

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4131 Zemědělství

Studijní obor: Agroekologie

Katedra: Zootechnických věd

Vedoucí katedry: prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h.c.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
MIKROELEMENTY A IMUNITNÍ SYSTÉM

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Roman Konečný, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

Autor bakalářské práce: Lukáš Hodan

České Budějovice, 2020

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Zemědělská fakulta

Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE
(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: **Lukáš HODAN**
Osobní číslo: **Z18006**
Studijní program: **B4131 Zemědělství**
Studijní obor: **Agroekologie**
Téma práce: **Mikroelementy a imunitní systém**
Zadávací katedra: **Katedra zootechnických věd**

Zásady pro vypracování

Mikroelementy hrají nezastupitelnou roli v organismu. Jejich deficit či nadměrné množství negativně zasahuje do řady fyziologických procesů v těle. Informace o vztahu mikroelementů k imunitnímu systému jsou již známy, avšak s vyvíjejícími se experimentálními a analytickými metodami jsou postupně rozšiřovány.

Cílem bakalářské práce je vytvořit literární rešerši o dosavadním poznání vztahu mikroelementům a imunitního systému.

Zpracujete literární přehled o imunitním systému. Z dostupných literárních zdrojů vyhodnotíte, které mikroelementy a na jaké úrovni působí na imunitní systém. V závěru popíšete směřování výzkumu v dané oblasti.

Rozsah pracovní zprávy: 30 – 40 stran
Rozsah grafických prací: dle pokynů vedoucího práce
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam doporučené literatury:

Hojyo, S., Fukada, T. (2016): Roles of Zinc Signaling in the Immune System. J Immunol Res. 2016:6762343.

Routray, I., Ali, S. (2016): Boron Induces Lymphocyte Proliferation and Modulates the Priming Effects of Lipopolysaccharide on Macrophages. PLoS One.;11(3):e0150607. Published 2016 Mar 2. doi:10.1371/journal.pone.0150607.

Terpiłowska, S., Siwicki, A. (2011): The role of selected microelements: selenium, zinc, chromium and iron in immune system. Central European Journal of Immunology. 36(4): 303-307.

Thurnham, DI. (1997): „Micronutrients and immune function: some recent developments“ Journal of clinical pathology. 50 (11): 887-891.

Very JC, Hoffmann PR. (2018): Selenium, Selenoproteins, and Immunity. Nutrients. 2018;10(9):1203. Published 2018 Sep 1. doi:10.3390/nu10091203.

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Roman Konečný, Ph.D.
Katedra zootechnických věd

Konzultant bakalářské práce: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.
Katedra zootechnických věd

Datum zadání bakalářské práce: 25. března 2019

Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2020

V Českých Budějovicích dne 26. března 2019

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚLÉBSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentův 1868, 370 05 České Budějovice

prof. Ing. Milošlav Šoch, CSc., dr. h. c.
děkan

L.S.

prof. Ing. Václav Matoušek, CSc.
vedoucí katedry

Prohlášení

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb., v platném znění, souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne

.....

Hodan

Poděkování

Tímto bych chtěl poděkovat vedoucímu práce, Ing. Romanu Konečnému, Ph.D. za cenné rady a obětavost při vypracování mé bakalářské práce.

Abstrakt

Imunitní systém je ukázkou schopnosti organismu udržovat jeho homeostázu a adaptibilitu na vnější i vnitřní prostředí. Mikroelementy jsou nezbytnou součástí správné funkce imunitního systému. Karence může být stejně škodlivá jako nadbytek jednotlivých prvků. Předkládaná bakalářská práce se zabývá imunitním systémem zvláště pak vlivem mikroelementů na jeho správnou funkci. V jednotlivých kapitolách jsou popsány buňky, molekuly, orgány a abnormality nesprávného vývoje. Významná část je věnována mikroelementům, výskytu, absorpci, transportu, vlivu na imunitní systém, karenci a toxicitě a jejich důsledkům.

Klíčová slova: buňky imunitního systému, orgány imunitního systému, zinek, selen, železo, měď

Abstract

The immune system is an example of the body's ability to maintain its homeostasis and adaptability to external and internal environments. Microelements are an essential part of the proper functioning of the immune system. Quarantine can be as harmful as an excess of individual elements. The presented bachelor thesis deals with the immune system, especially the influence of microelements on its proper function. The individual chapters describe cells, molecules, organs and abnormalities of improper development. A significant part is devoted to microelements, occurrence, absorption, transport, influence on the immune system, deficiency and toxicity and their consequences.

Key words: immune cells, lymphatic organs, zinc, selenium, iron, copper,

Seznam zkratek

BH4	tetrahydrobiopterin
CD	diferenciační skupina
CD34+	pluripotentní kmenová buňka
CD79 α , CD79 β	transmembránové proteiny s receptory
DAMP	molekulární vzorce dokazující infekci
EPX	eosinofilní peroxidáza
GPX	glutathion peroxidáza
GTPCH	GTP cyklohydroláza
HO-1	hem-oxygenáza
IFN- γ	interferon gama
IgA, IgD, IgE, IgG, IgM	subtypy protilátek
IL-2, IL-12, IL-18	subtypy interleukinů
iNOS	inducibilní syntáza oxidu dusnatého
MPO	myeloperoxidáza
mRNA	mediátorová RNA
PAMP	molekulové vzorce dokazující mikroby
PRR	senzorické proteiny detekující patogeny
ROS	reaktivní druhy kyslíku
SOD	superoxid dismutáza
T3	trijódthyronin
T4	thyroxin
Tc	cytotoxický T-lymfocyt
TCR	T-buněčný receptor
Th	pomocný T-lymfocyt
TNF- α	tumor nekrotizující faktor

Obsah

1 Úvod a cíl.....	11
2 Literární přehled.....	12
2.1 Imunitní systém.....	12
2.1.1 Buňky imunitního systému.....	13
2.1.1.1 Buňky nespecifické imunity.....	15
2.1.1.1.1 Neutrofilní granulocyty.....	15
2.1.1.1.2 Eozinofilní granulocyty.....	15
2.1.1.1.3 Bazofilní granulocyty.....	16
2.1.1.1.4 Mastocyty.....	16
2.1.1.1.5 Dendritické buňky.....	16
2.1.1.1.6 Monocyty.....	16
2.1.1.1.7 Makrofágy.....	17
2.1.1.1.8 NK buňky.....	17
2.1.1.2 Buňky specifické imunity.....	17
2.1.1.2.1 Lymfocyty.....	17
2.1.2 Molekuly imunitního systému.....	18
2.1.2.1 Receptor T-lymfocytů.....	18
2.1.2.2 Receptor B-lymfocytů.....	18
2.1.2.3 Imunoglobuliny.....	20
2.1.3 Cytokiny.....	21
2.1.4 Orgány imunitního systému.....	22
2.1.4.1 Brzlík.....	23
2.1.4.2 Kostní dřeň.....	23
2.1.4.3 Slezina.....	24
2.1.4.4 Mízní systém.....	24
2.1.5 Poruchy imunitního systému.....	25
2.1.5.1 Imunodeficience.....	25
2.1.5.1.1 Primární imunodeficience.....	25

2.1.5.1.2 Sek. Imunodeficiencie.....	26
2.1.5.2 Autoimunita.....	27
2.2 Vliv mikroelementů na imunitní systém.....	27
2.2.1 Zinek.....	28
2.2.1.1 Výskyt.....	28
2.2.1.2 Absorpce.....	29
2.2.1.3 Transport.....	29
2.2.1.4 Vliv na imunitu.....	30
2.2.1.5 Karence a toxicita.....	32
2.2.2 Selen.....	33
2.2.2.1 Výskyt.....	33
2.2.2.2 Absorpce.....	33
2.2.2.3 Metabolismus.....	34
2.2.2.4 Vliv na imunitu.....	35
2.2.2.5 Karence a toxicita.....	38
2.2.3 Železo.....	38
2.2.3.1 Výskyt.....	38
2.2.3.2 Absorpce a metabolismus.....	39
2.2.3.3 Vliv na imunitu.....	41
2.2.3.4 Karence a toxicita.....	42
2.2.4 Měď.....	44
2.2.4.1 Výskyt.....	44
2.2.4.2 Absorpce a transport.....	44
2.2.4.3 Vliv na imunitu.....	45
2.2.4.4 Karence a toxicita.....	46
3 Závěr.....	48
4 Seznam obrázků a tabulek.....	49
5 Seznam použité literatury.....	50

1. ÚVOD A CÍL

Mikroelementy, označované též jako stopové prvky, jsou v organismu obsaženy v malých množstvích. Jejich mimořádný význam lze spatřit jak v katalytické a enzymatické funkci, ale také v regulačních procesech imunitního systému. Imunitní systém spolu s endokrinní a nervovou soustavou udržuje homeostázu organismu. Při nevhodných zoohygienických podmínkách, nutričních chybách a stresových situacích dochází k narušení imunitního systému, které se projevuje jak změnami funkcí buněk imunitního systému tak morfologickými změnami lymfatických orgánů.

Často se stává, že přirozenou rostlinou výživou v krmných dávkách hospodářských zvířat se nedocílí optimální (doporučené) saturace zvířat jednotlivými mikroelementy a dochází tak ke vzniku deficiencí. Karence jednotlivých mikroelementů ovlivňují jak fyziologické funkce organismu, tak imunitní systém jako takový. Chovatel je proto nucen k suplementaci jednotlivých prvků pomocí různých minerálních doplňků. I zde však musí být chovatel obezřetný, protože při vysokých dávkách mohou být tyto látky toxické.

Cílem bakalářské práce bylo z dostupných literárních zdrojů vypracovat rešeršní přehled o imunitním systému a vlivu vybraných mikroelementů na imunitní funkce.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Imunitní systém

Imunitní systém v organismu je schopen jakožto soubor buněk a orgánů rozpoznávat a eliminovat tělu škodlivé cizí i vlastní antigeny. Tyto obranné funkce se projevují obranyschopností a autotolerancí organismu.

Základem funkce imunitního systému je dynamická a spleťtá komunikační síť. Pokud dojde ke střetu imunitní buňky s cizí strukturou (antigen), započne chemická reakce s produkcí chemických látek. Antigeny, jejichž původ je nejen z vnějšího prostředí, ale taktéž z vlastního prostředí organismu mohou působit jako chemické struktury ve formě různých makromolekul, jako jsou třeba proteiny, polysacharidy, nebo také lipoproteiny. Antigeny mají specifickou oblast, jenž je rozeznávána receptory exprimovanými na povrchu buněk anebo protilátkami. Tato oblast se nazývá epitop, neboli antigenní determinant (Hořejší a Bartůňková, 2005). Na základě strukturálních rysů antigenů jsou buňky imunitního systému schopny odlišit cizorodé patogeny od hostitelských buněk a nositele této struktury eliminovat. Takové rozlišení je pro hostitele nezbytné, aby mohl vyloučit nebezpečí bez poškození vlastní tkáně (Narayanasamy, 2005). Imunitní systém reaguje v přítomnosti antigenu dvěma rozdílnými cestami: mechanismy nespecifické a antigenně specifické (Hořejší a Bartůňková, 2005).

Nespecifické mechanismy (neadaptivní, vrozené) jsou tvořeny buňkami a molekulami, které reagují proti různým patogenům na strukturní nebo funkční rysy jim společné. Tyto mechanismy jsou tvořeny složkami buněčnými a humorálními. Buněčné systémy jsou tvořeny především fagocytujícími buňkami. Humorální složky jsou reprezentovány komplementárními proteiny, interferony, lektiny a dalšími proteiny. S mechanismy nespecifické imunity úzce kooperují i jiné složky organismu, které nemají imunitní ráz. Ty lze rozdělit na mechanické (kožní deriváty nebo tok vzduchu v dýchacích cestách), chemické (lysozym ve slinách nebo pepsin v žaludečních šťávách) a mikrobiální (střevní mikroflóra) (Hořejší a Bartůňková, 2005). Vlastním nástrojem nespecifické imunity je fagocytóza. Fagocytující buňky musí před vlastní fagocytózou selektivně rozpoznat cizorodé a nežádoucí struktury.

Pro snadnější rozpoznání antigenu fagocytyujícími buňky slouží opsoniny. Po selekci nastupuje ingesce (pohlčení), kde dochází k přenosu fagocytované struktury do cytoplazmy za vzniku fagosomu. Fagosom se dostává do kontaktu s lysozomem za vzniku tzv. fagolysozomu, v němž jsou cizorodé mikroorganismy či částice usmrceny a odbourány. Usmrčení probíhá na základě změny pH a aktivitě lysozomových enzymů (Trojan, 2003).

Nespecifické mechanismy zajišťují receptory pro antigen. Nazývají se PRR receptory (*Pattern recognition receptor*) a jsou na všech buňkách v organismu a plně se zapojují do obranné imunochemické reakce. Tyto PRR receptory jsou schopny identifikovat velice širokou škálu nebezpečí a poškození. Nebezpečí udávají molekuly PAMP (*pathogen-associated molecular patterns*), které jsou asociované s mikrobiálními patogeny. Poškození je způsobeno molekulami DAMP (*damage-associated molecular patterns*), které jsou sdružované původem z hostitelovy buňky buď během poškození, nebo po smrti. Po zapojení signálních drah způsobené již zmíněnou identifikací cizorodé látky PRR receptorem je přepisováno několik set genů, které se zúčastní iniciace zánětlivé reakce. Poté postupuje tzv. klonální expanze, při které vznikají specifické složky stimulované antigenem (Krejsek a kol., 2016).

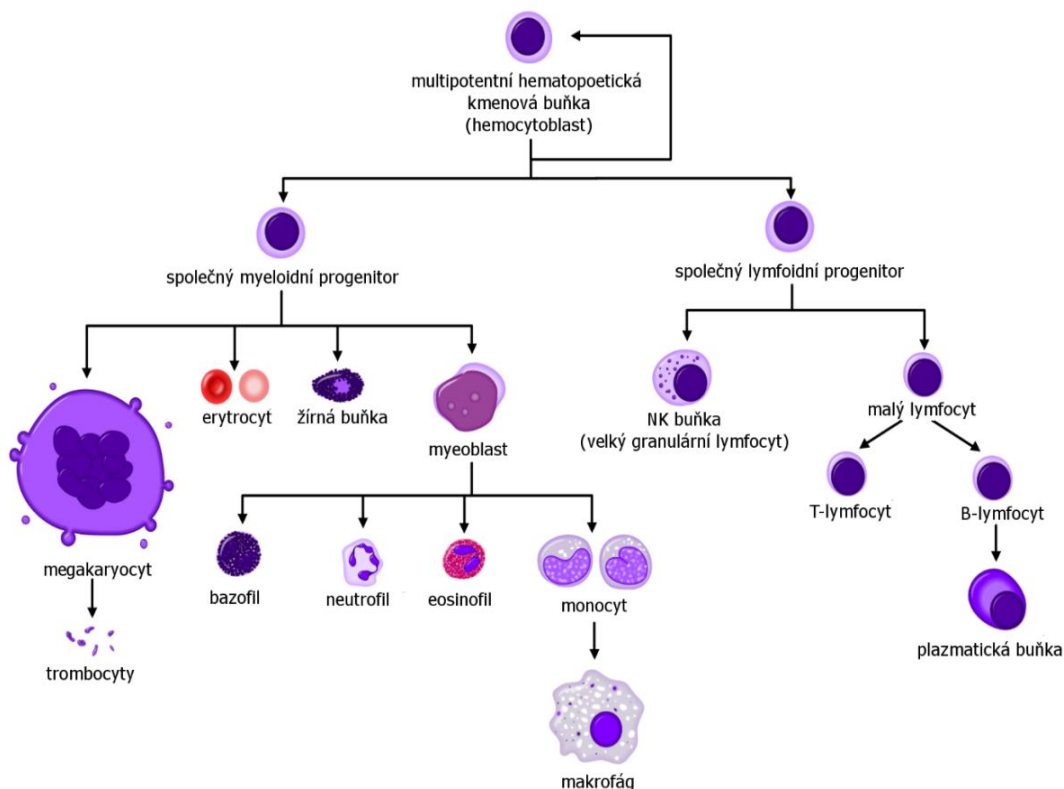
Specifická imunita se od nespecifické imunity liší imunologickou pamětí a také pomalejší imunitní odpovědí (dny, týdny) (Hořejší a Bartůňková, 2005). Mechanismy specifické imunity se rozvíjejí se zdržením oproti nespecifickým složkám, avšak účinkují přesně a cíleně. Specifická imunita se dělí na humorální a buněčně zprostředkovanou. Humorální složku tvoří B lymfocyty, které opouštějí kostní dřeň v nečinném stavu až do setkání s antigenem. Buněčně zprostředkovanou imunitu zastupují T lymfocyty, které se po setkání s antigenem diferencují ve specializované efektorové buňky (Trojan, 2003, Toman, 2009).

2.1.1 Buňky imunitního systému

Převážná část imunitního systému je složena z různých druhů bílých krvinek (leukocytů) (Hořejší a Bartůňková, 2005). Tyto leukocyty jsou odvozeny z pluripotentní kmenové buňky CD34+, která vchází do interakcí se strukturami kostní dřeně. V tomto prostředí je buňka vystavována dostatečnému množství signálů, které se odvíjí od momentální potřeby organismu. Pokud není organismus vystavován dlouhodobým infekcím, je přirozenou fyziologickou vlastností imunitního systému obměňovat krátce žijící buňky imunity a udržovat rezervoár dlouho žijících buněk. Tato klidová situace se však změní, jsou-li identifikovány signály PAMP nebo DAMP (Krejsek a kol., 2016). Nastupuje ubýtek kmenových buněk kompenzovaný dělením. Dvěma základními cestami tvorby buněk imunitního systému z kmenových buněk jsou linie myeloidní a lymfoidní (Obrázek 1) (Hořejší a Bartůňková, 2005).

Z linie myeloidní vznikají monocyty a tři druhy granulocytů (bazofily, neutrofilů a eozinofilů). Všechny tyto myeloidní buňky tvoří základ nespecifické imunity a většina z nich získala schopnost fagocytózy. Neméně důležitá je též tvorba erytrocytů (červené krvinky) a trombocytů (krevní destičky), které mají do jisté míry určitý význam v některých formách zánětu. Z linie lymfoidní se diferencují NK buňky (přirození zabijáci), lymfocyty B a T. Tyto lymfocyty mají schopnost se po setkání s antigenem měnit v paměťové buňky a jsou zodpovědné za tzv. imunologickou paměť (Hořejší a Bartůňková, 2005).

Obrázek 1: Vývojové řady krvinek



Zdroj: Wikiskripta.cz

2.1.1.1 Buňky nespecifické imunity

2.1.1.1.1 Neutrofilní granulocyty

Neutrofilní granulocyty tvoří podstatnou část fagocytárního systému, a proto jsou hlavními nástroji obranného procesu (Trojan, 2004). Rychlost jejich produkce je kolem milionu buněk za sekundu, při zánětlivých procesech se řádově zvyšuje. Okamžitě zasahují do zánětlivých ložisek a pohlcují struktury povlečené opsoniny (Toman, 2009). Zralé neutrofilní granulocyty dosahují velikosti mezi 12–15 μm (Eurell a Frappier, 2006). V cytoplazmě buněk se vyskytují tři typy granul

s různými typy enzymů (Eurell a Frappier, 2006; Tizard, 2013). Primární azurofilní granula obsahují myeloperoxidázu, defenziny (narušující struktury membrány cizorodých struktur), lysozym, kationické proteiny, proteázy a hydrolázy (Toman, 2009). Granula jsou velká a peroxidáza pozitivní (Eurell a Frappier, 2006).

Sekundární granula obsahují alkalickou fosfatázu, kolagenázu a laktoferin (Toman, 2009). Sekundární granula jsou oproti primárním menší a peroxidáza negativní (Eurell a Frappier, 2006). Terciární granula obsahují gelatinázu (Toman, 2009).

2.1.1.1.2 Eozinofilní granulocyty

Velikost eozinofilních granulocytů je totožná s neutrofilními granulocytů a od těchto buněk se liší jednak typem granul a také, tím že mají zpravidla jádro formované pouze do dvou segmentů (Eurell a Frappier, 2006) Cytoplazma je vyplněna červeně zbarvenými granuly s centrálním krystaloidem (Eurell a Frappier, 2006). Eozinofilní granulocyty obsahují histaminázu, peroxidázu a lysozomální enzymy. Na svém povrchu mají receptory pro komplement, nízko vazebné receptory Fc a receptory pro izotypy protilátek IgE a IgG. Funkce eozinofilních granulocytů spočívá ve fagocytóze imunitních komplexů a zabíjení mnohobuněčných parazitů (Toman, 2009). Svou úlohu také hrají při alergických reakcích, kde se hromadí v místech pronikání alergenů do těla (plíce, trávicí ústrojí) (Trojan, 2004).

2.1.1.1.3 Bazofilní granulocyty

Bazofilní granulocyty jsou kulovité buňky se segmentovaným jádrem o velikosti 10–15 μm (Eurell a Frappier, 2006). V cytoplazmě těchto buněk jsou přítomná hrubá basofilní granula, obsahují histamin, proteoglykany a proteázy (Toman, 2009). Obsahují dále značné množství heparinu uplatňující se v cévních a tkáňových reakcích (Trojan, 2004). Na membráně bazofilních granulocytů jsou exprimovány receptory pro protilátky typu IgE (Trojan, 2004).

2.1.1.1.4 Mastocyty

Mastocyty (žírné buňky) se v mnoha ohledech podobají bazofilním granulocytům a diferencují se z prekurzorů v kostní dřeni. Jejich hlavní funkcí je obrana proti parazitárním infekcím a komunikace mezi imunitním a nervovým

systemem (Hořejší a Bartůňková, 2005). Mastocyty se podle lokalizace a typů proteáz dělí na tři typy. Slizniční žírné buňky obsahují tryptázu, pojivové žírné buňky obsahují kromě tryptázy ještě chymázu, karboxypeptidázu a katepsin. Třetí typ obsahuje karboxypeptidázu a chymázu (Eurell a Frappier, 2006).

2.1.1.1.5 Dendritické buňky

Dendritické buňky představují most spojující nespecifickou imunitu a pomalu se rozvíjející specifickou část imunity. Název těchto buněk byl odvozen od jejich dlouhých cytoplazmatických výběžků, které se nazývají dendrity (Eurell a Frappier, 2006; Tizard, 2013). Dendritické buňky tvoří heterogenní populaci buněk, která je odvozena od makrofágů (Tizard, 2013). Vyskytují se jak ve formě nezralé, tak zralé. Pokud není organismus vystaven infekcím, nezralé dendritické buňky pohlcují vlastní nekrotizující buňky. Převážná část se nachází na vstupech vnějšího prostředí s organismem (kůže, sliznice dýchací soustavy, trávicí trakt). Je-li však tělo vystaveno strukturami spojené s patogeny (PAMP), dojde k maturaci dendritických buněk. Diferenciované aktivované dendritické buňky se přesouvají do lymfatických orgánů, kde nastartují činnost lymfocytů T a po 48 hodinách sami hynou (Hořejší a Bartůňková, 2005).

2.1.1.1.6 Monocyty

Velikost monocytů se udává v rozmezí 13–19 μm a to je činí největšími leukocyty v krvi (Eurell a Frappier, 2006; Byers a Kramer, 2010). Monocyty mají kulovitý až nepravidelně kulovitý tvar (Byers a Kramer, 2010). Tyto buňky mají jádro rozdílného tvaru (protáhlé, lobované, podkovovité) a šedomodrou cytoplazmu (Eurell a Frappier, 2006). Základní funkcí monocytů je fagocytóza a produkce cytokinů (Toman, 2009). Monocyty po výstupu z krevního řečiště se diferencují v dlouhověké makrofágy (Eurell a Frappier, 2006).

2.1.1.1.7 Makrofágy

Makrofágy jsou kulovité fagocytující buňky, které se hromadí na různých místech v organismu (Eurell a Frappier, 2006). Hlavní funkcí makrofágů je fagocytóza a sekrece biologicky aktivních látek. Mezi hlavní patří cytokiny, chemokiny, erythropoetin, deriváty kyseliny arachidonové aj.. Nezastupitelnou funkcí makrofágů je antigenní prezentace (Trojan, 2004; Tizard, 2013).

2.1.1.1.8 NK-buňky

NK buňky se popisují jako velké granulární nefagocytující lymfocyty (Tizard, 2013). Na svém povrchu tyto buňky exprimují tři rodiny receptorů (dva stimulační a jeden inhibiční) (Hořejší a Bartůňková, 2005; Tizard, 2013). V organismu se nacházejí především v periferní krvi, slezině, játrech a plicích. Hlavní úlohou NK buněk je likvidaci intracelulárních patogenů (virů) a nádorových buněk (Toman, 2009).

2.1.1.2 Buňky specifické imunity

2.1.1.2.1 Lymfocyty

Lymfocyty jsou hlavní složkou specifické imunity, které se vyskytují v krvi, lymfatických orgánech a sliznicích (Tizard, 2013). Jako jediné buňky vlastní schopnost rozpoznávat antigen a jsou pro přežití nezbytné (Trojan, 2004). Lymfocyty jsou nevelké buňky (6-9 μm), které mají intenzivně zbarvené jádro s malým pruhem cytoplazmy (Eurell a Frappier, 2006). Lymfocyty se rozdělují na dvě hlavní funkční linie: T a B (Trojan, 2004). Název těchto populací buněk byl odvozen od místa jejich maturace. T lymfocyty dozrávají v thymu (brzlík) a B lymfocyty ptáků v kloakální burze, kde byly také prvně detekovány. Přestože savci nemají vyvinutou kloakální burzu a B lymfocyty dozrávají v lymfatické tkáni gastrointestinálního traktu nebo kostní dřeni tento název byl zachován i u savců. (Obrázek 2) (Krejsek a kol., 2016).

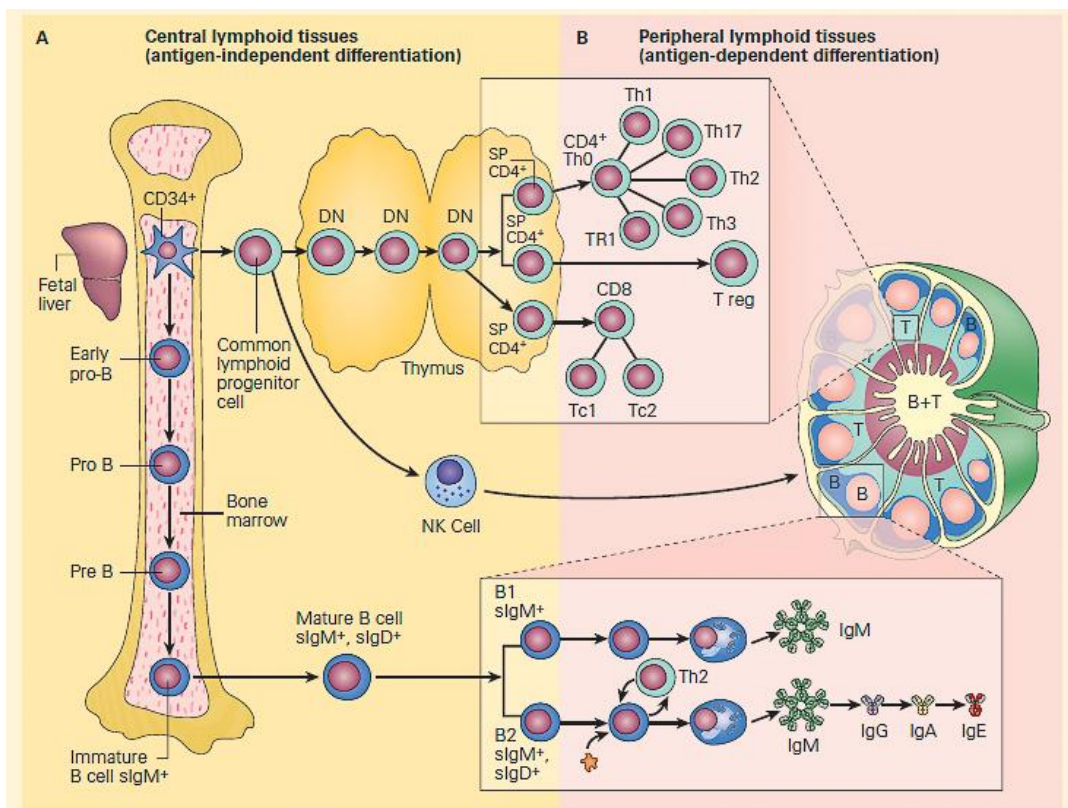
T lymfocyty osidlují periferní lymfatické tkáně pomocí krevních a lymfatických cest. Thymus opouštějí jako prekurzory pro tzv. Th pomocné a Tc cytotoxické lymfocyty, které se po setkání s antigenem diferencují na zralou efektorovou formu a zprostředkovávají tzv. celulární imunitu (Pecka, 2002; Hořejší a Bartůňková, 2009). Povrch T-lymfocytů exprimuje několik tisíc identických specifických receptorů rozpoznávajících antigeny (TCR). Signál z TCR do buňky přenáší komplexní molekula CD3 (Tizard, 2013).

T-lymfocyty se dle přítomnosti receptorů dělí na buňky s receptory $\alpha\beta$ TCR nebo $\gamma\delta$ TCR, které se liší typem peptidových řetězců. Buňka s receptorem $\alpha\beta$ TCR se dále člení na molekuly CD8 (koreceptor pro MHC I) a molekuly CD4

(koreceptor pro MHC II). CD8 molekuly mají za úkol eliminaci nádorových buněk a buněk napadených intracelulárním parazitem. CD4 molekuly jsou prekurzory pomocných Th buněk mající za úkol regulaci imunitní odpovědi (Hořejší a Bartůňková, 2005). Na základě produkce různých typů cytokinů se Th buňky dělí na další podskupiny, jako jsou Th1, Th2, Th 9, Th 17, Th 22, Tfh (Dong a Martinez, 2010; Liang a kol., 2018).

B lymfocyty jsou základním kamenem humorální imunity (Pecka, 2002). Tyto buňky podstupují po aktivaci další vývoj – tzv. terminální diferenciaci, která vede ke vzniku paměťových a plazmatických buněk (plazmocyty). Plazmocyt je buňka kulovitého tvaru s jádrem u okraje. Většinu cytoplazmy tvoří endoplazmatické retikulum, kde probíhá syntéza protilátek.

Obrázek 2: Vývoj lymfocytů



Zdroj: Immunopaedia.org.za

2.1.2 Molekuly imunitního systému

2.1.2.1 Receptor T-lymfocytů

Pro aktivaci T-lymfocytů je potřeba rozpoznání antigenu komplexem TCR, který je tvořen modulem rozeznávající antigen a z asociovaného komplexu proteinů (CD3 komplex) (Toman, 2009; Hořejší a Bartůňková, 2005). Kromě aktivace komplexem TCR je nutná souběžná aktivace pomocí cytokinů (Toman, 2009).

Část komplexu TCR, nutná k navázání antigenu, je strukturou podobná imunoglobulinům. Obsahuje dva řetězce zvaných α a β , jejichž části tvoří vazebné místo pro antigen. Při rozeznávání antigenu spolupracuje komplex TCR s koreceptory CD4 a CD8, které rozeznávají peptidy na hlavním histokompatibilitním komplexu II. (MHC – *Major Histocompatibility Complex*) respektive I. Tím je zajištěná signalizace pro T-lymfocyty vedoucí k aktivaci buněčného dělení (Hořejší a Bartůňková, 2005).

2.1.2.2 Receptor B-lymfocytů

Receptor B-lymfocytů (BCR komplex) je složen z vlastního povrchového imunoglobulinu a signalizačních molekul. Povrchové imunoglobuliny nejčastěji tvoří třídy IgM a IgD. BCR komplex asociuje dva transmembránové proteiny CD79 α a CD79 β , které jsou navzájem propojeny proteiny tyrosin-kinázami (PTK). Po překřížení BCR komplexu započne fosforylace jednotlivých kináz, které spustí lavinu signalizačních kaskád vedoucích k buněčnému dělení, diferenciaci B-lymfocytů a sekreci protilátek (imunoglobulinů) (Hořejší a Bartůňková, 2005).

2.1.2.3 Imunoglobuliny

Molekuly imunoglobulinů jsou tvořeny totožnými, dvěma těžkými a dvěma lehkými polypeptidovými řetězci. Řetězce obsahují několik domén – homologické jednotky zhruba 110 aminokyselin. Jednotlivé řetězce jsou propojeny disulfidickými můstky, které tvoří charakteristiku jednotlivých imunoglobulinů. Podobnost domén je způsobena vznikem z jednoho genu. Kromě imunoglobulinů vznikly z tohoto genu další molekuly tvořící tzv. imunoglobulinovou rodinu (MHC, TCR, CD4, CD8, adheziny, cytokiny aj.). Vlastní interakce mezi imunoglobulinem a antigenem probíhá prostřednictvím chemických vazeb, z nichž nejvýznamnější jsou vodíkové můstky a Van der Waalsovy síly. Interakce však vyžaduje nejen

prostorovou kompatibilitu, ale i vazebnou kompatibilitu (Toman, 2009). Existuje 5 hlavních tříd imunoglobulinů, lišící se velikostí, složením a zastoupením. Jejich základní třídy jsou v tabulce č. 1 (Ferenčík, 2005).

Tabulka č. 1: Základní třídy imunoglobulinů (Ferenčík, 2005)

Třída	Molekula	Lokalizace	Funkce
IgG	monomer	sérum	protilátka, usnadnění fagocytózy, přestup přes placentu
IgA (sérový)	monomer	sérum	usnadnění fagocytózy
sIgA (sekreční)	dimer	sliny, mléko, povrch sliznice	ochrana sliznice
IgM	pentamer	sérum, povrch B-lymfocytů	protilátka, antigenní receptor, aktivace komplementu
IgD	monomer	sérum, povrch B-lymfocytů	antigenní receptor
IgE	monomer	sérum, povrch sliznic	obrana proti parazitům

2.1.3 Cytokiny

Cytokiny slouží jako regulátory imunitního systému a pomocí specifických receptorů působí na buňky imunitního systému (Hořejší a Bartůňková, 2005). Jejich produkce je řízena časově a lokálně, jinak se za normálních podmínek nacházejí v organismu jen v mizivých koncentracích (Toman, 2009). Cytokiny působí autokrinně (působí na tu samou buňku), parakrinně (působí lokálně na buňky v blízkém okolí), nebo endokrinně (působí na vzdálené buňky pomocí krevního řečiště) (Hořejší a Bartůňková, 2005). Cytokiny se podílejí na reakci akutní fáze. Jejich hlavním úkolem je vtok (influx) lymfocytů, neutrofilů, monocytů a dalších buněk do tkáně (Pedersen, 2000). Hlavní skupiny cytokinů jsou popsány v tabulce č. 2 (Ferenčík, 2005).

Tabulka č. 2: Hlavní skupiny cytokinů (Ferenčík, 2005)

Název	Funkce
Interleukiny	Regulace imunitních reakcí
Lymfokiny	Aktivace makrofágů
Tumor nekrotizující faktor	Regulace zánětu a chorobného hubnutí, protinádorová obrana
Interferony	Antivirový účinek, regulace imunitních reakcí
Faktory stimulující kolonie	Stimulace granulocytů a makrofágů
Polypeptidové růstové faktory	Fibroblastový růstový faktor, růstový faktor pocházející z trombocytů
Transformující růstové faktory	Regulace embryonálního vývoje, imunitních reakcí a nádorové přeměny buněk
Stresové proteiny	Proteiny tepelného šoku, odpověď na buněčný stres (vysoká teploty, nedostatek glukózy apod.)
Chemokiny	Chemotaktické cytokiny – stimulují chemotaxi (regulovanou migraci buněk imunitního systému)

2.1.4 Orgány imunitního systému

Mezi hlavní orgány imunitního systému patří brzlík, kostní dřeň, slezina a lymfatické uzliny. Všechny tyto součásti musí kooperovat a pracovat v synergii, aby hráli vítěznou roli proti infekci. Pokud jedna z komponent vypadne, ostatní nemůžou nahradit funkci a celý systém nebude fungovat zcela dobře (Derkins, 2001). Lymfatické orgány se dělí na centrální a periferní.

Centrálními (primární) orgány lymfatického systému jsou brzlík (thymus) a kostní dřeň. V těchto místech dochází k tvorbě a diferenciaci imunokompetentních buněk. U mnoha druhů hospodářských zvířat však populace B lymfocytů maturují namísto kostní dřeni v lymfatické tkáni asociované s gastrointestinálním traktem (GALT). Mezi periferní lymfatické orgány patří slezina, lymfatické uzliny a

lymfoidní (mízní) tkáň sliznic (Bartůňková, 2011). V těchto orgánech a tkání probíhají hlavní fáze antigenně specifických reakcí (Hořejší a Bartůňková, 2005).

2.1.4.1 Brzlík (*thymus*)

Brzlík se nachází za horní částí sternu. Vzniká ze třetího a čtvrtého hltanového váčku a na jeho tvorbě se účastní kromě entodermu a ektodermu také mezenchym pojiva (Toman, 2009). Z anatomického hlediska se brzlík dělí na krční a hrudní část. Brzlík je laločnatý orgán, jehož každý lalůček se dělí na periferní kůru (kortex) a centrální dřev (medula). Obě části jsou složeny z navzájem propojených epitelových buněk a lymfocytů. Brzlík se neúčastní imunitních reakcí. Představuje však mikroprostředí, v němž dozrávají T-lymfocyty. K tomuto cíli dopomáhají specializované buňky (např. pečovatelské buňky) a makrofágy (Elišková a Naňka, 2006; Toman, 2009).

2.1.4.2 Kostní dřev (*medulla ossium*)

Kostní dřev je nejvýznamnějším orgánem postnatální krevotvorby (Toman, 2009). Kostní dřev se skládá z různé škály buněk: z retikulárních vláken, tukových buněk a tzv. volných buněk, které se skládají z bílých krvinek v různých stádiích vývoje. Dřev je prostoupena krevními kapilárami, jejichž slabá stěna dovoluje vstup zralých krevních buněk do krevního oběhu. Pohyb těchto zralých buněk je však regulovaný a kapiláry kostní dřevě nedovolí průchod nezralých nebo poškozených buněk (Dylevský, 2006).

2.1.4.3 Slezina (*lien*)

Slezina slouží jako sekundární lymfatický orgán (Toman, 2009). Slezina má čtyři základní funkce:

1. Ve slezině vznikají lymfocyty a červené krvinky;
2. Je významným zásobníkem erytrocytů a trombocytů;
3. Bílá pulpa zahajuje okamžitou imunochemickou odpověď;
4. Ve slezině probíhá separace a destrukce starých a poškozených červených krvinek (Dylevský, 2006).

Slezina se člení na bělavou část lymfatickou (bílou pulpu) a na část erytroidní (červenou pulpu). Navzájem jsou tyto části odděleny marginální zónou (Toman, 2009).

Bílá pulpa je tvořena jednak periarteriolárními lymfatickými plášti (PALP) a lymfatickými noduly (Eurell a Frappier, 2006). PALP ve vnitřní zóně obsahuje T-lymfocyty ve vnitřní části, ve vnější zóně B-lymfocyty, Th-lymfocyty a plazmatické buňky. V lymfatických nodulech jsou zastoupeny zejména B lymfocyty (Eurell a Frappier, 2006). Přes marginální zónu procházejí T a B buňky komunikačními kanálky do červené pulpy. Červená pulpa je tvořena z provazců a sinusů (Eurell a Frappier, 2006). Zde zanikají staré buňky a jsou zde zachytávány nežádoucí mikroorganismy. Červená pulpa je také depem plazmatických buněk tvořící imunoglobuliny zapojující se jak v primární, tak celé sekundární odpovědi imunochemické reakce (Toman, 2009).

2.1.4.4 Mízní systém

Látková výměna se v organismu odehrává především v tekutinách, tj. v krevní plazmě, míze, nebo tkáňové tekutině. Primární roli v utváření vnitřního prostředí přebírá lymfa (míza). Lymfa je nezbytnou pro transport tuků, obranyschopnost organismu, ale také v procesu detoxikace a odstraňování tělesného odpadu (Dylevský, 2006).

Lymfa se svým složením podobá krevní plazmě, obsahuje málo proteinů, více tukových látek, antigenů, málo kyslíku a větší množství oxidu uhličitého. Do lymfy proudí hormony, vitamíny rozpustné v tucích, železo, vápník a měď. Funkce lymfy je transportní a obranná. Míza obsahuje velké množství bílých krvinek zapojujících se do obranných reakcí organismu (Dylevský, 2006; Mičurová, 2012).

Konečnou trasou lymfatických cév jsou lymfatické uzliny. Mízní uzliny jsou orgány rozmanitého tvaru a velikosti, které hrají důležitou roli v obraně organismu, neboť filtrují mízu a eliminují bakterie a viry. Lymfatické uzliny se dělí na kůru a dřeň. Kůra je rovněž rozlišena na dvě oblasti, a to na superficiální, kde jsou přítomny lymfatické noduly s difuzní lymfatickou tkání a parakortex, tzv. T dependentní zóna s poskapilárními venulami s vysokým endotelem (Eurell a Frappier, 2006). Dřeň se sestává z provazců oddělených siny (Eurell a Frappier, 2006). V případě výskytu nežádoucích mikroorganismů se začnou bílé krvinky rychle množit a lymfatické uzliny zduří. Uzliny dokážou zbavit mízu až 99 % cizorodých látek. Míza je poté vrácena do lymfatického oběhu. V lymfatických

uzlinách se také vychytávají nádorové buňky (Campbell a Reece, 2006; Dylevský, 2006).

Mízní tkáň je nejmohutnější v trávicí a dýchací soustavě, kde organismus neustále přichází do kontaktu s cizorodými látkami. K mízním tkáním sliznic i tzv. mandle (tonzily). Uzlíky tonzil obsahují B-lymfocyty a na periferní části jsou i T-lymfocyty. Oproti ostatním mízním uzlinám mají tonzily schopnost lokální obrany, tj. reakce proti antigenům přímo na povrchu sliznice. Proto zde probíhá intenzivní imunochemická reakce včetně rozvoje buněčné i protilátkové odpovědi a vzniku paměťových buněk (Dylevský, 2006).

2.1.5 Poruchy imunitního systému

Imunita je soustava, jejíž činnost probíhá nepozorovaně, a její fungování je nezbytné pro funkci celého organismu. Pokud se objeví poruchy imunitního systému, může to vést až ke snížení odolnosti k infekčním chorobám, tedy k imunodeficiencím, ale také k opačnému důsledku, a to k neadekvátní reaktivitě. Pokud imunitní systém nepřiměřeně reaguje na přirozené podněty z vnějšího prostředí, mohou vzniknout onemocnění alergická. Jestliže je původcem přemrštěné reaktivity vlastní tkáň, může dojít k tzv. autoimunitě (Bartůňková, 2011).

2.1.5.1 Imunodeficiencie

Stavy imunodeficiencie se projevují zvýšenou náchylností k infekcím. Imunodeficienci se podle příčiny dělí na primární a sekundární. Primární imunodeficiencie je způsobena vrozenými poruchami genů kódujících některé proteiny, které hrají nezastupitelnou roli v imunochemické reakci. Sekundární imunodeficiencie jsou získané v průběhu života vlivem jak vnějších, tak i vnitřních faktorů (Hořejší a Bartůňková, 2005).

2.1.5.1.1 Primární imunodeficiencie

Studie primární imunodeficiencie je u hospodářských zvířat v raném stádiu vzhledem k malé frekvenci výskytu. Některé druhy jsou však známy a dobře prostudovány. Vznik primární imunodeficiencie nastává již při raném embryonálním vývoji, která vede k poruše primárního lymfatického systému nebo postižení kmenové pluripotentní buňky. Poruchy v pozdějších stádiích vedou k defektům

T-lymfocytů, B-lymfocytů, protilátkové odpovědi a fagocytózy. Mezi nejznámější typy poruch primární imunodeficiency u hospodářských zvířat patří těžké kombinované defekty imunity – SCID (Hořejší a Bartůňková, 2005; Toman, 2009).

Těžké kombinované defekty imunity – SCID (*severe combined immunodeficiency*) je autozomálně recesivní porucha nejčastěji se projevující u arabských koní. Četnost vadného genu se odhaduje na 2–3 %. U hříbat s poruchou SCID je defektní enzym zvaný DNA proteinkináza (DNA-PK). To způsobí nesprávné přeskupení VDJ genů, které u obratlovců rekombinují segmenty genů kódující specifické proteiny pro správné fungování imunitního systému. Hříbata mají snížení počet T-lymfocytů, B-lymfocytů, a tím pádem i koncentraci plazmatických buněk (produkce imunoglobulinů). Po ukončení kolostrální výživy a přirozeného příjmu imunoglobulinů se začínají projevovat klinické příznaky horních cest dýchacích. Hříbata hynou do 5 měsíců věku (Hořejší a Bartůňková, 2005; Toman, 2009).

2.1.5.1.2 Sekundární imunodeficiency

Sekundární imunodeficiency vzniká v průběhu života a představuje vážné a přetrvávající poškození imunitního systému. Způsobeny jsou infekcemi, nádory, endokrinními poruchami, ale i poruchami ve výživě a nevhodného podávání léčiv. Nejčastější příčiny vzniku sekundárních imunodeficiency jsou uvedeny v tabulce č. 3 (Toman, 2009).

Tabulka č. 3: Nejdůležitější příčiny vzniku sekundárních imunodeficiency (Toman, 2009)

Skupina příčin	Příklady
Infekční a parazitární choroby	Napadení makrofágů, B a T lymfocytů viry (herpesviry, pestiviry, lentiviry aj.)
Lymfoproliferativní choroby	Anémie, hepatosplenomegalie, trombocytopenie
Neinfekční choroby	Chronické renální selhání
Poruchy endokrinního systému	Cushingův syndrom, hyperestrogenismus, diabetes

Traumatické a stresové vlivy	mellitus, hypotyreóza Popáleniny, splenektomie, dlouhodobý stres
Poruchy výživy	Proteinová nebo energetická deficience, deficience mikroprvků (Zn, Se), deficience vitamínů
Dlouhodobé podávání léků	Kortikoidy, antibiotika, anestetika, cytostatika, estrogeny
Cizorodé látky	Těžké kovy (Pb, Hg, Cd), polychlorované bifenyly

2.1.5.2 Autoimunita

Autoimunitní poruchy se vyznačují tím, že organismus nerozliší vlastní tkáň od cizorodých struktur a přehnaná autoimunitní reakce vede k poškození tkání. Autoimunitní poruchy se dělí na humorální a buněčný typ. Při humorálních poruchách dochází k tvorbě imunoglobulinů typu IgG, které se na poškození tkání podílejí cytotoxickými mechanismy nebo tvorbou imunokomplexů. Buněčně zprostředkované reakce aktivují Tc a Th lymfocyty, cytokiny a makrofágy k poškozujícímu zánětu (Hořejší a Bartůňková, 2005).

Je nutné podotknout, že autoimunitní onemocnění jsou u hospodářských zvířat častá a postihují různé typy tkání (Toman, 2009).

2.2 Vliv mikroelementů na imunitu

Pro zachování zdraví jedince, je nutný funkční imunitní systém. Přiměřená výživa je nezbytná pro zajištění vývoje, udržování a expresi imunitní odpovědi. Je zřejmé, že optimální imunokompetence závisí na nutričním stavu (Maggini a kol., 2018). Mezi nejdůležitější mikroživiny patří vitamíny a stopové minerály. Vitamíny jsou součástí mnoha enzymů, zatímco mikroelementy fungují jako kofaktory enzymů. Jejich nedostatek může ovlivnit řadu fyziologických funkcí, včetně imunitního systému (Gill a Walker, 2008).

2.2.1 Zinek

Zinek je nezbytným prvkem pro fungování celého organismu. Na druhou stranu je nutné si uvědomit, že ve větších množstvích se jedná o nebezpečný a toxický kov (WHO, 1996). Organismus si však nemůže ukládat zásoby zinku, takže toxicita nehrozí, ale deficience může vzniknout relativně rychle. Závažný nedostatek zinku je vzácný, avšak mírné nedostatky jsou velice běžné. Přitom mnoho epidemiologických studií prokázalo vztah mezi obsahem zinku ve výživě a rizikem vzniku nádorových onemocnění (Skrajnowska a Bobrowska-Korczak, 2019).

2.2.1.1 Výskyt zinku

Zinek (Zn) se vyskytuje v litosféře. Pro svůj amfoterní charakter se nachází ve všech typech hornin. Mezi nejhojněji vyskytované sloučeniny Zn patří sulfidové rudy, tj. sulfidy (sfalerit). Uhličitany, křemičitany a fosforečnany tohoto prvku jsou také v litosféře velice často rozšířeny. V zemské kůře se nachází 76 ppm Zn (z celkové hmotnosti kůry). Ve srovnání s některými chemickými prvky je v menším zastoupení než rubidium (78 ppm), avšak hojněji vyskytován než měď (68 ppm) (Greenwood a kol., 1993). Ve vzduchu se Zn nachází v nepatrných množstvích jako aerosol. Do pitné vody se dostává spadem částic vypouštěných z továren na zpracování kovů, spaloven a jiných závodů. Zinek mění vlastnosti vody – způsobuje mírnou opalescenci během varu a tvorbu mastného filtru na hladině. Tyto změny jsou však pozorovány až při koncentraci okolo 4 mg/l. V povrchových vodách se koncentrace pohybuje okolo 10 µg/l, v místech zdrojů zinkových rud je koncentrace vyšší, tj. 40 µg/l (WHO, 1996). V půdě se Zn nejčastěji vyskytuje v koncentraci 17-127 mg/kg půdy (WHO, 1996). Koncentrace tohoto prvku v půdě má přímý vliv na jeho zastoupení v krmivu, ze kterého Zn vstupuje do organismu hospodářských zvířat. Obsah Zn v orné půdě může být ovlivněn použitím hnojiv s obsahem tohoto kovu. Nejvíce využívanou sloučeninou Zn pro obohacování půdy je síran zinečnatý (ZnSO₄) (Alloway, 2008).

2.2.1.2 Absorpce

Výsledky studií ukazují, že na vstřebávání Zn mají vliv tři základní faktory: tj. celkový obsah Zn, obsah hexainositol fosfátu (fytátu) a obsah bílkovin v potravě (WHO, 1996). Absorpce Zn probíhá v tenkém střevu. Nejvyšší rychlost absorpce se

uskutečňuje v části tenkého střeva nazývané *jejunum*, avšak *duodenum* slouží jako primární místo pro kvantitativní absorpci Zn (Pluhator a kol., 1995). Vstřebávání Zn vyžaduje promotory nebo antagonisty. Nejúčinnější absorpce probíhá přes tzv. ligandy vázající Zn (hydroxykyseliny, aminokyseliny aj.). Naproti tomu organické sloučeniny tvořící pevné komplexy se Zn jsou stabilní, málo rozpustné a z tohoto důvodu málo vstřebatelné (WHO, 1996). Bylo dokázáno, že vstřebávání Zn může být různými látkami podpořeno. Glukóza dokáže „komunikovat“ se Zn a společně kooperovat při společném vstřebávání ze sliznice tenkého střeva do krevního řečiště. Metalothioneiny, patřící do skupiny nízkomolekulárních proteinů obsahující vysoký podíl aminokyseliny cysteinu, dokáží navázat Zn na S ve svém řetězci a zvýšit je prostupnost. Metalothioneiny mimo jiné pomáhají při detoxikaci těžkými kovy (Pluhator a kol., 1995).

2.2.1.3 Transport

Hlavní transportní cestou Zn v těle je krevní plazma. Přibližně 50 % Zn je v krvi volně vyměnitelná a volně vázaná na albumin, asi 7 % je vázáno na skupinu metalothioneinů. Zbytek je vázán na makroglobuliny (především α -makroglobulin) a další sérové proteiny. Některé tkáně (gastrointestinální slizniční buňky aj.) vylučují Zn jako součást jejich normální fyziologické funkce. K udržení systému je třeba nepřetržitá buněčná výměna Zn. Pokud organismus prodělává svalový katabolismus, spolu se ztrátou kosterního svalstva klesá i koncentrace Zn v těle. Ten se vylučuje močí a stolicí. Myoglobinurie je stav, který způsobuje rozpad svalstva a uvolňuje myoglobin do krve, na který je vázán i Zn. Takto uvolněný myoglobin způsobuje nekontrolovatelný úpadek koncentrace zinku. Přibližně 30–40 % Zn, který vstupuje do jater, je recirkulován a poslán zpět do krevního oběhu. Játra jsou tedy hlavním orgánem podílejícím se na metabolismu Zn. Jaterní cytosol savců obsahuje složky vázající Zn (Pluhator a kol., 1995).

2.2.1.4 Vliv na imunitní systém

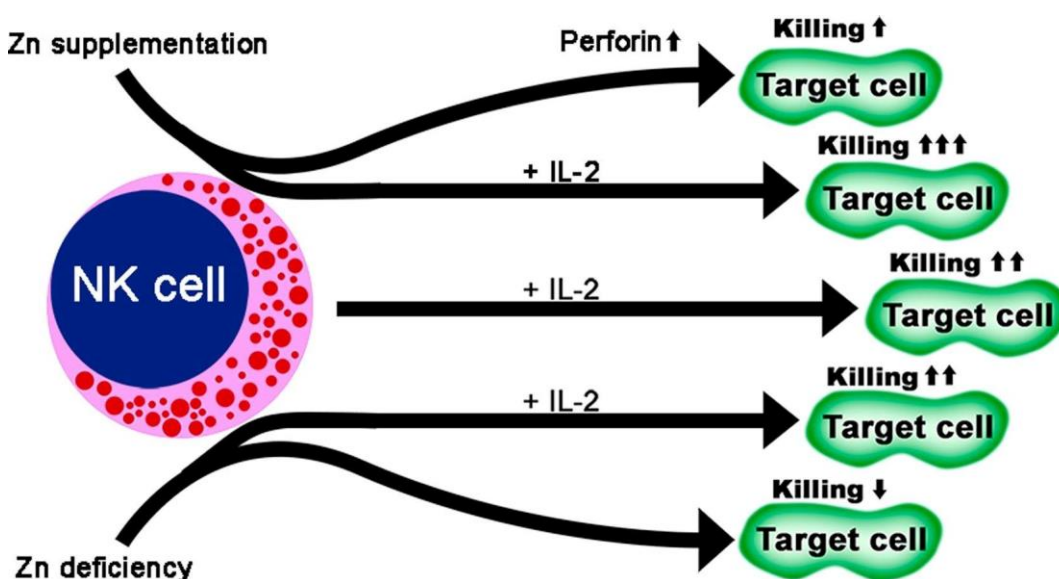
Zinek má na imunitní systém mnohostranný účinek. Suplementace Zn účinně zlepšuje imunitu na straně jedné a účinně zlepšuje chronické dysfunkční zánětlivé reakce na straně druhé. Proto je nezbytným jak v poruchách imunodeficientních, tak v autoimunitních onemocnění. Zn hraje klíčovou roli ve

správné funkci imunitních buněk, především u dendritických buněk, NK buněk, T-lymfocytů a B-lymfocytů (Hojyo a Fukada, 2016).

Nedostatek Zn ovlivňuje lytickou aktivitu NK buněk a makrofágů a s tím spojenou schopnost fagocytózy (John a kol., 2010; Skrajnowska a Bobrowska-Korczak, 2019).

Dle výzkumů suplementace Zn výrazně zvyšuje aktivitu NK-buněk zvýšením exprese perforinů. Spolu s interleukinem IL-2 tvoří Zn stimulant zvyšující aktivitu buněk imunitního systému. Naopak nedostatek Zn prokazatelně snižuje aktivitu NK-buněk a tlumí medikovaný účinek IL-2 na NK-buňky (Obrázek 3) (Rolles a kol., 2018).

Obrázek 3: Vliv zinku na NK-buňky



Zdroj: Rolles a kol., 2018

Diferenciací B lymfocytů vznikají plazmatické buňky sekretující imunoglobuliny, které se podílejí na specifické imunitní odpovědi (Bartůňková a Hořejší, 2005). B lymfocyty jsou však na nedostatek Zn méně citlivé (Skrajnowska a Bobrowska-Korczak, 2019). Vyšší vnímavost na změny koncentrací Zn v

organismu byla prokázána u Th lymfocytů. Tyto Th lymfocyty zahrnují buňky Th1 a Th2. Snížený obsah Zn narušuje rovnováhu mezi Th1 a Th2 směrem k Th2 lymfocytům. Produkce cytokinů Th2 buněk, jako jsou IL-4, IL-6 a IL-10, nebyla deficitem zinku ovlivněna (John a kol., 2010; Skrajnowska a Bobrowska-Korczak, 2019).

Zrání T lymfocytů probíhá v brzlíku a je závislé na thymulinu. Thymulin je peptidový hormon vylučovaný endoteliálními buňkami v brzlíku, na jehož tvorbě se podílí Zn jako kofaktor. Nedostatek Zn vede k narušení vývoje T-lymfocytů s následnou atrofií brzlíku. Thymulin navíc indukuje expresi IL-2 receptorů kooperující s CD8 buňkami schopných rozpoznat antigeny nádorového bujení (Skrajnowska a Bobrowska-Korczak, 2019).

Zinek v imunitních buňkách působí také úrovní antioxidantu a to především jako strukturální složka superoxidodismutázy (SOD1, SOD3), která účinně mění superoxidový radikál na méně toxický peroxid vodíku (H_2O_2) a tím znemožní tvorbu daleko nebezpečnějších radikálů, např. peroxynitritu. SOD1 a SOD3 společně poskytují odolnost vůči chemické a fyzikální denaturaci. Snížení enzymatické aktivity způsobí oxidační stres a progresi nádorů (Skrajnowska a Bobrowska-Korczak, 2019).

Přebytek Zn může být stejně škodlivý jako jeho nedostatek. Ve vysokých dávkách působí imunosupresivně, narušuje funkci lymfocytů a zvyšuje produkci IFN- γ . Takový výsledek může být však přínosný v boji proti autoimunitním onemocněním jako náhražka imunosupresivních léčiv (Skrajnowska a Bobrowska-Korczak, 2019).

2.2.1.5 Karence a toxicita

Toxicita Zn je zaznamenána jen v několika málo případech. Pokud tak nastane, dochází k zánětlivým reakcím a k poruchám jater a ledvin (Jelínek, 2003).

Akutní toxikóza byla zpozorována u ovcí, kterým byly podány 3 g Zn ve 20 ml roztoku síranu zinečnatého ($ZnSO_4$) k prevenci lupinózy. Ovce vykazovaly těžkou fibrózní pankreatitidu, břišní léze a buněčné změny ledvin. Přeživší ovce vykazovaly snížený příjem krmiva (NRC, 2005).

Hlavní dopad nadměrného chronického příjmu Zn je omezení vstřebávání mědi způsobené indukcí metalothioneinu. Jiné chronické účinky zahrnují snížení imunitní funkce. Krmení drůbeže vyššími dávkami Zn (500 mg/kg) vedlo k dysfunkci buněk slinivky břišní. Experimentální výživa telat obsahovala mléčné náhražky se zvýšenými koncentracemi Zn (celkový příjem 1,5-2 g/kg). Klinické příznaky se objevily po 23 dnech krmení. Většina telat trpěla pneumonií, průjmami a očními příznaky, některá zemřela. Hladiny železa, mědi a manganu v tkáni byly v normě. Příčiny klinických příznaků byly spojovány s nekrózou tkáně pankreatu. Krmné dávky u ovcí se zvýšeným obsahem zinku (540 mg/kg) způsobily snížení aktivity ceruloplasminu, koncentrace mědi v plazmě a hladiny hematokritu. Jaterní Zn a měď se nezměnily (NRC, 2005).

Maximální přípustné hodnoty u hospodářských zvířat je těžké určit. Zn v krmných dávkách prasat je v Evropě stanoven na 250 mg/kg, avšak dle studií prasata tolerují úroveň Zn až 1000 mg/kg bez známek toxikózy. Skot toleruje hladiny Zn do 500 mg/kg. Již dávky 700 mg/kg způsobují snížený příjem krmiva a tím snížené denní přírůstky. U ovcí byla stanovena maximální přípustná hodnota 300 mg/kg. Vyšší dávky způsobují nechutenství. Studie o suplementaci Zn u drůbeže uvádí toleranční hodnotu 1000 mg/kg, ale u některých dospělých nosnic byly zpozorovány léze v pankreatu a žaludku u dávek přesahujících 1000 mg/kg (NRC, 2005).

2.2.2 Selen

Selen byl zpočátku zkoumán pro jeho toxicitu u hospodářských zvířat, s postupujícími znalostmi se začal naopak řešit jeho nedostatek. Deficience způsobuje řadu onemocnění u většiny druhů zvířat. Většina těchto klinických příznaků však není vyvolána jen samostatným nedostatkem Se, nýbrž kombinací s nedostatkem vitamínu E (NRC, 2005).

2.2.2.1 Výskyt

Cyklus selenu (Se) v přírodě začíná a končí v půdě. Půda obsahuje celou škálu sloučenin Se, avšak jen některé mohou cirkulovat. Závisí na jejich rozpustnosti v půdě. Nejvíce jsou v půdě zastoupeny a rozpuštěny selenany, méně

seleničitany. Tyto sloučeniny jsou často vázány na železo a hliník. Z půdy přijímají rostliny selenany, které ve svém metabolismu přeměňují na selenomethionin nebo na selenocystein. Některé rostliny (řasy aj.) mohou uvolňovat značnou část Se do ovzduší. Tento elementární Se se však vrací do půdy v podobě dešťových srážek (Barceloux, 1999).

Selen se vyskytuje ve všech půdách v malém množství. Obvyklý obsah Se v půdě je 0,1-2,0 mg.kg⁻¹ (Velíšek, 1999). Nejvyšší koncentrace Se jsou v místech zvětrávání seleničitanů a selenidů ve spojení se sírovými minerály (arsenopyrit, chalkopyrit, aj.). V oblastech s takovým geologickým podložím dosáhne koncentrace Se v půdě hodnot 30-300 mg.kg⁻¹ (Barceloux, 1999).

Obsah Se v pitné vodě a přírodních vodách je velmi nízký a pohybuje se v řádech jen několik µg.l⁻¹. Obvyklé koncentrace v říčních a jezerních vodách se pohybují v rozmezí od 0,02 do 10,00 µg.l⁻¹ (Velíšek, 1999). Maximální přípustná hodnota Se v pitné vodě stanovená WHO je 10 µg.l⁻¹ (Barceloux, 1999).

2.2.2.2 Absorpce

Selen je v krmivu obsažen v organických formách nejčastěji jako selenomethionin, méně často jako selenocystein. V těchto formách vázaných na proteiny je vstřebatelnost prakticky 100 %. Anorganické formy Se v potravě se už tolik nevyskytují a vstřebávají se zhruba s 50 % účinností (SZU, 2006). Vstřebávání přijatého Se probíhá v zažívacím traktu především v *duodenu*. Organické sloučeniny Se jsou ukládány v tkáních, anorganické se eliminují a vylučují močí (WHO, 1996).

Vstřebávání selenomethioninu a selenocysteinu probíhá cestou aktivního transportu. Vstřebatelnost L-selenomethioninu je účinnější než směs L- a D-izomerů. Absorpce seleničitanů probíhá pasivní difúzí (pouze ve směru koncentračního gradientu) a může být snížena současným přísunem vysokých dávek vitamínu C, který redukuje seleničitany na elementární selen. Selenany jsou vstřebávány pomocí Na⁺/selenanového kotransportu spolu se sulfáty (Barceloux, 1999).

Resorbovaný Se vstupuje do krevního řečiště, kde se slučuje s bílkovinami. Poté je transportován jako selenoprotein P, jehož koncentrace v plazmě je velmi citlivá na fyzický a psychický stres. V případě stresu koncentrace selenoproteinu P

výrazně klesá a vrací se k normálním hodnotám asi za 7 dní. Distribuce Se probíhá téměř do všech tkání a největší množství se nachází ve štítné žláze, ledvinách, játrech a varlatech (Zadák, 2002).

Vylučování Se je až z 80 % řízeno močí a je homeostaticky regulováno. Snižuje se při nedostatečném přísunu Se v potravě a zvyšuje se při stresu (Hertlová, 2000).

2.2.2.3 Metabolismus

V organismu existují dva kompartmenty, selenomethioninový a selenocysteinový. Oba se liší možnostmi homeostatické regulace, přičemž selenocysteinový kompartment lze organismem regulovat, kdežto selenomethioninový nelze. Do selenomethioninového kompartmentu vstupuje selenomethionin potravou a ten se buď při potřebě organismu zabudovává do tělních proteinů, nebo je transsulfuračním mechanismem přeměněn na selenocystein a může být z těla vyloučen. V selenocysteinovém kompartmentu probíhá hlavní metabolismus. Vstupují do něj všechny typy anorganického Se a selenocystein. Všechny sloučeniny podléhají přeměně na selan (selenovodík, H_2Se). Selan je považován za prekurzor poskytující Se v aktivní formě pro syntézu selenoproteinů, nebo může být methylován S-adenosylmethioninem a vyloučen z těla (Sunde a kol., 2001).

Selenoproteiny se vyskytují ve všech prokaryotických i eukaryotických buňkách, kde vykonávají biologický účinek Se. Selenocystein absorbovaný potravou nebo vzniklý katabolismem ze selenomethioninu nelze využít k začlenění do proteinů a musí být proto znovu syntetizován. Tato syntéza probíhá během nové syntézy všech ostatních proteinů a vyžaduje nejméně 5 specifických genetických faktorů (4 enzymy a 1 tRNA^{sec}UCA). Každá selenoproteinová mRNA musí kromě toho ještě obsahovat UGA kodon (Sunde a kol., 2001).

Degradace selenocysteinu je katalyzována specifickou lyázou, která uvolňuje z proteinu elementární Se. Ten je redukován na selan (H_2Se) přes glutathion a jiné thioxy neenzymatickou cestou. Methyloací pomocí S-adenosylmethioninu vzniká

methyلسelenol (CH_3SeH), dimethylselenid [$(\text{CH}_3)_2\text{Se}$] a trimethylselenoniiový ion [$(\text{CH}_3)_3\text{Se}^+$], který je v této podobě vylučován močí (Sunde a kol., 2001).

2.2.2.4 Vliv na imunitní systém

Jak je známo, neutrofily mají klíčovou funkci vrozené imunity. Se pozitivně ovlivňuje fagocytární aktivitu neutrofilů. Na druhou stranu neutrofily produkují reaktivní druhy kyslíku ROS během procesu zvaného respirační vzplanutí. Nadměrná produkce ROS může způsobit oxidační poškození membránových lipidů, lipoproteinů, proteinů a DNA. Účinná obrana proti ROS závisí na řadě antioxidačních systémů, včetně účinků Se (Malá a kol., 2009). Studie dále popisují účinek Se na produkci cytokinů a prostaglandinů odvozených od kyseliny arachidonové (prostaglandin E2, tromboxan A2, prostaglandin D2 aj.) makrofágy (Avery a Hoffmann, 2018).

Selen je jedním z prvků zapojených do progresu tuberkulózy (TBC) způsobené bakterií *Mycobacterium tuberculosis*. Organismus při onemocnění TBC vykazuje nízké hladiny Se oproti zdravému jedinci. Se je pro řadu dalších virových a bakteriálních infekcí cenným pomocníkem pro jeho antioxidační vlastnosti, které se umocňují při současné suplementaci s vitamínem E. Studie potvrdily, že zvýšené hladiny Se vedly k výraznému zvýšení fagocytární aktivity a úspěšnému boji proti odolným kmenům bakterií rodu *Staphylococcus aureus* (Avery a Hoffmann, 2018).

Adaptivní imunita je ovlivněna příjmem Se, včetně aktivace a funkcí T a B lymfocytů, která je dána proliferací a diferenciací CD4 buněk a Th pomocných buněk.

Na základě výzkumů byly zjištěny účinky Se na karcinogenezi a progresi nádorů. Jeden z přímých protirakovinných účinků souvisí se schopností sloučenin Se vyvolat oxidativní stres a akumulaci poškozené DNA v nádorových buňkách. Selenoproteiny tvoří molekuly široké rodiny antioxidačních enzymů GPX. Glutathion-peroxidáza 4 (GPX4) moduluje hepatocelulární karcinom (HCC). Zvýšená exprese GPX4 dokáže polarizovat makrofágy M1 a snížit růst buněk linie HCC. Inhibice exprese GPX4 v buňkách HCC zvýšila tvorbu vaskulárního endoteliálního růstového faktoru (VEGF) a cytokinů IL-8, které iniciují růst HCC (Avery a Hoffmann, 2018).

Existují důkazy, že Se může modulovat patologii, která doprovází chronická zánětlivá onemocnění ve střevech a játrech, ale také u nádorů. Deficit Se a potlačená exprese selenoproteinů se podílejí na vyšších hladinách zánětlivých odezev cytokinů v různých tkáních, především v gastrointestinálním traktu, děloze a mléčné žláze. Naopak zvýšením Se suplementací seleničitanu sodného zvýšilo úroveň exprese a translaci mRNA kódující selenoproteiny související se stresem, ale také translaci genů účastnící se imunochemické reakce a vzrůst imunochemické odpovědi interferonu IFN- γ (Avery a Hoffmann, 2018).

Selen působí synergicky s vitamínem E a dohromady zajišťují antioxidační vlastnosti. Oxidace je spojena s buněčným metabolismem, který vede k tvorbě radikálů. Tyto volné radikály reagují s proteiny, lipidy a nukleovými kyselinami a mění jejich funkci. Dochází k mutaci DNA a porušení buněčných membrán. Hlavními zdroji volných radikálů je dýchací řetězec v mitochondriích, kdy 1-4 % molekulárního kyslíku O₂ je při oxidační fosforylaci přeměněno na superoxid a peroxid vodíku H₂O₂. Tyto volné radikály pomáhají deaktivovat dva typy enzymů:

- 1) superoxidodismutázy (SOD), tvořené mědí a zinkem
- 2) glutathion peroxidázy (GPX), tvořené selenem

Pouze GPX však dokážou odbourávat nebezpečné hydroperoxydy lipidů vytvořené oxidační reakcí volných radikálů s tuky (Murray, 1998).

2.2.2.5 Karence a toxicita

Otrava selenem (selenóza) nastává v několika situacích. V prvním případě může k toxikóze dojít k nadměrnému spásání selen-akumulujícího krmiva. Tyto selenové rostliny (např. *Astragalus racemosus*) rostou především na území Severní Ameriky. Další případ selenózy se může objevit v místech průmyslové činnosti, včetně tepelných elektráren, ropných rafinérií a těžby kovových rud. Toxikózu lze také vyvolat špatnou suplementací. Ve většině případu se intoxikovaná zvířata projevují snížením růstu, různými klinickými příznaky, nebo krajně smrtí (NRC, 2005).

Akutní toxicita Se se projevuje kulháním, sklopenou hlavou a ušima, zvracením, dušností a namáhavým dýcháním. Patologické změny zahrnují přetížení jater a ledvin, endokarditidu a myokarditidu. Smrtelná dávka pro 50 % jedinců za 24

hodin od expozice (LD50) u skotu činí 2-8 mg/kg intravenózně, orálně 9-20 mg/kg. U ovcí se orální LD50 pohybuje v rozmezí 10-15 mg/kg. U prasat je příjem Se v hodnotách kolem 4 mg/kg po dobu tří dnů smrtelný. U drůbeže je akutní orální LD50 stanovena na 33 mg/kg u dospělých kuřic, u jednodenních kuřat 2 mg/kg. Minimální letální orální dávka u kožesinových zvířat činí 1,5-3 mg/kg. Chronická selenóza se nejčastěji projevuje růstovou depresí (NRC, 2005).

Při nedostatku selenu se u prasat vyskytuje onemocnění zvané „*mulberry heart*“, které se projevuje poruchou srdeční činnosti. U ovcí bývá pozorována nutriční svalová dystrofie zvaná „*white muscle disease*“, která má podobné projevy jako onemocnění u lidí zvané Keshan. U krav se vyskytuje nutriční myopatie poškozující kosterní a srdeční svalovinu a způsobuje reprodukční poruchy (Sunde a kol., 2001).

2.2.3 Železo

Železo je uznáváno jako nezbytný esenciální prvek přítomný v celém těle buňky. Největší část se nachází v proteinových molekulách hemoglobinu a myoglobinu. Hemoglobin se nachází v červených krvinkách a transportuje kyslík z plic do tkání, zatímco myoglobin váže kyslík pro okamžité použití svalové buňky. Železo se také nachází v plazmě (transferin), mléce (laktoferin), placentě (uteroferin) a játrech (transferin a hemosiderin) (NRC, 2005).

2.2.3.1 Výskyt

Nejvyšší obsah Fe v živém organismu se nachází v krvi (hemoglobin), játrech a slezině (feritin a hemosiderin). Nižší koncentrace se nachází v ledvinách, srdci a kosterním svalstvu (myoglobin). V enzymech je zastoupeno jen malé množství celkové Fe v organismu (Velíšek, 2002).

Podle Trojana (2003) je přibližně 65-70 % celkového Fe vázáno v hemoglobinu erytrocytů (1 g hemoglobinu obsahuje 3,4 mg železa), zásobní Fe činí 15-30 %, 4 % jsou v myoglobinu a asi jen 1 % Fe je vázáno v enzymech.

V organismu zvířat je Fe vázáno především v komplexních formách na bílkoviny, jako jsou hemové sloučeniny (hemoglobin a myoglobin), hemové enzymy (cytochromy, cytochromoxidáza, peroxidáza a kataláza), nebo jako nehemové

sloučeniny (transferin, feritin a hemosiderin). V anorganické formě se Fe nachází v organismu v nepatrném množství (Jelínek a kol., 2003).

Železo se nachází v organismu ve dvou oxidačních stavech: ve ferro (Fe^{2+}) a ferri (Fe^{3+}) formě. Charakteristická pro hemové Fe vázající reverzibilně kyslík je ferro-forma, kdežto transportní a skladovací proteiny vážou Fe ve stavu trojmocném (Trojan, 2003).

2.2.3.2 Absorpce a metabolismus

Absorpce Fe z potravy probíhá v celém úseku trávicího traktu aktivním i pasivním způsobem a její využitelnost je závislá na tvorbě komplexních sloučenin železa. Majoritní látky zvyšující absorpci Fe jsou:

- askorbová kyselina, která působí jako chelatační činidlo
- organické kyseliny (jablečná, citronová, vinná, mléčná a jantarová)
- aminokyseliny, zejména histidin, lysin a cystein
- sacharidy, zejména laktóza (Velíšek, 2002)

Látky, které snižují absorpci Fe, tvoří se železem nerozpustné sloučeniny (fytová kyselina), nebo jiné stabilní sloučeniny, ze kterých nemůže být Fe uvolněno pro vazebné bílkoviny (feritin) nacházející se v buňkách střevní sliznice. Absorpci Fe snižují dále třísloviny a fenolové látky, vláknina a vyšší dávky fosforu a vápníku (Velíšek, 2002).

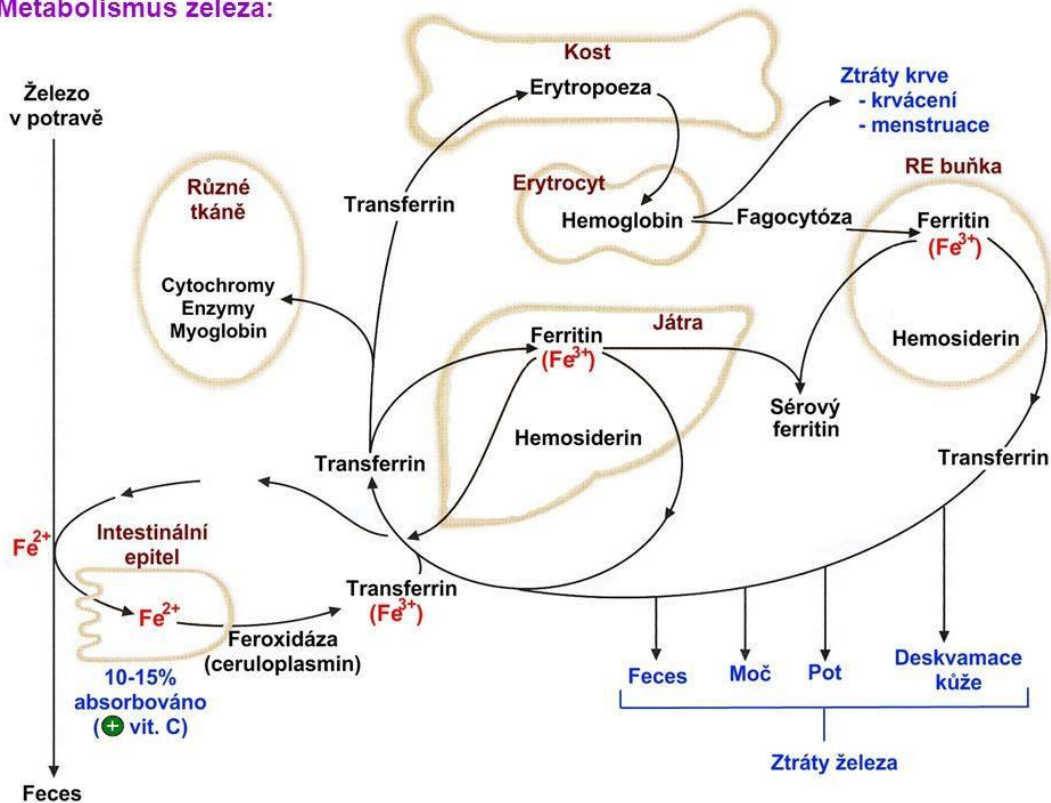
Absorpce Fe dvoumocného probíhá snadněji než u trojmocného Fe (Velíšek, 2002). V kyselém prostředí žaludku se většina komplexů Fe přijatých potravou štěpí na Fe^{3+} . Kyselina askorbová přijatá taktéž potravou, jakožto silné redukční činidlo, trojmocné Fe redukuje. Kyselé prostředí žaludku zabezpečuje uchování Fe ve stavu Fe^{2+} (Trojan, 2003). Z buněk střevní sliznice je Fe transferováno do krve. Železnaté ionty se v krvi zpětně oxidují na železité a vstupují do transportní bílkoviny transferinu. Transferin zajišťuje přenos Fe do všech tkání (Velíšek, 2002).

Dalším proteinem nezbytným v metabolismu Fe je feritin. Do buněk se železo dostává z rozdílných zdrojů: z transferinu, odbouráváním hemoglobinu, nebo v podobě střevní absorpce; jaterní buňky (hepatocyty) přijímají Fe také z komplexů hemoglobin-haptoglobin nebo hem-hemopexin. Železo je začleněno do buňky ve formě feritinu. Další osud feritinu závisí na aktuální potřebě organismu: nezralé

erytroidní buňky použijí Fe pro syntézu hemu nebo hepatocyty ukládají feritin do zásoby (Obrázek 4). Feritin neslouží pouze jako zásobní Fe, ale také chrání intracelulární prostředí proti toxickému účinku volných iontů Fe. Při větší koncentraci způsobují denaturaci bílkovin (Trojan, 2003).

Obrázek 4: Metabolismus železa

Metabolismus železa:



Zdroj: <https://slideplayer.cz/slide/3222794/>

2.2.3.3 Vliv na imunitní systém

Vrozená imunitní odpověď je první odezvou v boji proti infekčním a škodlivým cizorodým strukturám. Aktivuje se během několika minut až hodin a zahrnuje buňky kůže a sliznice. Účinky Fe na nespecifickou imunitu byly studovány s použitím tkáňových kultur a zvířecích modelů. Studie potvrdily, že Fe zasahuje do aktivace transkripčního faktoru NF- κ B a zasahuje do regulace HIF-1a. Bylo prokázáno, že HIF-1a hraje svou roli v expresi cytokinů a antimikrobiálních peptidů produkovaných makrofágy. Tvorba tohoto faktoru je zajištěna tzv. prolyl hydroxylací působením železa a kyslíku. Výzkum potvrdil, že siderofóry uvolňované patogenními bakteriemi mohou aktivovat odpovědi závislé na HIF-1a, což

vysvětluje, že snížení intracelulárního Fe může indikovat výskyt infekce (Cherayil, 2010).

Na povrchu makrofágů je vysoce exprimován transmembránový protein ferroportin (FNP), který zodpovídá za vstup Fe do plazmy (Delby a kol., 2005; Troadec a kol., 2010). Výzkum proteinu FPN ukázal, že exprese a funkce proteinu se mění v deficitním stavu Fe v organismu, při anémii, nebo naopak při hemochromatóze. Zvýšená exprese FPN na makrofázích inhibuje růst bakteriálních patogenů, jako je *Salmonella typhimurium*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia psittaci* nebo *Legionella pneumophila*, a to snížením hladiny buněčného Fe (Cherayil, 2010).

Mimo výše uvedené intracelulární obsah Fe v makrofázích může regulovat aktivaci makrofágů v prozánětlivý fenotyp M1 anebo protizánětlivý fenotyp M2 (Recalcati a kol., 2012). Oba fenotypy se liší expresí FNP a hladinou feritinu. U M2 je vysoce exprimován FNP s nízkou hladinou feritinu (Cronin a kol., 2019). Oba fenotypy se dále liší v procesu metabolismu Fe. Fenotyp M1 vychytává a intracelulárně ukládá Fe, které se uplatňuje při expresi TNF α , naproti tomu fenotyp M2 podporuje recirkulaci Fe, což je významné při hojení ran (Weis a kol., 1994; Cronin a kol., 2019).

Železo vykazuje značný vliv na neutrofilů. Neutrofilů obsahují v intracelulárních granulích enzym Fe myeloperoxidázu (MPO). MPO je často označován jako „zelený protein“, který dává při hnisavých infekcích typickou zelenou barvu. MPO katalyzuje reakci peroxidu vodíku (H₂O₂) a chloridových aniontů (Cl⁻) za vzniku kyseliny chlorné (HClO) během tzv. respiračního vzplanutí neutrofilů. Hem slouží jako kofaktor této reakce (Aratani, 2018). Kromě toho MPO katalyzuje oxidaci tyrosinu H₂O₂ na tyrosinový radikál. Kyselina chlorná spolu s tyrosinovým radikálem mají silné cytotoxické účinky, čehož využívají neutrofilů při eliminaci patogenů. Kromě MPO produkují neutrofilů množství laktoferinu, který zachycuje Fe, čímž inhibují bakteriální proliferaci (Cronin a kol., 2019).

Také eozinofilů mají MPO nazývaný eosinofilní peroxidáza (EPX), která sdílí podobnost s neutrofilní MPO. Oproti neutrofilům, kdy MPO je uvolňováno do fagozomu (váček s membránou vzniklý po fagocytóze), působí intracelulárně EPX eozinofilů zabíjí parazity extracelulárně (Cronin a kol., 2019).

Adaptivní imunita závisí na aktivaci a diferenciaci specifických B a T lymfocytů. Z literárních údajů, je zřetelné, že do vývoje lymfocytů (zejména T) zasahuje Fe. Lymfocyty získávají železo prostřednictvím transmembránového receptoru transferinu TfR1 (CD71) (Cherayil, 2010). Nepřítomnost anebo nízká exprese TfR1 vede k úplnému zastavení vývoje T buněk, zatímco u B buněk tato skutečnost nebyla jednoznačně prokázána (Cherayil, 2010).

Podobně jako v případě makrofágů, se také Fe účastní regulace fenotypů T lymfocytů. Při nedostatku Fe byl pozorován vyšší podíl populace Th1 buněk produkujících IFN- γ a nižší podíl Th2 buněk (Cherayil, 2010). Cytokiny produkované populací Th1 buněk zvyšují expresi TfR1 a indukují syntézu feritinu (Thurnham, 1997).

Zajímavá je také korelace mezi Fe a tetrahydrobiopterinem (BH4). Po stimulaci receptorů T lymfocytů (TCR) mění aktivované buňky své metabolické naprogramování a podporují činnost, jako např. transportní řetězec elektronů (ETC) produkující energii. Tím se zvýší metabolické potřeby vyžadující další regulátory pro efektivní funkci ETC k omezení nebezpečných vedlejších produktů - reaktivních forem kyslíku (ROS) - právě kvůli zvýšené energetické náročnosti. Aby toho bylo dosaženo, T lymfocyty indukují expresi enzymu GTP-cyklohydrolázy 1 (GTPCH), který po stimulaci produkuje metabolit BH4. Nejen že BH4 působí jako superoxidový „vychytávač“ ROS, ale také přímo redukuje Fe³⁺ na Fe²⁺ a ovlivňuje aktivitu cytochromu C v ETC. BH4 také spolupracuje při procesech regulované Fe, jako je syntéza hemu nebo biogeneze Fe-S a dalších metaloproteinů závislých na Fe. Při nedostatku BH4 vykazují T-buňky dysfunkční ETC, zvýšené ROS a sníženou produkci ATP v aktivovaných T-buňkách. Navíc T-buňky vykazují dysregulovaný mitoferin, feritin, HO-1 a celkově snížené hladiny Fe v buňce, což naznačuje, že nedostatek BH4 ovlivňuje metabolismus Fe (Cronin a kol., 2019).

2.2.3.4 Karence a toxicita

Toxikóza železa není ve většině případů běžným problémem, protože vysoké příjmy Fe jsou omezeny absorpcí (NRC, 2005). Vysoké koncentrace v krmných dávkách však ovlivňují vstřebávání mědi, Zn a manganu. V případě překročení množství Fe přijatého v potravě nad kapacitní limity organismu se Fe začne hromadit

v játrech ve formě hemosiderinu a tak může způsobit poškození jater. Tento stav se nazývá hemosideróza. V důsledku toho roste koncentrace volného Fe v krvi, která vede k tvorbě ROS a peroxidaci nenasycených mastných kyselin v buněčných membránách. To způsobí poškození membrán včetně buněčných membrán makrofágů a tím pádem snížení obranyschopnosti organismu (Jelínek a kol., 2003). Obecně je akceptováno, že ROS hrají ústřední roli v buněčné signalizaci a v regulaci apoptózy (Dutordoir a Averril, 2016). Liu a kol. (2020) zjistili, že vysoké dávky Fe vedou u ovcí ke zvýšení hladiny malondialdehydu (MDA), NO, H₂O₂, aktivity inducibilní syntázy oxidu dusnatého (iNOS) a k signifikantnímu poklesu antioxidační kapacity. Z orgánů imunitního systému byly nejvýznamněji postiženy slezina a duodenální mízní uzliny, kde byly zaznamenána lymfocytární infiltrace.

Mnoho oxidačních činidel způsobuje apoptózu, avšak neexistuje důkaz, že přebytek Fe to činí. Naopak suplementace Fe snižuje apoptózu vyvolanou nebezpečnými plyny, zejména oxidem dusnatým (NO). Nízké koncentrace Fe vyvolávají apoptózu v HeLa a rakovinných buňkách. Fe a feritin mají při apoptóze podobné účinky. Exprese feritinu je pevně regulována Fe. Mimo toho se feritin rozděluje na dva typy podjednotek: H- a L- feritin. Na studii suplementace Fe na apoptózu indukovanou TNF- α v HeLa buňkách bylo dokázáno, že Fe má antiapoptotický účinek zprostředkovaný H-feritinem.

Maximální přípustná hladina Fe je definovaná jako úroveň, při jejíž expozici se nenaruší užitečnost hospodářských zvířat. Přípustná koncentrace Fe v krmivu je pro skot 500 mg/kg, pro ovce 500 mg/kg, pro drůbež 500 mg/kg a pro prasata 3000 mg/kg (NRC, 2005).

Hlavním příznakem deficitu Fe u všech druhů hospodářských zvířat je mikrocytální hypochromická anémie, která se projevuje v důsledku nedostatečné produkce hemoglobinu a doprovází ji zaostávání v růstu. U dospělých jedinců se anémie vyskytuje jen zřídka vzhledem k vysokému obsahu Fe v rostlinných krmivech (Svoboda a Drábek, 2001).

S chronickou deficiencí jsou zpravidla postižena prasata. Tělo nově narozených selat se vyznačuje obrovskou krvetvornou aktivitou. Pro syntézu hemoglobinu, myoglobinu a dalších životně důležitých látek obsahující Fe potřebují selata během prvních týdnů 7 až 10 mg Fe za den. Příjem z mléka prasnice je však

mnohem menší, tj. 1 mg Fe za den. Koncentraci Fe v mléce však nelze zvýšit dodáním suplementů během laktace. Selata s touto deficiencí jsou náchylná na průjmy. Dochází ke snížení tvorby kyseliny chlorovodíkové (HCl) v žaludku, k atrofii klků a k redukci mikroflóry trávicího traktu. Při deficienci Fe dochází také k imunosupresi postižených selat. Anémie vede ke snížení intenzity růstu selat. Metabolismus Fe v organismu je řízen především množstvím Fe vázaného na transportní (transferin) a zásobní (ferritin) proteiny. V důsledku anémie klesá tvorba transferinu i ferritinu. Pokles hladiny transferinu je považován za hlavní příčinu zástavy růstu (Svoboda a Drábek, 2001).

2.2.4 Měď

Měď je nezbytná pro tvorbu řady enzymů, které fungují v organismu pro vývoj a zrání kolagenu, metabolismus Fe a další biologické procesy. Suplementace mědi je v chovech hospodářských zvířat nedostatečná. Většina těchto deficiencí je způsobena přítomností antagonistů (železo, síra a molybden) v krmivu, které narušují metabolismus mědi (NRC, 2005).

2.2.4.1 Výskyt

Měď (Cu) se nachází v půdě ve dvou oxidačních stupních Cu^{2+} a Cu^+ . Ionty měďné vznikají v půdě redukcí měďnatých iontů za anaerobních podmínek. Obsah Cu v půdě se uvádí v rozmezí 1–100 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$ půdy. V půdě se vyskytuje v několika formách, které jsou rozdílné z hlediska přístupu (Richter a Hlušek, 1994).

Měď nevýměnná (nepřístupná) tvoří především vazbu Cu^{2+} v minerálních sloučeninách (chalkopyrit, malachit). Tento oxidační stupeň Cu je i v organických sloučeninách. Nepřístupná Cu je součástí špatně rozpustných solí, jako je Cu_2O , CuO , CuOH , $\text{Cu}(\text{OH})_2$, které jsou rozpustné jen v kyselinách a proto nejsou bezprostředním zdrojem pro rostliny a zvířata (Richter a Hlušek, 1994).

Měď výměnná je v půdě absorbována především huminovými kyselinami a v půdě je zastoupena jen minimálně. Transport takové Cu probíhá výměnnými reakcemi pomocí minerálních koloidů, které mají negativní náboj a jsou tak schopné poutat Cu (Richter a Hlušek, 1994).

Rozpustné formy mědi jsou zastoupeny především v solích $\text{CuCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$, $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$ aj. Jejich rozpustnost se zvyšuje se snižováním pH v půdě (Richter a Hlušek, 1994).

2.2.4.2 Absorpce a transport

Absorpce mědi probíhá především v částech tenkého střeva zvané *duodenum* a *ileum*. Absorpce Cu závisí na přítomnosti mnoha látek či prvků – Zn, Fe nebo kyselina askorbová potlačují vstřebávání Cu, naopak bílkoviny a fruktóza podporují absorpci (Collins a kol., 2010).

V krvi se volné ionty Cu téměř nevyskytují – jejich koncentrace byla naměřena na pikomoly na litr krevního séra. V krevním oběhu je Cu vázána na jiné látky – albumin, transkuprein a ceruloplazmin (CP). Albumin je primárním proteinem v transportu Cu a váže ji na histidinový zbytek. Transkuprein je vysoko-afinitní přenašeč a v transportu Cu se podílí z 12 %. Albumin a transkuprein spolu kooperují a vyměňují ionty Cu v případě potřeby. Molekula CP obsahuje největší množství Cu ze všech transportních proteinů, avšak Cu je z této molekuly jen těžce uvolnitelná, jelikož je Cu zabudována přímo v molekule CP při jeho syntéze v játrech. Proto okamžitou potřebu organismu zastupuje albumin a transkuprein (Collins a kol., 2010).

Příjem mědi přes membránu buněk je ovlivněn redukcí na Cu^+ . Tyto měďné ionty jsou transmembránovými transportéry přeneseny do cytosolu. Primární transportér (CTR1) je nejvíce koncentrovaný v játrech, srdci, střevech a ledvinách. CTR1 je složený ze 190 aminokyselinových zbytků, z nichž nejvíce převažuje methionin, cystein a histidin. Množství CTR1 a jeho aktivita jsou regulovány hladinou Cu v buňce (Collins a kol., 2010).

2.2.4.3 Vliv na imunitní systém

Výzkum dokazuje, že nedostatek Cu výrazně ovlivňuje produkci cytokinů u hospodářských zvířat. Největší vliv byl zaznamenán u dojnic, které mezní hladinou přijatého Cu produkují méně protilátek než dojnice se zvýšenými dávkami Cu. Dostatečné hodnoty Cu zvyšují schopnost izolovaných granulocytů periferní krve (především neutrofilů) fagocytózy. V opačném případě se snižuje primární odpověď imunitní reakce vůči velké škále bakteriálních infekcí (Spears, 2000).

Měď je důležitá v diferenciaci, zrání a proliferaci leukocytů. Neutrofilly izolované od jedinců s nedostatečnou saturací Cu vykazovaly sníženou fagocytární kapacitu a baktericidní aktivitu. Z toho vyplývá, že nízké hladiny Cu ovlivňují náchylnost zvířat k bakteriální infekci. V případě zvýšené suplementace Cu byla u makrofágů zjištěna vyšší antibakteriální aktivitu a vyšší intracelulární usmrcení *Escherichia coli* a *Salmonella enterica* (Djoko a kol., 2015). Dle výzkumu nízká koncentrace Cu zvyšuje úmrtnost v reakci na infekci bakteriálních rodů *Salmonella Typhimurium*, *Candida albicans* a *Pasteurella haemolytica* (Stafford a kol., 2013).

Existuje jistá korelace mezi Cu a Fe. Ceruloplasmin (CP) je jedním z proteinů, který je v akutní fázi zánětu inhibován prozánětlivými cytokiny IFN- γ , IL-1, IL-6 a TNF α . CP poskytuje funkční spojení mezi metabolismem Cu a Fe a jeho nízká koncentrace narušuje homeostázu Fe (Stafford a kol., 2013).

Příznivé hladiny Cu v organismu ovlivňují produkci řady látek účastnících se imunochemických a fyziologických procesů:

- Cu-Zn superoxiddismutáza (Cu-Zn SOD) je nejhojnější extracelulární metaloenzym zodpovědný za odstranění ROS a jejich transformace na peroxid vodíku
- Cytochrom-c oxidáza se nachází v mitochondriální membráně a slouží jako elektronový akceptor dýchacího řetězce
- Dopamin β -hydroxyláza je nezbytná pro přeměnu dopaminu na norepinefrin v nadledvinách (přítomnost Cu a kyseliny askorbové je nezbytná pro jeho činnost)
- Ceruloplasmin (CP) (α -2-globulin) je protein zodpovědný za transport Cu v organismu, ale je také jedním z proteinů akutní fáze zánětu, při němž se koncentrace CP v plazmě zvyšují (Pavelková a kol., 2018).

Měď je nezbytnou antimikrobiální zbraní. Aktivované makrofágy akumulují Cu ve fagozomu, který zachycuje mikrobiální útok. Cu má silnou antivirovou aktivitu tím, že inaktivuje obalené i neobalené jednořetězové DNA i RNA viry. Cu²⁺ deaktivují proteiny a nukleové kyseliny virů vazbou donorových elektronových skupin. Výsledkem je členění spinální struktury nukleových kyselin a jejich denaturace (Pavelková a kol., 2018).

Zajímavá je také korelace koncentrace Cu a vzniku rakoviny. Při přítomnosti rakovinotvorných buněk jsou koncentrace Cu zvýšeny až trojnásobně, kdežto koncentrace Zn, Fe a Se výrazně poklesly. Tvorba ROS je pravděpodobně hlavní mechanismus podílející se na rozvoji rakoviny, přičemž Cu indukuje proliferaci endoteliálních buněk. Při zhoubných nádorech je také vyšší hladina ceruloplasminu v plazmě (Pavelková a kol., 2018).

2.2.4.4. Karence a toxicita

Většina hospodářských zvířat je tolerantní vůči přebytkům Cu. Problémy s citlivostí na měď mají ovce. Jak již bylo zmíněno, metabolismus Cu je ovlivněn přítomností Fe, S a molybdenu v krmivu. Jsou-li tyto prvky v normě, činí koncentrace 10 mg Cu/kg pro ovce přípustnou hodnotu. Pokud jsou však v nedostatku, je tato koncentrace pro ovce toxická. Chronická toxikóza Cu u ovcí se vyznačuje jejím hromaděním v játrech a ledvinách po dobu několika týdnů či měsíců. Během prehemolytické fáze dochází k nekróze jater, redukci vývoje enzymů (glutamát dehydrogenáza, sorbitol dehydrogenáza aj.) a ukládání Cu v játrech. Zvířata s toxikózou mají často koncentraci Cu v játrech přesahující 2000 mg/kg. Hemolytická fáze je spojena s rychlým uvolněním Cu do krevního řečiště a je charakterizována hemolýzou. Ta způsobí narušení struktury erytrocytů. Toxicita se projevuje ztrátou hmotnosti, otupelostí, žízni a tmavě zbarvenou močí (NRC, 2005).

Příznaky nedostatku Cu, které jsou doprovázeny snížením hladiny CP, jsou abnormality kostní dřene včetně počínající anémie, poruchy růstu a zvýšený výskyt infekcí. Při infekcích je důsledkem nedostatku Cu v organismu snížená produkce IL-2. Těžký deficit Cu ovlivňuje složky obranného systému a v důsledku toho zvyšuje vznik ROS, které vedou k oxidačnímu poškození lipidů, proteinů a DNA. Stejný vliv má i jeho toxicita, která vede k poškození jater, ledvin a imunotoxicitě. Nejvíce znalostí o toxických mechanismech Cu pochází ze studií o DNA. Ionty Cu^{2+} se specificky vážou na guanosinové zbytky a mění jejich modifikaci na 8-oxo-2-deoxyguanosin, čímž dochází k poškození DNA. Je nutné podotknout, že takové případy nastávají jen při chronické toxicitě Cu způsobené v důsledku znečištění životního prostředí nebo poruchou metabolismu Cu (Pavelková a kol., 2018).

3. ZÁVĚR

Cílem bakalářské práce bylo zpracovat literární přehled o jednotlivých složkách imunitního systému a vlivu vybraných mikroelementů. Za hlavní strukturu imunitního systému tvoří imunita nespecifická (vrozená) a specifická (adaptivní). Nespecifická imunita se vyznačuje okamžitou imunochemickou odpovědí organismu na cizorodé struktury a z časového hlediska je výhodnější. Naopak specifické mechanismy imunity zajišťují imunologickou paměť a tím zesílenou imunochemickou odpověď v následných infekcích. Oba typy imunity zajišťují jak buňky, tak molekuly imunitního systému. Buňky imunitního systému (leukocyty) vznikají ze společné pluripotentní buňky (CD34+). Z myeloidní linie vznikají buňky zajišťující nespecifickou imunitu. Z lymfoidní linie T a B lymfocyty reprezentující imunitu adaptivní. Molekuly imunitního systému jsou zajištěny receptory pro jednotlivé lymfocyty (TCR/BCR komplexy) a imunoglobuliny. Speciálním typem jsou proteiny zvané cytokiny produkované jak buňkami myeloidní linie (makrofágy aj.), tak buňkami lymfoidní linie (T lymfocyty). Dozrávání buněk imunitního systému probíhá v různých lymfatických orgánech, jako je brzlík, kostní dřeň a slezina. Mízní systém transportuje leukocyty do potřebných míst.

Mezi mikroelementy mající největší vliv na imunitní systém patří zinek, selen, železo a měď. Tyto prvky jsou nezbytné pro správnou funkci, na druhou stranu vysoké hladiny mohou být imunotoxické. Absorpce mikroelementů je zpravidla podpořena řadou organických látek, jako jsou sacharidy nebo sirné aminokyseliny. Kyselina askorbová podporuje absorpci zinku a železa, na druhou stranu redukuje vstřebávání mědi. Různé hladiny ovlivňují nejen žírné schopnosti fagocytů, ale správnou diferenciaci lymfocytů a redukci rizik apoptózy. Nesprávnou diferenciací lymfocytů dochází k narušení vývoje celé řady cytokinů zapojujících se do akutní fáze zánětu. Zinek ovlivňuje diferenciaci Th pomocných lymfocytů na subtypy Th1 a Th2. Snížený obsah zinku má za následek změnu poměru Th1 a Th2 ve prospěch Th2. Ovlivněná diferenciaci Th1 zamezuje produkci cytokinů (interleukinů IL-2, IL-12 aj.). Produkce cytokinů buněk Th2, jako jsou IL-4, IL-6 a IL-10, není ovlivněna. Deficit selenu a potlačená exprese selenoproteinů se podílejí na vyšších hladinách zánětlivých odezev cytokinů. Správná hladina selenu podporuje translaci genů účastnících se imunochemické reakci a vzrůst imunochemické odpovědi interferonu IFN- γ . Železo se nachází v organismu v mnoha formách. Transmembránový protein

ferroportin a jeho exprese se mění v deficitním stavu železa. Dostatečné hladiny železa znamenají zvýšenou expresi ferroportinu na makrofázích, která inhibuje růst bakteriálních patogenů, jako třeba *Salmonella typhimurium*, *Mycobacterium tuberculosis*, *Chlamydia psittaci* nebo *Legionella pneumophila*.

Za významné lze z literárních zdrojů považovat to, že jednotlivé mikroelementy se nezapojují jednotlivě, ale kooperují, popř. vytváří společné komplexy. Příkladem těchto komplexů mohou být superoxiddismutázy (SOD) nebo glutathion peroxidázy (GPX), které chrání před oxidačními účinky volných radikálů a množení rakovinotvorných buněk. Zajímavá je také korelace mezi transmembránovým proteinem mědi ceruloplasminem (CP) a železem, kdy hladiny CP ovlivňují metabolické pochody železa v organismu.

Z databázi vědeckých časopisů je zřejmé, že vztah imunitního systému a mikroelementů je stále aktuálním tématem. Jeden z důvodů je skutečnost, že řada procesů nebyla dosud zcela objasněna u všech buněk imunitního systému. Dalším důvodem mohou také být různé formy minerálních suplementů, aktuálně je v popředí použití nanočástic (nanoselen, nanozinek).

4. SEZNAM OBRÁZKŮ A TABULEK

Obrázek 1: Vývojové řady krvinek.....	14
Obrázek 2: Vývoj lymfocytů.....	19
Obrázek 3: Vliv zinku na NK buňky.....	32
Obrázek 4: Metabolismus železa.....	39
Tabulka 1: Základní třídy imunoglobulinů.....	21
Tabulka 2: Hlavní skupiny cytokinů.....	22
Tabulka 3: Nejdůležitější příčiny vzniku sek. Imunodeficiencí.....	26

5. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Alloway, B. J. (2008): Micronutrients and Crop Production: An Introduction. In Micronutrient Deficiencies in Global Crop Production (pp. 1–39). Springer Netherlands.
2. Aratani, Y. (2018): Myeloperoxidase: Its role for host defense, inflammation and neutrophil function. *Archives of Biochemistry and Biophysics*. 640, 47-52
3. Avery, J., Hoffmann, P. (2018): Selenium, Selenoproteins, and Immunity. *Nutrients*, 10(9), 1203.
4. Barceloux, D. G. (1999): Selenium, *Clinical Toxicology*, vol. 37, Iss. 2, p. 145-172.
5. Bartůňková, J. (2011): *Vyšetřovací metody v imunologii*. 2. vyd. Praha: Grada Publishing, a. s., 168 s. ISBN 978-80-247-3533-7.
6. Byers S. R., Kramer J. W. (2010): Normal hematology of sheep and goats. In: *Schalm's veterinary hematology* (Weiss D. J., Wardrop K. J., eds.),. 5.th., Wiley-Blackwell, Ames I. A. pp. 836–842.
7. Campbell, N. A., Reece, J. B. (2006): *Biologie*. 1. vyd. Brno: Computer Press, 1332 s. ISBN 80-251-1178-4
8. Cherayil, B. J. (2010): Iron and Immunity: Immunological Consequences of Iron Deficiency and Overload. *Archivum Immunologiae et Therapiae Experimentalis*, 58(6), 407-415.
9. Collins, J.F., Prohaska, J.R., Knutson M.D. (2010): Metabolic crossroads of iron and copper. *Nutrition Reviews*, 68(3): 113-147.

10. Cozzi, A., Levi, S., Corsi, B., Santambrogio, P., Campanella, A. Gerardi, G., Arosio, P. (2003): Role of Iron and Ferritin in TNF α -induced apoptosis in HeLa cells. *FEBS Letters*, 537(1-3), 187-192.
11. Cronin, S. J. F., Woolf, C. J., Weiss, G., & Penninger, J. M. (2019): The Role of Iron Regulation in Immunometabolism and Immune-Related Disease. *Frontiers in Molecular Biosciences*, 6.
12. Delaby, C., Pilard, N., Goncalves, A.S., Beaumont, C., Canonne-Hergaux, F. (2005): Presence of the iron exporter ferroportin at the plasma membrane of macrophages is enhanced by iron loading and down-regulated by hepcidin. *Blood*, 106(12), 3979-3984.
13. Derkins, S. (2001): *The immune systems. 2. Series.* New York: The Rosen Publishing Group, 47 s. ISBN 0-8239-3339-3
14. Djoko, K.Y., Ong, C.Y., Walker, M.J., McEwan, A.G. (2015): The Role of Cooper and Zinc Toxicity in Innate Immune Defense against Bacterial Pathogens. *Journal of Biological Chemistry*, 290(31), 18954-18961
15. Dylevský, I. (2006): *Lymfa: Míza.* Olomouc: Poznání, 109 s. ISBN 80-86606-42-2
16. Elišková, M., Naňka, O. (2006): *Přehled anatomie. 1. vyd.* Praha: Univerzita Karlova, 309 s. ISBN 80-246-1216-X
17. Eurell J. A., Frappier B. L. (2006): *Dellmann's Textbook of Veterinary Histology. 6.th., USA, Blackwell Publishing.* pp. 414–415. ISBN 0-7817-4148-3
18. Ferenčík, M. (2005): *Imunitní systém – informace pro každého. 1. vyd.* Praha: Grada Publishing, a. s., 236 s. ISBN 80-247-1196-6.

19. Gill, H., Walker, G. (2008): Selenium, immune function and resistance to viral infections. *Nutrition & Dietetics*, 65, 41-47
20. Greenwood, N. N., Earnshaw, A. (1993): *Chemie prvků*. Praha: Informatorium, ISBN 80-854-2738-9.
21. Hertlová, M. aj. (2006): Hladina selenu a glutathionpeoxidázy u dialyzovaných pacientů, *Vnitřní lékařství*, roč. 46, č. 5, s. 276-281.
22. Hojyo, S., Fukada, T. (2016): Roles of Zinc Signaling in the Immune System. *J Immunol Res*. 2016:6762343.
23. Hořejší V., Bartůňková J. (2005): *Základy imunologie*. 2.vyd., Praha, Triton. 279 s. ISBN 80-7254-686-4
24. Hosnedlová, B. (2007): *Zásobenost organismu dojníc zinkem a mědí ve vztahu k vybraným reprodukčním ukazatelům a mléčné užitkovosti*. České Budějovice: ZF JU, 2007.
25. Jelínek, P., Koudela, K. A kol. (2003): *Fyziologie hospodářských zvířat*. Brno: MZLU, 414 s., ISBN 80-7157-644-1
26. John, E., Laskow, T.C., Buchser, W.J., Pitt, B.R., Basse, P.H., Butterfield, L.H., Kalinski, P., Lotze, M.T. (2010): Zinc in innate and adaptive tumor immunity. *Journal of Translational Medicine*, 8(1), 118.
27. Krejsek, J., Andrys, C., Krčmová I. (2016): *Imunologie člověka*. Garamon: Hradec Králové. 496 s. ISBN 978-80-86472-74-4

28. Kvičala, J. (2003): Selen a regulace organismu hormonů štítné žlázy, *Endokrinologie*, č. 11, s. 19-22.
29. Liang, Y., Chen, X., Chen, J., Liu, F. (2018): Differentiation and Function of T Cell Subsets in Infectious Diseases. *Journal of Immunology Research*, 2018. 1-2.
30. Lyons, D. J., Spann, K. P., Roofayel, R. L. (1985): Determination of total calcium, zinc, manganese, iron, magnesium and phosphorus in animal feeds and plant material using inductively coupled plasma emission spectrometry. *The Analyst*, 110(8), 955.
31. Maggini, S., Pierre, A., Calder, P. (2018): Immune Function and Micronutrient Requirements Change over the Life Course. *Nutrients*, 10(10), 1531.
32. Malá, S., Kovářů, F., Mišurová, L., Pavlata, L., Dvořák, R., Číž, M. (2009): Influence of selenium on innate immune response in kids. *Folia Microbiologica*, 54(6), 545-548.
33. Mišurcová, L. (2012): *Základy biologie*. 2. vyd. Zlín: UTB, 167 s. ISBN 978-80-7454-156-8
34. Murray, K a kol. (1998): *Harprova Biochemie*, 2. české vydání, Jinočany: nakladatelství H&H, 872 s. ISBN 80-85787-38-5
35. Narayanasamy, P. (2005): *Immunology in plant health and its impact on food safety*. New York: Food Products Press, 412 s. ISBN 1-56022-286-7
36. National Research Council (2005): *Mineral Tolerance of Animals: Second Revised Edition*. Washington, DC: The National Academies Press. ISBN 978-0-309-09654-6

37. Pavelková, M., Vysloužil, J., Kubová, K., Vetchý, D. (2019): Biological role of copper as an essential trace element in the human organism. *Česká a Slovenská farmacie: časopis České farmaceutické společnosti a Slovenské farmaceutické společnosti* 67(4): 143-153.
38. Pecka, M. (2002): *Laboratorní hematologie v přehledu: buňka a krvetvorba*. 1. vyd. Český Těšín: FINIDR, 160 s. ISBN 80-866-8201-3
39. Pedersen, B. K. (2000): Exercise and cytokine. Vol. 78. *Immunology and Cell Biology*.
40. Pemmer, B., Roschger, A., Wastl, A., Hofstaetter, J. G., Wobrauschek, P., Simon, R., Thaler, H. W., Roschger, P., Klaushofer, K., Strelci, C. (2013): Spatial distribution of the trace elements zinc, strontium and lead in human bone tissue. *Bone*, 57(1), 184–193.
41. Pluhator, M. M., Thomson, A. B., Fedorak, R. N. (1995): Clinical Aspects of Trace Elements: Zinc in Human Nutrition – Zinc Metabolism. *Canadian Journal of Gastroenterology*, 9(6), 327–332.
42. Redza-Dutordoir, M., Averill-Bates, D.A. (2016): Activation of apoptosis signalling pathways by reactive oxygen species. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) – Molecular Cell Research*, 1863(12), 2977-2992.
43. Richter, R., Hlušek, R. (1994): *Výživa a hnojení rostlin: Určeno pro posl. AF, ZF*. Brno: Vysoká škola zemědělská, 177 s, ISBN 80-7157-138-5
44. Rolles, B., Maywald, M., Rink, L. (2018): Influence of zinc deficiency and supplementation on NK cell cytotoxicity. *Journal of Functional Foods*, 48, p. 322-328.

45. Skrajnowska, D., Bobrowska-Korczak, B. (2019): Role of Zinc in Immune System and Anti-Cancer Defense Mechanisms. *Nutrients*, 11(10), 2273.
46. Spears, J.W. (2000): Micronutrients and immune function in cattle. *Proceedings of the Nutrition Society*, 59(4), 587-594.
47. Stafford, S. L., Bokil, N. J., Achard, M.E.S., Kapetanovic, R., Schembri, M.A., McEwan A.G., Sweet, M.J. (2013): Metal ions in macrophage antimicrobial pathways: emerging roles for zinc and cooper. *Bioscience Reports*, 33(4).
48. Sunde, R. A.: Selenium, In: Bowman, B. A. – Russel, R. M. (2001): *Present Knowledge in nutrition*, 9th edition, Washington DC: ILSI Press, p. 352-364.
49. Svoboda, M., Drábek, J. (2001): Anémie selat z nedostatku železa. *Náš chov*, 61, 11, s. 35 – 36, ISSN 0027-8068
50. SZU: materiály Státního Zdravotního ústavu Praha < www.chpr.szu.cz> 2006-04-15
51. Thurnham, D. I. (1997): Micronutrients and immune function: some recent developments. *Journal of clinical pathology*. 50 (11): 887-891.
52. Tizard I. R. (2013): *Veterinary imunology*. 9. th., Texas, Elsevier. 127–136. ISBN 978–1–4557–0362–3
53. Toman M. (2009): *Veterinární imunologie*. 2. ed., Praha, Grada. 392 s. ISBN 978–80–2472–464–5
54. Troadec, M.B., Ward, D.M., Lo, E., Kaplan, J., De Domenico, I. (2010): Induction of FPN1 transcription by MTF-1 reveals a role for ferroportin in transition metal efflux. *Blood*, 116(22), 4657-4664.

55. Trojan, S. (2003): Lékařská fyziologie. 4. vyd. Praha: Grada Publishing, 771 s. ISBN 80-247-0512-5
56. Velíšek, J. (2002): Chemie potravin. Tábor: OSSIS, 320 s., ISBN 80-86659-01-1
57. Weiss, G., Werner-Felmayer, G., Werner, E.R., Grunewald, K., Watcher, H., Hentze, M.W. (1994): Iron regulates nitric oxide synthase activity by controlling nuclear transcription. *The Journal of Experimental Medicine*, 180(3), 969-976.
58. World Health Organisation (1996): Trace elements in human nutrition and health [online]. Ženeva: Ženeva: World Health Organisation, [cit. 2014-02-23].
59. Zadák, Z. (2002): Výživa v intenzivní péči, Praha: Grada Publishing, ISBN 80-247-0320-3