

**MENDELOVA UNIVERZITA V BRNĚ
AGRONOMICKÁ FAKULTA**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

BRNO 2017

PAULA KRAJČIOVÁ

Mendelova univerzita v Brně
Agronomická fakulta
Ústav výživy zvířat a pícninářství



**Agronomická
fakulta**

**Mendelova
univerzita
v Brně**



**Vliv zkrmování barevných pšeníc na krevní parametry
u laboratorního potkana**
Diplomová práce

Vedoucí práce:
Mgr. Ing. Eva Mrkvicová

Vypracoval:
Bc. Paula Krajčiová

Brno 2017

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Zpracovatelka: **Bc. Paula Krajčiová**
Studijní program: Zootecnika
Obor: Krmivařství
Název tématu: **Vliv zkrmování barevných pšenic na krevní parametry u laboratorního potkana**
Rozsah práce: 50 – 60 stran

Zásady pro vypracování:

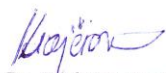
1. V přehledu literatury shrňte dosavadní poznatky o využití barevných obilovin jako krmiva nebo potraviny, pojednejte o nových odrůdách a netradičním zabarvení.
2. Pojednejte o biochemických parametrech krve a o možnostech jejich využití v diagnostice jaterních onemocnění.
3. Proveďte krmný pokus na laboratorních potkaních a použijte barevné odrůdy pšenice.
4. Odeberte vzorky krve a proveďte jejich analýzu.
5. Získaná data zpracujte do tabulek a grafů a statisticky vyhodnoťte.

Seznam odborné literatury:

1. PRUGAR, J. *Kvalita rostlinných produktů na prahu 3. tisíciletí*. Praha: TISKAP, 2008. ISBN 80-86576-28-0.
2. KACEROVSKÝ, O. a kol. *Zkoušení a posuzování krmiv*. 1. vyd. Praha: Státní zemědělské nakladatelství, 1990. 213 s. ISBN 80-209-0098-5.
3. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*. ISSN 0021-8561.
4. ZIMOLKA, J. – HRIVNA, L. – JÁNSKÝ, J. – MAREČEK, J. – RICHTER, R. *Pšenice – pěstování, hodnocení a využití zrna*. 1. vyd. Praha: Profi Press s.r.o., 2005. 180 s. ISBN 80-86726-09-6.
5. MÍŠEK, I. – KNOTEK, Z. a kol. *Chov a využití pokusných zvířat – 2. díl: Základy morfologie laboratorních zvířat*. 1. vyd. Brno: Společnost pro vědu o laborat.zvířatech, 1999. 136 s. ISBN 80-85114-69-0.
6. JEBAVÝ, L. a kol. *Chov laboratorních zvířat*. 1 vyd. Praha: ČZU. ISBN 978-80-213-2176-2.
7. NATIONAL RESEARCH COUNCIL: *Nutrient requirements of laboratory animals*. 4th ed., Washington DC, USA, National Academy Press, 1995. ISBN 0-309-05126-6

Datum zadání diplomové práce: říjen 2015

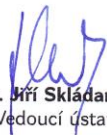
Termín odevzdání diplomové práce: duben 2017



Bc. Paula Krajčiová
Autorka práce



Mgr. Ing. Eva Mrkvicová, Ph.D.
Vedoucí práce



doc. Ing. Jiří Skládanka, Ph.D.
Vedoucí ústavu



doc. Ing. Pavel Ryant, Ph.D.
Děkan AF MENDELU

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci:

.....
vypracoval/a 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 a o změně a doplnění dalších zákonů (zákon o vysokých školách), ve znění pozdějších předpisů, a v souladu s platnou Směrnicí o zveřejňování vysokoškolských závěrečných prací.

Jsem si vědom/a, 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

PodĎakovanie

PodĎakovanie by som chcela venovať predovšetkým vedúcej mojej diplomovej práce, Mgr. Ing. Eve Mrkvicovej Ph.D. za pevné nervy, dôsledné vedenie a ochotu pomôcť s každou maličkosťou. Za odbornú pomoc v oblasti farebných pšeníc chcem poďakovať Bc. Ing. Ondrejovi Šťastníkovi. V neposlednej rade patrí veľké ďakujem spolužiakom za vynikajúcu spoluprácu, a rodine za neutíchajúcu podporu.

Abstrakt

Diplomová práce se zabývá vlivem přídavku pigmentované pšenice Konini, Skorpion a UC 66049 na krevní parametry u laboratorních potkanů kmene Wistar albino. Pokus byl zrealizován na 20 samcích potkana, kteří byli rozděleni do 4 skupin. Každá skupina byla krmena granulemi z jiné pigmentované pšenice. Čtvrtá kontrolní skupina byla krmena granulemi z běžné pšenice Vánek. Během pokusu byly potkani každé 3 dny váženi a jejich přírůstky byly zaznamenávány. Rovněž byla zaznamenávána i spotřeba krmiva. Po 11 týdnech byla potkanům odebrána krev, ze které byla získána krevní plazma. Za použití analyzátoru Ellipse byl analyzován biochemický profil krevní plazmy. Výsledky ukázaly prokazatelný vliv pšenice Skorpion na zvýšení alkalické fosfatázy v krvi oproti modré pšenici UC 66049. Prokázán byl také vliv pšenice UC 66049 na snížení cholesterolu v krvi. Ke zpracování výsledků byla použita ANOVA statistická metoda s využitím Scheffeho testu.

Klíčové slova: pšenice, potkan, krev

Abstrakt

Diplomová práca sa zaoberá vplyvom prídavku pigmentovanej pšenice Konini, Skorpion a UC 66049 na krvné parametre u laboratórnych potkanov kmeňa Wistar albino. Pokus bol zrealizovaný na 20 samcoch potkana, ktorí boli rozdelení do 4 skupín. Každá skupina bola kŕmená granulami z inej pigmentovanej pšenice. Štvrtá kontrolná skupina bola kŕmená granulami z bežnej pšenice Vánek. Behom pokusu boli potkani každé 3 dni vážené a ich prírastky boli zaznamenávané. Takisto bola zaznamenávaná aj spotreba krmiva. Po 11 týždňoch bola potkanom odobraná krv, z ktorej bola získaná krvná plazma. Za použitia analyzátoru Ellipse bol analyzovaný biochemický profil krvnej plazmy. Výsledky ukázali preukázateľný vplyv pšenice Skorpion na zvýšenie alkalickej fosfatázy v krvi, oproti modrej pšenici UC 66049. Preukázaný bol tiež vplyv pšenice UC 66049 na zníženie cholesterolu v krvi. K spracovaniu výsledkov bola použitá ANOVA štatistická metóda s využitím Scheffeho testu.

Kľúčové slová: pšenica, potkan, krv

Abstract

The thesis studies an influence of pigmented wheat Konini, Skorpion and UC 66049 on blood parameters. The tested animals were rats of strain Wistar albino. The experiment was performed on 20 male rats which were divided into 4 groups. Each group was fed with wheat granules. There were Konini group, Skorpion group and UC group. The fourth control group was fed with granules from common wheat „Vánek“. During the experiment subjects weighted every third day and weight gain and the feed consumption were recorded. After 11 weeks blood was collected from the rats and blood plasma was obtained from it. The biochemical profile of the blood plasma was analysed using the Ellipse analyser. The results showed the demonstrable effect of Skorpion wheat on the increase in alkaline phosphatase in the blood compared to blue wheat UC 66049. The effect of Wheat UC 66049 on cholesterol lowering in blood was also demonstrated. The processing was used ANOVA statistical method using the Scheffe test.

Key words: wheat, rat, blood

Obsah

ÚVOD.....	11
CIEĽ PRÁCE	12
LITERÁRNY PREHLAD	13
PŠENICA	13
História	13
Súčasnosť	13
Farebná pšenica.....	14
Antokyany	14
Chemické zloženie antokyanov.....	15
Účinky antokyanov	16
Možnosti uplatnenia farebnej pšenice	16
Purpurová pšenica	17
Modrá pšenica.....	17
Odrody pigmentovanej pšenice	18
Konini.....	18
UC 66049	18
Skorpion	18
BIOLOGICKÉ PARAMETRE KRVI.....	19
Enzýmy v krvi	19
Alkalická fosfatáza ALP	21
Laktátdehydrogenáza LD	23
Gamaglutamyltransferáza (GMT)	24
Aspartátaminotransferáza (AST)	25
Alaninaminotransferáza (ALT)	26
Bielkoviny v krvi.....	26
Albumín	28
Ďalšie látky v krvi	30
Bilirubín	30
Kreatín.....	33
Kreatinín.....	33
Aldosterón.....	35
Močovina.....	36
Amoniak	37
Cholesterol.....	38
Triacylglyceroly TAG (Triglyceridy).....	40

Potkan ako laboratórne zviera	41
História	41
Kmeň Wistar	41
Hematológia a biochémia u potkanov	42
MATERIÁL A METODIKA	43
Metodika kŕmneho pokusu	43
Krmivo	43
Príprava krvnej plazmy	45
Biochemický profil krvnej plazmy	45
Výsledky a diskusia.....	46
Prírastky hmotnosti a spotreba krmiva	46
Váha obličiek a pečene.....	48
Biochemický profil krvnej plazmy potkanov	48
Preukázateľné hodnoty	48
Nepreukázateľné hodnoty.....	49
ZÁVER	52
Zoznam tabuliek.....	53
Zoznam použitej literatúry	54
Prílohy	59

ÚVOD

Pšenica patrí medzi základné obilniny nášho pásma. Z poľnohospodárskej pôdy v Českej republike zaberá takmer polovicu práve táto rastlina. Je využívaná k výžive zvierat, ale je tiež dôležitou súčasťou ľudskej výživy. Neustále je kladený väčší a väčší dôraz na výnos pšenice, cenu, ale aj jej kvalitu a zlepšovanie nutričných hodnôt. V laických kruhoch je dnes často braná ako „strašiak“, ktorému je potrebné sa vyhnúť, ak chceme byť štíhli a zdraví.

Farebné odrody sú pre verejnosť zatiaľ menej známe. V tejto práci sa budeme zaoberať pšenicou Skorpion, Konini, UC 66049, a ako kontrola nám poslúži pšenica Vánek. Skorpion, Konini a UC 66049 majú spoločné to, že obsahujú antokyany, ktoré samotnú obilku naoko zafarbia, a majú zároveň antioxidantné vlastnosti. Táto skutočnosť sľubuje zlepšenie zdravia a pohody hospodárskych zvierat, ktorým bude do kŕmnych dávok započítaná farebná pšenica. Vďaka ďalším testom a experimentom by sa mali tieto farebné odrody dostať až do ľudskej výživy. Predpokladá sa, že zlepšia nutričné vlastnosti celozrnných múk a produktov z nich, a tým pomôžu zvýšiť kvalitu ľudskej stravy.

CIEĽ PRÁCE

Cieľom tejto práce bolo zistiť, aký vplyv má skrmovanie rôznych farebných pšeníc na krvné parametre laboratórnych potkanov.

LITERÁRNY PREHĽAD

PŠENICA

História

Pestovanie obilnín, konkrétne pšenice dvojrnkky, jednozrnky ale aj pšenice obecnej, siaha až do neolitickej doby, čo dokazujú archeologické nálezy. Od neolitu až po sťahovanie národov prevládalo na našom území pestovanie primitívnych tetraploidných a diploidných pľuchatých pšeníc. Od osídlenia Slovanmi začala prevládať hexaploidná pšenica obecná. Obilky, ktoré slúžili ako potrava, sa dnešným príliš nepodobali. Obrábaním pôdy a cieľavedomou činnosťou človeka však odvtedy vznikli mnohé kultúrne plodiny (KULOVANÁ 2001).

Súčasnosť

Rod pšenice *Triticum* L. náleží do čeľade lipnicovitých Poaceae, a patrí sem niekoľko druhov. Klas tejto rastliny je zložený z viackvetých kláskov, ktoré sú umiestnené na jednotlivých článkoch klasového vretena. Môžu byť 1 – 2 až 7 kveté, pričom sú spravidla 1 – 4 plodné. Poznáme niekoľko skupín pšeníc, ktoré sa odlišujú chromozómovým číslom. Základné chromozómové číslo je $n = 7$. Skupina diploidných pšeníc disponuje číslom $2n = 14$. Patria sem pšenica planá jednozrnka, pšenica kultúrna jednozrnka *Triticum boeoticum* (Boiss.) Schiemi a pšenica kultúrna jednozrnka *Triticum monococcum* L. Rastliny tejto skupiny majú ploché klasy, ktoré sa v zrelosti viac či menej rozpadajú, dozrieva tiež iba malá časť obiliek. Ďalšou skupinou sú tetraploidné pšenice, ktoré majú väčší pestovateľský význam. Prináleží im hodnota $2n = 28$. Patria sem pšenica planá dvojrznka *Triticum dicocoides* L., pšenica dvojrznka *Triticum dicoceum* Schrank, pšenica Timofejevova *Triticum timopheevi*, pšenica nadurelá *Triticum turgidum*, pšenica poľská *Triticum polonicum* a pšenica tvrdá *Triticum durum*. Hexaploidná skupina ($2n = 42$) je pestovateľsky najvýznamnejšia. Sem patria pšenica špalda *Triticum spelta* a pšenica siata *Triticum aestivum* L.. Najviac pestovaným druhom u nás i vo svete je práve pšenica siata (ZIMOLKA 2005). V roku 2016 poľnohospodári hospodárili v Českej republike na 3489 tis. hektároch. Z toho na 839 710 ha bola zasiata pšenica (LHOTSKÁ 2016). V krmivárstve sa pšenica využíva na zelené kŕmenie vo fáze od začiatku metania, alebo sa zožne v cestovitej zrelosti zrna metódou GPS (SKLÁDANKA 2014).

Farebná pšenica

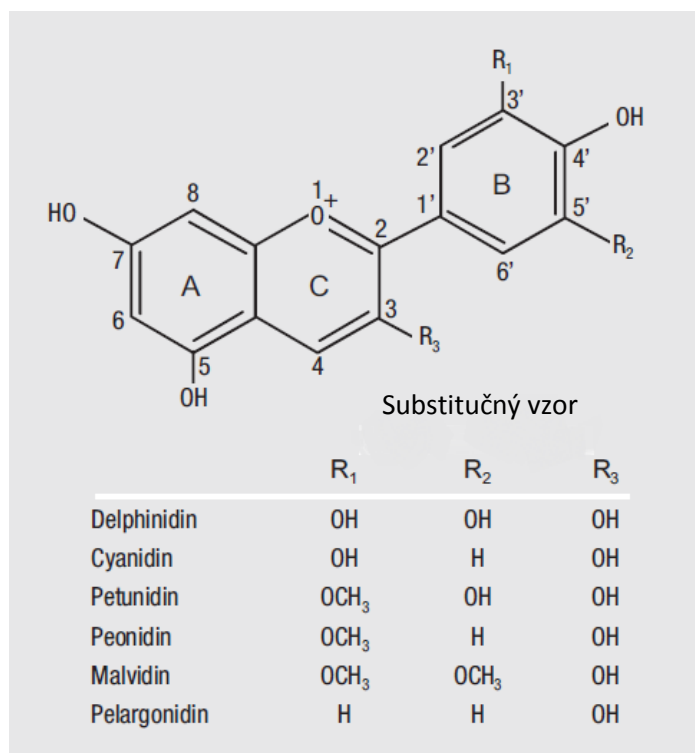
Antioxidačné vlastnosti boli popísané v pigmentovanej ryži aj kukurici (HU 2007). Na územiach východnej Afriky, Nového Zélandu, Kanady, Číny a Rakúska, sa na poliach vyskytujú farebné odrody pšenice (VARGA 2013). Farebné odrody pšenice sa už na prvý pohľad líšia, od pre nás bežných odrôd, farbou zrna. Farbu zrna menia pigmenty, ktoré sú v nej obsiahnuté, a ktoré sú pre žijúce organizmy esenciálne. V pšenici závisí farba na 2 hlavných prírodných triedach pigmentov. Sú nimi karotenoidy a antokyany. Karotenoidy spôsobujú žltú farbu endospermu pšenice, ale aj krupice a iných produktov z nej. Prítomnosť antokyanov spôsobí modrú, purpurovú a červenú farbu obiliek, a akumulujú sa v aleuróne alebo perikarpe pšenice. Karotenoidy aj antokyany majú priaznivé účinky na zdravie spotrebiteľa. Z tohto dôvodu je ich zvýšená akumulácia v rastlinách dôležitým cieľom šľachtiteľských programov, pre zlepšenie nutričných vlastností pšenice a výrobkov z nej (FICCO 2014).

Antokyany

Purpurové a modré sfarbenie obiliek je podmienené širokou škálou antokyanov, ktoré sa bežne vyskytujú v rôznych druhoch ovocia a zeleniny (MARTINEK 2014). Vďaka nim vznikajú odrody, ktoré označujeme ako pigmentované obilniny „pigmented grains“ (FICCO 2014). Antokyany sú najväčšou skupinou vo vode rozpustných farbív v rastlinnej ríši (MAZZA 2007). Sú to sekundárne rastlinné metabolity, ktoré patria do skupiny zlúčenín známych ako flavonoidy (FICCO 2014). Hlavným zdrojom antokyanov sú čučoriedky, čerešne, maliny, jahody, čierne ríbezle, červené hrozno a červené víno. Porcia 100 g týchto plodov obsahuje približne 500 mg antokyanov. Rôzna kombinácia génov na chromozómoch podmieňujúcich rôzne sfarbenia, by mohla zaistiť vyšší obsah antokyanov v zrne (MARTINEK 2014). Absorbované sú v žalúdku a tenkom čreve. Ich metabolity sa v rôznych formách vyskytujú v krvi a moči (MAZZA 2007).

Chemické zloženie antokyanov

Z chemického hľadiska sú to polyhydroxylové a polymetoxylóvé glykozidy a acylglykozidy z antokyanidinov, čo sú zoxidované deriváty 2-phenylbenzopyrylium a soli flavylium (MAZZA 2007). Základom sú aglykóny so zvyškami cukrov, ktoré sú viazané na rôznych pozíciách na hydroxylovú základnú konštrukciu. Jednotlivé antokyanany sa líšia v počte hydroxylových skupín, cukrov, a v alifatických aromatických kyselinách, viazaných na cukry (FICCO 2014). Farebné rozdiely, ktoré voľným okom pozorujeme napríklad na obilkách, sú spôsobené najmä odovzdaním aglykónu alebo glykozyláciou, stupňom a charakterom esterifikácie cukrov s alifatickými alebo aromatickými kyselinami (MAZZA 2007). Vplyv na obsah a pôsobenie antokyanov majú tiež enviromentálne faktory, teda faktory prostredia, ďalej stupeň pH, teplota, typ rozpúšťadla, ktoré je použité pri jeho stanovovaní, ale aj prítomnosť kopigmentov (MAZZA 2007, VARGA 2013). Bolo identifikovaných asi 400 rôznych antokyanov. Šesť z nich je bežne prítomných v rastlinách a sú zatriedené podľa čísla a pozície hydroxylových a metylových skupín na jadre flavanu. Sú to pelargonidin, cyanidin, delphinidin, peonidin, petunidin, and malvidin Najčastejšie sa vyskytujúci antokyanid je cyanidin.



Obrázok 1 Štruktúrna klasifikácia bežne prítomných antokyanov (MAZZE 2007)

Účinky antokyanov

Dôvod, prečo sú antokyanany predmetom štúdií, výskumov a všeobecne záujmu biológov, sú ich antioxidačné účinky. Preukázaný bol tiež preventívny účinok voči rozvoju starnutia, cukrovky či oxidatívneho stresu (MARTINEK 2014). Pripisované sú im aj slabé antibakteriálne účinky, a vlastnosti brániace rozvoju rakoviny (VARGA 2013). Okrem iného majú antokyanany potenciál vychytávať voľné radikály (Abdel-Aal et al. 2008; KNIEVEL et al. 2009). Antioxidačná aktivita, zachytávanie voľných radikálov, kovov a proteínov, ale tiež ochrana LDL (cholesterol nesený v lipoproteínoch o nízkej hustote) proti oxidácii, boli dokázané v *in vitro* systémoch (MAZZA 2007). Antokyanany ďalej zvyšujú odolnosť hepatocytov voči oxidácii, aktivujú pečeneňové enzýmy (aspartát aminotransferáza, alanin aminotransferáza, laktát dehydrogenáza) a znižujú koncentráciu glutatiónu v pečeni (KOWALCZYK et al. 2003). Vďaka týmto terapeutickým účinkom pre ľudí, reprezentujú antokyanany nový cieľ ako genetický pokrok, kvôli spotrebiteľskému dopytu po potravinách s lepšími nutričnými hodnotami a vyšším prínosom pre zdravie (FICCO 2014).

Možnosti uplatnenia farebnej pšenice

Pigmentovaná pšenica má vysoký potenciál na poli živočíšnej, ale aj ľudskej výživy. Výroba krmív a základných potravín z obiliek s vyšším obsahom antokyanov, by mohlo zaistiť priaznivé pôsobenie na welfare zvierat a všeobecne zdravotný stav konzumentov (MARTINEK 2014). Farebné odrody môžu obohatiť sortiment potravinárskych výrobkov. Možno predpokladať že pravidelná dlhodobá konzumácia môže byť prospešná pre zdravie spotrebiteľa, a že zrná môžu byť definované ako funkčné potraviny (MARTINEK 2013). Najviac antokyanov sa nachádza v otrubách. Modrá a purpurová pšenica môže úspešne zdvihnúť obsah antokyanov v pekárenských výrobkoch, ak sa použije celozrnná múka a otruby (VARGA 2013). Bol dokázaný vyšší obsah antokyanov aj vyššia antioxidačná schopnosť vo výrobkoch z pigmentovanej pšenice, oproti totožným výrobkom z bežnej pšenice (PASQUALONE 2015). Pre konkurenčnú schopnosť nových línií je však potrebné dosiahnuť zrovnateľné výnosové úrovne ako u bežných odrôd. Zatiaľ za nimi významne zaostávajú a tento nedostatok treba odstrániť. Je potrebné prispôsobiť pestovateľské a spracovateľské technológie, aby si pri žatve zrno udržalo čo najvyšší obsah týchto látok. Treba preskúmať vplyv ročníku na množstvo antokyanov a vplyv skladovania na degradáciu antokyanov (MARTINEK 2014). Obsah antokyanov v zrne sa líši

aj vo frakciách. Ich množstvo je variabilné v období po kvitnutí, ovplyvnené je tiež podmienkami v období rastu (LAMY et. al., 2006). Prebehlo už viacero experimentov, ktoré sledovali vplyv tepelného spracovania suroviny pri výrobe potravinárskych výrobkov. Bol dokázaný vplyv teploty na degradáciu samotných antokyanov, ale produkty majú stále výbornú schopnosť vychytávania voľných radikálov (LI 2007). Pre uchovanie antokyanov v potravinárskych výrobkoch budú potrebné šetrné postupy spracovania, skrátenie pôsobenia vysokých teplôt na minimum, ako napríklad pufovanie (MARTINEK 2014).

Purpurová pšenica

Gény purpurovej pšenice pochádzajú z Etiópie, kde sa objavili v tetraploidnej pšenici. Nájdené boli aj v chlebovej pšenici v Číne (ZEVEN 1991). Farba je spôsobená génmi Pp pre purpurový perikarp. Do pšenice siatej boli prenesené z tetraploidnej pšenice *T.turgidum L. subsp. Abyssinicum Vavilov* z abbysinskej oblasti v Etiópii (MARTINEK 2014). Keďže sa antokyaniny akumulujú v povrchovej vrstve, v perikarpe, (ZEVEN 1991), majú otruby vyšší priemerný obsah antokyanov, než celozrnný šrot. Otruby sa vyznačujú obsahom antokyanov 251 mg/kg, pričom celozrnný šrot disponuje hodnotou 104 mg/kg (Abdel-Aala Hucl/1999). Purpurové línie majú väčšinou dobrú poľnú odolnosť voči fusariózam klasu, ale často majú malé zrno (MARTINEK 2014).

Modrá pšenica

V modrej pšenici sa antokyaniny akumulujú v aleuróne (ZEVEN 1991). Modré zrno spôsobuje modrošedé zafarbenie múky aj potravín z nej (MARTINEK 2013). Gén pre modrý aleurón, Ba, pochádza od rôznych donorov. Katalóg genetických symbolov pšenice udáva Z gény. Ba1 prenesený spolu s celým ramenom chromozómu z planého druhu *Thinopyrum ponticum* Podp., a Ba2 pochádzajúci z pšenice jednozrnky. Možno predpokladať genetickú podmienenosť modrého aleurónu väčším počtom génov v štvrtej homeologickej skupine chromozómov (MARTINEK 2014). Modré pšenice majú vyšší obsah antokyanov oproti pšeniciam s purpurovým perikarpom, čo mimo iných dokázal aj 3 ročný pokus v Maďarsku. Potvrdil aj teóriu, že množstvo antokyanov je ovplyvnené podnebíom počas rastu pšenice (VARGA 2013). Modrá pšenica má nižší výnos než purpurová. Tento fakt je pravdepodobne podmienený prítomnosťou negatívne pôsobiacich génov vo väzbe s génom pre modrý aleurón, v rovnakom prenesenom chromozómovom segmente z planého druhu. Žiaduce by bolo vykonať

rekombináciu, a tým narušiť tieto väzby. Modré línie majú tiež nízku poľnú odolnosť voči fusarióze klasov (MARTINEK 2014.) Čo sa obsahu antokyanov týka, celozrnný šrot obsahuje 157 mg/kg a otruby 458 mg/kg (ABDEL-AAL a Hucl 1999). V Českej republike sa modrou farbou zrna zaoberal dlhú dobu Miroslav Škorpík vo Výskumnom ústave rastlinnej výroby v.v.i., v Prahe-Ruzyni. Jeho činnosť viedla k vyšľachteniu odrody ozimnej pšenice Skorpion (MARTINEK 2014).

Odrody pigmentovanej pšenice

Existuje viacero odrôd a línií pigmentovanej pšenice, či už purpurovej, modrej alebo červenej. Cieľom, je registrovať nové odrody a zapísať ich do Európskeho katalógu odrôd. Predtým musia však prejsť rokmi testovania a zdokonaľovania, pre docielenie požadovaných znakov a vlastností.

Konini

Odroda Konini patrí do skupiny purpurových pšeníc. Vyšľachtená bola na Novom Zélande v roku 1981. Tu našla aj uplatnenie na trhu ako špeciálna pšenica na pečenie celozrnného chleba (GRIFFIN 1987). Obsahuje 104 mg/kg antokyanov (ABDEL-AAL and HUCL 1999). Ďalej obsahuje 13 g/100g proteínu, 0,43 g/100g β -glukanov a 66,56 g/100g škrobu (DUCHOŇOVÁ 2012).

UC 66049

Táto pšenica má modrý aleurón. Doposiaľ nebola registrovaná ani zapísaná do Európskeho katalógu odrôd. V súčasnosti je podrobovaná testom a experimentom. Obsah proteínov je 13 g/100g a β -glukanov obsahuje 0,39 g/100g (DUCHOŇOVÁ 2012). Obsah antokyanov je vyšší, a to 193,38 mg/kg (ŽOFAJOVÁ et al. 2012), čím potvrdzuje vyšší obsah antokyanov v modrých líniách.

Skorpion

Odroda vyšľachtená v Českej republike bola zaradená do registračných skúšok v Rakúsku, kde bola v roku 2011 aj registrovaná. V nasledujúcom roku bola zapísaná do Európskeho katalógu odrôd (MARTINEK 2014). Skorpion sa zaraďuje do triedy B z hľadiska výroby chleba, teda ako doplnková pšenica. Výnos zrna je nižší ako u súčasných európskych odrôd a to približne o 25 %. Je to stredne neskorá až neskorá odroda so strednou výškou a nižším počtom odnoží. Vhodné je jej pestovanie v oblastiach s dostatočným množstvom vody. Je menej odolná voči

poškodeniu mrazom, mierne odolná voči múčnatke aj poľným fusáriám. Váha 1000 zrn je 46,3 g. Množstvo antokyanov je 31,6 µg/g (MARTINEK 2013).

BIOLOGICKÉ PARAMETRE KRVI

Stanovovanie biologických parametrov je bežnou a často využívanou metódou klinickej medicíny. Výčet parametrov nám pomáha doplniť obraz o celkovom zdravotnom stave zvierat aj človeka. Krvné parametre sa stanovujú v krvnej plazme alebo v krvnom sére. Referenčné hodnoty jednotlivých enzýmov a ďalších látok v krvnej plazme človeka, ošípanej a potkana, sú uvedené v tabuľkách 1 – 15.

Krvná plazma je tekutá zložka krvi. Jej hlavnou úlohou je transport krvných buniek, teda krviniek, ale aj iných látok po organizme. Transportuje rozpustené látky medzi orgány a tkanivá, prináša im živiny a odvádza splodiny po látkovej premene. Okrem toho sa zúčastňuje krvného zrážania, imunitných reakcií, hospodárenia tela s vodou a celkovo na udržiavaní stáleho prostredia v tele. Zabezpečuje homeostázu organizmu a osmolaritu. Krvná plazma je žltej farby a pozostáva najmä z vody, v ktorej sú rozptýlené krvné bielkoviny, anorganické soli, aminokyseliny, cukor, vitamíny, hormóny a odpadové látky (ANONYM 2016). Krvná plazma je objem krvi, po odčítaní hematokritu (SCHMIDT 1993).

Krvné sérum je tekutina, ktorá zostáva po vyzrážaní krvi. Pre porovnanie s plazmou chýbajú v sére látky, ktoré boli spotrebované pri zrážaní. Predovšetkým fibrinogén (LÜLLMANN-RAUCH 2012).

Enzýmy v krvi

Enzýmy sú najpočetnejšia a najdôležitejšia skupina biokatalyzátorov. Sú to bielkovinové makromolekuly, ktoré disponujú katalytickými funkciami, a urýchľujú tak chemické premeny. Enzýmy sa podieľajú na riadení a koordinácii organizovaného a vysoko koordinovaného súboru reakcií, a s nimi spojenými energetickými zmenami. Tieto chemické deje zabezpečujú prísun energie a stavebného materiálu z okolia, a ich využitie pre prevádzku organizmu, a výstavbu jeho súčastí. Predpokladalo sa, že všetky enzýmy sú bielkoviny. Túto domnienku však zmenil objav RNA-enzýmu v primitívnom organizme. To podporuje myšlienku, že funkciu biokatalyzátorov zastávali v prapôvodných organizmoch práve nukleové kyseliny vo vtedajšej podobe.

Enzýmy urýchľujú reakcie bez toho, aby ovplyvnili zloženie rovnovážnej zmesi, zrýchľujú reakciu oboma smermi. Reakcie ktorých rýchlosť enzýmy riadia prebiehajú cielene, podľa geneticky fixovaného plánu. Enzýmy musia zaistiť špecifický priebeh týchto reakcií, bez vzniku vedľajších produktov. Ich aktivita musí byť pružne regulovateľná podľa meniacich sa potrieb organizmov. Zložité štruktúry enzýmov sú veľmi citlivé k rade vplyvov a rýchlo sa opotrebojú. Preto sú v tele organizmu neustále odbúravané a znova syntetizované.

Enzýmy nachádzame vo všetkých živých organizmoch a predpokladá sa, že aj v najjednoduchšej bunke ich je viac než 3000. Druhovo sú enzýmy veľmi špecifické, preto sa celkové množstvo existujúcich enzýmov odhaduje na miliardy.

V prvých dobách štúdia boli enzýmom dávané náhodné triviálne názvy. Postupným zisťovaním väčšieho a väčšieho množstva enzýmov sa prešlo k ich systémovému radeniu a k systémovým názvom enzýmov. Z názvu tak väčšinou môžeme zistiť pomenovanie látky, ktorá sa účastní reakcie či reakcie samotnej (VODRÁŽKA 1996).

Keďže enzýmov je veľké množstvo, rozdeľujeme ich do skupín, podľa rôznych kritérií, akými sú napríklad miesto vzniku, mechanika pôsobenia, alebo chemická skladba. V diplomovej práci pojednávam najmä o indikátorových enzýmoch, aminotransferázach a cholestatických enzýmoch.

Indikátorové enzýmy, sú enzýmy normálne prítomné v cytoplazme hepatocytu. Po jeho porušení sa dostanú do krvi, kde následne môžeme zistiť ich zvýšenú aktivitu. Indikátorové enzýmy nás teda okrem iného upozorňujú na poškodenie pečeneových buniek.

Ďalšiu skupinu enzýmov tvoria aminotransferázy (starší názov transaminázy). Táto skupina zahŕňa napríklad enzýmy aspartátaminotransferáza (AST), alaninaminotransferáza (ALT), ďalej tiež laktátdehydrogenáza (LD) a gamaglutamyltransferáza (GMT) (DASTYCH 2015). Úlohou aminotransferáz je prenášanie $-NH_2$ skupiny aminokyseliny na 2-oxoskupinu najčastejšie kyseliny 2-oxoglutarovej. Produktom reakcie je kyselina glutamová. Kyselina glutamová je v mitochondriách aeróbne dehydrogenovaná, a tým sa obnoví 2-oxoglutarát potrebný pre priebeh ďalších transformácií. Pre potreby klinickej diagnózy sa najčastejšie stanovujú aktivity dvoch aminokyselín AST a ALT (MUSIL 1994). Aktivita vyššie uvedených enzýmov sa v krvi zvyšuje pri vírusovej hepatitíde, toxickom poškodení pečene (lieky, alkohol, otrava

hubami), chronických hepatitídach rôzneho pôvodu a podobne. Tieto enzýmy nie sú obsiahnuté iba v pečeni, ale aj vo väčšine buniek tela (DASTYCH 2015). V bunkách myokardu, kostrových svaloch, obličkách, mozgu a erytrocytoch (SIEGENTHALER 1995). Nález teda nemusí vždy znamenať problém s pečeňou. Je nutné posudzovať laboratórny nález s klinickým obrazom.

Medzi cholestatické enzýmy radíme alkalickú fosfatázu (ALP) a GMT. Ich aktivita v sére sa zvyšuje pri poruche odtoku žlče z pečene do čreva. Porucha môže byť lokalizovaná v intrahepatálnych žľčovodoch (intrahepatálna cholestáza), alebo v extrahepatálnych žľčových cestách (extrahepatálna cholestáza). Na základe laboratórneho nálezu možno tieto 2 typy odlíšiť (DASTYCH 2015).

Alkalická fosfatáza ALP

Pojem alkalická fosfatáza zahŕňa skupinu relatívne nešpecifických enzýmov, ktoré sa pri alkalickom pH (cca 10) hydrolyticky štiepia na rôzne estery kyseliny fosforečnej. V krvnom sére ide o zmes izoenzýmov pochádzajúcich z pečene z biliárnych ciest, ďalej z kostí z osteoblastov, placenty, tráviaceho ústrojenstva, konkrétne enterocytov a v neposlednej rade z obličiek, z buniek proximálneho tubulu. Vo všetkých prípadoch sú tieto enzýmy lokalizované v cytoplazmatickej membráne. Má sa za to, že sa podieľajú na transporte látok cez túto membránu. Stanovenie alkalického fosfatázy patrí k najčastejším vyšetreniam v klinicko-biochemickom laboratóriu (MUSIL 1994). Jej koncentráciu v sére určuje tvorba enzýmu a jeho vylučovanie pečeňou a žľčovými cestami. Stanovenie izoenzýmov alkalického fosfatázy umožňuje oddeliť od seba fosfatázu kostného pôvodu, ktorá sa na celkovom množstve podieľa približne zo 70 %, črevného pôvodu, ktorého podiel je asi 20 %, a hepatobiliárneho pôvodu s podielom 10 %. Odlíšiť zvýšenie koncentrácie fosfatázy v dôsledku kostného alebo hepatobiliárneho ochorenia, je možné na základe stanovenia ďalších obštrukčných enzýmov typických pre pečeň, ako sú leucylaminopeptidáza (LAP) či nukleotidáza, alebo stanovenie izoenzýmov alkalického fosfatázy, ktoré však nie je úplne bežné (SIEGENTHALER 1995). Bez ohľadu na izoenzymatické zloženie spadá najväčšia časť enzymatickej aktivity stanovenej v krvi pečenevému enzýmu.

Normálne hodnoty aktivity enzýmu sú závislé na veku vyšetrovanej osoby. Novorodenci $2,5 \mu\text{kat.l}^{-1}$ (jednotka katalytickej aktivity enzýmov), deti medzi 9. a 11. rokom disponujú najvyššou aktivitou do $5,83 \mu\text{kat.l}^{-1}$, dospelý človek $1,67 \mu\text{kat.l}^{-1}$

(MUSIL 1994). Ako normálnu hodnotu ALP v krvnom sére človeka uvádza Walter SIEGENTHALER (1995) číslo 30-115 U/l (unit per liter).

Mechanizmus zvýšenia spočíva vo zvýšenej syntéze a uvoľnení do obehu pri metabolickom obrate osteoblastov. Pri poruchách funkcie pečene je typickým nálezom obštrukcia žlčových ciest. Pri ich uvoľnení nastáva viditeľný pokles, zhodný so stúpaním a poklesom bilirubínu (MUSIL 1994). Pri hodnotení zvýšenej aktivity alkalickej fosfatázy je ale treba si uvedomiť, že celková aktivita ALP v sére je tvorená súčtom aktivít jej jednotlivých izoenzýmov (DASTYCH 2015).

Zvýšená aktivita môže mať príčiny kostné, hepatobiliárne a iné (SIEGENTHALER 1995). Kostný izoenzým sa zvyšuje pri zvýšenej aktivite osteoblastov, teda pri raste, hojení zlomenín, kostných ochoreniach (DASTYCH 2015), pri ktorých sa uplatňujú osteoblasty, ako sú osteomalácie a rachitídy. Spôsobené môžu byť nedostatkom vitamínu D a tým nedostatočnou resorbciou Ca^{2+} . Tiež u metastáz rôznych nádorov do kostí (MUSIL 1994), predovšetkým karcinóm prostaty a prsníka (SIEGENTHALER 1995), kde pokles enzýmov znamená úspešnú chemoterapiu. (MUSIL 1994) Pečeňový izoenzým sa zvyšuje pri cholesteráze intrahepatálnej aj posthepatálnej rôzneho pôvodu (SIEGENTHALER 1995). Črevný izoenzým býva zvýšený pri nešpecifických črevných zápaloch a pri nádoroch čreva. Placentárny izoenzým je produkovaný placentou, a je zvýšený v sére v priebehu fyziologickej gravidity (DASTYCH 2015). Zvýšenie hodnôt v krvnom sére môžu zapríčiniť aj niektoré lieky, ako antiepileptiká (SIEGENTHALER 1995). Vo všetkých prípadoch je vhodné stanoviť celkovú ALP, ale aj hodnotu jeho kostného izoenzýmu (MUSIL 1994).

Znížené aktivity zaznamenávame pri familiárnej hypofosfatáze, hypertyreóze, hypovitaminóze kyseliny askorbovej, (vitamínu C), a napríklad pri hypofyzárnom trpaslíctve. (SIEGENTHALER 1995)

Tabuľka 1 Hodnoty ALP v krvnej plazme (KOPŘIVA 2011, Doležal 2011)

	Hodnoty ALP v krvnej plazme
Človek	1,67 $\mu\text{kat/l}$
Ošípané	0,25 – 0,5 $\mu\text{kat/l}$
Potkan	0,3-2,1 $\mu\text{kat/l}$

Laktátdehydrogenáza LD

Laktátdehydrogenáza je ubikvitárny enzým zasahujúci do hlavného metabolického reťazca, ktorý sa dostáva do krvi v dôsledku normálneho zániku buniek, a vo zvýšenej miere pri abnormálnom rozpade buniek. Skladá sa zo 4 izoenzýmov / podjednotiek (SIEGENTHALER 1995), ktoré vytvárajú 5 rôznych kombinácií, LD₁ – LD₅. Izoenzýmy LD₁ a LD₂ majú najväčšiu elektroforetickú pohyblivosť a prevládajú v myokarde. LD₅ má najnižšiu pohyblivosť a prevláda v hepatocytoch. LD₃ má najvyššiu koncentráciu v maligne transformovaných bunkách. Jeho aktivity kolíšu podľa druhu malignity. Celková aktivita vo všetkých tkanivách nedáva uspokojivé diagnostické výsledky. Normálne hodnoty laktátdehydrogenázy v krvnom sére sú 60-120 U/l (SIEGENTHALER 1995), alebo 2,0 – 4,0 $\mu\text{kat.l}^{-1}$, izoenzýmu LD₁ okolo 1,33 $\mu\text{kat.l}^{-1}$ (MUSIL 1994).

Zvýšené hodnoty:

Krvné choroby (LD₁ a LD₂)

- Neliečená perniciózna anémia, pokles pri liečení
- Hemolytické anémie
- Akútna leukóza
- Chronická myeloidná leukémia
- Mononukleza

Pľúcne choroby

- Pľúcna embólia, infarkt
- Karcinom bronchu

Srdcové choroby

- Infarkt myokardu
- Pečeňové mestnanie pri srdcových chorobách (LD₅)
- Myokarditída

Choroby pečene a žlčových ciest

- Hepatitída
- Cirhóza (nekrotické ataky)
- Karcinóm pečeňových buniek
- Toxické poškodenie pečene

zhubné nádory, myopatia

(SIEGENTHALER 1995)

Tabuľka 2 Hodnoty LD v krvnej plazme (KOPŘIVA 2011)

	Hodnoty LD v krvnej plazme
Človek	2,0 – 4,0 $\mu\text{kat/l}$
Ošípané	do 10,0 $\mu\text{kat/l}$
Potkan	-

Gamaglutamyltransferáza GMT

Enzým katalyzujúci prenos glutamylovej skupiny na iný akceptorový peptid, alebo na L-aminokyselinu. Fyziologicky je donorom γ -glutamylového zbytku tripeptid glutathion lokalizovaný v cytoplazme, a akceptorom kyselina lokalizovaná extracelulárne, poprípade už viazaná na receptor. V cytoplazmatickej membráne GMT katalyzuje teda transport aminokyselín z extracelulárnej tekutiny do buniek. Cysteinylglycin, ktorý vzniká odštiepením γ -glutamylového zbytku, sa potom v rade ďalších reakcií prebiehajúcich vo vnútri bunky premenuje znova na glutathion a tak sa celý dej opakuje. GMT je teda enzým cytoplazmatickej membrány, a to hlavne tej časti membrány, ktorá je privrátená do žlčových ciest. Normálne hodnoty aktivity sú približne 0,25 – 1,77 $\mu\text{kat.l}^{-1}$ u mužov a 0,167 – 1,100 $\mu\text{kat.l}^{-1}$ u žien. Najvyšší diagnostický

význam predstavuje vzostup u obštrukčného ikteru, chorôb pankreasu a karcinómu pečene, alebo ich metastáz (MUSIL 1994). Zvýšenie nastáva tiež pri cholestáze a zapríčiniť ho môže aj abusus alkoholu a užívanie niektorých liekov (DASTYCH 2015), napríklad antiepileptik (MUSIL 1994).

Tabuľka 3 Hodnoty GMT v krvnej plazme (KOPŘIVA 2011)

	Hodnoty GMT v krvnej plazme
Človek (muž/žena)	0,25-1,77 / 0,167 – 1,100 $\mu\text{kat/l}$
Ošipané	do 0,45 $\mu\text{kat/l}$
Potkan	-

Aspartátaminotransferáza AST

AST je enzýmom zo skupiny aminotransferáz. Je to bunkový sérový enzým, ktorý nájdeme najmä v plazme a mitochondriách. Pri rozpade buniek prechádza do krvného séra. AST sa vyskytuje predovšetkým v pečeni (SIEGENTHALER 1995), v myokarde, kostrových svaloch, obličkách, mozgu a erytrocytoch. Ako normálne hodnoty sú uvádzané 13 U/l (SIEGENTHALER 1995). Aktivita AST v krvi, pokiaľ je stanovovaná kontinuálnym spôsobom, dosahuje 0,67 $\mu\text{kat.l}^{-1}$. V diskontinuálnom prevedení, do 0,33 $\mu\text{kat.l}^{-1}$. Stanovenie aktivity AST sa využíva najčastejšie k indikácii infarktu myokardu. Aktivita sa vtedy zvyšuje na 4 až 5 násobok normálnej hodnoty, a pretrváva po dobu 3 – 5 dní. U anginózných stavov sú čísla nezmenené. Akútna hepatitída a iné hepatídne lézy spôsobia navýšenie až 50 krát. Zvýšenie je badateľné aj pri cirhóze alebo dočasnom uzávere vývodných ciest žľčovým kameňom (MUSIL 1994).

Tabuľka 4 Hodnoty AST v krvnej plazme (KOPŘIVA 2011; DOLEŽAL 2011)

	Hodnoty AST v krvnej plazme
Človek	0,67 $\mu\text{kat/l}$
Ošipané	0,5-1 $\mu\text{kat/l}$
Potkan	3,2-4,4 $\mu\text{kat/l}$

Alaninaminotransferáza ALT

ALT patrí taktiež medzi aminotransferázy. Na rozdiel od AST je tento sérový enzým lokalizovaný výlučne extramitochondriálne v plazme. Vyššiu aktivitu ALT pozorujeme v pečňových bunkách (SIEGENTHALER 1995). Preto je citlivejší indikátor na lézy postihujúce pečňový parenchým (MUSIL 1994). Normálne množstvo v krvnej plazme je 4 – 11 U/l (SIEGENTHALER 1995). Kontinuálne hodnoty aktivity sú 0,75 $\mu\text{kat.l}^{-1}$, pri diskontinuálnom postupe 0,25 $\mu\text{kat.l}^{-1}$. Prudký vzrast nastáva napríklad pri vírusovej hepatitíde. Aktivita je zvýšená aj pri obštrukcii žľčových ciest a cirhóze, rovnako ako AST (MUSIL 1994).

Tabuľka 5 Hodnoty ALT v krvnej plazme (DOLEŽAL 2011, KOPŘIVA 2011)

	Hodnoty ALT v krvi
Človek	0,65 $\mu\text{kat/l}$
Ošípané	0,1-0,4 $\mu\text{kat/l}$
Potkan	0,3-1,5 $\mu\text{kat/l}$

Bielkoviny v krvi

Bielkoviny v plazme predstavujú veľkú skupinu s rôznou, často mnohopočetnou funkciou. Doteraz nie sú všetky funkcie definované (DASTYCH 2015). Ich koncentrácia v krvnom sére závisí na prívode proteínov potravou, na tvorbe normálnych a patologických proteínov v pečeni a retikuloenfootelovom systéme (RES), a taktiež na strate proteínov, ktorá prebieha najmä vďaka obličkám a črevu. Dôležité je stanovenie celkových bielkovín a ich elektroforetické rozdelenie na albumíny a globulíny (SIEGENTHALER 1995). Konkrétne sú delené podľa elektroforetickej pohyblivosti v agarózovom géle do 5 frakcií, a to na albumín, α_1 globulíny, α_2 globulíny, β globulíny a γ globulíny. Iba albumín tvorí relatívne homogénnu frakciu, ostatné frakcie sú značne heterogénne a obsahujú rôzne špecifické bielkoviny (DASTYCH 2015). Preukázanie týchto proteínov následne umožňuje ďalšie vyšetrenie, a to imunoelktroforetické (SIEGENTHALER 1995).

Fyziologické hodnoty proteínov v ľudskej krvnej plazme sa v odbornej literatúre značne rozchádzajú. Walter SIEGENTHALER (1995) uvádza hodnoty celkovej bielkoviny v sére ako 60 – 84 g/l, Milan DASTYCH (2015) 64 – 83 g/l a napríklad Robert F. SCHMIDT (1993) sa prikláňa k hodnotám 65 – 80 g/l. Celkovo sú za normálne hodnoty považované čísla 60 – 87 g/l.

Normálne hodnoty jednotlivých frakcií v ľudskej krvnej plazme sú popísané v Tabuľke č.6

Tabuľka 6 Hodnoty frakcií bielkovín v ľudskej krvnej plazme

Názov frakcie	Albumín	α_1 -globulíny	α_2 -globulíny	β -globulíny	γ -globulíny
Rel.%	55,0 – 65	2,5 – 4,0	7,0 – 10,0	8,0 – 12,5	14,0 – 20

(SIEGENTHALER 1995)

Bielkoviny v plazme sa stanovujú ako celková bielkovina najčastejšie pomocou biuretovej reakcie (DASTYCH 2015), teda reakcie za pomoci zmesi roztokov hydroxidu sodného a síranu meďnatého (ANONYM 2016). Hmotnostne najväčší podiel krvnej plazmy tvoria stovky rôznych bielkovín, ktoré sa vyskytujú v koncentráciách desiatok gramov (albumín), až niekoľko miligramov (koagulačné faktory, C-reaktívny proteín CRP) v litre. Hodnota celkovej bielkoviny poskytuje iba súhrnnú informáciu so zmenami, ktoré sprevádzajú už závažné patologické stavy. Aj tak patrí v klinickej praxi k veľmi často používaným vyšetreniam.

Závažné choroby sú väčšinou sprevádzané hypoproteinémiou. Jej príčinou môže byť nedostatočný prívod plnohodnotných bielkovín v potrave (DASTYCH 2015) pri chronickej podvýžive, mentálnej anorexii (SIEGENTHALER 1995), či v rámci takzvanej proteinokalorickej malnutrice alebo maldigestie a malabsorpcie, pri chorobách zažívacieho traktu. Vzhľadom na to, že väčšinu plazmatických bielkovín, s výnimkou imunoglobulínov, syntetizuje pečeň, sprevádza hypoproteinémia tiež každý závažný, dlhotrvajúci katabolizmus, ktorého sprievodným javom je negatívna dusíkatá bilancia. Patologické straty bielkovín, ktoré presiahnu schopnosť organizmu zaistiť ich náhradu (doplnenie), vedú rovnako k hypoproteinémii. Významné straty pôsobia exudatívne enteropatie, nešpecifické črevné zápaly, Crohnova choroba a ulcerózna kolitída. Straty bielkovín proteinúriou sú významné zvlášť v rámci nefrotického syndrómu. Popáleninové traumy s postihnutím väčších kožných plôch bý-

vajú taktiež príčinou stratovej hypoproteinémie (DASTYCH 2015). Zvýšenej spotrebe dopomôžu zhubné nádory a dlhotrvajúce infekčné procesy (SIEGENTHALER 1995). S nízkou hodnotou plazmatických bielkovín sa môžeme stretnúť pri zmnožení vody v organizme. Hyperhydratácia je fyziologická v rámci retencie vody behom tehotenstva. Môže byť spôsobená iatrogénne, teda chybným liečebným zákrokom, nadbytočným prívodom vody v infúzii.

Naopak zvýšená hodnota plazmatických bielkovín, hyperproteinémia, je zisťovaná menej často. Najčastejšie sa s ňou môžeme stretnúť u pacientov s myelómom sprevádzaným nádorovou syntézou monoklonárnej bielkoviny, paraproteínu. Vtedy hodnoty siahajú na 120 g/l. Menšie zvýšenie bielkoviny v plazme môže spôsobiť zvýšená produkcia bielkovín akútnej fázy v reakcii na záťaž, alebo zvýšená syntéza imunoglobulínov pri chronických, dlhotrvajúcich infekciách. Nepravou hyperproteinémiu pôsobí zahusťenie vnútorného prostredia pri dehydratácii (DASTYCH 2015).

Tabuľka 7 Hodnoty celkovej bielkoviny v krvnej plazme (KOPŘIVA 2011, DOLEŽAL 2011)

	Hodnoty celkovej bielkoviny v krvnej plazme
Človek	60-87 g/l
ošípané	65-85 g/l
potkan	56-76g/l

Albumín

Albumín tvorí 52 – 62 %, a teda najväčší podiel celkových krvných bielkovín. Jedná sa o jednoduchú vláknitú bielkovinu neutrálnej povahy. Jej polypeptidický reťazec sa skladá iba z aminokyselín (DASTYCH 2015). Slúži k osmoregulácii krvi a je súčasne bielkovinovou rezervou organizmu. Môže tiež reverzibilne viazať mnohé látky a preberať tak funkcie nosičové a transportné.

Množstvá v krvnom sére sa pohybujú okolo 35 – 45 g/l, čo zodpovedá asi 60 % celkovej bielkoviny (SCHMIDT 1993). Hodnoty sa opäť u rôznych autorov nepatrne líšia. Albumín je syntetizovaný výhradne v pečeni (SIEGENTHALER 1995). Za

normálnych podmienok sa ho za 24 hodín v pečeni vytvorí približne 17 g (SCHMIDT 1993). Poločas rozpadu je 20 dní.

Albumín sa z 80 % podieľa na onkotickom, koloidne osmotickom tlaku plazmy. Onkotický tlak pôsobí ako najvýznamnejší faktor udržania optimálneho intravazálneho objemu, ktorý je rozhodujúci pre účinnú cirkuláciu krvi a perfúziu (prekrvenie) všetkých orgánov a tkanív. Koloidne osmotický tlak je pôsobený molekulami bielkovín, ktoré sú vzhľadom na veľkosť molekuly zadržované v cievnom riečisku, a fyzikálnym princípom viažu vodu. Proti tejto sile pôsobí hydrostatický tlak krvi, teda krvný tlak a onkotický tlak intersticia. Vznik nerovnováhy medzi týmito fyzikálnymi silami môže vyústiť v presun vody z cievneho riečiska do intersticia alebo tzv. tretieho priestoru (ascites, hydrotorax). Tretím priestorom sa rozumie intersticiom a transcelulárny priestor. Klinickým prejavom sú opuchy a hromadenie tekutiny v telesných dutinách. Albumín tiež pôsobí ako zdroj aminokyselín pre periférne bunky. V neposlednej rade je hlavnou transportnou bielkovinou plazmy. Prítomnosť mnohých záporne nabitých častíc v molekule predstavuje mnoho väzbových miest pre naviazanie najrôznejších endogénnych aj exogénnych, toxických aj potrebných a esenciálnych látok. Napríklad bilirubín je rozpustný iba v silne alkalickom prostredí, alebo za prítomnosti albumínu. Dostatočná koncentrácia albumínu v plazme zabraňuje lipofilnému bilirubínu v prieniku do tkanív centrálnej nervovej sústavy. Voľné MK transportuje albumín po ich vstrebaní črevnými bunkami do pečene. Hormóny sú transportované vďaka vysokej kapacite a nízkej afinite albumínu (DASTYCH 2015), (napr. T_3 a T_4) (SCHMIDT 1993). Stopové prvky zinku a medi sú po vstrebaní v čreve albumínom transportované do pečene k ďalšiemu spracovaniu. Väzba liekov na albumín významným spôsobom ovplyvňuje farmakokinetiku každého podávaného lieku. Ovplyvňuje dynamiku nárastu účinnej liekovej hladiny aj spôsob jeho dávkovania. Frakcie liekov viazaných na albumín sú veľmi významné (DASTYCH 2015). Jeho koncentrácia závisí na syntéze v pečeni a na strate proteínov (SIEGENTHALER 1995).

Znížené hodnoty albumínu, hypoalbuminémia, bývajú spôsobené zníženou syntézou vplyvom porušenej funkcie pečene, alebo nedostatkom AMK, zvýšeným katabolizmom za prolongovaných stresových stavov (DASTYCH 2015), ťažkými chorobami pečene parenchýmu, predovšetkým cirhózou. Zvýšená strata alebo spotreba proteínov nastáva v obličkách pri nefrotickom syndróme, v čreve pri enteropatiách a kolitídach. Zvýšená spotreba je zaznamenaná aj pri chronickom hnisaní či zhubných nádoroch

(SIEGENTHALER 1995). Prípadne môže byť spôsobená presunom do tzv. tretieho priestoru. Zvýšená permeabilita cievneho endotelu je pozorovaná pri ischemických alebo šokových stavoch.

Zvýšená koncentrácia albumínu, hyperalbuminémia, z dôvodu zvýšenej syntézy v pečeni neexistuje. Zvýšené hodnoty ale nachádzame pri zahustení vnútorného prostredia vplyvom dehydratácie (DASTYCH 2015).

Tabuľka 8 Hodnoty albumínu v krvnej plazme (KOPŘIVA 2011, DOLEŽAL 2011)

	Hodnoty albumínu v krvnej plazme
Človek	35 – 45 g/l
ošípané	35-45 g/l
potkan	38-48 g/l

Ďalšie látky v krvi

Bilirubín

bilis – žlč

ruber – červený

Bilirubín je konečným produktom odbúravania hemu, hlavne hemoglobínu červených krviniek. Je to oranžovožlté farbivo, ktoré zafarbuje krvné sérum. Ak sa bilirubín dostane do interstícia, zafarbí nažltlo aj sliznice a kožu (žltáčka) (MUSIL 1994). Bilirubín vzniká v retikuloendotelovom systéme pečene, alebo iných retikuloendotelových bunkách orgánov, napríklad v slezine či kostnej dreni, v ktorých dochádza k deštrukcii erythroctov. Behom rozpadu červených krviniek sa otvorí protoporfyrinový kruh hemu, ktorý je odštiepený hydrolýzou z hemoglobínu. Po uvoľnení železa sa utvorí prvá forma žlčového pigmentu, štvorpyrolový biliverdin. Ten je ľahko redukovaný enzýmom biliverdinreduktázou na bilirubín-zlúčeninu, ktorá je hlavným pigmentom ľudskej žlče. Je tu prítomný iba v stopách, zato je ale najvýznamnejší komponent v žlči vtákov (CHLUMSKÝ 1979). Je nerozpustný vo vode, zato v tukoch sa rozpúšťa veľmi jednoducho. V tejto jeho lipofilnej vlastnosti spočíva jeho čiastočná toxicita. Rozpustí sa v tukoch a ľahko tak preniká do tukového tkaniva, a tak aj do centrálnej nervovej sústavy. Vo vode je rozpustný iba za prítomnosti albumínu (DASTYCH 2015). Bilirubín viazaný na albumín je transportovaný plazmou

k pečenej bunke. Po prechode bunkovou membránou je v hepatocyte konjugovaný, a vylúčený do žlče. Konjugáciou sa stáva ľahko rozpustný vo vode. Nekonjugovaný bilirubín je po prevzatí hepatocytom skladovaný v bunke vo väzbe s rôznymi formami glutation-S-transferáz (GST). Výsledkom intestinálnych baktérií je bilirubín redukovaný. Časť je črevom vedená portálnym obehom do pečene, odtiaľ do krvi a moču, kde sa vyskytuje ako močový urobilinogen. Zostatok je transportovaný do žlče. Neabsorbovaný bilirubín je vylúčený stolicou, ako fekálny urobilinogen (CHLUMSKÝ 1979).

V krvi je teda bilirubín prítomný v dvoch formách, konjugovaný a nekonjugovaný. Voľný bilirubín – glukosiduronát, resp. bilirubín – bisglukosiduronát, je označovaný ako nekonjugovaný. Je vo vode zle rozpustný, preto sa krvou pohybuje vo väzbe na albumín. Vznikol rozpadom z hemu v bunkách retikuloendoteliárnom systéme sleziny, a ešte neprešiel hepatocytmi. Druhou formou je bilirubín-glukosiduronát, označovaný ako konjugovaný. Vznikol v hepatocytoch na štruktúrach endoplazmatického retikula glykosydáciou. Cez žlčový pól hepatocytu bol transportovaný do žlče. Za fyziologický pomer sa berie nie viac ako 12 μmol voľného a 5,1 μmol konjugovaného bilirubínu. Všetok bilirubín (320 mg) ktorý vznikne v ľudskom tele denným odbúraním asi 8 g hemoglobínu, stačí byť vylúčený žlčou do tráviaceho ústrojenstva. V moči teda žiaden bilirubín nie je prítomný (MUSIL 1994).

Stanovenie priamo reagujúceho, vo vode rozpustného konjugovaného bilirubínu, a nepriameho, nekonjugovaného bilirubínu, sa používa pri diferenciálnej diagnóze žltacky. Celkový bilirubín a priamy bilirubín sa stanoví laboratórnym vyšetrením. Nepriamy bilirubín sa vypočíta ako rozdiel medzi celkovým a priamym bilirubínom. Koncentrácie bilirubínu v sére, je výslednicou jednak tvorby bilirubínu prevažne z hemoglobínu, jednak funkčnej kapacity pečene konjugovať bilirubín, a konečne vylučovania bilirubínu do priechodných žlčových ciest. V súvislosti s tým rozlišujeme žltacku prehepatálnu (zvyšená ponuka bilirubínu), intrahepatárnu (porucha vylučovania bilirubínu pečenu, resp. jeho konjugácia v pečeni), a cholestatickú (porušené vylučovanie bilirubínu intrahepatálnymi alebo posthepatálnymi cestami) (SIEGENTHALER 1995).

Jaromír CHLUMSKÝ (1979) vo svojej publikácii uvádza, že celkové množstvo bilirubínu v organizme vytvoreného a do žlči predaného za 24 hodín, sa u človeka odhaduje na 219 až 250 mg. Z toho 80 % pochádza z rozpadu hemoglobínu.

Jeho cirkulujúce množstvo v krvi je 750 g, a denný rozpad je u zdravého 70 kg človeka 6,25 g. 1 g hemoglobínu poskytne 35 mg bilirubínu. Zbytok, ktorý tvorí približne 1/5 množstva pochádza z iných zdrojov, ako sú prekursor hemovej zložky, cytochrom, či svalový globín. Normálna hladina bilirubínu viazaného na bielkovinový nosič albumín v krvi, je 0,1 – 0,5 mg v 100 ml ľudského séra (SIEGENTHALER 1995). Hodnoty priameho, celkového a nepriameho bilirubínu sú v Tabuľke 9.

Tabuľka 9 Hodnoty bilirubínu v ľudskom krvnom sére

Priamy konjugovaný bilirubín	až 0,4 mg/ml (7 μ mol/l)
celkový bilirubín	až 1,0 mg/100 ml (17 μ mol/l)
nepriamy bilirubín	celkový bilirubín - priamy bilirubín

Koncentrácia bilirubínu v krvi sa zisťuje krvnými pečeňovými testami. Jeho základom je test na kvantitatívne stanovenie bilirubínu v sére. Praktizuje sa väčšinou Ehrlichovým diazoreagens. Kvalitatívne určia konjugovaný žlčový pigment, po pridaní alkoholu sa vyhodnotí nekonjugovaný bilirubín, čo je zároveň aj hodnotou celkového sérového bilirubínu (CHLUMSKÝ 1979). Treba dbať na to, aby zmes bilirubínu vo vodnom roztoku, teda aj v sére, nebola vystavená priamemu slnečnému žiareniu. Molekuly bilirubínu sa vtedy štepia (MUSIL 1994).

Zvýšená koncentrácia v sére sa klinicky prejavuje žltáčkou. Môže mať niekoľko príčin

- Zvýšený rozpad erytrocytov - prehepatálna žltáčka
- Poškodený hepatocyt nie je schopný konjugovať bilirubín - hepatálna žltáčka
- Prerušenie odtoku žlče do čreva, najčastejšie kameňom alebo nádorom - posthepatálna žltáčka

(DASTYCH 2015)

Tabuľka 10 Hodnoty bilirubínu v krvnej plazme (KOPŘIVA 2011, DOLEŽAL 2011)

	Hodnoty bilirubínu v krvnej plazme
Človek	17 $\mu\text{mol/l}$
ošípané	2-5 $\mu\text{mol/l}$
potkan	3,4-9,4 $\mu\text{mol/l}$

Kreatín

Vzniká metyláciou guanidinacetátu, hlavne v hepatocytoch. Krvou je transportovaný do buniek kostných svalov a myokardu, kam sa dostáva difúziou. Tu vo forme kreatínfosfátu vystupuje ako zásoba voľnej energie (ATP). Svalová bunka ho využíva hlavne v počiatkovej (anaeróbnej) fáze zvýšenej svalovej činnosti ku krytiu potrebnej energie sťahu. Vo svaloch je asi 40 mg kreatínu a kreatínfosfátu na 100 g vlhkej hmotnosti. Z kreatínu sa spontánne (dehydratáciou) vytvára kreatinín, a to rýchlosťou odpovedajúcou premene asi 2 % jeho celkového obsahu v tele za deň. Normálne hodnoty kreatínu sú 15 – 53 mmol.l^{-1} s výnimkou niektorých svalových ochorení, akým je napríklad progresívna svalová dystrofia. Stanovenie kreatínu v krvnom sére nemá valný diagnostický význam (MUSIL 1994).

Kreatinín

Produkt metabolizmu svalového kreatínu (DASTYCH 2015), presnejšie jeho dehydratácie. Vzniká v organizme relatívne stálou rýchlosťou (MUSIL 1994) v súvislosti s metabolizmom svalov, a je vylučovaný obličkami. Denná produkcia kreatinínu závisí na pohlaví, svalovej hmote a veku (SIEGENTHALER 1995). Kreatinín je vylučovaný obličkovými glomerulami, na rozdiel od močoviny však nie je resorbovaný tubulami. Môže byť ale tubulami sekretovaný, čo sa deje až pri zvýšenej koncentrácii v krvi (MUSIL 1994). Koncentrácia v sére závisí na jeho tvorbe zo svalového kreatínfosfátu, a na jeho vylučovaní glomerulárnou filtráciou obličkami (DASTYCH 2015). Používa sa k posúdeniu veľkosti tejto glomerulárnej filtrácie, pričom je nutné mať na pamäti, že vzostup koncentrácie kreatinínu môžeme zaznamenať až pri poklese glomerulárneho filtrátu na 30 až 50 % normálnych hodnôt (40-50 ml/min). Miernejšie

obmedzenie funkcie obličiek môže teda byť zachytené iba vyšetrením clearance kreatinínu, ktorú získame výpočtom (SIEGENTHALER 1995) z hodnôt kreatinínu v sére a v zbieranej moči. Kreatinín v sére zisťujeme pre diagnostiku obličkových chorôb a sledovanie ich priebehu (DASTYCH 2015). Keďže je jeho množstvo závislé na svalovej hmote (SIEGENTHALER 1995), referenčné hodnoty pre mužov sú o 10 % vyššie než pre ženy. Normované hodnoty pre mužov sú 60 – 100 $\mu\text{mol/l}$, pričom pre ženy 50 – 90 $\mu\text{mol/l}$ (DASTYCH 2015).

Stanovenie nezávisí na diéte s vyšším obsahom proteínov. Falošné zvýšenie však môže zapríčiniť vitamín C, mannitol, klofibrát, metyldopa, pyruvát a rada antibiotík (MUSIL 1994).

Zvýšené hodnoty:

- Akútna a chronická nedostatočnosť obličiek pri rôznych chorobách obličiek
- Funkčná nedostatočnosť obličiek = „prerenálna azotémia“ ako následok zníženého prekrvenia obličiek (vysoká špecifická hmotnosť a osmolarita moči) a.i.
- Hypovolémia
- Šok
- Srdcová nedostatočnosť
- Zvracanie a hnačky
- Nedostatok soli
- Diabetické kóma
- Pečeňová kóma
- Addisonova choroba
- Liečba diuretikami

(SIEGENTHALER 1995)

Tabuľka 11 Hodnoty kreatinínu v krvnej plazme (KOPŘIVA 2011, DOLEŽAL 2011)

	Hodnoty kreatinínu v krvnej plazme
Človek (muž/žena)	60-100 / 60-90 $\mu\text{mol/l}$
ošípané	88-239 $\mu\text{mol/l}$
potkan	17,7-70,7 $\mu\text{mol/l}$

Aldosterón

Aldosterón je jedným z hormónov kôry nadobličiek a je tvorený v zona glomerulosa. Je súčasťou systému, ktorý sa uplatňuje pri regulácii krvného tlaku a náplne krvného obehu. Pôsobením aldosterónu sa v tele zadržiava sodík a teda aj voda a naopak stúpa vylučovanie draslíka močom. K stanoveniu jeho plazmatickej koncentrácie a vylučovaniu obličkami sa používajú radioimunologické metódy. Jeho hodnoty v krvi sú vysoké v detstve, v dospelosti sa znižujú. Normálne hodnoty (pri prijme 6 – 8 g NaCl denne) v krvnej plazme sú 20 – 120 $\mu\text{g/ml}$ (55 – 330 $\mu\text{mol/l}$). Tieto čísla predstavujú pokojové hodnoty. Hodnoty po stimulácii (2 hodiny ortostázy) sú až 500 $\mu\text{g/ml}$ (1400 $\mu\text{mol/l}$). V priebehu dňa sa z tela vylúči 2 – 14 μg (5,5 – 39 $\mu\text{mol/l}$) acidolabilného aldosteron-18-glukuronidu. Znížené hodnoty môžu znamenať nedostatočnosť kôry nadobličiek, negatívnu bilanciu draslíka, pozitívnu bilanciu sodíka, ďalej vrodené poruchy biosyntézy steroidov v nadobličkách, alebo hyporeninemický hypaldosteronizmus (predovšetkým pri cukrovke). Zvýšené hodnoty sa naopak vyskytujú pri opuchách akéhokoľvek pôvodu, negatívnej bilancii sodíka a pozitívnej bilancii draslíka, v tehotenstve, pri hypertyreóze, nádoroch obličky produkujúcej renín atď (SIEGENTHALER 1995).

Tabuľka 12 Hodnoty aldosterónu v krvnej plazme

	Hodnoty aldosterónu v krvi
Človek	55-330 $\mu\text{mol/l}$
Ošípané	-
Potkan	-

Močovina

Močovina je biela kryštalická látka dobre rozpustná vo vode, pre organizmus netoxická (DASTYCH 2015). Je hlavný konečný produkt metabolizmu dusíkatých látok. Jej koncentrácia v sére preto závisí na prívode proteínov, na ich katabolizme a ich vylučovaní obličkami. Podobne ako pri koncentrácii kreatinínu aj tu platí, že koncentrácia močoviny v sére stúpa až vtedy, keď glomerulárna filtrácia klesne o 50% a viac. Koncentrácia močoviny kolíše súbežne s koncentráciou kreatinínu, pričom však na rozdiel od kreatinínu, je koncentrácia močoviny ovplyvnená prívodom proteínov a katabolizmom bielkovín (SIEGENTHALER 1995). Katabolizmus alifatických α -aminokyselín začína oxidatívnou desamináciou za vzniku α -ketokyseliny a amoniaku. Amoniak je dopravený do pečene viazaný na glutamín. V pečeni je za účasti enzymatického cyklu tvorby močoviny (malý Krebsov cyklus) vstavaný do molekuly močoviny. Močovina je glomerulárnou filtráciou prevedená do moču a vylúčená. Stanovenie močoviny v sére sa využíva pri diagnostike chorôb obličiek a sledovaní ich priebehu (DASTYCH 2015). Za normálne sa považujú hodnoty 10 – 50 mg/100 ml v krvnom sére (SIEGENTHALER 1995).

Zvýšená koncentrácia močoviny v krvi môže byť spôsobená:

- Zvýšeným príjmom bielkovín v potrave
- Zvýšeným katabolizmom bielkovín u závažne chorých pacientov
- Zahustením vnútorného prostredia pri dehydratácii
- Znížením glomerulárnej filtrácie pri hypovolémii (extrarenálna urémia)

Znížená koncentrácia môže byť spôsobená:

- Nízkym príjmom bielkovín v potrave (proteínová malnutrice)
- Ťažkou poruchou funkcie pečene – pečňové zlyhanie (nedostatočná tvorba močoviny)
- Hyperhydratáciou, retenciou vody (infúzna liečba, gravidita)

(DASTYCH 2015)

Tabuľka 13 Hodnoty močoviny v krvnej plazme (KOPRIVA 2011, DOLEŽAL 2011)

	Hodnoty močoviny v krvnej plazme
Človek	0,5-2,7 mmol/l
Ošípané	3-6 mmol/l
potkan	2,5-3,5 mmol/l

Amoniak

Amoniak je zlúčenina dusíka s vodíkom. V tele vzniká pri metabolizme dusíkatých látok. Tvorí sa v čreve účinkom baktérií a jeho odbúravanie prebieha v pečeni. Koncentrácia v sére závisí predovšetkým na vstrebávaní amoniaku. Zvýšená koncentrácia amoniaku, v dôsledku zníženia odbúravania v pečeni alebo obídienia pečene pri portokaválnych skratoch, je čiastočnou príčinou pečeňovej kómy. Amoniak sa stanovuje najmä keď možno preukázať typické prejavy pečeňovej kómy alebo prekómy. Má tiež určitý význam pri sledovaní jej priebehu. Ako normálne hodnoty sa uvádzajú 80 – 110 µg/100 ml (47-65 µmol/l)

Zvýšené hodnoty:

- Akútna distrofia pečene
- Terminálna fáza cirhózy pečene
- Pri portokaválnych anastomózach
- Po bohatom prívode proteínov
- Po podaní chloridu amónneho

(SIEGENTHALER 1995)

Tabuľka 14 Hodnoty amoniaku v krvnej plazme (DOLEŽAL 2011, KOPŘIVA 2011)

	Hodnoty amoniaku v krvi
Človek	47-65 $\mu\text{mol/l}$
Ošípané	3,57 – 10,7 mmol/l
Potkan	2,5-3,5 mmol/l

Cholesterol

Chole = žlč

Cholesterol je látka tukovej povahy, ktorá je súčasťou každej našej bunky. Je základnou súčasťou bunkových membrán, zdrojom pre syntézu steroidných a pohlavných hormónov, žlčových kyselín i krvných lipoproteínov. Zdrojom cholesterolu je potrava, ale telo si ho dokáže aj syntetizovať, a to najmä v pečeni. Pre správne stanovenie celkového cholesterolu je teda podmienkou pri odbere krvi predchádzajúce lačnenie, po dobu 10 – 12 hodín. Cholesterol je v pečeni metabolizovaný na žlčové kyseliny, alebo je do žlče vylučovaný v nezmenenej podobe. Referenčné medze sa obyčajne neudávajú. Líšia sa podľa veku, pohlavia, rasy, životného štýlu a ďalších faktorov. Optimálna hladina celkového cholesterolu pre dospelých je ale približne 2,9 – 5,0 mmol/l. Denná bilancia cholesterolu, teda príjem v potrave a syntéza v pečeni, je asi 3 mmol za 24 hodín (asi 500 mg). Rovnaké množstvo sa stráca stolicou. Celkový obsah v tele je približne 280 mmol. Esterifikovaný cholesterol (vo väzbe s mastnou kyselinou) je transportná, zásobná forma cholesterolu, a jeho hladina v krvi sa ne-stanovuje (DASTYCH 2015). V priemere je asi 1/3 neesterifikovaná a 2/3 esterifikované sú. Najčastejšie sú esterifikované kyselinou linolovou, pochádzajúcou z potraviny (MUSIL 1994). Poznáme dve formy cholesterolu. HDL a LDL cholesterol.

HDL-cholesterol, je cholesterol nesený v lipoproteínoch o vysokej hustote (High density lipoproteins). Je odobraný časticami HDL z periférnych tkanív a je nimi prenášaný späť do pečene, alebo predaný do ostatných lipoproteínov. Z pečene je ho väčšina vylúčená do žlče. Optimálna hladina v krvi je 1,0 – 2,1 mmol/l pre mužov a 1,2 – 2,7 mmol/l pre ženy. Čím vyššia hladina HDL-cholesterolu, tým nižšie býva

riziko aterosklerózy. Hladinu HDL cholesterolu možno priamo merať. Pri meraní nie je treba lačnenie.

LDL-cholesterol je nesený v lipoproteínoch o nízkej hustote (Low density lipoproteins). Táto frakcia je prenášaná z pečene do periférnych tkanív, asi dve tretiny ho sú ale vychytávané späť v pečeni. Optimálna hladina v krvi je 1,2 – 3,0 mmol/l pre osoby bez známk či komplikácií aterosklerózy. Horná hranica je znížená < 2,0 mmol/l pre osoby s aterosklerózou (infarkt myokardu, cievna mozgová príhoda). Čím vyššia je hladina LDL-cholesterolu, tým vyššie je aj riziko aterosklerózy. Hladinu LDL cholesterolu je možné buď priamo merať, alebo možno túto hodnotu získať výpočtom, pokiaľ poznáme koncentráciu celkového cholesterolu, HDL-cholesterolu a triacylglycerolov.

Koncentrácia LDL-cholesterolu =

$$\text{celkový cholesterol} - (\text{HDL cholesterol} + \text{triacylglyceridy} / 2,2)$$

Pri meraní výpočtom musí však byť pacient nalačno a nesmie byť príliš vysoká hladina triacylglycerolov (pod 4,5 mmol/l) (DASTYCH 2015).

Za fyziologických okolností by príjem a výdaj cholesterolu mal byť v rovnováhe. Hlavným zdrojom exogénneho cholesterolu sú vajcia. Priemerne je v 1 vají o hmotnosti 48 g 250 – 280 mg cholesterolu. Výskumy však dokazujú, že nadbytočný exogénny cholesterol pôsobí inhibične na kľúčový enzým biosyntézy endogénneho cholesterolu, takže zvýšený príjem exogénneho cholesterolu znižuje syntézu cholesterolu endogénneho a ustálený stav je zachovaný.

Zvýšenie koncentrácie cholesterolu v krvi, je považované za rizikový faktor už spomínanej aterosklerózy. Zvýšené množstvo HDL odsúva cholesterol z periférie do pečene, a tým znižuje jeho koncentráciu v krvnej plazme. Akútne poškodenie hepatocytu je charakterizované znížením obsahu esterifikovaného cholesterolu v krvi (MUSIL 1994).

Tabuľka 15 Hodnoty cholesterolu v krvnej plazme (KOPŘIVA 2011, DOLEŽAL 2011)

	Hodnoty cholesterolu v krvnej plazme
Človek	1,2 – 3,0 mmol/l
Ošípané	2-3,3 mmol/l
Potkan	1,0-3,4 mmol/l

Triacylglyceroly TAG (Triglyceridy)

Triacylglyceroly sú estery mastných kyselín s trojsýtnym alkoholom, glycerolom. Spolu s voľným a esterifikovaným cholesterolom, tvoria skupinu tzv. neutrálnych tukov. Triacylglyceroly sú esterifikované nasýtenými alebo nenasýtenými mastnými kyselinami (SIEGENTHALER 1995). Sú prijímané z potravy, ako exogénne, alebo syntetizované v tele, endogénne. Miestom syntézy je črevná sliznica, pečeň a tukové tkanivá. Zdrojom pre syntézu TAG v pečeni sú prakticky všetky ostatné energetické substráty, ako glukóza, bielkoviny, tuky či alkohol (DASTYCH 2015). Tvoria podstatnú časť lipoproteínových častíc označovaných ako chylomikróny alebo VLDL (lipoproteín s veľmi nízkou hustotou). Chylomikróny zabezpečujú transport TAG z buniek črevnej sliznice cestou lymfy do krvného obehu. VLDL potom opäť transport z pečene do periférnych tkanív (MUSIL 1994). TAG zastávajú dôležitú funkciu ako zásobný energetický substrát. Ďalej pomáha pri regulácii telesnej teploty, a má aj štrukturálny význam, ako obal okolo obličiek, štruktúra prsnej žľazy a podobne (DASTYCH 2015). Normálna koncentrácia v krvnej plazme je 0,8 – 2,0 mmol.l⁻¹. Závisí na veku, pohlaví, rase, spôsobe výživy, strese, klíme, telesnom pohybe a spôsobe zamestnania. Pred odberom je nutné lačnenie po dobu 10 – 12 hodín, a 2 dni pred odberom nesmie byť prijatý žiaden alkohol, z dôvodu jeho vplyvu na zvyšovanie koncentrácie TAG. Niektorí autori uvádzajú, že zvýšená koncentrácia je rizikový faktor pre vznik aterosklerózy. Odporúča sa zmena diétného režimu, ktorá by udržala hodnoty v normovanom rozsahu (MUSIL 1994).

Tabuľka 16 Hodnoty TAG v krvnej plazme (KOPŘIVA 2011)

	Hodnoty TAG v krvnej plazme
Človek	0,8 – 2,0 mmol/l
Ošipané	Do 0,5 mmol/l
Potkan	-

Potkan ako laboratórne zviera

História

Prítomnosť potkanov je dokázateľná už v dobe pliocénu a pleistocénu, teda v prehistorickom období. Dnešný potkan má však pôvod v oblasti Ázie, južného Ruska a severnej Číny. Krysa *Rattus rattus* sa rozšírila do Európy v 11. storočí nášho letopočtu. Potkan *Rattus norvegicus* ju vďaka svojej dravosti v 18. storočí vytlačil, a sám sa rozšíril po celej planéte, pre svoju adaptabilitu a schopnosť priživovať sa na ľudských odpadkoch. Laboratórne potkany sú domestikovanými potomkami *Rattus norvegicus*. V 18. a 19. storočí boli potkany odchovávané v individuálnych chovoch, čo zabezpečilo postupný vznik a vývoj jednotlivých kmeňov. Prvý záznam o experimentálnom využití potkanov bol zaznamenaný v roku 1856, pri sledovaní vplyvu adrenalektómie (ŽIVNÁ 2001). Kmeň Wistar je prvým vyšľachteným laboratórnym kmeňom. Vyšľachtený bol v roku 1906 vo Wistar Institute (HYKLOVÁ 2017).

Kmeň Wistar

Potkany Wistar patria k outbreedným, teda geneticky nedefinovaným líniam. Tieto línie sú geneticky heterogénne, nie sú cielene pripravované príbuzenskou plemenitbou. Charakteristickými fenotypovými vlastnosťami je dosiahnutie väčšej telesnej hmotnosti, vyššej plodnosti, a skorého odstavu mláďat. Potkany Wistar sú albíni, majú širokú hlavu a dlhé uši. Potkany sú aktívne a majú impulzívnu povahu. Sú dlhoveké a náchylné k tvorbe nádorov. Z kmeňa Wistar je vyšľachtená viac než polovica dnešných laboratórných kmeňov. (HYKLOVÁ 2017)

Hematológia a biochémia u potkanov

Vzorky pre hematologické analýzy sú odoberané do skúmaviek s antikoagulačným činidlom. Počet krvných elementov v plnej krvi musí byť stanovený v deň, kedy bola vzorka odobraná. Dlhšie skladovanie môže spôsobiť chybné počty buniek. Čo sa týka enzýmov a ich aktivity, je vždy potrebné mať kontrolnú skupinu potkanov. Alaninaminotransferáza je enzým špecifický pre pečeň potkana, ale aspartátaminotransferáza, je nešpecifická a má malú diagnostickú hodnotu. Aktivita niektorých enzýmov, ako napríklad laktátdehydrogenázy a alkalickéj fosfatázy, je variabilnejšia u potkanov, než u ľudí. Je závislá na technike odberu, spôsobe uloženia a podobne. Väčšina klinicko-biochemických stanovení je zisťovaná v sére, pre niektoré môže byť použitá aj krvná plazma (ŽIVNÁ 2001).

MATERIÁL A METODIKA

Metodika kŕmneho pokusu

Zvieratá určené ku kŕmnému pokusu boli zakúpené z chovného užívateľského zariadenia lekárskej fakulty Masarykovej univerzity v Brne. Použitých bolo 20 samcov outbreedneho kmeňa Wistar albino. Táto línia bola vybraná, pretože je v našom pokuse veľkosť zvierat a dôležitejšia, než jeho definovaný genotyp (DOLEŽAL 2011). Vek zvierat za začiatku pokusu bol 7 týždňov. Pokus bol zrealizovaný v areáli agronomickej fakulty Mendelovej univerzity v Brne, v akreditovaných pokusných priestoroch Ústavu výživy zvierat a pícninárství.

Počas prípravného obdobia, ktoré trvalo 9 dní, boli potkany kŕmené granulami pre potkany, vyrobenými vo firme Biokron Blučina. V prepočte bola za toto obdobie spotreba krmiva 19,9 g na jedinca a deň. Behom tohto obdobia boli pre jednoduchšiu identifikáciu označení vyholením odlišných častí tela, ako sú hlava, chvost, hrudná končatina pravá a ľavá, a panvová končatina pravá a ľavá. Z dôvodu zarastania vyholených častí bolo potrebné toto značenie počas pokusu obnovovať. Srsť potkanov bola pre ich odlíšenie tiež zafarbená na rôznych častiach nezmývatelnou farbou. Potkany boli zvážené. Priemerná váha jedinca na začiatku pokusu bola 179 g. Následne boli potkany rozdelené do skupín.

20 potkanov bolo rozdelených do 4 skupín. Jednotlivé skupiny boli umiestnené do označených plastových chovných nádob, vždy po 5 kusoch. Na dne nádob bol umiestnený filtračný papier, ktorého úlohou bolo absorbovať moč, a kovový rošt. Box bol prikrytý kovovým vekom znemožňujúcim útek zvierat. Na tomto veku boli umiestnené sklenené nádoby na vodu s objemom 0,5 l, ktorých obsah bol minimálne 1 krát denne menený. Tak bol zabezpečený neustály, *ad libitný* prístup k čerstvej vode každej skupine.

Krmivo

Ku kŕmeniu boli použité granule vyrobené z pokusných pšeníc. Prvá pokusná skupina bola kŕmená granulami z pšenice UC 66049 s modrým aleurónom (UC skupina), druhá skupina dostávala granule z pšenice s modrým aleurónom „Skorpion“ (Skorpion skupina), 3 skupina mala k dispozícii iba granule z pšenice Konini s purpurovým perikarpom (Konini skupina). Posledná, štvrtá skupina, bola kontrolnou skupinou.

Granule pre túto skupinu pozostávali z bežnej odrody pšenice „Vánek“ (kontrolná skupina). Aby bola zabezpečená rovnaká hladina dusíkatých látok v granulách pre jednotlivé skupiny, bol k pšeničnému šrotu doplnený lepok. Metódu vyrovnávania dusíkatých látok pomocou lepku použil už GRAY, 1963. Nasledovalo dôkladné premiešanie a granulácia. Kŕmne zmesi potkany prijímali zo sklenených Petriho misiek, ktoré boli pripevnené k roštu. Zvieratám bolo denne pridávané krmivo *ad libitum*. Spotreba bola sledovaná spolu s hmotnosťami jedincov.

Počas celého pokusu bola zvieratám nastavená monodiéta. Tento postup bol zvolený pre lepšiu preukázateľnosť výsledkov vplyvu jednotlivých druhov pšeníc na krvný obraz zvierat. Mal tak byť teda vylúčený možný vplyv iných krmív na výsledky pokusu.

V Tabuľke 17 vidíme chemické zloženie pšeníc použitých v kŕmnom pokuse. Tabuľka 18 zobrazuje chemické zloženie už hotových granúl po úprave dusíkatých látok.

Tabuľka 17 Chemické zloženie použitých farebných pšeníc

		Vánek	Skorpion	UC	Konini
Sušina	(g/kg)	1000	1000	1000	1000
Popol	(g/kg)	13.9	21.3	20.7	21.9
Proteíny	(g/kg)	134.3	184.6	156.4	185.4
Tuk	(g/kg)	15.2	13.9	13.7	14.1
Vláknina	(g/kg)	27.2	29.4	26.7	25.8
Škrob	(g/kg)	695.4	639.8	669.5	643.3

Tabuľka 18 Chemické zloženie pšeničných granúl s lepkom

		Vánek	Skorpion	UC	Konini
Sušina	(g/kg)	886.6	885.2	886.8	888.5
Proteíny	(g/kg)	169.5	169.4	165.8	175.2
Tuk	(g/kg)	19.4	14.7	14.3	19.0
Vláknina	(g/kg)	18.4	20.4	22.4	23.0
Popol	(g/kg)	13.3	16	19.5	17.0
Cyanidin-3-glucosid	(g/kg)	5.09	48.29	47.63	7.90

Kontrolné váženie prebiehalo v trojdňových intervaloch. Kŕmenie pokusnými granulami bolo zahájené vo veku potkanov 56 dní, teda 8 týždňov.

Počas celého trvania pokusu bola teplota v miestnosti udržiavaná na 22°C a relatívna vlhkosť vzduchu dosahovala 50 %. Svetelný režim mali pokusné zvieratá nastavené na 16 hodín svetla a 8 hodín tmy. Pokus trval 11 týždňov, presne 78 dní.

Príprava krvnej plazmy

Pokusným zvieratám boli po uspatí Isofluranom odobrané vzorky krvi z abdominálnej aorty, do vákuových heparínových skúmaviek. Odobrané boli taktiež vzorky pečene a obličiek. Potkany boli následne usmrtené vykvrvením a odstihnutím srdca. Pečene získané pri pitve boli zvážené, vložené do igelitových vreciek, a ihneď prudko zmrazené pri teplote - 80°C pomocou tekutého dusíku, do ďalšieho stanovenia. Vzorky krvi boli upravené centrifugáciou. Centrifugované boli 15 minút na 3 000 otáčok (rpm). Získaná krvná plazma bola zmrazená pri teplote - 20 °C do ďalšieho biochemického vyšetrenia. Vek potkanov na konci pokusu bol 19 týždňov, presne 132 dní.

Biochemický profil krvnej plazmy

Biochemický profil krvnej plazmy bol analyzovaný za použitia analyzátoru Ellipse (AMS Spa, Irtaly). Jednotlivé parametre boli analyzované pomocou individuálnych testov od Erba Lachema (Brno, CZ)

albumín (Alb 500)

celkový (total) proteín (TP 500)

AST - aspartát aminotransferáza (AST/GOT 500)

GGT - gamma-glutamyl transferáza (GGT 250)

ALP - alkalická fosfatáza (ALP AMP 500)

ALT - alanín aminotransferáza (ALT/GPT 500)

LD - laktát dehydrogenáza (LDH-L 100)

bilirubín (BIL T JG 350)

cholesterol (CHOL 250)

TG - triacylglyceroly (TG 250)

kreatinín (CREAT L 500) and Randox, UK

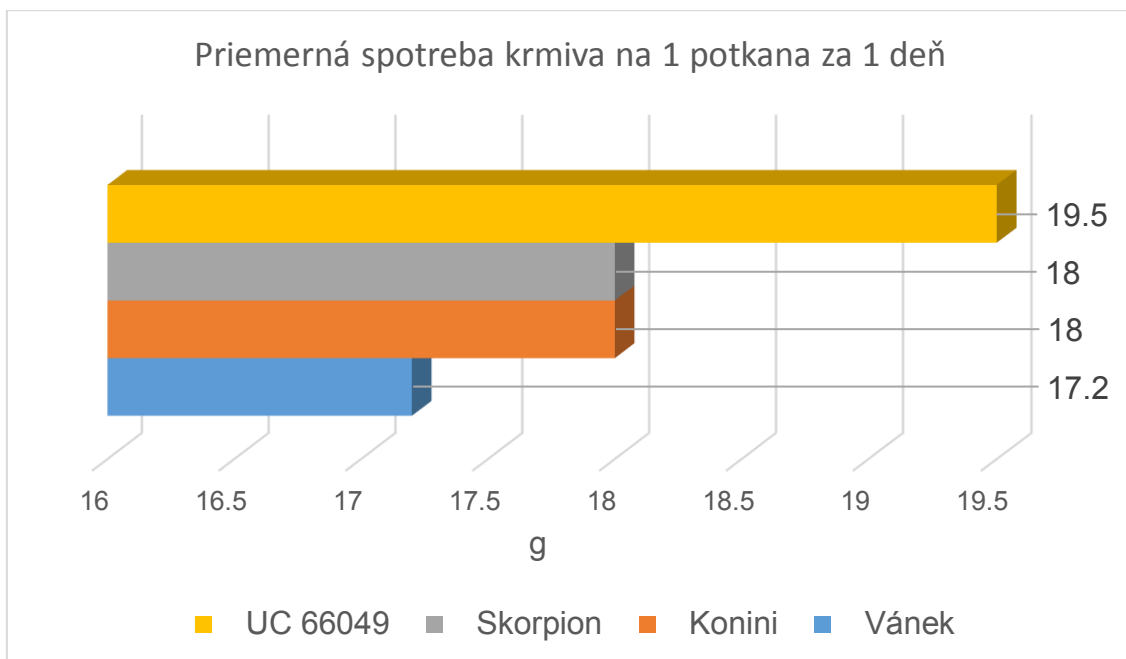
močovina (Urea, cat. No. UR 107)

K spracovaniu výsledkov bola použitá ANOVA štatistická metóda s využitím Scheffeho testu.

VÝSLEDKY A DISKUSIA

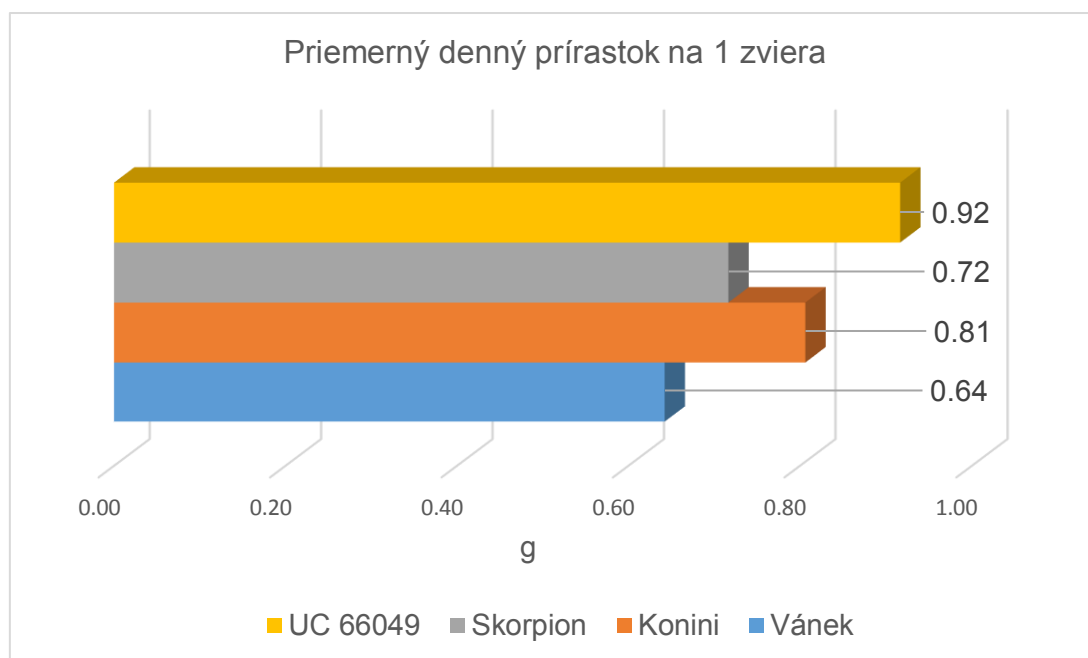
Prírastky hmotnosti a spotreba krmiva

Spotreba krmiva sa počas pokusu pohybovala okolo 18 g na kus a deň. Spotreby jednotlivých pšeníc prepočítané na jeden deň a jedného potkana sú uvedené v Grafe 1. Najnižšiu spotrebu mala kontrolná pšenica Vánek, najvyššiu spotrebu naopak modrá pšenice UC 66049.



Graf 1 Priemerná spotreba krmiva na 1 potkana za 1 deň

U potkanov, ktoré boli kŕmené granulami z pšenice UC 66049, boli zaznamenané spolu s najvyššou spotrebou aj vyššie denné prírastky a to 0,92 g. Najnižšie denné prírastky boli zaznamenané opäť u kontrolnej skupiny Vánek. Ďalšie hodnoty sú uvedené v Grafe 2. Celkové priemerné hodnoty hmotností potkanov na začiatku a konci pokusu, sú zobrazené v Tabuľke 19. Graf 2 znázorňuje priemerné prírastky na potkana a deň v jednotlivých skupinách.



Graf 2 Priemerný prírastok na potkana a deň

Tabuľka 19 Hmotnosti potkanov na začiatku a na konci pokusu

	Váneek	Konini	Skorpion	UC 66049
Hmotnosť (g) na začiatku pokusu	180,4	177,4	175,9	182,3
hmotnosť na konci pokusu (g)	230,5	240,3	231,8	253,8
celkový prírastok (g)	50,1	62,9	55,9	71,5

Obsah kyseliny felurovej a antokyanov v otrubách by mohol spôsobovať nižšie prírastky spôsobené nižšou spotrebou krmiva (KEQUAN et al.,2005), to sa však pri našom pokuse nestalo. Preukázateľný vplyv na spotrebu krmiva a prírastok zvierat nebol dokázaný ani v pokuse z roku 2015, kedy bola testovaná purpurová pšenica Konini na potkanoch, brojleroch a rybách. (MRKVICOVÁ et al.,2016). Signifikantný vplyv na prírastky nemala purpurová pšenica ani na pri experimente realizovanom na brojleroch (ŠŤASTNÍK et al.,2016).

Váha obličiek a pečene

Tabuľka číslo 20 nám ukazuje vplyv rôznych druhov pšenice na hmotnosť pečene a obličiek. Skrmovanie pigmentovanej pšenice má vplyv na veľkosť pečene zvierat. Potkany kŕmené pšenicom Konini a UC 66049 majú v priemere o 1,3 g ťažšiu pečeň, než potkany kŕmené kontrolnou pšenicom Vánek. Tieto hodnoty však nie sú signifikantné. Najťažšie pečene mali potkany v skupine kŕmenej modrou pšenicom Skorpion. Táto skupina mala preukázateľne vyšší podiel pečene zo živej hmotnosti voči kontrolnej pšenici Vánek.

Na hmotnosť obličiek nemalo skrmovanie farebných odrôd pšeníc žiaden preukázateľný vplyv.

Tabuľka 20 Výsledné váhy obličiek a pečene

	Vánek	Konini	Skorpion	UC 66049
Hmotnosť pečene v g	6,97	8,15	8,54	8,38
Hmotnosť obličiek v g	1,99	2,39	2,00	2,19
Podiel pečene zo ŽH v %	3,03	3,38	3,66	3,30
Podiel obličiek zo ŽH v %	0,86	1,00	0,86	0,86
Živá hmotnosť v g	230,5	240,3	231,8	253,8

Biochemický profil krvnej plazmy potkanov

Pokus bol smerovaný najmä na vplyv pigmentovaných odrôd pšenice na biochemické parametre krvi. Zo všetkých hodnôt má preukázateľný vplyv na množstvo cholesterolu a množstvo ALP v krvi potkanov.

Preukázateľné hodnoty

Potkany kŕmené pšenicom Skorpion majú preukázateľne vyššie hodnoty ALP oproti skupine UC 66049, ktorej hodnoty boli najnižšie.

Množstvo cholesterolu v krvi bolo preukázateľne znížené v skupine UC 66049. Nepatrne nižšie hodnoty boli zaznamenané u všetkých pigmentovaných pšeníc oproti kontrolnej skupine, nie však preukázateľne.

Nepreukázateľné hodnoty

U množstva AST nastal výraznejší pokles hodnôt v skupine Konini. U tejto skupiny bolo zaznamenané tiež najnižšie množstvo laktát dehydrogenázy, močoviny a kreatínu.

Skupina Skorpion mala naopak najvyššie hodnoty AST. Najvyššie hodnoty v krvnej plazme potkanov skupiny Skorpion oproti ostatným skupinám, mali aj ALT, TG, celková bielkovina a albumín. Bilirubín mal hodnoty najnižšie.

Skupina UC 66049 mala oproti ostatným trom skupinám najnižšie hodnoty GMT, ALT, TG, celkovej bielkoviny a albumínu.

Jednotlivé biologické parametre sú zobrazené v tabuľke č. 20. Celkové biologické parametre krvnej plazmy jednotlivých potkanov v skupinách sú v Tabuľke č. 21.

Tabuľka 21 Vplyv skrmovanej pšenice na biochemické parametre krvi

	Vánek	Konini	Skorpion	UC 66049
AST	1,97	1,36	1,98	1,79
GMT	0,03	0,05	0,12	0,02
ALT	1,03	0,81	1,10	0,74
ALP	3,16 ^{ab}	2,55 ^{ab}	4,70 ^a	1,92 ^b
Bilirubín	12,80	9,07	8,44	11,22
LD	7,64	3,26	5,50	4,69
TG	0,91	0,88	1,05	0,86
Cholesterol	1,59 ^b	1,53 ^{ab}	1,48 ^{ab}	1,10 ^a
Močovina	12,29	9,44	12,03	10,59
Celková bielkovina	60,06	55,84	61,42	50,16
Albumín	31,58	29,42	32,88	27,10
Kreatín	55,86	49,32	56,42	58,88

zelená farba preukázateľná hodnota, voči červenej farbe

^{a,b} priemery označené rôznymi písmenami sú preukázateľne rozdielne

Signifikantné zmeny na krvných parametroch v iných experimentoch neboli dokázané. ŠŤASTNÍK et. al. zrealizovali kŕmny experiment na brojleroch kŕmených purpurovou pšenickou. Nízky vplyv na biochemické parametre vysvetlili krátkodobosťou experimentu (39 dní). Podobné výsledky však zaznamenali aj ABADI et. al. a BHASWANT et al. (2015), ktorých experimenty nepriniesli preukázateľný vplyv pigmentovaných odrôd obilnín a prídavku cyanidin-3-glukozidu do kŕmnej dávky potkanov. V týchto experimentoch ale netestovali konkrétne odrodu UC 66049, ktorá zníženie hodnôt spôsobila. V Tabuľke 21 sú zobrazené priemerné hodnoty biochemických parametrov so zvýraznenými signifikantnými zmenami. Tabuľka 22 zobrazuje biologické parametre v krvnej plazme jednotlivých potkanov v každej skupine.

Tabuľka 22 Celkové výsledky biochemického vyšetrenia plazmy potkanov

Sk.	AST	GMT	ALT	ALP	BILI	LD	TG	CHOL	UREA	CB	Alb	Kreat
V*	2,34	0,02	1,05	3,72	15,38	10,03	0,91	1,95	12,63	63,0	32,7	59,5
V	1,83	0,01	0,92	3,04	10,04	4,52	0,94	1,55	12,34	61,7	32,4	57,9
V	1,88	0,03	0,98	3,71	10,87	6,72	0,88	1,39	11,64	60,1	31,2	68,2
V	1,81	0,05	0,96	2,74	17,68	6,73	0,86	1,73	12,25	58,7	31,4	31,3
V	1,99	0,02	1,22	2,59	10,04	10,20	0,95	1,33	12,59	56,8	30,2	62,4
K*	1,07	0,08	0,57	3,16	5,99	2,36	0,83	1,72	11,58	62,0	32,8	49,2
K	1,01	0,11	0,69	1,66	4,51	0,12	0,79	1,23	7,87	38,1	19,6	37,4
K	2,08	0,01	1,18	3,12	15,94	10,27	0,87	1,78	8,44	64,7	32,6	51,8
K	1,40	0,03	0,75	2,90	10,99	0,84	1,01	1,30	10,81	59,6	33,3	52,3
K	1,23	0,03	0,86	1,93	7,90	2,71	0,89	1,64	8,50	54,8	28,8	55,9
S*	2,93	0,01	1,17	3,38	12,44	10,91	0,91	1,80	10,57	64,5	32,4	54,9
S	1,83	0,01	0,84	3,68	6,72	4,69	1,84	1,44	10,27	59,8	33,4	42,7
S	1,48	0,06	1,15	5,90	4,69	3,11	0,90	1,41	12,31	63,4	33,6	58,2
S	1,36	0,09	0,81	7,75	6,92	2,20	0,74	1,51	13,18	59,3	31,9	58,1
S	2,28	0,45	1,53	2,78	11,42	6,57	0,85	1,22	13,81	60,1	33,1	68,2
UC	4,76	0,01	1,17	1,67	16,01	13,77	1,02	1,05	9,82	59,1	30,7	60,5
UC	0,91	0,01	0,62	1,76	11,24	2,62	0,77	1,39	8,06	44,6	23,9	49,7
UC	1,09	0,01	0,66	1,74	11,35	2,16	0,78	0,81	9,19	38,1	22,1	66,7
UC	1,16	0,03	0,65	2,36	7,28	2,43	0,80	1,05	11,43	53,5	29,8	54,9
UC	1,01	0,05	0,61	2,06	10,22	2,46	0,92	1,20	14,43	55,5	29,0	62,6

*V = Vánek; K = Konini; S = Skorpion

ZÁVER

V diplomovej práci bol sledovaný vplyv skrmovania farebných pšeníc na krvné parametre u laboratórneho potkana kmeňa Wistar albino. Kľúčny pokus prebiehal 11 týždňov v priestoroch Ústavu výživy zvierat a pícninárství Mendelovy univerzity v Brne. V pokuse boli použité odrody Skorpion, UC 66049, Konini a odroda Vánek, ako kontrola.

Získaná krvná plazma bola analyzovaná analyzátorom Ellipse. Výsledné údaje potvrdili preukázateľný vplyv pšenice Skorpion na zvýšenie množstva alkalického fosfatázy v krvi oproti UC 66049. Odroda modrej pšenice UC 66049 tiež preukázateľne znižuje hodnoty cholesterolu v krvi. Hodnoty bielkovín a ďalších enzýmov a látok nemali preukázateľné výsledky. Tieto výsledky dokazujú, že skrmovanie farebnej pšenice nemá negatívny vplyv na biologické parametre krvi. Zvýšené hodnoty ALP u skupiny Skorpion sú významné iba voči inej farebnej pšenici (UC 66049), nie však voči kontrole. Preukázateľné zníženie cholesterolu v krvnej plazme u skupiny UC 66049 dokazuje pozitívny vplyv na zdravie jedincov, ktorí by túto modrú pšenicu prijímali pravidelne a dlhodobo.

Zoznam tabuliek

Tabuľka 1 Hodnoty ALP v krvnej plazme.....	23
Tabuľka 2 Hodnoty LD v krvnej plazme.....	24
Tabuľka 3 Hodnoty GMT v krvnej plazme.....	25
Tabuľka 4 Hodnoty AST v krvnej plazme.....	25
Tabuľka 5 Hodnoty ALT v krvnej plazme.....	26
Tabuľka 6 Hodnoty frakcií bielkovín v ľudskej krvnej plazme.....	27
Tabuľka 7 Hodnoty celkovej bielkoviny v krvnej plazme.....	28
Tabuľka 8 Hodnoty albumínu v krvnej plazme.....	30
Tabuľka 9 Hodnoty bilirubínu v ľudskom krvnom sére.....	32
Tabuľka 10 Hodnoty bilirubínu v krvnej plazme.....	33
Tabuľka 11 Hodnoty kreatinínu v krvnej plazme.....	35
Tabuľka 12 Hodnoty aldosterónu v krvnej plazme.....	35
Tabuľka 13 Hodnoty močoviny v krvnej plazme.....	37
Tabuľka 14 Hodnoty amoniaku v krvnej plazme.....	38
Tabuľka 15 Hodnoty cholesterolu v krvnej plazme.....	40
Tabuľka 16 Hodnoty TAG v krvnej plazme.....	41
Tabuľka 17 Chemické zloženie použitých farebných pšeníc.....	44
Tabuľka 18 Chemické zloženie pšeničných granúl s lepkom.....	44
Tabuľka 19 Hmotnosti potkanov na začiatku a na konci pokusu.....	47
Tabuľka 20 Výsledné váhy obličiek a pečene.....	48
Tabuľka 21 Vplyv skrmovanej pšenice na biochemické parametre krvi.....	49
Tabuľka 22 Celkové výsledky biochemického vyšetrenia plazmy potkanov.....	51

Zoznam použitej literatúry

1. ABADI M.H.M.G., RIAHI M., SHIVAZAD M., ZALI A., ADIBMORADI M. (2014): *Efficacy of wheat based vs. corn based diet formulated based on digestible amino acid method on performances, carcass traits, blood parameters, immunity response, jejunum histomorphology, cecal microflora and excreta moisture in broiler chickens*. In: Iranian Journal of Applied Animal Science, 4(1): 105–110. Dostupné z: http://www.sid.ir/en/VEWSSID/J_pdf/1034220140122.pdf
2. ABDEL-AAL E.S.M., HUCL P. (1999): *A rapid method for quantifying total antho-cyanins in blue aleurone and purple pericarp wheats*. In: Cereal Chem.,76(3): 350 – 354.
3. ABDEL-AAL E.S.M., ABOU-ARAB A.A., GAMEL T.H., HUCL P., YOUNG J.C., RABALSKI I. (2008): *Fractionation of blue wheat anthocyanin compounds and their contribution to antioxidant properties*. In: Journal of Agricultural and Food Chemistry, 56(23): 11171–11177., DOI: 10.1021/jf802168c
4. ANONYM. (2017): *Krvná plazma*. In: Medixa.org [online]. [cit. 2017-03-10]. Dostupné z: <http://sk.medixa.org/choroby/krvna-plazma>
5. BHASWANT M., FANNING K., NETZEL M., MATHAI M.L., PANCHAL S.K., BROWN L. (2015): *Cyanidin 3-glucoside improves diet-induced metabolic syndrome in rats*. In: Pharmacological Research, 102(1): 208–217. DOI: 10.1016/j.phrs
6. DASTYCH M., BREINEK P., (2015): *Klinická biochemie: bakalársky obor Zdravotní laborant., 3. vydání.*, Brno: Masarykova univerzita, ISBN 978-80-210-7788-1.
7. DOLEŽAL, D. (2011): *Práce s laboratorními zvířaty: laboratorní myš, potkan a králík*. Olomouc: Univerzita Palackého v Olomouci, ISBN 978-80-244-2947-2.
8. DUCHOŇOVÁ, L., VARGOVIČOVÁ M., ŠTURDÍK E. (2012): *Nutritional Profile of Untraditional Colored Wheat Grains and Their Bread Making Utilisation*. In: Journal of Life Science. Bratislava, 6, 1008-1015. Dostupné tiež z: <http://www.davidpublishing.com/davidpublishing/Upfile/10/31/2012/2012103166638249.pdf>

9. FICCO D. B. M., MASTRANGELO A., TRONO D., et al. (2014): *The colours of durum wheat: a review*. In: *Crop and Pasture Science*. 2014, 41(2), DOI: 10.1071/CP13293. ISSN 1836-0947. Dostupné také z: <http://www.publish.csiro.au/?paper=CP13293>
10. GRAY I., (1963): *Lysine deficiency and host resistance to anthrax*. In: *J. Exper. Med.*, 1963, 117(3): 497-508. PMID: PMC2180449 Dostupné tiež z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2180449/>
11. GRIFFIN W. B (2012): *Outcrossing in New Zealand wheats measured by occurrence of purple grain*. In: *New Zealand Journal of Agricultural Research.*, 30(3), 287-290. DOI: 10.1080/00288233.1987.10421885. ISSN 0028-8233. Dostupné tiež z: <http://www.tandfonline.com/doi/full/10.1080/00288233.1987.10421885>
12. HANZLOVÁ J., HEMZA J., (2007): *Základy anatomie soustavy dýchací, srdečně cévní, lymfatického systému, kůže a jejich derivátů III*. Brno: Masarykova univerzita, ISBN 978-80-210-4360-2.
13. HU Ch., CAI Y., et. al. (2007): *Anthocyanin characterization and bioactivity assessment of a dark blue grained wheat (*Triticum aestivum* L. cv. Hedong Wumai) extract*, In: *Food Chemistry*. Elsevier, 104(3), 955-961 Dostupné tiež z: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0308814607000465>
14. HYKLOVÁ, P. (2017) *Laboratorní potkani a jejich dopce* [online]. [cit. 2017-03-8]. Dostupné z: <http://www.czkp.cz/ja-potkan/vse-kolem-me/laboratorni-potkani-a-jejich-adopce>
15. CHLUMSKÝ, J., VOLEK V., (1979): *Hepatologie*. Praha: Avicenum, Knižnice praktického lékaře. Dostupné tiež z: <http://www.digitalniknihovna.cz/mzk/uuid/uuid:98ccd350-796b-11e5-99af-005056827e52>
16. KEQUAN Z.; PARRY J. W.; YU L.: In: Shahidi F., Ho C. T. (Eds,) *American Chemical Society*. Washington, 2005, 10-18.
17. KITTS, David D., MAZZA G., (2007): *Anthocyanins and heart health*. In: *Ann Ist Super Sanità*. 2007, 43(4), 369-374. PMID 18209270
18. KNIEVEL D.C., ABDEL-AAL E.S.M., RABALSKI I., NAKAMURA T., HUCL P. (2009): *Grain color development and the inheritance of high anthocyanin blue aleurone and purple pericarp in spring wheat (*Triticum aestivum* L.)*. In: *Journal of Cereal Science*, 50(1): 113–120.

19. KOPŘIVA V. (2011): *Vybrané biochemické a fyziologické hodnoty jednotlivých druhů zvířat*, 1-8. Dostupné také z:
http://cit.vfu.cz/ivbp/wp-content/uploads/2011/07/vy_04_04.pdf
20. KOWALCZYK E., KOPFF A., FIJAŁKOWSKI P., KOPFF M., NIEDWOROK J., BŁASZCZYK J., BLASZCZYK J., KÊDZIORA J., TYŚLEROWICZ P. (2003): *Effect of anthocyanins on selected biochemical parameters in rats exposed to cadmium*. In: *Acta Biochimica Polonica*, 50(2): 543–548.
21. KULOVANÁ E. (2001): *Letmé nahlédnutí do historie kulturních plodin*. In: *Úroda* [online]. 2001 [cit. 2017-03-19]. Dostupné z: <http://uroda.cz/letme-nahlednuti-do-historie-kulturnich-plodin/>
22. LAMY S., BLANCHETTE M., MICHAUD-LEVESQUE J., LAFLEUR R., DUROCHER Y., MOGHRABI A., BARRETTE S., GINGRAS D., BELIVEAU R. (2006): *Delphinidin, a dietary anthocyanidin, inhibits vascular endothelial growth factor receptor-2 phosphorylation*. *Carcinogenesis*, 27(5): 989–996. PMID 16308314
23. LI W., PICKARD D., BETA T. (2007): *Effect of thermal processing on antioxidant properties of purple wheat bran*. In: *Food Chemistry*. Elsevier, 104(3): 1080-1086.
24. LÜLLMANN-RAUCH, R.(2012): *Histologie*. Praha: Grada, ISBN 978-80-247-3729-4
25. MARTINEK P., ŠKORPÍK M., CHRPOVÁ J., FUČÍK P., SCHWIEGER J. (2013): *Development of the new wheat variety Skorpion with blue grain*. In: *Czech Journal of Genetics and Plant Breeding*, 49: 90–94
26. MARTINEK P., VYHNÁLEK T. (2014): *Barevné zrno pšenice jako zdroj antioxidantů*. In: *Úroda*. [online]. 2001 [cit. 2017-03-19], www.profipress.cz, (7): 68-70.
27. MRKVICOVÁ E., PAVLATA L., KARÁSEK F. et al. (2016) *The influence of feeding purple wheat with higher content of anthocyanins on antioxidant status and selected enzyme activity of animals*. In: *Acta Veterinaria Brno*. 85(4), 371-376. DOI: 10.2754/avb201685040371. ISSN 0001-7213. Dostupné tiež z: <https://actavet.vfu.cz/85/4/0371/>
28. MUSIL, J. (1994): *Molekulové základy klinické biochemie*. Praha: Grada, 1994. ISBN 80-7169-056-2.

29. PASQUALONE A., BIANCO A., PARADISO V., SUMMO C., GAMBACORTA G., CAPONIO F., BLANCO A. (2015): *Production and characterization of functional biscuits obtained from purple wheat*. In: Food Chemistry. 180: 64-70. DOI: 10.1016/j.foodchem.2015.02.025., PMID: 25766802, Dostupné tiež z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0308814615001958>
30. SCHMIDT, R.F.(1993): *Memorix - fyziologie.*, Scientia Medica, 1993. ISBN 80-85526-18-2.
31. SIEGENTHALER, W. (1995): *Diferenciální diagnostika vnitřních chorob*. Praha: Aventinum, 1995. ISBN 80-85277-40-9. Dostupné tiež z: <http://www.digitalniknihovna.cz/mzk/uuid/uuid:c89828f0-9e34-11e3-a744-005056827e52>
32. SKLÁDANKA, J. (2014): *Pícninářství*. Brno: Mendelova univerzita v Brně, ISBN 978-80-7509-111-6.
33. ŠŤASTNÍK O., KARÁSEK F., ROZTOČILOVÁ A., DOLEŽAL P., MRKVICOVÁ E., PAVLATA L., (2016): *The influence of feeding wheat with purple grain to performance and biochemical parameters of broiler chickens*. In: Mendel Net. Brno, 2016, 284-288.
34. VARGA M., J. BÁNHIDY, L. CSEUZ a J. MATUZ. (2013): *The anthocyanin content of blue and purple coloured wheat cultivars and their hybrid generations*. In: Cereal Research Communications. 2013, 41(2), 284-292. DOI: 10.1556/CRC.41.2013.2.10. ISSN 0133-3720. Dostupné také z: <http://www.akademiai.com/doi/abs/10.1556/CRC.41.2013.2.10>
35. VODRÁŽKA Z. (1996): *Biochemie*. 2. opr. vyd. Praha: Academia, 1996. ISBN 80-200-0600-1. Dostupné také z: <http://www.digitalniknihovna.cz/mzk/uuid/uuid:7f94b340-1c5f-11e4-8f64-005056827e52>
36. ZIMOLKA J. (2005): *Pšenice: pěstování, hodnocení a užití zrna*. Praha: Profi Press, ISBN 80-86726-09-6.
37. LHOTSKÁ D. (2016): *Vývoj osevních ploch a odhady sklizně*. Statistika&my: Měsíčník českého statistického úřadu [online]. 2016, 6(9) [cit. 2017-03-19]. Dostupné z: <http://www.statistikaamy.cz/2016/09/vyvoj-osevnich-ploch-a-odhady-sklizne/>

38. ZEVEN, A. C. (1991): *Wheats with purple and blue grains: a review*. In: Kluwer Academic Publishers. Printed in the Netherlands, 243-258. DOI: 10.1007/BF00042371. ISBN 10.1007/BF00042371. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/BF00042371>
39. ŽIVNÁ, H. (2001): *Základy práce s potkanem v laboratoři*. Hradec Králové: Solichte, ISBN 80-238-7761-5

	n	AST (μkat/l)	GMT (μkat/l)	ALT (μkat/l)	ALP (μkat/l)
		priemer ± smerodatná chyba			
Vánek	5	1,97 ^a ± 0,098	0,026 ^a ± 0,007	1,026 ^a ± 0,053	3,16 ^{ab} ± 0,238
Konini	5	1,36 ^a ± 0,193	0,052 ^a ± 0,019	0,81 ^a ± 0,104	2,55 ^{ab} ± 0,316
Skorpion	5	1,98 ^a ± 0,287	0,124 ^a ± 0,083	1,1 ^a ± 0,131	4,7 ^b ± 0,928
UC 66049	5	1,79 ^a ± 0,745	0,022 ^a ± 0,008	0,742 ^a ± 0,107	1,92 ^a ± 0,129

	n	Bilirubin (μmol/l)	LD (μkat/l)	TG (mmol/l)	Cholesterol (mmol/l)
		priemer ± smerodatná chyba			
Vánek	5	12,8 ^a ± 1,57	7,64 ^a ± 1,09	0,908 ^a ± 0,017	1,59 ^b ± 0,114
Konini	5	9,07 ^a ± 2,03	3,26 ^a ± 1,82	0,878 ^a ± 0,037	1,53 ^{ab} ± 0,113
Skorpion	5	8,44 ^a ± 1,49	5,5 ^a ± 1,54	1,048 ^a ± 0,200	1,48 ^{ab} ± 0,094
UC 66049	5	11,22 ^a ± 1,41	4,69 ^a ± 2,27	0,858 ^a ± 0,049	1,1 ^a ± 0,096

	n	UREA (mmol/l)	CB (g/l)	Albumin (g/l)	Kreatinin (μmol/l)
		priemer ± smerodatná chyba			
Vánek	5	12,29 ^a ± 0,178	60,06 ^a ± 1,09	31,58 ^a ± 0,448	55,86 ^a ± 6,39
Konini	5	9,44 ^a ± 0,735	55,84 ^a ± 4,72	29,42 ^a ± 2,583	49,32 ^a ± 3,17
Skorpion	5	12,03 ^a ± 0,700	61,42 ^a ± 1,06	32,88 ^a ± 0,318	56,42 ^a ± 4,09
UC 66049	5	10,59 ^a ± 1,105	50,16 ^a ± 3,85	27,1 ^a ± 1,719	58,88 ^a ± 2,98

AST – aspartátamíntransferáza; GMT – gama-glutamyltransferáza; ALT – alanínaminotransferáza; ALP – alkalická fosfatáza; LD – laktátdehydrogenáza; TG – triglyceridy, CB – celková bielkovina

Príloha č. 1 Výsledky biochemického vyšetrenia krvnej plazmy potkanov (priemery označené rôznymi písmenami sú štatisticky preukázateľne rozdielne, P < 0,05)