

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin**



**Česká zemědělská  
univerzita v Praze**

**Bilance selenu v organismu laboratorního potkana**

**Diplomová práce**

**Bc. Karolína Žemličková**

**Výživa zvířat a dietetika**

**prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.**

© 2021 ČZU v Praze

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Bilance selenu v organismu laboratorního potkana" jsem vypracovala samostatně pod vedením vedoucího diplomové práce a s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou citovány v práci a uvedeny v seznamu literatury na konci práce. Jako autorka uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne 22.4.2021

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala vedoucí práce prof. Ing. Jiřině Szákové, CSc. za obrovskou pomoc při psaní práce, empatii a dobré srdce. Dále bych ráda poděkovala rodičům a manželovi za podporu při studiu a pomoc s novorozeným synem.

# Bilance selenu v organismu laboratorního potkana

## Souhrn

Cílem diplomové práce bylo zhodnotit vliv zvýšeného příjmu selenu na jednotlivé orgány potkana a bylo sledováno vylučování tohoto esenciálního prvku ve výkalech a hodnocena schopnost akumulace selenu přijímaného v dietě ve formě anorganické a organické. V našem experimentu bylo dvacet dva pokusných laboratorních potkanů, kmene Wistar, rozděleno do tří skupin. První skupina byla krmena krmnou směsí, kde hlavní zdroj selenu představoval sójový šrot. Druhá skupina dostávala krmnou směs s přídavkem anorganického seleničitanu sodného a v krmné směsi třetí skupiny byl sójový šrot nahrazen odtučněným řepkovým šrotem. Pokus probíhal 28 dní a každý potkan dostával denně 30 g příslušné krmné směsi. Voda byla podávána *ad libitum*. Během experimentu se pravidelně v týdenních intervalech odebíraly exkrementy. Po ukončení experimentu byli potkani usmrceni a byly jim odebrány vybrané orgány. Předmětem této práce bylo sledování akumulace selenu v jednotlivých orgánech a jeho vylučování exkrementy. Stanovení selenu v odebraných orgánech bylo provedeno pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP MS, Agilent 7700x firmy Agilent Technologies, Inc., USA). Z výsledků je patrné, že vhodně zvolená forma selenu v dietě vede ke zvýšení akumulace tohoto prvku v jednotlivých orgánech. Dále z výsledků vyplývá, že k největší akumulaci tohoto prvku docházelo při příjmu anorganického selenu a zároveň u této skupiny docházelo k vylučování největšího množství selenu. Naopak při příjmu směsi s řepkovým šrotem jako zdrojem selenu bylo zaznamenáno nejnížší přijaté množství a zároveň nejnížší vyloučené množství selenu. Akumulované množství selenu z řepkového šrotu bylo srovnatelné s množstvím selenu přijatého prostřednictvím sójového šrotu. Řepkový extrahovaný šrot tedy lze považovat za dobrý zdroj selenu pro hospodářská zvířata stejně jako je krmná směs se sójovým šrotem jako hlavním zdrojem tohoto esenciálního prvku.

**Klíčová slova:** selen, dietární příjem, akumulace, potkan

# Selenium balance in the organisms of laboratory rats

## Summary

The aim of this thesis was to evaluate the effect of increased selenium intake on individual organs of the rat and was monitored the excretion of this essential element in the feces and to evaluated the ability of accumulation of the selenium taken up in the diet in anorganic and organic form. In our experiment, twenty two experimental Wistar rats were divided into three groups. The first group was fed a compound feed, where the main source of selenium was defatted soybean meal. The second group received a feed mixture with the addition of anorganic sodium selenite, and in the feed mixture in the third group, soybean meal was replaced by defatted rapeseed meal. The duration of the experiment was 28 days and each rat received 30 g of the respective feed mixture per day. The animal used drinking water *ad libitum*. During the experiment were collected excrement. At the end of the experiment, the rats were killed and selected organs were collected. The objective of this work was to evaluate the accumulation of selenium in organs and their excretion with excrements. Determination of selenium in sampled organs was provided by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP MS, Agilent 7700x from Agilent Technologies, Inc., USA). The results show that a suitably chosen form of selenium in the diet leads to an increase in the accumulation of this element in individual organs. Furthermore, the results show that the largest accumulation of this element occurred during the intake of anorganic selenium and at the same time in the same group the largest amount of selenium was excreted. Conversely, when the mixture with defatted rapeseed meal as a source of selenium was ingested, the lowest amount of selenium received and at the same time the lowest amount of selenium excreted was recorded. The accumulated amount of selenium from defatted rapeseed meal was comparable to the amount of selenium received through soybean meal. The defatted rapeseed meal can be considered as a good source of selenium for livestock as well as that feed mixture with soybean meal as the main source of this essential element.

**Keyword:** selenium, dietary intake, accumulation, rat

## Obsah

<b>1. Úvod</b> .....	2
<b>2. Cíl práce a vědecká hypotéza</b> .....	3
<b>3. Přehled literatury</b> .....	4
<b>3.1. Selen</b> .....	4
<b>3.1.1. Historie a charakteristika selenu</b> .....	4
<b>3.1.2. Obsah selenu v půdě</b> .....	6
<b>3.1.3. Selen v rostlinách</b> .....	6
<b>3.1.4. Selen a živočichové</b> .....	7
<b>3.1.5. Zdroje selenu ve výživě zvířat a člověka</b> .....	8
<b>3.1.6. Hlavní formy selenu</b> .....	9
<b>3.1.7. Selenoproteiny</b> .....	11
<b>3.1.8. Účinky selenu na organismus</b> .....	12
<b>3.1.9. Interakce selenu s jinými prvky</b> .....	16
<b>3.1.10. Léčebné využití selenu</b> .....	17
<b>3.1.11. Selen v ČR</b> .....	18
<b>3.2. Potkan</b> .....	18
<b>3.2.1. Laboratorní využití potkana</b> .....	20
<b>3.2.3. Selen v organismu potkana</b> .....	21
<b>4. Materiál a metody</b> .....	22
<b>4.1. Schéma a průběh pokusu</b> .....	22
<b>4.2. Analytické metody</b> .....	22
<b>5. Výsledky</b> .....	24
<b>6. Diskuse</b> .....	31
<b>7. Seznam použité literatury</b> .....	36

## 1. Úvod

Selen je považován za esenciální prvek důležitý pro všechny živé organismy. Po objevení tohoto prvku roku 1817 byl dlouhou dobu považován za výhradně toxický. Až v roce 1957 bylo poukázáno na esencialitu tohoto prvku jako zásadního pro normální fungování živých organismů (Ošťádalová 2013; Hartikainen 2005, Francesconi & Pannier 2004).

Množství přijatého selenu závisí na jeho množství v půdě a chemické formě selenu dále je množství ovlivněno samotným konzumentem a koncentrací v potravinách. Obsah selenu v jednotlivých státech se liší, proto se tento prvek v půdách vyskytuje v různých koncentracích. Existují oblasti s vysokými hladinami selenu v půdě (Harayana v Indii, Wales a Irsko) (Čuvardić 2003), ale také oblasti s nízkými koncentracemi selenu v půdě (Kanada, jižní Amerika, některé západní a jižní části Austrálie, Nový Zéland nebo například Polsko) (Ošťádalová 2013). Proto se obsah selenu v různých dietách může značně lišit na základě geologického původu půdy, ze které pocházení suroviny potravin. V některých zemích světa tedy může docházet k deficitu selenu v organismu lidí i zvířat. V případě člověka jsou známé hlavně dvě onemocnění spojené s deficitem selenu v organismu. Jedná se o Keshanovu chorobu a Kashin-Beck syndrom (Kvíčala 2003a).

Vzhledem k faktu, že hlavním zdrojem selenu je půda, je zvýšení selenu v půdě klíčové pro celý potravinový řetězec. Pyrzynska (2009) uvádí, že území s deficitem selenu mohou obsah selenu v půdě navýšit pomocí aplikace hnojiv bohatá na selen. Dalším řešením je obohacování krmných směsí pro hospodářská zvířata a zvýšení tak hladiny selenu v jejich organismu. Nejčastější metodou zvýšení selenu ve stravě je přímé doplňování minerálními solemi nebo zařazení plodin bohatých na selen do krmné dávky hospodářských zvířat. Od devadesátých let je řepka olejka (*Brassica napus*) známá jako plodina s vynikající schopností akumulovat selen. Prvek se pak nachází v semenech této rostliny jako neolejnatá frakce. Při výrobě řepkového oleje zůstává selen v řepkovém šrotu jako neolejnatá frakce a řepkový šrot může být pak následně předkládán v krmné směsi hospodářským zvířatům. V našem experimentu byla využita krmná směs s řepkovým šrotem jako hlavním zdrojem selenu, krmná směs se sójovým šrotem jako zdrojem selenu a krmná směs obohacena o seleničitan sodný. Byla sledována schopnost selenu se ukládat do jednotlivých orgánů, množství selenu vyloučené exkrementy a hodnocena využitelnost selenu v jednotlivých formách.

Přestože selen patří do skupiny stopových prvků společně se železem, mědí, zinkem a manganem. Jeho obsah v orgánech experimentálních zvířat se výrazně lišil od obsahu ostatních esenciálních prvků. U obsahu selenu se jednalo o jednotky  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (Obr. 10), kdežto u ostatních zmíněných prvků se jednalo o obsahy na úrovni až tisíců jednotek  $\text{mg}/\text{kg}$ . Tyto zmíněné esenciální prvky jsou základními složkami enzymatických systémů, ovlivňují některá onemocnění, jako je například infarkt myokardu (Monedero-Prieto et al. 2014).

## **2. Cíl práce a vědecká hypotéza**

Cílem práce bylo sledování příjmu selenu organismem potkana, jeho distribuce do vybraných orgánů a také vylučování tohoto prvku ve výkalech. Dalším cílem pak bylo posoudit schopnost organismu potkana přijímat a akumulovat selen podávaný v anorganické formě a ve formě selenizovaného řepkového šrotu.

### **Hypotéza**

Vhodně zvolená forma a dávka selenu v dietě potkanů vede ke zvýšení akumulace tohoto prvku v jednotlivých orgánech, ale neovlivní příjem dalších esenciálních prvků.



### 3. Přehled literatury

#### 3.1. Selen

##### 3.1.1. Historie a charakteristika selenu

Selen, jakožto stopový prvek je zcela nezbytný pro živočichy včetně člověka (Kotyzová et al. 2010; Ošťádalová 2013). Jeho objev je datován roku 1817. Švédský chemik Jons Jacob Berzelius (Tingii 2003; Zarczyńska et al. 2013; Fordyce 2007), při svých pokusech se sirnými sloučeninami, izoloval tento prvek a dlouho jej považoval za výhradně toxický (Mehdi et al. 2013). Prvek nazval selen podle řecké bohyně měsíce „Selene“ (Tingii 2003; Zarczyńska et al. 2013).

Jedná se o stabilní prvek, který je obsažený v zemské kůře (Bankhofer 1996).

V periodické tabulce prvků (Obr. 1) můžeme nalézt selen ve skupině VI.A (Tingii 2003; Zarczyńska et al. 2013; Fajt et al. 2009; Greenwood & Earnshaw 1993) stejně jako například kyslík, síru nebo telur (Ošťádalová 2013). Vzhledem ke skutečnosti, že má selen některé vlastnosti kovu a jiné vlastnosti nekovového charakteru, označuje se jako metaloid (Tingii 2003; Zarczyńska et al. 2013). Relativní atomová hmotnost selenu je 78,96 g.mol<sup>-1</sup> a atomové číslo tohoto polokovu je 34 (Reilly 2006). Ošťádalová (2013) a také Francesconi & Pannier (2004) uvádí, že v mnoha ohledech je selen velmi podobný síře a ve sloučeninách se nachází v oxidačních číslech 0, -2, +4 a +6 (Fordyce 2007).

Ve 13. století, při svých cestách, popsal Marco Polo onemocnění koní, které bylo až mnohem později charakterizováno jako otrava selenem (Young et al. 1982). Za výhradně toxický byl selen považován až do roku 1957 (Kvíčala, 2003a). Na esencialitu tohoto základního stopového prvku, značného fyziologického významu u teplokrevných živočichů, poukázali roku 1957 Klaus Schwarz a Foltz (Ošťádalová 2013; Hartikainen 2005, Francesconi & Pannier 2004). Při pokusech na krysách byla zjištěna přítomnost selenu v tzv. faktoru 3, který zabraňuje u krys nekróze jater (Mistry et al. 2012; Velíšek 1999). V šedesátých letech byla u dvou epidemicky rozšířených onemocnění prokázána přímá interakce s nedostatkem selenu. Jedná se o Keshanovu chorobu a Kashin-Beck syndrom. Obě choroby se vyskytují hlavně v oblastech, ve kterých dochází k dlouhodobě nízkému příjmu selenu v potravě (Kvíčala 2003a). V nízkých koncentracích má proto selen význam jako živina esenciálního charakteru (Barceloux 1999).

V těle se selen nachází v množství zcela nepatrném a je přijímán denně v množství několika mg (Heczková 2009; Velíšek 1999). Jediným zdrojem selenu pro potravinový řetězec zvířat a člověka je půda (Ošťádalová 2013).

V roce 1973 byl objeven první enzym obsahující selen, jedná se o glutathionperoxidázu (Tomza-Marciniak et al. 2011, Barceloux 1999). Jedná se o enzym katalyzující redukci lipoperoxidů a peroxidů vodíku, které jsou tvořeny v průběhu metabolismu. Je to tedy

antioxidační enzym, který chrání struktury buněk před oxidačním poškozením volnými radikály (Barceloux 1999).

Selen se vyskytuje v prostředí v organické a anorganické formě (Bankhofer 1996; Fajt et al. 2009). Některé anorganické sloučeniny selenu, jako je například selan, jsou jedovaté. Toxicita závisí na chemické formě selenu, stavu organismu nebo také na interakcích s rizikovými prvky (Ošťádalová 2013). Organické sloučeniny selenu jsou ve srovnání s anorganickými sloučeninami účinnější (Ošťádalová 2013) a lépe vstřebatelné pro živočišný organismus (Fajt et al. 2009). Proto jsou organické formy selenu součástí proteinů a podílí se na řadě biochemických procesů (Barceloux 1999). Anorganické formy selenu jako je seleničitan nebo selenát, převládají v půdě a ve vodě, zatímco organické sloučeniny selenu jako je selenomethionin nebo selenocystein, převažují v rostlinách, mléce a jiných potravinách (Ošťádalová 2013). Bankhofer (1996) uvádí, že jako anorganickou formu přijmou selen rostliny, ve kterých se mění na formu organickou. Tak se selen stává upotřebitelný pro organismus lidí a zvířat. Po přijmutí organického selenu zvířaty se ukládá hlavně do vnitřních orgánů, například do jater nebo ledvin (Velíšek a Hajšlová 2009). Oproti tomu Schomburg et al. (2006) uvádějí, že nejvyšší prioritu s ohledem na hierarchii zásob selenu v organismu má štítná žláza.

The image shows a periodic table of elements. The element Selen (Se) is highlighted in blue. The table includes element symbols, names, atomic numbers, and atomic weights. The highlighted element is Selen (Se) with atomic number 34 and atomic weight 78.972. Other elements shown include Helium (He), Boron (B), Carbon (C), Nitrogen (N), Oxygen (O), Fluorine (F), Neon (Ne), Aluminum (Al), Silicon (Si), Phosphorus (P), Sulfur (S), Chlorine (Cl), Argon (Ar), Gallium (Ga), Germanium (Ge), Arsenic (As), Selenium (Se), Bromine (Br), Krypton (Kr), Indium (In), Tin (Sn), Antimony (Sb), Tellurium (Te), Iodine (I), Xenon (Xe), Thallium (Tl), Lead (Pb), Bismuth (Bi), Polonium (Po), Astatine (At), Radon (Rn), and several unknown elements (Uut, Fl, Uup, Lv, Uus, Uuo).

					8A 2 He Helium 4.003
13 IIIA 3A	14 IVA 4A	15 VA 5A	16 VIA 6A	17 VIIA 7A	18
5 B Boron 10.811	6 C Carbon 12.011	7 N Nitrogen 14.007	8 O Oxygen 15.999	9 F Fluorine 18.998	10 Ne Neon 20.180
13 Al Aluminum 26.982	14 Si Silicon 28.086	15 P Phosphorus 30.974	16 S Sulfur 32.066	17 Cl Chlorine 35.453	18 Ar Argon 39.948
31 Ga Gallium 69.732	32 Ge Germanium 72.61	33 As Arsenic 74.922	34 Se Selenium 78.972	35 Br Bromine 79.904	36 Kr Krypton 84.80
49 In Indium 114.818	50 Sn Tin 118.71	51 Sb Antimony 121.760	52 Te Tellurium 127.6	53 I Iodine 126.904	54 Xe Xenon 131.29
81 Tl Thallium 204.383	82 Pb Lead 207.2	83 Bi Bismuth 208.980	84 Po Polonium [208.982]	85 At Astatine 209.987	86 Rn Radon 222.018
113 Uut Ununtrium unknown	114 Fl Flerovium [289]	115 Uup Ununpentium unknown	116 Lv Livermorium [298]	117 Uus Ununseptium unknown	118 Uuo Ununoctium unknown

Obr. 1 Selen v periodické tabulce prvků

(<https://periodictablepro.com/>)

### 3.1.2. Obsah selenu v půdě

Příjem selenu ve stravě odráží obsah selenu v geosféře a značně se liší mezi zeměmi a regiony (Kotyzová 2010). Také Kieliszek & Błazejak (2013) i Ošťádalová (2013) uvádějí, že selen se v zemské kůře vyskytuje ve velmi rozdílných koncentracích. Proto se obsah selenu v půdě v jednotlivých státech liší. Jsou známé oblasti s extrémně vysokými nebo normálními koncentracemi selenu, ale také oblasti s deficitem tohoto prvku. Mezi oblasti s nízkým obsahem selenu v půdách se řadí východní a západní části USA, Kanada, jižní Amerika, některé západní a jižní části Austrálie, Nový Zéland nebo například Polsko (Ošťádalová 2013) oproti tomu například oblast Harayana v Indii, Wales a Irsko představují území s vysokými hladinami selenu v půdě (Čuvardić 2003). Thiry et al. (2012) ale uvádí, že v Evropě je koncentrace selenu celkově nižší než například v USA. Zemí, ve které najdeme velké kontrasty v obsazích selenu v půdě je Čína. Například čínské město Suzhou představuje oblast, ve které je mírný deficit selenu v půdě. Oproti tomu v čínském městě Shadi je koncentrace selenu extrémně vysoká (Ošťádalová 2013). Pyrzyńska (2009) dodává, že území s deficitem selenu mohou obsah selenu v půdě navýšit pomocí aplikace hnojiv bohatá na selen.

Průměrně se koncentrace selenu v půdách pohybuje v rozmezí 0,1- 0,7 mg/kg. Obsah selenu je závislý na typu půdy, půdní reakci, srážkách nebo hnojení (Mehdi et al. 2013). Základními sloučeninami selenu v půdě jsou seleničitan a selenan. Seleničitan je sloučenina selenu s nízkou rozpustností, která se vyskytuje hlavně v kyselých půdách. Pokud je půda spíše alkalického charakteru, seleničitany oxidují na selenany. Selenan je více rozpustný i dostupný rostlinám. Seleničitany i selenany jsou metabolizovány v chloroplastech a zabudovány do molekuly methioninu. Tak vzniká selenomethionin, hlavní forma selenu v rostlinách (Stadlober et al. 2001).

### 3.1.3. Selen v rostlinách

Selen akumulovaný v rostlinách slouží jako hlavní zdroj selenu pro zvířata a člověka (Zhu et al. 2009). Zároveň je obsah selenu v rostlinách ovlivněn množstvím selenu v půdách, ve kterých rostlina roste (Navarro-Alarcon & Cabrera-Vique 2008). Schopnost rostlin akumulovat selen je druhově velmi rozmanitá, což se odráží na zdravotním stavu zvířat i lidí (Fordyce 2007). Některé rostliny jsou schopny z půdy čerpat nadměrné množství selenu, které následně dovedou přeměnit na těkavé sloučeniny, které se z rostlin vypaří. Tento detoxikační proces se nazývá fytovolatilizace (Dumont et al. 2006).

Sager (2006) uvádí, že zelené rostliny mnohem lépe přijímají selen ve formě selenanu oproti seleničitanu. Proto také selenem obohacená hnojiva rostlin jsou obohacena právě selenanovou formou selenu. Listy a semena rostlin přijímají selen mnohem lépe a častěji nežli stonky s kořeny. Ve většině rostlin se selen nachází ve formě selenomethioninu (Fajt et al. 2009). Bañuelos & Mayland (2000) prokázali, že rostlinné druhy, které vyžadují pro svou prosperitu vysoké koncentrace síry, jako jsou brukvovité rostliny, budou také akumulovat

vysoké dávky selenu při pěstování v půdách bohatých na selen. Tyto rostliny by mohly být kultivovány, sklizeny a dále využívány jako rostlinný materiál obohacený o selen.

#### **3.1.4. Selen a živočichové**

Selen je pro zvířata esenciálním prvkem, avšak pouze ve velmi malém množství (Brozmanová et al. 2010). Do těla živočichů se selen dostává potravou. Hlavní biologickou formu selenu v proteinech a enzymech živých organismů, představuje selenocystein (Barceloux 1999). Stejně jako u lidí je i pro zvířata dostupnější organická forma selenu oproti anorganické. Organická forma se navíc značí vyšší využitelností, proto je ve všech orgánech a tkáních vyšší obsah organicky vázaného selenu (Fajt et al. 2009). Fairweather-Tait et al. (2010) uvádí, že pokud je selen do organismu přijímán v organické formě jako selenomethionin, který dobře syntetizují rostliny, nebo selenocystein, vytvářený v živočišných tkáních, je vstřebatelný téměř na 100 %. Oproti tomu anorganické formy selenu jsou vstřebatelné jen zhruba z 50 %. Největší množství selenu se ukládá do ledvin, jater, sleziny, varlat, srdečního svalu a mozku (Dumont et al. 2006; Pavlata et al. 2002). Anorganická forma selenu se vylučuje převážně močí na rozdíl od organické formy, které se vylučuje hlavně výkaly (Fajt et al. 2009).

Chovatelé zvířat, kteří chtějí zajistit adekvátní přísun selenu svým hospodářským zvířatům, mají k dispozici celou řadu technik, které zahrnují podávání selenu injekčně nebo jeho začleněním jako doplněk stravy. Například chovatelé hospodářských zvířat na Novém Zélandu často používají bolusy s obsahem až 10 % elementárního selenu, které mohou v bachoru skotu působit i několik let. Malé množství selenu se může přidat také k hnojivům používaným na pastvinách, což má za následek dočasné zvýšení koncentrace selenu v krvi ovcí které se na těchto pastvinách pasou (Bañuelos & Mayland 2000). Přídavek selenu do krmné dávky prasnic ve výši 0,3 mg/kg krmné směsi (Bañuelos & Mayland 2000) vedl ke zvýšení obsahu selenu v kolostru a mléce prasnic. To příznivě ovlivňuje růst a vývoj selat. Obsah selenu v krvi a tkáních selat je vyšší, pokud se prasnicím přidává do krmné dávky selen organicky vázaný (Fajt et al. 2009). Množství absorbovaného selenu se může u jednotlivých kusů zvířat lišit z několika důvodů. Jedná se například o druh zvířete, množství a koncentraci přijímaného selenu nebo množství krmné dávky (Bañuelos & Mayland 2000). U volně žijících živočichů dochází patrně k adaptaci na vyšší koncentraci selenu v krmivu (Sager 2006).

S ohledem na stoupající zájem chovatelů o chov zájmových zvířat se studie příjmu selenu zaměřují i na tato zvířata. Selen je základním stopovým prvkem také u psů. Podílí se na mnoha aspektech fyziologie jako je již zmiňovaná antioxidační ochrana, metabolismus hormonů štítné žlázy nebo například imunitní funkce organismu. Ačkoli se u psů běžně nevyskytují případy nedostatku či toxicity selenu, je neadekvátní stav selenu v organismu psů také spojen s nepříznivými účinky na jejich zdraví (Van Zelst et al. 2016). Obsahy Se u koček jsou obvykle vyšší ve srovnání se psy i dalšími druhy savců (Foster et al. 2001).

### 3.1.5. Zdroje selenu ve výživě zvířat a člověka

V rostlinných i živočišných produktech je obsah selenu ovlivněn jeho koncentrací v půdě a jeho biologickou dostupností (Huang et al. 2013). Obsah selenu v organismu zvířat je závislý na výživě zvířete. V závislosti na druhu potravin se absorbuje do organismu zhruba 80 % selenu obsaženého v potravě (Navarro-Alarcon & Cabrera-Vique 2008). Případný nedostatek selenu může být navýšen prostřednictvím selenových preparátů. Pro člověka představují živočišné produkty cennější zdroj selenu než produkty rostlinného původu (Tab. 1), a to zejména z důvodu vysokého obsahu bílkovin. V organismu je selen transportován do orgánů a buněk. Játra a ledviny obsahují až čtyřikrát vyšší množství selenu oproti svalům a jiným tkáním (Dunne & Kirschmann 1990; Heczková, 2009). Selen dobře přechází placentární bariérou z matky na plod i mateřským mlékem do organismu kojenců (Ošťádalová 2013).

Vzhledem k tomu, že je selen obsažen v mořské vodě, také mořské ryby kumulují tento stopový prvek (Schomburg et al. 2006). Dunne & Kirschmann (1990) také uvádí ryby jako významný zdroj selenu. Obsah selenu v rybách a korýších je do 1 mg/kg. V mase se obsah selenu pohybuje v rozmezí od 0,1 do 0,4 mg/kg (Velíšek 1999).

Thiry et al. (2012) uvádějí, že obsah selenu v rostlinách je mnohem nižší ve srovnání s živočišnými tkáněmi, avšak některé druhy rostlin, například česnek nebo brukev, jsou schopny akumulovat selen (Ošťádalová 2013) v mnohem vyšším množství. Ze všech potravin, nejvyšší zdroj selenu představují para ořechy s obsahem více než 5 mg/kg (Müllerová 2003). Zelenina obsahuje méně než 0,01 mg Se/kg (Thiry et al. 2012). Nejvíce selenu obsahuje mrkev, petržel, celer, špenát, česnek nebo hrášek (Müllerová 2003). U obilovin záleží na stupni vymílání. Nejvíce selenu obsahují obalové vrstvy zrna. Při zpracování obilí dochází ke ztrátám selenu, například mletím pšeničných zrn dochází až k 50% ztrátám selenu. Během vaření může dojít ke snížení obsahu selenu v potravinách o 10 až 30 % (Agerbo & Andersen 1997). Selenem obohacené kvasnice představují zdroj selenu, který může být využit jako potravinový doplněk. Takové kvasnice se mohou chovat jako prekurzor k syntéze selenoproteinů (Infante et al. 2005).

Tab. 1: Obsah selenu ve vybraných potravinách v České republice  
(Velíšek, 1999)

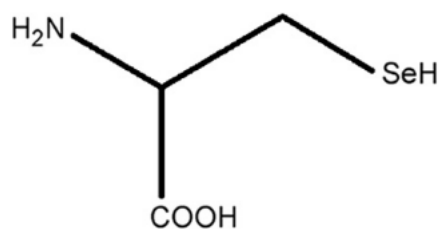
	mg/kg		mg/kg
Hovězí maso	0,02	Vaječný žloutek	0,53
Kuřecí maso	0,07 – 0,11	Pšeničná mouka	0,016
Vepřová játra	0,09 – 0,34	Hrách	0,02
Hovězí játra	0,02- 0,14	Fazole	0,09
<b>Vepřové ledviny</b>	<b>0,97 – 1,84</b>	zelí	0,003
<b>Hovězí ledviny</b>	<b>0,20 – 1,02</b>	Květák	0,005
ryby	0,05 – 0,38	Cibule	0,003
Plnotučné mléko	0,003	Česnek	0,03 – 0,14
Slepičí vejce	0,18 – 0,24	Brambory	0,003 – 0,018
Vaječný bílek	0,06	jablka	0,001 – 0,003

### 3.1.6. Hlavní formy selenu

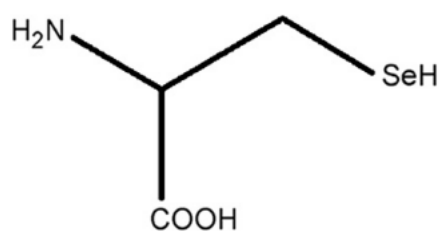
V rostlinných i živočišných tkáních můžeme identifikovat několik forem selenu. Hlavními zástupci sloučenin tohoto prvku, nacházejících se u rostlin i živočichů jsou například selenany, selenocystein, seleničitany nebo selenomethionin (Navarro-Alarcon & Cabrera-Vique 2008). Přehled nejčastějších forem Se prezentuje Tabulka 2. Selen se může výjimečně vyskytovat rovněž jako volný, ale častěji se nachází právě ve formě selenidů s železem, olovem, stříbrem nebo mědí (Kadlecová 2015).

Tab. 2: Nejčastější formy selenu  
(Kieliszek & Błażej 2013)

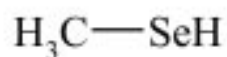
Anorganické formy	Organické formy	Aminokyseliny	Ostatní sloučeniny
Elementární selen	Methylselenol (Obr. 5)	Selenomethionin (Obr. 4)	Selenopeptidy
Selenan	Dimethylselenid	Selenocystin	Selenoproteiny
Seleničitan	Dimethyldiselenid	Selenocystein (Obr.3)	Selenoenzymy
Hydrogen selenid	Trimethylseleniový kation	Selenocysteinová kyselina	Selenocukry
	Dimethylselenon	Selenohomocystein	
	Dimethylselenoxid	Selenocholin	
	Selenomočovina	Selenobetain	
	Dimethylselenosulfid	Selenoglutathion	



Obr. 3: Selenocystein  
(Kieliszek & Błażej 2013)



Obr. 4: Selenomethionin  
(Kieliszek & Błażej 2013)



Obr. 5: Methylselenol  
(Francesconi & Pannier 2004)

V půdě se selen vyskytuje nejčastěji jako seleničitanová nebo selenanová forma, méně častěji je v půdě selen k nalezení jako elementární selen nebo selenid (WHO 1996). Mezi nejdůležitější organické formy selenu pro živé organismy patří selenocystein, methylselenocystein, selenomethionin, methylselenomethionin, selenocystin, selenocholin, selenobetain, selenomočovina (Frączek & Pasternak 2013).

### 3.1.7. Selenoproteiny

V těle se selen nikdy nenachází jako samostatný prvek. Vždy je začleněn do selenoproteinů. V živočišných tkáních je selen obsažen v selenoproteinech, které obsahují aminokyselinu selenocystein. Rozdíl nastává u rostlin, kde aminokyselina selenomethionin nahradí selenocystein v luštěninách, obilných zrnech a kvasnicích a Se-methyl selenocystein nalezneme v česneku, cibuli, brokolici nebo například pórků (Navarro-Alarcon & Cabrera-Vique, 2008).

V současné době je známo přibližně 18 selenoproteinů obsahujících selenocystein, jejichž funkce jsou blíže specifikovány. U dalších zhruba 30 selenoproteinů nebyly blíže specifikovány funkce ani reakční mechanismy (Kvíčala 2003a; Velíšek 1999). Základními fyziologickými úlohami některých selenoproteinů je zajištění vhodného metabolismu kyseliny arachidonové, udržení nízkých hladin volných radikálů v buňkách a tím snížení oxidativního stresu a peroxidace lipidů (Rozbicka-Wieczorek 2016).

Mezi nejdůležitější selenoproteiny patří glutathionperoxidázy, thioredoxin reduktázy (Erkekoglu et al. 2015), selenoprotein P, selenoprotein W, jodthyronindejodázy, 18 kDa selenoprotein, 15 kDa selenoprotein a selenofosfátsyntetáza (Kvíčala 2003a). Glutathionperoxidáza (GPx) je klíčovým antioxidačním enzymem (Monedero-Prieto et al. 2014). Mezi funkce glutathionperoxidáz patří ochrana buněk a organismu před oxidačním poškozením. Z toho vyplývá ochrana před nemocemi a poruchami typu bakteriálních a virových nákaz, dále ochrana před svalovou dystrofií, artropatií, tvorbou arteriálních plátů či malignity (Kvíčala 1999). Nejvyšší aktivita glutathionperoxidáz byla zjištěna v játrech, krvi a v plicích, naopak nejnižší aktivitou se jevil mozek a oční čočky (Frączek & Pasternak 2013). Je známo několik forem glutathionperoxidáz. V cytoplasmě buněk se nachází cytosolová glutathionperoxidáza, intracelulární glutathionperoxidáza v krevní plazmě, fosfolipidová glutathionperoxidáza v buněčné membráně, gastrointestinální peroxidáza v trávicí trubici nebo například spermatální glutathionperoxidáza se nachází v jádru spermie (Kvíčala 2004).



Mezi funkce thioredoxin reduktáz patří regulace aktivity enzymů a také působení proti oxidačnímu stresu (Holeček 2010).

Byly popsány tři jodtyronin-dejodázy (Ošťádalová 2013), které mohou vytvářet a rozkládat hormon trijodtyronin. Vyskytují se ve třech formách. Dejodáza I se vyskytuje v játrech, ledvinách a svalech. Dejodáza II se nachází v mozku a nadledvinkách. Dejodáza III se vyskytuje téměř ve všech buňkách (Kvíčala 2003b).

Hlavní extracelulární selenoprotein vyskytující se v krevní plazmě je selenoprotein P (Kvíčala 2004; Rayman 2009; Sager 2006). Raymann (2009) uvádí, že selenoprotein P pravděpodobně zodpovídá za transport selenu do tělesných tkání. Také podle Rýdlové (2018) je tento selenoprotein syntetizován v játrech a dopravuje selen do mozku. Fuchs (1996) dodává, že selenoprotein P chrání jaterní buňky před oxidačním poškozením.

Selenoprotein W, jeden z nejmladších objevených selenoproteinů se nachází ve svalech, srdci, mozku (Frączek & Pasternak 2013), slezině a varlatech. K jeho nálezu došlo ve svalovině potkanů (Zarczyńska et al. 2013). Podle Kratochvílové (2014) není jeho funkce zatím zcela známá. Kvíčala (2003a) uvádí, že pravděpodobně přispívá správnému průběhu metabolismu srdečního svalu. A Zarczyńska et al. (2013) uvádějí, že ochranou myoblastů proti oxidačnímu stresu se selenoprotein W podílí na vývoji svalů. 15 kDa selenoprotein vyskytující se v endoplazmatickém retikulu je nezbytný pro eliminaci buněk zhoubného onemocnění (Raymann 2009).

### **3.1.8. Účinky selenu na organismus**

Ideální množství selenu v těle člověka se pohybuje v rozmezí od 10 do 20 mg a zhruba polovina z tohoto množství se nachází v kosterních svalech. Nejvyšší relativní koncentrací selenu se ovšem vyznačují orgány. Jedná se zejména o ledviny, játra a varlata (Navarro-Alarcon & Cabrera-Vique 2008). Selen se jako součást několika enzymů aktivně podílí na antioxidačních obranných systémech a metabolismu štítné žlázy (Kotyzová 2010; Tomza-Marciniak et al. 2011). Také Navarro – Alarcon & Cabrera – Vique (2008) uvádějí, že selen společně s vitamínem E mají schopnost antioxidační ochrany buněčných struktur, uplatní se v metabolismu hormonů štítné žlázy a podílí se na inaktivaci a odstranění některých těžkých kovů jako je rtuť, kadmium nebo olovo z organismu. Dále se selen uplatní jako ochranná látka při kardiovaskulárních, virových, nádorových, zánětlivých a neurodegenerativních onemocněních (Heczková 2009; Velíšek 1999). Pozitivně působí také na imunitu a reprodukční schopnosti člověka. Představuje antioxidační ochranu před volnými radikály. Sloučeniny selenu regulují také metabolické procesy, jako je glykolýza a glukoneogeneze, ovlivňováním aktivity klíčových enzymů, které se těchto procesů účastní (Navarro – Alarcon & Cabrera – Vique 2008; Tomza-Marciniak et al. 2011).

Kromě toho hraje selen důležitou roli při neutralizaci a odstraňování různých toxických látek z těla. Četné studie prokázaly antagonistické účinky selenu vůči těžkým kovům, jako je kadmium, rtuť, olovo, zinek, měď a také arsen. Selen může narušit jejich absorpci nebo působení. Ochranným mechanismem tohoto prvku je hlavně to, že tvoří neutrální komplex s

těmito kovy. Interakce s kovy obvykle vede ke snížení toxicity, kratšímu poločasu rozpadu a nižší koncentrací selenu v cílovém orgánu (Tomza-Marciniak et al. 2011). Chiba et al. (1985) pozorovali, že když byly selen, rtuť a cín podávány jednotlivě a ve vysokých dávkách, měly všechny tři prvky toxický účinek, ale když byly rtuť nebo cín podávány společně se selenem, toxický účinek těchto prvků byl snížen.

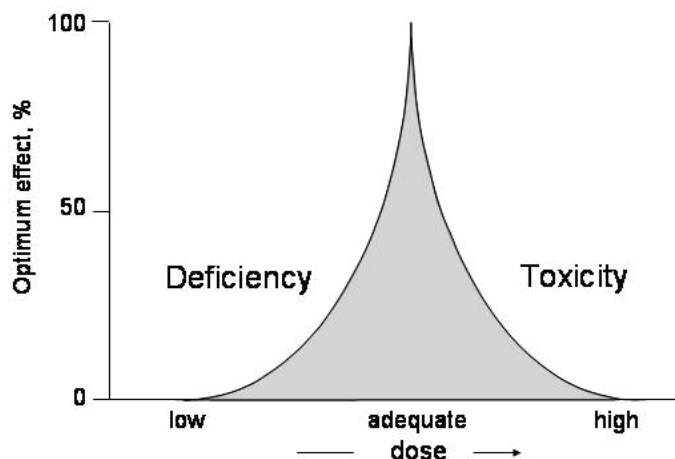
### **3.1.8.1. Nedostatek selenu v organismu**

Příznivý účinek selenu je vyjádřen ve velmi úzkém rozmezí dávek. Vysoké i nízké dávky selenu jsou spojeny s patologickými projevy (Hartikainen 2005). Na obr. 2 můžeme vidět, že účinky selenu jsou závislé na množství selenu v organismu (Ošťádalová 2013). Nejvyšší spotřebou selenu se vyznačují buňky imunitního systému společně s krevními destičkami a červenými krvinkami (Navarro-Alarcon & Cabrera-Vique 2008). U člověka byl nízký stav selenu spojen s rizikem kardiovaskulárních onemocnění, zhoršenou imunitní odpovědí, vyšším rizikem úmrtnosti na rakovinu (Kotyzová 2010), hypotyreózou, extrémní únavou, mentálním zpomalením, kretenismem a s opakovanými potraty (Střítecká et al. 2009; Zarczyńska et al. 2013).

Keshanova choroba a Kashin-Beck syndrom (Hartikainen 2005) patří mezi onemocnění, které způsobuje nedostatek selenu. Keshanova choroba, objevující se zejména u dětí a těhotných žen byla popsána v roce 1935. Choroba se vyskytuje v oblastech s nedostatkem selenu jako jsou například určité horské oblasti Číny. Keshanova choroba je potenciálně fatální forma dilatační kardiomyopatie (Ošťádalová 2013; Hartikainen 2005), mezi jejíž projevy patří otoky plic a obličeje, srdeční poruchy s následujícím srdečním selháním (Bankhofer 1996; Zadák 2002; Zhang et al. 2012). Patologické, biochemické i klinické studie Keshanovy choroby ukázaly zvětšení srdečních mitochondrií spolu s výrazným snížením aktivity oxidativní fosforylace (Ošťádalová 2013). Yang (2006) uvádí, že na základě těchto výsledků se mělo za to, že Keshanova choroba může být klasifikována jako „mitochondriální kardiomyopatie“ endemická v Číně.

Dalším syndromem nedostatku selenu u lidí je onemocnění Kashin-Beck (Ošťádalová 2013; Hartikainen 2005). Toto onemocnění je vyvoláno nedostatkem selenu spolu s nedostatkem jódu a vede k atrofii, degeneraci a nekróze chrupavčitých tkání (Moreno-Reyes et al. 1998). Také Bankhofer (1996), Zadák (2002) a Zhang et al. (2012) uvádí, že Kashin-Beck syndrom je endemická osteoartritida, projevující se jako nekróza chrupavek. U dětí se tento syndrom projevuje malým vzrůstem a celkovými deformacemi postavy (Hartikainen 2005).

Balch et al. (1998) uvádějí, že nedostatek selenu je mimo jiné spojován s vyčerpáním organismu, rakovinou, srdečními potížemi, poruchami růstu, infekcemi, poruchami jater, poruchami funkce slinivky břišní a neplodností. Dunne & Kirschmann (1990) pak zjistili, že selen zajišťuje pružnost tkání a jeho nedostatek může tedy vést k předčasnému stárnutí. Podle Frączeka & Pasternaka (2013) nízká hladina selenu také napomáhá vzniku Alzheimerovy choroby. Především z důvodu působení škodlivých volných radikálů na mitochondrie. Nedostatek selenu pak obecně zvyšuje citlivost na virové infekce (Ošťádalová 2013).



Obr. 2: Biologické účinky selenu závislé na dávce  
(Ošťádalová 2013)

Podobné účinky můžeme zaznamenat u domácích i volně žijících zvířat. U mnoha onemocnění hospodářských zvířat v některých částech světa se zjistilo, že za jejich propuknutím stojí nedostatečné množství selenu v organismu nemocných jedinců. Při zkrmování kukuřice, sóji a obilnin pocházejících z půd o nízké koncentraci selenu může u prasat dojít v propuknutí VESD syndromu, který vzniká při společném nedostatku selenu a vitamínu E. Nejčastějším příznakem VESD syndromu je tak zvaná nemoc morušovitého srdce (Fajt et al. 2009). Toto onemocnění postihuje především prasata v intenzivním výkrmu. Akutní forma onemocnění se projevuje náhlými úhyny bez příznaků. Subakutní průběh se projevuje dyspnoí, cyanózou, ulehnutím a zrychlenou srdeční činností. Na endokardu a epikardu dochází k výskytu krvácenin a epikard se navíc stává hrbolatý. Také dochází ke zvětšení a skvrnitosti jater (Fajt et al. 2009).

U savčích samců je také plodnost ovlivňována aktivitou glutathionperoxidázy ve varlatech. Glutathionperoxidáza ve varlatech chrání spermie před negativními účinky reaktivních forem kyslíku a jakákoli mutace, která může ovlivnit tvorbu glutathionperoxidáz, může vést k nedostatečné ochraně spermií a sterilitě (Fajt et al. 2009). Deficit selenu stojí také za propuknutím nemoci bílé svaloviny (Zarczyńska et al. 2013; Hartikainen 2005). Jedná se o svalovou dystrofii (Kvíčala 2008). Toto onemocnění bylo pozorováno především u skotu a ovcí a to zejména v Austrálii a Novém Zélandu. Příznaky tohoto onemocnění jsou hůře detekovatelné a obvykle spojené se snížením růstu a produkce (Zarczyńska et al. 2013). Kvíčala (2008) uvádí jako projevy tohoto onemocnění ztrátu chuti k jídlu, zpomalený růst, sníženou plodnost, poruchy reprodukce a náhlé srdeční selhání, po kterém následuje smrt. Nemoc bílých svalů postihuje nejčastěji prasata, skot, ovce a koně. U koní může nedostatek selenu způsobit snížení odolnosti vůči infekcím, neplodnost klisen a zpomalený růst hříbat (Ludvíková et al. 2005).

Bañuelos & Mayland (2000) dodávají, že u zvířat bývá obecně větším problémem selenový deficit než toxicita tímto prvkem. Schrauzer (2009) uvádí, že účinek selenu jako

ochrana proti rakovině je výrazně oslaben u zvířat, která jsou chronicky vystavena nízkým hladinám selenu.

### 3.1.8.2. Nadbytek selenu v organismu

Celkový obsah selenu v organismu ovlivňuje nejen jeho množství v půdě, může být také ovlivněn potravinovým složením, chemickou formou selenu nebo také samotným konzumentem (Halamíčková et al. 2009). Rozhodující jsou také například vrozené vlastnosti, fyziologický stav, pohlaví, nutriční stav, přísun jiných stopových prvků a průvodní účinky jiných současně působících faktorů prostředí (Ošťádalová 2013).

Nadměrná dávka selenu vyvolává toxicitu jak u lidí, tak u zvířat (Ošťádalová 2013). Také Holeček (2010) uvádí, že nadbytek selenu způsobuje otravy organismu, které se nazývají selenózy. Dochází k nim v oblastech s vysokým obsahem selenu v půdě. Denní příjem 1 miligramu anorganicky vázaného selenu a denní příjem 5 miligramu organicky vázaného selenu představují toxickou dávku. Mezi projevy selenózy se zařazují křehké a lámavé nehty, ztráta vlasů, deprese, únava, nervozita, záněty kloubů, kazivost zubů nebo například trávicí poruchy spojené se zvracením. První příznaky nadměrného příjmu selenu je mohou projevit zhruba za 3 až 4 dny (Balch et al. 1998; Heczková 2009; Velíšek 1999; Zadák 2002). Dunne & Kirschmann (1990) uvádějí horečku, cirhózu jater nebo žloutenku jako hlavní příznaky těžkého předávkování selenem. Těžké předávkování selenem může být až letální. Ošťádalová (2013) dodává, že akutní intoxikace člověka je vzácná a je téměř vždy smrtelná. Francesconi & Pannier (2004) uvádějí, že se selen z těla vylučuje primárně močí, sekundárně pak stolicí nebo kůží. Pokud je v těle nízká koncentrace selenu, sníží se i jeho vylučované množství (Navarro-Alarcon & Cabrera-Vique 2008).

Doporučované množství selenu v krmné směsi hospodářských zvířat je 0,3 mg/kg krmné směsi. Pokud je dlouhodobě podáváno vyšší než doporučované množství selenu, může to mít negativní dopad na zdraví zvířat (Fajt et al. 2009). Při příjmech vyšších než 500 µg/den dochází ke změnám na kůži, albinismu, ztrátě srsti a k prasklinám kopyt či paspárků. Při příjmu vyšším než 1500 µm/den dochází k poruchám gastrointestinálního traktu, nervové soustavy a smrti (Kvíčala 2008).

Selenóza prasat se projevuje akutní a chronickou formou. Akutní formu doprovází respirační poruchy, ataxie, průjem či úhyn. Pokud se nadměrné množství selenu podává dlouhodoběji, jedná se o formu chronickou. Chronická forma se projevuje sníženým příjmem krmiva, zpomalením růstu, vypadáváním štětín, vyzutím paspárků, cirhózou jater nebo anémií. Navíc dlouhodobé zkrmování vyššího množství anorganického selenu vede ke snížení procenta zabřezávání prasniček, nižšímu počtu narozených selat a k nižší porodní hmotnosti (Fajt et al. 2009).

Vysoké příjmy selenu v průběhu březosti měly za následek aborty u prasat, myši či potkanů (Střítecká et al. 2009; Zarczyńska et al. 2013), menší vzrůst narozených mláďat a malformace (Sager 2006). Nedávné studie ukázaly, že diety s organickými sloučeninami selenu, jako jsou vysoce selenizované kvasinky nebo anorganické selenové sloučeniny, jako je

selenan, mění obsah a zastoupení mastných kyselin v živočišných tkáních (Rozbicka-Wieczorek et al. 2016).

Požítí rostliny s vysokým obsahem selenu může u koní vést k alkalické chorobě. Jedná se o chronickou otravu tímto prvkem mezi jejíž projevy se řadí poruchy gastrointestinálního traktu, změny na žíních, zarudnutí kůže, měknutí kopyt nebo neurologické poruchy jako je například ztráta schopnosti cítit bolest (Zarczyńska et al. 2013).

#### **3.1.4. Interakce selenu s jinými prvky**

Selen vstupuje do interakcí s řadou dalších prvků (Ošťádalová et al. 1978). Ukázalo se například, že podávání selenu zabraňuje zcela toxickému účinku rtuti, a naopak jediná dávka chloridu rtuťnatého zastavila smrtelný účinek selenu. Ochranný účinek však není spojen se zvýšeným vylučováním, ale se zvýšenou retencí rtuti a selenu v organismu, a tedy s poklesem vylučování obou prvků. Podobná léčba březích samic potkanů snižuje přenos těchto elementů do organismu plodu a analogické léčení samic potkanů snižuje obsah těchto prvků v mléce a jejich přenos do organismu sajících mláďat. Lze předpokládat, že selen a těžké kovy jako je například rtuť, tvoří komplex nebo mohou soutěžit o vazebná místa proteinů nebo jiných sloučenin.

Podobné interakce byly pozorovány také mezi selenem a kadmíem (Ošťádalová 2013). Je známo, že toxicita kadmia může být mimo jiné výsledkem metabolických poruch stopových prvků jako je zinek nebo selen. Na druhé straně je prokázáno, že zinek a selen mohou mít, během působení kadmia na organismus, příznivý účinek proti oxidačnímu stresu vyvolaným kadmíem. Toxicita kadmia nejvíce postihuje játra, ve kterých dochází k patologickým a morfologickým změnám v důsledku účinku kadmia. Zinek je nezbytný pro různé fyziologické funkce v živých organismech a ovlivňuje aktivitu více než 300 enzymů. Hladiny zinku v několika tkáních potkanů s deficitem selenu jsou sníženy v porovnání s tkáněmi potkanů s normální hladinou selenu v organismu. Hladiny zinku mohou také záviset na věku potkana (Matsumoto et al. 2009). Některé studie zkoumající toxicitu kadmia a ochranné účinky selenu a zinku zjistili, že selen a zinek mohou snížit hepatotoxicitu vyvolanou kadmíem (Jihen et al. 2009).

Yu & Beynen (2001) uvádí studii na potkanech, kterým byla v různém množství podávána měď a selen. Vyšší příjem mědi (42 mg Cu/kg stravy) snížil absorpci selenu ve střevě a zvýšil vylučování selenu močí. Zvýšení koncentrace mědi v potravě zvýšilo koncentraci selenu v játrech a ledvinách, ale ve slezině potkanů došlo k poklesu koncentrace selenu. Účinky mědi na absorpci, vylučování a retenci selenu nebyly pozorovány u potkanů krmených dietou s vysokým obsahem selenu (1 mg/kg stravy). U potkanů, kterým byla podávána strava s nízkou (0,03 mg/kg stravy) nebo střední koncentrací selenu (0,05 mg/kg stravy), neměl příjem mědi žádný vliv na koncentraci selenu v orgánech. Deficit mědi u potkanů se spojený s nízkou aktivitou glutathionperoxidázy a s nezměněnými hladinami selenu v játrech. Toxický účinek vysokého příjmu selenu u kuřat, o čemž svědčí zpomalení růstu a zvýšená úmrtnost, by mohl být částečně zmírněn zvýšením obsahu mědi ve stravě.

Selen sdílí svou antioxidační roli s dalšími stopovými prvky, jako je měď, zinek a mangan. Tyto tři prvky jsou klíčovými faktory při aktivaci dalšího důležitého antioxidačního obranného mechanismu, konkrétně superoxiddismutáz (SOD), které transformují vysoce reaktivní aniony superoxidu na méně toxickou sloučeninu, peroxid vodíku. Proto systémy glutathionperoxidázy a superoxiddismutázy pracují společně na neutralizaci toxických kyslíkových látek. Je možné, že mezi těmito dvěma enzymatickými systémy existuje rovnováha, takže nadměrná nebo deficitní koncentrace každého ze zmíněných stopových prvků může být doprovázena změnami metabolismu dalších stopových prvků s antioxidačními vlastnostmi. Přidání selenu vede také ke zvýšenému vylučování mědi a také ke snížení mědi v játrech, ale zároveň dochází ke zvýšení obsahu mědi ve svalech. Zdá se tedy, že selen vede k redistribuci mědi v organismu (Monedero-Prieto et al. 2014).

Selen také vykazoval trend ke zvýšení obsahu železa v játrech (Giray et al. 2003). Přetížení organismu železem způsobené selenem je škodlivé v důsledku zvýšení oxidačního poškození způsobeného akumulací železa (Monedero-Prieto et al. 2014). Matsumoto et al. (2009) uvádí, že hladiny železa v orgánech jsou také ovlivněny stářím organismu. Suplementace selenem způsobila snížení obsahu manganu v játrech ačkoli hlavním důvodem poklesu obsahu manganu bylo způsobeno podvýživou, nikoli samotným selenem. Je dobře známo, že podvýživa vyvolává vyčerpání manganu jak u lidí, tak u experimentálních zvířat (Monedero-Prieto et al. 2014).

### **3.1.10. Léčebné využití selenu**

Prostřednictvím svých oxidačních a redukčních vlastností se selen podílí na udržování homeostázy buněk. Typickým příkladem je možná ochrana kardiovaskulárního systému. Selen snižuje počet arytmií, snižuje množství a rozsah infarktů a přispívá rychlejšímu zotavení po ischemickém poškození. Suplementace selenu tak může zvýšit odolnost srdce vůči ischemickému poškození (Ošťádalová 2013).

Brozmanová et al. (2010), Fajt et al. (2009) a také Kvíčala et al. (2008) uvádí, že zvýšená hladina selenu s vitamínem E mají za následek snížení výskytu onkologických onemocnění, naopak při nižší hladině selenu a enzymu glutathionperoxidázy dochází častěji k nádorovému bujení (Fajt et al. 2009). Nádorová buňka vstřebává selen z extracelulárních tekutin. V buňce reaguje selen s glutathionem a dojde k poškození glutathionu, což má za následek smrt nádorové buňky (Holeček 2010). Řada studií se zabývá studiem účinků selenu proti rakovině (Fairweather-Tait et al. 2011). Raymann (2012) uvádí, že některé studie poskytují důkazy o vlivu selenu na riziko vzniku rakoviny plic, močového měchýře, tlustého střeva, jater a jícnu. Fairweather-Tait et al. (2011) dodává, že rozhoduje množství a biologická dostupnost selenu a také typ rakoviny.

Agay et al. (2005) uvádí, že mezi antioxidačními stopovými prvky působí selen na imunitní systém, antioxidační mechanismy a opravu tkání. Selen se zejména podílí na antioxidačních enzymatických obranných mechanismech a hraje přímou roli v regulaci zánětlivých procesů. Jeho nízká hladina v krvi, může být příčinou zvýšení oxidačního stresu a

následkem toho se může zhoršit průběh imunitních onemocnění jako je HIV nebo virová hepatitida (Fajt et al. 2009). V rané fázi poranění může selen působit proti oxidačnímu stresu. To znamená, že předčasné podání selenu může pomoci v boji proti poranění. Aplikace stopových prvků potřebných pro syntézu antioxidantních enzymů by měla být co nejdříve zohledněna při léčbě pacientů s popálením (Agay et al. 2005).

### 3.1.11. Selen v ČR

Hladiny selenu v půdě se pohybují v rozmezí od 0,1 do 2,0 mg/kg. Česká republika se řadí mezi země s nízkými koncentracemi selenu v půdě (FAO 2012). Koncentrace tohoto prvku v půdě od severu k jihu České republiky klesá. Nejnížší hodnoty vykazuje Znojensko, Klatovsko a Jindřichohradecko (Kvíčala 2003b).

Různé studie dokazují, že hladiny selenu v organismu zvířat a lidí jsou v podmínkách České republiky nízké. Například Pavlata et al. (2002) zjistili nízké hladiny selenu v 50 % vzorků krve skotu a nízké hladiny krevního selenu zaznamenali na 54 % z testovaných farem. Některá krmiva se proto mohou obohacovat určitými sloučeninami selenu. Mezi rostliny vyznačující se dobrou schopností absorbovat selen patří například řepka olejka (*Brassica napus*). Selen se pak v semenech řepky nachází jako neolejnatá frakce, zůstává tak v řepkovém šrotu, který vzniká jako odpad při výrobě řepkového oleje a může být následně s řepkovým šrotem využit jako krmivo zvířat. Bylo prokázáno, že tato dieta vede ke zvýšení koncentrace selenu v krvi krav (Balan et al. 2014).

### 3.2. Potkan



Obr. 6: *Rattus norvegicus*, Berkenhout, 1769  
(Barnett 2007).



Obr. 7: *Rattus rattus*, Linnaeus, 1758  
([http://www.guh.cz/edu/bi/biologie\\_obratlovci/index.html](http://www.guh.cz/edu/bi/biologie_obratlovci/index.html))

Nadříše: Eukaryota  
Říše: Animalia (živočichové)  
Podříše: Metazoa (mnohobuněční)  
Kmen: Chordata (strunatci)  
Podkmen: Vertebrata (obratlovci)  
Třída: Mammalia (savci)  
Podtřída: Theria (živorodí)  
Řád: Rodentia (hlodavci)  
Podřád: Myomorpha (myšovci)  
Čeleď: Muridae (myšovití)  
Podčeleď: Murinae (pravé myši)  
Rod: *Rattus* (krysa)  
Druh: *Rattus norvegicus* (potkan)

Původním místem výskytu potkana je severovýchodní Čína, jihovýchodní Sibiř a Japonsko. Následně se pomocí lodní dopravy potkani dostali do Velké Británie, později do Severní Ameriky. V 18. století se dostali na území Evropy a v současné době můžeme potkana nalézt na všech světových kontinentech s výjimkou Antarktidy (Nowak 1999).

Potkani jsou společenšší a žijí tak v sociálních skupinách. Jedná se o teritoriální živočichy s převážnou noční aktivitou a výbornou schopností plavat (Barnett 2007).

Tento druh hlodavce bývá často zaměňován za příbuznou krysu obecnou. Oproti kryse je potkan větší, uši má kratší a oči menší (Obr. 6). Hlavním rozpoznávacím znakem je ale délka



ocasu, kdy potkan má ocas kratší, nežli je délka jeho těla. Na rozdíl od krysy jejíž délka ocasu přesahuje délku těla (Obr. 7) (Nowak 1999).

Potkan se dokáže živit téměř čímkoli. Jeho stravu mohou tvořit různá zrna, semena, ořechy, ovoce a jiné rostliny. Také se živí hmyzem a jinými bezobratlými, ptáky, vejci a malými zvířaty (Naughton 2012).

Samice je schopna zabřeznout až sedmkrát do roka a mít až 60 mláďat ročně. Délka březosti potkaních samic je 22 až 24 dní a narodí se zhruba 8 mláďat potkana. Mláďata se rodí nevyvinutá. Zhruba za 14 dní od narození otevírají oči a k jejich odstavu dochází ve věku 4 týdnů. Pohlavně dospělí jsou samci ve věku 3 měsíců a samice 4 měsíců (Barnett 2007).

### **3.2.1. Laboratorní využití potkana**

K používání pokusných zvířat docházelo pravděpodobně již v pravěku, kdy staří Egypťané zkoumali anatomii zvířat. Další používání zvířat jako pokusného modelu představuje významnou složku výzkumu a vývoje v oblasti biologie, lékařství, veterinární péče i zemědělství (Knotek et al. 1999). Obecně lze říct, že potkan je dobrým modelem pro studium metabolismu selenu v lidském organismu, alespoň pokud jde o metabolity v moči (Francesconi & Pannier 2004).

Existuje zhruba 50 různých kmenů vyšlechtěných potkanů, které se liší vzhledem i povahou. Potkani vyšlechtěni tak, aby svými fyziologickými vlastnostmi byli co nejvíce podobni člověku nebo jinému živočišnému druhu, se nazývají biomodely. Takto vyšlechtění potkani se používají například k výzkumu hypertenze, rakoviny nebo diabetu. Mezi nejčastěji používané kmeny v ČR patří kmen Wistar. Tito potkani jsou albíni a jsou používáni zejména ke zkoumání infekčních onemocnění. Jedná se o dlouhověké potkany, ale s náchylností na tvorbu nádorů. Zkřížení samic Wistar a divokých samců dalo vzniknout kmenu Long Evans. Jedná se o potkany bílo-černého zbarvení, kteří jsou využíváni k výzkumu chování a jelikož jsou samci již ve 4 měsících života schopni dosáhnout až 400 g, využívají se také k výzkumu obezity. Mezi další využívané kmeny patří například Lister Hooded, Brown Norway a jako nejpoužívanější kmen laboratorních potkanů je znám kmen CD 1GS, využívaný jako obecný víceúčelový model k výzkumu stárnutí, výživy, obezity nebo například v oblasti onkologie (Pravenec et al. 2012).

Koncepce tří R (nahrazení, redukce a zdokonalení) vyvinuli Russell & Burch, aby poskytli rámec pro zlepšení chování a etickou přijatelnost experimentálních technik na zvířatech. Vzhledem k tomu, že zvířata použitá ve výzkumu mohou pociťovat bolest, utrpení nebo trvalé poškození, musí být prvním krokem posouzení toho, zda lze místo toho použít méně vnímavé nebo necitlivé alternativy. Pokud to není možné, je třeba věnovat pozornost tomu, aby se minimalizovala jakákoli bolest, kterou může zvíře trpět, a to jak během samotného experimentu, tak před i po provedení experimentů. Je kladen důraz na prostředí, ve kterém se zvířata mohou cítit bezpečně a pohodlně. Důležité je zachovat zdraví zvířat před zahájením výzkumu a používat vhodná anestetika a analgetika. A v neposlední řadě je třeba minimalizovat počet zvířat použitých v daném projektu, přičemž je třeba zajistit, aby bylo stále

možné dosáhnout cílů studie. Ačkoli se koncepce tří R zdá relativně jednoduchá, její dosažení není vždy snadné (Festing et al. 1998).

### 3.2.3. Selen v organismu potkana

U potkanů bylo doposud nalezeno více než 25 proteinů obsahujících selen. Jejich biologický význam ještě není zcela znám, ale několik studií ukazuje, že některé z těchto proteinů mohou mít důležité funkce zejména v mozku, endokrinních a reprodukčních orgánech (Haldimann et al. 1996).

Selen je nedílnou součástí glutathionperoxidáz (GPx) a thioredoxin reduktáz (TrxR), které jsou nezbytné pro buněčnou antioxidační obranu a pro funkce reprodukčního systému savců. Vysoká koncentrace selenu byla objevena ve varlatech a studie na potkanech uvádí, že je selen nezbytný pro jejich funkci varlat. Nízká produkce spermií a špatná kvalita spermií byly u zvířat s deficitem selenu konzistentním rysem. U potkanů s deficitem selenu byl zaznamenán pokles selenu v plazmě a v játrech o 90 % a v ledvinách o 82 %, zatímco pokles selenu ve varlatech byl pouze 37 %. To naznačuje, že varlata mají schopnost akumulovat selen. Deficit selenu však způsobil pokles aktivity glutathionperoxidáz v játrech o 93 % a v ledvinách o 80 %, zatímco ve varlatech potkanů nebyly pozorovány žádné změny aktivity glutathionperoxidáz (Erkekoglu et al. 2015).

Selen může působit přímo i nepřímo jako antioxidant a snížený stav selenu vede k vyššímu riziku kardiovaskulárních onemocnění, včetně chronického srdečního selhání. Důležitá biologická funkce selenu je zprostředkována prostřednictvím antioxidačních selenoproteinů glutathionperoxidázy a thioredoxin reduktázy. Kardiovaskulární přínosy selenu byly trvale prokázány ve studiích na potkanech, přičemž se ukázalo, že suplementace selenu dietou před ischemickým poškozením vede ke zlepšení srdeční funkční obnovy, sníženému výskytu arytmií a zachování struktury komor. Mezi klinické příznaky srdečního selhání patří dušnost, cyanóza, letargie, úbytek hmotnosti a periferní edém (Lymbury et al. 2010).

Toxicita selenu v potkanů závisí na množství selenu obsaženého v organismu jedince. I nedostatek selenu je však spojen s patologickými stavy u zvířat. U potkanů se jedná například o nekrózu jater s deficitem vitamínu E (Ošťádalová 2013). U dospělých potkanů způsobuje jedna dávka seleničitanu sodného (20  $\mu\text{mol/kg}$  tělesné hmotnosti) akutní letální syndrom. Zvířata umírají obvykle během prvních dvou hodin po subkutánní injekci seleničitanu (Ošťádalová et al. 1978).

## 4. Materiál a metody

### 4.1. Schéma a průběh pokusu

V pokusu bylo využito 22 dospělých samců laboratorního potkana kmene Wistar. Každý potkan byl po dobu experimentu držěn v metabolické kleci pro laboratorní hlodavce s příjmem vody *ad libitum*. Místnost s bilančními klecemi byla vybavena klimatizací, která udržovala konstantní teplotu ( $\pm 22^\circ\text{C}$ ) a vlhkost (55 – 60 %). Zvířata byla rozdělena do tří skupin v závislosti na příjmu krmiva. První skupina (kontrola) dostávala standardní krmnou směs (ST1, Velaz s. r. o., Česká republika), ve které byl hlavním zdrojem selenu sójový šrot. Druhá skupina (Se-anorg) dostávala tutéž směs s dodatečným přídatkem selenu ve formě seleničitanu sodného. Třetí skupina (Se-řepka) dostávala směs, ve které byl sójový šrot nahrazen odtučněným řepkovým šrotem připraveným z řepky obohacené foliární aplikací selenu (Balán et al. 2014). Celkový obsah selenu v těchto krmných směsích byl 397  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (kontrola), 598  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (Se-anorg) a 453  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (Se řepka). Pokus probíhal 28 dní a každý potkan dostával denně 30 g příslušné krmné směsi. Pro přesné schéma krmení byla zavedena evidence množství zkonsumovaného krmiva za 24 hodin, kdy zbylé krmivo bylo odebráno a zváženo.

Během experimentu probíhal pravidelně v ranních hodinách odběr moči a exkrementů laboratorních potkanů. V 0., 1., 2., 3. a 4. dni byly vzorky evidovány denně, poté se odebíraly směšné vzorky z 5. - 13., 14. - 20., 21. - 28. dne pokusu. Množství odebrané moči a exkrementů bylo denně evidováno. Na konci experimentu, po eutanázii pokusných zvířat, proběhl jednorázový odběr krevního séra a byly odebrány jednotlivé orgány. Všechny vzorky byly po odběru vloženy do hluboko mrazícího zařízení a uchovány při teplotě  $-80^\circ\text{C}$  až do chemické analýzy. Vzorky orgánů byly dále lyofilizovány a před vlastní analýzou homogenizovány pomocí laboratorního mlýnku. Stejným způsobem byly homogenizovány laboratorní vzorky jednotlivých diet. Obsahy selenu v krvi a moči pokusných zvířat hodnotil ve své práci Žíla (2016), akumulace selenu v jednotlivých orgánech a jeho vylučování exkrementy jsou předmětem této práce.

### 4.2. Analytické metody

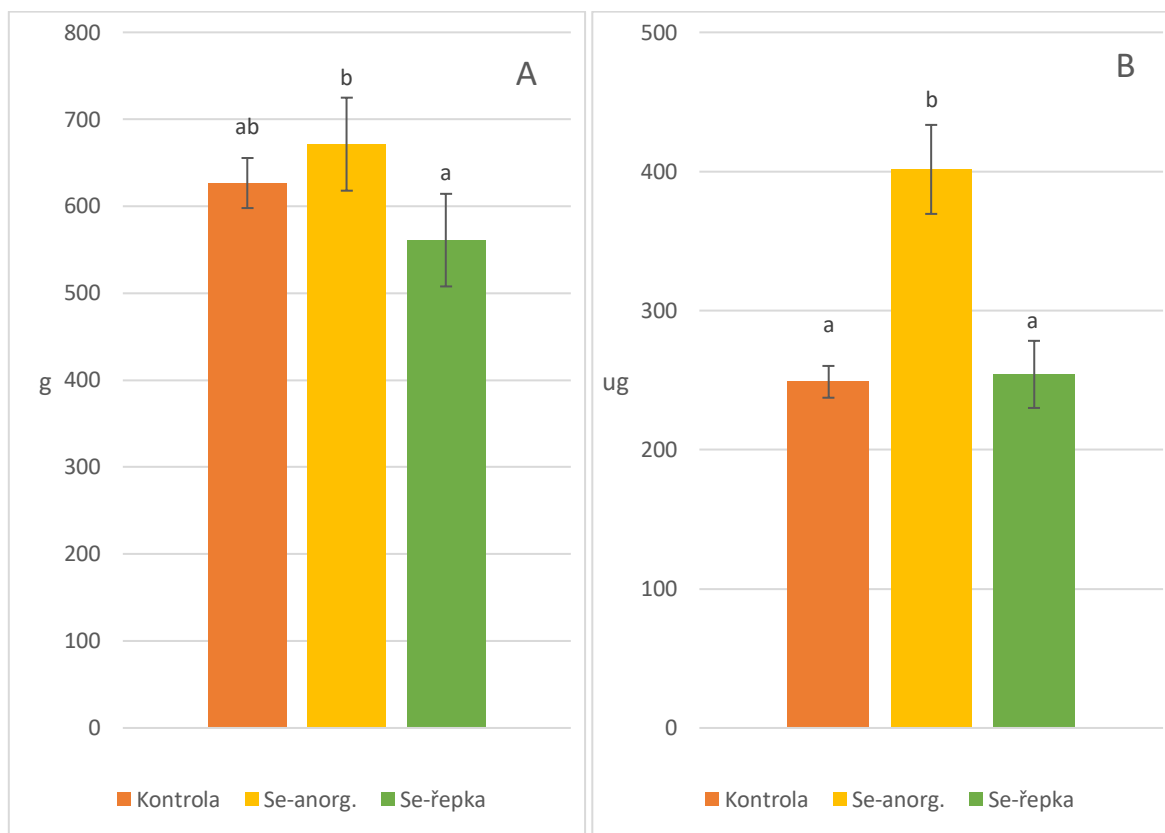
Pro stanovení obsahu selenu, mědi, železa, manganu a zinku v orgánech laboratorních zvířat a selenu v pokusných dietách byly vzorky rozloženy pomocí mokrého rozkladu na mokré cestě za zvýšeného tlaku následovně: Do teflonových reakčních nádob bylo naváženo 0,5 g vzorku. Navážka byla zalita 8 ml 65% kyseliny dusičné a 2 ml 30% peroxidu vodíku. Takto připravený vzorek byl rozložen v uzavřeném systému s mikrovlnným ohřevem v zařízení Ethos 1 (MLS GmbH, Německo) po dobu 30 minut a teplotě  $220^\circ\text{C}$ . Po částečném ochlazení byl vzorek zakoncentrován odpařením cca 80 % objemu reakční směsi. Po ochlazení byl mineralizát kvantitativně převeden do 20 ml zkumavky a doplněn demineralizovanou vodou, poté uchován při laboratorní teplotě až do doby měření. Homogenizované vzorky exkrementů byly rozloženy metodou rozkladu na suché cestě následovně: Do kádinky z křemenného skla

se naváží 0,5 g vzorku a spaluje se v muflové peci za postupného zvyšování teploty při cílové teplotě 500°C. Popel se poté rozpustí v 5 ml lučavky královské (1 díl HNO<sub>3</sub> + 3 díly HCl), převede se do 20 ml zkumavky, doplní po značku demineralizovanou vodou a uchová při laboratorní teplotě až do doby měření.

Stanovení selenu v mineralizátech bylo provedeno pomocí hmotnosti spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP MS, Agilent 7700x firmy Agilent Technologies, Inc., USA) v HeHE (high energy helium) modu s využitím automatického dávkovače ASX-500, tříkanálové peristaltické pumpy a zmlžovače typu MicroMist. Pro stanovení obsahu mědi, železa, manganu a zinku byla použita metoda optické emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP – OES, Agilent 720 Technologies Inc., USA).

Získaná data byla zpracována pomocí softwaru Microsoft Office Excel 2016 a české verze statistického softwaru Statistica 12. K porovnání průměrného obsahu jednotlivých prvků byla použita jednofaktorová analýza rozptylu (ANOVA) s nastavenou hladinou významnosti  $\alpha = 0,05$ . Průkaznost rozdílů mezi jednotlivými skupinami byly otestovány Scheffého testem. V grafech je vždy uveden průměr vypočítaný z hodnot naměřených u všech pokusných potkanů ve skupině a směrodatná odchylka, vedle které je písmenem označeno, zda je mezi jednotlivými skupinami statisticky významný rozdíl. Pokud jsou písmena u hodnoty stejná, znamená to, že mezi sebou hodnoty nevykazují statisticky významné rozdíly.

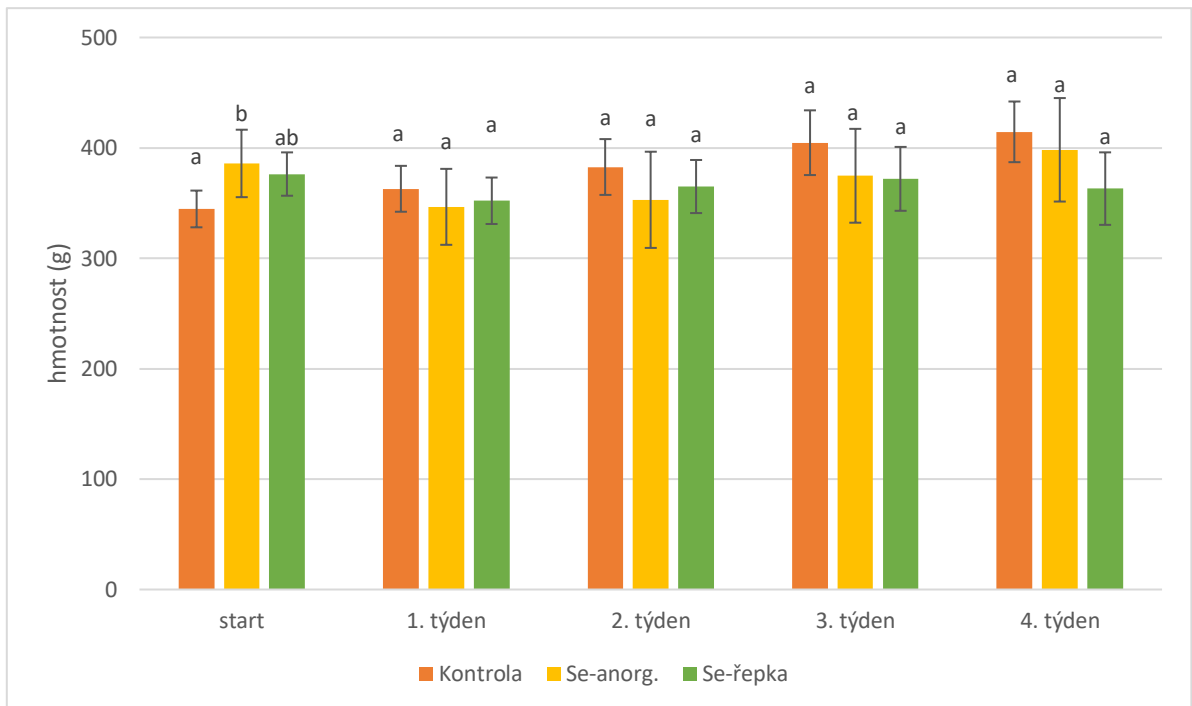
## 5. Výsledky



Obr. 8. Celkový průměrný příjem krmiva pokusných zvířat v jednotlivých pokusných variantách za celou dobu trvání pokusu (A) a celkový příjem selenu za celou dobu trvání pokusu (B). Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na  $P < 0,05$

Průměrný příjem krmiva u jednotlivých skupin potkanů (Obr. 8. A) byl vypočten na základě množství přijatého krmiva jednotlivých pokusných zvířat a celkový příjem selenu (Obr. 8. B) byl vypočten na základě obsahu selenu v krmivu, které bylo potkanům podáváno. Z Obr. 8. (A) vyplývá, že skupina potkanů, kterým byla podávána krmná směs obohacená o seleničitan sodný přijala na celou dobu trvání pokusu průměrně nejvíce krmiva. Zatímco skupina, která dostávala krmnou směs s odtučněným řepkovým šrotem přijala v průměru o 110 gramů méně.

Z Obr. 8. (B) následně vyplývá, že skupina krmena směsí obsahující seleničitan sodný přijala za celou dobu trvání pokusu v průměru o 62,6 % více selenu než první skupina krmena směsí se sójovým šrotem a třetí skupina krmena směsí s řepkovým šrotem.

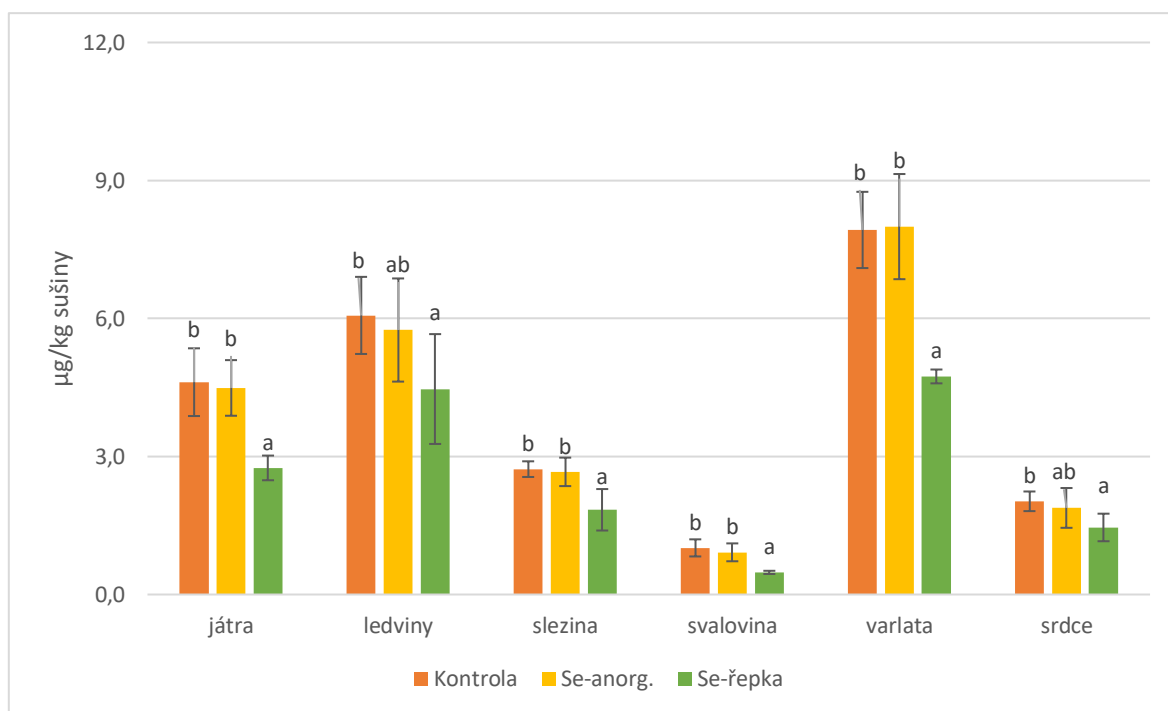


Obr. 9 Změna celkové živé hmotnosti zvířat v jednotlivých variantách v průběhu pokusu. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na  $P < 0,05$

Z Obr. 9 vyplývá, že v první skupině, která dostávala krmivo se sójovým šrotem docházelo v každém týdnu k nárůstu živé hmotnosti zvířat. V každém týdnu trvání pokusu, docházelo k průměrnému vzestupu živé hmotnosti o 17,5 gramů.

Ve druhé skupině, která přijímala selen ve formě seleničitanu sodného, došlo v průběhu prvního týdne k výraznému poklesu živé hmotnosti zvířat o 39,3 gramů. V následujících týdnech až do ukončení pokusu docházelo k nárůstu živé hmotnosti potkanů.

Ve třetí skupině, která přijímala krmnou směs s řepkovým šrotem, došlo v průběhu prvního týdne k poklesu živé hmotnosti v průměru o 24,2 gramů. V následujících dvou týdnech pokusu živě hmotnost potkanů vzrůstala. V posledním týdnu pokusu došlo opět k mírnému poklesu hmotnosti.

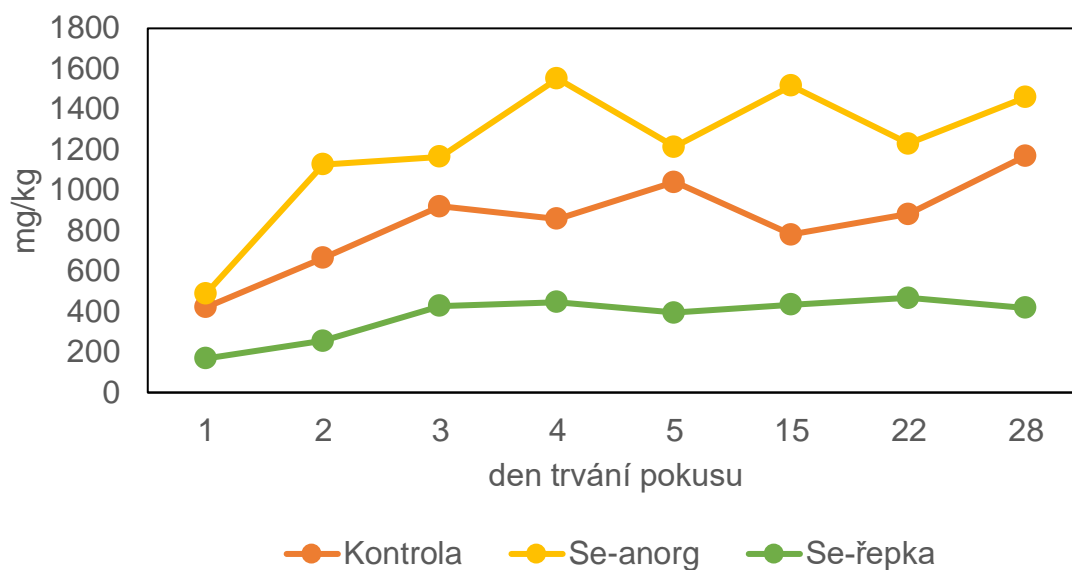


Obr. 10. Obsah selenu v jednotlivých tkáních pokusných zvířat v jednotlivých variantách. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na  $P < 0,05$

Z Obr. 10. vyplývá, že ve všech třech skupinách pokusných zvířat, se selen nejvíce ukládá do varlat. Následně pak do ledvin a jater. Naopak nejméně selenu se ukládá do svaloviny.

V případě jater, sleziny, svaloviny a varlat, došlo k významnému rozdílu u skupiny, které byla podávána krmná směs s řepkovým šrotem. U této skupiny byl obsah selenu ve zmíněných tkáních výrazně nejnižší.

V případě ledvin a srdce je obsah selenu nejvyšší u skupiny krmené směsí se sójovým šrotem. Naopak nejnižší obsah selenu v těchto tkáních byl zaznamenán u skupiny krmené řepkovým šrotem.



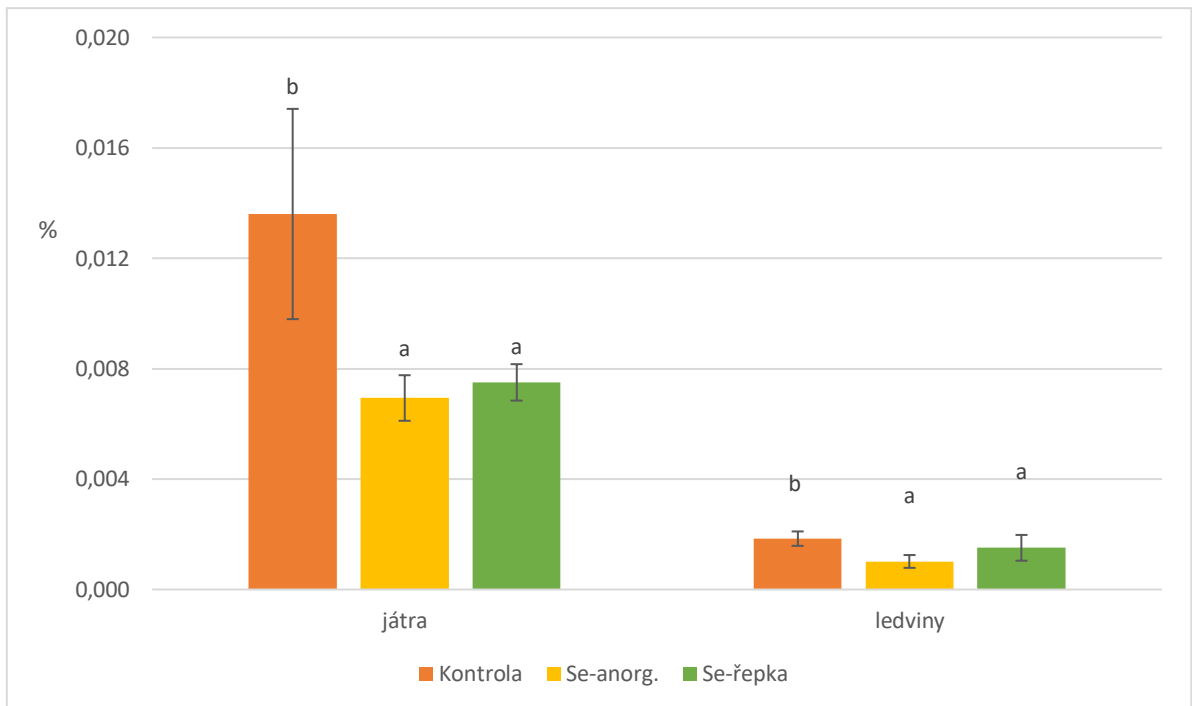
Obr. 11 Obsahy selenu v exkrementech pokusných zvířat v průběhu pokusu dle jednotlivých pokusných variant

Obr. 11. zobrazuje obsahy selenu v exkrementech pokusných zvířat ve vybraných dnech experimentu. U první skupiny (kontrola) docházelo k nárůstu množství vyloučeného selenu exkrementy v prvních třech dnech. Čtvrtý a patnáctý den pokusu došlo ke snížení vyloučeného množství.

U druhé skupiny (Se-anorg) a třetí skupiny (Se-řepka) docházelo k nárůstu množství vyloučeného selenu v prvních čtyřech dnech. K poklesu vyloučeného množství došlo u druhé skupiny (Se-anorg) v pátém a dvacátém druhém dnu experimentu. U třetí skupiny (Se-řepka) došlo k poklesu množství vyloučeného selenu v pátém a posledním dnu experimentu.

V porovnání prvního a posledního dne pokusu se u první (kontrola) skupiny zvýšil obsah selenu ve vyloučených exkrementech o 117 %, u druhé skupiny (Se-anorg) se obsah selenu v exkrementech zvýšil o 198 % a u třetí skupiny (Se-řepka) došlo k nárůstu o 149 %.





Obr. 12 Podíl selenu zachycený v jednotlivých orgánech z celkového množství přijatého selenu dle jednotlivých variant. Varianty označené stejnými písmeny se od sebe významně neliší na  $P < 0,05$

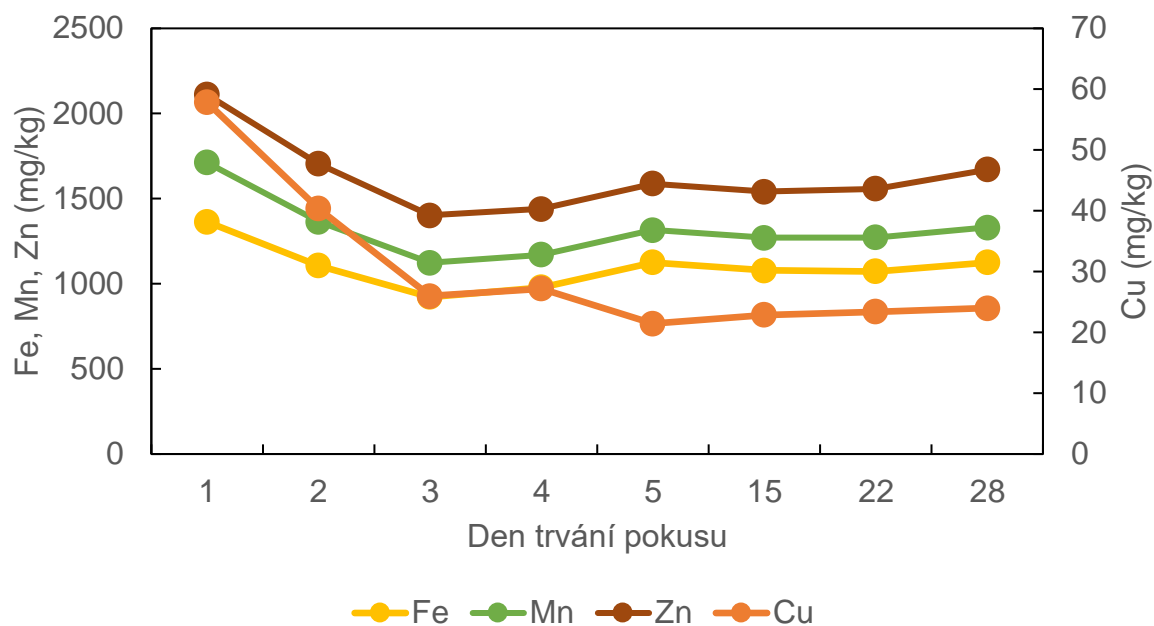
Z Obr. 12. vyplývá, že největší množství selenu bylo v játrech i ledvinách zachyceno u skupiny, které byla podávána standardní krmná směs, ve které byl hlavním zdrojem selenu sójový šrot. Mezi druhou (Se-anorg) a třetí (Se-řepka) skupinou nebyl zaznamenán významný rozdíl.

Pro srovnání byly v orgánech zvířat ze skupiny krmené řepkovým šrotem stanoveny i obsahy dalších významných esenciálních prvků, tedy mědi, železa, manganu a zinku. Výsledky shrnuje Tab. 3.

	Cu mg/kg	Fe mg/kg	Mn mg/kg	Zn mg/kg
játra	12,6 ± 1,1	457 ± 52	5,62 ± 0,65	64,4 ± 7,0
ledviny	25,4 ± 16,6	280 ± 27	2,36 ± 0,16	52,1 ± 2,6
slezina	3,44 ± 0,32	2837 ± 693	0,48 ± 0,03	41,6 ± 1,9
svalovina	2,02 ± 0,22	34,4 ± 5,4	0,14 ± 0,02	22,3 ± 3,9
varlata	9,42 ± 2,18	99,1 ± 19,6	1,31 ± 0,32	97,1 ± 10,4
srdce	17,7 ± 0,5	263 ± 31	1,00 ± 0,04	38,5 ± 1,6

Tab. 3. Obsahy vybraných esenciálních prvků v orgánech experimentálních zvířat krmených směsí s řepkovým šrotem; výsledky jsou prezentovány jako průměr ± směrodatná odchylka

Tab. 3 ukazuje, že přestože je selen významným esenciálním prvkem, jeho obsahy se významně liší od obsahů dalších významných esenciálních mikroprvků. Zatímco obsahy selenu se pohybují na úrovni jednotek  $\mu\text{g}/\text{kg}$  (Obr. 10), obsahy ostatních sledovaných prvků dosahují jednotek až tisíců  $\text{mg}/\text{kg}$ . Liší se také distribuce těchto prvků do jednotlivých orgánů ve srovnání se selenem. Pouze v případě zinku byly nejvyšší obsahy nalezeny ve varlatech a dále následují játra a ledviny, podobně jako v případě selenu. Nejvyšší obsahy mědi byly nalezeny v ledvinách a varlatech, u manganu pak v játrech. V případě železa byly nalezeny nejvyšší obsahy ve slezině a dále v srdci, což pravděpodobně souvisí s rolí železa v procesu krvetvorby. Nejnižší obsahy všech prvků včetně selenu byly nalezeny ve svalovině.



Obr. 13 Obsahy vybraných esenciálních prvků v exkrementech pokusných zvířat krmených směsí s řepkovým šrotem v průběhu pokusu

Obsahy dalších esenciálních prvků byly stanoveny také v exkrementech pokusných zvířat krmených směsí s řepkovým šrotem (Obr. 13). Také v tomto případě je zřejmý rozdíl v koncentracích selenu a dalších významných esenciálních mikroprvků, kdy se obsahy selenu pohybují v hodnotách  $\mu\text{g/kg}$  (Obr. 11), obsahy ostatních sledovaných prvků pak dosahují desítek až tisíců  $\text{mg/kg}$  (Obr. 13). Odlišný je také trend obsahů těchto prvků v průběhu pokusu. Zatímco obsah selenu v exkrementech v průběhu pokusu roste, u ostatních prvků zaznamenáváme pokles v prvních třech dnech pokusu a následně stabilizaci obsahů. Můžeme spekulovat, že tento vývoj obsahů může souviset se složením diety, kterou byli potkani krmeni před začátkem pokusu. Tato dieta pravděpodobně obsahovala méně selenu a více dalších sledovaných prvků, ale tato teorie nebyla experimentálně ověřena.

## 6. Diskuse

Selen patří mezi významné esenciální prvky a podílí se na řadě biochemických a fyziologických aktivitách v organismu. Fyziologické rozmezí koncentrací selenu v potravě je velmi úzké, takže příliš nízké i příliš vysoké obsahy tohoto prvku mohou být pro člověka i zvířata škodlivé a v závažných případech až letální (Barceloux 1999). Problematika příjmu, biochemických a fyziologických charakteristik tohoto prvku je tedy v současné době velmi aktuální. Ošťádalová (2013) uvádí půdu jako jediný zdroj selenu pro výživu člověka, zvířat a celý potravinový řetězec. Jednou z možností, jak zvýšit příjem selenu při lidské výživě, je obohacování potravin jak rostlinných, tak i živočišných. Toho lze dosáhnout používáním hnojiv s obsahem selenu a šlechtěním rostlin pro vyšší akumulaci tohoto prvku. U hospodářských zvířat lze zvýšit obsah selenu v dietě a následně tak zvýšit jeho přístupnost pro lidský metabolismus v mase a mléce.

Fajt et al. (2009) uvádějí organické sloučeniny selenu jako účinnější a lépe vstřebatelné pro živý organismus ve srovnání s anorganickými sloučeninami. Na základě výsledků, kdy druhá skupina (Se-anorg) dostávala směs s přídavkem selenu ve formě seleničitanu sodného s nejvyšším obsahem selenu a také nejvyšší množství selenu vyloučila exkrementy a dle výsledků Žíly (2016) také močí, můžeme říct, že jsou naše výsledky ve shodě s tímto tvrzením.

Velíšek a Hajšlová (2009) uvádějí, že po přijetí organického selenu se selen ukládá především do vnitřních orgánů jako jsou játra a ledviny. Také Navarro-Alarcon & Cabrera-Vique (2008) uvádějí játra, ledviny a varlata jako hlavní orgány, do kterých se selen ukládá. Erkekoglu et al. (2015) ve své studii na potkanech také zaznamenali největší koncentraci selenu ve varlatech. A Dunne & Kirschmann (1990) a Heczková (2009) uvádějí, že do jater a ledvin se ukládá až čtyřikrát více selenu ve srovnání se svalovinou. Dle našich výsledků (Obr. 10) můžeme říct, že v našem experimentu se u první skupiny, která přijímala sójový šrot jako hlavní zdroj selenu, ale i u třetí skupiny kde byl sójový šrot nahrazen odtučněným řepkovým šrotem, ukládal selen především do varlat, ledvin a jater. Ve srovnání se svalovinou se do zmíněných tkání selen ukládal až ve čtyřikrát větším množství. Na základě těchto výsledků, můžeme tvrzení autorů také potvrdit.

Francesconi & Pannier (2004) uvádějí, že se selen z těla vylučuje primárně močí a sekundárně pak stolicí. Oproti tomu Fajt et al. (2009) uvádějí, že anorganická forma selenu se vylučuje převážně močí na rozdíl od organické formy, které se vylučuje hlavně výkaly. Žíla (2016) ve svém experimentu na potkanech uvádí, že skupina krmena řepkovým šrotem a skupina krmena sójovým šrotem vyloučila močí zhruba 25 % přijatého selenu, oproti tomu skupina přijímající směs se seleničitanem sodným vyloučila močí zhruba 41 %. Dle našich výsledků skupina přijímající sójový šrot vyloučila exkrementy zhruba 17 % přijatého selenu, skupina krmena seleničitanem sodným vyloučila zhruba 39 % a skupina přijímající řepkový šrot vyloučila exkrementy zhruba 8 % z přijatého selenu. Na základě těchto výsledků a výsledků Žíly (2016) lze souhlasit s tím, že se selen vylučuje z těla primárně močí a stolicí sekundárně. A tvrzením Fajta et al. (2009) tedy souhlasit nemůžeme. Výsledné množství vyloučeného selenu je však závislé na přijatých dávkách a formě, ve které je selen přijímán.

Tvrda et al. (2015) ve svém experimentu zjistili nižší stravitelnost řepkového šrotu ve srovnání se sójovým šrotem. Také příjem krmiva s řepkovým šrotem byl u experimentálních zvířat v jejich experimentu nižší než příjem krmiva se sójovým šrotem. Avšak přes toto zjištění, skupina krmena řepkovým šrotem vykazovala vyšší přírůstky. Dle autorů tato zjištění vypovídají o vyšší biologické hodnotě bílkovin řepkového šrotu a vyšším obsahu limitujících aminokyselin pro organismus potkana. Z Obr. 8. (A) je zřejmé, že v našem experimentu kontrolní skupina přijímala za celou dobu trvání pokusu více krmiva než skupina přijímající krmivo s řepkou. Z Obr. 9. vyplývá, že za celou dobu trvání pokusu došlo u kontrolní skupiny k nárůstu živé hmotnosti průměrně o 17,5 gramů a u skupiny přijímající krmivo s řepkou došlo k vzestupu živé hmotnosti průměrně o 24,2 gramů. Naše výsledky se s pozorováním Tvrda et al. (2015) shodují.

V našem experimentu skupina, které byla po celou dobu pokusu předkládána krmná směs s řepkovým šrotem, přijala průměrně nejméně krmiva. V celkovém příjmu selenu, za celou dobu trvání pokusu mezi touto skupinou a skupinou přijímající směs se sójovým šrotem, neexistoval statisticky významný rozdíl. Skupina přijímající selen v anorganické formě přijímala největší množství krmiva a největší množství selenu. Zároveň však největší množství vyloučila jak exkrementy, tak močí (Žíla 2016). V jednotlivých tkáních se selen lépe ukládal u skupiny přijímající sójový šrot, než u skupiny přijímající řepkový šrot.

Dřívější experimenty také ukázaly, že přídavek řepkového šrotu do diety potkanů (v různých dávkách) nevedl ke zvýšení obsahu selenu v orgánech zvířat (Rýdlová et al. 2017; Myška et al. 2016; Tvrda et al. 2015), ale prokázaly, že přídavek řepkového šrotu do diety potkanů neměl žádný nepříznivý vliv na hladiny esenciálních prvků ani na vybrané fyziologické a hematologické ukazatele.

Stejně jako selen, významný stopový prvek, také ostatní námi sledované stopové prvky v krmné směsi s řepkovým šrotem jsou prospěšné v určitém rozmezí. Například při nedostatku zinku v živém organismu může docházet ke zpomalení růstu a náchylnosti k infekcím. Jsou ale také zaznamenány případy otravy zinkem. Požití pouhých 4–8 g zinku může způsobit otravu organismu. Dlouhodobě zvýšený příjem zinku ovlivňuje také metabolismus jiných stopových mikroprvků, zejména mědi. V případě nedostatku mědi může docházet k hypochromní anémii, křehnutí kostí nebo například k cévním abnormalitám. Akutní otrava mědí se projevuje nadměrným sliněním, nevolností až zvracením a průjmem. V závažných případech může být otrava mědí až letální (WHO 1996).

V našem experimentu jsme, stejně jako Rýdlová et al. (2017), zjistili, že se zinek podobně jako selen ukládá nejvíce do varlat, jater a ledvin. Navarro-Alarcon et al. (2008) a Monedero-Prieto et al. (2014) ve svých experimentech zjistili, že přidávání selenu do krmných směsí může ovlivnit metabolismus dalších stopových mikroprvků a to hlavně mědi. Rýdlová et al. (2017) dle svých výsledků z krve a jater potkanů usuzují, že se měď z jater uvolňuje do ledvin k následnému vyloučení z těla. K podobnému závěru dospěli také Myška et al. (2016), kteří zjistili, že zvýšením obsahu řepkového šrotu v krmivu došlo k poklesu obsahu železa v játrech potkanů. Myška et al. (2016) ve svém experimentu také zjistili, že přídavek řepky do krmné směsi způsobil navýšení obsahu manganu ve sledovaných tělesných tkáních. Navýšením

koncentrace selenu v krmivu došlo ke snížení koncentrace železa v ledvinách. Z Tab. 3. můžeme vidět, že v našem experimentu se největší koncentrace mědi nacházelo v ledvinách a játrech. Na základě toho, můžeme s výše zmíněnými autory souhlasit, nemáme ale k dispozici srovnání s variantou bez přídatku řepkového šrotu.

Vzhledem k přijatému a vyloučenému množství a vzhledem k obsahu selenu ve tkáních lze říci, že organický selen z rostlinných zdrojů je využitelný lépe. Také s přihlédnutím k vyššímu obsahu selenu u krmné směsi s řepkovým šrotem, než byl obsah selenu u krmné směsi se šrotem sójovým, lze předpokládat, že řepkový šrot představuje dobrý zdroj selenu ve výživě zvířat a je schopen zajistit optimální hladinu tohoto prvku v organismu zvířat.

## 7. Závěr

- V našem experimentu byl sledován příjem selenu organismem potkana a jeho distribuce do vybraných orgánů (játra, ledviny, svalovina, varlata, slezina, srdce), a také vylučování tohoto prvku ve výkalech.
- Pokusná zvířata, potkani kmene Wistar, byla náhodně rozdělena do tří skupin. První skupině byla po dobu pokusu předkládána krmná směs, kde hlavní zdroj selenu představoval sójový šrot. Druhá skupina přijímala tutéž směs, ale s přídatkem anorganické soli seleničitanu sodného. Poslední skupině byla podávána směs, kde sójový šrot nahradil šrot řepkový.
- Z výsledků vyplývá, že největší množství selenu přijala, v průběhu celého pokusu, druhá skupina. Tatáž skupina zároveň největší množství následně vyloučila exkrementy.
- U první a třetí skupiny v příjmu selenu nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl, avšak první skupina vyloučila prostřednictvím exkrementů o polovinu více množství selenu, než skupina přijímající směs s řepkovým šrotem.
- Na základě těchto výsledků lze potvrdit, že organická forma selenu je v živém organismu lépe vstřebatelná a využitelná než anorganická forma selenu. Naše studie a studie Žíly (2016) prokázala, že nahrazení sójové moučky jako typického zdroje selenu ve výživě potkanů nezpůsobilo u experimentálních zvířat žádné významné změny základních metabolických charakteristik. Na základě výsledků lze krmnou směs s řepkovým šrotem považovat za vhodný zdroj selenu pro výživu hospodářských zvířat.
- Koncentrace selenu v námi sledovaných orgánech se významně liší od koncentrací ostatních zmiňovaných esenciálních prvků. U selenu se jedná o jednotky  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . U mědi, železa, manganu a zinku dosahují jejich obsahy tisíců  $\text{mg}/\text{kg}$ . Také distribuce do jednotlivých orgánů u těchto prvků značně rozdílná. Pouze zinek se ukládal nejvíce do varlat, jater a ledvin jako tomu bylo u selenu.
- Významný rozdíl také existuje v koncentracích zmíněných esenciálních prvků v exkrementech pokusných zvířat. Pouze u selenu docházelo, za celou dobu trvání pokusu, k nárůstu obsahu tohoto prvku. U ostatních prvků došlo po třech dnech pokusu ke stabilizaci vylučovaného množství.
- Tento vývoj obsahů ostatních esenciálních prvků vylučovaných exkrementy může být ovlivněn složením krmné směsi, která byla potkanům podávána před zahájením experimentů. Tato krmná směs mohla obsahovat méně selenu a více dalších sledovaných prvků, ale tato teorie by mohla být předmětem dalšího experimentu.

- Vzhledem k množství ostatních esenciálních prvků ve tkáních potkanů, množství vyloučeném exkrementy a vzhledem k výsledkům ostatních experimentů (Rýdlová et al. 2017; Myška et al. 2016; Tvrdá et al. 2015; Navarro-Alarcon et al. 2008; Monedero-Prieto et al. 2014) se naše hypotéza, že vhodně zvolená forma a dávka selenu v dietě potkanů vede ke zvýšení akumulace tohoto prvku v jednotlivých orgánech, ale neovlivní příjem dalších esenciálních prvků, nepotvrdila.



## 8. Seznam použité literatury

Agay D, Anderson RA, Sandre C, Bryden NA, Alonso A, Roussel AM, Chancerelle Y. 2005. Alterations of antioxidant trace elements (Zn, Se, Cu) and related metallo-enzymes in plasma and tissues following burn injury in rats. *Burns* **31**:366-371.

Agerbo P, Andersen HF. 1997. Vitaminy a minerály pro zdravý život. Grada. Praha.

Al-Awadi FM, Anim JT, Srikumar TS, Al-Rustom M. 2004. Possible role of trace elements in the hypoglycemic effect of plants extract in diabetic rats. *The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine* **17**:31-44.

Alonso ML, Montaña FP, Miranda M, Castillo C, Hernández J, Benedito JL. 2004. Interactions between toxic (As, Cd, Hg and Pb) and nutritional essential (Ca, Co, Cr, Cu, Fe, Mn, Mo, Ni, Se, Zn) elements in the tissues of cattle from NW Spain. *BioMetals* **17**:389-397.

Balán J, Vosmanská M, Száková, J., Mestek, O. 2014. Speciační analýza selenu v odtučněném řepkovém šrotu. *Chemické listy* **108**:256–263.

Balch, JF, Balch, PA. 1998. Bible předpisů zdravé výživy. Pragma. Praha.

Bankhofer H, Balch PA. 1996. Bio-selen: přirozená obrana vašeho imunitního systému. Fin. Olomouc.

Bañuelos GS, Mayland H.F. 2000. Absorption and Distribution of Selenium in Animals Consuming Canola Grown for Selenium Phytoremediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **46**:322-328.

Barceloux, D. X. 1999. Selenium. *Clinical Toxicology* **37**:145–172.

Barceloux DG, Barceloux D. 1999. Selenium. *Journal of Toxicology: Clinical Toxicology* **37**:145–172.

Barnett SA. 2007. *The Rat: A Study in Behavior*. Aldine Transacction. New Jersey.

Brozmanová J, Mániková D, Vlčková V, Chovanec M. 2010. Selenium: a double-edged sword for defense and offence in cancer. *Archives of Toxicology* **84**:919-938.

Čuvarđić MS. 2003. Selenium in soil. *Zbornik Matice Srpske za Prirodne Nauke* **104**:23-37.

Dumont E, Vanhaecke F, Cornelis R. 2006. Selenium speciation from food source to metabolites: a critical review. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **385**:1304-1323.

Dunne LJ, Kirschsmann JD. 1990. *Nutrition almanac*. McGraw-Hill. New York.

Erkekoglu P, Arnaud J, Rachidi W, Kocer-Gumusel B, Favier A, Hincal F. 2015. The effects of di(2-ethylhexyl) phthalate and/or selenium on trace element levels in different organs of rats. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **29**:296-302.

Fairweather-Tait SJ, Collings R, Hurst R. 2010. Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. *American Journal of Clinical Nutrition* **91**:1484–1491.

Fairweather-Tait SJ, Bao Y, Broadley MR, Collings R, Ford D, Hesketh JE, Hurst R. 2011. Selenium in Human Health and Disease. *Antioxidants* **14**:1337-1383.

Fajt Z, Svoboda M, Drábek J, Dubanský V. 2009. Selen a jeho význam pro zdravotní stav prasat – review. *Veterinářství* **59**:221-224.

FAO. 2002. Selenium. *Vitamin and Mineral Requirements in Human Nutrition*. Dostupné z <<http://www.fao.org/docrep/004/y2809e/y2809e00.htm>> [Publikováno dne: 12. 3. 2003].

Festing MF, Baumans V, Combes RD, Halder M, Hendriksen CF, Howard BR, Lovell DP, Moore GJ, Overend P, Wilson MS. 1998. Reducing the use of laboratory animals in biomedical research: problems and possible solutions. *Alternatives to laboratory animals* **26**:283-301.

Fordyce F. 2007. Selenium Geochemistry and Health. *AMBIO: A Journal of the Human Environment* **36**:94-97.

Foster DJ, Thoday KL, Arthur JR, Nicol F, Beatty JA, Svendsen CK, Labuc R, McConnell M, Sharp M, Thomas JB, Beckett GJ. 2001. Selenium status of cats in four regions of the world and comparison with reported incidence of hyperthyroidism in cats in those regions. *American Journal of Veterinary Research* **62**:934-937.

Frączek A, Pasternak K. 2013. Selenium in medicine and treatment. *Journal of Elementology* **18**:145-163.

Francesconi KA, Pannier F. 2004. Selenium Metabolites in Urine: A Critical Overview of Past Work and Current Status. *Clinical Chemistry* **50**:2240-2253.

Fuchs O. 1996. Selenoproteiny. *Chemické listy* **7**:444-450.

Giray B, Riondel J, Arnaud J, Ducros V, Favier A, Hincal, F. 2003. Iodine and/or Selenium Deficiency Alters Tissue Distribution Pattern of Other Trace Elements in Rats. *Biological Trace Element Research* **95**:247-258.

Greenwood, NN, Earnshaw A. 1993. *Chemie prvků*. Informatorium. Praha.

Haldimann M, Venner TY, Zimmerli B. 1996. Determination of selenium in the serum of healthy swiss adults and correlation to dietary intake. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology* **10**:31-45.

Hartikainen, H. 2005. Biogeochemistry of selenium and its impact on food chain quality and human health. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*. **18**. 309-318.

Halamíčková A, Stavělová H, Malota L, Kopřiva V. 2009. Dietní dávka selenu u seniorů s onkologickým a diabetickým onemocněním. *Hygiena* **2**:52-56.

Heczková K. 2009. Vliv selenu na kolorektální karcinom. *Výživa a potraviny* **64**:5-8.

Holeček, V. 2010. Oxidační stres u nádorových onemocnění. *Klinická biochemie a metabolismus* **18**:225-230.

Huang Y, Wang Q, Gao J, Lin Z, Yuan L, Yin X. 2013. Daily Dietary Selenium Intake in a High Selenium Area of Enshi, China. *Nutrients* **5**:700-710.

Chiba M, Fujimoto N, Oyamada N, Kikuchi M. 1985. Interactions between selenium and tin, selenium and lead, and their effects on alad activity in blood. *Biological Trace Element Research* **8**:263-282.

Infante HG, Hearn R, Catterick T. 2005. Current mass spectrometry strategies for selenium speciation in dietary sources of high – selenium. *Analytical and Bioanalytical Chemistry* **382**:957–967.

Jihen EH, Imed M, Fatima H, Abdelhamid K. 2009. Protective effects of selenium (Se) and zinc (Zn) on cadmium (Cd) toxicity in the liver of the rat: Effects on the oxidative stress. *Ecotoxicology and Environmental Safety* **72**:1559-1564.

Kieliszek M, Błażej S. 2013. Selenium: Significance, and outlook for supplementation. *Nutrition* **29**:713-718.

Klognerová K, Vosmanská M, Száková J, Mestek O. 2014. Vliv pěstebních podmínek na speciaci selenu v tkáních řepky olejky. *Chemické listy* **109**:216-222.

Knotek Z, Míšek I. 1999. Chov a využití pokusných zvířat - 1. díl: Základy chovu, zoohygieny, experimentální práce a legislativních norem. Společnost pro vědu o laboratorních zvířatech. Brno.

Kotyzová D, Černá P, Lešetický L, Eybl V. 2010. Trace Elements Status in Selenium-Deficient Rats—Interaction with Cadmium. *Biological Trace Element Research* **136**:287-293.

Kvíčala J. 1999. Selen a organismus. *Časopis lékařů českých* **4**:99-106.

Kvíčala J. 2003a. Zvýšení příjmu mikronutrientu selenu – utopie, fikce, prozřetelnost či nutnost? *Interní medicína pro praxi* **6**:295–300.

Kvíčala J. 2003b. Zvýšení příjmu mikronutrientu selenu – utopie, fikce, prozřetelnost či nutnost? – II. část. *Interní medicína pro praxi* **7**:354-359.

Kvíčala J. 2004. Úloha selenoproteinů v organismu. *Vox pediatrics* **9**:36.

Kvíčala J, Zamrazil V, Němeček J, Jiránek J. 2008. Selenium status of South Bohemia seniors characterized by INAA of blood serum. *Biochemistry and Biomedicine* **278**:537-541.

Ludvíková E, Pavlata L, Vyskočil M, Jahn P. 2005. Selenium status of horses in the Czech Republic. *Acta Veterinaria Brno* **74**:369-375.

Lymbury RS, Marino MJ, Perkins AV. 2010. Effect of dietary selenium on the progression of heart failure in the ageing spontaneously hypertensive rat. *Molecular nutrition* **54**:1436-1444.

Matsumoto KI, Terada S, Ariyoshi M, Okajo A, Hisamatsu A, Ui I, Endo K. 2009. The Effect of Long-Running Severe Selenium-Deficiency on the Amount of Iron and Zinc in the Organs of Rats. *Molecules* **14**:4440-4453.

Mehdi Y, Hornick JL, Istasse L, Dufrasne I. 2013. Selenium in the Environment, Metabolism and Involvement in Body Functions. *Molecules* **18**:3292-3311.

Mistry HD, Broughton-Pipkin F, Redman CWG, Poston L. 2012. Selenium in reproductive health. *American Journal of Obstetrics and Gynecology* **206**:21-30.

Monedero-Prieto MJ, González-Pérez JM, González-Reimers E, Hernández-Pérez O, Monereo-Muñoz M, Galindo-Martín L, Quintero-Platt G, Abreu-González P. 2014. Effects of Selenium on Liver and Muscle Contents and Urinary Excretion of Zinc, Copper, Iron and Manganese. *Biological Trace Element Research* **158**:224-229.

Moreno-Reyes R, Suetens C, Mathieu F, Begaux F, Zhu D, Rivera MT, Boelaert M, Nève, J, Perlmutter N, Vanderpas J. 1998. Kashin–Beck Osteoarthropathy in Rural Tibet in Relation to Selenium and Iodine Status. *New England Journal of Medicine* **339**:1112-1120.

Müllerová D. 2003. Zdravá výživa a prevence civilizačních nemocí ve schématech: z pohledu jednotlivce i populačních skupin. Triton. Praha.

Myška A, Száková J, Fučíková A, Mlejnek P, Zídek V, Tremlová J, Mestek O, Koplík R, Zídková J, Melčová M, Tlustoš P. 2016. The effect of selenium-enriched defatted rape seeds on tissue cadmium and essential elements utilization in rats. *Czech Journal of Animal Science* **61**:496–505.

Naughton D. 2012. *The Natural History of Canadian Mammals*. University of Toronto Press. Toronto.

Navarro-Alarcon M, Cabrera-Vique C. 2008. Selenium in food and the human body: A review. *Science of The Total Environment* **400**:115-141.

Nowak RM. 1999. *Walker's Mammals of the World*. The Johns Hopkins University Press. Baltimore and London.

Ošťádalová I, Babický A, Obenberger J. 1978. Cataract induced by administration of a single dose of sodium selenite to suckling rats. *Experientia* **34**:222-223.

Ošťádalová I. 2013. Biological Effects of Selenium Compounds With a Particular Attention to the Ontogenetic Development. *Physiological Research* **62**:1-16.

Pavlata L, Illek J, Pechová A, Matějček M. 2002. Selenium status of cattle in the Czech Republic. *Acta Veterinaria Brno* **71**:3-8.

Pravenec M, Flachs P, Kubová, H. 2012. Biomodely. *Vesmír* **91**:527.

Pyrzynska K. 2009. Selenium speciation in enriched vegetables. *Food chemistry* **114**:1183-1191.

Rayman MP. 2009. Selenoproteins and human health: Insights from epidemiological data. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - General Subjects* **1790**:1533-1540.

Rayman MP. 2012. Selenium and human health. *The Lancet* **379**:1256-1268.

Reilly C. 2006. Selenium in food and health. Springer. New York.

Rozbicka-Wieczorek A, Czauderna M, Więsyk E, Radzik-Rant A. 2016. Selenium species in diet containing carnosic acid, fish and rapeseed oils affect fatty acid profiles in lamb muscles. *Journal of Animal and Feed Sciences* **25**:216-225.

Rýdlová M, Růnová K, Száková J, Fučíková A, Hakenová A, Mlejnek P, Zídek V, Tremlová J, Mestek O, Kaňa A, Zídková J, Melčová M, Truhlářová K, Tlustoš P. 2017. The response of macro- and micronutrient nutrient status and biochemical processes in rats fed on a diet with selenium-enriched defatted rapeseed and/or vitamin E supplementation. *BioMed Research International* Article ID 6759810.

Sager M. 2006. Selenium in agriculture, food, and nutrition. *Pure and Applied Chemistry* **78**:111-133.

Schomburg L, Riese C, Michaelis M, Griebert E, Klein MO, Sapin R, Schweizer U, Köhrle J. 2006. Synthesis and Metabolism of Thyroid Hormones Is Preferentially Maintained in Selenium-Deficient Transgenic Mice. *Endocrinology* **147**:1306-1313.

Schrauzer GN. 2009. Selenium and selenium-antagonistic elements in nutritional cancer prevention. *Critical Reviews in Biotechnology* **29**:10-17.

Stadlober M, Sager M, Irgolic KJ. 2001. Effects of selenate supplemented fertilisation on the selenium level of cells – Identification and quantification of selenium compounds by HPLC-ICP-MS. *Food Chemistry* **73**:357–366.

Steinnes E. 2009. Soils and geomedicine. *Environmental Geochemistry and Health: Official Journal of the Society for Environmental Geochemistry and Health* **31**:523-535.

Střítecká H, Hlubik P, Nováková J. 2009. Serum selenium status in a group of 386 volunteers from the Czech Republic Rescue Fire Brigades. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism* **2**:133–138.

Thiry C, Ruttens A, De Temmerman, L, Schneider, YJ, Pussemier L. 2012. Current knowledge in species-related bioavailability of selenium in food. *Food Chemistry* **130**:767-784.

Tingii U. 2003. Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. *Toxicology Letters* **137**:103-110.

- Tomza-Marciniak A, Pilarczyk B, Bąkowska M, Pilarczyk R, Wójcik J, Marciniak A, Hendzel D. 2011. Relationship Between Selenium and Selected Heavy Metals Concentration in Serum of Cattle from a Non-Polluted Area. *Biological trace element research* **144**:517-524.
- Tvrda J, Tůmová N, Fučíková A, Zídková J, Melčová M, Száková J, Mlejnek P, Zídek V, Mestek O, Kaňa A, Tlustoš P. 2015. The biochemical and hematological response of rats on defatted rape seeds addition into the diet. *Academia Journal of Agricultural Research* **3**:395-401.
- van Zelst, M., Hesta, M., Gray, K., Staunton, R., Du Laing, G., Janssens, G. P. J. 2016. Biomarkers of selenium status in dogs. *BMC Veterinary Research* **12**:1-12.
- Velíšek J. 1999. *Chemie potravin*. OSSIS. Tábor.
- Velíšek J, Hajšlová J. 2009. *Chemie potravin*. OSSIS. Tábor.
- WHO. 1996. Selenium in drinking water. *Guideline for Drinking – water Quality* **2**:1–14.
- Yang F. 2006. Keshan disease and mitochondrial cardiomyopathy. *Science in China Series C: Life Sciences* **49**:513-518.
- Young VR, Nahapetian A, Janghorbani M. 1982. Selenium bioavailability with reference to human nutrition. *American Journal of Clinical Nutrition* **35**:1076–1088.
- Yu S, Beynen AC. 2001. The lowering effect of high copper intake on selenium retention in weanling rats depends on the selenium concentration of the diet. *Journal of Animal Physiology and Animal Nutrition* **85**:29-37.
- Zadák Z. 2002. *Výživa v intenzivní péči*. Grada. Praha.
- Zarczyńska K, Sobiech P, Radwińska J, Rekawek W. 2013. Effects of selenium on animal health. *Journal of Elementology* **18**:329-340.
- Zhang F, Guo X, Wang W, Wu S, Ma W, Yan H. 2012. Expression profile analysis of mycotoxin-related genes in cartilage with endemic osteochondropathy kashin-beck disease. *BMC Musculoskeletal Disorders* **13**:130.
- Zhu YG, Pilon-Smits EAH, Zhao FJ, Williams PN, Meharg AA. 2009. Selenium in higher plants: understanding mechanisms for biofortification and phytoremediation. *Trends in Plant Science* **14**:436-442.

Žíla O. 2016. Metabolismus Se přijímaného savčím organismem ve formě Se-oboahacené Brassica napus [MCs. Thesis]. Česká zemědělská univerzita, Praha.