

**Česká zemědělská univerzita v Praze**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních**  
**zdrojů**  
**Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin**



**Interakce selenu a vitamínu E v organismu**  
**laboratorního potkana (*Rattus norvegicus*)**

**Diplomová práce**

**Autor práce: Bc. Michaela Rýdlová**

**Vedoucí práce: prof. Ing. Jiřina Száková, CSc.**

© 2018 ČZU v Praze

## **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Interakce selenu a vitamínu E v organismu laboratorního potkana (*Rattus norvegicus*)" 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 neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 26.03.2018

---

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala ze srdce vedoucí práce prof. Ing. Jiríně Szákové, CSc. za cenné rady a pomoc při psaní této práce. V neposlední řadě bych ráda poděkovala celé mé rodině, především rodičům a manželovi, kteří mě při studiu významně podporovali.

# Interakce selenu a vitamínu E v organismu laboratorního potkana (*Rattus norvegicus*)

## Souhrn

Pokus byl proveden se 40 potkany kmene Wistar chovanými ve fyziologickém ústavu Akademie věd v Krči. Potkani byli rozděleni do pěti skupin podle předem zvolené směsi krmiva dle sledovaných parametrů, kterou byli krmeni *ad libitum* po dobu 3 měsíců. První skupina A byla kontrolní a krmná směs neobsahovala žádné aditivum. Ve skupině B a C byl sójový extrahovaný šrot nahrazen řepkovým extrahovaným šrotem, který pocházel ze selenem ošetřené kultury řepky, a ve skupině C byl ještě navíc přidán vitamin E. Krmná směs skupiny D a E obsahovala navíc selen ve formě seleničitanu sodného a zinek a skupina E obsahovala navíc i přídavek vitamínu E oproti kontrolní skupině A. Po ukončení experimentu byli potkani při anestezii usmrceni a vykrevni. Byla odebrána krev a zvolené orgány (ledviny, játra a varlata), které byly lyofilizovány a následně homogenizovány pomocí laboratorního mlýnku. Celkový obsah prvků ve vzorcích byl stanoven po rozkladu na mokré cestě s mikrovlnným ohřevem v zařízení Ethos 1. Celkové obsahy jednotlivých prvků ve vzorcích byly stanoveny pomocí hmotnostní spektrometrie, optické emisní spektrometrie a atomové absorpční spektrometrie. Získaná data byla zpracována pomocí programu StatSoft Statistika 12 pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu na hladině významnosti  $\alpha=0,05$ .

Po zhodnocení všech výsledků byla naše hypotéza, že příjem a biologický účinek selenu včetně jeho interakcí v organismu potkanů je ovlivněn formou podaného selenu, organická vs. anorganická forma, potvrzena. V případě organické formy selenu nedošlo k statisticky významným změnám v koncentraci sledovaných prvků. Naopak při podávání anorganické formy selenu došlo k zvýšení koncentrace selenu v krvi i ve všech zkoumaných orgánech, což je důsledek vyšší dávky anorganického selenu ve srovnání s přídavkem selenizovaného řepkového šrotu. Vysoké dávky selenu ovlivnily také koncentraci i jiných stopových prvků, jako je zinek a měď. Vliv vysoké koncentrace selenu v játrech způsobil vyplavování jaterní mědi a tím zvýšení její koncentrace v krvi a ledvinách. Zjištěný zvýšený obsah zinku a mědi v krvi také může signalizovat aktivaci enzymatického systému superoxid dismutázy, kde je měď spolu se zinkem klíčovým faktorem v antioxidačním mechanismu.

**Klíčová slova:** selen, dieta, vitamin E, potkan (*Rattus norvegicus*)

# Selenium-vitamin E interactions in laboratory rat organism (*Rattus norvegicus*)

## Summary

An experiment was carried out with 40 Wistar rats kept in the Physiological Institute of the Academy of Sciences of Krč. The rats were divided into five groups according to a preselected feed mixture, which were fed *ad libitum* for 3 months. The first group A was control and the feed mixture did not contain any additives. In group B and C, soybean extract was replaced by rape-extracted scrap, which originated from selenium-treated rape crops, and vitamin E was added to group C. The feed mixture of group D and E additionally contained selenium in the form of sodium selenite and zinc, and the group E additionally contained the addition of vitamin E. After the experiment, the rats were anesthetized and killed. Blood and organs (kidneys, liver and testicles) were removed and then they were lyophilized and subsequently homogenized by a laboratory grinder. The total content of the elements was determined after decomposition on a wet microwave heating path in the Ethos 1 device. The total contents of the individual element were determined by mass spectrometry, optical emission spectrometry and atomic absorption spectrometry. The obtained data was processed using StatSoft Statistics 12 by a single factor analysis of variance at the significant level  $\alpha=0.05$ . Our hypothesis, that the intake and biological effect of selenium, including its interactions in the rat organism, is affected by the administered selenium form, organic versus inorganic form, was confirmed. In case of organic selenium, there were no statistically significant changes in the concentration of the monitored elements. Conversely, when an inorganic selenium is administered, an increase in selenium concentration occurs in the blood and all examined organs, as a result of higher doses of inorganic selenium compared to the addition of selenized rape scrap. High concentrations of selenium also affected the concentration of the other trace elements such as zinc and copper. The effect of high concentrations of selenium in the liver has caused hepatic copper leaching and increased blood and kidney concentration of copper. The detected elevated zinc and copper content in the blood may also signal the activation of the enzyme superoxide dismutase system, where copper and zinc are key factors in the antioxidant mechanism.

**Keywords:** selenium, diet, vitamin E, rat (*Rattus norvegicus*)

# Obsah

<b>1</b>	<b>Úvod</b> .....	<b>8</b>
<b>2</b>	<b>Vědecká hypotéza a cíl práce</b> .....	<b>9</b>
<b>3</b>	<b>Přehled literatury</b> .....	<b>9</b>
<b>3.1</b>	<b>Oxidační stres</b> .....	<b>9</b>
3.1.1	Úloha mitochondrií.....	11
3.1.2	„Aktivátory“ oxidačního stresu .....	11
3.1.2.1	Teorie volného radikálu.....	12
3.1.2.2	Superoxidový radikál.....	12
3.1.2.3	Peroxid vodíku.....	12
3.1.2.4	Hydroxylový radikál.....	13
3.1.2.5	Hypochlorová kyselina .....	13
3.1.2.6	Alkoxylový radikál/Peroxylový radikál .....	13
3.1.2.7	Oxid dusnatý.....	13
3.1.2.8	Peroxyinitrit .....	14
3.1.3	Inhibitory oxidačního stresu .....	14
<b>3.2</b>	<b>Selen</b> .....	<b>14</b>
3.2.1	Zdroje, výskyt a využití selenu.....	14
3.2.2	Metabolismus selenu .....	15
3.2.3	Vliv selenu na organismy a jeho role jako antioxidantu .....	17
3.2.4	Odezva organismu na nedostatek nebo nadbytek selenu .....	20
3.2.5	Zastoupení selenu v potravinách a krmivech .....	22
<b>3.3</b>	<b>Vitamín E</b> .....	<b>24</b>
3.3.1	Výskyt a charakteristika vitamínu E.....	24
3.3.2	Role vitamínu E v organismu .....	25
3.3.3	Interakce vitamínu E a selenu.....	28
<b>4</b>	<b>Materiál a metody</b> .....	<b>29</b>
<b>4.1</b>	<b>Pokusná zvířata</b> .....	<b>29</b>
<b>4.2</b>	<b>Schéma pokusu a nutriční složení krmných směsí</b> .....	<b>29</b>
<b>4.3</b>	<b>Analytické metody</b> .....	<b>30</b>
<b>4.4</b>	<b>Statistické metody</b> .....	<b>31</b>
<b>5</b>	<b>Výsledky</b> .....	<b>31</b>
<b>5.1</b>	<b>Vliv přídatku selenu a vitamínu E na hmotnost potkanů</b> .....	<b>31</b>

5.2	Obsah prvků v krmné směsi pro potkany ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ).....	32
5.3	Obsah prvků v krvi potkanů ( $\text{mg.l}^{-1}$ ) .....	33
5.4	Obsah prvků v játrech potkanů ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ).....	34
5.5	Obsah prvků v ledvinách ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ) .....	35
5.6	Obsah prvků ve varlatech ( $\text{mg.kg}^{-1}$ ).....	37
6	Diskuze.....	38
7	Závěr .....	43
8	Seznam použité literatury .....	44
8.1	Seznam použitých knižních zdrojů .....	44
8.2	Seznam použitých internetových zdrojů.....	48

# 1 Úvod

Selen byl po dlouhou dobu vnímán pouze jako toxický prvek, avšak v průběhu desetiletí se znalosti o účincích selenu na živé organismy výrazně vyvíjely a v dnešní době je uznáván jako životně důležitý prvek pro zdraví lidí i zvířat. Na druhou stranu může být pro organismus toxický i v relativně velmi malých koncentracích. Hranice mezi nedostatkem a nadbytkem tak může být velice úzká. Můžeme říct, že negativní vliv na organismus může být velmi druhově specifický a jednotlivé druhy mohou na to reagovat různě.

Důležitost selenu spočívá v tom, že je součástí významných selenoproteinů a enzymů, které jsou nezbytné pro správnou funkci antioxidantních mechanismů v těle, při tvorbě hormonů štítné žlázy, syntéze DNA, pro plodnost a reprodukci lidí i zvířat, a tak celkové ochraně vůči oxidačnímu stresu v těle. Do potravinového řetězce vstupuje přes rostliny a jeho koncentrace v potravinách je určena mnoha geologickými a geografickými faktory jako je koncentrace selenu, druh půdy, pH, vlhkost, množství organických látek či hydroxidů železa, půdní mikroorganismy a jiné. Nedostatek Se v půdě může vést k rozvoji závažných chorob zvířat i lidí, které mohou mít i fatální následky. Z tohoto důvodu se v některých státech přistoupilo k umělému doplňování selenu do krmiv zvířat, do hnojiv pro zemědělské plodiny nebo potravinových doplňků pro lidskou spotřebu. Přesto je stále ve fázi zkoumání, v jaké formě je příjem selenu výhodnější, organická vs. anorganická forma. Existují například rostliny, které se dokázaly vyrovnat s vysokým množstvím selenu v půdě, dokáží ho v sobě akumulovat, aniž by došlo k výraznému poškození. Mohou být tak dobrým a přirozeným zdrojem selenu v potravě. Je nám také známo, že selen spolu s vitamínem E a jinými antioxidanty má pozitivní vliv na prevenci nádorových onemocnění v lidském těle. Výživa zvířat a lidí by proto měla být co nejpestřejší, aby se organismu dostávalo všech nutných esenciálních prvků zahrnující i selen.

Úloha selenu v různých metabolických dráhách je významně spojena s funkcí vitamínu E. Zdá se, že i on hraje na úrovni výživy důležitou roli v procesu stárnutí u zvířat a lidí. Kde je přítomen vitamín E v adekvátním množství, tam se nevyskytuje oxidační poškození. Nedostatek vitamínu může způsobit vážné neurologické poruchy nebo svalovou dystrofii. Naopak četné studie nám dokazují, že tento vitamín má důležitou roli také v prevenci vůči kardiovaskulárním chorobám, některým druhům rakoviny, katarakty nebo jako obrana před škodlivými účinky znečištění ovzduší na plíce.



## 2 Vědecká hypotéza a cíl práce

Selen je důležitým esenciálním prvkem potřebným pro metabolismus savců. Byla prokázána účinnost selenoproteinů a jejich enzymatických funkcí pro správný růst a vývoj. Selenoproteiny jsou zapojeny v nejrůznějších metabolických procesech, například při vývoji čichového epitelu a při metabolismu štítné žlázy. Selen rovněž snižuje oxidativní poškození buněk a zpomaluje proces stárnutí. Selen je součástí důležitých antioxidačních enzymů, především glutathion peroxidasy, a patří mezi nejaktivnější složky antioxidační a antiradikálové ochrany organismu. Spolu s vitamínem E je součástí ochranného systému proti nepříznivému vlivu oxidace, přičemž jejich účinek je synergický.

Cílem této práce je posoudit míru synergického účinku selenu a vitamínu E v organismu laboratorních potkanů v závislosti na dávce a formě podaného selenu. Dále bude sledován příjem dalších významných esenciálních prvků a jejich vzájemné interakce.

Hypotéza: příjem a biologický účinek selenu včetně jeho interakcí v organismu potkanů je ovlivněn formou podaného selenu (anorganická vs. organická forma) a dávkou tohoto prvku v dietě.

## 3 Přehled literatury

### 3.1 Oxidační stres

Oxidační stres je fyziologický stav, který nastává při závažné nerovnováze mezi produkcí reaktivních forem kyslíku a antioxidační ochranou. V případě že existuje rovnováha mezi antioxidy a oxidanty, nastává buněčná homeostáza, tzn. buňka se nachází v oxidační rovnováze. Pokud dojde k porušení rovnováhy, buňky podléhají oxidačnímu stresu (Mandelker, 2009). Je uznáváno, že ROS (reaktivní formy kyslíku) a oxidační stres hrají klíčovou roli ve fyziologii a patofyziologii. Oxidační stres napomáhá při důležitých metabolických drahách v těle např. při produkci nové tkáně, hojení ran a také umožňuje organismu adaptaci na stres či onemocnění. Pro fungování některých buněk je oxidační stres nezbytný. V případě, že je oxidačního stresu nadbytek, může dojít k poškození proteinů, buněčných membrán, DNA a různých tkání těla. Důležitou roli v oxidačním stresu hrají mitochondrie. Ty produkují energii pro život, obsahují vlastní DNA a jsou hlavními producenty volných forem radikálů, ale zároveň jsou hlavním terčem útoku oxidačního stresu.

S ohledem na tento fakt vyplývá, že poškození mitochondriální funkce může vést až k poškození buněčných funkcí. (Mandelker, 2009). Některé ROS hrají roli fyziologických signalizačních posílů, kteří napomáhají udržovat homeostázu. Nízká hladina oxidačního stresu je pozitivní faktor známý jako eustres. Bylo potvrzeno, že přebytečné antioxidanty mohou odstranit příliš mnoho ROS a tím zhoršit signalizaci a že antioxidanty jako takové mohou být ve vysokých dávkách škodlivé (Niki, 2015).

K obecným příčinám oxidačního stresu patří toxemie, infekce, hypoxie-ischemie, hyperglykemie, xenobiotika (metabolismus léků, chemikálií a toxinů), hyperlipidemie, hyperproteinemie, onkologické procesy, záněty, fagocytární a imunitní reakce a zvýšené metabolické aktivity. Kromě toho stárnoucí tkáně často podléhají v některých fázích své existence oxidačnímu stresu, protože za některých okolností mitochondrie selhávají při produkci dostatečného množství ATP k udržení svých vlastních interních potřeb. Podle všeho podléhá každá buňka v některém stádiu své existence oxidačnímu stresu. Následně je pak přímo postižena i většina orgánových soustav, což má přímý dopad na zdravotní stav. Patří sem poškození ledvin, srdce, cirkulační soustavy, jater, slinivky břišní, centrální nervové soustavy a nervové tkáně, střev, nadledvinek, kostní dřeně, plic a štítné žlázy (Mandelker, 2009). Kvíčala et al. (2008) ve svém pětiletém výzkumu na seniorech v Jižních Čechách upozorňuje, že nedostatek selenu může změnit metabolismus hormonů štítné žlázy a také snížit aktivitu důležitých selenoproteinů.

Jako významný buněčný antioxidant je označován glutathion. Nerovnováha antioxidantů a oxidantů může být kvalifikována v plazmě jako redox stav redukováného glutathionu (GSH) k okysličenému glutathionu (GSSG). Při normálním zdravotním stavu napomáhá účinnost GSSG reduktázy udržovat rovnováhu buněčné GSH v převládajícím redukováném stavu. K této redukci však dochází pouze v přítomnosti NADPH, který je životně důležitý pro likvidaci volných radikálů v mitochondriích a cytosolu, ve kterých vznikají. Může tak být limitujícím faktorem v regeneraci GSH, Důležitým antioxidačním enzymem je zde GSH-Px (Mandelker, 2009).

Antioxidační enzymy kataláza (CAT), glutathion peroxidáza (GSH-Px) a superoxiddismutáza (SOD) jsou obranou proti volným radikálům a podílejí se na jejich likvidaci Tyto antioxidační enzymy, umístěné uvnitř buněk, jsou schopny odstranit volné radikály a nastolit buněčnou rovnováhu. V případě, že vzniká nadměrné množství těchto stresových stavů, dochází k překonání antioxidačního systému buňky a následnému vzniku volných radikálů. Nerovnováha vzniká v případě přebytku ROS nebo z nedostatku

antioxidantů. Po oxidaci buněčných struktur dochází k uvolnění radikálů do krevního oběhu a do okolních tkání. Mohou pak inicializovat řetězec oxidačních reakcí vedoucí k destrukci tkání a orgánů, což může vést k množství chorobných stavů. Řetězová reakce však může být umírněna různými sekundárními antioxidanty, jako je vitamín E, selen, vitamín C, zinek, koenzym Q 10,  $\alpha$ -lipoová kyselina a bioflavonoidy (např. karotenoidy, polyfenoly). Tyto sekundární antioxidanty mohou být doplněny potravou a jinými doplňky (Mandelker, 2009).

### **3.1.1 Úloha mitochondrií**

Mitochondrie, žijící dříve jako volně žijící organismus, hraje ústřední úlohu v buněčném metabolismu. Téměř každá buňka ve zvířecím nebo lidském těle obsahuje mitochondrie. Produkují většinu energie ve formě ATP, kterou tělo využívá. Proto v některých buňkách najdeme o dost více těchto organel, např. v srdečním sval obsahuje mnoho tisíc mitochondrií, zatímco nervové buňky mohou obsahovat jen několik. Mitochondrie jsou hlavním producentem volných radikálů a syntetizují také NO a jsou hlavním cílem oxidačního poškození. Právě vznik  $O_2^-$  může poškodit životně důležité složky jako je DNA (Mandelker, 2009).

Mitochondrie jsou složeny ze dvou vysoce specializovaných membránových systémů, které nazýváme vnitřní a vnější membrána. Vnější membrána zajišťuje permeabilní přenos mezi mitochondrií a cytoplazmou pomocí porinů, které zajišťují přenos směrem dovnitř. Vnitřní membrána je prohýbaná do záhybů, tzv. krist, které zvětšují její plochu pro vznik ATP. Na rozdíl od vnější membrány neobsahuje žádné poriny a je tak pro okolí nepermeabilní. Proto ionty a molekuly vyžadují speciální membránové transportéry (Mandelker, 2009).

V mitochondriích probíhá mnoho důležitých biochemických reakcí např. oxidace pyruvátu, cyklus kyseliny citrónové, transport elektronů, oxidační fosforylace a tvorba ATP. Některé mitochondrie mají orgánově specifické funkce (Mandelker, 2009).

### **3.1.2 „Aktivátory“ oxidačního stresu**

Aktivátory oxidačního stresu nazýváme volnými radikály. Volné radikály jsou deriváty kyslíku (reaktivní sloučeniny kyslíku – ROS – reactive oxygen species) a deriváty dusíku (RNS – reactive nitrogen species). Za normálních okolností se stále tyto molekuly produkují ve velice reaktivních formách odvozených od kyslíku a dusíku. Jelikož obsahují jeden nebo více nepárových elektronů a jsou schopné nezávislé existence, nazývají se volné radikály.

Tyto radikály se vyskytují všude, kde dochází k patologickým procesům, různému buněčnému poškození ale i v normálních podmínkách. Volné radikály jsou vytvářeny různými procesy, ve velkém množství během infekce, nemoci i z buněčných mitochondrií. Naopak často mohou napomáhat i v boji proti nákaze nebo nemoci. Avšak ve většině případů dochází ke kumulaci většího množství nevhodných volných radikálů a tím ke vzniku oxidačního stresu (Mandelker, 2009).

Vedle velmi dobře známých generátorů  $O_2^-$  jako mitochondriální redukce či oxidace a cytochrom P450 monooxygenáza existuje ještě několik dalších např. xantinoxidáza, cyklooxygenáza, lipoxygenáza, mitochondriální oxidáza, NOS a NADH oxidáza (Mandelker, 2009).

#### 3.1.2.1 Teorie volného radikálu

Teorii posuzující působení fenoménu stárnutí prezentoval poprvé Harman (1956), který tvrdí, že stárnutí je vyvoláno volnými radikály. Naznačoval také souvislost mezi rychlostí metabolismu (mitochondriální spotřeba kyslíku) a délkou života (Balaban et al., 2005). Oxidační stres a poškození vyvolané volnými radikály poškozují buněčné tkáně, zvláště bílkoviny, DNA a tuky, a to je součástí stárnutí a různých chronických onemocnění (Mandelker, 2009).

#### 3.1.2.2 Superoxidový radikál

Redukcí kyslíku ze superoxidové formy se tvoří  $O_2^-$ . Tento kyslíkový radikál je tvořen autooxidační reakcí nebo vzniká v mitochondriálním elektronovém transportním řetězci. Zaktivizuje se v případě styku s jinými volnými radikály jako je oxid dusnatý nebo s některými kovy jako je železo. Je vysoce selektivní a může ve tkáních působit prospěšně i škodlivě. Představuje životně důležitou součást buněčné signální cesty, která poskytuje důležitou genetickou informaci (Mandelker, 2009).

#### 3.1.2.3 Peroxid vodíku

Peroxid vodíku je generován mnoha enzymy; ve skutečnosti je součástí každého biologického systému. Nemá párový elektron, tudíž není brán jako radikál, přesto molekula  $H_2O_2$  může degradovat některý hemoprotein, např. myoglobin či hemoglobin, a tím uvolní železo. Reakce  $H_2O_2$  s kovy jako je železo se nazývá Fentonova reakce a může generovat nebezpečnější volné radikály (Mandelker, 2009).

#### 3.1.2.4 Hydroxylový radikál

Nejúčinnější hydroxylový radikál často se tvoří během Fentonovy reakce. Vytváří peroxynitrit reakcí kyslíku s kyselinou hypochlorovou ( $\text{ONOO}^-$ ) a z ionizačního záření. Tento radikál napadá a poškozuje většinu buněčných tkání (Mandelker, 2009).

#### 3.1.2.5 Hypochlorová kyselina

Hypochlorová kyselina ( $\text{HOCl}$ ) se vytváří z  $\text{H}_2\text{O}_2$  a enzymu myeloperoxidázy. Je vysoce reaktivní a rozpouští tuky. Nebezpečná je zvláště proteinovým strukturám, ve kterých může okysličovat a poškozovat biomolekuly (Mandelker, 2009).

#### 3.1.2.6 Alkoxylový radikál/Peroxylový radikál

Alkoxylový ( $\text{RO}$ ) radikál/Peroxylový radikál ( $\text{ROO}$ ) patří mezi organické radikály tvořící se při lipidových peroxidačních reakcích. Nejsou stabilní a reagují ochotně s molekulárním kyslíkem, tím vytváření  $\text{ROO}$  nebo  $\text{RO}$  radikály mastných kyselin. Nové radikály jsou taktéž nestabilní a mohou tak reagovat s jinými molekulami volných mastných kyselin a vytvářet jiné radikály mastných kyselin a  $\text{H}_2\text{O}_2$ . Vzniká tzv. řetězová reakce a zastaví se tehdy, až vznikne neradikálová sloučenina. Některé antioxidanty jako je vitamín E mohou tuto řetězovou reakci zastavit (Mandelker, 2009).

#### 3.1.2.7 Oxid dusnatý

Tento vysoce reaktivní plyn působí v těle jako důležitá signální molekula. Tvoří se v těle působením enzymu syntetázy oxidu dusíku ( $\text{NOS}$  – nitric oxide synthase). V přítomnosti kyslíku a aminokyseliny L-Argininu je přeměrován na  $\text{NO}$  a další aminokyselinu, L-citrulin. Existují tři typy  $\text{NOS}$ : identifikovaný v nervové soustavě (neuronální  $\text{NOS}$ ), v endoteliálních tkání (endoteliální  $\text{NOS}$ ) a produkovaný fagocyty a makrofágy (indukovaný  $\text{NOS}$ ) po vystavení toxinům a cytokinům.  $\text{NO}$  se může šířit přes buněčné membrány díky svému plynnému stavu a má tím důležité signalizační vlastnosti zvláště týkající se relaxaci krevních cest. Je škodlivý především v případě uvolnění nadměrného množství (Mandelker, 2009).

### 3.1.2.8 Peroxynitrit

Peroxynitrit ( $\text{ONOO}^-$ ) je oxidační a nitrační činidlo. Oxidační vlastnosti tohoto radikálu poškozují široké spektrum biomolekul, včetně bílkovin a DNA (Mandelker, 2009).

### 3.1.3 Inhibitory oxidačního stresu

Inhibitory nebo také sekundární antioxidanty mohou minimalizovat poškození buňky a mitochondriální membrány či DNA neutralizací ROS (Balaban et al. 2005). Některé antioxidanty jsou důležité pro údržbu činnosti systémů zbavujících tělo volných radikálů, jako stabilizátory činnosti mitochondrií a prostředky proti stárnutí. Na zvířecích modelech bylo dokázáno, že antioxidanty mohou předejít změnám souvisejícím se stárnutím v mitochondriální struktuře a funkci. K předcházení těmto změnám jsou účinné antioxidanty jako vitamíny C a E, CoQ, selen a thioly (Mandelker, 2009). Důležitým ukazatelem antioxidační odezvy organismu je například i zvýšení hladiny SOD (Balaban et al. 2005).

Vitamín C vstupuje do mitochondrií prostřednictvím pomocného nosiče glukózy a poskytuje mitochondriální ochranu před oxidačním poškozením. Mitochondrie využívají vitamín C k tlumení mitochondriální ROS a inhibují vliv oxidačního poškození mtDNA (Mandelker, 2009).

Koenzym Q se ve vysoké koncentraci nachází ve vnitřních mitochondriálních membránách. Je důležitý pro transfer elektronů v mitochondriálním oxidačním dýchacím řetězci, jehož hlavní funkcí je „výroba“ ATP. Může reagovat s jinými ROS (Mandelker, 2009).

$\alpha$ -lipoová kyselina vyvolává snížení hladiny lipidové peroxidace a GSSG a zvyšují hladinu GSH a vitamínů C a E a zlepšuje činnost mitochondriálních enzymů (Mandelker, 2009).

Selen a vitamín E a jejich úloha v živočišném organismu a zejména v antioxidační odezvě organismu jsou vzhledem k zaměření této práce popsány v samostatných kapitolách.

## 3.2 Selen

### 3.2.1 Zdroje, výskyt a využití selenu

Selen objevil v roce 1817 švédský chemik Jons Jacob Berzelius, který si všiml nezvyklé červené usazeniny na stěnách komor při výrobě kyseliny sírové. Berzelius tento prvek nazval selen z řeckého slova „Selene“, což je jméno starořecké bohyně měsíce. Byl zařazen do VI A

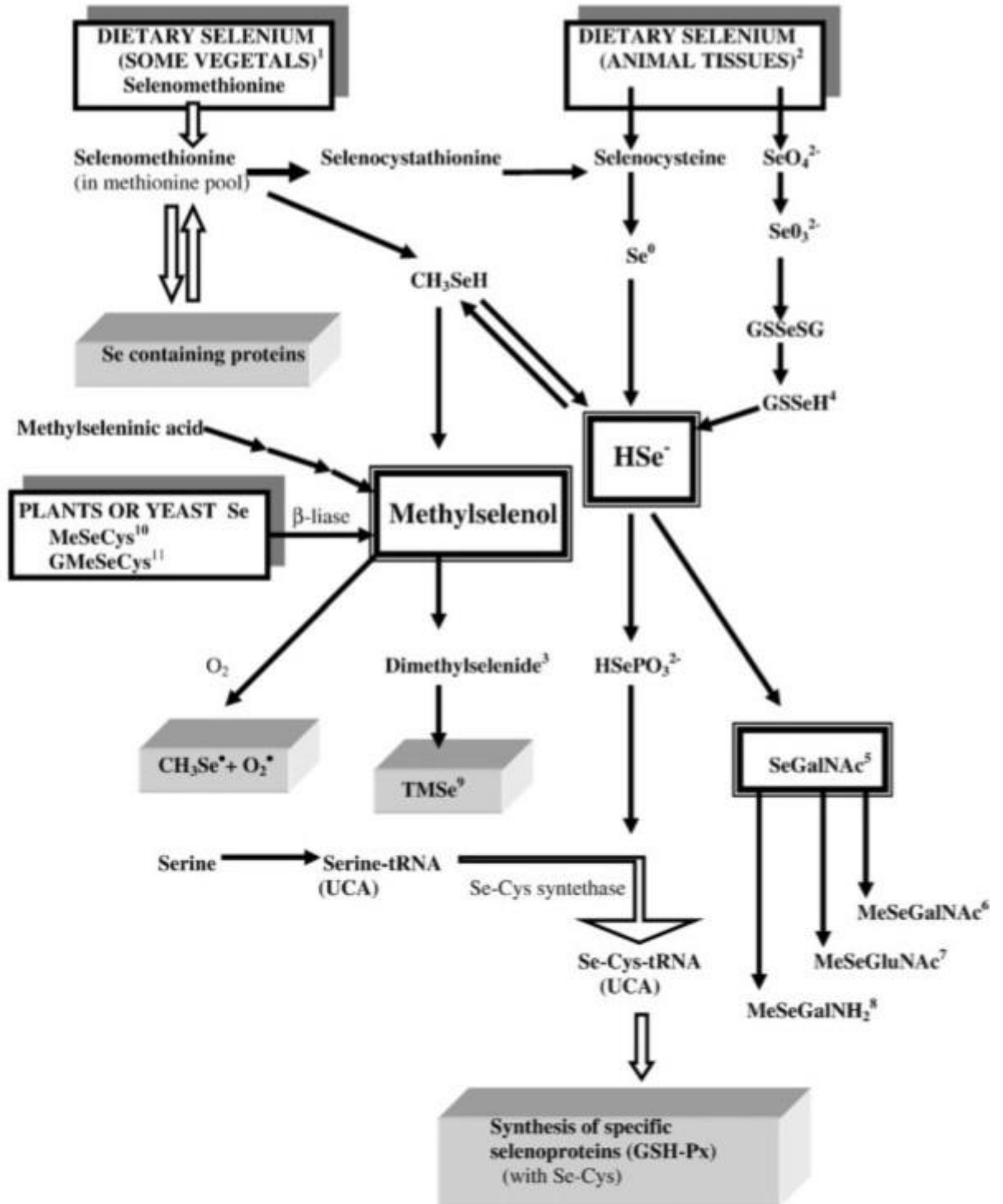
skupiny prvků periodické tabulky mezi tzv. chalkogeny. Selen označujeme jako metaloid, což znamená že má některé vlastnosti kovu a některé nekovové. Existuje v řadě alotropních forem, což jsou formy prvku s různými fyzikálními a chemickými vlastnostmi. Jedna alotropa je amorfni (bez krystalického tvaru) červený prášek. Druhá forma má modrý kovový vzhled. Ostatní formy mají vlastnosti někde mezi těmito dvěma formami (Tingii, 2003, Chemicool, 2012, Chemistry explained, 2007, Zarczyńska et al, 2013).

Pro své dobré vodící schopnosti se selen také často používá při výrobě tranzistorů pro počítače nebo mobilní telefony. V přírodě je vzácný a velmi často se vyskytuje společně s telurem, s kterým má podobné vlastnosti. Vědci odhadují celkové množství v přírodě přibližně 0,05 až 0,09 ppm. Většinou se získává jako vedlejší produkt těžby jiných kovů především mědi, železa a olovných rud. Mezi největší producenty selenu na světě patří Japonsko, Kanada, Belgie, Spojené státy a Německo. Existuje šest přirozeně se vyskytujících izotopů selenu. Pouze jeden radioaktivní izotop selenu se používá komerčně. Tento izotop se používá ke studiu funkce pankreatu a štítné žlázy, kdy se radioaktivní látka injektuje do krevního oběhu a můžeme pak zjistit, zda orgány správně fungují podle množství a umístění vyzařovaného záření. Selen je významnou surovinou také v oboru sklářství a v elektronice (Chemicool, 2012, Chemistry explained, 2007).

### 3.2.2 Metabolismus selenu

Ačkoliv metabolismus selenu není tak úplně pochopen, můžeme říct, že selen se nikdy v tělesných tkáních a orgánech nenachází jako samostatný prvek, ale je vždy začleněn do tzv. selenoproteinů. Nejčastěji se selen vyskytuje v tělesných tkáních v proteinech obsahujících aminokyselinu selenocystein (Se-Cys), ve které je síra nahrazena selenem. Toto spojení nalézáme většinou v živočišných tkáních. Aminokyselina selenomethionin (Se-Met) je naproti tomu zase dominantní v obilných zrnech, luštěninách, sójových bobech a v některých případech v selenem obohacených kvasnicích (Gromadzińska et al. 2008). Selenomethyl selenocystein je hlavní sloučenina v rostlinách jako je česnek, cibule, brokolice anebo pórek, které mají největší schopnost akumulovat ve svých tkáních selen. Se-Cys, zejména z masa, je nejdůležitější při syntéze GPx. Nicméně, Se-Met z rostlin může přímo nahradit methionin během syntézy proteinů obsahujících selen. Naopak anorganické seleničitany a selenany se začleňují nezávisle na jejich původu. V lidském těle se metabolizují různé formy selenu na selenid jako  $\text{HSe}^-$ , což je pravděpodobně nejdůležitější pro regulaci metabolismu selenu (viz. obrázek č. 1) (Navarro-Alarcon and Cabrera-Vique, 2008).

Obr. 1 Metabolismus selenu (Navarro-Alarcon and Cabrera-Vique, 2008)





Bylo zjištěno, že zvířata během konverze anorganických forem Se na organické formy nebo naopak syntetizují mnoho různých meziproduktů. I když se může zdát, že hlavní cestou k využití selenu u zvířat je pomocí methylace, může dojít také k demethylaci zpět k anorganickému Se. Selenid vodíku (pomocí předchozí aktivace na selenofosfát) poskytuje selen pro syntézu selenoproteinů. V plazmě existují dva selenoproteiny sloužící jako extracelulární nosiče Se a to selenoprotein P a GPx-3 (Navarro-Alarcon and Cabrera-Vique, 2008).

Celkové množství selenu v lidském těle se pohybuje mezi 10–20 mg. Padesát procent se nachází v kosterních svalech, ačkoliv nejvyšší relativní koncentraci mají orgány jako jsou ledviny, varlata a játra. Nejvyšší spotřebu selenu mají buňky imunitního systému, erytrocyty a krevní destičky. Selen je vylučován z těla především močí, sekundárně stolicí, kůží a dýcháním. Bylo zjištěno, že pokud je v těle nízká koncentrace selenu, sníží se i množství selenu vyloučeného močí, aby se udržela homeostáze. Potvrzuje se tím, že vylučování selenu je přímo úměrné příjmu selenu. Avšak z těla se selen může uvolňovat dále dýcháním, nejčastěji ve formě dimethylselenidu (Navarro-Alarcon and Cabrera-Vique, 2008).

Absorpce selenu probíhá v tenkém střevě. Se-Met je absorbován aktivním transportem využívaným methioninem díky schopnosti selenu nahradit atomy sulfidu. Selenan je aktivně absorbován mechanismem společným pro síran v závislosti na gradientu Na<sup>+</sup> a udržuje se pomocí Na<sup>+</sup>/K<sup>+</sup>ATPázy. Na druhé straně Se-Cys a seleničitan se neabsorbují aktivním transportem (Navarro-Alarcon and Cabrera-Vique, 2008).

Je známo, že některé sloučeniny selenu mohou sloužit jako prevence rakoviny (Zarczyńska et al. 2013). Sloučeniny jako Se-methylselenocystein a selenomethionin mohou být převedeny na kyselinu methylseleninovou nebo methylselenol, které vykazují *in vitro* silné antikarcinogenní účinky (Gromadzińska et al. 200).

### **3.2.3 Vliv selenu na organismy a jeho role jako antioxidantu**

O pozitivních či negativních nutričních vlastnostech selenu a jeho vlivu na organismy se začalo ve vědě hovořit až přibližně po 140 letech od objevení samotného prvku Berzeliem. A zatímco v Evropě se řeší nedostatek selenu v potravinách a krmivu, v Indii nebo ve Spojených státech je usilovná snaha o zamezení otravám kvůli nadbytku selenu. V Číně se vyskytují velké regionální rozdíly v obsahu selenu v půdě, oblast s nedostatkem obsahuje i méně než 0,17 mg/kg, naopak půdy s nadbytkem Se obsahují více než 1,70 mg/kg. Ve Spojených státech je úroveň toxicity v půdě stanovena na 2,5 mg/kg, obsah Se v půdě se ale může

vyšplhat až k 4,0 mg/kg. Je tu však patrná adaptace volně žijících živočichů na vyšší koncentrace Se v prostředí (Sager, 2006).

Zjistilo, že selen ve velmi malém množství je esenciálním prvkem pro zdraví zvířat a pravděpodobně i rostlin. Brozmanová et al. (2010) uvádí, že esencialita selenu byla dokázána v roce 1957, kdy mimo jiné bylo u potkanů zjištěno, že zabraňuje nekróze jater v případě, že jim do krmné dávky byl přidáván selen obsažen v kvasnicích spolu s vitamínem E. Naopak velké dávky selenu jsou ale nebezpečné a způsobují celou řadu onemocnění. Jako tzv. antioxidační ochrana se uplatňuje jen ve velmi nízkých koncentracích, při nadbytku má selen totiž velmi toxický účinek na organismus. Hranice mezi nedostatkem, esencialitou a toxicitou je velmi úzká (Chemistry explained, 2007). Patří do tzv. protichůdných živin, kdy nadbytek může být toxický, ale i nedostatek může mít za následek chronický a někdy i fatální důsledek (Střítecká et al. 2009).

Donedávna byla jediná známá metabolická role selenu u savců jako složka GPx, která je spolu s vitamínem E, katalázou a SOD součástí jednoho z antioxidačních obranných systémů těla (WHO, 1996, Chemicool, 2012, Tingii, 2003). Zdravotní přínos z hlediska výživy má být zprostředkován pomocí již popsaných selenoproteinů. U lidí bylo doposud identifikováno 25 selenoproteinů známé i neznámé funkce (Brozmanová et al. 2010). Mezi důležité selenoproteiny patří selenoproteiny P, W, R, T, N a jiné (Ludvíková et al. 2005). Selenoprotein P je extracelulární protein, který obsahuje většinu selenu v plazmě. Je syntetizován především v játrech a dopravuje selen do mozku. Jeho koncentrace je velmi citlivá na nutriční stav selenu v organismu (Sager, 2006). Později byly objeveny další selenoproteiny, které naznačovaly, že se selen neomezuje pouze na svou roli antioxidační aktivity, ale podílí se na dalších aspektech metabolismu savců. Ukázalo se, že je důležitou složkou enzymu jodothyronin deiodonázy a v thioredoxin reduktáze (Tingii, 2003). Je nezbytný pro přeměnu hormonu thyroxinu (T4) na trijodtyronin (T3). V případě nedostatku Se může způsobit příznaky hypotyreózy, včetně extrémní únavy, mentálního zpomalení, kretenismu a opakovaných potratů (Střítecká et al. 2009, Zarczyńska et al. 2013). Existují studie, které naznačují, že dieta obohacená o selen, zinek a vitamín E zlepšila lipidový profil jehněčího a ovčího mléka (Brodowska et al. 2016).

Selen je důležitým prvkem v ochraně buněk centrálního nervového systému při imunitních onemocnění člověka jako je HIV či virová hepatitida B a C je nízká hladina selenu v krvi důvodem zvyšujícího se oxidačního stresu a tím se zhoršuje průběh onemocnění (Fajt et al. 2009). Bylo dokázáno, že zvýšená hladina selenu společně s vitamínem E výrazně

snižuje vznik onkologických onemocnění u lidí. Naopak s nižší hladinou selenu a sníženou hladinou enzymu GPx se častěji vyskytuje nádorové bujení (Brozmanová et al., 2010, Chemicool, 2012, Fajt et al. 2009, Kvíčala et al. 2008).

Antioxidační aktivity některých selenoproteinů jako jsou enzymy GPx a selenoprotein P poskytují ochranu proti iniciaci rakoviny vyvolané reaktivními druhy kyslíku. Za hlavní příčinu vzniku rakoviny se považuje mutagenní oxidační stres vyvolaný vysokou tvorbou ROS, hydroxylového radikálu a peroxidu vodíku. Ty přispívají k expresi maligního fenotypu rakovinných buněk genetickými změnami onkogenů a nádorových supresorových genů (Brozmanová et al. 2010). Nejvíce pozoruhodné jsou studie z roku 1966, které prokázaly pokles výskytu rakoviny prostaty, tlustého střeva a plic ve skupině starších Američanů se stravou obohacenou o Se. Nicméně na druhou stranu, ne všechny studie o prevenci rakoviny naznačily pozitivní vliv přidavkem selenu. Pravděpodobně záleží, v jaké formě (anorganická vs. organická) je selen podáván a v jakých dávkách. V nízkých dávkách se zdá být přínosný nejen pro prevenci rakoviny, ale může pozitivně ovlivnit řadu dalších funkcí organismu tím, že například snižuje inflamace, srdeční choroby nebo reguluje krevní tlak. Některé studie naznačují, že naopak může zvýšit riziko diabetu u populace s dostatkem selenu (Brozmanová et al. 2010). Diabetes neovlivňuje hladinu Se v krevním séru, ale jelikož diabetická strava obsahuje více bílkovin a méně sacharidů a tuků, budou hladiny Se u diabetiků vyšší i v zemích s nízkou koncentrací Se (Sager, 2006).

Přibližně 75 % celkového množství selenu v krvi je přítomno v krevní plazmě a séru. Nejčastěji v krvi nalézáme selen jako selenoprotein P, GPx a ve vazbě s albuminem. Velmi často pak nalézáme v organismu selen ve stabilním spojení s aminokyselinami methionin a cystein (Se-Cys, Se-Met). Nejvyšší množství uloženého selenu najdeme v orgánech jako jsou ledviny, játra, slezina, varlata, srdeční sval a mozek. Avšak v jaterních buňkách je větší koncentrace glutathionu než v erytrocytech, pravděpodobně z důvodu větší enzymatické funkce, která souvisí s detoxikačními procesy peroxidových látek v játrech. Stejně tak podobné hodnoty glutathionu a GPx najdeme v ledvinách. Většina selenu se vstřebává ze střeva, naopak vylučování probíhá především močí, výkaly a mírně i plícemi (Dumont et al. 2006, Pavlata et al. 2002). Při zkoumání jater divokých zvířat se nezjistil ani nadbytek ani nedostatek selenu oproti hospodářským zvířatům (Sager, 2006).

Zelst et al. (2016) uvádějí, že kočky jsou schopny zadržovat méně selenu v těle než psi. Pravděpodobně je to spojeno s evolučním vývojem psa, který má fáze krmení a fáze hladomoru. Ve fázi hladomoru používá jako zdroj selenu své zásoby v těle.

Jedním z nejmladších objevených selenoproteinů je selenoprotein W, který byl nalezen ve svalové tkáni potkanů, ale nachází se i ve slezině, varlatech, srdci a mozku. Podílí se na diferenciaci a vývoji svalů tím, že chrání myoblasty proti oxidačnímu stresu. Selenoprotein K slouží jako antioxidant v kardiomyocytech, selenoproteiny M a H vykazují neuroprotektivní aktivitu, selenoprotein N podporuje svalovou funkci a selenoprotein S chrání tlusté střevo před rakovinou (Zarczyńska et al. 2013).

### **3.2.4 Odezva organismu na nedostatek nebo nadbytek selenu**

U mnoha onemocnění hospodářských zvířat se začalo přicházet na to, že v mnoha částech světa jsou některá z nich spojena s nedostatkem selenu. Jedním z příkladů je VESD syndrom u prasat, kdy nejčastějším projevem tohoto syndromu je tzv. Mullberry heart disease. Toto onemocnění vzniká v případě použití krmiv s vysokým obsahem sóji, kukuřice a obilnin z půd chudých na selen a také krmiv s nadbytkem nenasycených mastných kyselin. Klinicky se projevuje především u intenzivně rostoucích prasat a může způsobit i okamžitý úhyn prasete. Součástí tohoto onemocnění je dále nekróza jater (tzv. hepatitis dietetica) a nutriční svalová myopatie. První zmíněné onemocnění je méně časté a klinickým příznakem je náhlý úhyn, kdy hlavním postiženým orgánem jsou játra. Nutriční svalová myopatie doprovází předešlá onemocnění nebo se může vyskytovat u prasnic v době po porodu. Nedostatek selenu a vitamínu E vede u prasat k poškození a degeneraci svalové a srdeční tkáně. Diagnóza těchto onemocnění se dokazuje na základě stanovení koncentrace selenu a vitamínu E v krevním séru a játrech. Fajt et al. (2009) dále uvádějí že rozdíl v obsahu selenu podávaného v krmivech má různý vliv na prasata během roku a také záleží na tom, jaká forma Se se podává, organická nebo anorganická forma. Zaznamenali, že organicky vázaná forma je využitelnějším zdrojem selenu než anorganická, protože v tomto případě zjistili vyšší koncentraci selenu i ve tkáních novorozných selat, v kolostru, mléce i ve svalovině výkrmových prasat. Konzumace vepřového masa obohaceného organickým selenem může výrazně zvýšit hladinu selenu v organismu člověka. Zejména je to důležité ve státech s nízkým příjmem Se, jako jsou Česká Republika, Slovensko či Polsko.

Podobným výzkumem u skotu se zabývali i Pavlata et al. (2002). Ti stanovili koncentraci selenu v krvi a aktivitu GPx ze vzorků odebraných všech kategorií skotu (krávy, telata, jalovice, býci). Kromě kategorie krav byl zjištěn velký nedostatek selenu u zvířat především z oblastí západních, severních a severovýchodních Čech. Častěji byl nedostatek selenu pozorován u mladých zvířat a může tak způsobit přirozenou rezistenci, zvýšenou

úmrtnost a neplodnost. Vzhledem k dobrému průchodu selenu placentou a jejímu vylučování do mléka, obsah selenu u telat odpovídá obsahu selenu u krav. U dospělých jedinců může mít deficit za následek svalovou dystrofii, a nakonec i náhlý úhyn jedince. Z výzkumu vyplývá, že stav selenu skotu závisí převážně na doplňování selenu do krmiva, jelikož příjem selenu přirozeně je nedostatečný. Zmiňuje se, že nedostatek selenu u mladých zvířat či býků je pravděpodobně také způsobeno formou podání, kdy tyto skupiny přijímaly selen anorganický ve formě solí, kdežto dojnice dostávaly větší množství krmiva s obsahem organického selenu.

Dalším nejčastějším onemocněním při deficitu selenu s následkem náhlé smrti je tzv. nemoc bílé svaloviny zaznamenaná především u ovcí nebo skotu v Austrálii či Novém Zélandu. Příznaky nemoci jsou obtížně detekovatelné ale obvykle jsou spojeny s depresí růstu a produkce. Ze strachu byla proto v Austrálii zavedena různá opatření proti deficitu selenu v organismu hospodářských zvířat, např. přímá aplikace selenu na pastviny, přímé podávání selenu v minerálních blocích, anebo pelet, které pomalu uvolňují selen ve střevech zvířat.

U koní může mírný nedostatek Se způsobit nízkou odolnost vůči infekcím, neplodnost klisen anebo zpomalený růst hříbat (Ludvíková et al 2005). Nedostatek selenu má také vliv na plodnost samců u savců, která je ovlivňována aktivitou GPx ve tkáni varlat. Enzym v této tkáni chrání spermie před negativními účinky reaktivních forem kyslíku. V případě jakékoliv anomálie enzymu, může vést ke sterilitě či nedostatečné tvorbě spermií (Fajt et al. 2009). V této souvislosti Žáková et al. (2016) zjistili, že pastva pro koně na různých místech České republiky obsahuje velmi nízké hladiny Se a zvířata netrpěla nedostatkem jen proto, že jejich dieta byla doplněna doplňky s přídavkem Se. Podobným výzkumem ohledně významu přidání selenu do krmiva u březích bahnic se zabývali i Carlson et al. (2008).

Na druhé straně je spousta příkladů vzniku onemocnění v případě nadměrného množství selenu v půdě. Například tzv. alkalická choroba u koní, která působí jako chronická otrava selenem z požití rostlin s vysokým obsahem prvku (Zarczyńska et al. 2013). Stejný případ alkalické choroby zaznamenali i v australské oblasti Queenslandu, kde tamní zvířata spásala keř *Morinda reculata*. Po následné analýze bylo zjištěno, že tato rostlina obsahuje selenocystathionin, organickou formu Se, která je toxická pro zvířata (Tingii, 2003). Požití vysokého množství Se může způsobovat gastrointestinální poruchy, změny vlasů, nehtů, zarudnutí kůže, měknutí kopyt či neurologické poruchy jako třeba ztráta bolesti. Vysoký příjem selenu během těhotenství způsobila úmrtí plodu u kuřat, myší, prasat a krys, stejně jako snížené růsty anebo malformace. Jako nejodolnějším zvířetem vůči různým

koncentracím selenu se jeví ovce, kdy v testech všechna narozená jehňata nevykazovala velké odchylky od normálních ukazatelů.

Prvním hlášeným onemocněním souvisejícím se selenem v lidské populaci došlo v některých částech Číny, kde je půda chudá na selen. Označujeme toto onemocnění jako Keshanova nemoc a patří mezi kardiomyopatie. Postihuje především malé děti a ženy. Pro zamezení vzniku tohoto onemocnění se začal přidávat do kuchyňské soli selen. Dalším příznakem je oxidačním poškozením chrupavky, které vede k deformaci kostní struktury (Tingii, 2003, Strítecká et al. 2009).

### **3.2.5 Zastoupení selenu v potravinách a krmivech**

Hlavním zdrojem selenu jsou obilniny a následně pak výrobky z nich jako je chléb nebo cereálie (Sager, 2006). Tingii (2003), Brozmanová et al. (2010) i Dumont et al. (2006) uvádějí, že obsah selenu v potravinách je velmi závislý na množství selenu v půdě, které se liší v jednotlivých státech po celém světě.

Koncentrace Se v obilovinách se pohybuje od 0,01 do 0,55 mg/kg, v mase a vajíčkách se pohybuje mezi 0,01 – 0,36 mg/kg, obsah v mléce a mléčných výrobcích může být nižší než 0,001 mg/kg a vyšší než 0,17 mg/kg a obsah selenu v zelenině a ovoci mezi 0,001 a 0,022 mg/kg. V Evropě se předpokládá, že živočišné potraviny dodávají 69 – 75 % potřebného Se (Sager, 2006). Významným zdrojem selenu jsou i ryby, u kterých dochází k bioakumulaci selenu při jeho postupu potravním řetězcem (Dumont et al. 2006). Velkou roli v příjmu selenu může hrát také to, zda se konzumuje pouze lokální jídlo či je strava doplněna o dovozemé produkty z jiných zemí. Navíc jedinci s nízkým příjmem bílkovin konzumují malé množství selenu, který je v potravinách začleněn především do proteinů.

V zemích s nízkou koncentrací selenu v půdě byla přijata různá opatření na zamezení deficitu v lidské populaci, například použití hnojiv obohacených o Se nebo již zmíněné přidávání selenu do krmiva hospodářských zvířat (Dumont et al. 2006). Zelené rostliny přijímají mnohem častěji a rychleji selen se formě selenanu než seleničitanu a proto selenem obohacená minerální hnojiva obsahují Se ve formě selenanu. Bylo také prokázáno že rostliny aktivně absorbují aminokyseliny, jako je methionin pravděpodobně ve formě Se-methioninu. Listy a semena rostlin mají obvykle vyšší obsah selenu než kořeny a stonky (Sager, 2006).

Pro optimální růst a odolnost zvířat vůči onemocněním, je možno přidat do komerčního krmiva seleničitan sodný až do koncentrace 0,5 mg/kg krmiva (Sager, 2006). Carlson et al. (2008) pak uvádí, že by koncentrace přidaného selenu do krmiva neměla přesáhnout 0,3

mg/kg. Na rozdíl od hospodářských zvířat se selen nedoporučuje přidávat do lidské stravy v oblastech s nízkou koncentrací. Lidská strava je obvykle mnohem variabilnější než výživa hospodářských zvířat. Je dokázáno, že obyvatelé přímořských oblastí mají větší koncentraci selenu v krevní plazmě než uvnitř kontinentů, jelikož mořské plody a ryby jsou významným zdrojem Se. Taktéž diety založené především na převaze bílkovin (masa a mléčných výrobků) a stejně tak kyseliny askorbové (vitamín C) zvyšují biologickou dostupnost mědi, zinku a selenu (Sager, 2006).

Selen se stal významnou složkou při výrobě výživových doplňků stravy, především v oblastech s nízkou koncentrací selenu v půdě. V těchto doplňcích najdeme selen většinou v anorganické formě anebo se jedná o doplňky založené na kvasinkách *Saccharomyces cerevisiae* obohacených selenem. Kvasinky jsou atraktivním zdrojem selenu především pro jejich nízkou pořizovací cenu a také schopnosti působit jako prekurzor syntézy selenoproteinů. Mohou být konzumovány jako takové nebo jako výživový doplněk či použití kvasnic k pečení chleba. Velkou výhodou je to, že sloučeniny selenu v kvasnicích při pečení zůstávají stabilní (Dumont et al. 2006). Sloučeniny selenu obsažené v kvasnicích jsou lidmi velmi účinně absorbovány. Například absorpce seleničitanu je vyšší než 80%, zatímco selen jako selenomethionin nebo jako selenát je absorbován z více než 90% (WHO, 1996).

Další známou potravinou s vysokým obsahem Se jsou semena stromu *Bertholletia excelsa*, u nás známé jako para ořechy, které rostou v povodí Amazonky. Avšak existují velké rozdíly v obsahu Se v semenech napříč celou oblastí Amazonie, dokonce se obsah Se liší i mezi ořechy ze stejného stromu. Mezi faktory ovlivňující tyto rozdíly patří typ půdy, pH půdy, vlhkost, stáří stromu a rozvoj kořenového systému. Přestože tyto ořechy dobře akumulují vysoké hladiny Se, většina jiných rostlin tuto schopnost nemá. I v malých dávkách může být zabudování selenu do bílkovin rostlin toxické a může vést ke snížení růstu. Rostliny s největším potenciálem akumulovat selen jsou rostliny rodu *Allium* a rodu *Brassica*. Česnek nebo cibule z rodu *Allium* vykazují značné antikarcinogenní účinky právě díky obsahu selenu. Dokonce se uvádí, že v některých případech byl česnek úspěšnější v boji proti nádorům než kvasnice. Mezi nejznámější zeleniny z rodu *Brassica* patří brokolice, růžičková kapusta, zelí, květák nebo kedlubna. Například brokolice velmi dobře reaguje na foliární aplikaci selenu a může tak být dobrým zdrojem selenu ve výživě člověka (Šindelářová et al. 2015). Selen se také akumuluje v houbách. U hub je to nejčastěji hřib smrkový (*Boletus edulis*) nebo pečárka dvouvýtrusá (*Agaricus bisporus*), které mají velkou schopnost akumulovat selen (Dumont et al., 2006). Obsah selenu nahromaděného ve vyšších rostlinách nebo zmíněných houbách se

může pohybovat až do 100 mg/kg. Česnek vypěstovaný na půdě obohacené o selen v Číně obsahoval 205 mg/kg. Existují ale i rostliny s mimořádnou schopností akumulovat selen, jako je například *Astragalus bisulcatus*, který roste v povodí Shirley ve Wyomingu a který je schopen akumulovat až 300 mg/kg selenu (Sager, 2006).

Obsah Se v přírodních vodách se může pohybovat v rozmezí <2 ng/l do 300 µg/l. V Evropě mohou být vody kontaminovány hnojivy obsahujícími selen či exkrementy zvířat krmených krmivem obohaceným o selen, jelikož nadbytek selenu se z těla dostává primárně močí. Dosud nebylo prokázáno, že by selen byl nezbytný pro fytoplankton nebo vodní makrofyty. Vodní biota je více tolerantní vůči vysokému obsahu Se než terestrická (Sager, 2006). Na rozdíl od komerčně vyráběných ovocných a zeleninových šťáv je většina pitných a minerálních vod chudá na selen. V belgických pivech se uvádí obsah 0,2 – 15,2 µg/l. Zajímavý je i vyšší obsah selenu ve víně oproti pitné vodě. Například zkoumané německé víno mělo průměrné 0,79 µg/l, avšak i tady velmi záleží z které oblasti a v jaké půdě je víno pěstováno. V Británii se příjem nápoji odhadují na 3 % celkového příjmu.

Průměrný příjem selenu ve Švédsku byl odhadnut na 38 µg/den, v Británii 34 µg/den, v Nizozemsku 67 µg/den a ve Švýcarsku 70 µg/den. V důsledku doplňování selenu do diety vzrostl ve Finsku příjem z 30 µg/den v roce 1976 a 113 µg/den v roce 1986. Průměrný denní příjem rakouského obyvatelstva činí 48 µg/den (Sager, 2006). Průměrná spotřeba v České Republice u ne-vegetariánů se udává 37 µg/den (Střítecká et al., 2009). Překročení horní přípustné dávky 400 µg/den pak může vést k selenóze (Střítecká et al., 2009).

### **3.3 Vitamín E**

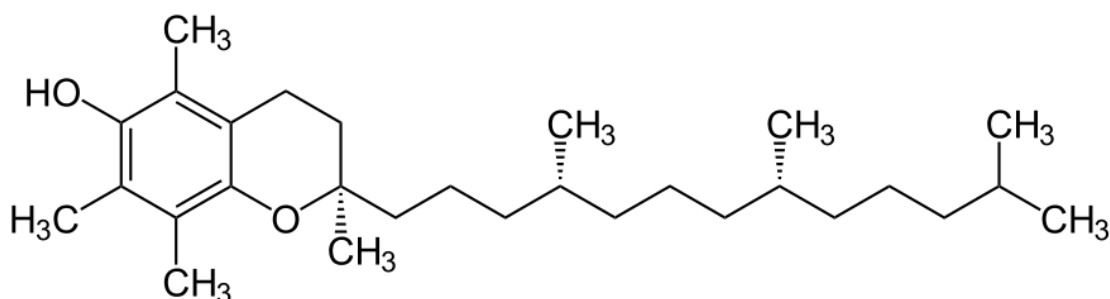
#### **3.3.1 Výskyt a charakteristika vitamínu E**

Vitamín E je pojem zahrnující mnoho sloučenin, které označujeme jako tokoferoly. Je hlavním antioxidantem odpovědný za ochranu membrán. Má hlavní úlohu v biologickém stárnutí a jeho nedostatek u lidí může způsobit neurologické dysfunkce či myopatie, a naopak spotřeba vitamínu E může snížit riziko vzniku ischemické choroby srdeční (Thakur a Srivastava, 1996). vitamín E se nachází především ve fosfolipidové dvojvrstvě buněčných membrán. Je zvláště účinný při prevenci peroxidace lipidů a řadě chemických reakcí zahrnující oxidační zhoršení PUFA (polynenasycené mastné kyseliny). Zvýšené hladiny lipidových peroxidačních produktů jsou spojeny s četnými nemocemi a klinickými stavy (FAO, 2001).



Vitamín E je široce distribuován v přírodě a je známo nejméně 8 chemických forem s velmi odlišnou biologickou aktivitou. Čtyři jsou tvořeny tokolovými strukturami (alfa, beta, gamma, theta-tokoferol) a čtyři sloučeninami s tokotrienolem. Nejúčinnější z nich je tzv. alfa-tokoferol. Až 50 % alfa-tokoferolů je vázáno na tzv. lipoproteiny s vysokou hustotou (HDL). Pokud je vitamín E vylučován z jater je spojen s lipoproteinem s velmi nízkou hustotou (LDL). Přibližně 90 % alfa-tokoferolů se u potkanů regeneruje v játrech, kosterním svalu a tukové tkáni. Po intestinální absorpci a následnému transportu s chylomikrony, se alfa-tokoferoly přenáší do parenchymálních buněk jater, kde se většina vitamínů rozpustných v tucích ukládá. Díky své struktuře má tendenci se hromadit v cirkulujících lipoproteinech, buněčných membránách a tukových zásobách, kde následně reaguje s molekulárním kyslíkem a volnými radikály. Zachytává volné radikály a chrání nenasycené mastné kyseliny v membránách před peroxidací. Vitamín E se nachází v mnoha rostlinných olejích a potravinách, které obsahují margaríny, majonézu, salátové dresingy, cereální snídaně obohacené o vitamín E, arašídové máslo, vejce, sója, plnotučné mléko atd. (Thakur a Srivastava, 1996).

Obr. 2 Strukturální vzorec vitamínu E



### 3.3.2 Role vitamínu E v organismu

V literatuře se můžeme dočíst, že vitamín E má spoustu funkcí jako je antioxidační funkce, účastní se metabolismu nukleových kyselin, proteinů a lipidů a ve zpomalení procesu biologického stárnutí. Tokoferoly a tokotrienoly reagují s volnými radikály *in vivo*. V biologických membránách je nejúčinnější proti volným radikálům alfa-tokoferol. Antioxidační funkce souvisí se snížením poškození DNA, snížení buněčného poškození způsobujícího některé typy rakoviny a ischemickou chorobu srdeční. Vitamín E je nezbytnou složkou pro rozvoj lidského nervového systému, kosterního svalstva i sítnice. Zlepšuje

přežívání červených krvinek a chrání membrány erytrocytů před deformací u potkanů (Thakur a Srivastava, 1996). Vitamín E je nezbytný pro udržení funkce a integrity mitochondrií. Je schopený regulovat mitochondriální tvorbu  $O_2^-$  a  $H_2O_2$ , umí ovlivnit mitochondriální produkci a hladinu  $O_2^-$  zamezením úniku elektronů ovlivněním systémů které ho tvoří nebo čistí a omezuje tak oxidační poškození (Mandelker, 2009). Je silným antioxidantem a je neúčinnější proti neradikálovým oxidantům jako jsou lipoxygenaza, cyklooxygenaza, cytochrom P450 a chlornan (Niki, 2015).

Vitamín E je lipofilní a jeho antioxidační účinky v membránách a lipoproteinech jsou obvykle v souladu s vitamínem C. Inhibují oxidaci LDL (lipoproteiny s nízkou hustotou) synergickým způsobem a jsou tak dobrým obranným mechanismem proti vzniku onemocnění aterosklerózy, která je hlavní příčinou vzniku mozkové mrtvice, infarktu myokardu, různých koronárních onemocnění a onemocnění periferních cév. Ateroskleróza začíná už v dětství a může se dlouho jevit skrytě, avšak je příčinou mnoha úmrtí v rozvinutých zemích. Je uznáváno, že oxidační modifikace lipoproteinů s nízkou hustotou (LDL) je počáteční událostí při vzniku tohoto onemocnění. Lipidová peroxidace volnými radikály se podílí také na alkoholovém onemocnění jater způsobeném chronickým požitím alkoholu. Můžeme tak hovořit o tom, že vitamín E je užitečný při prevenci a léčbě různých onemocnění jako jsou například kardiovaskulární choroby, přesto některé studie přinášejí i opačné výsledky (Niki, 2015). FAO (2001) uvádí, že vitamín E má vliv na riziko vzniku kardiovaskulárních onemocnění. Dle spousty evropských studií bylo dokázáno, že při vyšším příjmu vitamínu E byl i nižší výskyt infarktu myokardu a kardiovaskulární mortality. Na druhé straně americké studie k takovým závěrům nedochází. Možné vysvětlení významného vztahu mezi dietně přijímaným vitamínem E a kardiovaskulární chorobou v evropských zemích, ale ne ve Spojených státech amerických, lze nalézt v široce odlišných zdrojích vitamínu v Evropě. Příkladem může být vysoká konzumace slunečnicového oleje bohatého na  $\alpha$ -tokoferol v zemích jižní Evropy s nižším rizikem kardiovaskulárních chorob než v severoevropských zemích (FAO, 2001).

Při nedostatku vitamínu E dochází ke snížení počtu červených krvinek, především erytrocytů a buněk se zvýšenou citlivostí na hemolýzu indukovanou oxidanty. Dochází tak k hemolytické anémii nebo narušení erythropoézy (Thakur a Srivastava, 1996).

Jednoznačný biologický účinek vitamínu E byl nejprve prokázán vůči toxicitě chloridu uhličitého při poškození jater. Chlorid uhličitý je součástí peroxidace lipidů zprostředkovanou volnými radikály a vede k poškození jater, které může být potlačeno přechodným podáváním

vitamínu E. Četné studie pomocí pokusů na zvířatech potvrdily antioxidační účinky vitamínu E a další antioxidantů vůči toxicitě chloridu uhličitým. V případě zachycení peroxylových radikálů vitamínem E, se radikál přemění a může být dále oxidován na  $\alpha$ -tokoferylchinon nebo redukován vitamínem C k regeneraci vitamínu E.  $\alpha$ -tokoferylchinon je biomarker antioxidačního účinku vitamínu E, a dokonce ho můžeme nalézt i v lidském aterosklerotickém plaku. Deficit vitamínu E může vést k různým poruchám, jako je ataxie, neurologické poruchy a neplodnost naopak nadbytek může být také velmi nebezpečný (Niki, 2015).

Bylo pozorováno několik příznaků při vyšším podávání vitamínových preparátů s vitamínem E, jako bolest hlavy, nevolnost, únava nebo závrať. Přesto nebyly prokázány významné toxické účinky při požití vyšších dávek. V některých případech se vitamín E při požití vysokých koncentrací může chovat jako pro-oxidant spíše než antioxidant. Například v případě absorpce UV záření vytváří tokoferolový radikál, který vyčerpává další antioxidanty (Thakur a Srivastava, 1996).

Existuje mnoho příznaků nedostatku vitamínu E u zvířat, z nichž většina se týká poškození buněčných membrán a úniku obsahu buněk do vnějších tekutin. Poruchy vyvolané například stopami peroxidovaných PUFA ve stravě zvířat s nízkým stavem vitamínu E jsou srdeční nebo skeletální myopatie, neuropatie a nekróza jater. U člověka jsou nejčastější svalové poruchy a neurologické problémy (FAO, 2001).

U králíků bylo prokázáno, že v případě nedostatku vitamínu E ve svalích dochází k úbytku svalové hmoty, dochází ke ztrátě svalového proteinu, a tak ke ztrátě myosinu a myofibrilů, avšak bez ztráty DNA a RNA. U potkanů s nedostatkem tokoferolu se zjistilo, že po ozáření UV se v kůži zvyšuje peroxidace lipidové vrstvy. Tokoferol má velmi dobré fotoprotektivní vlastnosti používá se jako fotoprotektivní činidlo (Thakur a Srivastava, 1996).

Bylo zjištěno, že vysoké dávky vitamínu E mohou zpomalit progresi příznaků Parkinsonovy nemoci u lidí a stejně tak může být užitečný při onemocnění mozku jako je Alzheimerova choroba. Antioxidační účinek vitamínu E může chránit před abnormalitami. Často se vitamín E doporučuje pro léčbu katarakty nebo jiných očních onemocnění právě díky jeho antioxidační funkci (Thakur a Srivastava, 1996).

Vzhledem k tomu, že vitamín E je přirozeně přítomen v rostlinné stravě a živočišných produktech, je často přidáván záměrně výrobcem k rostlinným olejům nebo zpracovaným potravinám, aby se ve většině případů zabránilo zjevným nedostatkům. Asi polovina  $\alpha$ -tokoferolů ve stravě pochází z rostlinných olejů. Slunečnicový olej obsahuje přibližně 55 mg  $\alpha$ -tokoferolu na 100 g, oproti tomu sójový olej obsahuje pouhých 8 mg/100 ml. Živočišné

tuky, zelenina a maso připívají asi 10% na celkovou zásobu obyvatel a ovoce, ořechy, obiloviny a mléčné výrobky přibližně 4%. Méně než 2% se získává z vajec, ryb a luštěnin (FAO, 2001).

Zdá se, že vitamín E má velmi nízkou toxicitu a množství 100–200 mg syntetického  $\alpha$ -tokoferolu se účinně spotřebuje jako doplněk. Prooxidační poškození bývá spojeno obvykle při velmi vysokých dávkách > 1000 mg/den (FAO, 2001).

### 3.3.3 Interakce vitamínu E a selenu

Jak již bylo uvedeno výše, jedním z prvků, které interagují s vitamínem E je právě selen. V oblastech s deficitem selenu se vyskytuje vyšší poptávka také po vitamínu E (Thakur a Sristava, 1996).

Zarczyńska et al. (2013) v přehledném referátu shrnují, že již v roce 1957 byly zdokumentovány nežádoucí účinky deficitu selenu, a právě nízké hladiny nejen selenu ale i vitamínu E byly příčinou například nutriční svalové dystrofie. Toto onemocnění známé jako bílé svalové onemocnění postihuje především jehňata, děti, hříbata, telata a drůbež od narození do 3 měsíce věku. Projevuje se jako degenerace buněk kosterního svalstva v různých částech těla, včetně bránice, srdečního svalu a jazyka. V 60 % vede akutní forma onemocnění k náhlé smrti. U dospělých jedinců nedostatek selenu snižuje plodnost, přispívá k tvorbě ovariálních cyst a zvyšuje embryonální úmrtnost. Naproti tomu selen spolu s vitamínem E usnadňují migraci neutrofilů do mléčné žlázy a zvyšují tak baktericidní účinky neutrofilů, čímž zmírňují příznaky klinické mastitidy. Bylo zjištěno, že syndrom klinické mastitidy úzce koreluje s nedostatkem selenu. U drůbeže se při nízké hladině selenu a vitamínu E vyskytuje tzv. exsudativní diatéza. Toto onemocnění postihuje většinou kuřata ve věku 3-6 týdnů a méně často mladé krůty, kachny a křepelky. Projevuje se podkožním edémem zejména v oblasti břicha, hrudníku a krku. Onemocnění vede ke ztrátě chuti k jídlu, úbytku hmotnosti, a nakonec k smrti (Zarczyńska et al, 2013)

Interakce selenu a vitamínu E se dokázala také tím, že u potkanů konzumujících selenizované kvasnice spolu s vitamínem E byl diagnostikován nižší výskyt nekrózy jater (Brozmanová et al. 2010). Zvýšený výskyt Keshanovy choroby byl původně spojován jen s nízkými hladinami selenu v tělesných tkáních a základních potravinách. Avšak některé aspekty tohoto onemocnění naznačují, že nízký příjem vitamínu E, bílkovin a dalších stopových prvků, může být důležitý při vzniku Keshanovy nemoci (WHO, 1996).

## 4 Materiál a metody

### 4.1 Pokusná zvířata

Pokus byl proveden na 40 potkanech kmene Wistar. Byli získáni od chovatele ve 30 dnech věku a následně chováni jednotlivě v klecích ve Fyziologickém ústavu Akademie věd v Krči se stálou teplotou v rozmezí 23 – 25°C a přirozenými denními světelnými podmínkami. Potkani byli rozděleni do pěti skupin podle předem zvolené směsi krmiva lišící se množstvím selenu a vitamínu E, které jim bylo podáváno po dobu 3 měsíců *ad libitum*. Po ukončení experimentu byli potkani při anestezii usmrceni vykrvením pomocí přípravků Xylapan (xylazine) a Narketan (ketamine). Odebrána byla krev a zvolené orgány (ledviny, játra a varlata), které byly lyofilizovány při teplotě -18°C. Krev byla ošetřena K<sub>2</sub>EDTA. Před analýzou byly orgány i vzorky krmných směsí homogenizovány pomocí laboratorního mlýnku.

### 4.2 Schéma pokusu a nutriční složení krmných směsí

Skupina A byla krmena tzv. kontrolní směsí bez přidání Se a vitamínu E. Další skupiny se pak v jednotlivých parametrech lišily. Sledované lišící se hodnoty jsou červeně zvýrazněny v tabulce č.1. Skupiny B a C byly krmeny dietou, kde sójový extrahovaný šrot byl nahrazen řepkovým extrahovaným šrotem (14 %). Řepkový extrahovaný šrot byl připraven z řepkových semen 00 kvality (odrůda NK Oktans) v laboratořích VŠCHT (Balán et al., 2014). Použité řepkové semeno bylo obohaceno selenem, kdy porost řepky byl ošetřen ve fázi dlouhoživého růstu (BBCH 30-32) roztokem selenanu sodného v množství, které odpovídalo dávce 50 g selenu na hektar (Száková et al. 2017). Přídavkem selenizovaného řepkového šrotu došlo k významnému zvýšení obsahu Se v dietě, kdy kontrolní dieta A obsahovala  $0.082 \pm 0.014$  mg/kg Se, dieta B  $0.184 \pm 0.001$  mg/kg Se, a dieta C  $0.230 \pm 0.001$  mg/kg Se. Skupina C měla dietu navíc obohacenou přídavkem vitamínu E (celkový obsah byl zvýšen o 30 %). Krmná směs skupiny D a E obsahovala ve srovnání se skupinou A navíc selen a zinek, a skupina E měla dietu navíc obohacenou přídavkem vitamínu E. Skupiny D a E byly zařazeny proto, abychom posoudili, k jakým změnám organismu potkanů dochází při významnějším zvýšení příjmu selenu ve srovnání s mírně zvýšeným příjmem v podobě selenizovaného řepkového šrotu, a zda se i při takto vysoké dávce Se projeví synergický efekt Se a vitamínu E. Selen byl u těchto dvou skupin přidán do kontrolní diety ve formě seleničitanu sodného.

**Tab. č.1** Nutriční složení krmných směsí

	<b>A</b>	<b>B</b>	<b>C</b>	<b>D</b>	<b>E</b>
<b>Hrubý protein [%]</b>	19,0	19,0	19,0	19,0	19,0
<b>Hrubý tuk [%]</b>	3,3	3,3	3,3	3,3	3,3
<b>Hrubá vláknina [%]</b>	4,9	4,9	4,9	4,9	4,9
<b>Hrubý popel [%]</b>	6,4	6,4	6,4	6,4	6,4
<b>Škrob [%]</b>	36,5	36,5	36,5	36,5	36,5
<b>Cukr [%]</b>	4,7	4,7	4,7	4,7	4,7
<b>Vitamin A [IU/kg]</b>	25,000	25,000	25,000	25,000	25,000
<b>Vitamin D3 [IU/kg]</b>	1,500	1,500	1,500	1,500	1,500
<b>Vitamin E [mg/kg]</b>	125	125	161	125	161
<b>Vitamin K3 [mg/kg]</b>	20	20	20	20	20
<b>Sójový šrot [g/kg]</b>	140	-	-	140	140
<b>Řepkový šrot [g/kg]</b>	-	140	140	-	-
<b>Se [mg/kg]</b>	-	-	-	9	9
<b>Zn [mg/kg]</b>	-	-	-	13	13

### 4.3 Analytické metody

Celkový obsah prvků ve vzorcích byl stanoven po rozkladu na mokré cestě s mikrovlnným ohřevem. Do teflonových reakčních nádob bylo naváženo 0,3 – 0,5 g krmiva, jater, ledvin a u krve 0,3 - 0,5 ml, následně byly navážky zality 7 ml 65% kyseliny dusičné a 2 ml 30% peroxidu vodíku. Promíchané vzorky byly rozloženy v uzavřeném systému s mikrovlnným ohřevem v zařízení Ethos 1 (MLS GmbH, Německo) po dobu 30 minut při teplotě 220 °C. Po ochlazení byl vzorek přelit do 20 ml zkumavky a doplněn do objemu zkumavky demineralizovanou vodou a uchován při laboratorních podmínkách.

Obsahy jednotlivých prvků v připravených mineralizátech byly stanoveny pomocí spektrometrických metod. Obsah selenu byl změřen pomocí hmotností spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-MS, Agilent 7700x, Agilent Technologies Inc., USA) s automatickým dávkovačem vzorku ASX-500, tříkanálovou peristaltickou pumpou a

zmlžovače typu MicroMist. Pro stanovení obsahu prvků Cu, Fe, Mn, Zn, P a S byla využita optická emisní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP-OES, Agilent 720, Agilent Technologies Inc., USA). Obsah Ca, Mg a K byl stanoven pomocí atomové absorpční spektrometrie s plamenovým atomizátorem (F-AAS, Varian, 280FS, Varian, Austrálie).

#### 4.4 Statistické metody

Jednotlivé výsledky byly zpracovány pomocí programu StatSoft Statistika 12 pomocí jednofaktorové analýzy rozptylu (ANOVA) na hladině významnosti  $\alpha=0,05$ . Jednotlivé skupiny potkanů byly označeny A, B, C, D a E dle názvů směsí, kterou byli krmeni. Statisticky významné rozdíly jsou v tabulkách označena písmeny tak, že varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší. Stanovené obsahy jednotlivých prvků jsou uvedeny v mg/l u krve, v krmné směsi, ve tkáních ledvin, varlat a jater pak v mg/kg.

## 5 Výsledky

### 5.1 Vliv přídatku selenu a vitamínu E na hmotnost potkanů

Tab. č. 2 Výsledná hmotnost potkanů na konci pokusu

	Skupina A	Skupina B	Skupina C	Skupina D	Skupina E
<b>Průměrná hmotnost [g]</b>	651,3± 42,4 a	570,9±70,6 ab	606,5±74,6 ab	541,8 ± 74,1 b	522,8 ± 50,3 b

Nejvyšších průměrných hmotností dosahovali potkani skupiny A krmeni kontrolní směsí. V této skupině krmené jen základní krmnou směsí měli potkani průměrnou hmotnost  $651,3 \pm 42,4$  g. Naopak potkani skupiny D a E, kteří dostávali v krmné směsi navíc zvýšené dávky selenu, dosahovali nejnižších průměrných hmotností. Skupina D se pohybovala v průměrné hmotnosti  $541,8 \pm 74,1$  g a skupina E měla průměrné hodnoty  $522,8 \pm 50,3$  g. Výsledky jsou shrnuty v tabulce č.2. Červeně zvýrazněny jsou statisticky významné hodnoty.

## 5.2 Obsah prvků v krmné směsi pro potkany (mg.kg<sup>-1</sup>)

Tab. č. 3 Obsah prvků v krmné směsi potkanů (mg.kg<sup>-1</sup>)

	Krmivo A	Krmivo B	Krmivo C	Krmivo D	Krmivo E
<b>Se</b>	0,082 ± 0,014 a	0,184 ± 0,0004 a	0,23 ± 0,0005 a	4,63 ± 0,245 b	4,534 ± 0,38 b
<b>Ca</b>	11146 ± 392,7 a	10188 ± 766 a	10305 ± 79 a	11038 ± 610 a	10902 ± 912 a
<b>Cu</b>	11,5 ± 0,2 a	10,5 ± 0,6 a	10,3 ± 1,7 a	14,4 ± 1,5 a	10,8 ± 0,3 a
<b>Fe</b>	206 ± 25 a	233 ± 41 a	210 ± 14 a	233 ± 16 a	323 ± 51 a
<b>K</b>	6694 ± 774 a	8270 ± 74 ab	8925 ± 88 b	7793 ± 190 ab	7433 ± 66 ab
<b>Mg</b>	1876 ± 24 a	2158 ± 256 a	1905 ± 38 a	1823 ± 175 a	1762 ± 155 a
<b>Mn</b>	49,2 ± 1,9 a	60,4 ± 4,3 a	51,6 ± 0,1 a	58,5 ± 2,6 a	58,8 ± 0,1 a
<b>P</b>	6133 ± 280 a	6303 ± 849 a	5503 ± 89 a	5500 ± 457 a	5460 ± 532 a
<b>S</b>	1809 ± 11 a	2104 ± 260 a	1868 ± 37,5 a	1814 ± 128,2 a	1808 ± 156 a
<b>Zn</b>	60,4 ± 2,4 a	58,0 ± 5,7 a	50,2 ± 0,4 a	71,5 ± 7,6 a	72,6 ± 11,2 a

V obsahu prvků v krmných směsích se projevily statisticky významné rozdíly u selenu a draslíku. Selen byl záměrně přidán do krmiv potkaních skupin D a E, a proto jeho hodnoty byly v těchto skupinách nejvyšší, a to o trojnásobek. Dosahovaly hodnot 4,6 ± 0,3 mg.kg<sup>-1</sup> u skupiny D a 4,5 ± 0,4 mg.kg<sup>-1</sup> u skupiny E. Statisticky významný rozdíl v obsahu draslíku byl zjištěn ve skupinách B a C, kdy skupina C dosahovala nejvyšších hodnot 8925 ± 88 mg.kg<sup>-1</sup>.



V případě přidání zinku do skupin D a E se neprojevil ve výsledku statisticky významný rozdíl. Výsledky jsou shrnuty v tabulce č. 3. Červeně zvýrazněny jsou statisticky významné hodnoty.

### 5.3 Obsah prvků v krvi potkanů (mg.l<sup>-1</sup>)

Tab. č. 4 Obsah prvků v krvi potkanů (mg.l<sup>-1</sup>)

	Skupina A	Skupina B	Skupina C	Skupina D	Skupina E
<b>Se</b>	0,25 ± 0,02 a	0,26 ± 0,04 a	0,30 ± 0,03 a	2,20 ± 0,49 b	2,11 ± 0,24 b
<b>Ca</b>	39,5 ± 2,1 a	43,4 ± 4,6 ab	50,7 ± 6,1 b	51,8 ± 8,1 b	50,5 ± 7,7 b
<b>Cu</b>	0,89 ± 0,05 a	0,92 ± 0,81 a	1,07 ± 0,12 b	1,16 ± 0,04 b	1,10 ± 0,08 b
<b>Fe</b>	460 ± 33 a	447 ± 59 a	469 ± 31 a	476 ± 45 a	462 ± 37 a
<b>K</b>	4383 ± 781 a	4298 ± 624 a	4626 ± 312 a	4076 ± 792 a	4026 ± 257 a
<b>Mg</b>	25,5 ± 2,7 a	24,9 ± 1,6 a	27,8 ± 2,0 a	28,8 ± 3,9 a	28,5 ± 5,3 a
<b>Mn</b>	0,06 ± 0,04 a	0,07 ± 0,05 a	0,04 ± 0,01 a	0,04 ± 0,01 a	0,05 ± 0,01 a
<b>P</b>	316 ± 30,1 ab	299 ± 30 b	323 ± 34 ab	362 ± 53 a	361 ± 48 a
<b>S</b>	1299 ± 82 a	1300 ± 77 a	1490 ± 100 a	1448 ± 183 a	1414 ± 150 a
<b>Zn</b>	3,50 ± 0,23 a	3,40 ± 0,51 a	3,80 ± 0,41 ab	4,4 ± 0,75 b	3,79 ± 0,66 ab

V případě stanovení obsahu prvků v krvi potkanů byl nejvyšší obsah selenu zjištěn u skupin D a E s hodnotami 2,20 ± 0,49 mg.l<sup>-1</sup> a 2,11 ± 0,24 mg.l<sup>-1</sup>. Spolu se selenem se u těchto skupin a také u skupiny C, popřípadě B zvedl v krvi významně obsah vápníku, mědi a zinku.

Vápník dosahoval u skupiny B hodnot  $43,4 \pm 4,6 \text{ mg.l}^{-1}$ , skupiny C  $50,7 \pm 6,1 \text{ mg.l}^{-1}$ , skupiny D  $51,8 \pm 8,1 \text{ mg.l}^{-1}$  a skupiny E  $50,5 \pm 7,7 \text{ mg.l}^{-1}$ . Měď se zvedla u skupiny C na  $1,07 \pm 0,12 \text{ mg.l}^{-1}$ , skupiny D  $1,16 \pm 0,04 \text{ mg.l}^{-1}$  a skupiny E  $1,10 \pm 0,08 \text{ mg.l}^{-1}$ . Zinek dosahoval nejvyšších hodnot v krvi skupiny D  $4,4 \pm 0,75 \text{ mg.l}^{-1}$  a skupiny E  $3,79 \pm 0,66 \text{ mg.l}^{-1}$ . Ve skupině B a C, popřípadě A byla zjištěna naopak menší koncentrace fosforu. Nejmenších koncentrací dosahovali potkani ve skupině B v rozmezí  $299 \pm 30 \text{ mg.l}^{-1}$ . Výsledky jsou shrnuty v tabulce č. 4. Červeně zvýrazněny jsou statisticky významné hodnoty.

#### **5.4 Obsah prvků v játrech potkanů ( $\text{mg.kg}^{-1}$ )**

V játrech dosahovala nejvyšších hodnot obsahu selenu skupina D s obsahy  $7,87 \pm 1,35 \text{ mg.kg}^{-1}$ , ve které byl přidán anorganický selen spolu se zinkem. Ve skupině E, kde byl selen přidáván spolu se zinkem a vitamínem E byly zjištěny hodnoty o málo nižší  $6,45 \pm 0,48 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Hodnoty selenu zde oproti ostatním skupinám vzrostly skoro o sedminásobek. Naopak obsah mědi a železa byl u skupin D a E znatelně snížen oproti ostatním skupinám a na rozdíl od krve, kde byl obsah mědi zvýšený.

Oproti obsahu zinku v krvi, který měly vyšší hodnoty u skupiny D a E, které dostávaly zinek navíc v krmné dávce, měly obsahy zinku v játrech úplně opačné výsledky. Nejvyšších hodnot dosahoval ve skupině C  $72,71 \pm 7,35 \text{ mg.kg}^{-1}$ , která dostávala krmnou směs nahrazenou řepkou a obohacenou o vitamín E. Dalších vyšších statisticky významných hodnot dosahovali potkani ve skupině A a to  $68,13 \pm 8,9 \text{ mg.kg}^{-1}$ , a ve skupině B  $65,61 \pm 10,16 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Tyto dvě skupiny dostávaly jen základní krmnou směs nebo směs s řepkovou náhradou. Ve skupinách D a E, kde dostávali navíc i zinek se množství zinku v játrech snížilo. Výsledky jsou shrnuty v tabulce č. 5. Červeně zvýrazněny jsou statisticky významné hodnoty.

**Tab. č. 5** Obsah prvků v játrech potkanů (mg.kg<sup>-1</sup>)

	<b>Skupina A</b>	<b>Skupina B</b>	<b>Skupina C</b>	<b>Skupina D</b>	<b>Skupina E</b>
<b>Se</b>	1,75 ± 0,25 a	1,98 ± 0,49 a	1,92 ± 0,22 a	7,87 ± 1,35 c	6,45 ± 0,48 b
<b>Ca</b>	123 ± 17 a	118 ± 15 a	129 ± 24 a	110 ± 14 a	109 ± 19 a
<b>Cu</b>	12,4 ± 0,9 a	12,5 ± 1,8 a	12,9 ± 0,7 a	10,1 ± 1,8 b	10,2 ± 0,6 b
<b>Fe</b>	435,3 ± 64,6 a	430,2 ± 65,9 a	456,6 ± 63,2 a	318,5 ± 78,96 b	315,3 ± 62,4 b
<b>K</b>	10623 ± 860 a	10728 ± 480 a	11191 ± 1050 a	10370 ± 2758 a	11168 ± 795 a
<b>Mg</b>	607 ± 63 a	567 ± 84 a	625 ± 71 a	544 ± 118 a	571 ± 49 a
<b>Mn</b>	5,98 ± 0,80 a	5,68 ± 0,84 a	6,12 ± 0,48 a	5,32 ± 1,25 a	5,96 ± 0,76 a
<b>P</b>	8418 ± 849 a	8567 ± 581 a	8965 ± 1035 a	7656 ± 1402 a	7846 ± 713 a
<b>S</b>	6114 ± 727 a	6208 ± 407 a	6566 ± 692 a	5836 ± 769 a	5912 ± 549 a
<b>Zn</b>	68,1 ± 8,9 ab	65,6 ± 10,2 ab	72,7 ± 7,4 b	55,1 ± 11 a	57,6 ± 5,6 a

### 5.5 Obsah prvků v ledvinách (mg.kg<sup>-1</sup>)

Obsah selenu v ledvinách bylo u skupiny D a E jednou tolik zvýšeno oproti ostatním skupinám. Skupina D dosahovala hodnot 7,63 ± 1,31 mg.kg<sup>-1</sup> a skupina E měla hodnoty ještě vyšší a to 9,21 ± 1,19 mg.kg<sup>-1</sup>. Hodnoty mědi v ledvinách byly u zmíněných skupin mnohonásobně zvýšeny na hodnoty u skupiny D 87,97 ± 12,58 a u skupiny E 92,1 ± 16,46 mg.kg<sup>-1</sup>. Vzhledem k předchozím výsledkům z krve a jater můžeme usuzovat, že docházelo k uvolňování mědi z jater a následnému vyloučení z těla. Projevily se zde také statisticky

významné rozdíly u obsahů síry napříč všemi skupinami. Nejmenších hodnot koncentrace síry dosahovala skupina C, tedy  $7300 \pm 472 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Nejvyšších hodnot skupina B s koncentrací  $8561 \pm 746 \text{ mg.kg}^{-1}$ . Výsledky jsou shrnuty v tabulce č.6. Červeně zvýrazněny jsou statisticky významné hodnoty.

**Tab. č. 6** Obsah prvků v ledvinách  $\text{mg.kg}^{-1}$

	Skupina A	Skupina B	Skupina C	Skupina D	Skupina E
<b>Se</b>	$3,74 \pm 0,32 \text{ a}$	$3,52 \pm 0,25 \text{ a}$	$3,53 \pm 0,88 \text{ a}$	$7,63 \pm 1,31 \text{ b}$	$9,21 \pm 1,19 \text{ c}$
<b>Ca</b>	$324 \pm 40 \text{ a}$	$283 \pm 42 \text{ a}$	$286 \pm 32 \text{ a}$	$307 \pm 33 \text{ a}$	$283 \pm 44 \text{ a}$
<b>Cu</b>	$34,8 \pm 11 \text{ a}$	$33,2 \pm 3,2 \text{ a}$	$26,8 \pm 4,1 \text{ a}$	$88,0 \pm 13 \text{ b}$	$92,1 \pm 16,5 \text{ b}$
<b>Fe</b>	$255 \pm 27 \text{ a}$	$284 \pm 42 \text{ a}$	$315 \pm 116 \text{ a}$	$290 \pm 50 \text{ a}$	$288 \pm 44 \text{ a}$
<b>K</b>	$10832 \pm 624 \text{ a}$	$10909 \pm 405 \text{ a}$	$10809 \pm 667 \text{ a}$	$10779 \pm 663 \text{ a}$	$11284 \pm 732 \text{ a}$
<b>Mg</b>	$711 \pm 65 \text{ a}$	$722 \pm 64 \text{ a}$	$690 \pm 45 \text{ a}$	$717 \pm 65 \text{ a}$	$690 \pm 70 \text{ a}$
<b>Mn</b>	$3,09 \pm 0,23 \text{ a}$	$3,24 \pm 0,24 \text{ a}$	$3,13 \pm 0,29 \text{ a}$	$3,13 \pm 0,33 \text{ a}$	$3,13 \pm 0,24 \text{ a}$
<b>P</b>	$9372 \pm 852 \text{ a}$	$9775 \pm 763 \text{ a}$	$9669 \pm 663 \text{ a}$	$10190 \pm 713 \text{ a}$	$10012 \pm 1015 \text{ a}$
<b>S</b>	$7948 \pm 589 \text{ ab}$	$8561 \pm 746 \text{ b}$	$7300 \pm 472 \text{ a}$	$8033 \pm 603 \text{ ab}$	$8222 \pm 790 \text{ ab}$
<b>Zn</b>	$67,5 \pm 7,5 \text{ a}$	$70,2 \pm 6,4 \text{ a}$	$70,2 \pm 6,1 \text{ a}$	$72,8 \pm 3,0 \text{ a}$	$72,2 \pm 8,9 \text{ a}$

## 5.6 Obsah prvků ve varlatech (mg.kg<sup>-1</sup>)

V obsahu prvků ve varlatech došlo jen k statisticky významné změně u selenu, a to u skupiny D s hodnotami  $3,84 \pm 0,35$  mg.kg<sup>-1</sup> a skupiny E s hodnotami  $3,68 \pm 0,28$  mg.kg<sup>-1</sup>. Ostatní obsahy prvků zůstaly nezměněny. Výsledky jsou shrnuty v tabulce č. 7. Červeně zvýrazněny jsou statisticky významné hodnoty.

**Tab. č. 7** Obsah prvků ve varlatech mg.kg<sup>-1</sup>

	Skupina A	Skupina B	Skupina C	Skupina D	Skupina E
<b>Se</b>	2,07 ± 0,15 a	2,10 ± 0,3 a	2,44 ± 0,39 a	<b>3,84 ± 0,35 b</b>	<b>3,68 ± 0,28 b</b>
<b>Ca</b>	276 ± 46 a	297 ± 117 a	296 ± 34 a	291 ± 33 a	280 ± 26 a
<b>Cu</b>	11,2 ± 1,4 a	12,0 ± 2,9 a	11,8 ± 0,7 a	11,2 ± 1,1 a	11,5 ± 0,4 a
<b>Fe</b>	177 ± 27 a	178 ± 44 a	172 ± 13 a	154 ± 22 a	158 ± 8,0 a
<b>K</b>	21656 ± 1756 a	22152 ± 3485 a	22381 ± 1111 a	22681 ± 2908 a	23367 ± 1433 a
<b>Mg</b>	810 ± 109 a	847 ± 162 a	866 ± 66 a	867 ± 64 a	864 ± 52 a
<b>Mn</b>	1,65 ± 0,22 a	1,69 ± 0,4 a	1,66 ± 0,14 a	1,63 ± 0,13 a	1,75 ± 0,12 a
<b>P</b>	10855 ± 1315 a	11303 ± 2196 a	11468 ± 942 a	11290 ± 1043 a	12351 ± 783 a
<b>S</b>	6757 ± 857 a	7141 ± 1628 a	7314 ± 611 a	7135 ± 497 a	7128 ± 420 a
<b>Zn</b>	129 ± 17 a	134 ± 25 a	136 ± 10 a	138 ± 10 a	140 ± 9 a

## 6 Diskuze

Zarczyńska et al. (2013) uvádějí, že akutní nedostatek selenu a vitamínu E může mít například u mladé drůbeže za následek úbytek hmotnosti. Fajt et al. (2009) říká, že organická i anorganická forma selenu nemá v průběhu odchovu prasniček žádný vliv na množství přijímaného krmiva, na konverzi krmiva ani na výši přírůstků. V naší studii nejnižších hmotností dosahovali potkani ve skupinách, které měly naopak selenu nejvíce anebo dostávaly navíc i vitamín E, popřípadě zinek. Výsledky naznačují, že dávka anorganického selenu mohla být pro potkany již toxická, což se projevilo omezením růstu, jak zaznamenali i Zhang et al. (2008).

V krmných směsích byla vysoká koncentrace selenu jen ve skupinách, které dostávaly seleničitan sodný jako anorganickou formu selenu. V ostatních skupinách s příjmem selenizované řepky byl nárůst sice vyšší oproti kontrolní skupině, ale statisticky nevýznamný. Proto se zdá, že i selenizovaná řepka v některých případech může být relativně nedostatečným zdrojem organického selenu. Podle studie Raymana (2004) jsou kvasnice obohacené o selen bezpečným a biologicky dostupným zdrojem selenu potravinovou cestou a můžou působit jako prekurzor pro syntézu selenoproteinů. I přes dlouhodobé doplňování selenu v dávkách 300, 400 a dokonce 800 mg/den, neprokázaly selenizované kvasnice žádný projev toxicity.

Došlo zde také k výraznému zvýšení draslíku v krmných směsích skupin, ve kterých byl ve směsi nahrazen sójový extrahovaný šrot řepkovým extrahovaným šrotem. Řepka olejná je plodina velmi náročná na příjem draslíku a jeho obsah tak může být znatelný i v krmné směsi (Szczepaniak, 2015). I přesto že byl zjištěn takto významný podíl draslíku v krmné směsi, jsme nezaznamenali významný nárůst a ani pokles koncentrace draslíku v ostatních námi zkoumaných tkáních a orgánech.

Čím dál častěji vzniká více studií zabývajících se tím, jaká forma selenu je nejlépe využitelná organismem. Brozmanová et al. (2010) uvádějí, že v případě ochrany proti rakovině vykazala pozitivní účinky jak organická, tak anorganická forma selenu. Zelst et al. (2016) ve své studii uvádějí, že u psů při podávání organicky vázaného selenu jako selenomethioninu vedlo k vyššímu zadržení selenu v těle a tím nižší vylučování tohoto prvku močí. Fajt et al. (2009) uvádí, že obsah selenu ve všech tkáních prasnic je vyšší při použití organicky vázané formy než při zkrmování anorganicky vázané formy. Stejně tak uvádějí i Bañuelos a Mayland (1999), že absorpce a retence organického selenomethioninu byla vyšší, než u anorganického selenu podávaného v podobě seleničitanu. V našem případě organického zdroje selenu nebyl zjištěn významný nárůst koncentrace oproti kontrolní skupině ve všech

zkoumaných tkáních a orgánech. Rozdíl oproti zmíněným studiím byl pravděpodobně ve formě podávání organického selenu, kdy v našem případě se jednalo o selenizovanou řepku a v jejich přímo o aminokyselinu selenomethionin. Je třeba uvažovat o nižší biodostupnosti selenu vázaného v rostlinné biomase ve srovnání s příjmem čistého selenomethioninu. Neprojevilo se ani významný vliv přidání vitamínu E do krmné směsi na koncentraci selenu. Naproti tomu skupiny s příjmem anorganické formy měly nejvyšší hodnoty selenu ve všech tkáních, což bylo také ovlivněno vysokou dávkou anorganického Se. V případě ledvin a jater došlo k statisticky významnému rozdílu v hodnotách koncentrace selenu i mezi těmito dvěma skupinami. V ledvinách byla zjištěna nejvyšší koncentrace selenu ve skupině, která dostávala selen spolu se zinkem a vitamínem E, avšak v játrech byla nejvyšší hodnota ve skupině, která dostávala jen selen a vitamín E. Játra patří spolu s ledvinami a varlaty do skupiny orgánů s největší schopností akumulovat selen (Navarro-Alarcon and Cabrera-Vique, 2008), je proto pochopitelné, že nejvyšší koncentraci najdeme právě tam. Můžeme usuzovat určitou interakci vitamínu E a selenu spolu se zinkem v ledvinách a játrech. Výsledky naznačily u skupin přijímajících anorganický Se pokles obsahu Se v játrech u skupiny se zvýšeným příjmem vitamínu E, a naopak zvýšený obsah Se této skupiny v ledvinách. To naznačuje, že přídavek vitamínu E by mohl napomoci organismu vyloučit nadbytečný Se.

Navarro-Alarcon et al. (2014) a Monedero-Prieto et al. (2014) ve svých studiích dokázali, že přidávání selenu ve vysokých dávkách do krmiva může ovlivnit metabolismus jiných stopových prvků, především mědi. V jejich experimentech přidání selenu vedlo k zvýšenému vylučování mědi, k zvýšení obsahu mědi ve svalech a ke snížení obsahu mědi v játrech. Zdá se, že právě při přebytku selenu dochází k přerozdělení mědi v organismu. Monedero-Prieto et al. (2014) uvádějí, že u potkanů s nízkým příjmem selenu zjistili vyšší hladinu mědi v játrech. Naše výsledky potvrzují, že zvýšením selenu v organismu dochází k vyplavování mědi z jater a tím ke zvýšení koncentrace mědi v krvi a v ledvinách, kde byly zjištěny nejvyšší hodnoty. Monedero-Prieto et al (2014) navíc spekuluje, že snižování jaterní mědi by mohlo potenciálně přispět k fibróze jater, neboť měď je kofaktorem lisyloxydázy. Citovaná práce potvrzuje i z části naše výsledky. Ale naopak není shoda ve výsledku obsahu železa v játrech, kde pozorovali významně vyšší obsah. V naší studii právě v játrech došlo k statisticky významnému poklesu železa ve skupinách s přidáním seleničitanem sodným v krmné dávce. Podobný trend zaznamenali Myška et al (2016), kdy se zvyšujícím se podílem selenizovaného řepkového šrotu v krmné směsi klesal obsah Fe v játrech potkanů.

Potvrdili jsme, že při vysokých dávkách selenu dochází k vlivu na metabolismu jiných stopových prvků podílející se na antioxidační ochraně. Přidání selenu vede ke zvýšení vylučování mědi a výraznému poklesu jaterní mědi. Potvrdili jsme, že má vliv také na zinek. Koncentrace zinku v játrech byla překvapivě snížena ve skupinách, které dostávali navíc zinek spolu se selenem a vitamínem E. Monedero-Prieto et al (2014) uvádějí určitou neshodu mezi selenem a zinkem v játrech. Z našich výsledků jater můžeme pozorovat podobnou neshodu. U skupiny, které dostávaly anorganický selen spolu se zinkem se projevil úbytek koncentrace zinku v játrech oproti kontrolní skupině. Můžeme tedy hovořit o určitém antagonismu mezi selenem a zinkem v játrech. Naproti tomu v krvi došlo ke zvýšení koncentrace zinku. V případě nedostatku zinku ve výživě může u lidí docházet k zpomalení růstu, výskyt změn v chování, defekty imunitního systému a větší náchylnost k infekcím. Zvláště ohrožení jsou ti, kteří trpí dlouhodobě podvýživou bílkovin, a tedy biologicky dostupným zdrojem zinku. Naopak existují případy otravy zinkem již po požití 4–8 g. Bylo zjištěno, že právě dlouhodobé vystavení vysokému příjmu zinku zasahuje i do metabolismu jiných stopových prvků. Obzvláště citlivá na přebytek zinku je měď. Při vyšším příjmu zinku jsou pozorovány nízké plazmatické hladiny mědi (WHO, 1996). V našem případě došlo v krvi k mírnému zvýšení oproti kontrolní skupině pravděpodobně v důsledku vyplavování mědi z jater.

Měď se v biologických tkáních vyskytuje převážně ve formě organických komplexů, z nichž mnohé jsou metaloproteiny anebo fungují jako enzymy. Enzymy s obsahem mědi se podílejí na řadě metabolických reakcí jako je využití kyslíku při dýchání buněk nebo využití energie. Jsou zapojeni do syntézy základních sloučenin jako jsou spojovací tkáň, krevní cévy a a sloučenin týkajících se funkce nervové tkáň. V lidské krvi je rozdělena mezi erytrocyty a plazmu. V erythrocytech se většina mědi vyskytuje jako metaloenzymová superoxid dismutáza mědi a zinku. Při nedostatku mědi se dostavuje hypochromní anémie, neutropenie, hypopigmentace vlasů a kůže, křehká kostra a osteoporóza či cévní abnormality. Symptomy akutní otravy mědi zahrnují slinění, nevolnost, zvracení a průjem. Může však končit i vážnými problémy až smrtí. Bezpečná doporučená denní dávka pro dospělé činní 2-3 mg/den (WHO, 1996).

Zvýšením obsahu zinku a mědi v krvi a ostatních orgánech může znamenat také aktivaci enzymatického systému superoxid dismutázy (SOD), kde je měď spolu se zinkem a manganem klíčovým faktorem v tomto antioxidačním mechanismu (Monedero-Prieto et al. 2014). Udává, že právě systémy glutathion peroxidázy a superoxid dismutázy pracují ve



spojení při neutralizaci toxických druhů kyslíku. Je možné, že zde existuje určitá rovnováha mezi těmito systémy a nadměrná či deficitní koncentrace zmíněných prvků má vliv na metabolismus ostatních stopových prvků s antioxidačními vlastnostmi v případě oxidačního stresu, například podvýživa bílkovin. V krvi našich potkanů došlo ke zvýšení koncentrace nejen selenu, ale i zinku a mědi, je možné že došlo k aktivaci enzymatických systémů obsahující tyto prvky. Z výsledků nemůžeme říct, že by k aktivaci významně přispělo přidání vitamínu E.

Monedero-Prieto et al. (2014) se také zmiňuje o určité tendenci selenu vyvolat redukci obsahu jaterního manganu, který v jejich případě byl významně snížen. Uvádí však, že to mohlo být způsobeno podvýživou a následném vyčerpání manganu stejně jako u lidí než k přímému působení selenu. V naší studii nedošlo k významným změnám v hodnotách jaterního manganu.

V naší studii došlo k významnému nárůstu koncentrace vápníku v krvi ve všech skupinách, které dostávali selen v obou formách. Můžeme tedy usuzovat, že zvýšením příjmu selenu v jakékoliv formě působí pozitivně na nárůst koncentrace vápníku v krvi.

Jihen et al. (2009) zkoumali vliv selenu a zinku na vážný kontaminant životního prostředí kadmium. Kadmium je rizikový faktor u lidí. Je přítomen ve vzduchu, půdě, vodě, potravinách i cigaretovém kouři a je rizikovým už ve velmi nízkých koncentracích. Podle Mezinárodní agentury pro výzkum rakoviny je klasifikován jako karcinogen I kategorie. Bylo prokázáno, že mnoho toxických účinků kadmia bylo způsobeno nepřímo, a to právě oxidačním stresem vyvolaným vlivem prvku na organismus. Jedním z nejrizikovějších orgánů pro toxicitu kadmia jsou játra. Kadmium ve skutečnosti vytváří reaktivní druhy kyslíku (ROS) a může tak snížit hlavní antioxidační proces v buňce inaktivací enzymů a jiných antioxidačních molekul. Výsledkem je peroxidace lipidů. Je známo, že právě selen spolu se zinkem mají příznivý vliv na negativní účinky kadmia. Tyto prvky jsou významnými kofaktory některých důležitých antioxidačních enzymů, měď a zinek v superoxid dismutáze (SOD), která eliminuje  $O_2^-$  na  $H_2O_2$ , což je první krok v antioxidační cestě a nebo selen v glutathionperoxidáze (GPx), která katalyzuje konverzi  $H_2O_2$  na  $H_2O$ , což se označuje jako druhý krok v antioxidační cestě. Zmiňuje se také o svém dřívějším výzkumu, ve kterém zjistili, že právě perorální podávání Se zlepšuje ochranný účinek zinku proti poškození jater kadmiiem. Zjistili, že právě kadmium vytváří inaktivní formu enzymu CuZnSOD, když v enzymu nahradí zinek. Ve studii se zmiňuje o určitém synergickém účinku selenu a zinku proti oxidativnímu stresu u jater potkanů. Ke stejným závěrům docházejí také Bernotiene et

al. (2013), kteří zkoumali vliv kadmia na antioxidační odezvu v játrech při podávání selenu a zjistili, že může seleničitan působit příznivě v játrech proti inhibici translace vyvolané kadmiiem. Také Myška et al. (2016) zaznamenali snížení obsahu Cd v ledvinách se zvyšujícím se podílem selenizovaného řepkového šrotu v dietě potkanů což také naznačuje antagonismus těchto prvků. Nejen na negativní vliv kadmia na organismus má selen pozitivní vliv, podobné výsledky zaznamenal Ansar (2016) v případě rtuti.

Selen v organické formě má většinou vyšší využitelnost než selen vázaný v anorganické formě. To se projevuje vyšším obsahem organicky vázaného selenu ve všech orgánech a tkáních. Přesto aktivita GPx v krevním séru zůstává stejná jak v případě organicky vázané, tak anorganicky vázané formy. Například Fajt et al. (2009) pozorovali u prasniček, že zkrmování vysokých dávek anorganického selenu (seleničitan sodný  $\geq 7\text{mg/kg}$ ) či organického selenu (přídavek Se-obohacených kvasnic) nepříznivě ovlivňovalo jejich vývoj. Bylo však zjištěno, že v průběhu odchovu prasniček působí nepříznivěji anorganická forma selenu, ale u prasnic v reprodukční fázi působí naopak nepříznivěji organická forma selenu. Optimální přídavek selenu do krmiva  $0,3\text{ mg/kg}$  u prasnice a prasnic zvyšuje obsah selenu v kolostru a mléce a působí tak příznivě na růst a vývoj sajících selat. Selen přechází transplacentárně do oběhu selat a hromadí se ve tkáni mléčné žlázy. Naproti tomu vitamín E nepřechází transplacentárně a selata jsou zcela závislá na jeho obsahu v kolostru a mléce matek. Obsah selenu v krevním séru a tkáních novorozenečích selat je vyšší, když je do krmné dávky pro březí prasnice a prasničky přidáván organicky vázaný selen. U prasnic, kterým se nepodává přídavek selenu do krmiva, dochází ke snížení aktivity GPx. Fajt et al. (2009) zmiňuje, že při použití organického selenu ve formě selenem obohacených kvasnic v krmné dávce je obsah selenu ve svalích daleko vyšší než po přidavku anorganicky vázané formy. Vyšší akumulace selenu ve svalovině při použití selenem obohacených kvasnic je způsobena tím, že selenomethionin nahrazuje ve struktuře svaloviny bílkovinu methionin. Vysoké dávky anorganického selenu mohou způsobit zvýšené ztráty vody a světlé zbarvení svaloviny. Při vysokých dávkách organické formy selenu tyto dopady zjištěny nebyly. Tato práce ukázala vyšší obsahy Se ve tkáních potkanů krmených dietou s přídavkem anorganického Se, což bylo ovlivněno zejména vyšší dávkou anorganického Se. Naopak přídavek selenizovaného řepkového šrotu se zvýšením obsahu Se neprojevil. Zdá se, že by bylo vhodné stanovit biodostupnost Se z rostlinného materiálu pro lepší odhad případné biofortifikace krmné dávky.

## 7 Závěr

Naše hypotéza, že příjem a biologický účinek selenu včetně jeho interakcí v organismu potkanů je ovlivněn formou podaného selenu (anorganická vs. organická forma) byla potvrzena. Byly zjištěny různé výsledky při podávání anorganického i organického selenu. V případě přídatku seleničitanu sodného (anorganické formy) do krmiva došlo k výrazné akumulaci selenu ve všech zkoumaných orgánech a mohli jsme z výsledků pozorovat vliv vyšší koncentrace selenu na příjem dalších esenciálních prvků organismem potkana. Je zřejmé, že vysoké dávky Se vedou k disbalanci dalších esenciálních prvků, což může souviset s tím, že příliš vysoká dávka Se může vyvolat antioxidační odezvu organismu.

Důležitým aspektem pokusu byl případný vliv přídatku vitamínu E do diety na příjem selenu. V závislosti na formě podaného selenu se u organické formy neprojevila u skupiny s přídatkem vitamínu E žádná forma synergie mezi selenem a vitamínem E. V případě podávání anorganického selenu došlo v játrech ke snížení koncentrace selenu, naopak v ledvinách ke zvýšení koncentrace. Výsledky tedy naznačují, že u vysokých dávek selenu by mohl vitamín E napomoci ke zvýšenému vylučování nadbytečného Se z organismu.

V případě selenizované řepky (organické formy) jsme nezjistili žádné statisticky významné změny v koncentraci sledovaných prvků. Je otázkou, zda selenizovaná řepka byla zvolena správně jako vhodný zdroj organického selenu. Zdá se, že by bylo vhodné před případnou aplikací Se vázaného v rostlinné biomase do krmné dávky stanovit biodostupnost Se v daném materiálu a na základě těchto výsledků pak odhadnout vyšší dávky. Na druhou stranu je důležité znát optimální dávku selenu pro daný organismus. Z našich výsledků i výsledků jiných studií je patrné, že vyšší dávky selenu mohou mít významný vliv na metabolismus jiných stopových prvků stejně důležitých pro správné fungování všech tělesných funkcí. Dávky anorganického Se v tomto pokusu byly příliš vysoké, což naznačuje i snížení tělesné hmotnosti potkanů exponovaných dietě s anorganickou formou Se.

## 8 Seznam použité literatury

### 8.1 Seznam použitých knižních zdrojů

Ansar, S. Effect of Selenium on the Levels of Cytokines and Trace elements in Toxin-Mediated Oxidative Stress in Male rats. *Biological Trace Element Research*. 169: 129-133.

Balaban, S., R. Nemoto, S. Finkel, T. 2005. *Mitochondria, Oxidants, and Aging*. Elsevier. Cell. Vol. 120. 483-495.

Balán, J., Vosmanská, M., Száková, J. Mestek, O. 2014. Speciační analýza selenu v odtučněném řepkovém šrotu. *Chemické listy*, 108, 3, 256-263.

Bañuelos, G., S. Mayland H., F. 1999. Absorption and Distribution of Selenium in Animals consuming Canola Grown for Selenium Phytoremediation. *Exotoxicology and Environmental Safety*. 46: 322-328.

Bernotiene, R. Ivanoviene, L. Sadauskiene, I. Liekis, A. Ivanov, L. 2013. the effects of cadmium chloride and sodium selenite on protein synthesis in mouse liver. *Environmental Toxicology and Pharmacology*. 36: 1261-1265.

Brodowska, M. S. Kurzyna-Szklarek, M. Haliniarz, M. 2016. Selenium in the environment. *Journal of Elementology*. 21: 1173-1185.

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.

Carlson, D. B. Reed, J. J. Borowicz, P. P. Taylor, J. B. Reynolds, L. P., Neville. T. L., Redmer, D. A. Vonnahme, K. A. Caton, J. S. 2008. Effects of dietary selenium supply and timing of nutrient restriction during gestation on maternal growth and body composition of pregnant adolescent ewes. *Journal of Animal Science*. 87: 669-680.

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

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

FAO. 2001. Human Vitamin and Mineral Requirements. Report of joint FAO/WHO expert consultation. Bangkok.

Gromadzińska, J. Reszka, E. Bruzelius, K. Wasowicz, W. Akesson, B. 2008. Selenium and cancer: biomarkers of selenium status and molecular action of selenium supplements. *European Journal of Nutrition*. 47: 29-50.

Harman, D. (1956). Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. *Journal of Gerontology* 11: 298–300.

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.

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

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

Mandelker, L. 2009. Oxidační stres: role mitochondrií, volných radikálů a antioxidantů. Elsevier Saunders. 220 s. ISBN: 978-80-7353-135-5.

Monedero-Prieto, M., González-Pérez J., 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.

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.

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

Niki, E. 2015. Evidence for beneficial effects of vitamin E. *The Korean Journal of Internal Medicine*. 30: 571 – 579.

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

Rayman, M.P. 2004. The use of high-selenium yeast to raise selenium status: how does it measure up? *British Journal of Nutrition*. 92: 557-573

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

Szczepaniak, W. 2015. The mineral profile of winter oilseed rape in critical growth stages - potassium. *Journal of Elementology* 20: 203–205.

Štrítecká, 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.

Száková J., Praus L., Tremlová J., Kulhánek M., Tlustoš P. 2017. Efficiency of foliar selenium application on oilseed rape (*Brassica napus* L.) as influenced by rainfall and soil characteristics. *Archives of Agronomy and Soil Science* 63, 9, 1240-1254

Šindelářová, K., Száková, J., Tremlová, J., Mestek, O., Praus, L., Kaňa, A., Najmanová, J., Tlustoš, P. 2015. The response of broccoli (*Brassica oleracea* convar. *italica*) varieties on

foliar application of selenium: uptake, translocation, and speciation. *Food Additives and Contaminants Part A-Chemistry Analysis Control Exposure& Risk Assessment*. 32: 2027-2038

Thakur, M. Srivastava, U. 1996. Vitamin-E metabolism and its application. *Nutrition Reserch*. 16: 1767-1809.

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

WHO. 1996. Trace elements in human nutrition and health, Geneva: World Health Organization, xviii, 343 p. ISBN 92-415-6173-4.

Zarczyńska, K. Sobiech, P. Radwińska, J. Rekawek, W. 2013. Effects of selenium on animal health. *Journal of Elementology*. 18: 329-340.

Zelst, van M. Hesta, M. Gray, K. Staunton, R. Laing, D., G. Janssens, P. J. 2016. Biomarkers of selenium status in dogs. *BMC Veterinary Research*. 12: 15.

Zhang, J., Wang, H., Peng, D., Taylor, E.W. 2008. Further insight into the impact of sodium selenite on selenoenzymes: High dose selenite enhances hepatic thioredoxin reductase 1 activity as a consequence of liver injury. *Toxicology Letters* 176: 223 229.

Žáková, N., Száková, J., Tremlová, J., Najmanová, J., Tlustoš, P. 2016. The soil-plant-feed transport of selenium and other essential micronutrients in diet of sport and recreational horses at two different locations. *Journal of Animal Feed Science* 25: 317–325.

## 8.2 Seznam použitých internetových zdrojů

Selenium. 2012. Chemicool: Cooler than absolute zero [online]. [cit. 2018-01-16].  
Dostupné z: <http://www.chemicool.com/elements/selenium.html>

Selenium. 2007. Chemistry explained: Foundations and Applications [online]. [cit. 2018-01-16]. Dostupné z: <http://www.chemistryexplained.com/elements/P-T/Selenium.html>