l, byly významně vyšší než u jiných skupin (Graf 1).



**Graf 1-** Kyselina močová (UA), celkový protein (TP), albumin (ALBU) a zinek (Zn) – koncentrace v krvi potkanů ze skupin 00, P0, M0, OT, MT a PT. \* statisticky významný rozdíl

**Tabulka 2-** medián naměřených hodnot biochemických parametrů u všech skupin potkanů

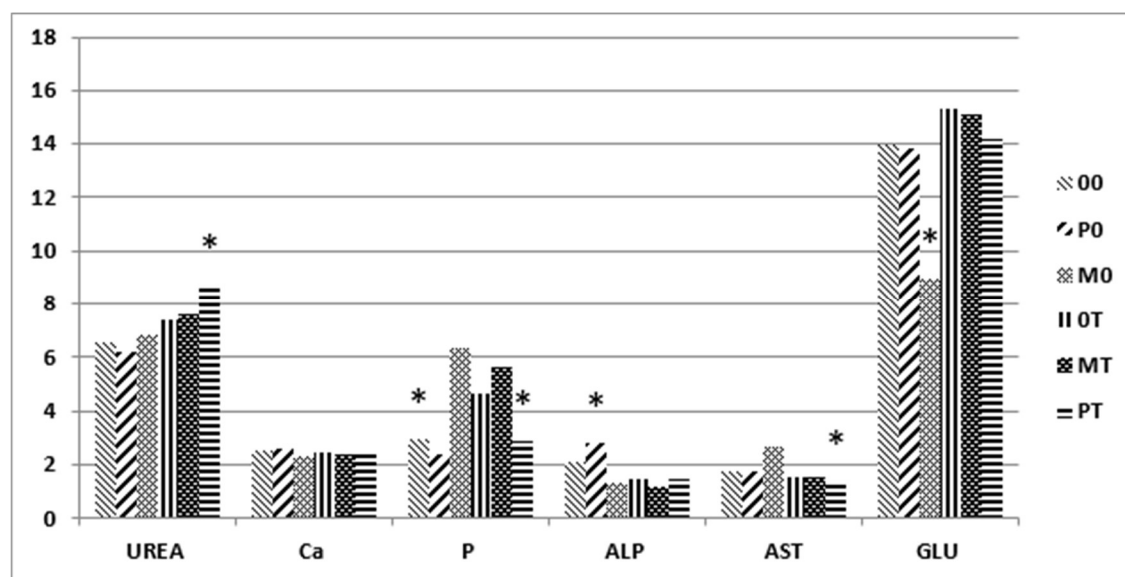
|           | UA (μmol/l) | TP (g/l) | ALBU (g/l) | Zn (μmol/l) |
|-----------|-------------|----------|------------|-------------|
| <b>00</b> | 150,50      | 52,15    | 29,15      | 24,03       |
| <b>P0</b> | 112,00      | 51,70    | 29,55      | 21,25       |
| <b>M0</b> | 107,50      | 54,60    | 29,40      | 23,67       |
| <b>OT</b> | 177,50      | 60,80    | 30,15      | 24,02       |
| <b>MT</b> | 143,50      | 62,20    | 29,40      | 23,98       |
| <b>PT</b> | 72,00       | 54,40    | 31,60      | 13,68       |

### ALBU (albumin)

Vysoké dávky mléčnanu zinečnatého, infekce tasemnicí *H. diminuta* ani hyperakumulační rostlina Zn a Cd *A. halleri* neměla významný vliv na hladiny albuminu v krevním séru (Graf 1).

### Zn (zinek)

Významně nejnižší hodnoty Zn (13,68  $\mu\text{mol/l}$ ) v krevním séru ( $p$ -hodnota  $\leq 0,05$ ) byly naměřeny u skupiny potkanů (PT), kteří byli nakaženi *H. diminuta* a krevni *A. halleri*. Infekce tasemnicí tak měla velký vliv na hodnoty Zn v krvi (Graf 1).



Graf 2- Močovina (UREA), vápník (Ca), fosfor (P), alkalická fosfatáza (ALP), aspartátaminotransferáza (AST) a glukóza (GLU) - koncentrace v krvi potkanů ze skupin OO, PO, MO, OT, MT a PT. \* statisticky významný rozdíl

Tabulka 3- medián naměřených hodnot biochemických parametrů u všech skupin potkanů

|    | UREA<br>(mmol/l) | Ca<br>(mmol/l) | P<br>(mmol/l) | ALP<br>( $\mu\text{kat/l}$ ) | AST<br>( $\mu\text{kat/l}$ ) | GLU<br>(mmol/l) |
|----|------------------|----------------|---------------|------------------------------|------------------------------|-----------------|
| OO | 6,58             | 2,54           | 2,95          | 2,13                         | 1,77                         | 13,99           |
| PO | 6,18             | 2,57           | 2,38          | 2,80                         | 1,74                         | 13,80           |
| MO | 6,87             | 2,31           | 6,33          | 1,30                         | 2,65                         | 8,98            |
| OT | 7,40             | 2,48           | 4,67          | 1,44                         | 1,55                         | 15,29           |
| MT | 7,61             | 2,40           | 5,64          | 1,18                         | 1,53                         | 15,12           |
| PT | 8,75             | 2,50           | 2,85          | 1,45                         | 1,40                         | 14,22           |

### **UREA** (močovina)

Normální fyziologické hodnoty močoviny se pohybují od 5,2 do 8,2 mmol / l. Hladiny močoviny potkanů z kontrolní skupiny (00) byly v tomto rozmezí (6,58 mmol /l, Tabulka 3). Potkani infikovaní tasemnicí a krmení *A. halleri* (PT) měli signifikantně vyšší koncentraci močoviny v krvi (p-hodnota  $\leq 0,05$ ) než potkani bez infekce tasemnicí (Graf 2).

### **Ca** (vápník)

Pokud jde o koncentrace Ca v krvi potkanů, nebyly zjištěny žádné významné rozdíly mezi testovanými skupinami (Graf 2).

### **P** (fosfor)

Jak je vidět na Grafu 2, potkani, kterým byla podána hyperakumulující rostlina *A. halleri* v krmivu (PT), měli ve svém krevním séru významně nižší koncentraci fosforu (p-hodnota  $\leq 0,05$ ) než potkani, kteří nebyli krmeni hyperakumulující rostlinou *A. halleri* (M0, MT, OT s výjimkou kontrolní skupiny 00 a P0, Graf 2). U skupiny P0, která byla zatížena *A. halleri*, nebyl prokázán statisticky významný rozdíl, avšak hodnoty fosforu byly u této skupiny nižší než u ostatních skupin s výjimkou (00 a PT).

### **AST** (aspartátaminotransferáza)

Kontrolní skupina potkanů (00) měla fyziologickou hladinu AST 1,77  $\mu$ kat / l (Tabulka 3). Infekce *A. halleri* a tasemnice *H. diminuta* (PT) významně snížily (p-hodnota  $\leq 0,05$ ) hladiny AST v krvi potkanů (Graf 2).

### **ALP** (alkalická fosfatáza)

Potkani ze skupiny P0 (krmivo s příměsí *A. halleri*) měli v krevním séru významně (p-hodnota  $\leq 0,05$ ) nejvyšší koncentrace alkalické fosfatázy (ALP) oproti potkanům ze zbývajících skupin (Graf 2).

### **GLU** (glukóza)

U potkanů předávkovaných mléčnanem zinečnatým (M0) byly zjištěny významně nejnižší hladiny glukózy (p-hodnota  $\leq 0,05$ ) ze všech testovaných skupin (Graf 2).

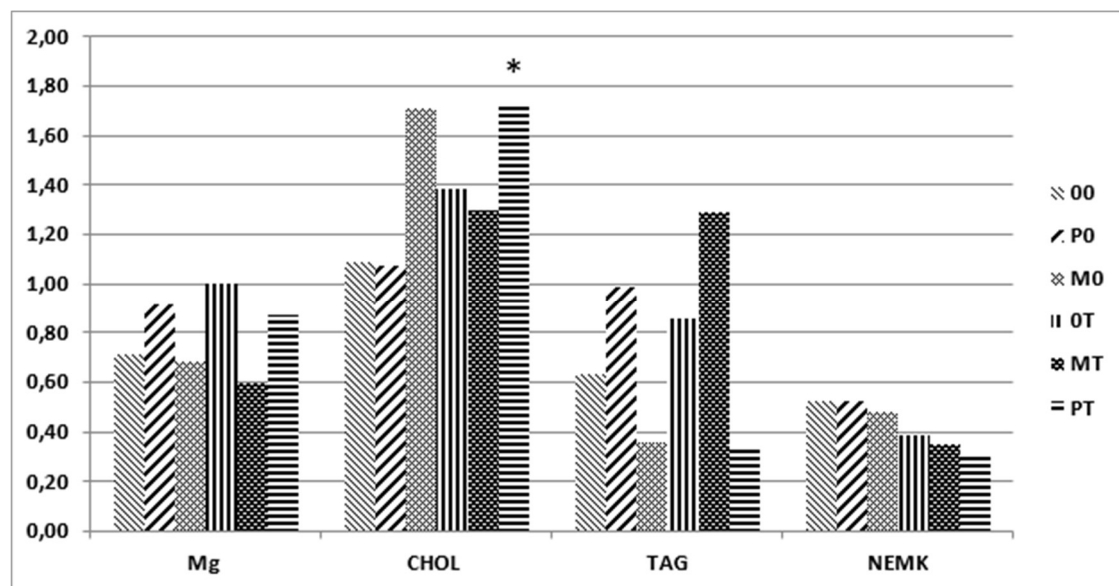
### **Mg**

Ani u jedné ze zkoumaných skupin potkanů, nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl (p-hodnota  $\leq 0,05$ ) mezi hodnotami Mg. Můžeme se proto domnívat, že ani infekce tasemnicí a zatížení Zn a Cd neměli na hodnoty Mg v krvi žádný významný vliv (Graf 3).

### **CHOL** (cholesterol)

Z Grafu 3 je patrné, že statisticky významné rozdíly koncentrací jsou pouze u cholesterolu. Významně nejvyšší hodnoty (p-hodnota  $\leq 0,05$ ) cholesterolu byly naměřeny

u skupiny potkanů (PT), která byla zatížena hyperakumulující rostlinou Zn/Cd v krmivu *A. halleri* a zároveň nakažená tasemnicí krysí.



**Graf 3-** hořčík (Mg), cholesterol (CHOL), triacylglycerol (TAG) a neesterifikované mastné kyseliny (NEMK)- koncentrace potkanů ze skupin 00, PO, MO, OT, MT a PT v krvi. \* statisticky významný rozdíl

**Tabulka 4-** medián naměřených hodnot biochemických parametrů u všech skupin potkanů

|           | Mg<br>(mmol/l) | CHOL<br>(mmol/l) | TAG<br>(mmol/l) | NEMK<br>(mmol/l) |
|-----------|----------------|------------------|-----------------|------------------|
| <b>00</b> | 0,72           | 1,09             | 0,63            | 0,53             |
| <b>PO</b> | 0,92           | 1,08             | 0,99            | 0,53             |
| <b>MO</b> | 0,69           | 1,71             | 0,36            | 0,48             |
| <b>OT</b> | 1,01           | 1,39             | 0,86            | 0,39             |
| <b>MT</b> | 0,60           | 1,30             | 1,29            | 0,35             |
| <b>PT</b> | 0,87           | 1,72             | 0,34            | 0,31             |

### CHOL (cholesterol)

Z Grafu 3 je patrné, že statisticky významné rozdíly koncentrací jsou pouze u cholesterolu. Významně nejvyšší hodnoty ( $p$ -hodnota  $\leq 0,05$ ) cholesterolu byly naměřeny u skupiny potkanů (PT), která byla zatížena hyperakumulující rostlinou Zn/Cd v krmivu *A. halleri* a zároveň nakažená tasemnicí krysí (*H. diminuta*).

### TAG (triacylglycerol) a NEMK (neesterifikované mastné kyseliny)

U těchto dvou krevních parametrů nebyly zjištěny žádné statisticky významné rozdíly v hladinách krve potkanů, kteří byli nakaženi tasemnicí krysí (*H. diminuta*), nebo předávkovaní Zn (Graf 3).

Nebyly pozorovány žádné významné rozdíly v hladinách kyseliny močové (UA), neesterifikovaných mastných kyselin (NEMK), triacylglycerolu (TAG) albuminu (ALBU), Ca a Mg.

## 6 Diskuze

Zatížení životního prostředí těžkými kovy se nesnižuje a zůstává celosvětovým problémem ovlivňujícím člověka i zvířata. Výzkum v této diplomové práci byl zaměřen na vliv přítomnosti tasemnice na biochemické parametry naměřené v organismu hostitele (potkanů), jež současně musí čelit životu v prostředí zatíženém nadměrným množstvím zinku (i kadmia).

V některých předchozích výzkumech byla zkoumána schopnost tasemnice snížit koncentrace těžkých kovů ve tkáních hostitele (Čadková et al. 2013, Jankovská et al. 2018) a ve stolici (Sloup et al. 2018). Zjištění potvrdila schopnost tasemnice do svého těla akumulovat těžké kovy z těla hostitele (zejména u těch prvků vyskytujících se v dané chvíli v těle hostitele v nadbytečném množství) a tím přispívat ke snížení množství těžkých kovů v jeho organismu. Tasemnice tak mohou být použity pro biomonitoring prostředí, ve kterém hostitel žije. Jakým způsobem však následně těžké kovy ovlivňují organismus tasemnice, zůstává nejasné. Například Khalil et al. (2009) zjistili, že vajíčka tasemnice mohou být schopna odolat vlivu prostředí obsahující těžké kovy. Na druhou stranu tasemnicí napadený organismus hostitele nebo mezihostitele je náchylnější vůči negativnímu vlivu kadmia (Khalil et al. 2014). *H. diminuta* je celosvětově rozšířený druh napadající hlodavce (hlavně myši a krysy) a lidi. Běžně se využívá ve výzkumu zaměřeném na morfologii a fyziologii tasemnice a jejího působení na další organismy (Kosik-Bogacka et al. 2016). Protože *H. diminuta* je ideální pro využití v parazitární terapii (Řežábková et al. 2019), je vhodné se zaměřit na změny v biochemických parametrech v organismu laboratorních potkanů nakažených touto tasemnicí (skupina OT, sledovaná skupina s tasemnicí krmená běžnou směsí). Významný nárůst u sledované skupiny OT oproti skupině kontrolní (skupina 00, jedinci nemají tasemnici a jsou krmeni běžnou směsí) bylo zaznamenáno pouze u hladiny celkové bílkoviny (TP) v krevním séru. Ostatní parametry (albumin, urea, glukóza, triacylglycerol, volné mastné kyseliny, cholesterol, alkalická fosfatáza, aspartátaminotransferáza, kyselina močová, horčík, vápník a zinek) nebyly působením tasemnice na organismus potkanů nijak významně ovlivněny (Graf 1). Takové výsledky potvrzují výstupy Wegenera et al. (2017), kteří popsali, že *H. diminuta* je benigní (neškodný) parazit, sloužící jako dobré střevní probiotikum vhodné k využití při parazitární terapii. Toto využití tasemnice střevní představuje pro parazitární terapii slibný model, protože je možné u potkanů vybudovat dlouhodobě stabilní kolonie a následně tasemnici využívat pro úpravu fungování imunitního systému, aniž by docházelo k bakteriální dysbióze.

### **Celková bílkovina (TP)**

Překvapivé se může zdát, že u jedinců sledované skupiny OT byly naměřeny významně vyšší hodnoty celkové bílkoviny (TP) než u jedinců skupiny kontrolní (00; viz Graf 1). Toto zjištění může být způsobeno obecně jakýmkoliv stavem, jenž vyvolává v organismu nárůst imunoglobulinů (protilátek) a může být užitečný při nasazení parazitární terapie při léčbě autoimunitních onemocnění právě s odůvodněním, že tasemnice působí v těle jako silný regulátor imunitního systému (Wangchuk et al. 2019).

### **Glukóza (GLU)**

Výrazně nejnižší hodnoty glukózy v krvi potkanů byly nalezeny u skupiny M0 (předávkování mléčnanem zinečnatým). Toto zjištění by mohlo naznačovat, že nízká hladina glukózy v krvi, může být ukazatelem předávkování Zn anebo, že vysoké dávky Zn snižují hladinu cukrů v krvi. To by také podporovalo zjištění autorů studie Nakamura et al. (1983), že perorálně podávaný zinek reguluje hladinu glukózy v krvi. Také autoři studie Baltaci et al. (2003) zjistili, že potkani, kterým byl podáván zinek vykazovali významně nižší hladinu glukózy než kontrolní skupina potkanů, které zinek podáván nebyl. Zajímavé také je, že Yasuda et al. (2014) popisuje, že hydrolytické polyfenoly obsažené v kotvici japonské (*Trapa japonica*) výrazně snižují hladiny cukrů v krvi, a proto by se mohli stát velice prospěšnými aditivou napomáhajícími zvládnutí průběhu nemoci *Diabetes mellitus* 2. typu.

### **Cholesterol (CHOL)**

Nejvyšší hodnoty cholesterolu byly naměřeny u skupiny potkanů (PT), která byla zatížená hyperakumulující rostlinou Zn/Cd v krmivu *A. halleri* a zároveň nakažená tasemnicí krysí (*H. diminuta*). Ghazaghi et al. (2014) zjistili, že výtažky z máty klasnaté (*Mentha spicata*) snižují hladinu cholesterolu v krvi, dodrželi se dávkování stravou obsahující 1,17 % máty klasnaté.

### **Zinek (Zn)**

Mnoho studií ukázalo, že podávání určitých dávek zinku zvířatům vykazujícím intoxikaci kadmíem snižuje absorpci a akumulaci kadmia a omezuje některé toxické účinky tohoto prvku vlivy v jejich těle (Rogalska et al. 2009). Kadmium a zinek jsou blízké chemické prvky s podobnými chemickými vlastnostmi. Zinek ovšem patří mezi tzv. esenciální prvky, nutné k aktivaci činnosti mnoha enzymů a hormonů (Hejazy & Koohi 2017). *A. halleri* (huseníček Hallerův) dokáže akumulovat jak zinek, tak kadmium, proto je možné se domnívat, že negativní vliv kadmia bude částečně vyvážen přítomností zinku. Hejazy & Koohi (2017) nicméně zkoumali vliv nano-zinku na biochemické parametry u potkanů vystavených působení kadmia, a jejich výsledky ukázaly, že částice nano-zinku nijak před toxicitou způsobenou kadmíem tělo nechrání. Navíc studie dále odhalila také toxické účinky ústně podávaných částic nano-zinku. El-Din et al. (2019) rovněž popsali škodlivost nanočástic (TiO<sub>2</sub>NPS) u potkanů, v tomto případě jejich negativní vliv na srdce.

Sloup et al. (2016) popsal změny některých biochemických parametrů u potkanů, jimž byly podány vysoké dávky laktátu zinku. Tento pokus byl zaměřen na vliv nákazy tasemnicí a účinek *Arabidopsis halleri* (rostlina, jež velice dobře kumuluje zinek) na určené biochemické parametry. Bez ohledu na výši příjmu zinku, koncentrace zinku v krevní plazmě nijak dramaticky nekolísá (Whitney & Rolfes 2013). Tyto závěry, zdá se, podporují zjištění pokusu, které ukazují, že předávkování laktátem zinku (sledovaná skupina M0) a vystavení účinkům rostliny schopné ve velkém množství akumulovat zinek a kadmium (sledovaná skupina P0) nemá žádný vliv na hodnoty zinku v krevním séru potkanů. U sledované skupiny PT (podáván huseníček + infekce tasemnicí) byl zjištěn významný pokles hladiny zinku v séru. To může být způsobeno schopností tasemnicí akumulovat těžké kovy (zvláště při jejich nadhodnotách v organismu) z organismu hostitele (Jankovská et al. 2016, 2018 b). U potkanů, jimž byly



podávány nadměrné dávky mléčnanu zinečnatého (sledovaná skupina M0 a MT), infekce tasemnicí hodnoty Zn v krvi nesnížila (Graf. 2). Můžeme z toho dedukovat, že popsaný stav je závislý na formě, ve které hostitel daný prvek přijímá, resp. tato forma určuje, jakým způsobem a jakou měrou je tasemnice schopna prvek akumulovat do svého těla a tím redukovat jeho hladinu ve tkáních hostitele.

### **Močovina (UREA)**

Dalším měřeným parametrem byly hodnoty urey (močoviny) v séru. Kandemir et al. (2019) popsali hladiny urey u sledované skupiny wistarských potkanů ve výši 5,57 mg/dL, ale hladina urey byla vyšší (20,24 mg/dL) u jedinců, jimž bylo podáváno chemoterapeutikum cisplatin (je znám jeho nefrotoxický účinek). Přítomnost kadmia významně zvyšuje hladinu urey v krvi, zatímco současné podávání ZnCl<sub>2</sub> a Cd tuto hladinu snižuje (Hejazy & Koohi 2017). V tomto experimentu byly nejnižší hladiny urey zaznamenány u skupiny potkanů krmených směsí obsahující huseníček (*A. halleri*) a neinfikovaných tasemnicí (P0), druhý nejnižší soubor hodnot tohoto parametru byl naměřen u skupiny M0 (mléčnan zinečnatý). Nízké hodnoty urey v krvi mohou být způsobeny výživou s nízkým obsahem proteinů nebo poškozením jater, daném u sledované skupiny P0 příjmem kadmia koncentrovaném v huseníčku. Vysoké hodnoty urey mohou být způsobeny špatnou funkcí ledvin, jejich poškozením, výživou s vysokým obsahem proteinů, jejich katabolismem či dehydratací (Hejazy & Koohi 2017). V tomto pokusu vykazovaly nejvyšší koncentrace urey potkani skupiny PT (krmeni huseníčkem + nakažení tasemnicí; viz Graf 3). Skupiny potkanů nakažených tasemnicí (PT, MT a OT) obecně vykazovaly vyšší hodnoty. Dmitrijevič et al. (2013) popsali, že hladina urey u ovcí napadených háďětem (*Strongyloides papillosus*), jimž byly podávány hlístopudné prostředky, byla vyšší než u ovcí bez hlístů a nepodstupujících antihelmitickou kůru. Proto je možné domnívat se, že napadení parazity může rovněž zvýšit hladinu urey v séru hostitele.

### **Fosfor (P)**

Fosfáty v organické formě jsou životně důležitý zdroj energie pro zajištění funkce svalů a nervů a pro růst kostí. Hrají také důležitou roli jako tlumiče napomáhající udržet rovnováhu kyselin v těle. Nedostatek fosforu přichází s podvýživou, malabsorpcí, s nerovnováhou kyselin, při vyšším množství vápníku v krvi a při neduzích napadajících správnou funkci ledvin. V tomto experimentu bylo naměřeno nejvyšší hodnoty fosforu ve vzorcích krevního séra potkanů s vysokým příjmem laktátu zinku (MT a M0). Významně nižší koncentrace fosforu byly zaznamenány u skupin PT a P0. Podle Kaslowa (2014), nízká hladina fosforu způsobuje pokles ALP v séru, nicméně v tomto pokusu jedinci skupiny P0, jež měli nejnižší hladinu fosforu ze všech sledovaných skupin, vykazovali rovněž nejvyšší hladinu ALP.

### **Alkalická fosfatáza (ALP)**

Alkalická fosfatáza je enzym, který může v nadměrném množství vznikat při poruchách tvorby žluče v hepatobiliárním systému (Ramaiah 2007). Pokud je tkáň jaterního systému v pořádku, ALP vykazuje minimální aktivitu. Hlavním důvodem jeho měření je určení onemocnění kostí nebo jater. Protože epitelové buňky sliznic lemující žlučové cesty produkují ALP, je to právě volný průtok žluči játry do žlučovodů a žlučníku, co udržuje správnou úroveň tohoto enzymu v krvi. Pokud játra, žlučovody nebo žlučník nefungují správně, nebo jsou

zablokovány, ALP není vylučováno žlučí a uvolňuje se do krevního oběhu. Proto může být přítomnost ALP v séru ukazatelem míry stability hepatobiliárního systému a správného průtoku žluči do tenkého střeva. V tomto pokusu průměrné fyziologické hodnoty v kontrolní skupině (00) činily 2,13  $\mu\text{kat/l}$  (Tabulka 3). Nejvyšší hodnoty 2,80  $\mu\text{kat/l}$  byly naměřeny u skupiny P0 (Tabulka 3). Kaslow (2014) popisuje, že vysoké hodnoty ALP mohou být důkazem nekrózy buněk, která nastává při chorobách jater a žlučových cest. Proto se můžeme domnívat, že Cd obsažené v hyperakumulační rostlině *A. halleri* působilo negativně na hepatobiliární systém potkanů.

#### **Aspartát aminotransferáza (AST)**

V klinické medicíně běžně využívána jako marker zdravotního stavu jater. Reversibilní přeměna  $\alpha$ -amino skupin mezi aspartáty a glutamáty je katalyzována právě tímto enzymem, což z něj činí životně důležitou látku pro metabolismus aminokyselin. AST můžeme nalézt v játrech, srdci, kosterním svalstvu, ledvinách, mozku a červených krvinkách. Detekce AST se používá pro odhalení nemocí jater (Zhang et al. 2004). Hejazy & Koohi (2017) popisují, že hodnoty AST, alanin aminotransferázy (ALT), triglyceridů, celkového cholesterolu a volných mastných kyselin významně narůstají u potkanů krmených směsí obohacenou o kadmium a nano-zinek v porovnání s kontrolní skupinou. V našem pokusu kontrolní skupina (00) vykazovala fyziologické hodnoty AST ve výši 1,77  $\mu\text{kat/l}$ . Hodnoty AST ve výši 2,65  $\mu\text{kat/l}$  byly pak významně vyšší u skupiny M0 než 1,53  $\mu\text{kat/l}$  u skupiny MT, proto můžeme konstatovat, že napadení tasemnicí může u potkanů snížit hodnoty AST (Graf 2) díky akumulaci nadbytečného zinku do své tkáně (Jankovská et al. 2018b). Awe a Banjoko (2013) informují, že činnost AST enzymu se nevýznamně mění u potkanů krmených malými dávkami Petržele (*Petroselinum crispum*) naložené v lihu (proběhl pokus s dávkami 10, 1000 a 10000 mg na kilogram tělesné váhy). Aktivita ALP stoupá při dávkách 100 a 1000 mg na kilogram tělesné váhy.

## 7 Závěr

- Zinek (i kadmium), které potkani přijali požitím huseníčku (*A. halleri*) významně zvýšily koncentrace alkalické fosfatázy (ALP) v jejich séru. Proto se může vysoká hladina ALP považovat, jako příznak zatížení organismu přítomností nadměrného množství Zn a Cd. Běžným symptomem onemocnění žlučovodů je nárůst hodnot ALP, proto je možné, že dlouhodobější požívání *Arabidopsis halleri* může způsobit poškození jater.
- Potkani, jimž byl podáván mléčnan zinečnatý (skupina M0) vykazovali významně nižší hodnoty cukrů (glukózy) ve vzorcích krevního séra než ostatní skupiny. Toto zjištění může vést k závěrům, že nízká hladina glukózy může ukazovat na předávkování zinkem a že vysoké dávky mléčnanu zinečnatého mohou pomoci snížit zvýšenou hladinu glukózy. K prokázání tohoto zjištění je ale zapotřebí ještě dalších studií.
- Hodnoty celkové bílkoviny představují jediný sledovaný parametr, který byl významně ovlivněn přítomností tasemnice v těle potkana. Překvapivě, hodnoty celkové bílkoviny byly u této skupiny (0T) významně vyšší než u skupiny kontrolní (00). Ostatní sledované parametry (albumin, urea, aspartátaminotransferáza, kyselina močová, hořčík, vápník a zinek) nebyly tasemnicí u skupin nakažených potkanů (0T/00) nijak významně ovlivněny. Tento dílčí závěr podporuje teorii, že využití tasemnice krysí (*Hymenolepsis diminuta*) lze slibně využít jako model pro parazitární terapii. Tento hlíst je celosvětově rozšířeným druhem napadajícím hlodavce i člověka. Má schopnost modelovat imunitní systém hostitele, aniž by u něho způsobil závažné změny v biochemických parametrech.
- Výsledky této diplomové práce naplnily zvolenou hypotézu, že předávkování zinkem a infekce tasemnicí signifikantně ovlivňuje vybrané krevní parametry. Tato zjištění poskytují soubor nových informací o změnách vybraných biochemických parametrů u potkanů napadených tasemnicí, nebo zatížených příjmem vyššího množství zinku.

## 8 Literatura

- Abdulla M, Chmielnicka J. 1989. New aspects on the distribution and metabolism of essential trace elements after dietary exposure to toxic metals. *Biological Trace Element Research* **23**:25–53.
- Afridi HI, Kazi TG, Kazi GH. 2005. Evaluation of status of trace and toxic metals in scalp hair samples of normal and anemic human subjects. *Am Biot Lab* **23**(8): 27–9.
- Aihara K, Nishi Y, Hatano S, et al. 1984. Zinc, copper, manganese, and selenium metabolism in thyroid disease. *American Journal of Clinical Nutrition* **40**(1):26-35.
- Alberts B. 2005. *Základy buněčné biologie: úvod do molekulární biologie buňky*. Espero Publishing, Ústí nad Labem.
- Allen LH. 1998. Zinc and micronutrient supplements for children. *American Journal of Clinical Nutrition* **68**: 495–498.
- Almeida AA, Lopes CM, Silva AM, Barrado E. 2008. Trace elements in human milk: correlation with blood levels, inter-element correlations and changes in concentration during the first month of lactation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **22**:196–205.
- Alonso ML, Benedito JL, Miranda M, Castillo C, Hernandez J, Shore RF. 2002. Interactions between toxic and essential trace metals in cattle from a region with low levels of pollution. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **42**:165–172.
- Arthur JR, Beckett GJ. 1995. Thyroid function. *British Medical Bulletin* **55**(3):658–68.
- Awe EO, Banjoko SO. 2013. Biochemical and haematological assessment of toxic effects of the leaf ethanol extract of *Petroselinum crispum* (Mill) Nyman ex A.W. Hill (Parsley) in rats. *BMC Complementary and Alternative Medicine* **13**:75.
- Baker AJM, McGrath SP, Reeves RD, Smith JAC. 2000. Metal hyperaccumulator plants: a review of the ecology and physiology of a biological resource for phytoremediation of metal-polluted soils. In *Phytoremediation of Contaminated Soil and Water* (eds N. Terry & G. Banuelos). Lewis Publishers, Boca Raton, FL.
- Baltaci AK, Ozyurek K, Mogulkoc R, Kurtoglu E, Ozkan Y, Celik I. 2003. Effects of zinc deficiency and supplementation on the glycogen contents of liver and plasma lactate and leptin levels of rats performing acute exercise. *Biological Trace Element Research* **96**(1-3):227-236.
- Barany E, Bergdahl IA, Bratteby LE, Lundh T, Samuelson G, Schutz A, Skerfving S, Oskarsson A. 2002. Relationships between trace element concentrations in human blood and serum. *Toxicology Letters* **134**:177–184.
- Beckett GJ, Arthur JR. 2005. Selenium and endocrine systems. *Journal of Endocrinology* **184**:455–465.

- Bencko V, Cikrt M, Lener J. 1995. Toxické kovy v životním a pracovním prostředí člověka. Grada, Praha.
- Bersenyi A, Fekete SG, Szocs Z, Berta E. 2003. Effect of ingested heavy metals (Cd, Pb, and Hg) on hematology and serum biochemistry in rabbits. *Acta Veterinaria Hungarica* **53**:297-304.
- Biser J, Vogel L, Berger J, Hjelle B, Loew SS. 2004. Effects of heavy metals on immunocompetence of white-footed mice (*Peromyscus leucopus*). *Wildlife Disease Association* **40**:173–184.
- Blanco-Penedo I, Cruz JM, Lopez-Alonso M, Miranda M, Castillo C, Hernandez J, Benedito JL. 2006. Influence of copper status on the accumulation of toxic and essential metals in cattle. *Environment International* **32**:901–906.
- Branay E, Bergdhal IA, Bratteby LE, Lundh T, Samuelson G, Schutz A, kerfving S, Oskarsson A. 2002. Relationships between trace element concentrations in human blood and serum. *Toxicology Letters* **134**:177-184
- Brettell TA, Butler JM, Saferstein R. 2005. Forensic science. *Analytical Chemistry* **77**:3839–60.
- Brooks RR, Lee J, Reeves RD, Jaffre T. 1977. Detection of nickeliferous rocks by analysis of herbarium species of indicator plants. *Journal of Geochemistry Exploration* **7**: 49-57.
- Brown KH, Wuehler SE, Peerson JM. 2001. The importance of zinc in human nutrition and estimation of the global prevalence of zinc deficiency. *Food and Nutrition Bulletin* **22**:113–125.
- Brown KH. 2003. Commentary: zinc and child growth. *International Journal of Epidemiology* **32**:1103–4.
- Brzoska MM, Moniuszko-Jakoniuk J, Jurczuk M, Galazyn-Sidorczuk M, Rogalska J. 2000. Effect of short-term ethanol administration on cadmium retention and bioelement metabolism in rats continuously exposed to cadmium. *Alcohol Alcohol* **35**:439–445.
- Brzoska MM, Moniuszko-Jakoniuk J. 2001. Interactions between cadmium and zinc in the organism. *Food and Chemical Toxicology* **39**:967–980.
- Bucci I, Napolitano G, Giuliani C, Lio S, Minnucci A, Di Giacomo F, et al. 1999. Zinc sulfate supplementation improves thyroid function in hypozincemic down children. *Biological Trace Element Research* **67**:257–68.
- Burt S. 2004. Essential oils: their antibacterial properties and potential applications in foods—a review. *International Journal of Food Microbiology* **94**: 223–253.
- Castanon J. 2007. History of the use of antibiotic as growth promoters in European poultry feeds. *Environmental Pollution* **86**: 2466–2471.

- Cobbina SJ, Chen Y, Zhou Z, et al. 2015. Low concentration toxic metal mixture interactions: effects on essential and non-essential metals in brain, liver, and kidneys of mice on sub-chronic exposure. *Chemosphere* **132**: 79-86.
- Coppen-Jaeger DE, Wilhelm M. 1989. The effects of cadmium on zinc absorption in isolated rat intestinal preparations. *Biol Trace Elem Res* **21**:207–212.
- Cordova A, Navas FJ. 1998. Effect of training on zinc metabolism: changes in serum and sweat zinc concentrations in sportsmen, *Annals of Nutrition and Metabolism* **42**:274–282.
- Cordova A. 1992. Variations in serum iron and fatigue levels after elective abdominal, *Journal of Medical and Surgical Research* **20**:119–120.
- Cordova A. and Alvarez-Mon M. 1995. Behaviour of zinc in physical exercise: a special reference to immunity and fatigue. *Neuroscience & Biobehavioral Reviews* **19**:439–445.
- Cousins RB, Liuzzi JP, Lichten LA. 2006. Mammalian zinc transport, trafficking and signals. *The Journal of Biological Chemistry* **281**:24085–24089.
- Čadková Z, Száková J, Miholová D, Válek P., Pacáková Z, Vadlejch J, Langrová I, Jankovská I. 2013. Faecal excretion dynamic during subacute oral exposure to different Pb species in *Rattus norvegicus*. *Biological Trace Element Research* **152**: 225-232.
- Davies NT, Nightingale R. 1975. The effect of phytate on intestinal absorption and secretion of zinc and whole body retention of Zn, copper, iron and manganese in rats. *British Journal of Nutrition* **34**:243–258.
- de Buron I, James E, Riggs-Gelasco P, Ringwood AH, Rolando E, Richardson D. 2009. Overview of the status of heavy metal accumulation by helminths with a note on the use of in vitro culture of adult acanthocephalans to study the mechanisms of bioaccumulation. *Neotropical Helminthology* **3**:101-110.
- Dimitrijević B, Borozan Sunčica, Jović S, Bacić D, Katić-Radivojević S, Stojanović S, Savić M. 2013. The effect of the intensity of parasitic infection with *Strongyloides papillosus* and albendazole therapy on biochemical parameters in sheep blood. *Acta Veterinaria (Beograd)* **63**(5-6): 581-600.
- Ding XB, Wen LX, Yuan H. 2009. Effect of nano-zinc oxide on liver metallothionein of AA chicken. *Chinese Journal of Veterinary Science* **2**:031.
- Doyle JJ, Pfander WH. 1975. Interactions of cadmium with copper, iron, zinc, and manganese in ovine tissues *Journal of Nutrition* **105**:599–606.
- El-Din EAA, El-Saed Mostafa H, Samak MA, Mohamed EM, Abdallah El-Shafei D. 2019. Could curcumin ameliorate titanium dioxide nanoparticles effect on the heart? A histopathological, immunohistochemical, and genotoxic study. *Environmental Science and Pollution Research* **26**: 21556-21564.

- Elinder CG, Lind B, Kjellstrom T, Linnman L, Friberg L. 1976. Cadmium in kidney cortex, liver, and pancreas from Swedish autopsies. Estimation of biological half time in kidney cortex, considering calorie intake and smoking habits. *Archives of Environmental Health* **31**:292–302.
- Ellingsen DG, Thomassen Y, Aaseth J, Alexander J. 1997. Cadmium and selenium in blood and urine related to smoking habits and previous exposure to mercury vapour. *Journal of Applied Toxicology* **17**:337–343.
- Erdman Jr. JW, Macdonald IA, Steven HZ. 2012. *Present knowledge in nutrition*. Wiley-Blackwell Publishing, Hong Kong.
- Fabris N. 1994. Neuroendocrine-immune aging: an integrative view on the role of zinc. *Annals of the New York Academy of Sciences* **719**:353–68.
- Fan H, Yang J, Liu L, et al. 2017. Effect of serum albumin on the prognosis of elderly patients with stage 3–4 chronic kidney disease. *International Urology and Nephrology* **49**: 859–865.
- Fisher JS, Van-Pelt RE, Zinder O, et al. 2001. Acute exercise effect on post absorptive serum leptin. *European Journal of Applied Physiology* **91**:680–686.
- Fischer PW, Giroux A, L'Abbé MR. 1981. The effect of dietary zinc on intestinal copper absorption. *The American Journal of Clinical Nutrition* **34**:1670–1675.
- Flanagan PR, Haist J, Valberg LS. 1980. Comparative effects of iron deficiency induced by bleeding and a low-iron diet on the intestinal absorptive interactions of iron, cobalt, manganese, zinc, lead and cadmium. *Journal of Nutrition* **110**:1754–1763
- Flanagan PR, McLellan JS, Haist J, Cherian G, Chamberlain MJ, Valberg LS. 1978. Increased dietary cadmium absorption in mice and human subjects with iron deficiency. *Gastroenterology* **74**:841–846.
- Flick DF, Kraybill HF, Dimitroff JM. 1971. Toxic effects of cadmium: A review. *Environment Research* **4**:71.
- Forbes JM, Cooper ME. 2013. Mechanisms of diabetic complications. *Physiological Reviews* **93**:137–188.
- Freake HC, Govoni KE, Guda K, Huang C, Zinn SA. 2001. Actions and interactions of thyroid hormone and zinc status in growing rats. *Journal of Nutrition* **131**:1135–41.
- Freiberg L, Piscator M, Nordberg G. 1971. *Cadmium in the environment*. CRC Press, Cleveland
- Ghazaghi, Mehri M, Kasmani FB. 2014. Effects of dietary *Mentha spicata* on performance, blood metabolites, meat quality and microbial ecosystem of small intestine in growing Japanese quail. *Animal Feed Science and Technology* **194**:89-98.

- Godt J, Scheidig F, Grosse-Siestrup C, Esche V, Brandenburg P, Reich A, Groneberg DA. 2006. The toxicity of cadmium and resulting hazards for human health. *Journal of Occupational Medicine and Toxicology* **10**(1):22.
- Gorriz A, Llacuna S, Riera M, Nadal J. 1996. Effects of air pollution on hematological and plasma parameters in *Apodemus sylvaticus* and *Mus musculus*. *Archives of environmental contamination and toxicology* **31**:153–158.
- Goyer RA. 1997. Toxic and essential metal interactions. *Annual Review of Nutrition* **17**:37–50.
- Gunshin H, Mackenzie B, Berger UV, Gunshin Y, Romero MF, Boron WF, Nussberger S, Gollan JL, Hediger MA. 1997. Cloning and characterization of a mammalian proton-coupled metal-ion transporter. *Nature* **388**:482–488.
- Hall SK. 1972. Pollution and poisoning. *Environmental Science & Technology* **6**:31.
- Hampel R, Kuhlberg T, Schneider KP, Glass A, Zollner H. 1997. Serum zinc levels and goitre epidemiology in Germany. *Z Ernährungswiss* **24**:12–5.
- Hawkes WC, Alkan FZ, Oehler L. 2003. Absorption, distribution and excretion of selenium from beef and rice in healthy North American men. *Journal of Nutrition* **133**:3434–3442.
- He ZL, Yang XE and Stoffella PJ. 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **19**:125–140.
- Hejazy M, Koochi MK. 2017. Effects of nano-zinc on biochemical parameters in cadmium exposed rats. *Biological Trace Elements Research* **180**:265-274.
- Helmbj H. 2015. Human helminth therapy to treat inflammatory disorders - where do we stand?. *BMC Immunology* **16**:12.
- Hizukuri S, Takeda Y, Shitaozono T, Abe J, Ohtakara A, Takeda C, et al. 1988. Structure and properties of water chestnut (*Trapa natans* L. var. *bispinosa* Makino) starch. *Starch – Stärke* **40**: 165–171.
- Hunter DJ, Morris JS, Chute CG, Kushner E, Colditz GA, Stampfer MJ, Speizer FE, Willett WC. 1990. Predictors of selenium concentration in human toenails. *American Journal of Epidemiology* **132**:114–122.
- Hussain AI, Anwar F, Shahid M, Ashraf M, Przybylski R. 2010. Chemical composition and antioxidant and antimicrobial activities of essential oil of spearmint (*Mentha spicata* L.) from Pakistan. *Journal of Essential Oil Research* **22**:78–84.
- Chen MD, Song YM, Lin PY. 2000. Zinc may be a mediator of leptin production in humans. *Life Sciences* **66**:2143–2149.
- Chmielnicka J, Zareba G, Witasik M, Brzezniacka E. 1988. Zinc–selenium interaction in the rat. *Biological Trace Element Research* **15**:267–276.



- Cho WS, Duffin R, Howie SE, Scotton CJ, Wallace WA, MacNee W, Donaldson K. 2011. Progressive severe lung injury by zinc oxide nanoparticles; the role of Zn<sup>2+</sup> dissolution inside lysosomes. *Particle and Fibre Toxicology* **8**(1):27.
- IARC. 1993. Beryllium, cadmium, mercury and exposure in the glass manufacturing industry. International Agency for Research on Cancer, Lyon IARC Monographs on the evaluation of carcinogenic risks to humans 58.
- immunocompetence of white-footed mice (*Peromyscus leucopus*). *Wildlife Disease Association* **40**:173–184.
- Jakovljvic V, Raskovic A, Popovic M, Sabo J. 2002. The effect of Celery and Parsley juice on pharmacodynamic activity of drugs involving cytochrome P450 in their metabolism. *European Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* **27**:153–156.
- Jankovská I, Miholová D, Langrová I, Bejček V, Vadlejch J, Šulc M. 2010. Influence of parasitism on trace element contents in tissues of red fox (*Vulpes vulpes*) and its parasites *Mesocestoides* spp. (Cestoda) and *Toxascaris leonina* (Nematoda). *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **58**(2):469-77.
- Jankovská I, Sloup V, Száková J, Langrová I, Sloup S. 2016. How the tapeworm *Hymenolepis diminuta* affects zinc and cadmium accumulation in a host fed a hyperaccumulating plant (*Arabidopsis halleri*). *Environmental Science and Pollution Research* **23**(19):19126-19133.
- Jankovská I, Sloup V, Száková J, Magdálek J, Horáková B, Langrová I. 2018b. Does zinc overdose in rat diet alter Cu, Fe, Mn, and Zn concentrations in a tapeworm host? *Sientia Agriculturae Bohemica* **49**(2): 98-104.
- Jankovská I, Sloup V, Száková J, Magdálek J, Nechybová S, Peřínková P, Langrová I. 2018a. How tapeworm infection and consumption of a Cd and Zn hyperaccumulating plant may affect Cu, Fe and Mn concentrations in a plant consumer and tapeworm host. *Environmental Science and Pollution Research* **25**: 4190-4196.
- Jarup L, Berglund M, Elinder CG, Nordberg G, Vahter M. 1998. Health effects of cadmium exposure-a review of the literature and a risk estimate. *Scandinavian Journal of Work, Environment & Health* **24**(1):1–51.
- Jarup L. 2003. Hazards of heavy metal contamination. *British Medical Bulletin* **68**:167–182.
- Jemai H, Lachkar HA, Messaoudi I, Kerkeni A. 2010. Effects of zinc pre-treatment on blood glutathione, serum zinc and kidney histological organization in male rats exposed to cadmium. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **24**(4):277–282.
- Jirsa F, Leodolter-Dvorak M, Krachler R, Frank C. 2008. Heavy metals in the nase, *Chondrostoma nasus* (L. 1758), and its intestinal parasite *Caryophyllaeus laticeps* (Pallas 1781) from Austrian rivers: bioindicative aspects. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* **55**(4):619-626.

- Kafka Z, Punčochářová J. 2002. Těžké kovy v přírodě a jejich toxicita. Ústav chemie ochrany prostředí. Vysoká škola chemicko-technologická v Praze. *Chemické Listy* **96**:611-617.
- Kalaivani R, Nandhini L, Seetha KS. 2014. Hymenolepis diminuta infection in a school-going child:  
A rare case report. *American Medicine of Journal* **7(9)**:379–381.
- Kandemir FM, Yildirim S, Caglayan C, Kucukler S, Eser G. 2019. Protective effects of zingerone on cisplatin-induced nephrotoxicity in female rats. *Environmental Science and Pollution Research* **26(22)**: 22562-22574.
- Kandhro G, et al. 2009. Effect of zinc supplementation on the zinc level in serum and urine and their relation to thyroid hormone profile in male and female goitrous patients. *Clinical nutrition (Edinburgh, Scotland)* **28(2)**:162.
- Kaslow JE. 2014. Alkaline phosphatase. <http://www.drkaslow.com/html/alkaline-phosphatase.html>. Accessed 01.04.2014.
- Kawakami K, Aketa S, Nakanami M, Iizuka S, Hirayama M. 2010. Major water-soluble polyphenols, proanthocyanidins, in leaves of persimmon (*Diospyros kaki*) and their  $\alpha$ -amylase inhibitory activity. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **74**: 1380–1385.
- Keser G, Buyuk G. 2012. Effects of waste water irrigation on chemical and physical properties of *Petroselinum capsum*. *Biological Trace Element Research* **143(6)**:369–379.
- Khaled S, Brun JF, Cassanas G et al. 1999. Effects of zinc supplementation on blood rheology during exercise, *Clinical Hemorheology and Microcirculation* **20**:1–10.
- Khalil M, Furness D, Polwart A, Hoole D. 2009. X-ray microanalysis (EDXMA) of cadmium-exposed eggs of *Bothriocephalus acheilognathi* (Cestoda: Bothriocephalidea) and the influence of this heavy metal on coracidial hatching and activity. *International Journal for Parasitology* **39**:1093-1098.
- Khalil M, Furness D, Zholobenko V, Hoole D. 2014. Effect of tapeworm parasitization on cadmium toxicity in the bioindicator copepod, *Cyclops strenuus*. *Ecological indicators* **37**:21-26.
- Klassen CD, Liu J, Diwan BA. 2009. Metallothionein protection of cadmium toxicity. *Toxicology and Applied Pharmacology* **238(3)**:215–220.
- Klouda P. 2016. *Biochemie z blízka*. Pavko, Ostrava.
- Koh TS, Judson GJ. 1986. Trace-elements in sheep grazing near a lead–zinc smelting complex at Port Pirie, South Australia. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* **7**:87–95.
- Kosik-Bogacka DI, Baranowska-Bosiacka I, Kolasa-Wołoskiuk A, Lanocha-Arendarczyk NI, Gutowska J, Korbecki H, Namięta IR. 2016. The inflammatory effect of infection with *Hymenolepis diminuta* via the increased expression and activity of COX-1 and COX-2 in the rat jejunum and colon. *Experimental Parasitology* **169**: 69-76.

- Kralik A, Eder K, Kirchgessner M. 1996. Influence of zinc and selenium deficiency on parameters relating to thyroid hormone metabolism. *Hormone and Metabolic Research* **28**(5):223–6.
- Kreydiyyeh SJ, Usta J. 2002. Diuretic effect and mechanism of action of Parsley. *Journal of Ethnopharmacology* **79**:353–359.
- Kvicala J, Zamrazil V, Soutorova M, Tomiska F. 1995. Correlations between parameters of body selenium status and peripheral thyroid parameters in the low selenium region. *Analyst* **120**:959–965.
- Ledvina M, Stoklasová A, Cerman J. 2009. *Biochemie pro studující medicíny*. Karolinum, Praha.
- Maret W, Sandstead HH. 2006. Zinc requirements and the risks and benefits of zinc supplementation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **20**:3–18.
- Maria L. 2006. *Aromatherapy Science: In a guide for health care professionals*. Wallingford. Medical Pharmaceutical Press.
- Masopust J. 1998. *Klinická biochemie: požadování a hodnocení biochemických vyšetření*. Karolinum, Praha.
- Matouš B. 2010. *Základy lékařské chemie a biochemie*. Galén, Praha
- Matsumoto N, Ishigaki F, Ishigaki A, Iwashina H, Hara Y. 1993. Reduction of blood glucose levels by tea catechin. *Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry* **57**:525–527.
- Maxwell C, Volpe SL. 2007. Effect of zinc supplementation on thyroid hormone function. A case study of two college females. *Annals of Nutrition and Metabolism* **51**:188–94.
- Mesko MF, De Moraes DP, Barin JS, Dressler VL, Knapp G, Flores EMM. 2006. Digestion of biological materials using the microwave-assisted sample combustion technique. *Microchemical Journal* **82**(2):183–8.
- Mizari N, Hirbod-Mobarakeh A, Shahinpour S, Ghalichi-Tabriz M, Beigy M, Yamini A, Dehpour AR. 2012. Effect of subchronic zinc toxicity on rat salivary glands and serum composition. *Toxicology and Industrial Health* **28**:917–922.
- Moschos S, Chan JL, Mantzoros CS. 2002. Leptin and reproductio. *Fertility and Sterility* **77**:433–44.
- Murray RK. 2002. *Harperova biochemie*. H&H, Praha.
- Nakamura K, Nishiyama S, Takata T, Suzuki E, Sugiura Y, Kobayashi T, Chao BY. 1983 Effects of zinc on cadmium-induced alterations in hepatic functions and blood glucose of rats. *Environment Research* **30**(1):175-181.
- Nazifi S, Mansourian M, Nikahval B, Razavi SM. 2009. The relationship between serum level of thyroid hormones, trace elements and antioxidant enzymes in dromedary camel (*Camelus dromedarius*). *Tropical Animal Health and Production* **41**:129–34.

- Neathery MW, Miller WJ. 1975 Metabolism and Toxicity of Cadmium, Mercury, and Lead in Animals: A Review<sup>1</sup>. University of Georgia, Athens
- Nehal M, Belal A. 2011. Hepatoprotective effect of feeding celery leaves mixed with Chicory leaves and Barley Grains to hypercholesterolemic rats. *Asian Journal of Clinical Nutrition* **3**:14–24.
- Nehru B, Iyer A. 1994. Effect of selenium on lead-induced neurotoxicity in different brain regions of adult rats. *Journal of Environmental Pathology, Toxicology and Oncology* **13**:265–268.
- Nelson DL, Cox MM. 2005. *Lehninger principles of biochemistry*. WH Freeman and Company, New York.
- Nunes A, Mathias M, Crespo A. 2001. Morphological and haematological parameters in the Algerian mouse (*Mus spretus*) inhabiting an area contaminated with heavy metals. *Environmental Pollution* **113**:87–93.
- Olivieri O, Girelli D, Stanzial AM, Rossi L, Bassi A, Corrocher R. 1996. Selenium, zinc, and thyroid hormones in healthy subjects: low T3/T4 ratio in the elderly is related to impaired selenium status. *Biological Trace Element Research* **51**(1):31-41.
- Osman K, Schutz A, Akesson B, Maciag A, Vahter M. 1998. Interactions between essential and toxic elements in lead exposed children in Katowice, Poland. *Clinical Biochemistry* **31**:657–665.
- Pappas P, Ruthoford K, Barley A. 1999. Thermal tolerance of *Hymenolepis diminuta* eggs does not limit the parasite's distribution. *Journal of Helminthology* **73**(1):85-86.
- Pappas P. 2000. Allometric growth of the proglottids and strobila of the tapeworm, *Hymenolepis diminuta*. *Journal of Helminthology* **74**(3):259-265.
- Polkowska Z, Kozłowska K, Namiesnik J, Przyjazny A. 2004. Biological fluids as a source of information on the exposure of man to environmental chemical agents. *Critical Reviews in Analytical Chemistry* **34**(2):105–19.
- Popovic D, Kaurinovic B, Jakovljivic V, Mimica-Dukic N, Bursac M. 2007. Effect of *Petroselinum crispum* extracts on some biochemical parameters of oxidative stress in mice treated with carbon tetrachloride. *Phytotherapy Research* **7**:531–537.
- Prasad AS. 1998. Zinc deficiency in humans: a neglected problem. *Journal of the American College of Nutrition* **17**:542–3.
- Propst TL, Lochmiller RL, Qualls Jr. CW, McBee K. 1999. In situ (mesocosm) assessment of immunotoxicity risks to small mammals inhabiting petrochemical waste sites. *Chemosphere* **38**:1049–1067.
- Rahil-Khazen R, Bolann BJ, Ulvik RJ. 2002. Correlations of trace element levels within and between different normal autopsy tissues analyzed by inductively coupled plasma atomic emission spectrometry (ICP-AES). *Biometals* **15**:87–98.

- Ramaiah SK. 2007. A toxicologist guide to the diagnostic interpretation of hepatic biochemical parameters. *Food and Chemical Toxicology* **45**:1551-1557.
- Rogival D, Scheirs J, de Coen W, Verhagen R, Blust R. 2006. Metal blood levels and hematological characteristics in wood mice (*Apodemus sylvaticus* L.) along a metal pollution gradient. *Environmental Toxicology and Chemistry* **25**:149–157.
- Rybka, Vlastimil. 2015. Naše květena: Ottova encyklopedie, Vlhké louky. Ottovo nakladatelství, s.r.o., Praha.
- Řežábková L, Brabec J, Jirků M, Dellerbad M, Kuchta R, Modrý D, Parkerf W, Jirků Pomajbíková K. 2019. Genetic diversity of the potentially therapeutic tapeworm *Hymenolepis diminuta* (Cestoda: Cyclophyllidea). *Parasitology International* **71**:121–125.
- Sanchez-Chardi A, Marques CC, Gabriel SI, Capela-Silva F, Cabrita AS, LopezFuster MJ, Nadal J, Mathias ML. 2008. Haematology, genotoxicity, enzymatic activity and histopathology as biomarkers of metal pollution in the shrew *Crociodura russula*. *Environmental Pollution* **156**:1332–1339.
- Sanchez-Chardi A, Penarroja-Matutano C, Borrás M, Nadal J. 2009. Bioaccumulation of metals and effects of a landfill in small mammals Part III: Structural alterations. *Environmental Research* **109**:960–967.
- Sarret G, Saumitou-Laprade P, Bert V, Proux O, Hazemann JL, Traverse A, Matthew A., Manceau M, Manceau A. 2002. Forms of Zinc Accumulated in the Hyperaccumulator *Arabidopsis halleri*. *Plant physiology* **130**(4): 1815–1826.
- Shirosaki M, Koyama T, Yazawa K. 2012. Apple leaf extract as a potential candidate for suppressing postprandial elevation of the blood glucose level. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* **58**: 63–67.
- Scheirs J et al. 2006. Genotoxicity in wood mice (*Apodemus sylvaticus*) along a pollution gradient: exposure-, age-, and gender-related effects. *Environmental Toxicology and Chemistry* **25**:2154–2162.
- Schneiderka P. 2004. Vybrané kapitoly z klinické biochemie. Karolinum, Praha.
- Schwarz E CMKC. 1993. Cadmium. Umwelt-Survey. WaBoLuHefte.
- Sloup V, Jankovská I, Langrová I, Štolcová M, Sloup S, Nechybová S, Peřínková P. 2016. Changes of some biochemical parameters in rats supplemented with high doses of zinc lactate. *Scientia Agriculturae Bohemica* **21**(4):148-153.
- Sloup V, Jankovská I, Nechybová S, et al. 2017. Zinc in the animal organism: a review. *Scientia Agriculturae Bohemica* **48**(1):13-21.
- Sloup V, Jankovská I, Száková J, Magdálek J, Sloup S, Langrová I. 2018. Effects of tapeworm infection on absorption and excretion of zinc and cadmium by experimental rats. *Environmental Science and Pollution Research* **25**(35): 35464-35470.

- Steve C. 2000. Petroselinium crispum. Available from <http://www.floridata.com/Petroselinium.crispum.html> (assessed August 2012).
- Stoeppler. 1991. Cadmium. In: E M, editor. Metals and their compounds in the environment. Weinheim, Verlag Chemie.
- Sun JY, Wang JF, Zi NT, Jing MY, Weng XY. 2011. Effects of zinc supplementation and deficiency on bone metabolism and related gene expression in rat. *Biological Trace Element Research* **143**:394–402.
- Sures B, Grube K, Taraschewski H. 2002. Experimental studies on the lead accumulation in the cestode *Hymenolepis diminuta* and its final host, *Rattus norvegicus*. *Ecotoxicology* **11**:365–368.
- Suriyagoda L, Arima S, Suzuki A, Hoque MA. 2007. Variation in growth and yield performance of seventeen water chestnut accessions (*Trapa* spp.) Collected from Asia and Europe. *Plant Production Science* **10**:372–379.
- Symonds ME. 2009. Conference on 'Multidisciplinary approaches to nutritional problems' symposium on 'Diabetes and health' nutrition and its contribution to obesity and diabetes: A life-course approach to disease prevention? *Proceedings of the Nutrition Society* **68**:71–77.
- Szybinski Z, Walas S, Zagrodzki P, Sokolowski G, Golkowski F, Mrowiec H. 2009. Iodine, selenium, and other trace elements in urine of pregnant women. *Biological Trace Element Research* **138**:28–41.
- Štěpánová I. 1995. Dusíkaté analyty v klinické biochemii. Institut pro další vzdělávání pracovníků ve zdravotnictví, Brno.
- Tersago K, de Coen W, Scheirs J, Vermeulen K, Blust R, van Bockstaele D, Verhagen R. 2004. Immunotoxicology in wood mice along a heavy metal pollution gradient. *Environmental Pollution* **132**:385–394.
- Tête N, Afonso E, Bouguerra G, Scheifler R. 2015. Blood parameters as biomarkers of cadmium and lead exposure and effects in wild wood mice (*Apodemus sylvaticus*) living along a pollution gradient. *Chemosphere* **138**:940–946.
- Thielen F, Zimmermann S, Baska F, Taraschewski H, Sures B. 2004. The intestinal parasite *Pomphorhynchus laevis* (Acanthocephala) from barbel as a bioindicator for metal pollution in the Danube river near Budapest, Hungary. *Environmental Pollution* **129**(3):421–429.
- Tsujita T, Takaku T. 2008. Mechanism of the inhibitory action of chestnut astringent skin extract on carbohydrate absorption. *Journal of Nutritional Science and Vitaminology* **54**:416–421.
- Tvrzická E, Staňková B, Vecka M, Žák A. 2009. Mastné kyseliny 1. Výskyt a biologický význam. *Časopis lékařů českých* **148**:16–24.

- Velaz s.r.o. 2013. Produkt st-1. Available from [www.velaz.cz/produkt/st-1/](http://www.velaz.cz/produkt/st-1/) (accessed 2013)
- Voet D, Voet J. 1995. Biochemie. Victoria Publishing, Praha
- Volf P, Horák P. Paraziti a jejich biologie. 2007. Triton, Praha.
- Wada L, King JC. 1986. Effect of low zinc intakes on basal metabolic rate, thyroid hormones and protein utilization in adult men. *Journal of Nutrition* **116**:1045–53.
- Wallace R, Oleszek W, Franz C, Hahn I, Baser K, Mathe A, Teichmann K. 2010. Dietary plant bioactives for poultry health and productivity. *British Poultry Science* **51**:461–487.
- Wang Y, Ou Y, Liu YQ, Xie Q, Liu QF, Wu Q, Fan TQ, Yan LL, Wang JY. 2012. Correlations of trace element levels in the diet, blood, urine, and feces in the Chinese male. *Biological Trace Element Research* **145**(2):127-135
- Wang, CCR, Ciou JY, Chiang PY. 2009. Effect of micronization on functional properties of the water caltrop (*Trapa taiwanensis* Nakai) pericarp. *Food Chemistry* **113**:970–974.
- Wangchuk P, Constantinoiu C, Eichenberger RM, Field M, Loukas A. 2019. Characterization of Tapeworm Metabolites and Their Reported Biological Activities. *Molecules* **24**:1480.
- Wegener Parfrey L, Jirků M, Šíma R, Jalovecká M, Sak B, Grigore K, Jirků Pomajbíková K. 2017. A benign helminth alters the host immune system and the gut microbiota in a rat model system. *PLoS One* **1**:22
- Wessells KR, Brown KH. 2012. Estimating the global prevalence of zinc deficiency: results based on zinc availability in national food supplies and the prevalence of stunting. *PLoS One* **7** (e50568). DOI:10.1371/journal.pone.0050568.
- Whitney EN, Rolfes SROV. 2013. Understanding Nutrition. 13th Ed. Wadsworth, Cengage Learning. Australia, Belmont, CA.
- Windisch W. 2002. Interaction of chemical species with biological regulation of the metabolism of essential trace elements. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **372**:421–4257.
- Windisch, W, Schedle K, Plitzner C, Kroismayr A. 2008. Use of phytogenic products as feed additives for swine and poultry. *Journal of Animal Science* **86**:E140–E148.
- Xiong D, Fang T, Yu L, Sima X, Zhu W. 2011. Effects of nano-scale TiO<sub>2</sub>, ZnO and their bulk counterparts on zebrafish: acute toxicity, oxidative stress and oxidative damage. *Science of the Total Environment* **409**(8):1444–1452.
- Yang S, Cheng Y, Wang D, Li X, Lin Ch. 1994. A comparative study on the bioavailability of zinc lactate and zinc gluconate in rats. *Acta Nutrimenta Sinica*. **16**(1):51-55.
- Yang Y, Iji P, Choct M. 2009. Dietary modulation of gut microflora in broiler chickens: a review of the role of six kinds of alternatives to in-feed antibiotics. *World's Poultry Science Journal* **65**:97–114.

- Yasuda M, Yasutake K, Hino M, Ohwatari H, Ohmagari N, Takedomi K, Tanaka T, Nonaka GI. 2014. Inhibitory effects of polyphenols from water chestnut (*Trapa japonica*) husk on glycolytic enzymes and postprandial blood glucose elevation in mice. *Food Chemistry* **165**:42-49.
- Yoneyama S, et al. 2008. Dietary intake and urinary excretion of selenium in the Japanese adult population: the INTERMAP Study Japan. *European Journal of Clinical Nutrition* **62**:1187-1193.
- Younis YM, Beshir SM. 2004. Carvone-rich essential oils from *Mentha longifolia* (L.) Huds. ssp. *schimperii* Briq. and *Mentha spicata* L. grown in Sudan. *Journal of Essential Oil Research* **16**:539-541.
- Zhang ZP, Tian YH, Li R, Cheng XQ, Guo SM, Zhang JX, Wang JJ, Hu L. 2004. The comparison of the normal blood biochemical values of Wistar rats with different age and sex. *Asian Journal of Drug Metabolism and Pharmacokinetics* **4**:215-218.
- Zhao P, et al. 2016. The LIKE SEX FOUR2 regulates root development by modulating reactive oxygen species homeostasis in *Arabidopsis*. *Scientific Reports* **6**:28683.
- Zhenli LH, Xiaoe EY, Peter JS. 2005. Trace elements in agroecosystems and impacts on the environment *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **19**:125-140.
- Zimmermann MB. 2006. The influence of iron status on iodine utilization and thyroid function. *Annual Review of Nutrition* **26**:367-389.



## 9 Samostatné přílohy

Tabulka 1- skupina potkanů 00

| Skupina<br>00     | UA     | Mg     | Ca     | P      | CHOL   | TAG    | ALP    | AST    | UREA   | GLU    | TP    | ALBU  | NEMK   | Zn     |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|
|                   | μmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | μkat/l | μkat/l | mmol/l | mmol/l | g/l   | g/l   | mmol/l | μmol/l |
| Potkan č. 1       | 110,00 | 0,72   | 2,54   | 3,79   | 1,17   | 0,63   | 2,57   | 1,58   | 6,73   | 20,80  | 49,10 | 29,60 | 0,58   | 23,72  |
| Potkan č. 2       | 156,00 | 0,50   | 2,54   | 3,04   | 0,83   | 0,81   | 2,61   | 1,48   | 7,13   | 13,93  | 50,30 | 29,00 | 0,62   | 27,18  |
| Potkan č. 3       | 126,00 | 0,68   | 2,12   | 2,70   | 1,05   | 0,70   | 1,82   | 1,79   | 6,42   | 13,19  | 46,70 | 28,60 | 0,79   | 22,76  |
| Potkan č. 4       | 145,00 | 0,61   | 2,43   | 2,85   | 0,85   | 0,44   | 1,55   | 1,73   | 5,99   | 14,22  | 49,60 | 28,40 | 0,54   | 29,00  |
| Potkan č. 5       | 174,00 | 0,87   | 2,68   | 2,65   | 1,13   | 0,47   | 2,44   | 1,74   | 6,93   | 16,24  | 55,60 | 29,30 | 0,47   | 24,75  |
| Potkan č. 6       | 312,00 | 0,87   | 2,52   | 3,64   | 0,73   | 0,62   | 2,71   | 1,93   | 5,28   | 14,05  | 54,00 | 31,10 | 0,51   | 17,83  |
| Potkan č. 7       | 95,00  | 0,98   | 7,09   | 1,33   | 1,33   | 1,20   | 0,68   | 2,65   | 6,20   | 8,24   | 59,40 | 25,20 | 0,39   | 24,35  |
| Potkan č. 8       | 216,00 | 0,71   | 2,54   | 5,34   | 1,44   | 0,63   | 0,71   | 1,86   | 7,12   | 9,50   | 61,00 | 30,70 | 0,41   | 16,98  |
| Medián            | 150,50 | 0,72   | 2,54   | 2,95   | 1,09   | 0,63   | 2,13   | 1,77   | 6,58   | 13,99  | 52,15 | 29,15 | 0,53   | 24,03  |
| Směr.<br>odchylka | 65,38  | 0,15   | 1,53   | 1,08   | 0,23   | 0,22   | 0,79   | 0,33   | 0,60   | 3,62   | 4,82  | 1,68  | 0,12   | 3,89   |

**Tabulka 2- skupina potkanů OT**

| Skupina OT     | UA     | Mg     | Ca     | P      | CHOL   | TAG    | ALP    | AST    | UREA   | GLU    | TP    | ALBU  | NEMK   | Zn     |
|----------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|
|                | μmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | μkat/l | μkat/l | mmol/l | mmol/l | g/l   | g/l   | mmol/l | μmol/l |
| Potkan č. 1    | 281,00 | 1,15   | 2,40   | 4,07   | 1,08   | 0,34   | 1,02   | 4,72   | 6,66   | 13,35  | 59,90 | 29,70 | 0,48   |        |
| Potkan č. 2    | 413,00 | 1,65   | 2,60   | 4,38   | 1,55   | 0,85   | 1,38   |        | 7,51   | 31,14  | 65,30 | 27,80 | 0,17   |        |
| Potkan č. 3    | 47,00  | 0,86   | 2,37   | 4,95   | 1,29   | 1,32   | 0,86   | 4,71   | 11,34  | 12,94  | 60,60 | 27,80 | 0,60   | 20,62  |
| Potkan č. 4    | 448,00 | 1,54   | 3,12   | 6,30   | 1,59   | 1,09   | 1,49   | 1,55   | 7,61   | 28,29  | 73,20 | 31,40 | 0,30   | 28,64  |
| Potkan č. 5    | 74,00  | 0,55   | 2,53   |        | 1,48   | 0,73   | 2,01   | 1,27   | 7,28   | 17,22  | 61,00 | 31,30 | 0,59   | 22,58  |
| Potkan č. 6    | 44,00  | 0,65   | 2,42   |        | 1,03   | 0,87   | 1,89   | 1,38   | 6,76   | 10,55  | 57,30 | 30,60 | 0,23   | 25,47  |
| Medián         | 177,50 | 1,01   | 2,48   | 4,67   | 1,39   | 0,86   | 1,44   | 1,55   | 7,40   | 15,29  | 60,80 | 30,15 | 0,39   | 24,02  |
| Směr. odchylka | 170,85 | 0,42   | 0,26   | 0,85   | 0,22   | 0,30   | 0,42   | 1,63   | 1,60   | 7,93   | 5,18  | 1,50  | 0,17   | 3,03   |

**Tabulka 3- skupina potkanů P0**

| Skupina P0     | UA     | Mg     | Ca     | P      | CHOL   | TAG    | ALP    | AST    | UREA   | GLU    | TP    | ALBU  | NEMK   | Zn     |
|----------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|
|                | μmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | μkat/l | μkat/l | mmol/l | mmol/l | g/l   | g/l   | mmol/l | μmol/l |
| Potkan č. 1    | 153,00 | 1,14   | 2,41   | 2,84   | 0,93   | 1,06   | 2,45   | 2,17   | 5,19   | 15,88  | 50,40 | 28,00 | 0,53   | 20,95  |
| Potkan č. 2    | 123,00 | 1,07   | 2,66   | 2,47   | 1,07   | 1,48   | 3,47   | 1,89   | 6,67   | 13,81  | 56,50 | 29,10 | 0,49   | 21,47  |
| Potkan č. 3    | 82,00  | 0,80   | 2,48   | 2,87   | 1,08   | 0,91   | 2,30   | 2,17   | 5,93   | 12,66  | 49,40 | 28,10 | 0,60   | 19,22  |
| Potkan č. 4    | 97,00  | 1,02   | 2,64   | 2,27   | 1,17   | 0,88   | 4,75   | 1,58   | 6,42   | 13,79  | 51,90 | 30,80 | 0,57   | 21,03  |
| Potkan č. 5    | 149,00 | 0,81   | 2,59   | 2,23   | 0,96   | 1,13   | 3,15   | 1,55   | 7,35   | 15,08  | 51,50 | 30,00 | 0,43   | 23,46  |
| Potkan č. 6    | 101,00 | 0,61   | 2,55   | 2,28   | 1,17   | 0,70   | 2,44   | 1,39   | 5,79   | 12,23  | 51,90 | 30,10 | 0,52   | 29,00  |
| Medián         | 112,00 | 0,92   | 2,57   | 2,38   | 1,08   | 0,99   | 2,80   | 1,74   | 6,18   | 13,80  | 51,70 | 29,55 | 0,53   | 21,25  |
| Směr. odchylka | 26,57  | 0,18   | 0,09   | 0,27   | 0,09   | 0,24   | 0,85   | 0,31   | 0,69   | 1,27   | 2,23  | 1,04  | 0,05   | 3,15   |

**Tabulka 4- skupina potkanů PT**

| Skupina<br>PT     | UA     | Mg     | Ca     | P      | CHOL   | TAG    | ALP    | AST    | UREA   | GLU    | TP    | ALBU  | NEMK   | Zn     |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|
|                   | μmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | μkat/l | μkat/l | mmol/l | mmol/l | g/l   | g/l   | mmol/l | μmol/l |
| Potkan č. 1       | 72,00  | 1,01   | 2,63   | 2,95   | 1,83   | 0,30   | 1,65   | 1,60   | 9,16   | 17,30  | 54,70 | 33,00 | 0,49   | 20,21  |
| Potkan č. 2       |        | 0,22   | 2,33   | 2,17   | 1,69   | 0,35   | 1,15   | 1,29   | 7,97   | 11,71  | 50,70 | 28,40 | 0,91   | 13,35  |
| Potkan č. 3       | 46,00  | 0,81   | 2,36   | 4,07   | 1,38   | 0,30   | 1,40   | 1,41   | 8,38   | 12,22  | 51,80 | 29,30 | 0,23   | 13,82  |
| Potkan č. 4       | 190,00 | 0,94   | 2,45   | 2,75   | 1,72   | 0,41   | 1,60   | 1,41   | 11,01  | 9,01   | 55,80 | 32,00 | 0,36   | 13,17  |
| Potkan č. 5       | 177,00 | 0,93   | 2,66   | 2,99   | 1,95   | 0,32   | 1,50   | 1,39   | 9,11   | 16,22  | 59,80 | 32,70 | 0,25   | 16,04  |
| Potkan č. 6       | 39,00  | 0,41   | 2,54   | 2,59   | 1,72   | 0,43   | 1,39   | 1,08   | 7,94   | 18,43  | 54,10 | 31,20 | 0,09   | 13,54  |
| Medián            | 72,00  | 0,87   | 2,50   | 2,85   | 1,72   | 0,34   | 1,45   | 1,40   | 8,75   | 14,22  | 54,40 | 31,60 | 0,31   | 13,68  |
| Směr.<br>odchylka | 65,32  | 0,30   | 0,13   | 0,58   | 0,17   | 0,05   | 0,16   | 0,16   | 1,05   | 3,38   | 2,94  | 1,71  | 0,26   | 2,51   |

**Tabulka 5- skupina potkanů MT**

| Skupina<br>MT     | UA     | Mg     | Ca     | P      | CHOL   | TAG    | ALP    | AST    | UREA   | GLU    | TP    | ALBU  | NEMK   | Zn     |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|
|                   | μmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | μkat/l | μkat/l | mmol/l | mmol/l | g/l   | g/l   | mmol/l | μmol/l |
| Potkan č. 1       | 170,00 | 1,26   | 2,30   | 4,61   | 1,78   | 1,09   | 1,17   | 1,66   | 7,15   | 12,23  | 56,10 | 21,50 | 0,21   | 24,54  |
| Potkan č. 2       | 84,00  | 0,35   | 2,53   |        | 1,68   | 0,01   | 0,82   | 1,97   | 8,77   | 16,06  | 63,40 | 30,40 | 0,29   | 27,33  |
| Potkan č. 3       | 117,00 | 0,61   | 2,19   | 5,28   | 1,25   | 1,79   | 1,19   | 1,39   | 7,87   | 16,96  | 60,90 | 30,80 | 0,54   | 0,00   |
| Potkan č. 4       | 194,00 | 0,33   | 1,74   |        | 1,35   | 0,68   | 0,78   | 1,73   | 7,35   | 14,18  | 63,60 | 28,40 | 0,41   | 20,71  |
| Potkan č. 5       | 66,00  | 0,59   | 2,49   | 7,14   | 1,19   | 1,49   | 2,45   | 1,00   | 9,13   | 10,37  | 58,70 | 28,00 | 0,21   | 23,42  |
| Potkan č. 6       | 398,00 | 1,54   | 2,53   | 5,99   | 1,12   | 2,20   | 1,77   | 1,33   | 6,94   | 31,60  | 68,40 | 34,50 | 0,64   | 33,21  |
| Medián            | 143,50 | 0,60   | 2,40   | 5,64   | 1,30   | 1,29   | 1,18   | 1,53   | 7,61   | 15,12  | 62,15 | 29,40 | 0,35   | 23,98  |
| Směr.<br>odchylka | 110,73 | 0,46   | 0,28   | 0,94   | 0,25   | 0,72   | 0,58   | 0,31   | 0,82   | 6,94   | 3,92  | 3,94  | 0,16   | 10,38  |

Tabulka 6- skupina potkanů M0

| Skupina<br>M0     | UA     | Mg     | Ca     | P      | CHOL   | TAG    | ALP    | AST    | UREA   | GLU    | TP    | ALBU  | NEMK   | Zn     |
|-------------------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|--------|-------|-------|--------|--------|
|                   | μmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | mmol/l | μkat/l | μkat/l | mmol/l | mmol/l | g/l   | g/l   | mmol/l | μmol/l |
| Potkan č. 1       | 42,00  | 0,60   | 2,29   | 3,60   | 1,07   | 0,20   | 2,12   | 3,88   | 5,60   | 7,79   | 50,30 | 27,80 | 0,36   | 23,67  |
| Potkan č. 2       | 53,00  | 0,53   | 2,04   | 2,50   | 1,23   | 0,16   | 1,22   | 2,80   | 5,83   | 5,37   | 40,70 | 25,30 | 0,46   | 31,95  |
| Potkan č. 3       | 167,00 | 0,96   | 2,52   | 3,09   | 1,95   | 0,42   | 2,23   | 2,50   | 5,43   | 3,89   | 52,20 | 29,40 | 0,93   | 21,71  |
| Potkan č. 4       | 44,00  | 0,63   | 1,70   | 6,90   | 1,17   | 0,22   | 1,26   | 1,38   | 4,14   | 4,81   | 39,30 |       | 0,82   | 28,30  |
| Potkan č. 5       | 275,00 | 0,89   | 2,69   | 8,39   | 1,89   | 0,49   | 2,03   | 3,73   | 6,39   | 4,86   | 57,00 | 32,80 | 1,32   | 23,32  |
| Potkan č. 6       | 82,00  | 0,57   | 2,05   | 7,13   | 0,77   | 0,29   | 1,43   | 7,08   | 6,67   | 8,44   | 46,40 | 25,00 | 0,67   | 40,49  |
| Potkan č. 7       | 157,00 | 0,74   | 2,18   | 5,67   | 1,66   | 0,13   | 0,97   | 2,04   | 8,10   | 9,51   | 39,30 | 24,80 | 0,16   | 23,23  |
| Potkan č. 8       | 114,00 | 0,74   | 1,95   | 8,60   | 1,96   | 0,39   | 1,16   | 5,99   | 7,96   | 16,31  | 59,10 | 29,50 | 0,50   | 22,96  |
| Potkan č. 9       | 88,00  | 0,58   | 2,32   |        | 2,24   | 0,33   | 1,61   | 3,25   | 11,47  | 13,29  | 68,20 | 36,50 | 0,66   |        |
| Potkan č.<br>10   | 101,00 | 0,61   | 2,73   | 6,33   | 1,76   | 1,52   | 1,11   | 1,79   | 7,71   | 12,65  | 65,20 | 30,10 | 0,29   | 24,07  |
| Potkan č.<br>11   | 187,00 | 0,80   | 2,36   |        | 1,78   | 1,46   | 1,02   | 1,45   | 7,07   | 12,00  | 63,90 | 25,80 | 0,23   | 22,20  |
| Potkan č.<br>12   | 184,00 | 1,05   | 2,74   |        | 1,06   | 1,30   | 1,34   | 1,16   | 8,84   | 14,99  | 61,30 | 30,70 | 0,40   | 26,96  |
| Medián            | 107,50 | 0,69   | 2,31   | 6,33   | 1,71   | 0,36   | 1,30   | 2,65   | 6,87   | 8,98   | 54,60 | 29,40 | 0,48   | 23,67  |
| Směr.<br>odchylka | 67,80  | 0,16   | 0,32   | 2,13   | 0,44   | 0,50   | 0,42   | 1,78   | 1,83   | 4,11   | 9,98  | 3,49  | 0,32   | 5,37   |