



SPOLEČNOST MLADÝCH AGRÁRNÍKŮ
ČESKÉ REPUBLIKY

**MODERNÍ POZNATKY VE
VÝŽIVĚ HOSPODÁŘSKÝCH A
DOMÁCÍCH ZVÍŘAT
12/015/1310b/164/000099**

**MINERÁLNÍ LÁTKY
V CHOVU PRASAT**

Ing. Pavel Horký, Ph.D.



PROGRAM ROZVOJE VENKOVA

Evropský zemědělský fond pro rozvoj venkova: Evropa investuje do venkovských oblastí

OBSAH

ÚVOD	3
1.1 PRODUKCE VEPŘOVÉHO MASA VE SVĚTĚ	4
1.2 VÝZNAM MINERÁLNÍCH PRVKŮ	4
1.3 POTŘEBY MINERÁLNÍCH PRVKŮ	10
1.4 ZDROJE MINERÁLNÍCH LÁTEK	12
1.4.1 Organické zdroje minerálních látek	13
1.4.2 Anorganické zdroje minerálních látek	17
1.5 CHRÓM	18
1.6 SELEN	24
1.6.1 Vliv na reprodukci	30
1.7 ZÁKLADNÍ LABORATORNÍ HODNOTY EJAKULÁTU PLEMENNÝCH KANCŮ	31
1.7.1 Motilita	31
1.7.2 Koncentrace	32
1.7.3 Procento patologických spermií	32
1.7.4 Objem ejakulátu	33
1.8 REAKTIVNÍ FORMY KYSLÍKU – REACTIVE OXYGEN SPECIES (ROS)	33
1.9 ANTIOXIDANTY	35
1.9.1 Superoxiddismutáza (SOD)	36
1.9.2 Glutathion peroxidáza (GSH-Px)	37



ÚVOD

Minerální látky jsou sloučeniny, které organismus zvířete nepotřebuje ve velkém množství, ale jsou nezbytné pro správný průběh primárních fyziologických pochodů. Jedná se o látky, které mají vztah k těmto základním funkcím strukturální, fyziologické, katalytické a regulační. Mají vztah k celé škále pro chovatele důležitých vlastností jako je reprodukce, celkový zdravotní stav, produkce a s tím spojený ekonomický zisk.

U dnešního genotypu prasat, který je na vysoké úrovni musíme umět zajistit i adekvátní výživu, abychom dosáhli optimální produkce a vyhnuli se zdravotním problémům. Pro chovatele prasnic a kanců jsou nejdůležitější reprodukční ukazatele, které rozhodují o ekonomické rentabilitě celého chovu, ať už se jedná o počet narozených selat ve vrhu či počet vyrobených inseminačních dávek. Jedny z nejdůležitějších mikroprvků z pohledu výživy chovných prasat s ohledem na reprodukční ukazatele jsou selen, mangan a zinek. V posledních letech se dostává do popředí zájmu odborné veřejnosti i chróm. V dnešní době se zajišťuje správná vyváženost mikroprvků v krmných směsích pomocí minerálních premixů.

Na trhu se objevují zdroje minerálních látek, v anorganické a organické formě tzv. cheláty. Obecně je známo, že organické zdroje mikroprvků dokáže zvíře lépe využívat než jejich anorganické protějšky a umí s nimi i lépe hospodařit. Tato skutečnost má za následek lepší zásobení tkání minerálními látkami při nižších dávkách těchto sloučenin a nižším zatížení životního prostředí. Na druhé straně je nutné brát v potaz vyšší cenu organicky vázaných minerálií a také je správně zařazovat do krmných směsí tak, aby tento zásah byl pro chovatele ekonomicky výhodný. Jako nevýhodu chelátů lze chápat i to, že jsou poměrně snadno falšovatelné.

Mělo by být v zájmu široké odborné veřejnosti zjistit jaké zdroje minerálních látek je nejvhodnější podávat plemenným zvířatům, abychom dosáhli optimální reprodukční parametry a chov byl tak konkurenceschopný.

1.1 Produkce vepřového masa ve světě

Vepřové maso je nejdůležitějším zdrojem bílkovin pro lidskou populaci. Během posledních 30-ti let došlo k požadovanému zvýšení produkce vepřového masa a chovy prasat prošly rozsáhlou industrializací. Během této doby došlo ke zlepšení genetiky, výživy, managementu, ustájení a zdravotní péče. Soubor těchto vyjmenovaných vlivů měl za následek zvýšení produkce (více odstavených selat na prasnici za rok, lepší využitelnost živin, vyšší přírůstky, nižší konverzi krmiva, snížení doby výkrmu atd.). Vývoj krmných dávek a krmných strategií prošel za poslední roky velkou modernizací a stále se pracuje na jeho vylepšování. Hlavní důvody jsou ty, že dnes jsou k dispozici moderní genotypy prasat, které mají specifické požadavky na energii, proteiny, aminokyseliny, ale také na makro a mikro živiny včetně vitamínů a minerálních látek (CLOSE, SURAY, TAYLOR-PICKARD, 2008).

Nejvyšší celosvětovou produkci mezi všemi druhy mas zaujímá vepřové maso. V roce 2007 byla jeho spotřeba 110,7 mil. t⁻¹, z toho 21,4 mil.t⁻¹ v Evropské unii. Nejvyšší produkci si drží dlouhodobě Čína s 50,0 mil. t⁻¹ (ROPPI, 2007, cit. CLOSE, SURAY, TAYLOR-PICKARD, 2008). BLAIR (2007) dodává, že v současné době se zvyšuje produkce masa v ekologických chovech. Takto vyrobené vepřové maso získává u spotřebitelů na své oblibě.

1.2 Význam minerálních prvků

Minerální prvky jsou skupina anorganických prvků odlišných od aminokyselin sacharidů a tuků. Jejich potřeba se pohybuje v malém množství (g, mg, mikrogramy). Doplnění prvků, nebo iontů je nutné pro normální funkci růstových a reprodukčních procesů u všech zvířat (UNDERWOOD a SUTTLE, 1999).

V roce 1874 Forster zjistil, že minerální látky obsažené v popelu po zpopelnění tkání jsou potřebné pro život zvířat. Toto zjištění vedlo k zavedení dietetické esenciality minerálních prvků, neboť uvedené prvky je nezbytné dodávat vedle uhlíku, vodíku, kyslíku a síry, které se získávají prostřednictvím vody, sacharidů, tuků a bílkovin (KVASNIČKOVÁ,

1998). Minerální látky jsou významnými stavebními kameny živočišného těla a mají velký význam ve funkci regulátorů metabolických pochodů (KUDRNA, 1998). Jako stopové prvky jsou obecně akceptovány železo, mangan, měď, zinek, molybden, kobalt, selen, jod, fluor, nikl, chrom, cín a vanad (JELÍNEK a kol., 2003).

V organismu prasat se minerální látky podílejí na mnoha významných dějích. Využití minerálií u prasat závisí na:

- příjmu minerálií – využití klesá jestliže příjem významně převyšuje potřebu
- potřebě minerálií – využití se zvyšuje, když je potřeba vyšší. Využití je vyšší u mladších prasat, u dospělých zvířat se zvyšuje ke konci březosti a v laktaci
- chemických vazbách a fyzikální struktuře ve zdroji
- interakcích – existuje velký počet antagonistických a synergických vztahů mezi minerálními látkami (ZINTZENA, 1975, cit. ŠIMEČEK, ZEMAN, HEGER, 1993).

Minerální látky existují v buňkách a tkáních živočichů v nejrůznějších formách a kombinacích i v charakteristických koncentracích typických pro určitý prvek a tkáň. Jednotlivé minerální prvky nepůsobí v organismu samostatně, ale vždy ve vzájemných souvislostech. Pro fyziologickou funkci a strukturální integritu tkání musí být zachována optimální koncentrace a poměr minerálních látek (JELÍNEK a kol., 2003). Objasňování esenciální povahy minerálních prvků pro organismus se rychle mění. Esenciální prvek je prvek, který je potřebný pro adekvátní růst, reprodukci a zdraví během života, kdy všechny ostatní nutriční faktory jsou optimální (MULLAN, 2007)

Stanovení aktuální potřeby minerálních prvků u plemenných prasat je velice obtížné, mnoho zjištění je založených na minimální úrovni, která zajišťuje prevenci před příznaky deficitu. Role minerálních prvků v reprodukci je často podceňována, každá část reprodukčního cyklu by měla být zohledněna i z hlediska minerální výživy (CLOSE a COLE, 2003). Jak doplňují MAHAN a NEWTON (1995 cit. PETERS a MAHAN 2008) u prasnic

klesá celkové množství minerálních látek v těle po třetím reprodukčním cyklu. Tento jev může mít za následek zhoršenou reprodukční výkonnost. Adekvátní minerální příjem v tomto období je nezbytný pro správné udržení hormonální sekrece enzymatické aktivity a ukládání minerálních látek do kostí. QUESNEL a kol. (2008) ve svém experimentu sledovali u prasnic, s doplňkem selenu průkazně vyšší obsah tohoto prvku v kolostru, mléce a krevní plazmě. Seleta od těchto prasnic měla vyšší intenzitu růstu v porovnání se selaty od prasnic, kterým nebyl selen v krmné dávce navýšen. Avšak, mezi experimentálními skupinami nebyl průkazný rozdíl v množství imunoglobulinů v kolostru a mléce. SIVERTSEN a kol. (2007) dodávají, že přidavek selenu do diety selat může zlepšit jejich budoucí vývoj a zlepšit přírůstky ve výkrmu.

Minerální látky jsou důležitou součástí diety, mají mnoho rozdílných fyziologických rolí uvnitř těla zvířat, od regulačních funkcí po strukturální. Intenzifikace chovu prasat vedla k suplementování diet minerálními látkami a zároveň musely být uvedeny limity z obavy nadměrného vylučování těchto sloučenin do půdy a následně i rostlinných produktů. Minerální látky jsou nedílnou součástí i reprodukčního procesu, mikroprvky podporují řadu aktivit včetně udržení buněčného množení, jsou důležité jak pro různé druhy sekrece, tak i pro celkovou imunizaci organismu (CLOSE a COLE, 2003). OPLETAL, SKŘIVANOVÁ, (2010) dodávají, že k ovlivnění sexuality (resp. vývoje gonád) jsou používány právě stopové prvky. Ačkoli se vyskytují ve tkáních ve velmi nízké koncentraci (10^{-6} - 10^{-9} mg. kg⁻¹), mají v organismu mimořádný význam v řadě katalytických a enzymatických, aktivačních a regulačních procesů. Jsou pro život nezbytné a nemohou být nahrazeny jinými látkami, nebo sloučeninami. V současných podmínkách chovu dochází k poruchám metabolismu a karenci mikroelementů nezbytných pro fyziologickou činnost organismu, což má negativní vliv na zajišťování dobrého zdravotního stavu, produkce i reprodukce zvířat. Karence mikroelementů jsou zjišťovány u zvířat především jako subklinické poruchy s negativním působením na konverzi krmiva, růst, reprodukci a produkci.

Minerální látky jsou v organismu zastoupeny v množství 3 – 5 % tělní hmoty. Mají významný vliv na normální průběh metabolických procesů a tím i na užitkovost a zdraví zvířat, jejich dlouhověkost, reprodukci atd. Podle stupně potřeby můžeme minerální látky rozdělit na:

- Nepostradatelné
- Postradatelné
- Toxické

Toto rozdělení má ovšem jen relativní platnost. Nepostradatelnost prvku je z pravidla určena:

- Přítomností v živočišném organismu v normálním metabolickém stavu
- Stabilitou zastoupení v organismu
- Morfologickými změnami tkání při vyvolání deficitu prvku v dietě
- Dosažením normality metabolického stavu zvířete při aplikaci prvku (ZEMAN a kol, 2006)

WILSON, ROZEBOOM a CRENSHAW (2004) doplňují, že minerální látky se vyznačují také těmito znaky:

- Jsou strukturální komponenty těla, např. svalové tkáně a kosti
- Jsou obsaženy v tělesných tekutinách
- Jsou komponenty, nebo aktivátory enzymů, koenzymů a hormonálních mechanismů

Potřeba stopových prvků pro živé organismy je druhově odlišná a jsou v organismu nezastupitelné. Podílejí se na řadě jak trávicích, tak biosyntetických procesů. Mikrobiogenní prvky vystupují v roli aktivátorů mnoha enzymů a hormonů a tím několikanásobně zvyšují jejich metabolickou účinnost. Nízké zastoupení v krmné dávce a jejich nízká využitelnost je základní příčinou vzniku sekundárních deficiencí minerálních prvků. Biologická využitelnost stopových prvků závisí na mnoha faktorech, chemické a fyzikální formě prvku, velikosti částic krmiva, jeho struktuře a vybilancování dávky na organické a minerální živiny (OPLETAL, SKŘIVANOVÁ, 2010). Podle JELÍNKY a kol. (2003) biologická významnost

jednotlivých minerálních látek je velká a každá porucha metabolismu či změna koncentrace v biologických tekutinách i tkáních ovlivňuje řadu fyziologických a zejména biochemických procesů a tím metabolismus organismu jako celek.

Prasata produkují nejvíce svalové hmoty, pokud jejich dieta obsahuje optimální množství esenciálních živin. Někdy prasata konzumují diety, které obsahují nedostatečné, nebo nadměrné množství jedné, či více živin. Následky této krmné dávky jsou od mírných, (slabé, nepozorované snížení přírůstku a konverze krmiva) až po velmi výrazné symptomy, v krajním případě i náhlé úhyny (STRAW, 2003).

Podle ZEMANA (2004) obecně platí v českých podmínkách, že často chybí v krmných dávkách prasat vápník a fosfor. Z dalších minerálních látek se v posledních letech projevil nedostatek selenu a zinku, se kterým je někdy spojen nedostatek manganu (to závisí na obsahu těchto mikroprvků v základních krmivech pro prasata – tedy v obilovinách). I když ostatní prvky jsou také velmi důležité pro správný vývin organismu prasat, je jejich zajišťování do krmných dávek mnohem jednodušší a také levnější (např. sůl, krmný vápenec aj.). Nedostatek dalších minerálií se objevuje velmi zřídka, pokud jsou prasata krmená kompletní směsí. Mnohem častěji se deficit objevuje při nesprávné činnosti zootechnika-krmiváře, který ve snaze “zlepšit“ úroveň výživy prasat se snaží obohatit krmnou dávku jednostranným přídatkem jednoho minerálního zdroje (např. vápenec) čímž poruší vyváženost mezi minerálními látkami. S tímto tvrzením se ztotožňuje i SURAI (2002) a dodává, že za fyziologického stavu jsou všechny minerální látky v organismu v dynamické rovnováze, která je řízena homeostatickými mechanismy. Základním předpokladem udržení dynamické rovnováhy minerálních látek v tkáních a biologických tekutinách, je adekvátní přísun krmivy a jejich utilizace. Jak nedostatečný, tak i nadměrný příjem jednotlivých minerálních látek působí na organismus nepříznivě.

Zdroji minerálních látek pro zvířata jsou: mateřské mléko, krmiva, voda a limitované doplňky z prostředí. Minerální látky se mohou syntetizovat v tkáních, nebo střevní

mikrobiální populaci zvířat, nedostatečnost v příjmu minerálií během dlouhého období vyúsťuje obvykle v projevy chorob z nedostatku. U monogastrů výskyt deficiencí a imbalancí minerální výživy redukuje produkci a negativně ovlivňuje reprodukci. Adice vyšší, než je potřeba, se u monogastrů projevuje metabolickou imbalancí, výskytem toxických symptomů, které snižují produkční schopnosti zvířat a může být v extrémních případech i příčinou úhynu zvířete (LASOTA, BLACZSZIK, SEREMAK, 2004). Řada prvků je přítomna v tkáních monogastrů a má různé metabolické funkce, ale ne u všech jsou známy potřeby. Potenciální deficit v krmných dávkách u jedné či více minerálních látek může zvyšovat potřebu jednotlivých prvků. Jistou roli zde sehrají i zoohygienické podmínky daného chovu (ŠIMEK, 2007).

V krmivech pro hospodářská zvířata jsou stopové prvky běžně opomíjeným zdrojem živin. Jejich fyziologické působení bývá velmi často podceňováno a jejich přítomnost v krmivech v dostatečném množství je považována za naprostou samozřejmost. Pro udržení tělesných funkcí, zajištění optimálního růstu, reprodukce a pro dobrou imunitní reakci organismu jsou však stopové prvky zcela nezbytné, což tedy znamená, že hrají důležitou roli při určování zdravotního stavu zvířat. Případný nedostatek těchto prvků může mít také značný vliv na pokles užitkovosti (MILLER, JARVIS, McBEAN, 2007)

Intenzivní chov zvířat je více závislý na saturaci minerálních látek. Krmiva pro monogastry obsahují minerálie a existuje řada faktorů ovlivňující jejich obsah a využití pro organismus. Nedostateková množství minerálních látek v krmných dávkách je nezbytně nutné dodat formou premixů. Za pomoci výpočetní techniky lze nyní individuálně, nebo skupinově přepočítat deficit v potřebě mikro a makroprvků. V případě nedostatku je dodat doplňkovou, dobře vyváženou formou (ŠIMEK, 2007).

O důležitosti minerálních látek v krmné dávce hospodářských zvířat svědčí skutečnost, že často i zdánlivé nepatrné poruchy rovnováhy těchto látek způsobují pokles užitkovosti, zdravotní poruchy a konečně i smrt zvířete. Ačkoliv živý organismus je do značné míry

chráněn před takovými poruchami různými regulačními systémy, (především neurohormonálním) je správná souhra pochodů v metabolismu minerálií pro organismus nezbytná.

Minerální látky mají velký význam ve funkci regulátoru metabolických pochodů, především pro výraznou funkční pohotovost, která jim umožňuje plnit úlohu právě v té části organismu, kde je jejich potřeba v daném okamžiku nejnaléhavější. Nedostatek minerálních látek v krmné dávce zvířat se nemusí projevit zřetelnými klinickými příznaky onemocnění, nýbrž často probíhá za příznaků subklinických. Z uvedeného je zřejmé, že je třeba objasnit skutečnou potřebu minerálních látek u jednotlivých druhů a kategorií zvířat, s přihlédnutím ke všem vlivům v současných moderních chovech (UNDERWOOD a SUTLE, 1999).

V těle slouží minerální látky jako katalyzátory v procesu látkové výměny, k vyrovnaní osmotického tlaku buněk, nebo jako regulátory při procesech trávení. Aby minerální prvky plnily svoji funkci, musí být v určitém stálém poměru, neboť množství a funkce jednoho prvku podmiňuje funkci prvku druhého. Nejen nedostatek, ale i nadbytek, nebo nesprávný poměr mohou celkově i částečně škodit živočišnému organismu. Druhy krmných plodin a jejich jednotlivé části se podstatně liší v obsahu minerálních látek. Zvláště rozdílná je koncentrace a vzájemný poměr makro a mikroprvků ve vegetativních a generativních částech krmných plodin. Obsah minerálních látek v půdě, půdní reakce, klimatické podmínky, způsob a intenzita hnojení a celková intenzita rostlinné výroby ovlivňují významně koncentraci a poměr minerálních látek v krmných plodinách. Variabilita obsahu makro a mikroprvků je vyšší v generativních částech krmných rostlin (KUDRNA, 1998).

1.3 Potřeby minerálních prvků

Definovat potřeby stopových prvků stejným způsobem jako potřebu energie, dusíkatých látek, nebo aminokyselin zcela nelze. Tato záležitost je poměrně komplikovaná. Potřebu minerálních prvků lze stanovit jen s obtížemi a většina odhadů vychází z té minimální hladiny, která je potřebná pro překonání příznaků deficiencie a ne pro stimulaci užítkovosti, či

pro zvýšení imunity zvířat. Většina důležitých pokusů zaměřených na studium potřeby minerálních látek se uskutečnila v šedesátých letech minulého století, což znamená, že získané výsledky nelze pro dnešní zvířata považovat za relevantní. Rozdíly potřeby živin vyplívají z různých užitkových cílů a rozdílů ve fyziologickém stavu zvířat. Existuje jen velmi malé množství informací o potřebě minerálních látek u prasat se současným genotypem, uvádí se, že u moderních rychle rostoucích hybridních linií prasat je potřeba minerálních látek zhruba dvakrát tak vysoká než potřeba u pomaleji rostoucích zvířat, která byla na farmách chovaná před dvaceti či třiceti lety (MILLER, JARVIS, McBEAN, 2007).

Doba, která uplyne, než se projeví nedostatky deficitu, je velmi rozdílná. Trvá např. čtyři až šest měsíců. V dnešních moderních chovech nemusí být dostačující ani množství fosforu, vitamínu E, cholinu, biotinu a chrómu v krmné dávce. Nutriční potřeby prasat jsou uvedeny v literatuře NRC 1998. Na snížení výskytu deficitu živin můžeme tyto, nebo podobné tabulky využít při sestavování krmných dávek pro prasata. Mimo potřeby živin dle normy NRC 1998, musíme k tabulkovým údajům zohlednit hodnoty prahu bezpečnosti (STRAW, 2003).

Organismus má velkou schopnost regulace homeostázy minerálních látek, bez ohledu na široké kolísání obsahu makro a mikroelementů v krmivech, zůstává minerální složení tkání poměrně stálé. Tyto regulační mechanismy jsou však omezené, to znamená, že poruchy minerálního metabolismu se při intenzivním využívání zvířat mohou stát vážným limitujícím činitelem tvorby produkce (MILLER, JARVIS, McBEAN, 2007). Potřeba minerálních látek zahrnuje množství prvku potřebného pro funkci bazálního metabolismu (KUDRNA, 1998).

U jednotlivých kategorií prasat se nejčastěji vyskytují karence následujících mikroelementů:

- selata - železo, zinek, selen
- prasata ve výkrmu - zinek, selen
- prasnice - zinek, měď

- kanci - selen, zinek

Za nejdůležitější pro kance pokládáme zinek a selen. Pravidelná suplementace těmito stopovými prvky je pro chovná zvířata velmi důležitá: superoxiddismutáza (SOD) a glutathion peroxidáza (GSH-Px) jejichž hladina je závislá na přísunu těchto dvou minerálních látek, hraje v extracelulární lokalizaci (v semenné plazmě) jednu z rozhodujících rolí při ovlivňování oxidačního stresu ve spermatoziích (OPLETAL, SKŘIVANOVÁ, 2010).

1.4 Zdroje minerálních látek

Pro praktické pochopení významu a každodenní nutnosti doplnění krmných dávek deficitními minerálními látkami a vitamíny je nutné si uvědomit, že zvláště minerální prvky mají ve srovnání s bílkovinami a energií několikanásobně delší interval působení v látkové výměně v organismu chovaného zvířete. Cílená a racionální minerální výživa, zohledňující řadu nových výzkumných poznatků a praktických zkušeností, výrazně pozvedne celkovou úroveň chovu zvířat, zdraví, produkci, reprodukci a samozřejmě příznivě ovlivňuje tvorbu zisku, který je pro farmáře rozhodujícím ekonomickým ukazatelem (SURAI, 2002).

Krmné dávky pro chovná hospodářská zvířata je nutné vždy saturovat doplňkovými zdroji makro a mikroprvků v závislosti na aktuálním obsahu v krmné dávce, potřebě pro konkrétní druh zvířete a reprodukčním stavu (KUDRNA, 1998). Do krmiva jsou přidávány ve formě různých solí, nebo komplexních sloučenin (OPLETAL, SKŘIVANOVÁ, 2010).

Potřeba stopových prvků závisí i na druhu zvířat, způsobu chovu, typu krmné dávky, na úrovni produkce, stupni gravidity, na zdravotním stavu a v neposlední řadě i na genetické dispozici. V některých státech jsou oblasti chudé na stopové prvky. Proto se stopové prvky musí zvířatům přidávat do krmných dávek ve formě doplňků a premixů. Výpočty pro optimální zásobování zvířat stopovými prvky jsou limitované informacemi o jejich využitelnosti, endogenních ztrátách, ale hlavně výsledky odborných vyšetření specifických pro určitou oblast (MILLER, JARVIS, McBEAN, 2007).

1.4.1 Organické zdroje minerálních látek

Výživa moderních genotypů prasat klade především důraz na potřebu energie a aminokyselin v krmných směsích. U minerálních látek existují rozdíly v tělesných rezervách u prasat diferencovaně podle živé hmotnosti. Jednou z cest, jak intenzivně rostoucím prasatům zajistit potřebné množství využitelných stopových prvků, je obcházení přirozené bariéry zažívacího traktu podáváním stopových prvků ve formách chalátů nebo proteinátů (CLOSE, 2008).

V souvislosti s ekologizací v zemědělství se začalo s výrobou minerálních sloučenin s vysokou využitelností a tedy i s malým vylučováním nevyužitelné části do vnějšího prostředí. Čelní místo mezi takovými výrobky zauímají chaláty (proteináty). Jsou to sloučeniny některých kovů s protoporfyny. Jedná se o dvojmocné železo, trojmocné železo, hořčík, zinek, nikl, kobalt, měď a chróm. Tyto zdroje minerálních prvků mají velmi vysokou biovyužitelnost, což je kvantitativní měřítko využití živin v definovaných podmínkách k podpoře normálních struktur a fyziologických procesů organismu (ZEMAN, 2004). BLAIR (2007) dodává, že existují oprávněné obavy možnosti průniku neabsorbovaných anorganických prvků z exkrementů zvířat do půdy a možnost kontaminace spodních i povrchových vod. Proto by aplikované množství anorganické formy prvku nemělo překračovat bezpečnou hranici.

Minerální látky přijaté rostlinami a mikroorganismy pocházejí převážně z anorganické formy. V rostlinných buňkách jsou tyto prvky převáděny na organické sloučeniny (transportní nosič). U zvířat jsou to především sacharidy, aminokyseliny a kyselina mléčná. Je podstatné, že každý článek potravního řetězce dává přednost jiné specifické sloučenině. Katalytická aktivita prvků, převážně kovů, je známá. Stupeň a intenzita této katalytické aktivity minerálních látek se znásobuje vytvářením aktivních komplexů – bioplexů s organickými sloučeninami (ŠIMEK, 2001).

Podle CREECHTY (2004) jsou povolené organické vazby aminokyselin, nebo kyseliny glycinové. V prvním případě pochází anion z hydrolyzovaného proteinu, v druhém případě ze syntetického glycinu. Se selenem není možná žádná chelátová forma. Selen je v organické vazbě k dispozici pouze z kvasnic.

Z minerálních látek jsou nejvhodnější k výrobě chelátových sloučenin dvojmocné železo, mangan, zinek, měď a kobalt. Většinou se jedná o dipeptidy, které po přidání kovových iontů mění svou elektronovou konfiguraci a tím napomáhají hydrolýze a uvolňování kovových iontů v organismu. Na základě výsledků pokusů prováděných v posledních letech je možné shrnout jejich význam pro prasata:

- Zlepšují reprodukční schopnost prasnic (redukují embryonální úmrtnost zlepšením nitroděložního prostředí, snížení výskytu cyst na vaječnících, zlepšení projevu říje aj.
- Snižují ukládání tuku u prasat
- Zlepšují kvalitu špárků a štětín
- Podporují zlepšení imunitního systému
- Zlepšují kvalitu semene u kanců
- Zlepšují kvalitu mléka u prasnic (ZEMAN, 2004)

Pro aplikaci do krmných dávek zvířat jsou vyvíjeny nové produkty krmivářských biotechnologií, zdroje makro a mikroprvků v organicky vázaných formách. Tyto zdroje představují nutriční faktory, které mohou příznivě ovlivnit využití živin, (stravitelnost, retenci, bilanci) zlepšit kvalitu a kvantitu produkce. Tím, že jejich využitelnost pro organismus je vyšší než u anorganických solí prvků, je také jejich vylučování z těla nižší. Snižuje se tak riziko zvýšené kontaminace životního prostředí. Minerální látky vázané na organickou transportní složku – cheláty, ovlivňují příznivě stravitelnost živin. Exaktní údaje o vlivu těchto nových forem zdrojů minerálních látek však nejsou doposud všechny k dispozici (KIM a MAHAN 2001). Cílem výživářů je zajistit, aby příjem jednotlivých prvků byl

bezpečný a adekvátní. Při koncentracích prvků mezi bezpečnou a toxickou hladinou může existovat farmakologický účinek (KVASNIČKOVÁ, 1998).

Je prokázáno, že navázání kovu na chelát, více či méně ovlivní všechny procesy metabolismu. Například komplex zinku (Zn) s glycinem zvyšuje intenzitu metabolismu bílkovin, energie, mědi a kobaltu (KUDRNA, 1998). ŠIMEK (2001) dodávají, že bioplexy zinku, manganu a mědi mají vliv na zvýšení plodnosti. V posledních letech byl prokázán pozitivní vliv bioplexu chrómu na reprodukční ukazatele.

FRYDRYCH (2007) popisuje, jak je to se současnou situací s cheláty. V posledních letech jsme svědky usilovné snahy mnoha producentů rozšířit ve výživě zvířat používání organických zdrojů mikroprvků, o nichž se běžně hovoří jako o chelátech. Zatímco počátkem devadesátých let bylo uveřejněno pouze sedm sdělení zabývajících se nutričním využitím chelátů, v současné době se jedná o desítky, možná i stovky publikací. Účinným pomocníkem odběratele při posuzování kvality různých organických zdrojů mikroprvků by byla metoda *in vitro*, vykazuje určitou korelaci mezi chemickou vlastností sloučeniny a její biologickou využitelností. Potřebu takové metody si uvědomili někteří významní výrobci, také některá univerzitní pracoviště poskytují v této oblasti poradenství. Bohužel, problém zatím není uspokojivě vyřešen, a proto se odběratel musí nadále spoléhat především na informace výrobce, nebo distributora a na jeho odbornou pověst. Zpětnou kontrolou pro něj mohou být pouze reference konečného uživatele.

Organické formy Zn a Mn jsou nazývány cheláty, nebo proteináty. Proteináty jsou získávány pomocí hydrolýzy proteinového zdroje, čímž vznikne hydrolyzát, který obsahuje směs aminokyselin a peptidů s různě dlouhými řetězci. Reakcí síranu kovu s tímto hydrolyzátem pak dochází k tvorbě komplexů, které obsahují chelátové ionty kovu (SCHLEGEL, JONDREVILLE, 2010)

Podle ZEMANA (2006) praktická aplikace organické formy stopových prvků je opodstatněna především v lepší využitelnosti daných mikroelementů. Efektem je nižší

dávkování v porovnání s adekvátním dávkováním těchto prvků v anorganické formě. Jsou nejčastěji aplikovány u zvířat s vysokou produkcí, u mláďat, nemocných zvířat a zvířat s vysokou sportovní zátěží. Snižování obsahu stopových prvků ve výkalech přispívá ke zlepšování životního prostředí a k eliminaci reziduální zátěže potravinového řetězce.

Minerální látky mangan, zinek, měď, selen a chrom v organické formě (vazba na organickou matici – aminokyseliny, peptidy, kvasinky) mají významný vliv na produkci, reprodukci, zdraví a ekonomiku chovu všech druhů a kategorií zvířat (GREGER a BAIER 2000, cit. NRC 2005).

FRYDRYCH (2007) dále uvádí, že zdaleka ne všechny sloučeniny vyskytující se na trhu odpovídají však svým charakterem chelátům. Chemický proces, při kterém vzniká organický zdroj mikroprvků se označuje jako kompletace. Výsledný produkt kompletace obsahuje přechodný kov (Fe, Zn, Cu, Mn, Co) a organický nosič – ligand. Přechodné kovy vykazují chemické vlastnosti kovů (snadno uvolňují elektrony). V roztoku se kationy přechodových kovů nevyskytují v podobě holého iontu, ale obklopují se (koordinují) s množstvím molekul bohatých na elektrony, nebo množství iontů, aby minimalizovaly nadbytek pozitivních nábojů. V čistě volném prostředí jsou obklopeny molekulami vody. V jiných médiích se spojují s přirozenými ligandy, kterými mohou být např. aminokyseliny, ketokyseliny, hydroxykyseliny, porfyrity, nebo také peptidy a polysacharidy. Síla vazby mezi mikroprvkem a ligandem se mění v závislosti na prvku jako takovém, na výši kladného náboje prvku na ligandu, který poutá prvek, na počtu spojení ligandu a prvku v rámci celé sloučeniny a na pH prostředí. Všechny tyto faktory se podílí na různorodosti organických zdrojů minerálních látek, kterou dokumentuje skutečností, že jeden prvek může s jednou aminokyselinou jako ligandem vytvořit 5 – 18 různých struktur.

Stabilní elektricky neutrální cheláty ochraňují stopové prvky od chemických reakcí během trávení. Tato ochrana udržuje rozpustnost látek po celou dobu průchodu trávicím traktem, až do jejich resorpce (KLECKER a ZEMAN 1998, cit. ŠIMEK 2001). MARTIN a

SCRIBENTE (2000 cit., FRYDRYCH 2007) upřesňují, že zkrmované organického zdroje minerálních látek jsou však součástí střevního obsahu, jehož pH se v různých úsecích trávicího traktu výrazně mění od kyselého v žaludku po zásadité ve střevě. Vzhledem k tomu, že pH ovlivňuje stabilitu sloučenin, které rozhoduje o jejich biologické využitelnosti, měla by vazba mezi ligandem a kovem zůstat zachována při širokém rozmezí pH (2-8). Nestabilní sloučeniny totiž mohou v trávicím traktu disociovat a uvolněné ionty kovu mohou reagovat s dalšími dostupnými ligandy s vyšší stabilitou.

Stabilní elektricky neutrální cheláty ochraňují stopové prvky od chemických reakcí během trávení. Tato ochrana udržuje rozpustnost látek po celou dobu průchodu trávicím traktem, až do jejich resorpce. V tenkém střevě může docházet k absorpci chelátů spíše přes peptidy a aminokyseliny. Tento mechanismus pak umožňuje, že při stejném mechanismu příjmu minerálních prvků nedochází mezi nimi ke vzájemnému ovlivňování – interakci. Proto je pak jejich biologická dostupnost vyšší, v organismu jsou snadněji transponovány a jejich absorpce ve střevech se zlepšuje (KLECKER a ZEMAN, 1998, cit. ŠIMEK 2001).

Jak uvádí ZEMAN (2004) většiny výsledků bylo dosaženo v experimentálních sledování a bude zřejmě ještě nutné najít způsob, jak těchto výsledků dosáhnout v praktických podmínkách. Tato oblast se však stala v posledních letech velmi módní a lze očekávat příliv finančních prostředků a pokrok v poznání za jakých okolností cheláty poskytují efektivní výsledky.

1.4.2 Anorganické zdroje minerálních látek

Tyto zdroje jsou problematicky využitelné, neboť v kyselém prostředí žaludku dochází ke změnám jejich chemické struktury a ve střevech je využitelná jen malá část. V anorganických solích jsou stopové prvky ionizovány žaludeční šťávou na anionty a kationty. Zhruba 80 % z nich je znovu smícháno ve střevě s anionty různé povahy, formují se v nerozpustné sloučeniny (fytáty, fosfáty, oxaláty atd.) a jsou vyloučeny ve výkalech, zatímco

zbývající část podléhá několika faktorům, které mají vliv na jejich vstřebávání. Proto je za normálních podmínek organismem kompletně využito pouze 3 až 15 % stopových prvků přijatých v anorganické formě. Anorganické minerální soli jsou tedy závislé na změně pH a také na přítomnosti transportních proteinů, které přepravují prvky proti koncentračnímu spádu (ASHMEAD a kol., 1985, cit. WAGNER a kol., 2011). Anorganické zdroje stopových prvků, zejména oxidové, síranové, chloridové a uhličitanové formy minerálních iontů, bývají primárními zdroji dietních minerálních doplňků. Oxidové formy iontů jsou považovány za méně biologicky dostupné, než-li síranové a chelátové, přičemž studie nejsou zcela průkazné v tom, zda síranové či chelátové formy poskytují prospěch organismu v jejich dostupnosti a využití (BAKER a AMMERMAN 1995, cit. WAGNER a kol., 2011).

Dlouhodobé používání anorganických minerálních látek v chovech prasat a drůbeže mělo za následek zvýšenou akumulaci zinku a mědi v půdním i vodním prostředí. V těchto oblastech byl zaznamenán výrazný pokles produkce zemědělských komodit. Zvířata v takto zasažených destinacích přijímala doplňky minerálních látek v anorganických formách. Běžně jsou v praxi používány vyšší dávky minerálních látek, než uvádí norma NRC 1998 (TUCKER 1997, cit. CREECH, 2004). KIM a MAHAN (2003) tvrdí, že některé stopové prvky mohou v anorganické podobě působit toxicky. Jako příklad uvádí seleničitan sodný (zdroj selenu), který působil ve vyšších dávkách v porovnání s organickou formou cytotoxicky. Na druhou stranu u zvířat s anorganickou formou selenu byla naměřena vyšší hladina glutathion peroxidázy.

1.5 Chróm

Esencialitu chrómu u savců jako první zjistili SCHWARZ a MERTZ (1959 cit., UNDEWOOD a SUTTLE 1999), kdy doplnění trojmocného chrómu do krmných dávek mělo za následek zlepšení glukózové tolerance u laboratorních potkanů. Jedná se o tak zvaný glukózo toleranční faktor, který zvyšuje citlivost buněk na inzulin. Chróm je považován za

esenciální prvek ve výživě člověka. V současné době je však jeho používání v některých zemích Evropské unie legislativně omezeno (PECHOVÁ a PAVLATA, 2007; NRC 1998, cit. POND a MERSMANN, 2001). Zájem o tento prvek se u chovatelů prasat zvýšil poté, co bylo prokázáno, že přídavky tohoto mikroprvku do krmné dávky zvyšují podíl svalové hmoty. Nejvíce experimentů bylo do současné doby prováděno s chromem picolinát a organickým chromem, který je vázaný v kvasnicích. Tyto dvě formy chromu se ukázaly pro organismus jako nejlépe dostupné (LINDEMANN, 1999; LINDEMANN a kol., 1995).

SCHWARZ a MERTZ (1959 cit. LEWIS a SOUTHERN 2001) uvádí, že chrom je základní složkou faktoru glukózové tolerance (GTF). CHAIR a kol., (1997) doplňuje, že GTF zvyšuje citlivost tkání na inzulin a využití glukózy. V pozdějších studiích, které prováděl STEELE a kol. (1977 cit. LEWIS a SOUTHERN, 2001) bylo zjištěno, že chrom zesiluje působení inzulinu nejen u laboratorních potkanů, ale i u prasat. Optimální funkce inzulinu pak umožňuje transport glukózy do buněk a lepší využití glukózy. S tímto souvisí i ovlivnění metabolismu bílkovin a lipidů. Toto tvrzení podporují i HORKÝ, JANČÍKOVÁ a ZEMAN (2012), MERTZ a kol., (1974 cit. McDOWELL 2003) a dodávají, že mezi chromem a inzulinem vzniká interakce, tento komplex usnadňuje navázání inzulinu na receptory buněčných membrán a přenesení glukózy do tkání. Chrom také snižuje koncentraci cholesterolu a triacylglycerolů v krevní plazmě (LINDEMANN, 1999; WRIGHT, 1994; AMOIKON a kol. 1995). Doplnění chromu (jako chromu picolinát) mělo podle EVOCK-CLOVERE a kol. (1993) za následek nižší hladinu sérového inzulinu a koncentraci glukózy u rostoucích prasat (30 až 60 kg). Jiné studie sledující koncentraci glukózy v krvi naznačují, že ani po přídavku chromu nedošlo k žádnému prokazatelnému ovlivnění hladiny tohoto krevního cukru (PAGE a kol., 1993). Poslední výzkum ukázal, že přidání chromu picolinát může zvýšit velikost vrhu u prasnic (NRC, 1997, cit. LEWIS a SOUTHERN, 2001). Toto tvrzení podporuje i LINDEMANN a kol. (1995 cit. LEWIS a SOUTHERN, 2001) jež přidávali prasnicím 200 µg/kg KS chromu picolinát. Tuto dávku krmili celou březost.

Pokusná skupina měla vyšší počet narozených selat a vyšší hmotností selat ve věku 21 dní v porovnání se skupinou prasnic, kterým nebyl chróm do krmné dávky přidáván. CHAIR a kol. (1997) tvrdí, že pokud přidáváme chróm do krmných dávek prasat již od ranného věku, můžeme v pozdějším období u těchto zvířat očekávat pevnější kostru, nižší procento tuku a vyšší reprodukční výkon. Trojmocný chróm navázaný na dvě molekuly kyseliny nikotinové, byl původně izolován z pivovarských kvasnic. V živočišném organismu, není doposud známá identicky aktivní látka, která by měla stejné biologické účinky na zesílení účinnosti inzulínu jako trojmocný chróm. Poslední výzkumy naznačují, že chróm by mohl hrát významnou roli i v syntéze nukleových kyselin a metabolismu cholesterolu (OFFENBACHE 1997, cit. LEWIS a SOUTHERN 2001). Snížení hladiny cholesterolu po aplikaci chrómu do krmné dávky prasat zaznamenal ve svém experimentu i BOLEMAN a kol. (1995 cit. UNDERWOOD a SUTTLE 1999). Jak uvádí UUSITUPA a kol., (1992); GUERTIN, JAKOBS a AVAKIAN (2005) může přidávání chrómu do diety snížit nejen celkové množství cholesterolu v krvi, ale i hladinu lipoproteinu LDL a naopak zvýšit obsah HDL. KAMEN (2000) a CEFALU a kol. (2004) tuto informaci potvrzují a dodávají, že přídavek chrómu může snížit i obsah triglyceridů v krevním řečišti i v lidské populaci. Dle výzkumů, které prováděl STOECKER, (1996 cit. McDOWELL 2003) přidávání chrómu do diety má za následek zlepšení růstu zvířat, imunitní odezvy, efektivnější využití lipidů a interakce mezi nukleovými kyselinami. Průkazné zvýšení růstu bylo zaznamenáno u laboratorních potkanů, člověka a prasat.

Vstřebávání a vylučování chrómu nebylo doposud u prasat studováno. Nicméně studie prováděné na potkanech a lidech ukazují, že chrom se vyznačuje nízkou využitelností. Absorpce chrómu z přirozené potravy činí u člověka v průměru 1,1 až 2,3 %. Absorbovaný chrom je vylučován především močí. Určité typy zátěže na organismus (stres, laktace, fyzická zátěž) prokázaly u lidí zvýšené ztráty chrómu močí ANDERSEN (1994 cit. LEWIS a SOUTHERN 2001). Absorpci chrómu zvyšují aminokyseliny a kyselina askorbová (KVASNIČKOVÁ, 1998; MOORADIAN A MORLEY, 1987). Nejúčinnější formou chrómu,

která se v dnešní době používá, je chróm picolinát, který je účinnější než například chróm nikotinát. Tyto poznatky potvrzuje i JELÍNEK a kol. (2003) a dodávají, že nejlepší biologické vlastnosti má chróm organicky vázaný na aminokyseliny. Jeho resorpce a utilizace v organismu je velmi dobrá.

Obsah chrómu v surovinách, které se používají pro výrobu krmných směsí pro prasata je relativně nízký. Doplnění 200 µg Cr/kg KS do krmných dávek prasat má za následek snížení konverze krmiva a procenta tuku v těle. Po přidavku chrómu se zvýšilo i procento svaloviny a plodnost u plemenných prasat. Chróm podle několika autorů zvyšuje produkci somatotropního hormonu (PAGE a kol., 1993; LINDEMANN a kol., 1995; AMOIKON a kol. 1995, cit. POND a MERSMANN, 2001). Obiloviny jsou na chróm relativně chudé, naproti tomu luštěniny obsahují tohoto stopového prvku dostatek (OLSEN a kol. 1996, cit. UNDERWOOD a SUTTLE 1999). Zájem o suplementaci chrómu v dietách prasat (jako chróm picolinát) se zvýšil poté, co bylo prokázáno, že došlo ke zvýšení svalové tkáně. V experimentech, které prováděl PAGE a kol. (1993), LINDEMANN a kol. (1995) došlo po přidavku 100 µg Cr/kg KS (chróm picolinát) ke snížení výšky hřbetního sádla a zvýšení zmasilosti u vykrmovaných prasat. Do popředí zájmu výzkumníků se dostaly dvě biologicky aktivní formy chrómu, organický chróm z kvasnic a chróm picolinát. Mezi zvířata, jaká by mohla reagovat na doplnění chrómu do krmných dávek můžeme zařadit ta, která jsou spojena s rychlým růstem, pokročilým věkem, reprodukční vytížeností, stresem (přeprava, nemoc atd.) a dietetickými nedostatky. V pokusech prováděných ve výkrmu prasat se dospělo k závěrům, že jedinci suplementováni chrómem picolinát, ukládali ve svém těle méně tuku a více svalové hmoty (LINDEMANN, 1999). KIM, LINDEMAN a CROMWELL (2010) došli k závěru, že přidavek vysokých dávek chrómu (1000 a 2000 µg/kg KS) do diety s vyšším obsahem tuku (> 30 %) měl za následek průkazně vyšší přírůstek a nižší konverzi krmiva ($P < 0,05$) v porovnání se skupinou zvířat, které nebyl chróm v krmné dávce navýšen.

Chrómu se vyskytuje v tkáních ve velmi nízkých koncentracích (menší než 1 mg/kg). Po suplementaci chrómu do diety prasat v dávce 200 µg/kg KS se zvýšila koncentrace tohoto prvku v ledvinách a játrech, ovšem hladina chrómu v srdci a svazech zůstala nezměněna (ANDERSON a kol. 1997, cit. LEWIS a SOUTHERN 2001; MERTZ, 1975; WRIGHT, 1994).

Podle WILSONA, ROZEBOOMA a CRENSHAWA (2004) doplňování chrómu do krmných dávek kanců, může mít pozitivní vliv na překonávání stresových situací. Jak uvádí CLOSE a COLE (2003) v testech prováděných v mužské části lidské populace došlo ke zvýšení koncentrace spermií a celkové zlepšení reprodukčních ukazatelů ejakulátu. Tyto poznatky lze aplikovat i v zemědělské praxi v chovu plemenných kanců. Dle JELÍNKY a kol. (2003) potřeba chrómu je velmi nízká, zvyšuje se při stresových zátěžích a fyzické námaze. S výrazným nedostatkem chrómu, který by vyvolal klinické příznaky onemocnění se běžně v praxi nesetkáváme. Dlouhodobý nedostatek chrómu omezuje růst zvířat, snižuje konverzi krmiva a zhorčuje imunitu. Zvýšený dlouhodobý příjem šestimocného chrómu působí toxicky. Exkrece chrómu se uskutečňuje prostřednictvím ledvin. Neresorbovaný chróm se vylučuje výkaly společně s malým množstvím chrómu, který se vylučuje do střeva žlučí.

Podle STAW a kol. (2003) se nedostatek chrómu u prasat může projevit zejména sníženou početností vrhu a celkovou mírou plodnosti. OFFENBACHAR a kol. (1997, cit. LEWIS a SOUTHERN 2001) poukazují na skutečnost, že s klinickými nedostatky chrómu se v praxi setkáme jen zřídka. Předpokládá se, že základní krmná dávka obsahuje dostatek tohoto esenciálního mikroprvku. Podle těchto autorů nedostatek chrómu v krmné dávce může doprovázet i náhlé snížení živé hmotnosti zvířat.

Využitelnost chrómu z různých zdrojů výrazně kolísá. Podle AMOIKONA (1995, cit. NRC 2005) je pozorována zvýšená dostupnost tohoto prvku u prasat ve formě chrómu picolinát. Jak uvádí ANDERSON (1987 cit. NRC 1998), anorganické formy chrómu mají

velice nízkou absorpci z trávicího traktu. Množství chrómu využitelné z anorganických zdrojů se pohybuje od 0,4 do 3 %. Organické formy chrómu se vyznačují lepší využitelností než anorganické zdroje. Studie prováděná CLANCYM a kol., (1994, cit. NRC 1998) připisuje chrómu ve formě chróm picolinát u lidí poměrně nízkou využitelnost 0,7 až 1,7 %. Naproti tomu GARGAS a kol., (1994, cit., NRC 1998) uvádí využitelnost chrómu ze stejného zdroje v intervalu 1,5 až 5,2 %. WARD a kol. (1995, cit. NRC 1998) sledovali využitelnost chrómu z různých forem (chlorid, acetát, nikotinát, picolinát a nikotinát-glycin-cystein-glutamát). Do krmné dávky prasat byl dodáván chróm z těchto různých forem v dávce 200 µg/kg KS. U sledovaných parametrů (obsah chrómu v séru, aktivita vybraných hormonů) nenašli významné rozdíly mezi různými zdroji chrómu. Podle STARICHA a BLINCOEHO, (1993, cit. UNDERWOOD a SUTTLE, 1999) je do dnešní doby známo velmi málo informací o využitelnosti chrómu u hospodářských zvířat. Podle mínění těchto výzkumníků je využitelnost organických zdrojů chrómu 20 – 30 krát vyšší ve srovnání s anorganickými protějšky. Toto zjištění potvrzují i EVANS a BROWMAN, (1992, cit. McDOWELL 2003) a dodávají, že využitelnost organicky vázaného chrómu může být až 50 krát vyšší oproti anorganické formě. CHAIR a kol. (1997) doplňují, že organické formy chrómu (chróm picolinát, chróm nikotinát a chróm z kvasnic) jsou mnohem lépe vstřebatelné než chróm v anorganické formě jako chlorid chrómu (CrCl_3).

Šestimocný chróm je v přírodě považován za jednu z nejkarcinogennějších látek. Je spojený s rakovinou plic a kůže (OFFENBACHER a kol. 1997, cit. LEWIS a SOUTHERN 2001). Šestimocný chróm se může podílet na cytotoxicitě spermií (CHEN a kol., 2012). Naproti tomu trojmocný chróm se vyskytuje přirozeně v krmivech. Tato forma chrómu nevykazuje žádné známky toxicity. Nejvyšší hodnoty dávek chrómu pro zvířata byly stanoveny podle NRC (1980, cit. LEWIS a SOUTHERN 2001) na 1000 µg Cr/kg KS u chloridu a na 3000 µg Cr/kg KS ve formě oxidu. Žádné příznaky toxicity se neprojevíly u potkanů krmených dávkou 1000 µg Cr/kg KS ve formě chloridu, nebo jako chróm picolinát

po dobu 20 týdnů (ANDERSON a kol. 1997, cit. LEWIS a SOUTHERN, 2001). V pokusech prováděných in vitro bylo zjištěno, že chróm ve formě (picolinátu, nikotinátu a chloridu) nepoškozuje chromozomy a nemá ani žádné jiné projevy toxicity (NRC 1997, cit. NRC 1998).

1.6 Selen

Selen byl objeven a pojmenován švédským chemikem J.J. Berzelieusem v roce 1818 (REILLY, 2006). Na selen se pohlíželo mnoho let jako na látku působící u hospodářských zvířat toxicky (SCHWARZ a FOLTZ 1957, cit. UNDERWOOD a SUTTLE 1999). Masivní výzkum selenu začal po objevení enzymu glutathion peroxidázy, která obsahuje právě tento mikroprvek. Selen byl také objeven v několika bakteriích a dalších enzimech (KIM a MAHAN, 2003; KOLLER, 1984, SMITH 1979). Selen byl první identifikovanou látkou v pícninách, která má na organismus zvířat toxické účinky. U postižených zvířat bylo pozorováno vypadávání srsti a praskání kopytního pouzdra (McDOWELL, 2003). OHLENDORF (1986, cit. MAHAN a PARRETT 1996) uvádí jeden příklad za všechny. Ve třicátých letech minulého století byly ve státě Kalifornie sledovány u vodního ptactva vážné poruchy reprodukce doprovázeny úhyny. Za příčinu těchto problémů byla označena vysoká koncentrace selenu ve vodě. Až v roce 1957 byla objevena esencialita selenu (SCHWARZ a FOLTZ 1957, cit. UNDERWOOD a SUTTLE 1999). V roce 1987 schválila agentura pro krmiva a léčiva (FDA) zařazení anorganického selenu do krmných směsí pro hospodářská zvířata v dávce 0,3 mg/kg KS (OHLENDORF 1986, cit. MAHAN a PARRETT 1996).

Selen se vyskytuje ve všech buňkách a tělních tkáních. Obsah selenu v organismu je závislý na množství tohoto prvku v krmné dávce hospodářských zvířat. Rozdělení selenu v organismu prasat je následující: 50 – 52 % ve svalovině, 14 – 15 % v kůži, srsti, a špárcích, 10 % v kostech (ZEMAN, 2004). JELÍNEK a kol. (2003) doplňují, že nejvyšší koncentrace selenu v těle zvířat se vyskytuje v kosterní svalovině, relativně nízká je v nervové tkáni a

plicích, nejnižší koncentraci najdeme v tukové tkáni. TAKADA a kol. (2005) zjistili při sledování koncentrace selenu u březích prasnic, že od poloviny březosti klesá (téměř o 50%) koncentrace tohoto prvku v krvi zvířat.

Selen hraje významnou roli ve správném sledu fyziologických funkcí zejména u vysokoužitkových zvířat. Selen se nachází v tkáních v mnohem menších koncentracích než většina ostatních esenciálních prvků. V pokusech, které sledovaly nekrózy jater u laboratorních potkanů při použití diet s odlišným obsahem selenu bylo zjištěno, že po přidavku selenu se zlepšily jaterní testy v porovnání s pokusnými zvířaty, která měla podhodnocený příjem selenu v porovnání s normou (SCHWARZ a FOLTZ 1957, cit. UNDERWOOD a SUTTLE 1999). Jak uvádí THOMPSON a SCOTT, (1969, cit. UNDERWOOD a SUTTLE 1999) v oblastech deficitních na selen, byly zaznamenávány u hospodářských zvířat zdravotní problémy, retardace růstu a zhoršení reprodukční schopnosti, tato skutečnost byla objevena v mnoha zemích světa. Selen je úzce spojen s vitamínem E. Tento prospěšný vztah mikroprvku a vitamínu je předmětem dalšího výzkumu. Dle ROSENFELDA a BEATHA (1964, cit. KIM a MAHAN 2003) je obecně koncentrace selenu ve vodě, půdě a vzduchu na nízké úrovni ($< 1 \mu\text{g/g}$). V některých oblastech např. vanadouranových půdách může obsah selenu dosahovat až 2,6 mg/g. Koncentrace selenu v půdě je dle DAVISE a kol. (2000); LAKILA a kol. (1972, cit. NRC 2005) závislá na matečné hornině, provzdušnění, množství humusu, celkovém obsahu železa a pH. V půdách s vysokým provzdušněním a vyšším pH se selen vyskytuje ve formě selenátu, který je rostlinami dobře využíván. V některých oblastech, kde je obsah selenu v ornici 10 – 15 mg/kg se v plodinách pěstovaných na těchto půdách nevyskytuje selen ve formě toxického seleničitanu železnatého. Tento jev je zapříčiněn nižší hladinou pH (4,5 – 6,5) za přítomnosti hydroxidu železitého. V experimentu, který provedl KURZA a kol. (2010) v oblastech západočeského a jihočeského regionu zjistil, že u vysoké srnčí zvěře a divokých kanců se pohybuje obsah selenu v mase na velmi nízké úrovni. Průměrný obsah selenu u srnčí zvěře

byl $36,9 \pm 16,6 \mu\text{g Se/kg}$ a u divokých prasat $27,6 \pm 19,8 \mu\text{g Se/kg}$. Dle výsledků těchto autorů je patrné, že půdy obecně v České republice jsou na selen velice chudé. V experimentu, ve kterém přidávali SVOBODA a kol. (2010) do krmné dávky vykrmovaných prasat $0,3 \text{ mg Se/kg KS}$ zjistili koncentraci selenu v mase $120 \mu\text{g Se/kg}$. POLÁKOVÁ (2010) provedla podrobné vyhodnocení obsahu selenu v půdách různých oblastí České republiky. Z jejich závěrů je patrné, že průměrný obsah tohoto esenciálního prvku je na velice nízké úrovni. Jako určité řešení doporučuje doplňování selenu do diety jak hospodářských zvířat, tak i člověka.

ROTRUCK a kol. (1973, cit. UNDERRWOOD a SUTTLE 1999) došli k objevu závislosti mezi glutathion peroxidásou (GSH-Px) a selenoproteinem. Prokázali, že příjem selenu v dietě má přímou návaznost na aktivitu GSH-Px v tkáních. Jak dodává BENGTSSON a kol. (1978, cit. NRC 1998) GSH-Px napomáhá k ochraně organismus před oxidačním stresem. Chrání celulární i subcelulární membrány proti peroxidovému poškození. Společný efekt selenu a vitamínu E vychází ze společného antioxidačního potenciálu. Vysoké hladiny vitamínu E samy o sobě nedovedou plně eliminovat volné kyslíkaté radikály, k tomuto účelu je třeba doplňovat i selen. JELÍNEK a kol. (2003) k této problematice dodávají, že zatímco vitamín E chrání buněčnou membránu, selen prostřednictvím glutathion peroxidázy (GSH-Px) společně s dalšími selenoproteiny zajišťuje ochranu cytoplazmy buněk. Podle ALTHOUSE a kol., (2000) se deficit selenu podílí na anémii. Nízká hladina GSH-Px v krevní plazmě může mít za následek poškození erytrocytů. ZEMAN (2004) popisuje, že při nedostatku selenu se projeví svalová dystrofie u selat. LOUDENSLAGER a kol. (1986, cit. POND a MERSMANN 2001) dodávají, že deficit selenu kromě dystrofie způsobuje zhoršení klinických vyšetření jater, poškození srdeční tkáně, sníženou koncentraci GSH-Px v krevní plazmě i v tkáních. Nízká hladina selenu může vést u novorozených selat k toxicitě železa. Inbalance mezi reaktivními formami kyslíku a celkovou antioxidační kapacitou způsobuje u samců infertilitu (SHARMA a kol., 1999). Selen má podle ARTHURA (1994, cit. NRC 1998) prokázaný vliv

na funkci štítné žlázy. U iodothyroninu-5-deiodinasa byl identifikován selenoprotein, který má návaznost na správnou funkci štítné žlázy. SULEI a kol. (1991, cit. McDOWELL 2003) upřesňují, že selen napomáhá k převedení tyroxinu na aktivní formu hormon štítné žlázy. Mimo jiné podle PEPLOWSKI a kol. (1980, cit. POND a MERSMANN 2001) má selen pozitivní vliv na imunizaci organismu, lepší využitelnost dusíku a tím spojenou vyšší intenzitu růstu u mladých prasat. U vepřového masa, které je velmi náchylné na lipidovou oxidaci se osvědčil přídavek selenu do diety vykrmovaných vepřů. Výsledkem byl nižší odtok šŕáv a lepší uchovatelnost masa (DAUN a kol., 2001). Podle posledních výsledků, může selen zmírnit i toxické rizika kadmia na živočišný organismus (OGNJANOVIČ a kol., 2008).

Selen se nachází v rostlinách ve všech částech v podobě aminokyselin obsahujících selen a částečně v podobě selenových iontů. Obsah selenu v rostlinách je přímo závislý na obsahu selenu v půdě. Selen může být do diet doplňován ve formě anorganických solí, typický je seleničitan sodný, nebo jako organická forma např. selenem obohacené kvasnice, selenocystein a selenomethionin (MAHMOUD a EDENS 2007, cit. WANG a kol. 2011). Selen má obdobné chemické vlastnosti jako síra. Z těchto důvodů je vázán v sirných aminokyselinách (KIM a MAHAN, 2003). Selenem obohacené kvasnice obsahují přibližně 40 % selenomethioninu a 15 % selenocysteinu (KELLY a POWER 1995, cit. MAHAN, CLIME, RICHERT 1999). V nedávné době proběhly experimenty i s tzv. nano-selenem, který vykazuje nižší toxicitu, než seleničitan sodný s nímž má srovnatelné účinky (ZHANG a kol., 2001). Podle BEDWAL a BAHUGUN (1994); UNDEWOOD a SUUTTLE (1999) je koncentrace selenu v pícech obecně velmi nízká pohybuje se v rozmezí 0,02 - 0,05 mg/kg sušiny. U obilovin je obsah selenu závislý na lokalitě, kde se plodiny pěstují v průměru se pohybují na nízké hladině okolo 0,006 mg/kg sušiny. U luštěnin je průměrný obsah selenu 0,02 mg/kg sušiny. OLSON a kol. (1970, cit. MAHAN, CLIME, RICHERT 1999) dodávají, že ve pšenici, která tvoří v mnoha případech základní komponentu krmné dávky prasat je

selenomethionin hlavním zdrojem selenu z této obiloviny. Prasata dokáží využít selenomethionin a methionin shodně.

Využitelnost selenu z rostlinných produktů je více než 60 % a u živočišných zdrojů je využitelnost nižší pohybuje se pod 25 % (MAHAN a BAKER 1991, cit. POND a MERSMANN 2001). Selen v rostlinách je primárním zdrojem toho prvku jak pro člověka, tak i pro zvířata (NRC 1983, cit. NRC 2005; SEGOVIA, 2008). Organické formy selenu methylselenocystein a selenocysteinmethionin jsou dominantní sloučeniny, které se nachází v rostlinách a slouží jako hlavní zdroj selenu (DAVIS a kol. 1994, cit. NRC 2005). Mezi další zdroje selenu patří seleničitan sodný a kvasnice obohacené selenem. Zdá se, že organicky vázaný selen v kvasničné hmotě selen má lepší biologickou využitelnost, ve srovnání s anorganickými sloučeninami (MAHAN, 2000; SMITH, 1979). BELL a COWEYHO (1989, cit. NRC 2005) sestavili využitelnost selenu takto (od nejvyšší po nejnižší) selenomethionin>seleničitan>selenocystein. McDOWELL (2003, cit. NRC 2005) tvrdí, že selen je zvířaty využíván lépe při perorálním podání v porovnání s injekční aplikací. MAHAN a kol. (1999, cit. WANG a kol. 2011) dodávají, že mimo lepší využitelnosti organických forem selenu mají tyto sloučeniny i vyšší antioxidační potenciál, než anorganické zdroje. PASSWATER (1999) popisuje zajímavou skutečnost, jak může vitamín C ovlivnit využitelnost selenu. Vitamin C zvyšuje intestinální (střevní) absorpci organických forem selenu např. kvasnice s vysokým obsahem selenu (jako selenomethionin). Avšak vitamin C účinkuje opačně na anorganické zdroje selenu, jako jsou selenity a selenáty, protože v kontaktu s nimi přeměňuje tyto anorganické formy na inertní metalický selen, který organismus nedokáže využít. Vitamin C rovněž zvyšuje začlenění selenu do glutathion peroxidázy. KIM a MAHAN (2003) popisují dvě různé cesty exkrece selenu u prasat. Zvířata, která přijímají selen z anorganických zdrojů vylučují selen především močí. Naopak prasata, kde jejich krmná dávka obsahuje selen v organické formě vylučují tento prvek převážně výkaly.

První zmínky spojené s toxicitou selenu u zvířat, popsal na svých cestách do západní Číny již Marco Polo v roce 1295. Pozoroval u svých koní léze na kopytech, špatnou kvalitu a vypadávání žíní. Právě v těchto oblastech se nachází půdy s vysokým obsahem selenu. V těchto částech země jsou příznivé podmínky pro uvolňování selenu z matečné horniny. V tzv. selenových oblastech může obsah selenu v půdě činit až 500 µg/kg, v porovnání se zeměmi EU je tato koncentrace až 6-krát vyšší (ROSENFELD a BEATH 1964, cit. KIM a MAHAN 2003). Toxicita selenu se podle NRC (1998); NRC (2005); KIM a MAHAN, (1999, cit. CLOSE a COLE 2003) u prasat pohybuje nad uznanou hranicí 5 mg/kg KS. Tato limitní hodnota byla stanovena na základě dlouhodobého sledování v několika opakování v různých podmínkách a experimentech. Anorganické formy selenu mohou být více toxické již při nižších dávkách v porovnání se selenem, který je vázán v organické podobě. Podle NRC (1998, cit. POND a MESMANN 2001) se toxicita selenu projevuje poruchami růstu, anorexií, vypadáváním štětín, drsnou kůží, anemií, ztučněním jater a poškozením špárků. Dle GOEHRINGA a kol. (1984, cit. KIM a MAHAN 2003) je nejlepším indikátorem chronické otravy selenem snížený růst zvířat. Tito autoři nezjistili při dávce 8 mg Se/kg KS žádný negativní dopad na zdraví prasat. Až při vyšším dávkování (12 mg Se/kg KS) pozorovali léze na rohovině špárků. WAHLSTROM a kol. (1984, cit. KIM a MAHAN 2003) při dávkách 8 mg Se/kg KS popsali kornatění kožních derivátů u rostoucích prasat. Vysoká dávka selenu (10 mg/kg KS) během březosti má dle WAHLSTROM a OLSON (1959, cit. KIM a MAHAN 2003) negativní dopad i na reprodukční ukazatele prasnic (zejména velikost vrhu a hmotnost selat při narození). KIM a MAHAN (2001) použili různé hladiny selenu od 0,3 do 10 mg/kg KS v organické a anorganické formě. U obou forem zjistili toxicitu mezi 7 až 10 mg Se/kg KS. GOEHRING a kol. (1984, cit. NRC 2005) podávali prasnicím selen v dávkách 0, 4, 8, 12, 16 a 20 mg/kg KS. Zjistili lineární růst v závislosti na koncentraci selenu v dietě na ukládání selenu v kožních derivátech a krvi. Již u hladiny 4 mg Se/kg KS pozorovali snížený příjem krmiva. ADEBUKOLA a kol. (2011) zjistili, že vysoké dávky selenu mohou působit

negativně i na kvalitu ejakulátu. Ve svém experimentu podávali potkanům do krmné dávky vysokou dávku selenu (120 mg/kg KS). Při hodnocení laboratorních hodnot zjistili signifikantní pokles celkového počtu spermií ve varlatech potkanů, nižší motilitu a celkové zvýšení abnormálních a defektních spermií v porovnání se skupinou zvířat s příjmem 0,25 mg Se/kg KS. V Evropské Unii je pro prasata povolena maximální dávka selenu 0,5 mg/kg KS (KOŁODZIEJ a kol. 2005).

1.6.1 Vliv na reprodukci

Selen a vitamín E působí jako dva důležité antioxidanty u kanců na semennou plazmu i samotné spermie. Ovlivňují vývoj spermatozoí a motilitu spermií. Selen rovněž podporuje oplodnění ovocytů u prasnic (CLOSE a COLE, 2003). Část selenu v ejakulátu je ve spermiích, ovšem více než 85 % se nachází v semenné plazmě. Selen je ve spermiích akumulován ve střední části krčku. Nedostatek selenu má za následek snížení koncentrace a motility spermií (WU a kol., 1979; PASSWATER, 1999). JELÍNEK a kol., (2003) tyto informace ještě rozšiřují a dodávají, že selen působí příznivě nejen na reprodukční potenciál samic, ale i samců. Ovlivňuje morfologickou strukturu, metabolismus spermií i tvorbu testosteronu. Selen je součástí tzv. selenoproteinu spermie – umožňuje správnou morfologickou strukturu spermie a ovlivňuje její energetický metabolismus a pohyblivost. COLE a CLOSE (2003) za účelem zlepšení reprodukčních ukazatelů u plemenných kanců doporučují dávku 0,3 mg Se/kg KS. Naproti tomu NRC (1998, cit. POND a MESMANN 2001) uvádí dávku až 0,5 mg Se/kg KS. Podle MARIN-GUZMAN a kol., (1997) nízké dávky selenu v dietě kanců (0,06 mg Se/kg KS) mají za následek nízkou motilitu spermií, vysoký počet abnormálních spermií a s tím spojené nižší procento zabřeznutých prasnic. MARIN-GUZMAN a kol. (1997) ve svém pokusném sledování zjistili, že po přidavku 0,5 mg Se/kg KS došlo ke zvýšení procenta zabřeznutých prasnic o 25 % v porovnání se skupinou, které nebyl selen do krmné dávky přidán. O tři roky později obdobný kolektiv autorů MARIN-

GUZMAN a kol. (2000) zjistili, že přidavek selenu v dávce 0,5 mg/kg KS průkazně zvýšil počet Serteliho buněk, spermatid a spermatocitů v porovnání s kontrolní skupinou kanců bez přídatku selenu do diety.

1.7 Základní laboratorní hodnoty ejakulátu plemenných kanců

Sperma je tvořeno spermiemi a semennou plazmou. Semenná plazma tvoří u kance 95 – 97 % celkového objemu (JELÍNEK a kol., 2003). Lipidy tvoří důležitou složku ejakulátu. Nachází se především v membránách spermií a slouží jako prekurzor složitých biologických reakcí, které jsou důležité pro kapacitaci spermií. Hlavní podíl (45 – 55 %) lipidů tvoří především nenasycené mastné kyseliny tzv. PUFA (SURAI, 2006). Plodnost u kanců je odhadována buď na základě pozorování pohlavního chování, nebo jsou prováděny různé testy kvality spermatu, jako například odhad aktivity a pohyblivosti spermií, metabolické testy, morfologická hodnocení, testy penetrace apod. (SMITAL, 2008).

1.7.1 Motilita

Pohyblivost spermií je esenciální pro oplodnění vajíček, a proto je velmi důležitým ukazatelem při analýze spermatu. Motilita spermií je důležitým selekčním kritériem. V rámci posuzování motility se hodnotí procento pohyblivých spermií i jejich forma pohybu. Pro použitelnost semene je důležitý procentuální podíl spermií, které se pohybují přímočaře vpřed za hlavičkou (KOZUMPLÍK a KUDLÁČ, 1980).

Pouze ejakulát, který má motilitu 70 % by měl být používán pro další zpracování. Tato skutečnost má svůj význam z toho důvodu, že motilita klesá (v závislosti na podmínkách) v průběhu skladování (ALTHOUSE, 1997). Hodnota pohybu spermií je závislá také na věku kance a s narůstajícím věkem motilita spermií klesá (LASOTA a kol., 2004; FOOTE, 1978).

1.7.2 Koncentrace

Počet spermií hraje důležitou roli v oplodnění a je závislý na výchozí kvalitě spermatu a jeho ošetření. Z komerčního hlediska je cílem udržet spermie v životaschopném stavu po dostatečně dlouhou dobu a maximalizovat jejich počet v dávce (SMITAL, 2001). Přesné stanovení spermií v ejakulátu kance, je nutné k určení stupně ředění, a tím i využití ejakulátu. Množství spermií je ovlivněno především plemennou příslušností a pohybuje se nejčastěji v intervalu 200 – 300 tisíc spermií na 1 mm^3 (KOZUMPLÍK a KUDLÁČ, 1980). Koncentrace spermií je během života kance poměrně stálá, nejvíce jí ovlivňuje výživa a klimatické podmínky (AUDET a kol., 2009; LASOTA a kol., 2004)

1.7.3 Procento patologických spermií

Nebezpečný z hlediska ohrožení plodnosti je vysoký výskyt spermií s cytoplazmatickou kapkou, někdy se může v semeni kanců vyskytovat 80 – 90 % takto defektních spermií. Za patologické spermie se považují i ty, které mají svlečený či defektní akrozóm (persistující proakrozomální granulum). Všechny tyto uvedené defektní formy se běžně vyskytují v populacích plemenných kanců (LOUDA, 1980). SMITAL (2008) dodává, že cytoplazmatická kapka, má svůj původ ve varleti, celkový počet takovýchto spermií by neměl přesáhnout 15 %. To potvrzují i nalezené negativní korelace mezi procentem spermií s cytoplazmatickou kapkou, mírou zabřeznutí a počtem narozených selat. Morfologické změny spermií lze rozdělit podle příčiny jejich vzniku na primární a sekundární. Primární změny jsou takové, které vznikají v průběhu procesu spermiogeneze, zatímco za sekundární jsou považovány takové útvary, které vznikají již na zformované spermii, tedy v průběhu pasáže spermií vývodními pohlavními cestami, nebo během zpracování spermatu po jeho získání. Dle LASOTY a kol. (2004) je počet patologických spermií u kance během života poměrně neměnný.

1.7.4 Objem ejakulátu

Objem ejakulátu u plemenných kanců kolísá ve značně širokých hranicích (80 – 900 ml). Nejčastěji se však pohybuje kolem 250 – 300 ml (KOZUMPLÍK a KUDLÁČ, 1980). Dle LASOTY a kol. (2004) a KUMARA a kol. (2006) roste objem ejakulátu společně s věkem kance. Přičemž nejvyšší objem spermatu kanec poskytuje při věku nad 40 měsíců.

1.8 Reaktivní formy kyslíku – Reactive Oxygen Species (ROS)

V posledních letech bylo získáno mnoho dokladů o tom, že v organismu běžně vzniká řada reaktivních forem kyslíku a reaktivních forem dusíku, tyto látky mají značný fyziologický i patogenetický význam. Staly se proto předmětem intenzivního výzkumu. Jde o látky, které pohotově reagují s různými biologickými strukturami – mastnými kyselinami, lipidy, aminokyselinami, proteiny, nukleovými kyselinami, s řadou nízkomolekulárních metabolitů, koenzymů a jiných součástí živé hmoty organismu. Za určitých okolností však působí jako toxické látky, schopny organismus poškodit a dokonce ho i usmrtit (ŠTÍPEK, 2000). Reaktivní formy kyslíku nejsou atomy, molekuly či ionty schopné samostatné existence. Mají ve svém elektronovém obalu jeden nepárový elektron, eventuálně více nepárových elektronů. Snaží se proto získat další elektron a doplnit si elektronový pár do stabilní konfigurace. Z toho pramení jejich vysoká reaktivita a omezená doba existence (RACEK a HOLEČEK, 1999). Volné radikály „vytrhnou“ elektron z jakéhokoliv atomu, nebo molekuly, na kterou narazí (tuky, bílkoviny, DNA – dochází k poškození dusíkatých bází a k následným mutacím). Proces, při kterém vznikají karcinogenní aldehydy (např. malondialdehyd, 4-hydroxynonenal), hydroperoxydy a lipofusciny se nazývá peroxidace. Tímto ovšem volný radikál předá svoji nebezpečnost dál – vzniká řetězová reakce. Můžeme použít

tvrzení, že volné radikály plodí další volné radikály (KAUSHIK, SINGH, SHASHI, 2003). Tyto reaktivní částice jsou schopny buď přijímat elektron (redukovat se a doplnit stav na párový) nebo naopak volný nepárový elektron poskytnout (samy sebe oxidovat). Anion, který přijme proton se stává rovněž reaktivním. Tento radikál je specifický tím, že vykazuje zřetelnou lipofilii, a tedy působí toxicky (destruktivně) právě v oblasti plazmatických membrán (MOUREK a kol., 2009).

Radikály mohou vznikat dvěma typy reakcí:

1. homologickým štěpením kovalentní vazby v molekule za vzniku fragmentu, z kterého si každý volný radikál ponechá jeden nespárovaný elektron,
2. ztrátou, nebo adicí jednoho elektronu (LEŠNÍK a kol., 2003; BOMZON a LJUBUNCIC, 2001)

Existuje stále více důkazů, že ROS jsou zapojeny do oxidačního poškození spermií což v mnoha případech vede k samčí neplodnosti. Tyto ROS mohou vznikat z defektních spermií a leukocytů. Jednu z hlavních rolí v boji proti volným radikálům přebírá enzym glutathion peroxidáza (AITKEN, 1994; KOVALSKY a kol. 1992; AITKEN a WEST, 1992, cit. OLDERIED a kol., 1998; HENDING a kol., 1999). SAEZ a kol., (1998) ve své práci uvádí, že ROS jsou jednou z hlavních příčin infertility. Výsledky těchto autorů ukázaly, že přibližně 40 % mužů, kteří trpěli neplodností, měly vysokou produkci volných radikálů v ejakulátu. Dodávají, že spermatozoa jsou velmi citlivá na poškození oxidačním stresem.

Volné radikály hrají v organismu podle FANG, YANG a WU (2002) mnoho důležitých rolí. Radikál dusíku je jednou z nejrozšířenějších signálních molekul na buněčné úrovni. ROS mají zásadní význam pro regulaci kontrakcí hladké svaloviny, proliferace cév, shlukování krevních destiček, udržení cévního tonusu a účastní se i při genové transkripci. Dle GRIVEAU a kol. (1995, cit. SAEZ a kol. 1998) spermie potřebují ke své kapacitaci malé množství superoxidového anionu.

PAPAS (1999); FANG, WANG a WU (2002); BOMZOM a LJUBUNCIC (2001) popisují nejčastěji se vyskytující volné radikály v organismu takto:

- **Hydroxilový radikál:** jedná se o nejreaktivnější radikál kyslíku, vzniká z vody a peroxidu vodíku. Poločas jeho rozpadu trvá 10^{-9} sekundy (při 37°C), působí proto především v místě svého vzniku.
- **Superoxidový radikál:** vzniká z kyslíku po připojení elektronu, jedná se o nejjednodušší peroxidový radikál s poločasem rozpadu 10^{-6} sekundy.
- **Radikály oxidů dusíku:** produkují je endotelové cévní buňky, které tvoří výstelku krevních cév, fagocyty, které jsou součástí imunitního systému a některé mozkové buňky. Radikály dusíku mohou být převedeny na nereaktivní formy např. peroxid vodíku.

Ačkoliv molekulární kyslík je naprosto nezbytný pro aerobní způsob života může být za určitých podmínek toxický, tento jev je označován jako kyslíkový paradox (GOLBERG 2000, cit. FANG, YANG a WU 2002).

1.9 Antioxidanty

Organismy vyvinuly specifické ochranné mechanismy, které jim pomohly přežít zvýšenou koncentraci kyslíku v atmosféře. Výsledkem jsou tisíce přirozených antioxidačních reakcí pro eliminaci volných radikálů. Většina antioxidantů je dodávána přirozeně v krmivu, (vyskytují se přirozeně v základních krmných surovinách), nebo jsou do diety přidávány ve formě doplňků. Nedostatek (a v některých případech i přemíra) těchto elementů způsobí oxidační stres a poškození funkčnosti buněk (TUCKER a kol., 2011). Podle SUARAI (2002) tvoří superoxiddismutáza a glutathion peroxidáza první úroveň antioxidační obrany proti volným radikálům. Antioxidanty můžeme také dělit na přirozené (antioxidanty jsou produkovány organismem, nebo přijímány potravou) a umělé, které jsou uměle přidávány do krmiva. Dále se přirozené oxidanty dělí na hydrofilní, které účinkují pouze extracelulárně a lipofilní, které se dokáží rozpustit v tucích díky čemuž pronikají buněčnými membránami a účinkují intracelulárně (vyšší účinek, ale se zpožděním). Dále rozlišujeme amfofilní skupinu antioxidantů, která kombinuje obě předcházející schopnosti (KAUSHIK, SINGH, SHASHI, 2003). Antioxidanty působí při potlačování nadměrného množství volných radikálů

synergicky. Nelze proto jednoznačně říci, který antioxidant je nejlepší (FANG, YANG, WU, 2002). Antioxidanty se navzájem doplňují, pro příklad můžeme uvést vitamín C, který může regenerovat poškozený vitamín E. Při ochraně buňky spolu synergicky spolupracují selen (působí v cytoplazmě buněk) a vitamín E, který se nachází v buněčné membráně a tak chrání tuto část buňky před působením volných radikálů (MACHLIN a BENDICH, 1987).

V ejakulátu semenná plazma představuje hlavní bariéru proti volným radikálům. Obsahuje celou řadu antioxidantů. Mezi hlavní lze zařadit molekulární antioxidanty jako je například vitamin C, taurin, hypotaurin a enzymatické, kde největší význam mají superoxid dismutáza, glutathion peroxidáza, kataláza a reduktáza (SMITH a kol. 1996, cit. SAEZ 1998).

Je obtížné říci kolik daného antioxidantu organismus potřebuje. Požadavky organismu na přísun antioxidantů jsou zcela individuální. Závisí především na fyzické aktivitě, zdravotním stavu a na vnějších vlivech, kdy vznikají stresové situace (SIES, 1997). Dle MOURKA a kol. (2009) se antioxidační systém během života značně vyvíjí. V pokusech prováděných na laboratorních potkanech zjistili u dospělých jedinců nižší míru peroxidace lipidů v porovnání s mláďaty. Antioxidační ochrana organismu v raných etapách vývoje zcela chybí, nebo nemá dostatečnou kapacitu. Kataláza během postnatálního vývoje zvýší svoji aktivitu přibližně 6 krát, aktivita glutathionperoxidázy a superoxiddismutázy přibližně 2 krát. Dále tento kolektiv autorů dodává, že samičí populace produkuje průkazně menší množství volných radikálů.

1.9.1 Superoxiddismutáza (SOD)

Objev superoxiddismutázy, byl mezníkem při studiu biologického významu superoxidu i jiných volných radikálů. Superoxiddismutáza je obsažena v každé buňce (ŠTÍPEK, 2000). Dle RACKA a HOLEČKA (1999) vzniká v organismu superoxid, který je nejčastěji se vyskytující volným radikálem v těle. Tato sloučenina sama o sobě nenese velkou

míru rizika. Nebezpečí superoxidu tkví v tom, že z něj mohou vznikat mnohem škodlivější reaktivní formy kyslíku. Proto se organismus zaměřil na prevenci s cílem odstranit přebytečný superoxid. Enzym SOD urychluje dismutaci superoxidu o čtyři řády. Jak uvádí SURAI (2002) existují tři různé formy tohoto enzymu, rozdělují se dle centrálního atomu kovu, který obsahují.

- **Cu, Zn-SOD:** skládá se ze dvou identických podjednotek, v každé je jeden atom mědi a jeden atom zinku (ŠTÍPEK, 2000). Podle HARRISE (1999, cit. SURAI 2002) se tato forma nachází v cytoplazmě a mezimembránovém prostoru mitochondrií. Přenos elektronu z jedné molekuly na druhou obstarává atom mědi. Zinek má stabilizační funkci katalýzy se neúčastní (ŠTÍPEK, 2000). V pokusech, které provedl PEEKER a kol. (1997, cit. SURAI 2002) zjistil, že aktivita SOD má v ejakulátu mužů 20 krát vyšší koncentraci v porovnání s krevní plazmou, přičemž převládá Cu, Zn – SOD.
- **Mn – SOD:** jedná se o hlavní formu, která se nachází v mitochondriální matrix. Tato forma se považuje jako zásadní pro přežití aerobních organismů. Zajišťuje buněčnou rezistenci vůči volným radikálům (FRIDOWICH 1995, cit. SURAI 2002).
- **Fe – SOD:** byla identifikována v různých bakteriích, ale nabyla nalezen v živočišných tkáních (MICHALSKI 1992, cit. SURAI 2002).

1.9.2 Glutathion peroxidáza (GSH-Px)

Glutathion peroxidáza byla objevena Millisem v roce 1957. O šestnáct let později bylo jasné, že se jedná o selenoenzym, který obsahuje atom selenu. Tento enzym se může nacházet v celé řadě tkání a orgánů (játra, ledviny, placenta, hypofýza, srdce, blastocysta, epidermis atd.) u všech hospodářských zvířat. Hlavní role GSH-Px spočívá v redukci peroxidu vodíku na vodu a odpovídající alkoholy, což je preventivní krok pro produkci oxidativních forem kyslíku (SUNDE, 1993; KOHRLE a kol. 2000, cit. SURAI 2002).

Intracelulární hydroperoxidy jsou odstraňovány dvěma glutathion peroxidázami:

- **Cytosolová GSH-Px:** rozkládá několik druhů hydroperoxidů mastných kyselin. Je velice aktivní v dismutaci peroxidu vodíku, a tak v buňkách spolupracuje s katalázou při jeho odstraňování (např. v erytrocytech).
- **Fosfolipidhydroperoxid GSH-Px:** dokáže redukovat fosfolipidové hydroperoxidy na neškodné hydroxideriváty přímo v membránách.

Kromě dvou výše uvedených izomerů byly u člověka popsány ještě další dvě GSH-Px – gastrointestinální a plazmatická, jejich úloha není ovšem v současné době zcela objasněna (SOMMERBURG a kol., 2002; SURAI, 2002; ŠTÍPEK, 2000; LAWRENCE, 1978). GSH-Px byla identifikována i v jádrech spermií, její aktivita je nejvyšší při dosažení puberty, je nepostradatelná při vývoji a zrání spermatozoi. U potkanů s deficitem selenu v krmné dávce klesla hladina GSH-Px ve spermiích o jednu třetinu v porovnání se skupinou zvířat, která měla normovaný příjem selenu v dietě (BEHNE a KYRIAKOPOULOS, 2001). Glutathion peroxidáza se spolu s dalšími antioxidanty podílí na ochraně cytoplazmy buněk. Všechny izoenzymy GSH-Px (cytosolová, fosfolipidová, gastrointestinální a plazmatická) se vyznačují antioxidační aktivitou (ŠTÍPEK, 2000). Nedávno byla identifikovaná specifická jaderná forma GSH-Px, která byla objevena ve varlatech potkanů (jádra spermatid), jednalo se rovněž o selenoprotein, který zahrnoval přibližně 80 % celkového selenu vyskytující se ve varlatech. Nedostatek GSH-Px se projeví poškozením buněčných membrán, které nejsou chráněny před lipoperoxidací, což má za následek mírnou, až středně těžkou hemolytickou anémii (ŠTÍPEK, 2000). K významnému snížení aktivity GSH-Px dochází i při nedostatečném příjmu selenu (RACEK a HOLEČEK, 1999). Nedostatek selenu v dietě může snížit aktivitu GSH-Px až o 90 % (XIA, HILL, BURK, 1985). ŠTÍPEK (2000); KIM a MAHAN (2003) k tomuto dodávají, že GSH-Px se přímo nepodává, její aktivita závisí na koncentraci selenu v dietě. Podání tohoto prvku je účinnější a snadnější. Tato suplementace selenem zvyšuje aktivitu GSH-Px. S nízkou aktivitou GSH-Px jsou spojeny kardiovaskulární onemocnění, anémie a poruchy imunitních funkcí. MERIN-GUZMAN a kol. (1997) tvrdí, že po přidání selenu do

krmné dávky kanců vzroste aktivita GSH-Px v ejakulátu, což má za následek zvýšení celkové integrity spermií. Aktivita GSH-Px v ejakulátu byla nalezena u celé řady živočichů včetně kance a člověka (LASOTA a kol., 2004).

Literární prameny jsou k vyžádání u autora.