

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

BRNO 2017

VALEČKOVÁ ELIŠKA



**Vliv hroznových semínek na krevní parametry
laboratorních potkanů**
Diplomová práce

Vedoucí práce:
Ing. Pavel Horký, Ph.D.

Vypracovala:
Bc. Eliška Valečková

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci: „Vliv hroznových semínek na krevní parametry laboratorních potkanů“ vypracovala samostatně a veškeré použité prameny a informace uvádím v seznamu použité literatury. Souhlasím, aby moje práce byla zveřejněna v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., o vysokých školách ve znění pozdějších předpisů a v souladu s platnou *Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací*.

Jsem si vědoma, že se na moji práci vztahuje zákon č. 121/2000 Sb., autorský zákon, a že Mendelova univerzita v Brně má právo na uzavření licenční smlouvy a užití této práce jako školního díla podle § 60 odst. 1 autorského zákona.

Dále se zavazuji, že před sepsáním licenční smlouvy o využití díla jinou osobou (subjektem) si vyžádám písemné stanovisko univerzity, že předmětná licenční smlouva není v rozporu s oprávněnými zájmy univerzity, a zavazuji se uhradit případný příspěvek na úhradu nákladů spojených se vznikem díla, a to až do jejich skutečné výše.

V Brně dne:

.....

podpis

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych ráda poděkovala Ing. Pavlu Horkému, Ph.D., vedoucímu mé diplomové práce, za odborné vedení, poskytnutí konzultací, pomoci a rad, díky kterým jsem diplomovou práci mohla vypracovat. Dále bych ráda poděkovala autorům knih a článků, ze kterých jsem měla možnost čerpat informace pro svou práci. Děkuji i svým rodičům za to, že mi umožnili studium na vysoké škole a všem, kteří mi byli při studiu oporou.

Abstrakt

Cílem této diplomové práce bylo experimentálně stanovit vliv hroznových semen (jejich biologicky aktivních substancí) na krevní parametry laboratorních potkanů. Experiment byl prováděn v laboratořích Mendelovy univerzity na konci roku 2015. Čtyři skupiny laboratorních potkanů byly napájeny; 1) vodou, 2) vodou s extraktem z hroznových semen, 3) vodou s přídavkem kadmia a extraktu z hroznových semen, 4) vodou s kadmii. Polovina pokusných zvířat byla usmrcena po 14 dnech trvání pokusu a druhá polovina po 28 dnech. Byly odebrány vzorky krve, které byly následně analyzovány veterinární laboratoří VLAB. Výsledky byly vyhodnoceny a vzájemně porovnány. Z experimentu vyplynulo, že na základě získaných výsledků nelze jednoznačně doporučit zkrmování hroznových semen pro jejich ochranný efekt proti poškození organismu způsobené kadmii, jelikož tato vlastnost nebyla prokázána.

Klíčová slova: hroznová semena, hroznový extrakt, těžké kovy, kadmium, krevní parametry

Abstract

The aim of this master thesis was to experimentally determine the effect of grape seeds (their metabolically active compounds) on blood parameters of laboratory rats. The experiment was conducted in a laboratory of The Mendel University, Brno in late 2015. Four groups of laboratory rats were supplied with; 1) water, 2) water in combination with grape seed extract, 3) water with grape seed extract and cadmium, 4) water in combination with cadmium. Half of the laboratory animals were killed after 14 days and second half were killed after 28 days. Blood samples were analyzed in the veterinary laboratory (VLAB). The results were evaluated and compared. From our results, we can assume that feeding grape seed extract for its protective effect against damage of organism caused by cadmium, cannot be recommended because this effect was not proved.

Keywords: grape seeds, grape seed extract, heavy metals, cadmium, blood parameters

OBSAH

1	ÚVOD.....	8
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED	9
2.1	Réva vinná.....	9
2.2	Metabolicky účinné látky v hroznových semenech	11
2.2.1	Fenolické látky.....	11
2.2.2	Flavonoidy	12
2.2.3	Antokyany.....	13
2.2.4	Flavanoly	13
2.2.5	Resveratrol	13
2.3	Analyzované krevní parametry potkanů	15
2.4	Enzymy	24
2.5	Těžké kovy.....	25
2.5.1	Kadmium	26
2.5.2	Znečištění životního prostředí	26
2.6	Volné radikály.....	27
2.7	Antioxidanty.....	28
2.8	Využití hroznových semen.....	29
3	CÍL PRÁCE.....	31
4	MATERIÁL A METODIKA	32
4.1	Biologické vzorky	32
4.2	Průběh pokusu.....	32
4.3	Analýza vzorků	33
4.4	Statistická analýza.....	33
5	VÝSLEDKY.....	34
5.1	Vliv různých hladin hroznového extraktu a kadmia na minerální profil	34
5.2	Vliv různých hladin hroznového extraktu a kadmia na enzymatický profil	35
5.3	Vliv různých hladin hroznového extraktu a kadmia na krevní profil	36
6	DISKUZE.....	38
7	ZÁVĚR.....	41
8	POUŽITÁ LITERATURA.....	42
9	SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ	49
10	SEZNAM ZKRATEK	50

1 ÚVOD

Réva vinná (*Vitis vinifera* L.) je jednou z nejstarších kulturních rostlin, jež byla člověkem pěstována. Kořeny domestikované odrůdy *V. vinifera* subsp. *vinifera* (ušlechtilá réva vinná) nejsou jednoznačně vysvětleny. Spekuluje se, že vznikla šlechtěním divoké lesní révy vinné (*V. vinifera* subsp. *sylvestris*), avšak někteří autoři toto tvrzení zpochybňují a původ této rostliny odvozují od dnes již vyhynulých třetihorních druhů. Ty se vyskytovaly v euroasijské oblasti a datují se do období před více než 65 miliony let.

Původní volně rostoucí réva lesní se vyznačuje velkou rozmanitostí chuti, barvy, velikosti i tvaru bobulí hroznů. Díky své vysoké heterozygotnosti mohly postupně vznikat tisíce kulturních odrůd révy vinné, a to jak samovolným křížením, tak i jako kultivary šlechtěním.

Z květenství po opylení a oplození vzniká hrozen. Ten se skládá ze stopky, trápiny a bobulí. Bobule je plodem, který se vyvíjí z pletiv vajíčka a je složena ze tří hlavních částí – slupky, dužniny a semen (jejichž počet je závislý na mnoha faktorech).

Hroznová semena vinných rév obsahují značné množství proanthocyanidinů, jež jsou hlavními polyfenoly obsažených v hroznech. Substance obsahující výtažky z hroznových semen jsou obvykle standardizovány na základě jejich obsahu proanthocyanidinů. Tyto látky jsou silnými antioxidanty, jež ničí volné radikály a chrání lipidy před oxidací.

Hroznové víno a produkty z něj jsou konzumovány od nepaměti. Studie prokázaly pozitivní vliv příjmu hroznů a produktů z nich vyrobených na onemocnění jako je například ischemická choroba srdeční. Příznivé účinky hroznů na zdraví jsou přisuzovány zejména bioaktivitě jejich fenolů. Antokyany, flavonoidy a resveratrol jsou hlavními funkčními složkami, které jsou zodpovědné za většinu biologické aktivity hroznů. Mnoho vědeckých prací prokázalo, že tyto složky mají antioxidační, kardioprotektivní, protizánětlivý a antimikrobiální účinek, který úzce souvisí s prevencí proti mnoha chorobám. I díky těmto vlastnostem se hrozny a hroznová semínka stávají zajímavými pro farmakologický i krmivářský průmysl.

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Réva vinná

Réva vinná je popínavou dřevnatou liánou, která se k oporám přichycuje pomocí úponků. V přírodě může dosahovat výšky až 30 m, avšak rostliny kulturních odrůd vinaři nenechávají dožít takového stáří, aby do této výšky dorostly. Maximální vzrůst rostlin je většinou okolo 4 m. Kořeny mohou být dlouhé přes 10 m a listy mají okrouhlý tvar o průměru 15 cm s třemi až pěti laloky. Kůra kmene má světlehnědou barvu, letorosty sytě červenohnědou či žlutohnědou a květy jsou žlutozelené. Zatímco divoké odrůdy (*V. vinifera* subsp. *sylvestris*) jsou dvoudomé, kulturní odrůdy (*V. vinifera* subsp. *vinifera*) bývají jednodomé. Plodem je bobule kulovitého či vejčitého tvaru o průměru 0,5-1,5 cm a délce až 2,5 cm. Divoké odrůdy mívají bobule drobnější. Barevná škála bobulí je velmi rozmanitá – od žluté, zelenožluté, zelené až po červenou či tmavofialovou (Kraus et al., 2008).

Kulturní formy jsou pěstovány na vinicích, kde vyžadují teplé a dobře propustné půdy, které jsou bohaté na živiny. Za ideální jsou považovány svahy s jižní expozicí, jelikož u svahů orientovaných na východ hrozí větší nebezpečí přízemních mrazů. Optimální množství srážek se pohybuje okolo 600 mm ročně. V Česku se réva vinná pěstuje v oblastech s nižším úhrnem, okolo 450 mm. Přívalové deště, krupobití i rosa během léta představují pro vinice hrozbu, jelikož zvyšují riziko plísňových infekcí (Myšičková, 2015).

Réva vinná je ekonomicky velmi významnou plodinou v celosvětovém měřítku. Plocha světových vinic čítá 7,66 milionu hektarů – z toho největší rozlohu zauímají vinice evropské (57,9 %), dále asijské (21,3 %) a americké (13 %). Proto mezi deset největších vinařských zemí spadají především země evropské. Česká republika se řadí mezi malé vinařské země, ale vzhledem k narůstající oblibě a spotřebě vína je zde předpoklad pro další rozvoj vinohradnictví. Naše republika náleží mezi severně položené vinařské oblasti Evropy a zařazuje se mezi státy s takzvanou "cool climate viticulture", tedy vinohradnictví chladného podnebí. Pro tyto oblasti jsou typické nejen nižší průměrné teploty ve vegetačním období a čtenější výskyt period s mrazovými teplotami, ale jsou také spojovány s příznivými podmínkami pro dozrávání hroznů. Při jejich zrání se totiž střídají nízké noční teploty s vyššími denními, což příznivě působí na proces dozrávání – zejména na vývoj fenolických a aromatických látek.

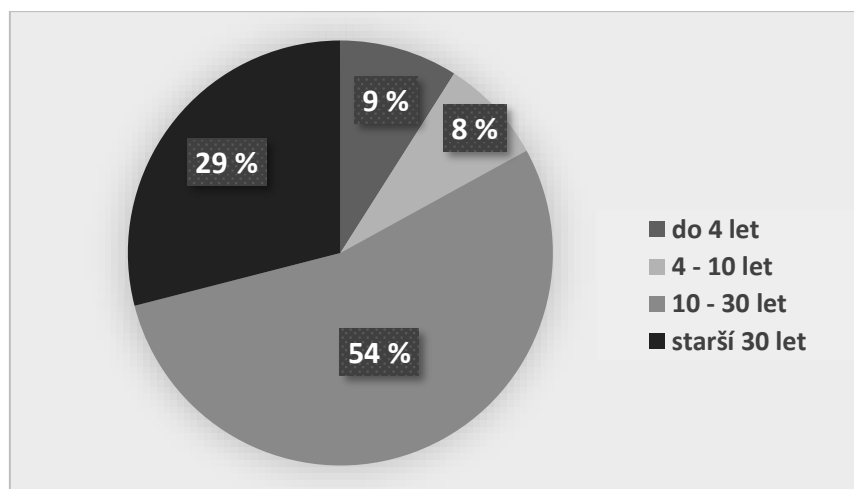
Vinařské oblasti v České republice se proto vyznačují kvalitními podmínkami pro pěstování révy vinné (Pavloušek, 2011).

Na území České republiky se réva vinná pěstuje ve vinařských oblastech Čechy a Morava. V Čechách se nachází jen malý podíl vinic, hlavně v okolí Polabí, Mostu, Kutné Hory a Karlštejna. Vinařská oblast Čechy zahrnuje dvě podoblasti – Litoměřickou a Mělnickou. Pro vinohradnictví je však zásadní oblast Moravy, která tvoří více než 96 % vinic nacházejících se na území Česka. Je členěna na podoblast Mikulovskou, Znojenskou, Velkopavlovickou a Slováckou. Produkční potenciál České republiky je 19,6 tisíc hektarů. Osázená plocha v současnosti dosahuje zhruba 17,7 tisíc hektarů s průměrným výnosem okolo 5,7 tun na hektar a obhospodařuje ji více než 19 000 pěstitelů (Kraus et al., 2008).

Jednotlivé vinice se nachází ve viničních tratích, jež přísluší vinařským obcím. V České republice existuje celkem 377 vinařských oblastí, z nichž největšími jsou Velké Bílovice, Čejkovice a Valtice (Pavloušek, 2011).

V roce 2015 bylo v ČR vysazeno téměř 435 hektarů nových vinic. Dle údajů Českého statistického úřadu bylo v roce 2015 sklizeno celkem 90 608 tun hroznů révy vinné, což je téměř o 43 % více než v roce předchozím. Věková struktura českých vinic čítá přes 60 % vinic v plné plodnosti. Optimální stáří je dle odborníků do 30 let rostliny, kdy mají vinice jak kvalitativně, tak kvantitativně stabilní výnosy. Necelých 10 % vinic představují vinice mladé, které ještě nedosáhly plné plodnosti. Zbylých téměř 30 % připadá na vinice staré (30 a více let), které jsou stále schopné dosahovat dobré úrody, ale je mnohem složitější udržovat je v dobré kondici (Bublíková et al., 2016).

Graf 1: Grafické zobrazení věkové struktury vinic v ČR k 31. 12. 2015



Zdroj: Situační a výhledová zpráva réva vinná a víno 2016, MZe

2.2 Metabolicky účinné látky v hroznových semenech

Hroznové víno je rostlina bohatá na fenolické látky, které se vyskytují zejména ve slupce, stopkách, listech a hroznových semínkách, zatímco dužina je na tyto látky poměrně chudá (Ali et al., 2010).

Semena révy vinné náleží k typu anatropních semen. Zralé semeno mívá hruškovitý tvar s prodlouženým zobáčkem. Délka semen obvykle bývá 3-8 mm, šířka 3-5 mm a tvoří 0-6 % z celkové hmotnosti bobule. Semena jsou významným zdrojem fenolických látek (20-55 %), díky čemuž mají význam pro kvalitu modrých hroznů a červených vín. Morfologie semen je vlastností odrůdovou. Počet semen v bobuli a jejich hmotnost může být různá v závislosti na oblasti, ošetřování vinice a ročníku. Potenciální velikost bobulí je odrůdovou vlastností a je ovlivňována dalšími faktory jako je počet semen v bobuli, světlem, teplotou a zásobování vodou (Diakou-Verdin et al., 2002).

Antokyany, flavonoidy a resveratrol patří mezi nejdůležitější polyfenoly hroznových semen díky své biologické aktivitě. Jsou jim přisuzovány antioxidační, kardioprotektivní, protizánětlivé a antimikrobiální vlastnosti (Bertelli a Das, 2009).

2.2.1 Fenolické látky

Fenolické sloučeniny jsou velice rozsáhlou skupinou sekundárních rostlinných metabolitů a předpokládá se, že 40 % veškerého organicky vázaného uhlíku, který se vyskytuje v biosféře je tvořeno fenolickými strukturami. Ty se vyskytují v rostlinných organismech živých i v jejich odumřelých částech, které se rozkládají a vytvářejí tak životodárnou půdu pro svou vlastní potřebu i pro mnohé mikroorganismy (Ali et al., 2010).

Fenolické sloučeniny mají důležitou roli při růstu a rozmnožování rostlin a poskytují ochranu před patogeny. Rostlinám slouží jako obranné látky chránící před chladem, infekcemi, škůdci, stresem a mechanickým poškozením. Dále jsou stavebně strukturními složkami a jako signální složky lákají opylovače – vonné, barevné a chuťové látky květů a plodů podněcují vznik symbiózy s jinými organismy (Vaquero et al., 2007).

Ve složení fenolických látek a jejich obsahu v hroznech existuje značný meziodrůdový rozdíl. Odpovídají za mnoho důležitých charakteristik vína, a to především za barvu, tříslovitý a hořký chuťový projev a za antioxidační vlastnosti.

Fenolické látky vykazují významnou proměnlivost ve struktuře a dělí se na flavonoidy a neflavonoidy (Pavloušek, 2011).

2.2.2 Flavonoidy

Flavonoidy patří společně s karotenoidy a tetrapyroly ke skupině nejdůležitějších přírodních pigmentů. Další flavonoidní sloučeniny jsou významné svou chutí či biologickými účinky. Tato velice rozsáhlá rodina přírodních fenolů v současnosti čítá více než 6 000 různých druhů flavonoidů a jejich počet díky rozsáhlým výzkumům stále stoupá (Jaganath et al., 2009).

Flavonoidní glykosidy se nacházejí zejména v květech, listech a ve vnějších částech rostliny – pokožce a slupce. Jejich koncentrace se snižuje směrem k vnitřním strukturám. Jen stopové množství flavonoidů se nachází v podzemních částech rostliny. Jejich distribuce v rostlině je závislá na dostupnosti světla, jelikož jejich tvorba je jím urychlována (Aherne et al., 2002).

Mezi zdroje flavonoidních sloučenin patří zejména ovoce a zelenina. Nejčteněji zastoupenými flavonoidy v ovoci jsou katechiny – jejich nejbohatším zdrojem jsou hrozny modrých odrůd révy vinné. Katechiny, proanthokyanidiny a flavanoly se vyskytují v plodech ovoce, zejména v jejich dužnině (Andersen et al., 2006).

Flavonoidy zastupují nejvýznamnější skupinu fenolických látek révy vinné a jsou obsaženy zejména v hroznových semínkách a ve stopkách. V hroznech se nacházejí dvě hlavní skupiny flavonoidů – antokyany a flavanoly. Mezi významné flavanoly (jež mají schopnost působit jako ochrana před UV zářením) révy vinné se řadí katechin, epikatechin, epigallokatechin a epikatechin galát (Yilmaz a Toledo, 2006).

Tabulka 1: Rozdělení flavonoidů a zastoupení v potravinových zdrojích

Flavonoidy – podtřída	Flavonoidy	Některé běžné potravinové zdroje
Antokyany	cyanidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin, petunidin	modré hrozny, červené víno, jahody
Flavanoly	katechin, epikatechin, epigallokatechin, epikatechin galát	čaje, vinné hrozny a červené víno, jahody a jablka

Zdroj: Higdon a Frei (2003), Flavonoids and related compounds

2.2.3 Antokyany

Antokyany jsou fenolické flavonoidní látky. Pigmenty těchto látek jsou ve vodě rozpustné a nacházející se ve vakuolách některých buněk. Patří tedy ke třídě flavonoidů a v rostlinách se vyskytují ve formě glykosidů. Barva antokyanů se mění podle hodnoty pH. V kyselém prostředí jsou červené, v zásaditém modré a v neutrálním prostředí fialové. V přírodě jsou značně rozšířeny – způsobují zabarvení květů, listů i plodů (Ali et al., 2010).

Antokyanová barviva se nalézají především u modrých odrůd hroznů – ve většině případů ve vakuolách buněk ve slupce, u některých lze najít zbarvenou i dužninu (takové odrůdy se nazývají barvířky). Základem barviv u modrých odrůd jsou antokyanidiny – cyanidin, delphinidin, malvidin, pelargonidin, peonidin a petunidin. V hroznech jsou však antokyanidiny nestabilní a vyskytují se proto jako antokyany vázané na glukózu, která je stabilizuje. Antokyany se tvoří v průběhu zrání hroznů a jejich obsah v bobulích bývá ovlivněn pěstitelskými podmínkami, ročníkem a extrakcí během výroby vína. Složení antokyanů, které vznikají ve slupce bobulí v průběhu dozrávání, se mění podle odrůdy. Každá má tedy vlastní vzorec těchto sekundárních metabolitů, které lze využít pro klasifikaci odrůd (Vaquero et al., 2007).

2.2.4 Flavanoly

Pro chuťové vlastnosti a strukturu vína mají význam flavan-3-oly a jejich polymery, které jsou označovány jako taniny (trísloviny). Slupka a semeno obsahují jednoduché flavan-3-oly – katechin, epikatechin, epikatechin galát a epigallokatechin. Třapina obsahuje taniny také, ovšem pouze v množství do 5 % celkových taninů v hroznech (Souquet et al., 2000).

Taniny (trísloviny) se ve víně rozdělují na dvě skupiny – hydrolyzované a kondenzované. Hydrolyzované taniny nemají původ v hroznech a pro pěstitele révy vinné jsou důležité zejména taniny kondenzované, které se nacházejí se ve slupkách, semenech a třapinách (Myšičková, 2015).

2.2.5 Resveratrol

Resveratrol (3,5,4'-trihydroxystilben) je polyfenolická látka a derivát stilbenu patřící mezi fytoalexiny, tedy nízkomolekulární látky, jež mají antimikrobiální vlastnosti. Vznikají díky vzájemnému působení mezi rostlinou a mikroorganismem a vyznačují se pozitivními zdravotními účinky. Resveratrol obsahuje dvojnou vazbu v postranním

řetězci, díky čemuž se může vyskytovat ve formě cis i trans konfigurace – trans konfigurace je ovšem častější (Orallo, 2006).

Resveratrol se vyskytuje ve formě glukosidů, kde β -glukosyloxy skupina je vázána v poloze 3 nebo v poloze 4. V rostlinném materiálu jsou také přítomny oligomery resveratrolu, tzv. *konstitutivní stilbeny*, které jsou jeho oxidačními produkty. Spadá sem dimer resveratrolu ϵ -viniferin a trimer α -viniferin (Walle, 2011).

Fytoalexiny neboli „přírodní antibiotika“ jsou antimikrobiální a antioxidační sekundární metabolity rostlin, které jsou syntetizovány v rostlinách a akumulují se v oblasti infekcí jako reakce na stres po napadení houbami, viry, bakteriemi, po mechanickém poškození či působení UV záření. Některé fytoalexiny mají antifungální či antibakteriální účinnost, zatímco jiné jsou při dané infekci neúčinné. Nejsou tedy svým účinkem ekvivalentní protilátkám, které tvoří vyšší organismy při infekcích (Martín, 2006).

Resveratrol poskytuje révě vinné přirozenou ochranu proti plísňovým chorobám, slouží jako ochrana před ultrafialovým zářením a chrání rostlinu před oxidačním stresem. Rostliny jej produkují při stresové situaci či napadení parazitem (bakterií, houbou). Jeho nejvyšší koncentrace však není patrná v místě infekce, ale v jejím nejbližším okolí. Dochází k vytvoření „resveratrolové bariéry“, která rostlinu chrání před oxidačními účinky metabolismu parazitů. Po napadení révy vinné plísní lze pozorovat, jak rostlina vytváří bariéru okolo centra napadení. V místě postižení je koncentrace resveratrolu nízká, zatímco jeho maximální hladiny (až 4x vyšší než v napadeném místě) se nachází v okolní zóně (Baur a Sinclair, 2006).

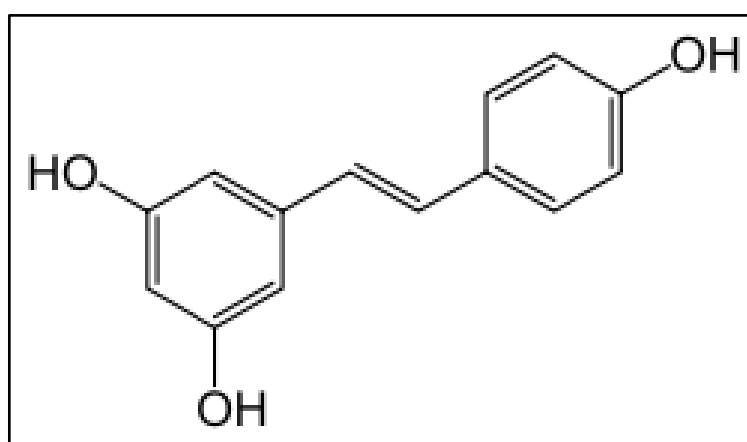
Modré odrůdy révy vinné obsahují resveratrolu a fenolických látek více než odrůdy bílé. Na obsah těchto látek mají však vliv i půda, stresové podmínky a doba sklizně hroznů (Bertelli, 2009).

Resveratrol byl poprvé izolován z podzemní části rostliny *Veratrum grandiflorum*. Od té doby byl nalezen ve více, než 70 rostlinných druzích a s postupným zdokonalováním analytických metod a s nově získanými poznatky se počet známých rostlinných druhů s jeho obsahem zvyšuje (Goswami, 2009).

Vyskytuje se v širokém spektru krytosemenných rostlin, z nichž réva vinná, podzemnice olejná a borovice jsou hlavními představiteli. Dále se vyskytuje ve slupkách a jádérkách borůvek, moruše, černého rybízu a grapefruitu (Ghanim et al., 2010).

Největší pozornost je však v současnosti věnována resveratrolu nacházejícímu se v jadérkách modré révy vinné díky jeho schopnosti sloužit jako marker infekcí způsobených širokým spektrem patogenů. Pool et al. (1981) byli prvními, jež tyto schopnosti pozorovali. Stein a Hoos poté provedli detailnější výzkum vztahu mezi citlivostí k plísňovým infekcím a koncentrací stilbenů (resveratrolu a ϵ -viniferinu) v listech a plodech rozličných zástupců révovité čeledi (Stein a Hoos, 1984). Stein a Blaich tyto poznatky rozšířili zveřejněním studie o korelaci mezi syntézou resveratrolu v bobulích a rezistencí k infekcím (Stein a Blaich, 1985).

Obrázek 1: Molekulární struktura resveratrolu



Zdroj: Anonym 1 (2015)

2.3 Analyzované krevní parametry potkanů

Triacylglycerol

Tuky jsou estery vyšších mastných kyselin (MK) a trojsytného alkoholu, glycerolu. Podle počtu esterifikovaných hydroxylových skupin glycerolu se dělí na monoacylglyceroly (esterifikována jedna OH skupina glycerolu MK), diacylglyceroly (esterifikovány dvě OH skupiny glycerolu MK) a triacylglyceroly (esterifikovány všechny tři OH skupiny glycerolu MK). Délka řetězců MK v přirozeně se vyskytujících triacylglycerolech může být různá, nejčastěji se však jedná o řetězce s 16, 18 či 20 atomy uhlíku (Vietzke, 2001).

Triacylglyceroly se ve střevech štěpí na monoacylglyceroly a volné mastné kyseliny během procesu lipolýzy. Tento proces probíhá za přítomnosti lipáz a žluči. Látky jsou absorbovány enterocyty, ve kterých se opět sestavují triacylglyceroly a společně s bílkoviny a cholesterolem jsou vytvářeny chylomikrony, které přenášejí vstřebané tuky ze střeva do ostatních tkání. V krevním řečišti jsou triacylglyceroly,

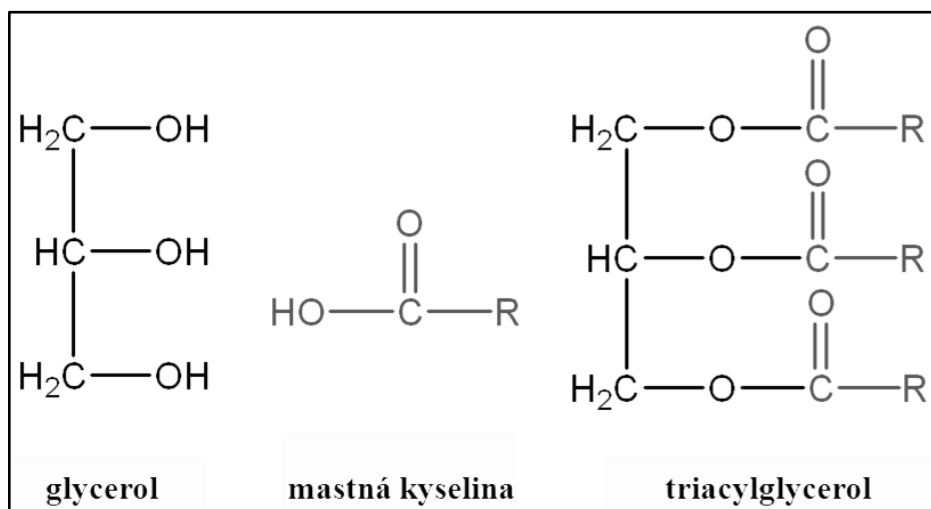
kteře jsou obsažené v jádře chylomikronů štěpeny lipoproteinovou lipázou za vzniku chylomikronových zbytků a MK. Ty se vážou na albumin jako volné MK a slouží jako zdroj energie či se ukládají v tukové tkáni jako zásoba triacylglycerolů (Fox, 2013).

Syntéza triacylglycerolu probíhá především v buňkách tukových tkání. Z fosfátu se nejprve odštěpuje účinkem fosfohydrolázy fosfát za vzniku diacylglycerolu, který následovně reaguje s molekulou aktivované MK z acetyl-CoA za vzniku triacylglycerolu. Ten patří společně s HDL- a LDL- cholesterolem mezi krevní tuky. Hormon glukagon je schopen signalizovat lipáze, aby došlo k zahájení štěpení triacylglycerolů na volné mastné kyseliny, pokud organismus potřebuje mastné kyseliny jako zdroj energie. Jelikož mozek není schopen využívat mastné kyseliny jako zdroj energie, může být glycerolová složka převedena na glukózu pomocí procesu glukoneogeneze (Vietzke, 2001).

Tvoří se komplexně z produktů odbourávání sacharidů – při jejich nadměrném přísunu vzniká rezervní neboli orgánový tuk. Triacylglyceroly jsou tedy tuky uložené v tukové tkáni (zejména podkoží) a slouží organismu jako zásobárna energie. V porovnání se sacharidy a bílkovinami obsahují více než dvojnásobek energie (Vácha et al., 2004).

Triacylglyceroly jsou v krvi přenášeny ve formě rozpustných lipoproteinových částic. Jsou hlavní složkou lipoproteinů s velmi nízkou hustotou, které vznikají v játrech (VLDL) a chylomikronů (největší lipoproteinové částice). Mají důležitou roli v metabolismu, jakožto zdroje energie a přenašeče tuku (Fox, 2013).

Obrázek 2: Schéma vzniku triacylglycerolu



Zdroj: Anonym 2 (2007)

Kyselina močová

Kyselina močová neboli také 2,6,8-trioxypurin je bezbarvá krystalická látka, jejíž rozpustnost ve vodě a jiných rozpouštědlech je velmi nízká. Je koncovým produktem metabolismu purinů, které spadají mezi základní stavební složky nukleových kyselin (DNA a RNA). Puriny jsou také součástí mnohých koenzymů a ve formě ATP slouží jako důležitý zdroj energie pro buňky. Do krevního oběhu se dostávají z potravy, při rozpadu tkáňových nukleotidů nebo z vlastní biosyntézy organismu. Kyselina močová je vylučována především ledvinami (ze 75-80 %) a zbylá část (20-25 %) je eliminována gastrointestinálním traktem, kde může docházet k degradaci bakteriemi na amoniak a oxid uhličitý. Avšak více než 90 % kyseliny močové se zpětně resorbuje do krve a podílí se na antioxidační ochraně organismu před působením kyslíkových radikálů (Bubnová et al., 1998).

Během katabolických dějů jsou nukleové kyseliny, které pocházejí z buněčných jader organismu i z potravy štěpeny na nukleosidy, nukleotidy a báze, jež jsou v závěrečné fázi částečně přeměňovány pomocí enzymu xanthinoxidázy na kyselinu močovou. V této fázi je u primátů a člověka odbourávání purinových bází ukončeno. Jiní savci však kyselinu močovou dále přeměňují pomocí enzymu urikázy na allantoin, jež je ve srovnání s kyselinou močovou rozpustnější ve vodě. Část bází purinu je pomocí enzymů využita k resyntéze nukleotidů (Teplan et al., 2006).

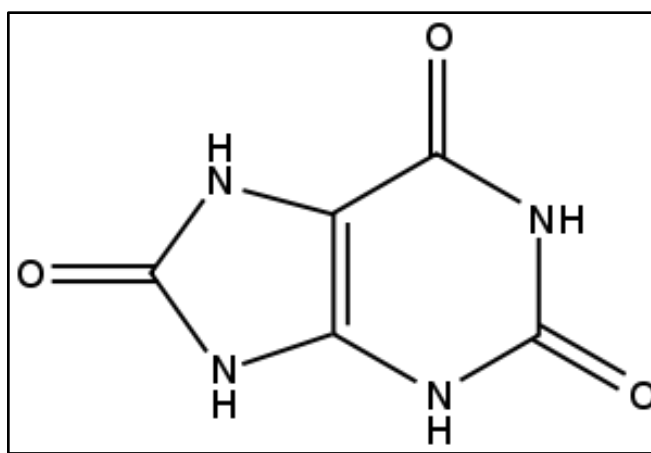
Kyselina močová je sloučeninou špatně rozpustnou ve vodě. Při pH pod 5,5 je většina molekul kyseliny močové v nedisociovaném stavu a je tedy v méně rozpustné formě. V takovém případě může vytvářet krystalky. Se stoupajícím pH se však její rozpustnost zvyšuje. Při fyziologickém pH krve je přítomna zejména v ionizované formě a s kationty draslíku a sodíku vytváří urát draselný či sodný, jež jsou ve vodném roztoku rozpustnější. K důkazu kyseliny močové lze využít oxidačního štěpení koncentrovanou kyselinou dusičnou. Při reakci dochází k otevření imidazolového kruhu purinu a dvě molekuly produktu pak kondenzují na kyselinu purpurovou, jejíž soli jsou barevné. Přidáme-li ke kyselině purpurové amoniak, vzniká murexid (amonná sůl kyseliny purpurové). Murexidové reakce se používají k důkazu kyseliny močové při analýze močových kamenů (Fox, 2013).

Většina moderních metod pro stanovení koncentrace kyseliny močové využívá enzymu urikázy, jež přeměňuje kyselinu močovou na allantoin, oxid uhličitý a peroxid vodíku. Pokles koncentrace kyseliny močové v reakční směsi je možné stanovit přímo

měřením úbytku absorbance. Princip této metody vychází z rozdílnosti absorpčních spekter allantoinu a kyseliny močové (Chromý a Fisher, 2000).

Koncentrace kyseliny močové v krevní plazmě je závislá na příjmu purinů potravou, na jejím vylučování a na intenzitě její vlastní tvorby. Klinický význam mají zejména její zvýšené plazmatické koncentrace. Hyperurikemie (zvýšená hladina kyseliny močové v krvi) nastává při sníženém vylučování kyseliny močové či při její nadprodukci (Bubnová et al., 1998).

Obrázek 3: Molekulární struktura kyseliny močové



Zdroj: Anonym 3 (2015)

Sodík

Sodík je kovem měkkým, lehkým a stříbrolesklým, který lze krájet nožem. Dobře vede teplo i elektrický proud, je lehčí než voda a plave na ní. V parách sodíku, jež mají purpurovou barvu, se kromě jednoatomových částic můžeme setkávat i s molekulami dvouatomovými. Rozpouští se v kapalném amoniaku za vzniku temně modrého roztoku. V přírodě sodík vytváří pouze jeden stabilní izotop, ale v laboratorních podmínkách se podařilo připravit několik dalších, silně nestabilních izotopů. Elementární kovový sodík lze dlouhodobě uchovávat překrytý vrstvou alifatických uhlovodíků jako je nafta nebo petrolej, s nimiž nereaguje (Jursík, 2002).

V přírodě se natrium kvůli své vysoké reaktivitě vyskytuje jen ve vazbě se sloučeninami, ve kterých se nachází vždy ve formě jednomocného kationu. Průměrný obsah sodíku v zemské kůře činí 2,3 %. Je tedy čtvrtým nejrozšířenějším kovem a šestým nejrozšířenějším prvkem na Zemi. V množství 1,05 % je obsažen také v mořské vodě a významně se tak podílí na složení hydrosféry. Přírodní sodík je tvořen

stabilním izotopem ^{23}Na . Nejdůležitějším minerálem sodíku je kamenná sůl (halit) NaCl . Celkem bylo mineralogicky popsáno přes tisíc minerálů, které tento prvek obsahují (Greenwood a Earnshaw, 1993).

Sodík je biogenní prvek (prvek nezbytný pro život) a je nejčteněji zastoupeným kovem v organismu. Je hlavním kationtem extracelulárních tekutin, přičemž jeho koncentrace by měla být v neměnném rozpětí. Při nízké koncentraci dochází k vylučování vody, čímž klesá objem krve, zvyšuje se hodnota hematokritu, klesá krevní tlak a objevují se svalové křeče. Snižuje se také příjem vody a krmiva, čímž klesá užitkovost zvířat (Zelenka, 2014).

Sodík má v organismu společně s draslíkem nezastupitelnou roli při přenosu nervových vzruchů. Princip tohoto procesu spočívá v tvorbě elektrického napětí na povrchu buněčných membrán. Při přechodu sodíkového kationtu z nitra buněk do vnějšího prostředí vzniká elektrický potenciál na buněčných stěnách. Uvnitř buněk dochází k nahrazování sodíku draslíkem. Tento proces je označován jako tzv. sodno-draselná pumpa (Velíšek, 2002).

Společně s draslíkem a chlorem reguluje osmotický tlak v tělních tekutinách a udržuje acidobazickou rovnováhu. Dostatek tohoto prvku v potravě udržuje chuť k jídlu, příznivě ovlivňuje činnost srdce, vývin kostí a hospodaření těla s vodou. Asi 30 % sodíku je uloženo v kostech a buněčných strukturách. Vylučován je nejvíce močí, potem a stolicí. Zdroji sodíku je především chlorid sodný, dále také hydrogenuhličitán sodný a chlorid cholinu (Masopust a Průša, 2004).

Alaninaminotransferáza

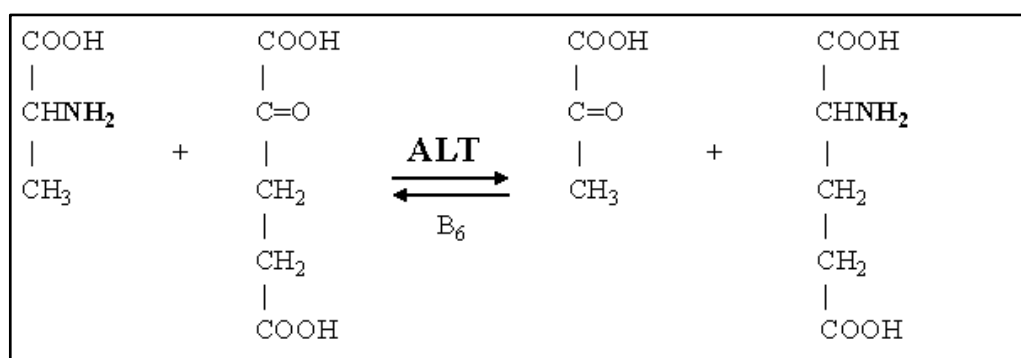
Zkráceně ALT je cytoplazmatický enzym nacházející se v jaterních buňkách, jež se účastní metabolismu a zpracovávání aminokyselin a bílkovin. V menší míře se vyskytuje také v myokardu, kosterní svalovině a v ledvinách (Brodanová, 1997).

Během zpracovávání aminokyselin a bílkovin se odehrává proces nazývaný transaminace. Tato reakce je katalyzovaná enzymy, jež se nazývají transaminázy nebo aminotransferázy. Při reakci dochází k přenosu amino- skupiny z aminokyseliny na ketokyseliny a naopak (Murray, 2003).

Funkcí alaninaminotransferázy je tedy katalýza reakce, při které se uskutečňuje přenos aminoskupiny z alaninu na 2-oxoglutarát za vzniku pyruvátu a glutamátu, přičemž kofaktorem této reakce je pyridoxal-5-fosfát. Už při malém poškození jaterních buněk dochází ke zvýšení permeability cytoplazmatické membrány a ALT se do krve

dostává ve zvýšené míře. Při zánětu jater (např. virové hepatitidy) je zvýšení ALT nejčasnějším indikátorem porušení celistvosti membrány hepatocytu, tudíž detekce její vyšší koncentrace je ukazatelem na poškození jaterních buněk. Aktivita ALT naopak klesá při nedostatku vitamínu B6, jelikož derivát vitamínu B6 pyridoxalfosfát je koenzymem aminotransferáz. Předávkování B–komplexem naopak aktivitu ALT zvyšuje (Brodanová, 1997).

Obrázek 4: Katalýza přenosu -NH₂ skupiny L-alaninaminotransferázou



Zdroj: Anonym 4 (2015)

Alkalická fosfatáza

Zkráceně ALP je enzym patřící do skupiny hydroláz, jež podporuje činnost buněk. Alkalická fosfatáza je glykoproteinem, který ve své molekule obsahuje cukerné složky (včetně kyseliny sialové). Pro její aktivitu je vyžadována přítomnost Zn²⁺ iontů v aktivním centru – je tedy metaloproteinem a zinek slouží jako kofaktor. V séru však přídavek zinečnatých solí působí vždy inhibičně. Nespecifickými inhibitory alkalické fosfatázy, jež váží zinek do silnějšího komplexu, než je samotná vazba s enzymem, patří například EDTA a cystein. Enzym je aktivován ionty Mg²⁺, Co²⁺ a Mn²⁺ (Racek, 2006).

Vyskytuje se zejména v cytoplazmatických membránách výstelky žlučových cest, kostí, ledvin, střev a v leukocytech. Rozlišujeme tedy několik typů tohoto enzymu (izoenzymů) podle jeho lokalizace a hovoříme pak například o izoenzymu jaterním či izoenzymu kostním. Při fyziologických podmínkách se v krevní plasmě nachází převážně jaterní a kostní forma. ALP se z jater, žlučníku a žlučových cest dostává do žluči. Střevní izoenzym je odbourává v játrech a kostní izoenzym se vylučuje ledvinami. Aktivita celkové alkalické fosfatázy se zvyšuje při onemocnění jater a onemocněních kostí. Existuje předpoklad, že sérové hladiny kostního izoenzymu ALP

zrcadlí metabolický stav osteoblastů – buněk, které jsou odpovědné za kostní novotvorbu (Brodanová, 1997).

Vyznačuje se schopností odstraňovat fosfátovou skupinu na 3- a 5- pozici proteinů, nukleotidů a alkaloidů. Tento proces se nazývá defosforylace. Má vliv na metabolismus fosfátových vazeb a podílí se na transportu anorganických fosfátů skrz buněčnou membránu. Ovlivňuje tedy metabolismus makroenergetických fosfátových vazeb a účastní se transportu anorganických fosfátů přes buněčnou membránu. Jak již její název naznačuje, funguje nejlépe v alkalickém prostředí a také není příliš termostabilní. Aktivita celkové ALP se zvyšuje především při onemocnění jater a kostí (Murray, 2003).

Kreatinkináza

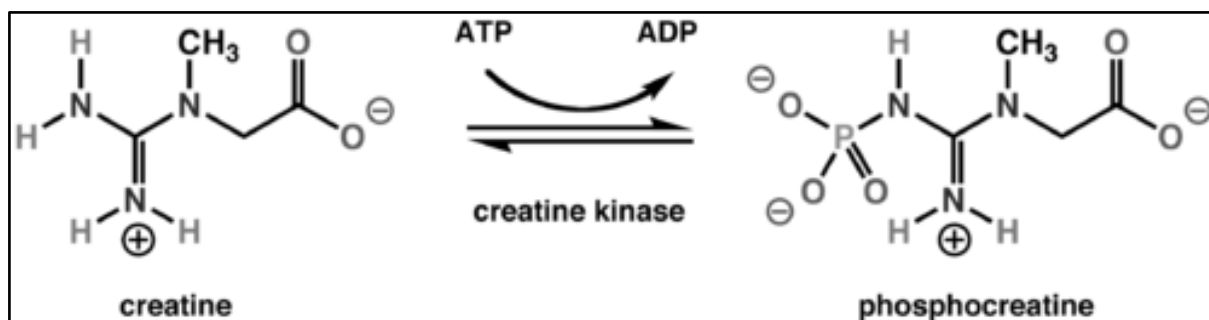
Zkráceně CK je převážně cytoplazmatický enzym nacházející se ve vysokých koncentracích zejména v srdečním a kosterní svalstvu, kde se uplatňuje při svalovém stahu. Dále se nachází v mozku, ale kreatinkináza z něj téměř nikdy nepřechází do krve. Menší množství kreatinkinázy je obsaženo také v plicích, v trávicím ústrojí, v ledvinách, v děloze a v játrech (Vácha, 2004).

Kreatinkináza je tvořena dvěma podjednotkami, jež jsou dvojího typu – M (muscle) a B (brain). Existují tři izoenzymy, jež se odlišují zastoupením podjednotek: myokardiální CK-MB (hybridní dimer charakteristický pro myokard), svalový CK-MM (dvě podjednotky M) a mozkový CK-BB se dvěma podjednotkami B (Fox, 2013).

Kreatinkináza katalyzuje fosforylaci (adici fosfátových skupin na proteiny nebo jiné organické molekuly) kreatinu na kreatinfosfát pomocí adenosintrifosfátu (ATP). Při nedostatku ATP reakce probíhá opačným směrem. Vznikající kreatinfosfát je sloučeninou energeticky bohatou a důležitou zejména pro svalový metabolismus. Jeho aktivita se v krvi zvyšuje zejména při poškození srdečního či kosterního svalstva (Schlattner et al., 2006).

Mitochondriální kreatinkináza obsahuje dva typy CK (sarkomerickou a ubikvitní). Mitochondriální izoenzymy jsou od cytoplazmy odděleny vnější membránou mitochondrie, což znamená, že spolu cytoplazmatické a mitochondriální typy enzymů nijak nekomunikují. Přes vnější mitochondriální membránu může pronikat kreatin a kreatinfosfát, nikoli ATP vytvářený uvnitř mitochondrie (Fox, 2013).

Obrázek 5: Vratná fosforylace kreatinu



Zdroj: Anonym 5 (2015)

Cholesterol

Cholesterol je sterol (kombinace steroidu a alkoholu), který se nachází v membránách buněk všech tkání organismu. Nejvyšší koncentrace je v játrech, mozku, míše, nadledvinkách a gonádách. Název cholesterolu pochází z řeckého cholé (žluč), stereos (pevný) a chemické přípony -ol pro alkohol (Silbernagl, 2004).

Jedná se o steroidní látku, jež tělu pomáhá zpracovávat tuky. Spadá mezi amfipatické sloučeniny, což znamená, že obsahuje polární i nepolární část. Hydroxylová skupina reprezentuje polární část, díky níž je molekula rozpustná ve vodě. Nepolární část je zastoupena steroidním jádrem a uhlovodíkovým řetězcem, které jsou rozpustné v tucích. Samotný cholesterol však není dostatečně rozpustný, aby mohl existovat samostatně v krvi, a proto se váže na apolipoproteiny za vzniku lipoproteinů. Většina cholesterolu je v buňkách lidského organismu syntetizována „de novo“ a to především v játrech a periferních tkáních. Část se však do organismu dostává i exogenní cestou – resorpcí z potravy ve střevě. V krevní plazmě se nachází asi 30-40 % cholesterolu ve volné formě, a asi 60-70 % ve formě vázané (estery cholesterolu). Obvykle je však v séru či plazmě stanovován cholesterol celkový – tedy volná i esterifikovaná forma současně. Většina cholesterolu je v séru a plazmě transportována ve formě LDL lipoproteinů (low density lipoprotein – lipoprotein s nízkou hustotou), méně pak ve formě HDL (high density lipoprotein – lipoprotein s vysokou hustotou) a VLDL (very low density lipoprotein – lipoprotein s velmi nízkou hustotou). Jen velmi malá část cholesterolu je transportovaná v chylomikronech (Myant, 2014).

Koncentrace cholesterolu v krevním séru je dána vzájemnou interakcí mezi syntézou cholesterolu, jeho resorpcí ve střevě, vylučováním a aktivitou intravaskulárního metabolismu. Syntéza cholesterolu v játrech a v extrahepatálních tkáních podléhá přísné regulaci díky zpětné vazbě a hormonální regulaci (regulace

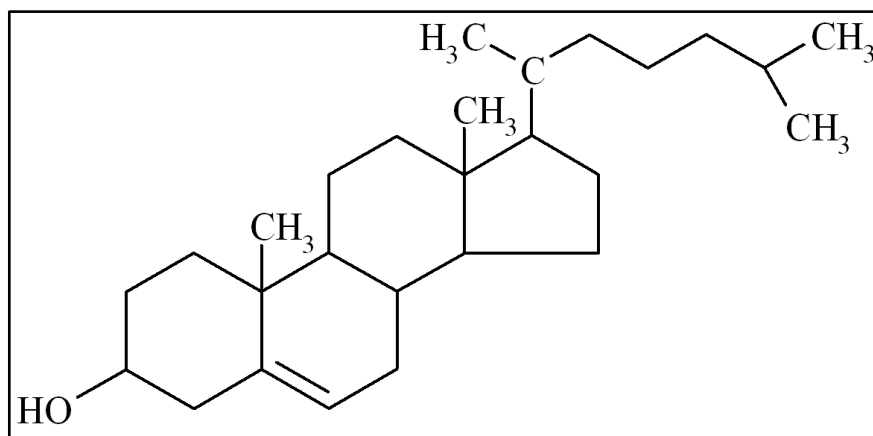
syntézy cholesterolu). Značnou měrou se tedy na cholesterolové koncentraci podílí intravaskulární metabolismus lipoproteinů. Zvýšená koncentrace cholesterolu v krevním séru nebo plazmě je výsledkem primární či sekundární poruchy v metabolismu lipoproteinů (Silbernagl, 2004).

Cholesterol je třeba pro výstavbu všech buněčných membrán, určuje jejich vlastnosti (zajišťuje permeabilitu), jejich viskozitu (vyšší podíl cholesterolu viskozitu snižuje) a udržuje viskozitu stabilní při změnách tělesné teploty. Je také součástí buněčných membrán, kde stabilizuje jejich strukturu vazbami OH skupin s polárními částmi fosfolipidů a vazbou steroidní části cholesterolu s řetězcí mastných kyselin. Je obsažen v intracelulárních organelách (endoplazmatickém retikulu a mitochondriích) a podílí se na mezibuněčné komunikaci (Myant, 2014).

Důležitá je také účast cholesterolu při syntéze žluči, tedy kyseliny cholové a chenodesoxycholové (ta má roli v metabolismu tuků a resorpci v tučích rozpustných vitamínů – A, D, E, K). Cholesterol je hlavní prekurzor syntézy vitamínu D, steroidních hormonů (včetně aldosteronu a kortizolu), pohlavních hormonů – estrogeneru, progesteronu a testosteronu. Má také důležitou úlohu pro správnou funkci mozkových synapsů a pro imunitní systém. Je čteně zastoupen v lipoproteinech krevní plazmy a nebyla by bez něj možná resorpce, transport a utilizace triacylglycerolů a vitamínů rozpustných v tučích (Masterjohn, 2005).

Při stanovování cholesterolu se používají v běžné praxi enzymatické metody. Estery cholesterolu jsou enzymem cholesterol esterázou převedeny na mastné kyseliny a volný cholesterol. Tento volný cholesterol je oxidován enzymem cholesterol oxidázou na peroxid vodíku a cholestenon. Vzniklý peroxid je stanovován fotometricky (Myant, 2014).

Obrázek 6: Molekulární struktura cholesterolu



Zdroj: Anonym 6 (2015)

2.4 Enzymy

Enzymy jsou bílkoviny tvořené ze 100 – 1000 aminokyselin, které v živých soustavách katalyzují biochemické reakce a určují jejich směr a specifčnost. Dříve existoval předpoklad, že katalytickou aktivitu mají výlučně bílkoviny, ale poté byla tato aktivita zjištěna také u jistých RNA (ribozomů). Předpokládá se, že prvními biokatalyzátory byly nukleové kyseliny a teprve po nich tuto funkci převzaly enzymy (Murray, 2003).

Enzym je tedy buď čistě bílkovinné povahy (mimo uvedenou výjimku) nebo obsahuje ještě nízkomolekulární skupinu, jež může být pevně navázaná na bílkovinný nosič (apoenzym) – pak se nazývá prostetická skupina. Pokud je disociabilní, nazývá se koenzym či také kosubstrát (Alberts, 2002).

Specifčnost enzymů znamená, že enzymy obvykle přeměňují jeden nebo několik málo substrátů, a to jedním definovaným způsobem. Pro všechny enzymy je charakteristická katalytická funkce, což znamená, že snižují aktivační energii, která je nutná pro průběh chemické reakce – ovlivňují její rychlost. S narůstající koncentrací substrátu se rychlost reakce zvyšuje proto, že se stále více molekul enzymu zapojuje do reakce – zvyšuje se množství reagujících molekul, a tedy i produktu. Rychlost reakce se však postupně zpomaluje se zvyšující se koncentrací substrátu. A to proto, že je obsazováno stále více molekul enzymu. Molekuly substrátu se k enzymu dostávají stále obtížněji, až je nakonec enzym substrátem zcela nasycen. Rychlost reakce je pak závislá na schopnosti enzymu zpracovat substrát na produkt. Tato schopnost je nazývána jako číslo přeměny (Vodrážka, 2007).

Mechanismus účinku enzymů, tedy způsob, jakým snižují aktivační energii, je různý. Prvním z nich je změna trojrozměrného tvaru substrátu molekulou enzymu. Ten uvede substrát do takové polohy, při které v něm vyvolá na dané vazbě pnutí, které navíc ovlivní vhodně umístěnými postranními řetězci aminokyselin takovým způsobem, že dojde ke snazšímu štěpení této vazby. Jiný mechanismus se nachází při reakcích s více ligandy, kdy enzym reaktantům umožňuje vzájemnou orientaci optimální pro reakci následující. Mnohé enzymy také přechodně vytvářejí kovalentní vazby mezi svým postranním řetězcem a substrátem – dochází pak k tvorbě produktu a postranní řetězec se navrácí do původního stavu (Matouš, 2010).

Působení enzymů se vysvětluje tvorbou enzym-substrátového komplexu. Obdobně jako protilátka, využívá i enzym svou schopnost vázat jiné makromolekuly či látky nízkomolekulární – ligandy. Tyto vazby jsou zejména nekovalentní (především se jedná o vodíkové můstky). Enzymy vážou ligandy (zvané v tomto případě substráty),

v místě nazývaném aktivní centrum enzymu a vytváří s nimi enzym-substrátové komplexy, jež se následně rozpadají na produkty. Ze specifické interakce enzymu se substrátem za vzniku enzym-substrátového komplexu a z jeho bílkovinné povahy vyplývají i další vlastnosti enzymových systémů, jako například ovlivnění faktory chemické a fyzikální povahy. Hlavní vliv zde má teplota, pH, a kompetitivní nebo nekompetitivní inhibitory (Murray, 2003).

Enzymy lze rozdělit do šesti hlavních enzymových tříd podle typu reakce, kterou katalyzují. V živých soustavách jsou nejčastější transferázy (alaninaminotransferáza, kreatinkináza), dále oxidoreduktázy, hydrolázy (alkalická fosfatáza), lyázy, izomerázy a v nejmenším počtu jsou zastoupeny ligázy (Vodrážka et al., 1998).

Znalost enzymologie je důležitá pro pochopení normálních i patologických pochodů v organismu. Enzymy tedy mohou sloužit jako indikátory patologických procesů – stanovuje se katalytická koncentrace enzymů. Vzhledem k jejich relativně snadné dostupnosti při odběru krve ze žíly se nejčastěji využívají plasmatické (sérové) enzymy (Matouš, 2010).

2.5 Těžké kovy

Pojem těžký kov vznikl v souvislosti se škodlivými účinky kadmia, olova a rtuti a spojuje je vyšší hustota, než má železo. Dnes se ovšem označení používá i pro jiné podobně toxické kovy a polokovy bez ohledu na jejich hustotu – například arsen, kobalt, měď či nikl (Kumar, 2013).

V přírodě vznikají těžké kovy nejčastěji zvětráváním hornin a rud daných kovů. V atmosféře pak vznikají většinou lidskou činností (metalurgickým průmyslem, spalováním fosilních paliv, automobilovou dopravou) a vyskytují se ve formě aerosolu a popílku. Jedná se zejména o polutanty kadmia, olova, rtuti či arsenu (Nagajoty, 2010).

Mezi těžkými kovy lze nalézt prvky, které jsou pro organismus nezbytné a prospěšné jako je měď či zinek. Ve větším množství však zdraví poškozují, jelikož jsou schopné vázat strukturní bílkoviny, nukleové kyseliny a enzymy, čímž ovlivňují jejich funkčnost. Na buněčné úrovni jsou toxické účinky výsledkem vazby kovu a enzymu, kde dochází k tvorbě stabilního, ale neaktivního komplexu, jež inhibuje životně důležité buněčné pochody. Příznaky otravy těžkými kovy se liší dle druhu a množství, jež bylo přijato. Toxické účinky se projevují různě – od dermatitid, přes poruchy trávicího traktu až k poškození a selhávání orgánů. Obecně však lze říci, že

dlouhodobé vystavení těmto kovům má karcinogenní účinky a dochází k poškození oběhové a nervové soustavy (Raikwar, 2008).

2.5.1 Kadmium

Kadmium je měkký, lehce tavitelný a toxický těžký kov, který je do biosféry uvolňován mnoha antropogenními činnostmi. Tyto emise představují asi jen deset procent kadmia uvolňovaného do atmosféry – zbytek připadá na činnosti přírodní. Kontaminanty produkované lidskou činností jsou však mnohem škodlivější a často vedou k silnému lokálnímu znečištění. Environmentální znečištění kadmíem přináší zdravotní rizika, a proto bylo v posledním desetiletí předmětem mnoha výzkumů (Sandbichler, 2016).

Nebezpečí kadmia spočívá v jeho chemickém složení – to je velice podobné zinku, díky čemuž může snadno vstupovat do mnoha enzymatických procesů v organismu a následné biochemické pochody poté neprobíhají obvyklým způsobem (Hayes, 2008). Tento stav může vést k malfunkcím proteinů a může způsobovat buněčnou smrt. Má schopnost narušovat metabolismus některých prvků – nejčastěji železa a vápníku. Narušení metabolismu železa způsobuje rozpad enterocytů a v případě narušení metabolismu vápníku dochází k odvápnění kostí. Dále způsobuje také vysoký krevní tlak, poškození ledvin a reprodukčních orgánů. Kadmium má navíc schopnost zesilovat toxické účinky jiných kovů (Serero, 2008).

Dalším rizikem je fakt, že se jedná o mimořádně kumulativní jed. Kadmium, jež se do organismu primárně dostává vdechováním, z potravy a z vody se z těla vylučuje jen velice pozvolna a komplikovaně – poločas vylučování může být až 30 let. Ke kumulaci dochází zejména v ledvinách a játrech, čímž dochází k jejich poškození. Akutní vystavení kadmíu primárně způsobuje poškození jater. Dále přispívá k anémii, zvyšuje riziko srdečně cévních onemocnění a dlouhodobá expozice může vést k chronickému emfyzému (vzduchové rozedmě). Toxický účinek kadmia spočívá v jeho schopnosti inhibovat sulfhydrolové enzymy. Jedná se navíc o prokazatelně karcinogenní prvek se schopností oxidačního stresu a jeho vysoké hladiny v organismu zvyšují riziko rakovinného bujení (Johri et al., 2010).

2.5.2 Znečištění životního prostředí

Dle oblasti výskytu lze rozdělit znečištění životního prostředí kadmíem na znečištění půdní, vodní a atmosférické. Jelikož se však tyto oblasti vzájemně prolínají a ovlivňují, nelze jejich působení jednoznačně rozlišit. Kadmium, jež je emitováno do ovzduší se

posléze hromadí ve vodě a půdě, ze kterých vstupuje do potravinového řetězce. Mezi hlavní zdroje znečištění životního prostředí patří exhaláty ocelářského a energetického průmyslu, odpadní vody a naftové motory. Kadmium je také obsaženo ve fosforečných hnojivech (Järup a Åkesson, 2009).

Při znečištění ovzduší se kontaminující látky atmosférou šíří pomocí proudění a difúzí. Jedná se o nejsnadnější a nejrychlejší způsob šíření kadmia v životním prostředí. Z ovzduší jsou pak odstraňovány mokrým a suchým spadem. Kadmium se váže převážně na částice jemné frakce (s aerodynamickým průměrem do 2,5 μm), jež jsou spojovány s největším negativním vlivem na zdraví (Martin, 2012).

Při znečištění vody je toxicita značně ovlivněna formou, ve které se kadmium vyskytuje. Organické, anorganické a méně rozpustné komplexy zpravidla vykazují menší toxicitu než ionty jednoduché (Förstner et al., 2012). Povolený limit kadmia v pitné vodě stanovuje vyhláška č. 252/2004 Sb., ve znění pozdějších zákonů, o hygienických požadavcích na pitnou vodu. Limitní hladina ve vyhlášce je stanovena na 5 $\mu\text{g/l}$ (NMH – nejvyšší mezní hodnota). Nařízení vlády 61/2003 Sb., udává hodnoty přípustného znečištění povrchových vod, které pro kadmium činí 1 $\mu\text{g/l}$.

2.6 Volné radikály

Radikál či volný radikál je ve fyziologii označení chemického radikálu, který zvyšuje oxidativní charakter a redoxní reakce ve vnitřním prostředí organismu – buněk, krve, tkání a orgánů. Snižuje antioxidační rezistenci vnitřního prostředí a stává se tak radikálem biologickým. Látky s charakterem radikálů se do organismu mohou dostávat endogenní i exogenní cestou. Vznikají vystavením organismu průmyslovým polutantům, záření, nemoci, stresu či chemickým látkám z pesticidů (Rattan, 2006).

Volnými radikály jsou označovány molekuly s nepárovým elektronem ve valenční sféře, které jsou schopny samostatné existence. Vznikají třemi způsoby: štěpením kovalentní vazby, redukcí (tedy přidáním jednoho elektronu) či oxidací (ztrátou jednoho elektronu). Při oxidaci se na místo nepárového elektronu naváže molekula kyslíku, čímž vzniká peroxylový radikál. Ten se snaží z jiné sloučeniny získat chybějící elektron – dochází ke vzniku volného radikálu, který vlastní neutralizací vytváří další volný radikál. Vzniká řetězová reakce a k jejímu přerušení dochází vazbou dvou radikálů na sebe či reakcí volného radikálu s antioxidantem. Než však k tomuto jevu dojde, mohou od počátku reakce během několika vteřin vzniknout tisíce volných radikálů (Bland, 2009).

Volné radikály plní v organismu mnoho důležitých fyziologických funkcí. Dnešní formy života by se bez radikálových reakcí nevyvinuly, jelikož tak velké množství energie, které bylo třeba k jejich výstavbě, bylo možné za daných podmínek uvolnit jen přenosem elektronů ze živin na kyslík. Volné radikály jsou tedy běžnými produkty aerobního metabolismu, které však mohou být vlivem patofyziologických podmínek (nemoci, po požití jedů či těžkých kovů) tvořeny ve zvýšené míře (Pham-huy et al., 2008).

Pro živé organismy jsou volné radikály vysoce rizikové jejich vysokou reaktivitou. Při biochemických reakcích vznikají reaktivní formy dusíku (reactive nitrogen species – RNS) a reaktivní formy kyslíku (reactive oxygen species – ROS). ROS tvoří kyslíkové či oxidační radikály, které jsou zodpovědné za oxidativní stres. Vznikají jako meziprodukt respirace při oxidaci vodíku kyslíkem na vodu (za účasti enzymu cytochromoxidázy). Spadají sem hydroxylové radikály, superoxidový radikál, peroxid vodíku, singletový kyslík a rozličné lipidové peroxidy. Určité množství ROS je v organismu třeba k imunitní ochraně organismu, ale ve větším množství mohou být nebezpečné, jelikož způsobují oxidační poškození lipidů tzv. lipoperoxidaci – oxidační poškození mastných kyselin, bílkovin, enzymů a makromolekul. Organismus se jejich škodlivému působení brání antioxidantními obrannými systémy (Luis et al., 2006).

2.7 Antioxidanty

Studium antioxidantních komponent u hroznových semen a jejich potenciální benefit na organismus představuje největší přínos v jejich výzkumu. Z výsledků vyplývá, že semínka révy vinné obsahují velmi vysoký obsah antioxidantních složek, které jsou zdraví prospěšné (Sen et al., 2010).

Antioxidant je molekula, která inhibuje oxidaci jiných molekul. K vyrovnávání se s působením reaktivních oxidačních forem si rostliny i živočichové vytvořili antioxidantní ochranné systémy. Ty zahrnují rozmanité komponenty, endogenní i exogenní povahy, které synergicky neutralizují volné radikály (Navrot et al., 2007).

Termínem exogenní antioxidanty jsou označovány zejména dvě skupiny látek. Jedná se o průmyslové chemické látky, které jsou přidávány k produktům, aby zabránovaly jejich oxidaci a poté přírodní chemické složky potravin, které by měly příznivě ovlivňovat zdraví (Valko et al., 2007).

Antioxidanty lze rozdělit do tří základních skupin. První z nich jsou enzymové antioxidanty, mezi které patří superoxid dismutáza či glutathion peroxidáza. Superoxid

dismutáza katalyzuje přeměnu superoxidu na peroxid vodíku. Na jeho následné odstranění v těle existuje více mechanismů, např. glutathion peroxidáza, která jej redukuje. Druhou skupinou jsou hydrofilní antioxidanty, mezi které spadá vitamin C, kyselina močová či selen. Jedná se o antioxidanty rozpustné ve vodě a účinkují zejména v extracelulární tekutině. Třetí skupinou jsou hydrofobní antioxidanty, kde patří vitamin E, ubiquinon (koenzym Q 10) a β -karoten. Tyto antioxidanty rozpustné v tuku mohou pronikat buněčnou membránou a působit tak intracelulárně (Pham-huy et al., 2008).

Patří sem také kovy vázající proteiny jako ferritin, laktoferin, albumin a ceruloplazmin, které jímají volné železné ionty a jsou schopné katalyzovat oxidativní reakce. Neméně významné jsou i fytonutrientní antioxidanty pocházející z širokého spektra rostlinné potravy (Bland, 2009).

Je však nutné brát v potaz, že polyfenoly, u kterých byly vědeckými studiemi prokázány antioxidační vlastnosti *in vitro*, nebyly prokázány jako dietetické antioxidanty *in vivo* (Goldberg a Soles, 2011).

2.8 Využití hroznových semen

Jelikož se neupravená hroznová semena používají jen velice málo, využívají se spíše jejich pokrutiny (po extrakci vhodným rozpouštědlem vzniká extrahovaný šrot), popřípadě se semena šrotují a vyrábí se z nich pelety (Khanal et al., 2009).

Odpadem z produkce vína jsou pokrutiny hroznových semen v objemech milionů tun. Ty i poté, co prošly kvašením a macerací obsahují vysoký podíl antokyanů, které mohou být dále využívány. Jsou dobrým zdrojem prospěšných polyfenolů a antioxidantů, zejména pro přežvýkavce (Sousa et al., 2014).

Kvůli vysokému obsahu vlákniny (ligninu) a některých fenolických sloučenin jsou pokrutiny hroznových semen poměrně špatně stravitelné pro prasata i drůbež a použití v jejich výživě jako zdrojů energie a bílkovin se příliš nedoporučuje. Mohou však být (vzhledem k rozdílnosti ve fyziologii trávicího ústrojí) využívány ke krmení přežvýkavců, koní a králíků. Pokrutiny mohou být zkrmovány v čerstvém stavu, ale vzhledem k tomu, že snadno podléhají zkáze a jsou produkovány sezónně, je pro dlouhodobé uchování častější jejich sušení či silážování (Khanal et al., 2009).

V roce 2016 bylo vyprodukováno 40 miliónů tun čerstvých hroznů, jež byly zpracovány na víno či ovocné šťávy. Snadným výpočtem s použitím koeficientu 0,15 (který představuje množství získaných pokrutin z původní suroviny) se množství vysušených pokrutin celosvětově pohybovalo okolo 6 milionů tun (Wadhwa, 2013).

Pokrutiny obsahují slupky, dužninu a obvykle také hroznová semena. Ponechání třapiny na hroznech během jejich mačkání, lisování a dokonce i během jejich fermentace bývalo v minulosti součástí běžné praxe. Na taniny bohatá třapina dávala vínu nahořklou, svíravou a bylinnou chuť. Nicméně se tento typ vína stal nepopulární a při současné výrobě vína se tento postup již dávno nevyužívá (víno se lisuje až po odstranění třapiny). Pokrutiny bez třapin se skládají ze 40 % z hroznových semen a z 60 % ze slupek a dužniny (Khanal et al., 2009).

Čerstvé hroznové pokrutiny obsahují 65-68 % vody a rychle podléhají zkáze, a proto musí být (pokud nejsou použity k přímému zkrmování) sušeny či silážovány. Pokrutiny jsou obvykle sušeny ve velkých rotačních válcových sušičkách. Materiál je vkládán vrchem, kde se horký vzduch vháněný velkými větráky mísí s pokrutinami a odpařovaná vlhkost je odváděna ze sušičky ven. Ještě částečně vlhké pokrutiny procházejí zónou s horkým vzduchem, který vzniká spalováním plynů v koncové části sušičky. Vysušené pokrutiny jsou poté mlety kladívkovým šrotovníkem na jemný prášek, který může být dále míchán s malým množstvím melasy pro zlepšení obsahu energie a chutnosti (Février et al., 2009). Sušení by mělo probíhat kontinuálně po dobu 20 minut při teplotě 120 °C. Výsledný suchý prášek se mele a může být formován do pelet při teplotě 85 °C (Moate et al., 2014).

Silážování pokrutin je využíváno ve východní Evropě již od 19. století jako efektivní metoda konzervace pro zimní krmení hospodářských zvířat. Jelikož jsou pokrutiny již samy o sobě kyselé, mohou být poměrně snadno silážovány. Pro zajištění dobré kvality siláže je nejvhodnější využívat uzavíratelných polyetylenových pytlů. Bylo prokázáno, že silážováním dochází ke snížení obsahu kondenzovaných taninů i saponinů a ke zlepšení výživových hodnot pokrutin (Winkler et al., 2015).

Pokrutiny a jiné zbytky po zpracování hroznů mohou při kontaktu se životním prostředím způsobovat jeho znečištění – mají negativní vliv na kvalitu půdy, podzemní vody a mohou nepříjemně zapáchat. Přitahují také mouchy a jiné škůdce. Použití pokrutin jako hnojiva pro vinice může způsobovat fytopatologické problémy. Nalezení vhodnějšího využití těchto odpadních produktů (včetně využití jako krmiva pro hospodářská zvířata) je nezbytně nutné a je na něj vytvářen silný legislativní tlak (Bordiga, 2016).

3 CÍL PRÁCE

Cílem diplomové práce bylo zhodnotit vliv hroznových semínek na zdravotní stav laboratorních potkanů v závislosti na přídávku kadmia do diety.

Hypotéza: Hroznová semena díky své antioxidační aktivitě zmírní negativní dopad kadmia na živočišný organismus.

4 MATERIÁL A METODIKA

4.1 Biologické vzorky

Předmětem experimentální studie byla semena odrůdy *Vitis vinifera* L., konkrétně odrůdy Frankovka. Materiál byl získán z ústavu vinohradnictví a vinařství v Lednici. Lednice je obec ležící na jižní Moravě v Mikulovské vinařské podoblasti v nadmořské výšce 173 m n. m. Díky poloze v nejj jižnějším cípu České republiky je jednou z mála obcí dosahující průměrných hodnot ročního úhrnu srážek okolo 550 mm, průměrné roční teploty přes 9 °C a více než 2000 hodin plného slunečního svitu.

4.2 Průběh pokusu

Pokus byl uskutečněn v experimentálním zařízení Ústavu výživy zvířat a pícninářství Mendelovy univerzity v Brně (v souladu se zákonem na ochranu zvířat proti týrání č. 246/1992 Sb.).

V laboratoři byly monitorovány mikroklimatické podmínky, které byly limitovány zejména teplotou, jež byla měřena přístrojem Datalogger S3120. Teplota byla udržována v rozmezí 23 °C ± 1 °C. Dále byla shodným přístrojem monitorována stálá vlhkost vzduchu, která byla udržována klimatizační jednotkou na hladině 60 %. Fotoperioda byla řízena uměle dle schématu 12 hodin den a 12 hodin noc, o maximální intenzitě osvětlení 200 lx.

Jako modelová zvířata pro tento experiment byli použiti laboratorní potkani kmene *Wistar albino*. Průměrná hmotnost potkanů na začátku pokusu byla 235 ± 3 gramy. Experimentální sledování trvalo 28 dní. Pokusná zvířata byla ustájena v plastových boxech s rošty a měla po celou dobu trvání experimentu přístup ke krmivu *ad libitum*.

Potkani byli rozděleni do 4 skupin a v každé skupině bylo ustájeno 6 potkanů. První skupina (kontrola) potkanů (n = 6) sloužila jako kontrolní a zvířatům nebyl podáván extrakt z hroznových semen ani kadmium. Druhé skupině (extrakt) zvířat (n = 6) byl dávkován extrakt v dávce 1800 mg extraktu/potkana/den. Třetí skupině (extrakt a kadmium) potkanů (n = 6) byl dávkován extrakt v dávce 1800 mg extraktu/potkana/den a kadmium v množství 60 mg kadmia/potkana/den. Čtvrté skupině (kadmium) potkanů (n = 6) bylo dávkováno kadmium ve formě chloridu kademnatého v množství 60 mg kadmia/potkana/den.

Pokusným zvířatům (druhé, třetí a čtvrté skupině) byl hroznový extrakt či kadmium (popřípadě jejich kombinace) podáván ve formě roztoku – rozmícháním v napájecí vodě s přídavkem lžičky cukru vždy ve stejnou denní dobu. Všem skupinám byla zkrmována monodieta ze sešrotované pšenice ad libitum.

Polovina potkanů z každé skupiny byla po 14 dnech trvání pokusu usmrcena. Druhá polovina byla usmrcena po 28 dnech trvání pokusu. Ze zvířat byly získány vzorky plné krve. K jejich odběru byly použity zkumavky s antikoagulantem heparin. Vzorky byly po odběru podrobeny patřičným analýzám ve Veterinární laboratoři VLAB, LABtechnik s.r.o. v Brně.

4.3 Analýza vzorků

U vzorků plné krve byly stanovovány biochemické markery. Biochemické analýzy byly prováděny na automatickém biochemickém analyzátoru Mindray 400 (Výrobce CORMAY, Polsko). Reagencie pro analyzátor Mindray BS400 jsou dodávány v reagenčních nádobkách výrobce a každá nádobka je opatřena čárovým kódem umožňující přímé vložení a načtení informací o reagentii analyzátořem. Reagencie splňují přísné požadavky na kvalitu a jsou plně certifikovány jako in vitro diagnostika dle norem EU.

Výsledky analýz byly vyjádřeny jako aritmetický průměr tří stanovených hodnot krevního parametru ve skupině \pm směrodatná odchylka. Tabulky i výpočty byly zpracovány v programu EXCEL, který je součástí MS OFFICE 365 ProPlus.

4.4 Statistická analýza

Data z laboratoře byla statisticky zpracována pomocí programu STATISTICA.CZ, verze 10.0 (Česká republika). Výsledky byly vyjádřeny jako střední hodnoty \pm směrodatná odchylka (Standard Deviation, SD). Statistická významnost byla stanovena zkoumáním základních rozdílů mezi skupinami s použitím *Scheffova testu* (ANOVA) jednofaktorové analýzy. Rozdíly s $P < 0,05$ byly považovány za významné.

5 VÝSLEDKY

Je známo, že hroznová semena obsahují velké množství biologicky aktivních komponent. Důkazy pro toto tvrzení zahrnují mnohé vědecké studie poukazující na jejich farmakologický a terapeutický potenciál. Na druhou stranu, problematika zabývající se ochranným efektem extraktu z hroznových semen proti poškození organismu způsobenému stresory (kadmíem) však prozatím nebyla dostatečně prostudována.

Během experimentu byly pokusným potkanům ve vodě podávány různé hladiny hroznového extraktu (0 mg a 1800 mg extrakt/potkan/den) a kadmia (0 mg a 60 mg CdCl_2 /potkan/den). Byl sledován vliv přídatku hroznového extraktu z odrůdy Frankovka na biochemické markery v krvi experimentálních zvířat.

5.1 Vliv různých hladin hroznového extraktu a kadmia na minerální profil

Souhrnné výsledky koncentrací minerálních látek v krevní plazmě laboratorních potkanů zobrazuje tabulka 2. Z této tabulky můžeme vypočítat, že koncentrace sodíku byla nejvyšší 14. den experimentu u skupiny potkanů s přídatkem kadmia (o 9,9 mmol/l). Na konci pokusného sledování (28. den) jsme sledovali průkazné snížení sodíku ($P < 0,05$) u skupiny s přídatkem extraktu a kadmia do diety o 14,5 mmol/l v porovnání s kontrolní skupinou zvířat.

Množství draslíku v krevním séru 14. den pokusu bylo nejnižší u skupiny s přídatkem kadmia o 0,7 mmol/l v porovnání s kontrolní skupinou zvířat. Na konci experimentu bylo pozorováno zvýšení draslíku u skupiny s přídatkem extraktu a kadmia do diety o 2,8 mmol/l a snížení u skupiny s přídatkem kadmia o 1,1 mmol/l.

Koncentrace chloridů v krevním séru byla nejvyšší 14. den experimentu u skupiny potkanů s přídatkem kadmia (o 4,7 mmol/l) v porovnání s kontrolní skupinou zvířat. 28. den pokusného sledování bylo pozorováno průkazné snížení chloridů ($P < 0,05$) u skupiny s přídatkem extraktu a kadmia do diety o 4 mmol/l.

Hodnoty vápníku zůstaly téměř nepozměněny. 14. den pokusu byl zaznamenán mírný pokles koncentrace vápníku v krevním séru u skupiny s přídatkem extraktu a u skupiny s přídatkem extraktu a kadmia (o 0,1 mmol/l). Na konci pokusného sledování 28. den jsme sledovali snížení vápníku u skupiny s přídatkem extraktu a kadmia do diety o 0,1 mmol/l v porovnání s kontrolní skupinou zvířat.

Koncentrace hořčíku 14. den experimentu poklesla u skupiny s přidavkem extraktu (o 0,1 mmol/l). Na konci experimentu bylo pozorováno průkazné snížení hořčíku ($P < 0,05$) u skupiny s přidavkem extraktu o 0,2 mmol/l a průkazné snížení ($P < 0,05$) u skupiny s přidavkem kadmia o 0,2 mmol/l v porovnání se skupinou kontrolní.

Tabulka 2: Minerální profil

Minerální látky	Dny	Kontrola (mmol/l)	Extrakt (mmol/l)	Extrakt + Cd (mmol/l)	Cd (mmol/l)
Sodík	14	133,8 ± 1,91	131,6 ± 10,69	140,3 ± 2,08	143,7 ± 9,03
	28	130,9 ± 8,61	127,2 ± 6,61	116,4 ± 1,44	129,8 ± 5,55
Draslík	14	4,9 ± 0,31	5,4 ± 1,72	4,4 ± 0,46	4,2 ± 0,97
	28	7,4 ± 0,91	7,4 ± 2,08	10,2 ± 2,41	6,3 ± 1,13
Chloridy	14	100,4 ± 0,67	97,8 ± 2,88	102,5 ± 1,27	105,1 ± 6,94
	28	98,6 ± 2,55	97,4 ± 2,10	94,6 ± 1,31	97,4 ± 3,55
Vápník	14	2,2 ± 0,07	2,1 ± 0,15	2,1 ± 0,08	2,2 ± 0,12
	28	2,2 ± 0,19	2,2 ± 0,04	2,1 ± 0,15	2,2 ± 0,02
Hořčík	14	0,9 ± 0,02	0,8 ± 0,09	0,9 ± 0,13	0,9 ± 0,07
	28	1,3 ± 0,02	1,1 ± 0,15	1,3 ± 0,06	1,1 ± 0,04

5.2 Vliv různých hladin hroznového extraktu a kadmia na enzymatický profil

Tabulka 3 uvádí koncentrace enzymů v krevní plazmě laboratorních potkanů. V této tabulce můžeme vidět, že koncentrace alaninaminotransferázy byla nejvyšší 14. den experimentu u skupiny potkanů s přidavkem kadmia (o 1,3 mmol/l). Na konci pokusného sledování 28. den jsme pozorovali zvýšení alaninaminotransferázy u skupiny s přidavkem extraktu a kadmia do diety o 5,1 mmol/l v porovnání s kontrolní skupinou zvířat.

Hodnota alkalické fosfatázy v krevním séru se 14. den pokusu průkazně snížila ($P < 0,05$) u skupiny potkanů s přidavkem extraktu a kadmia o 0,39 mmol/l v porovnání s kontrolní skupinou zvířat. Na konci pozorování bylo sledováno průkazné snížení ($P < 0,05$) alkalické fosfatázy u skupiny s přidavkem kadmia do diety o 0,65 mmol/l.

Množství amylázy v krevním séru byla nejnižší 14. den experimentu u skupiny potkanů s přidavkem kadmia (o 3,1 mmol/l). Na konci pokusného sledování, 28. den

jsme sledovali snížení amylázy u skupiny s přidavkem extraktu do diety o 0,5 mmol/l v porovnání s kontrolní skupinou zvířat.

Tabulka 3: Enzymatický profil

Enzymy	Dny	Kontrola (mmol/l)	Extrakt (mmol/l)	Extrakt + Cd (mmol/l)	Cd (mmol/l)
ALT	14	0,9 ± 0,16	1,4 ± 0,64	1,1 ± 0,21	2,2 ± 1,23
	28	2,0 ± 0,87	1,6 ± 1,10	7,1 ± 5,59	1,2 ± 0,23
ALP	14	1,4 ± 0,31	1,5 ± 0,52	1,01 ± 0,06	1,20 ± 0,75
	28	1,9 ± 0,22	1,8 ± 0,55	1,32 ± 0,19	1,25 ± 0,13
AMYL	14	12,3 ± 1,05	10,8 ± 1,06	11,4 ± 0,96	9,2 ± 2,37
	28	14,1 ± 0,85	13,6 ± 1,55	14,4 ± 1,91	14,0 ± 0,79

5.3 Vliv různých hladin hroznového extraktu a kadmia na krevní profil

Tabulka 4 zobrazuje výsledné koncentrace vybraných krevních parametrů v krevní plazmě potkanů. Z této tabulky můžeme vyvodit, že koncentrace triacylglycerolů byla nejnižší 14. den experimentu u skupiny potkanů s přidavkem extraktu a kadmia (o 0,1 mmol/l) a u skupiny s přidavkem kadmia (o 0,1 mmol/l). Na konci pokusného sledování 28. den jsme sledovali zvýšení triacylglycerolů u skupiny s přidavkem extraktu do diety o 0,7 mmol/l v porovnání s kontrolní skupinou zvířat.

Hodnota urey v krevním séru byla nejvyšší 14. den pokusu u skupiny potkanů s přidavkem kadmia o 1,7 mmol/l v porovnání s kontrolní skupinou zvířat. Na konci pozorování bylo sledováno snížení urey u skupiny s přidavkem extraktu do diety o 1,1 mmol/l.

Množství cholesterolu v krevním séru bylo nejnižší 14. den experimentu u skupiny potkanů s přidavkem extraktu (o 0,3 mmol/l). Na konci pokusného sledování 28. den jsme sledovali snížení cholesterolu u skupiny s přidavkem extraktu do diety o 0,1 mmol/l v porovnání s kontrolní skupinou zvířat.

Tabulka 4: Krevní profil

Krevní parametry	Dny	Kontrola (mmol/l)	Extrakt (mmol/l)	Extrakt + Cd (mmol/l)	Cd (mmol/l)
TG	14	0,8 ± 0,13	0,8 ± 0,12	0,7 ± 0,09	0,7 ± 0,27
	28	0,8 ± 0,27	1,5 ± 0,83	1,2 ± 0,61	1,3 ± 0,83
Urea	14	7,4 ± 1,36	7,4 ± 2,08	7,7 ± 0,56	9,1 ± 1,63
	28	7,3 ± 0,52	6,2 ± 0,92	7,2 ± 1,11	7,4 ± 1,50
CHOL	14	1,9 ± 0,31	1,6 ± 0,41	1,8 ± 0,52	1,8 ± 0,38
	28	1,7 ± 0,12	1,6 ± 0,29	1,7 ± 0,11	1,8 ± 0,28

6 DISKUZE

O studiu účinku biologicky aktivních komponent hroznových semen v kombinaci s kadmiiem prozatím nebylo vypracováno mnoho studií. Autoři se specializují spíše na antioxidační potenciál hroznových semen, na studium resveratrolu a na obsah polyfenolických sloučenin –tato problematika byla popsána v části literární rešerše. V diskuzi jsou tedy uvedeny vědecké práce, ve kterých byl studován vliv kadmia a hroznových semen na krevní parametry u potkanů.

Kadmium je toxický kov, který je často využíván v různých odvětvích průmyslu. Způsobuje oxidativní stres a poté přispívá k rozvoji závažných patologických stavů, jelikož se vyznačuje dlouhou retencí v některých tkáních (Bagchi et al., 2000). Výsledky našeho pokusu demonstrují schopnost kadmia negativně působit na minerální profil při jeho aplikaci do diety potkanů. Obecně lze z výsledků pozorování říci, že kadmium snižuje koncentraci minerálních látek v krevní plazmě po 28 dnech v porovnání s kontrolní skupinou. Totožná změna byla pozorována v pokusu Noël et al. (2004). V tomto experimentu, který trval 13 týdnů bylo podáváno kadmium třem skupinám potkanů kmene Wistar albino v rozdílném množství a to 0, 10 a 50 mg CdCl_2 /potkan/den. Z výsledků vyplynulo, že u laboratorních potkanů docházelo k poklesu koncentrace minerálních látek (hořčíku, vápníku, sodíku, železa a zinku) v krevní plazmě se zvyšující se dávkou kadmia v porovnání se skupinou kontrolní (0 mg CdCl_2 /potkan/den). Na konci pokusu však pozorovali zvýšení koncentrace draslíku, což je v rozporu s našimi výsledky. Tato rozdílnost může být dána tím, že Noël et al. (2004) pozorovali pokusná zvířata podstatně déle, a také nižším množstvím přidávaného kadmia do diety (i při nejvyšší dávce bylo o 10 mg CdCl_2 nižší než v našem případě).

V případě podávání kombinace kadmia a extraktu z hroznových semen byly však u sodíku a chloridů hodnoty těchto minerálních látek v krevní plazmě po 28 dnech pokusu prokazatelně nižší než u skupiny, které bylo podáváno pouze kadmium. To je v rozporu s pozorováním ve studii Reeves et al. (2001), kteří naopak zaznamenali pozitivní efekt přídatku hroznových semen ke kadmiu na koncentraci minerálních látek v krevní plazmě. Rozdílné výsledky pozorování by mohly být způsobeny rozdílností pohlaví, jelikož samice potkanů (které Reeves et al. (2001) ve svém pokusu použili) mohou mít tendenci zadržovat vyšší množství metabolicky účinných látek z hroznových semen než samci.

Aplikace samotného hroznového extraktu neměla významný vliv na koncentraci minerálních látek v krevním séru.

Negativní efekt přidávání kadmia do diety byl zaznamenán i u enzymatické aktivity, která po 28 dnech podávání CdCl_2 poklesla v porovnání s kontrolní skupinou. Toto zjištění je v souladu se studií Sarkar et al. (1997) demonstrující shodný negativní vliv kadmia na koncentraci amylázy v krevním séru *Rattus norvegicus*. Stejně tak i ve studii El-Demerdash et al. (2004) pozorovali prokazatelné ($P < 0,05$) snížení aktivity alkalické fosfatázy a alaninaminotransferázy v krevní plazmě 56 laboratorních potkanů po 30 dnech pozorování.

Při podávání kadmia v kombinaci s hroznovým extraktem lze z tabulky 3 vyzpozorovat vyšší enzymatickou aktivitu v krevním séru než u skupiny, které bylo podáváno pouze kadmium. To je opět v souladu s výsledky studie El-Demerdash et al. (2004), kteří stejně jako my ve svém pokusu zaznamenali snížení negativního účinku kadmia na enzymatickou aktivitu v případě podání kadmia v kombinaci s extraktem z hroznových semen.

Naopak u krevních parametrů triacylglycerolu, urey a cholesterolu došlo ke zvýšení jejich koncentrace v krevním séru na konci pokusu, což je v rozporu se studií Newairy et al. (2007), kteří po 20 dnech na konci experimentu pozorovali pokles hladiny triacylglycerolu i cholesterolu v krevním séru potkanů při porovnání se skupinou kontrolní. Doba tohoto pokusu byla však o 8 dní kratší než v našem případě, takže je třeba zvážit, zdali by prodloužení doby působení kadmia na organismus výsledky nepozměnilo. Ve studii Haouem et al. (2007) uvedli, že koncentrace urey v krevní plazmě byla po 12 týdnech přídávku kadmia (1,1 mg/kg krmiva) do diety potkanů prokazatelně vyšší při porovnání s kontrolní skupinou, což je v souladu s našimi výsledky.

V případě podávání kadmia v kombinaci s extraktem z hroznových semen po 28 dnech trvání pokusu byly hodnoty mírně nižší než u skupiny, které byl podáván pouze přídavek kadmia, z čehož lze usuzovat ochranný efekt hroznového extraktu. Je však nutné brát v potaz, že přídavek samotného extraktu z hroznových semen sice po 28 dnech pokusu snížil hodnoty urey a cholesterolu v krevním séru potkanů při porovnání s kontrolní skupinou, ovšem u triacylglycerolů došlo naopak ke zvýšení koncentrace a to o 0,7 mmol/l. Tato odchylka může být vysvětlena chybou měření.

Námi vytvořená hypotéza přídávku kadmia jako stresogenního faktoru za předpokladu ovlivnění metabolického profilu minerálních látek, enzymů a vybraných

krevních parametrů se nám dle našich výsledků (viz tabulka 2, 3 a 4) nepotvrdila. Nebyly sledovány průkazné rozdíly v rámci časového sledování. Ze závěrů našeho pokusu lze vyvodit, že přídavek kadmia ani přídavek hroznových semen nemá významný vliv na metabolické profily u laboratorních potkanů.

Je důležité zvážit, zda při vytváření úsudku o biologické účinnosti hroznových semen byla použita správná experimentální metoda. V našem pokusu probíhalo vystavení potkanů účinku hroznových semen po poměrně krátkou dobu (4 týdnů) a bylo by možné oponovat, že by bylo dobré studii provádět po delší dobu pro zjištění dlouhodobého účinku metabolicky účinných látek na organismus pokusných zvířat.

7 ZÁVĚR

V provedeném experimentu byl zjišťován vliv diety obohacené o extrakt z hroznových semen, o kadmium či o jejich kombinaci na krevní parametry laboratorních potkanů – konkrétně na minerální, enzymatický a krevní profil.

Z výsledků našeho pozorování vyplývá, že podávání extraktu z hroznových semen mělo minimální vliv na koncentraci minerálních látek v krevní plazmě. Po přidání kadmia do diety, hladiny minerálních látek poklesly v porovnání s kontrolní skupinou. Ovšem přídavek kadmia v kombinaci s extraktem z hroznových semen žádný pozitivní vliv neprokázalo.

Byl pozorován pokles enzymatické aktivity při podávání kadmia a tento negativní vliv byl mírně eliminován v případě podávání kadmia v kombinaci s hroznovým extraktem. Při podávání samotného extraktu nebyl zaznamenán žádný příznivý účinek.

V případě přídávku kadmia do diety bylo zaznamenáno zvýšení koncentrace triacylglycerolů, urey a cholesterolu v krevní plazmě. Při kombinaci podávání kadmia s hroznovým extraktem byly hodnoty mírně nižší než u kadmia samotného. Pozitivní vliv zkrmování samostatného extraktu z hroznových semen však nebyl zaznamenán.

Celý pokus byl komplexním zhodnocením krevního obrazu. Nepředpokládali jsme, že by přídavek hroznových semen měl mít vliv na všechny krevní parametry, ale i přesto jsme se rozhodli tyto pokusy provést, jelikož výsledků obdobného pozorování není v současné době mnoho.

Jelikož jsou hroznová semena dostupná ze zemědělsko-průmyslového odpadu, nepředstavují významnou ekonomickou zátěž při výrobě konečných produktů. Mají proto potenciál využití při výrobě krmných aditiv pro hospodářská zvířata.

I když výsledky našeho výzkumu jednoznačně neprokázaly pozitivní vliv přídávku extraktu z hroznového semene do diety pokusných zvířat, existuje mnoho studií, které na jejich příznivý účinek na organismus poukazují. Prokázání pozitivního vlivu hroznových semen na ochranu organismu před těžkými kovy je tedy předmětem pro další studie.

8 POUŽITÁ LITERATURA

ANONYM 1. Trans-resveratrol. ChemSpider: Search and share chemistry [online]. North Carolina: Antony John Williams, 2015 [cit. 2017-02-18]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.392875.htm>

ANONYM 2. Triacylglycerol. *Chemické objekty: Search and share chemistry* [online]. Orlová: Martin Mucha, 2007 [cit. 2017-02-18]. Dostupné z: <http://chemie3d.wz.cz/models.php?id=62>

ANONYM 3. Uric Acid. *ChemSpider: Search and share chemistry* [online]. North Carolina: Antony John Williams, 2015 [cit. 2017-02-18]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.1142.html>

ANONYM 4. Alanine transaminase. *ChemSpider: Search and share chemistry* [online]. North Carolina: Antony John Williams, 2015 [cit. 2017-02-18]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.389851.html>

ANONYM 5. Creatine. *ChemSpider: Search and share chemistry* [online]. North Carolina: Antony John Williams, 2015 [cit. 2017-02-18]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.566.html>

ANONYM 6. Cholesterol. *ChemSpider: Search and share chemistry* [online]. North Carolina: Antony John Williams, 2015 [cit. 2017-02-18]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.5775.html>

ALBERTS, B. *Molecular biology of the cell*. 4. vydání. New York: Garland Science, 2002. ISBN 0815340729.

ALI, K., MALTESE, F., CHOI, Y. H., VERPOORTE, R. Metabolic constituents of grapevine and grape-derived products. *Phytochemistry Reviews*, 2010, 9.3: 357-378.

BAGCHI, D., BAGCHI, M., STOHS, J., DAS, D. K., RAY, S., KUSZYNSKI, C., JOSHI, J., PRUESS, H. Free radicals and grape seed proanthocyanidin extract: importance in human health and disease prevention. *Toxicology* [online]. 2000, 148(2-3), 187-197 [cit. 2017-03-07]. DOI: 10.1016/S0300-483X(00)00210-9.

BAUR, J. A., SINCLAIR, D. A. Therapeutic potential of resveratrol: the in vivo evidence. *Nature reviews Drug discovery*, 2006, 5.6: 493-506.

BERTELLI, A. A., DAS, D. K. Grapes, wines, resveratrol, and heart health. *Journal of cardiovascular pharmacology*, 2009, 54.6: 468-476.

BLAND, J. S. Oxidants and antioxidants in clinical medicine: past, present and future potential. *Journal of Nutritional & Environmental Medicine*, 1995, 5.3: 255-280.

- BORDIGA, M. *Valorization of wine making by-products*. 2016. ISBN 9781482255331.
- BRODANOVÁ, M. *Hepatologie v praxi: onemocnění jater a žlučových cest*. Praha: Galén, 1997. 389 s. ISBN 80-85824-47-7. Kapitola 4, s. 40-69.
- BUBLÍKOVÁ, L., TRNKA, Z., FLAJŠINGEROVÁ, I. *Situační a výhledová zpráva. Réva vinná a víno 2016*. MZe, Praha. ISBN 978-80-7434-316-2.
- BUBNOVÁ, E., BUDĚŠÍNSKÁ A., KŘEMEN J. *Praktická cvičení z lékařské chemie a biochemie: Část III*. 1. vydání. Praha: Karolinum, 1998.
- CONNELLY, N. G. (ed.). *Nomenclature of inorganic chemistry: IUPAC recommendations 2005*. Cambridge: RSC Publishing, c2005. ISBN 0-85404-438-8.
- DIAKOU-VERDIN, P., CARDE, J. P., GAUDILLERE, J. P., BARRIEU, F., OLLAT, N. Grape berry development: a review. *OENO One*, 36(3), 2002, 109-131.
- DO, G. M., KWON, E. Y., KIM, H. J., JEON, S. M., HA, T. Y., PARK, T., CHOI, M. S. Long-term effects of resveratrol supplementation on suppression of atherogenic lesion formation and cholesterol synthesis in apo E-deficient mice. *Biochemical and biophysical research communications*, 2008, 374.1: 55-59.
- EL-DEMERDASH, F. M., YOUSEF, M., KEDWANY, F. S., BAGHDADI, H. H. Cadmium-induced changes in lipid peroxidation, blood hematology and biochemical parameters. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2004, 42(10), 1563-1571 [cit. 2017-03-07]. DOI: 10.1016/j.fct.2004.05.001.
- FÉVRIER, C., WILLEQUET, F. Valorisation par l'alimentation animale. *Le traitement des déchets*, 2009.
- FOX, S. I. *Human physiology*. 13th ed. New York, NY: McGraw-Hill, 2013. ISBN 0073403628.
- FÖRSTNER, U., WITTMANN, G. T. *Metal pollution in the aquatic environment*. Springer Science & Business Media, 2012.
- GHANIM, H., SIA, C. L., ABUAYSHEH, S., KORZENIEWSKI, K., PATNAIK, P., MARUMGANTI, A., DANDONA, P. An antiinflammatory and reactive oxygen species suppressive effects of an extract of *Polygonum cuspidatum* containing resveratrol. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism*, 2010, 95.9: E1-E8.
- GOLDBERG, D., SOLEAS, G. Wine and health: a paradigm for alcohol and antioxidants. *Journal of Medical Biochemistry*, 2011, 30.2: 93-102.
- GOLDBERG, I. J., MOSCA, L., PIANO, M. R., FISHER, E. A. Wine and Your Heart A Science Advisory for Healthcare Professionals From the Nutrition Committee, Council on

Epidemiology and Prevention, and Council on Cardiovascular Nursing of the American Heart Association. *Circulation*, 2001, 103.3: 472-475.

GREENWOOD, N. N., EARNSHAW, A. *Chemie prvku*. Praha: Informatorium, 1993. ISBN 80-85427-38-9.

HAOUEM, S., HMAD, N., NAJJAR, M. F., EL HANI, A., SAKLY, R. Accumulation of cadmium and its effects on liver and kidney functions in rats. *Experimental and Toxicologic Pathology* [online]. 2007, 59(1), 77-80 [cit. 2017-03-07]. DOI: 10.1016/j.etp.2007.03.006.

HAYES, A. W. (ed.). *Principles and methods of toxicology*. 5th ed. New York: Informa Healthcare, 2008. ISBN 978-0-8493-3778-9.

HIGDON, J. V., FREI, B. Catechins and Polyphenols: Health Effects, Metabolism, and Antioxidant Functions. *Critical Reviews in Food Science and Nutrition* [online]. 2003, 43(1), 89-143 [cit. 2017-02-13]. DOI: 10.1080/10408690390826464.

CHROMÝ, V., FISCHER, J. *Analytické metody v klinické biochemii*. 1. vydání. Brno: Masarykova univerzita, 2000.

JÄRUP, L., ÅKESSON, A. Current status of cadmium as an environmental health problem. *Toxicology and applied pharmacology*, 2009, 238.3: 201-208.

JOHRI, N., JACQUILLET, G., UNWIN, R. Heavy metal poisoning: the effects of cadmium on the kidney. *Biomaterials*, 2010, 23.5: 783-792.

JURSÍK, F. *Anorganická chemie kovů*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 2002. ISBN 80-7080-504-8.

KHANAL, R.C., L.R. HOWARD a R.L. PRIOR. Procyanidin Content of Grape Seed and Pomace, and Total Anthocyanin Content of Grape Pomace as Affected by Extrusion Processing. *Journal of Food Science*. 2009, 74(6), H174-H182 Dostupné z: <http://doi.wiley.com/10.1111/j.1750-3841.2009.01221.x>.

KOLOUCHOVÁ, I., MEZLOCH, K., KAL, J., FILIP, V. Obsah resveratrolu v zelenině a ovoci. *Chemické listy*. Praha: Česká společnost chemická, 2005, 99, 492-495. ISSN 0009-2770.

KRAUS, V., FOFFOVÁ, Z., WURM B. *Nová encyklopedie českého a moravského vína*. Praha: Praga Mystica, 2008. ISBN 80-86767-00-0.

KUMAR, V., ABBAS, A. K., ASTER, J. C. (eds.). *Robbins basic pathology*. 9th ed. Philadelphia: Elsevier Saunders, c2013. ISBN 978-1-4377-1781-5.

LUIS, A., SANDALIO, L. M., CORPAS, F. J., PALMA, J. M., BARROSO, J. B. Reactive oxygen species and reactive nitrogen species in peroxisomes. Production, scavenging, and role in cell signaling. *Plant physiology*, 2006, 141.2: 330-335.

- MATOUŠ, B. *Základy lékařské chemie a biochemie*. Praha: Galén, 2010. ISBN 978-80-7262-702-8.
- MARTIN, M. H. *Biological monitoring of heavy metal pollution: land and air*. Springer Science & Business Media, 2012.
- MARTÍN, A. R., VILLEGAS, I., SÁNCHEZ-HIDALGO, M., LA LASTRA, D., ALARCÓN, C. The effects of resveratrol, a phytoalexin derived from red wines, on chronic inflammation induced in an experimentally induced colitis model. *British journal of pharmacology*, 2006, 147.8: 873-885.
- MASOPUST, J., PRŮŠA, R. *Patobiochemie metabolických drah*. 2. vydání. Univerzita Karlova, 2004. 208 s. s. 172–174.
- MASTERJOHN, CH. Synthesis of steroid hormones from cholesterol [online]. Poslední revize 2008-10-09, [cit. 2016-10-15]. <<http://www.cholesterol-and-health.com/Steroid-Hormones.html>>.
- MOATE, P.J., S.R.O. WILLIAMS, V.A. TOROK. Grape marc reduces methane emissions when fed to dairy cows. *Journal of Dairy Science* [online]. 2014, 97(8), 5073-5087 [cit. 2017-02-12]. DOI: 10.3168/jds.2013-7588.
- MURRAY, R. K. *Harper's illustrated biochemistry*. 26th ed. New York: Lange Medical Books/McGraw-Hill, c2003. Lange medical book. ISBN 0-07-138901-6.
- MYANT, N. B. *The biology of cholesterol and related steroids*. London Heinemann Medical Books: Heinemann Medical Books, 2014. ISBN 9780433228806.
- MYŠIČKOVÁ, B. *Božská réva: kniha plná vína*. Praha: PB tisk Příbram, 2015, 369 s. ISBN 978-80-260-8922-3.
- NAGAJYOTI, P. C., LEE, K. D., SREEKANTH, T. V. M. Heavy metals, occurrence and toxicity for plants: a review. *Environmental Chemistry Letters*, 2010, 8.3: 199-216.
- NAVROT, N., ROUHIER, N., GELHAVE, E., JACQUOT, J. P. Reactive oxygen species generation and antioxidant systems in plant mitochondria. *Physiologia Plantarum*, 2007, 129.1: 185-195.
- NEWAIRY, A. A., EL-SHARAKY, A. S., BADRELDEEN, M. M., EWEDA, S. M., SHEWEITA, S. A. The hepatoprotective effects of selenium against cadmium toxicity in rats. *Toxicology* [online]. 2007, 242(1-3), 23-30 [cit. 2017-03-07]. DOI: 10.1016/j.tox.2007.09.001.
- NOËL, L., GUÉRIN, T., KOLF-CLAUW, M. Subchronic dietary exposure of rats to cadmium alters the metabolism of metals essential to bone health. *Food and Chemical Toxicology* [online]. 2004, 42(8), 1203-1210 [cit. 2017-03-07]. DOI: 10.1016/j.fct.2004.02.017.

- ORALLO, F. Comparative studies of the antioxidant effects of cis-and trans-resveratrol. *Current medicinal chemistry*, 2006, 13.1: 87-98.
- PAVLOUŠEK, P. *Pěstování révy vinné: moderní vinohradnictví*. Praha: Grada, c2011. ISBN 978-80-247-3314-2.
- PHAM-HUY, L. A., HE, H., PHAM-HUY, C. Free radicals, antioxidants in disease and health. *International Journal of Biomedical Science*, 2008, 4.2: 89-96.
- POOL RM, CREASY LL, FRACKELTON AS. Resveratrol and the viniferins, their application to screening for disease resistance in grape breeding programs. *Vitis*, 1981, 20: 136-45.
- RAIKWAR, M. K., KUMAR, P., SINGH, M., SINGH, A. Toxic effect of heavy metals in livestock health. *Veterinary world*, 2008, 1.1: 28-30.
- RATTAN, S. I. Theories of biological aging: genes, proteins, and free radicals. *Free radical research*, 2006, 40 (12): 1230-1238.
- REEVES, P. G., CHANEY, R. L. Mineral Status of Female Rats Affects the Absorption and Organ Distribution of Dietary Cadmium. *Environmental Research* [online]. 2001, 85(3), 215-225 [cit. 2017-03-07]. DOI: 10.1006/enrs.2000.4236.
- SANDBICHLER, A. M., HÖCKNER, M. Cadmium Protection Strategies - A Hidden Trade-Off?. *International Journal of Molecular Sciences*, 2016, vol. 17, no. 2, pp. 139.
- SARKAR, S., YADAV, P., BHATNAGAR, D. Cadmium-Induced Lipid Peroxidation and the Antioxidant System in Rat Erythrocytes: the Role of Antioxidants. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* [online]. 1997, 11(1), 8-13 [cit. 2017-03-07]. DOI: 10.1016/S0946-672X(97)80002-8.
- SEN, S., CHAKRABORTY, R., SRIDHAR, C., REDDY, Y. S. R., DE, B. Free radicals, antioxidants, diseases and phytomedicines: current status and future prospect. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*, 2010, 3.1: 91-100.
- SERERO, A., LOPES, J., NICOLAS, A., BOITEUX, S. Yeast genes involved in cadmium tolerance: identification of DNA replication as a target of cadmium toxicity. *DNA repair*, 2008, 7.8: 1262-1275.
- SCHLATTNER, U., TOKARSKA-SCHLATTNER, M., WALLIMANN, T. Mitochondrial creatine kinase in human health and disease. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Molecular Basis of Disease*, 2006, 1762.2: 164-180.
- SILBERNAGL, S. *Atlas fyziologie člověka*. 6. vydání. Praha: Grada, 2004. ISBN 978-80-247-0630-6.

- SOUSA, E. C., JOSÉ, O. B., DUARTE, C., TRAVASSOS, P. A., LAGES, L. Chemical composition and bioactive compounds of grape pomace (*Vitis vinifera* L.), Benitaka variety, grown in the semiarid region of Northeast Brazil. *Food Science and Technology*. 2014. 34(1), 135-142. <https://dx.doi.org/10.1590/S0101-20612014000100020>.
- STEIN, U., BLAICH, R. Untersuchungen über Stilbenproduktion und Botrytisanfälligkeit bei *Vitis*-Arten. *Vitis*, 1985, 24: 75–87.
- STEIN, U., HOOS, G. Induktions und nachweismethoden für stilbene bei vitaceen. *Vitis*, 1984, 23:179–194.
- TEPLAN, V. *Praktická nefrologie*. 2. vydání. Praha: Grada, 2006. ISBN 80-247-1122-2.
- VALKO, M., LEIBFRITZ, D., MONCOL, J., CRONIN, M. T., MAZUR, M., TELSNER, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *The international journal of biochemistry & cell biology*, 2007, 39.1: 44-84.
- VAQUERO, R., ALBERTO, M. R., DE NADRA, M. Antibacterial effect of phenolic compounds from different wines. *Food Control*, 2007, 18.2: 93-101.
- VAZ-DA-SILVA, M., LOUREIRO, A. I., FALCAO, A., NUNES, T., ROCHA, J. F., SOARES-DA-SILVA, P. Effect of food on the pharmacokinetic profile of trans-resveratrol. *The International Journal of Clinical Pharmacology and Therapeutics*, 2008, 46.11: 564-70.
- VÁCHA, M., BIČÍK, V., PETRÁSEK, R., ŠIMEK, V., FELLNEROVÁ, I. *Srovnávací fyziologie živočichů*. 2. vydání. Brno: Masarykova univerzita v Brně, 2004. ISBN 9788021033795.
- VELÍŠEK, J. *Chemie potravin 2*. Tábor: Osis, 2002. 344 s. ISBN 86659-00-3.
- VIETZKE, J. P., BRANDT, O., ABECK, D., RAPP, C., STRASSNER, M., SCHREINER, V., HINTZE, U. Comparative investigation of human stratum corneum ceramides. *Lipids*, 2001, 36.3: 299-304.
- VODRÁŽKA, Z. *Biochemie 2.*, opr. vydání. Praha: Academia, 2007. ISBN 978-80-200-0600-4.
- VODRÁŽKA, Z., RAUCH, P., KÁŠ, J. *Enzymologie*. Praha: Vysoká škola chemicko-technologická, 1998. ISBN 80-7080-330-4.
- Vyhláška 61/2003 Sb., o ukazatelích a hodnotách přípustného znečištění povrchových a odpadních vod. [online] In: *Sbírka zákonů*. 22.12.2010, Částka 8, [cit. 2016-07-20]. Dostupné na: http://eagri.cz/public/web/file/105217/sb0008_2011_23_2011.pdf.
- WADHWA, M., BAKSHI, M. P. S., MAKKAR, H. P. *Utilization of fruit and vegetable wastes as livestock feed and as substrates for generation of other value-added products*. FAO, 2013. ISBN 978-92-5-107631-6.

WALLE, T. Bioavailability of resveratrol. *Annals of the New York Academy of Sciences*, 2011, 1215.1: 9-15.

WINKLER, A., WEBER F., RINGSEIS R., EDER, K., DUSEL, G. Determination of polyphenol and crude nutrient content and nutrient digestibility of dried and ensiled white and red grape pomace cultivars. *Archives of Animal Nutrition* [online]. 2015, 69(3), 187-200 [cit. 2017-02-12]. DOI: 10.1080/1745039X.2015.1039751.

YILMAZ, Y., TOLEDO, R. T. Oxygen radical absorbance capacities of grape/wine industry byproducts and effect of solvent type on extraction of grape seed polyphenols. *Journal of Food Composition and Analysis*, 2006, 19.1: 41-48.

ZELENKA, J. *Výživa a krmení drůbeže*. Olomouc: Agriprint, 2014. ISBN 978-80-87091-53-1.

ZHENG, X., ZHU, S., CHANG, S., CAO, Y., DONG, J., LI, J., ZHOU, Y. Protective effects of chronic resveratrol treatment on vascular inflammatory injury in streptozotocin-induced type 2 diabetic rats: role of NF-kappa B signaling. *European journal of pharmacology*, 2013, 720.1: 147-157.

9 SEZNAM OBRÁZKŮ, TABULEK A GRAFŮ

Seznam obrázků

Obrázek 1: Molekulární struktura resveratrolu.....	15
Obrázek 2: Schéma vzniku triacylglycerolu	16
Obrázek 3: Molekulární struktura kyseliny močové.....	18
Obrázek 4: Katalýza přenosu -NH ₂ skupiny L-alaninaminotransferázou	20
Obrázek 5: Vratná fosforylace kreatinu.....	22
Obrázek 6: Molekulární struktura cholesterolu	23

Seznam tabulek

Tabulka 1: Rozdělení flavonoidů a zastoupení v potravinových zdrojích.....	12
Tabulka 2: Minerální profil.....	35
Tabulka 3: Enzymatický profil	36
Tabulka 4: Krevní profil	37

Seznam grafů

Graf 1: Grafické zobrazení věkové struktury vinic v ČR k 31. 12. 2015	10
---	----

10 SEZNAM ZKRATEK

ALP – alkalická fosfatáza

ALT – alaninaminotrasferáza

AMYL – enzym amyláza

AST – aspartátaminotransferáza

ATP – adenosintrifosfát

CdCl₂ – chlorid kademnatý

CK – kreatinkináza

CK-BB – mozkový izoenzym kreatinkinázy

CK-MB – myokardiální izoenzym kreatinkinázy

CK-MM – svalový izoenzym kreatinkinázy

DNA – deoxyribonukleová kyselina

EDTA – kyselina ethylendiamintetraoctová

GGT – gama-glutamyltransferáza

HDL – vysokodenzitní lipoprotein

CHOL – cholesterol

LDL – nízkodenzitní lipoprotein

lx – jednotka intenzity osvětlení

MK – mastná kyselina

NaCl – chlorid sodný

NH₂ – amidová skupina

NMH – nejvyšší mezní hodnota zdravotního ukazatele pitné vody

OH – hydroxylová skupina

RNA – ribonukleová kyselina

RNS – reaktivní formy dusíku

ROS – reaktivní formy kyslíku

TG – triacylglycerol

VLDL – velmi nízkodenzitní lipoprotein