

**Česká zemědělská univerzita v Praze**

**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**

**Katedra agroenvironmentální chemie a výživy rostlin**



**Vliv přídatku selenu v dietě na obsah dalších  
esenciálních i rizikových prvků v organismu potkanů**

***(Rattus norvegicus)***

**Diplomová práce**

**Autor práce: Aleš Myška**

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

**© 2015 ČZU v Praze**

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že svou diplomovou práci " Vliv přídatku selenu v dietě na obsah dalších esenciálních i rizikových prvků v organismu potkanů (*Rattus norvegicus*)" jsem vypracoval 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 autor uvedené diplomové práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušil autorská práva třetích osob.

V Praze dne 8. 4. 2015

---

## **Poděkování**

Rád bych touto cestou poděkoval především paní Prof. Ing. Jiřině Szákové, CSc za odbornou pomoc, podporu, cenné rady a připomínky při vypracování diplomové práce. Také bych rád poděkoval paní Ing. Janě Najmanové za pomoc a odborné vedení v laboratoři. Dále bych chtěl poděkovat své rodině za podporu v průběhu celého studia.

# Vliv přídatku selenu v dietě na obsah dalších esenciálních i rizikových prvků v organismu potkanů (*Rattus norvegicus*)

## Souhrn

Cílem práce bylo zhodnocení vlivu zvýšeného příjmu selenu, který byl do diety dodáván formou obohaceného řepkového šrotu, na ostatní prvky v tělech potkanů. Rostliny z rodu brukvovitých patří k rostlinám, které účinně akumulují selen ve svých tkáních, a proto jsou dobrým zdrojem pro biofortifikaci selenem. V našem experimentu byl v modelových podmínkách pozorován účinek přídatku Se-oboženého odtučněného řepkového šrotu na tkáních ledvin, jater a v krvi potkanů. Pokusní potkani byli rozděleni do čtyř skupin a jednotlivé experimentální diety byly připraveny následujícím způsobem: skupina č. 1 byla kontrolní a nedošlo zde k žádnému nahrazení sojové moučky za řepkový šrot, u skupiny č. 2 bylo 30 % sojové moučky nahrazeno za šrot řepkový, u skupiny č. 3 bylo nahrazeno 60 % sojové moučky a u poslední skupiny č. 4 byla nahrazena veškerá sojová moučka za řepkový šrot. Obsahy selenu v játrech, ledvinách a krvi zvířat byly stanoveny s indukčně vázaným plazmatem hmotnostní spektrometrií (ICP-MS), zatímco ostatní základní a rizikové prvky byly stanoveny s indukčně vázaným plazmatem optickou emisní spektrometrií (ICP-OES). Naše výsledky ukázaly klesající obsah Cd v játrech potkanů s rostoucím obsahem Se v potravě, čímž se potvrdil antagonismus těchto dvou prvků. Cd bylo zároveň jediným prvkem v játrech, který zvýšený příjem Se ovlivnil. Jistý antagonismus se projevil i v případě Fe, jehož obsahy v krvi a ledvinách se zvyšujícím se příjmem Se klesaly. Obsahy P a zejména Mn v krvi rovněž klesly. Naopak tomu bylo v případě K, jehož koncentrace v krvi a ledvinách stouply. U ostatních prvků již záviselo na konkrétním nahrazení příslušného množství sojové moučky, kdy se u konkrétních skupin objevoval pokles nebo zvýšení množství určitého prvku v závislosti na množství nahrazené sojové moučky.

**Klíčová slova:** příjem, *Rattus norvegicus*, řepkový šrot, selen

# **The effect of dietary selenium addition on the contents of both essential and risk elements in rat organism (*Rattus norvegicus*)**

## **Summary**

The goal of this paper is to evaluate the impact of the increased level of selenium on other chemical elements in the body of rats. The selenium was added to the rat's diet in the form of Se-enriched defatted rapeseed meal. Plants from *Brassica* species belong among those that effectively accumulate selenium in its tissue, which makes them excellent source for selenium biofortification. The effect of Se-enriched defatted rapeseed meal was observed in our experiment in the kidney and liver tissue and in the whole blood of rats. The rats were divided into four groups and the experimental diets was as follows: group 1 was a control group and there was no replacement of soy meal by Se-enriched defatted rapeseed meal, group 2 where 30% of soy meal was replaced, group 3 where 60% of soy meal was replaced and group 4 where 100% of soy meal was replaced by Se-enriched defatted rapeseed meal. The selenium contents in liver, kidney and whole blood of the animals were determined by inductively coupled plasma mass spectrometry (ICP-MS) whereas the other essential and risk elements were determined by inductively coupled plasma optical emission spectrometry (ICP-OES). Our results showed decreasing levels of Cd in the liver of rat with increasing levels of Se in their diet. This proved the antagonism of these two chemical elements. Cd was the only element in the rat's liver that was influenced by increasing intake of Se. Certain antagonism became evident in case of Fe as well. With increasing intake of Se, the levels of Fe decreased not only in the kidneys but also in the blood of rats. Levels of P and especially Mn in the blood decreased as well. The opposite happened with K whose concentration increased in kidneys and in the blood of the rats. In case of other elements the increase or decrease of specific element depended on the amounts of replaced soy meal.

**Keywords:** intake, *Rattus norvegicus*, rapeseed meal, selenium

# OBSAH

<b>SEZNAM NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH ZKRATEK.....</b>	<b>8</b>
<b>1 ÚVOD .....</b>	<b>9</b>
<b>2 Cíl práce .....</b>	<b>10</b>
<b>3 TEORETICKÁ ČÁST .....</b>	<b>11</b>
<b>3.1 Selen.....</b>	<b>11</b>
3.1.1 Historie selenu .....	11
3.1.2 Výskyt a vlastnosti selenu.....	11
3.1.3 Využití selenu .....	14
<b>3.2 Selen v živých organizmech.....</b>	<b>14</b>
3.2.1 Selen jako esenciální prvek živočichů .....	14
3.2.2 Selen v potravě.....	15
3.2.3 Nedostatek selenu .....	16
3.2.4 Nadbytek selenu.....	18
<b>3.3 Toxikokinetika selenu .....</b>	<b>20</b>
3.3.1 Absorpce .....	20
3.3.2 Distribuce.....	21
3.3.3 Metabolizmus.....	21
3.3.4 Exkrece .....	23
<b>3.4 Stanovení obsahu Se v organismu a jeho mezní hodnoty.....</b>	<b>24</b>
3.4.1 Způsob stanovení obsahu Se v organismu.....	24
3.4.2 Mezní hodnoty obsahu Se.....	24
<b>3.5 Selen v rostlinách.....</b>	<b>25</b>
3.5.1 Se v rostlinách obecně .....	25
3.5.2 Řepka olejka.....	26
<b>3.6 Selen v půdách.....</b>	<b>27</b>
<b>3.7 Obsahy selenu v České republice.....</b>	<b>28</b>
<b>3.8 Interakce selenu s ostatními prvky .....</b>	<b>29</b>
<b>4 PRAKTICKÁ ČÁST .....</b>	<b>32</b>
<b>4.1 Materiál a metody .....</b>	<b>32</b>
4.1.1 Pokusná zvířata .....	32
4.1.2 Složení krmných směsí a schéma pokusu.....	32
4.1.3 Odběr a zpracování vzorků .....	33
4.1.4 Analytické metody .....	33
4.1.5 Statistické zpracování dat .....	34
<b>4.2 Výsledky a diskuse .....</b>	<b>34</b>

4.2.1	Pokus I - Příkladvek řepkového šrotu .....	36
4.2.1.1	Vliv přídatku řepkového šrotu na hmotnost potkanů .....	36
4.2.1.2	Obsah prvků ve vzorcích krmiva .....	37
4.2.1.3	Stanovené obsahy prvků v krvi potkanů .....	38
4.2.1.4	Stanovené obsahy prvků v ledvinách potkanů .....	39
4.2.1.5	Stanovené obsahy prvků v játrech potkanů.....	40
4.2.2	Pokus II – Příkladvek Se obohaceného řepkového šrotu.....	41
4.2.2.1	Vliv přídatku Se-oboženého šrotu na hmotnost potkanů.....	41
4.2.2.2	Obsah prvků ve vzorcích krmiva .....	41
4.2.2.3	Obsah prvků v krvi.....	43
4.2.2.4	Obsah prvků v ledvinách.....	46
4.2.2.5	Obsah prvků v játrech .....	50
<b>5</b>	<b>ZÁVĚR.....</b>	<b>54</b>
<b>6</b>	<b>Seznam použité literatury:.....</b>	<b>56</b>
<b>6.1</b>	<b>Seznam použitých knižních zdrojů.....</b>	<b>56</b>
<b>6.2</b>	<b>Seznam použitých internetových zdrojů.....</b>	<b>66</b>

## SEZNAM NEJDŮLEŽITĚJŠÍCH ZKRATEK

Ca	vápník
Cd	kadmium
Cu	měď
č.	číslo
EPA	Environmental Protection Agency
Fe	železo
GPx (GSH-Px)	Glutathion peroxidáza
HDL	High Density Lipoprotein
IARC	International Agency for Research on Cancer
K	draslík
LD <sub>50</sub>	Lethal Dose (smrtná dávka)
Mg	hořčík
ml	mililitr
Mn	mangan
např.	například
NRC	National Research Council
P	fosfor
S	síra
Se	selen
SZÚ	Státní Zdravotní Ústav
Tab	tabulka
Zn	zinek



# 1 ÚVOD

Planeta Země je stejně jako ostatní nebeská tělesa tvořena hmotou, která se stmelila dohromady a která se pohybuje vesmírem, kde panuje úplná prázdnota. Tato hmota je tvořena naprosto nepředstavitelným množstvím neuvěřitelně malých částic. Tyto částice nazýváme atomy. Ve vesmíru jsou nejrozšířenější atomy vodíku, ovšem naše mateřská planeta je vedle vodíku složena i z velkého spektra dalších prvků a i díky tomu je zde, jako zatím na jediném objeveném místě ve vesmíru, život.

Prvků se zde nachází opravdu mnoho, avšak ne všechny jsou pro život užitečné, některé, jako například rtuť, kadmium či olovo, jsou pro život toxické. Jednotlivé prvky se dle různých kritérií se dělí do mnoha skupin. Z hlediska vlivu na život bychom je mohli rozdělit na prvky pro život nezbytné, prvky esenciální a prvky toxické. Zjednodušeně by se dalo říci, že prvky esenciální napomáhají a podporují prvky nezbytné a naopak prvky toxické škodí.

Selen patří mezi významné esenciální prvky a podílí se na řadě biochemických a fyziologických aktivitách v organismu. Obsahy selenu stanovené v krevním séru 386 dobrovolníků z různých oblastí České republiky byly v rozmezí 53 - 73  $\mu\text{g/l}$  (Střítecká et al., 2009). Přitom referenční hodnota odvozená z výsledků publikovaných ve vědecké literatuře se pohybuje v rozmezí od 95 do 135  $\mu\text{g/l}$  (Kvíčala et al., 2008). To naznačuje nízký příjem tohoto prvku. Nízké hladiny selenu byly v České republice zaznamenány i v krvi hospodářských zvířat. Fyziologické rozmezí koncentrací selenu v potravě je velmi úzké, takže příliš nízké i příliš vysoké obsahy tohoto prvku mohou být pro člověka i zvířata škodlivé a závažných případech až letální. Problematika příjmu, biochemických a fyziologických charakteristik tohoto prvku je tedy v současné době velmi aktuální. Jednou z možností, jak zvýšit příjem selenu v lidské výživě, je obohacování potravin o selen a to jak rostlinných tak živočišných. Toho lze dosáhnout používáním hnojiv s obsahem selenu a šlechtěním rostlin pro vyšší akumulaci tohoto prvku. U hospodářských zvířat lze přidáním těchto rostlin do potravy zvýšit dietární příjem selenu a následně tak zvýšit jeho obsah v tkáních zvířat, tím se i zvyšuje přístupnost selenu pro lidský organizmus skrze maso a mléko. Existuje ale jen málo poznatků o chování dalších elementů v organismu, které mohou se selenem, v případě jeho zvýšeného příjmu, interagovat.

## 2 Cíl práce

Cílem této práce je tedy zhodnotit příjem selenu z obohaceného řepkového šrotu organismem potkana a posoudit případné interakce selenu v organismu zvířat s dalšími esenciálními i rizikovými prvky. **Hypotéza: přídavek fortifikovaného řepkového šrotu do diety potkanů zvýší hladinu selenu v organismu zvířat, aniž by ovlivnil hladiny dalších esenciálních prvků.**

Hodnocení probíhalo dle následujícího schématu: V modelových experimentech byl sledován příjem selenu a dalších prvků organismem laboratorního potkana - *Rattus norvegicus* (na základě obsahů těchto prvků v játrech, ledvinách a krvi pokusných zvířat) po dlouhodobé expozici (cca 40 - 60 dní) pokusných zvířat experimentální dietě s přídavkem řepkového extrahovaného šrotu obohaceného selenem.

V odebraných tkáních byly stanoveny obsahy selenu a základních esenciálních mikroprvků i rizikových prvků a získaná data byla statisticky zpracována, vyhodnocena a interpretována.

## 3 TEORETICKÁ ČÁST

### 3.1 Selen

#### 3.1.1 Historie selenu

Prvek selen byl objeven roku 1817 švédským chemikem Jönsem Jacobem Berzeliem, který si všimnul, že v továrně na výrobu kyseliny sírové, zůstává na zemi a stěnách komory pro spalování síry načervenalá usazenina. Nejdříve si myslel, že se jedná o již objevený prvek tellur, později ale dospěl k závěru, že se jedná o zcela nový prvek, který nazval selen. Původ názvu pochází z řeckého slova *selene*, které znamená *měsíc* (Berzelius, 1818).

Pro svou podobnost byl selen zařazen mezi síru a tellur do VI A skupiny prvků periodické tabulky, kterou nazýváme chalkogeny. Protože selen vykazuje některé vlastnosti kovů a vedle toho zároveň i nekovů je zařazen mezi takzvané polokovy (Chemistry explained, 2007).

#### 3.1.2 Výskyt a vlastnosti selenu

Selen je na Zemi považován za velmi vzácný prvek. Je jmeně rozptýlený v zemské kůře, a proto zde nejsou žádné rudy, ze kterých by jej šlo těžít. Proto je získáván jako vedlejší produkt při těžbě jiných rud, zejména sulfidických rud těžkých kovů mědi, zinku a olova. Vyskytuje se také v křídových a sopečných horninách v podobě kovových selenidů. Průmyslově se vyrábí zejména z anodových kalů po elektrolytické rafinaci mědi. Největšími producenty jsou Kanada, USA, Rusko (Chemistry explained, 2007; Lenntech, 2015; Periodická tabulka, 2014; NRC, 2005).

V Evropě je mimo průmyslové a těžební zóny výskyt tohoto prvku v půdě obvykle nízký. Vedle geologie to může být způsobeno i tím, že je Evropa již poměrně dlouhou dobu osídlena lidmi, kteří pro svou obživu musí pěstovat rostliny a právě dlouhodobé zemědělství vyčerpává obsah Se v půdách (Bencko et al., 2011). Protože se selen, jako příměs v určitém množství, vyskytuje i v uhlí, je jedním z hlavních zdrojů Se v prostředí právě spalování uhlí. Druhým významným zdrojem výskytu, a to zejména v půdě, jsou živočišná krmiva, kdy se selen do půdy dostává skrze zvířata při recyklaci hnoje a močůvky (Sager, 2006).

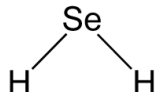
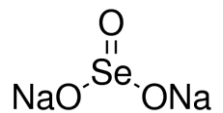
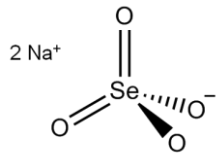
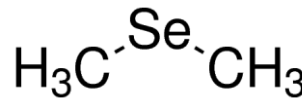
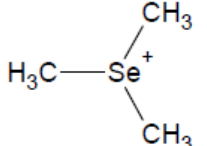
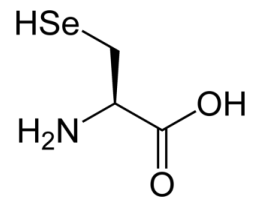
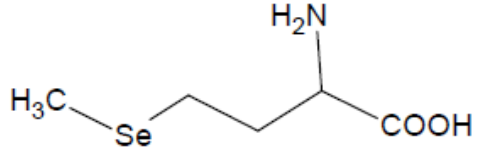
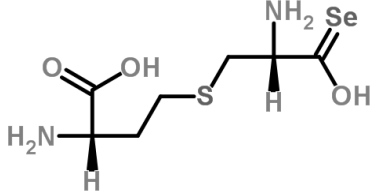
Selen se vyskytuje v několika modifikacích, a to ve formách amorfních, kdy jde o prášek zbarvený do červena, i krystalických, kdy je červený nebo šedý. V přírodě se vyskytuje v oxidačních stavech  $\text{Se}^{-\text{II}}$ ,  $\text{Se}^0$ ,  $\text{Se}^{\text{IV}}$  a  $\text{Se}^{\text{VI}}$  (NRC, 2005). Stejně jako síra tvoří sulfidy, sírany

a siřičitany, tvoří selen společně s kovy a kyslíkem selenidy ( $\text{Se}^{-\text{II}}$ ), selenany ( $\text{Se}^{\text{VI}}$ ) a seleničitany ( $\text{Se}^{\text{IV}}$ ).

V oxidačním stavu  $^{-\text{II}}$  selen existuje ve formě kovových selenidů ( $\text{Na}_2\text{Se}$ ), selanu ( $\text{H}_2\text{Se}$ ), či dimethyl selenidu ( $\text{C}_2\text{H}_6\text{Se}$ ). V oxidačním stavu  $^{\text{IV}}$  se Se vyskytuje jako seleničitan ve sloučeninách jako jsou seleničitan sodný ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ), oxid seleničitý ( $\text{SeO}_2$ ) a kyselina seleničitá ( $\text{H}_2\text{SeO}_3$ ). Tento stav Se se v zásaditém prostředí a za přítomnosti kyslíku může oxidovat na stav  $^{\text{VI}}$ , kdy se vyskytuje jako selenan ve sloučeninách jako je selenan sodný ( $\text{Na}_2\text{SeO}_4$ ), oxid selenový ( $\text{SeO}_3$ ) nebo kyselina selenová ( $\text{H}_2\text{SeO}_4$ ) (NRC, 2005).

Elementární selen je nerozpustný ve vodě a při zapálení na vzduchu hoří jasně modrým plamenem za vzniku červeně zbarveného oxidu seleničitého (periodická tabulka, 2014). Selen je chemickými vlastnostmi velmi podobný síře s ohledem na atomovou velikost, vazebnou energii, ionizační potenciál i elektronovou afinitu. Hlavním rozdílem mezi těmito dvěma prvky je, že Se se vyskytuje jako redukovatelná čtyřvazná forma, zatímco síra se vyskytuje jako oxidovatelná čtyřvazná forma. Vedle toho je zde také rozdíl v síle kyselin, které tyto dva prvky vytvářejí. Například kyselina selanová ( $\text{H}_2\text{Se}$ ) je silnější kyselina než kyselina sulfanová ( $\text{H}_2\text{S}$ ). Díky tomu Se sloučeniny jako selenoly ochotně oddělují při fyziologickém pH, což je důležité pro jejich roli v katalických reakcích. Skutečnost, že se vyskytuje v několika oxidačních stupních, mu dovoluje utvářet několik organických sloučenin, jako jsou dimethylselenid, trimethylselenium či aminokyseliny selenomethionin a selenocystein, kde je atom síry nahrazen atomem selenu (Tinggi, 2003). V potravinách rostlinného původu se vyskytuje zejména ve formě selenomethioninu, kdežto v potravinách živočišných ve formě selenocysteinu (Bencko et al., 2011).

Vybrané sloučeniny selenu jsou zobrazeny na obrázku č. 1.

Sloučenina	Sumární vzorec	Konstituční vzorec
Selan	$\text{H}_2\text{Se}$	
Seleničitan sodný	$\text{Na}_2\text{O}_3\text{Se}$	 1
Selenan sodný	$\text{Na}_2\text{O}_4\text{Se}$	 2
Dimethylselenid	$\text{C}_2\text{H}_6\text{Se}$	 1
Trimethylselenid	$\text{C}_3\text{H}_9\text{Se}$	 3
Selenocystein	$\text{C}_3\text{H}_7\text{NO}_2\text{Se}$	 4
Selenomethionin	$\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{Se}$	 5
Selenocystathionin	$\text{C}_7\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_3\text{SSe}$	 6

Obrázek č. 1 Vybrané chemické sloučeniny selenu.

1. Sigma-Aldrich (2015); 2. Wikipedia (2009); 3. CHEBI (2013); 4. Wikipedia (2015);  
5. Wikipedia (2014); 6 Chemspider (2015).

### 3.1.3 Využití selenu

Selen má v průmyslu několik zásadních využití. Využívá se ve sklářském průmyslu, kde jeho příměs odstraňuje zelené zbarvení skla nebo při přidání většího množství zbarví sklo do rubínově červené. Jeho obsah ve skle také redukuje množství světla, jež sklem projde. Jeho další velké využití je spojeno s jeho vlastností polovodiče. Využívá se při výrobě fotocitlivých elektrosoučástek a u usměrňovačů střídavého elektrického proudu (Periodická tabulka, 2014). V současné době se také využívá jeho potenciálu při výrobě fotočlánků, kdy při ozáření takového článku dochází k přímé přeměně slunečního světla na energii elektrickou (Chemistry explained, 2007).

Dále se selen využívá jako legující prvek mosazí v metalurgii, katalyzátor chemických reakcí (oxidační reakce v organické chemii), příměs do šamponů proti lupům či pigment červené barvy (Chemicool, 2012; Periodická tabulka, 2014).

A v neposlední řadě se selen používá v zemědělství jako příměs hnojiv či krmiv pro zajištění minimálního obsahu Se pro zdravý růst a vývoj a doplnění v potravinovém řetězci (Chemistry explained, 2007).

Vzhledem k širokému využití selenu je reálné předpokládat, že se jeho výskyt v životním prostředí bude v budoucnu zvyšovat a zároveň je možné, že kyselější půdy a jejich provzdušnění, způsobené lidskou činností, zvýší i jeho mobilitu a tím i jeho biologickou dostupnost pro rostliny a posléze i živočichy.

## 3.2 Selen v živých organizmech

### 3.2.1 Selen jako esenciální prvek živočichů

Elementární selen je klasifikován jako netoxický a  $LD_{50}$  pro krysy je při orálním podání 6700 mg/kg. Ve sloučeninách již ovšem toxický může být, mezi jeho nejtoxičtější sloučeniny patří sirovodíku podobný selan. Tento bezbarvý plyn s nepříjemným zápachem, vzniká při zahřívání elementárního selenu nad 400°C (Chemicool, 2012; Combs et Combs, 1986). Selan je silné redukční činidlo a ve vodném roztoku relativně silná kyselina, při pokojové teplotě se plyn ve vzduchu rozkládá na elementární selen a vodu (NRC, 2005). Další nebezpečnou sloučeninou je například oxid seleničitý vznikající při oxidaci selenu, ten je podobně toxický jako oxid arsenitý (Periodická tabulka, 2014).

Vedle toho je však selen také esenciální prvek, který je nutný pro správné fungování organismů a to konkrétně u živočichů. To, že je selen stopový esenciální prvek, bylo objeveno v roce 1957, tedy téměř sto padesát let po objevení samotného prvku, do té doby byl spíš považován pouze za jed. Po zjištění, že selen u zvířat trpících nedostatkem vitamínu E zabraňuje odumírání jater, zájem o výzkum účinků selenu na zdraví značně stoupl (Schwarz et Foltz, 1957).

V roce 1973 pak bylo objeveno, že je součástí glutathion peroxidázy (GPx, někdy označované jako GSH-Px), přičemž tento enzym katalizuje redukci peroxidů a tím chrání tkáň před oxidativním poškozením. V osmdesátých letech pak bylo zjištěno, že je Se obsažen v dalších selenoproteinech, což naznačuje, že jeho význam není pouze v roli antioxidantu, ale že je zapojený i do dalších funkcí metabolismu savců. Jako esenciální prvek je důležitým komponentem v několika nezbytných proteinech, zejména enzymech zapojených do obranných mechanismů. Je také součástí enzymů ovlivňujících růst či metabolismus, dále je zapojen do regulace hormonů štítné žlázy a chrání mozek a pohlavní žlázy (Risher et al., 2003; Tinggi, 2003; Tobiasz et al., 2014). Selen se také vzájemně ovlivňuje s toxickými kovy jako např. olovo, rtuť, kadmium, thallium či arsen a činí tyto látky pro organismus méně toxickými (Sager, 2006).

Laboratorní pokusy na lidech a zvířatech ukázaly, že většina sloučenin selenu nezpůsobuje rakovinu. Naopak některé průzkumy prokázaly, že nižší hodnoty obsahu selenu v organismu, než jsou normální, mohou zvyšovat riziko rakoviny. Na základě studií provedených mezinárodní agenturou pro výzkum rakoviny (IARC) v roce 1987 byl selen a jeho sloučeniny zařazen jako neklasifikovaný do třetí kategorie. Nicméně americká agentura pro ochranu životního prostředí (EPA) později rozhodla, že jedna specifická forma selenu, a to konkrétně seleno sulfid, je pravděpodobný karcinogen pro lidi (Risher et al., 2003).

Přestože je Se pro živočichy nezbytný, hranice jeho prospěšnosti pro organismus je velice úzká. Pokud dojde k překročení ať už maximální či minimální hranice jeho potřebného množství pro organismus a nastává-li tato situace často či v extrémních hodnotách, dochází k poškození organismu, které může vést až k úhynu organismu.

### **3.2.2 Selen v potravě**

Hlavním zdrojem selenu je potrava a její složení, přičemž v mnoha zemích závisí obsah selenu v živočišných a potažmo i v lidech na obsahu Se v půdě a na jeho dostupnosti z půdy. V potravě je pak dostupnost, respektive toxicita, Se závislá na chemických formách,

ve kterých se v ní Se vyskytuje. Všeobecně by se dalo říci, že organické formy Se jsou biologicky více dostupné a méně toxické než anorganické formy selenu (Tinggi, 2003). Selen se v základních potravinách jako je kukuřice, pšenice a sója vyskytuje ve formě selenomethioninu. Jde o organický analog sírové aminokyseliny methioninu. Selenomethionin může být místo methioninu začleněn do tělesných bílkovin organismu a slouží jako prostředek k ukládání Se v orgánech a tkáních. Selenomethionin je obecně považován za nejlépe vstřebatelnou a využitelnou formu selenu. Selenové doplňky potravy pak mohou obsahovat selenan sodný či seleničitan sodný, tedy anorganické formy selenu. (Střítecká et al., 2009).

V Severní Evropě, kde je hladina Se v půdách nízká, představují hlavní zdroj Se ryby. Ve Švédsku byly zjištěny rozdíly v množství selenu v krevní plazmě mezi lidmi, kteří ryby jedí a mezi těmi, kteří ne (Svensson et al., 1992). Pro porovnání, v Severní Americe, kde je množství Se v půdě vyšší, jsou hlavním zdrojem Se v potravě obiloviny a produkty z nich (Gibson, 1994).

Střítecká et al. (2009) studiem literatury zjistili, že dobrými zdroji Se v potravě jsou ryby, korýši, červené a kuřecí maso, vejce, játra, cibule a česnek.

Povrchové i podzemní vody z většiny oblastí světa mají obsah Se přibližně 0,04 – 0,12  $\mu\text{g/l}$  a přispívají k výživě pouze minimálně (NRC, 2005). Pouze lokálně se může objevit zdroj vody s tak vysokou koncentrací Se, že by byl v povrchové vodě schopný způsobit koncentrace přesahující 10  $\mu\text{g/l}$  a tím následnou otravu pro vodní živočichy a volně žijící zvířata. Takovéto případy se stávají ojediněle zejména při vyplachování Se bohatých půd nebo jako následek průmyslového znečištění (Hamilton, 2004).

### **3.2.3 Nedostatek selenu**

V případě, že je příjem selenu nízký, mohou se objevit různé zdravotní příznaky a obtíže, mezi které patří jaterní nekrózy u potkanů, exsudativní diatézy u drůbeže, degenerace jater u prasat, svalová dystrofie u přežvýkavců a poruchy reprodukce u různých jiných živočišných druhů (NRC, 2005). Tyto poruchy jsou často způsobeny kombinací nedostatku selenu a vitamínu E (Oldfield, 2003).

Nemoci spojené s deficitem Se byly vážným problémem na farmách v mnoha zemích světa. Například nekróza jater způsobená nedostatkem Se může u prasat způsobit smrt v několika hodinách po objevení příznaků, exsudativní diatéza u drůbeže může v několika dnech způsobit smrt v důsledku otoku tělních tkání. Nejběžnější nemocí způsobenou



deficitem Se je nemoc způsobující úbytek svalů (svalová dystrofie, v angličtině *white muscle disease*) (Andrews al., 1968). Tato deficitní porucha se objevuje zejména u mladých, rostoucích zvířat a nejvíce postihuje zejména ovce staré 1 až 3 měsíce. Ty se stávají slabé a těžce přijímají potravu, a pokud se tato slabost projeví i na srdci a jeho funkci, pak je nemoc často příčinou úmrtí jedince (Peter et Costa, 1992). Příznaků mírného nedostatku je těžší si povšimnout, ale většinou se projevují sníženým růstem a produkcí domácích zvířat a také poškozenou imunitou (Tinggi, 2003). Bylo popsáno, že lehký nedostatek Se vede ke svalové dystrofii u prasat, skotu, ovcí a koní a náhlé selhání srdce pak způsobí smrt. Dále zvířata ztrácejí chuť k jídlu, jsou opožděná v růstu, objevují se problémy s plodností a s reprodukcí (Galgan et Frank, 1995). Kromě toho se může objevit i myopatie, kardiomyopatie a poruchy imunitního systému (Sager, 2006).

U lidí se nedostatek selenu projevuje např. srdečními problémy nebo bolestí svalů (Risher et al., 2003). Poprvé byla u lidí detekována závažnější nemoc způsobená nedostatkem Se v Číně v provincii Keshan a podle tohoto místa nemoc také dostala svůj název. U domácích zvířat v této oblasti se vyskytovala svalová dystrofie, to vedlo k domněnce, že je zde nízká koncentrace Se v prostředí, to posléze prokázaly analýzy odebraných vzorků půdy. Tato skutečnost také ukázala, že množství a biologická dostupnost Se v půdě je důležitá pro vstup Se do potravního řetězce (Yang et al., 1988). Keshanská nemoc je onemocnění srdce, které vede k poruchám jeho správného fungování a způsobuje odumírání srdečního svalstva. Nemoc také způsobuje, že je tělo více náchylné k jiným nutričním, biochemickým nebo infekčním nemocem (Fang et al., 2003). Vyskytuje se v několika typech rozdělených podle závažnosti na akutní, subakutní, chronickou a latentní, přičemž nejčastěji postihuje malé děti (Yang et al., 1988). Naštěstí po zavedení doplňku stravy s obsahem seleničitanu sodného se výskyt této nemoci snížil (Tinggi, 2003).

Dalším onemocněním, za kterým stojí nedostatek Se je degenerativní onemocnění kloubů neboli Kashin-Beckova nemoc („*Kashin Beck disease*“), která se také poprvé objevila v Číně. Jde o degenerativní onemocnění kostí a chrupavek způsobené oxidačním poškozením chrupavky, které vede k deformaci kostní struktury (Ge et Young, 1993). Dlouhodobě nedostatečný přísun Se je rizikovým faktorem pro vznik různých dalších nemocí včetně nemocí cév, neplodnost, zrychlené stárnutí, onemocnění očí, rakoviny, zánětů, neurologických nemocí a dalších, které jsou způsobeny volnými radikály, protože snížený příjem Se znamená i sníženou aktivitu ochranného GPx (Kvíčala et al., 2008; Střítecká et al., 2009). Dle různých studií má selen vliv i na spermatogenezi a jeho nedostatek způsobuje

snížení množství spermií, které jsou navíc poškozené. Při spermatogenezi vzniká velké množství volných radikálů, a protože spermie obsahují velké množství polynenasycených mastných kyselin, které snadno podléhají oxidaci, volné radikály tyto spermie snadno poškozují. Z toho důvodu je zde nezbytná antioxidační ochrana v podobě GPx, které může být v případě deficitu Se nedostatečné množství (Watanabe et Endo, 1991).

Vedle přímých vlivů na organismus může mít nedostatek selenu v potravě také nepřímý vliv, protože při jeho deficitu viry napadající organismus snadněji podléhají mutacím a je zde nebezpečí vzniku virulentnějších kmenů virů. Tento fakt pro nás může být velmi aktuální například u chřipky, jejíž epidemie s neúnavnou pravidelností postihují rok co rok nejen naši populaci (Bencko et al., 2011).

Kvůli starostem, které vzešly z poznatků, co nedostatek Se způsobuje u chovů zvířat, ale i u lidí, vzniklo několik strategických plánů, jak Se do potravního řetězce doplňovat. Jedním z možných způsobů je přímá aplikace Se na pastviny, kde se domácí zvířata pasou. Tím se zvýší příjem Se rostlinami, které jsou pro zvířata krmivem a stanou se tak hlavním zdrojem Se v potravinovém řetězci. Druhým navrženým způsobem je přidávat seleničitan sodný nebo selenan sodný do solných kostek, které domácí zvířata olizují. Dalším možným způsobem, jak dodat Se zvířatům, je jeho dodávání v granulích, které by pomalu uvolňovaly Se ve střevech zvířat. Jiným navrženým způsobem je přidávání selenových solí do vody, kterou by byla zvířata sprchována (Tinggi, 2003).

#### **3.2.4 Nadbytek selenu**

Jak již bylo řečeno, nezbytná dávka selenu pro organismus má úzké hranice a při překročení té horní se může projevit toxicita tohoto prvku. Většina Se je přijímána orálně z potravy. Vysoké dávky Se v organismu vedou k inhibici enzymů a blokování sulfohydroxylových skupin, zasahují do syntéz aminokyselin, mění strukturu bílkovin a ničí buněčné membrány (Sager, 2006). Toxické působení selenu na zvířatech bylo pozorováno v Americe ve třicátých letech 20. století u hospodářských zvířat pasoucích se na půdách s vysokým obsahem Se. U těchto zvířat se objevily nemoci zvané jako slepá závrať „*blind staggers*“ a alkalická nemoc „*alkali disease*“ (Tinggi, 2003).

Alkalická nemoc je chronická otrava koní a dobytka způsobená příjmem rostlin s obsahem selenu od 5 do 50 mg Se v kilogramu rostlinné hmoty a způsobuje dystrofii kopyt, hrubou srst a její vypadávání (Tinggi, 2003). Dalšími příznaky nemoci u skotu a koní jsou ztráta chuti k jídlu, cirhóza jater, nefritida, alotrofie, nekrózy myokardu. Kulhání a bolesti

spojené s deformovanými kopyty mohou způsobit, že jsou zvířata neochotná se pohybovat pro jídlo a vodu a umírají tak žízní a hladem (O'Toole et Raisbeck, 1995).

Slepá závrať je také způsobena dlouhodobým příjmem zvýšených dávek Se a je spojována s rostlinami, které jsou v sobě schopny akumulovat až 1000 mg/kg Se. Postižená zvířata se nejprve bezcílně potulují a jsou zmatená a zakopávají o různé předměty, trpí nechutenstvím a horší se jim zrak. Tyto příznaky se postupně zhoršují a přidává se slábnutí předních končetin. Těchto příznaků je často obtížné si všimnout, a tak se na nemoc často přijde až když je pozdě a zvířata již nevidí, mají ochrnutý jazyk a polykací mechanismus, mají nízkou tělní teplotu, rychle a těžce dýchají a silně sliní. Po objevení těchto příznaků se zvíře, často velmi brzy, zhroutlí a umírá během několika hodin (O'Toole et Raisbeck, 1995).

Mezi rostliny, které jsou schopné akumulovat takové množství Se, aby způsobily otravu, patří například australské druhy *Morinda reticulata* nebo *Neptunia amplexicaulis*. U těchto selen akumulujících rostlin bylo objeveno, že obsahují Se-cystathionin, tedy organickou formu Se, která je pro živočichy toxická (Tinggi, 2003; Hayes, 2008).

U pokusných potkanů bylo pozorováno, že při chronickém přebytku Se se objevuje poškození jater (WHO, 1987).

Zde je ovšem důležité zmínit, že toxicita selenu nezávisí pouze na jeho chemické formě a množství, ale také na ostatních faktorech, kterými jsou druh organismu, zdraví, věk, způsob vstupu do organismu a celkové složení stravy. Přesto, že je zde v posledních desetiletích rozsáhlý výzkum toxicity Se na zvířatech, tajemství jak přesně ovlivňuje organismy na buněčné a molekulární úrovni zatím ještě nebylo zcela rozšifrováno (Tinggi, 2003).

Ačkoli byly otravy hospodářských zvířat způsobené z přírody dostupným selenem pozorovány na několika místech na světě, nejsou většinou považovány za hlavní problém producentů živočišných produktů (Tinggi, 2003). Větší problém může způsobit špatná kalkulace potřebné dávky v krmivu. Po podávání diety s obsahem Se 15 – 40 mg/kg se u prasat objevily příznaky intoxikace, mezi které patří poškození a zčervenání kůže, ztráta srsti, poruchy hybnosti, snížený příjem krmiva, zvýšení prahu bolesti a měknutí kopyt (Mihailović et al., 1992).

Pokud zvířata zkonsumují velké množství selen akumulujících rostlin, dochází k akutní otravě. V takovém případě smrt z předávkování nastává v rozmezí několika hodin až několika dnů. Zvířata poté mají po česneku zapáchající dech a zmateně se pohybují, mají

skleslou hlavu a svěšené uši. Pak následují příznaky jako zvracení, dušnost, křeče, těžké dýchání. Nakonec umírají na dechové nebo oběhové selhání (Raisbeck, 2000).

Negativní příznaky způsobené zvýšeným příjmem Se byly pozorovány i u lidí. Mezi velmi časté příznaky patří křehnutí vlasů, deformace nehtů a po česneku zapáchající dech, ten je způsoben vylučováním dimethylselenidu, který vzniká methylací selenu v organismu a při nadbytku Se je vylučován plícemi (Sunde, 2001). Mezi další příznaky patří poruchy trávicího traktu, jako je zvracení a průjem. V některých případech se objevuje kožní poškození (zčervenání, tvorba puchýřů). Způsobuje také neurologické projevy jako necitlivost a ztuhlost končetin a jejich brnění, křeče a slabost a snižuje kognitivní funkci (Tinggi, 2003; Yang et al., 1983). Bylo také zjištěno, že velké množství selenu snižuje množství spermií, způsobuje změny v reprodukčním cyklu u krys a změny v menstruačním cyklu u opic (Risher et al., 2003).

Vysoké příjmy Se byly pozorovány v místech, kde jsou půdy na Se bohaté, tedy některých provinciích Číny, Venezuele a v USA (Tinggi, 2003). Také v Evropě bylo provedeno několik studií, ty ale vesměs ukázaly, že zde jsou příjmy Se relativně nízké a k intoxikaci nedostatečné (Tinggi, 2003).

K intoxikaci Se ovšem může dojít i mimo otravy potravinami. Vyskytují se zejména u lidí při předávkování potravinovými doplňky obsahujícími Se nebo u pracovníků, kteří v průmyslu vdechují výpary obsahující Se (NRC, 2005). Symptomy otravy jsou pak podobné jako u otravy jídlem (Barceloux, 1999).

### **3.3 Toxikokinetika selenu**

#### **3.3.1 Absorpce**

Sloučeniny selenu jsou zvířaty i lidským organismem vesměs velmi dobře přijímány. Například příjem seleničitanů, je vyšší než 80% a ve formě selenomethioninu a nebo jako selenanů je absorpce vyšší než 90% (WHO, 1996). To znamená, že to, co limituje obsah Se v organismu, není ani tak jeho dostupnost, ale spíše schopnost organismu převést Se na jeho metabolicky aktivní formy (WHO, 1996). K jeho vstřebávání dochází zejména v tenkém střevě (NRC, 2005).

Selenocystein a selenomethionin jsou absorbovány skrz aktivní mechanismus transportu aminokyselin, zatímco seleničitany jsou absorbovány prostou difúzí a selenany

spolu se sírany pomocí sodného nosiče (NRC, 2005). U přežvýkavců dochází v bachoru k tvorbě nerozpustných částic, proto má skot a ostatní přežvýkavci nižší příjem Se ze stejné potravy než ostatní živočichové (Wright et Bell, 1966). Při pokusech se skotem a ovci, kdy byla zvířata krmena krmivem se stejnými obsahy selenu, ale v organické a anorganické formě, bylo prokázáno, že v případě krmení organickými sloučeninami Se jsou vyšší koncentrace Se zjištěny ve svalech, ledvinách, játrech a v plazmě u obou druhů (Ullrey et al., 1977). Homeostatická regulace příjmu selenu zatím nebyla objevena a obsah Se v těle nemá žádný vliv na další příjem (NRC, 2005).

### **3.3.2 Distribuce**

Absorbovaný selen se spojuje s bílkovinami v krvi a je transportován do tkání. Při přiměřeném příjmu selenu je více než 60% selenu v krevní plazmě potkanů ve formě selenoproteinu P. Tento selenoprotein se podílí na transportu Se do tkání (NRC, 2005). Selen je obsažen ve všech tkáních, přesto se ale v žádné z nich neukládá do zásoby, a proto se při jeho nedostatečném přísunu stav deficitu dostavuje poměrně rychle (Bencko et al., 2011). U živočichů s normálním obsahem Se obsahují ledviny a játra největší obsahy Se, ty následuje slezina a slinivka břišní (NRC, 2005). Svaly mají nižší obsahy Se, ale vzhledem k jejich množství představují největší zásobárnu Se v těle (Hintze et al., 2002).

### **3.3.3 Metabolismus**

Metabolické cesty různých forem Se v těle ještě nejsou zcela objasněny, ale je jasné, že jsou všechny začleněny do proteinů nebo do na selen závislých enzymů. Při využití aminokyseliny serinu, jako zdroje uhlíku, mohou být seleničitany nebo selenany převedeny na selenocystein (NRC, 2005). Zde je nejdříve nutná redukce seleničitanu na selenid (Hoekstra, 1974). Vedle toho, že selenid slouží jako substrát pro syntézu selenofosfátu potřebného pro syntézu selenocysteinu, může vázat seleno vazebné proteiny nebo být postupně methylován na různé koncové metabolity jako je dimethylselenid nebo trimethylselen (Hsieh et Ganther, 1977). Zjednodušené schéma metabolismu Se je zobrazeno na obrázku č. 2.

Rostlinami přijímaný selenomethionin se snadno metabolizuje na Se-adenosyl methionin a následně na selenocystein; ten pak může být specifickými biochemickými procesy degradován až na elementární selen (Esaki et al., 1982). Vzhledem k tomu, že selenomethionin může být začleněn do bílkovin namísto methioninu, jsou selenoenzymy a

distribuce Se u zvířat krmených selenomethioninem ovlivněny dietární úrovní methioninu (Waschuleswski et Sunde, 1988).

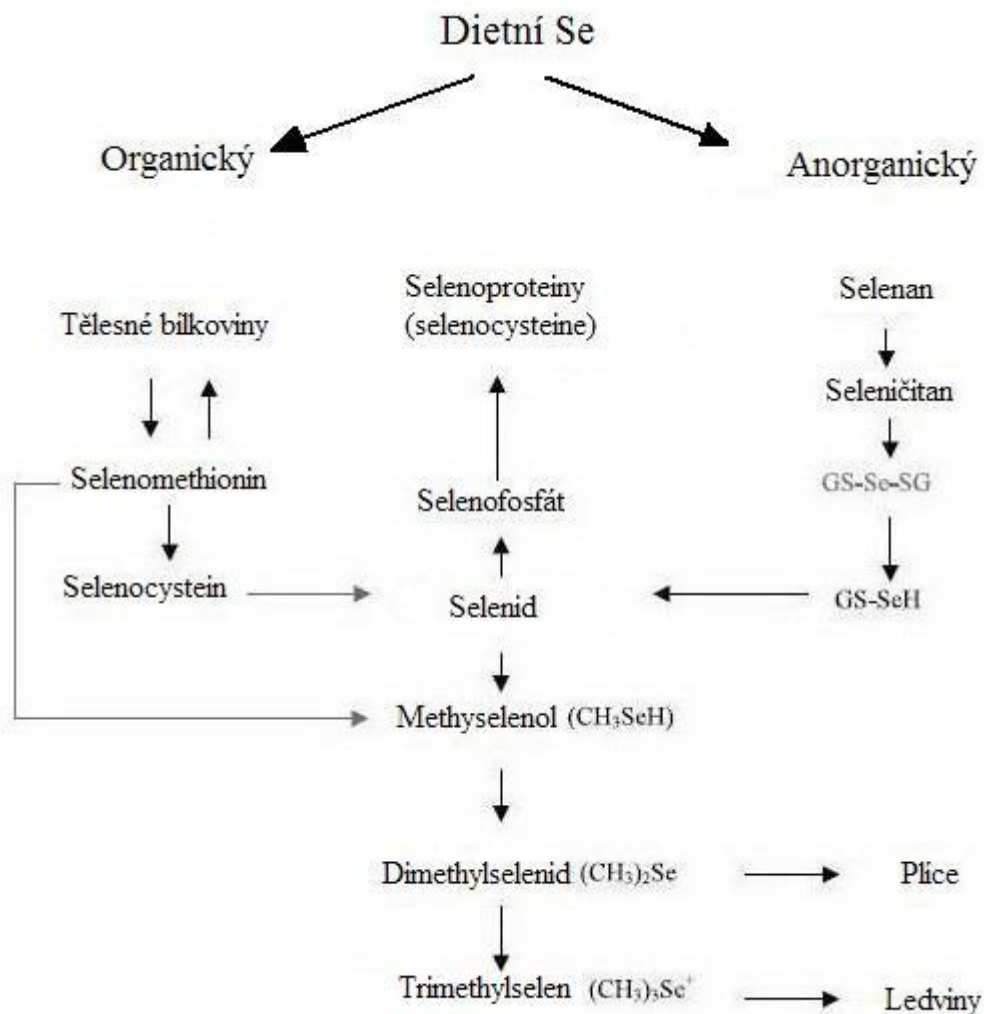
Metabolismus methylselenocysteinu nebo selenocysteinu se podobá metabolismu seleničitanů (NRC, 2005).

Metabolické interakce selenu s ostatními živinami se vyskytují v různých úrovních. Síraný a některé těžké kovy zvyšují vylučování Se močí a snižují jeho absorpci a zadržení v těle (NRC, 2005). U potkanů vysoká hladina síranů a síry v potravě může chránit před otravou selenem, protože dochází ke zvýšení vylučování selenanu (Halverson et al., 1962). Antagonismus mezi Se a těžkými kovy, jako je rtuť se projevuje i při průchodu Se placentou a mléčnými žlázami (Pařízek et al., 1980). Problematika vzájemného působení prvků mezi sebou je podrobněji rozebrána v kapitole o interakci prvků.

Na metabolické úrovni je selen úzce spojen s vitamínem C, polynenasycenými mastnými kyselinami, železem, síru obsahujícími aminokyselinami, jodem a zejména vitamínem E. Obecně se věří tomu, že selen i vitamin E vychytávají volné radikály na různých místech a šetří se tak navzájem. Avšak molekulární mechanismus této interakce je nejasný (NRC, 2005). Bylo prokázáno, že vysoké hladiny vitamínu E nemohou nahradit selen v GPx při ochraně myši před oxidativním stresem (Cheng et al., 1999). Vysoký dietární příjem polynenasycených mastných kyselin nebo železa zhoršuje dietární nedostatek Se (NRC, 2005).

Navzdory několik desetiletí trvajícím pokusům, mechanismus toxicity selenu zůstává nejasný. Je několik předpokládaných teorií, jak k toxickému působení dochází. První z nich je založena na základě podobnosti selenu a síry. V úvahu přichází nahrazení atomu síry atomem selenu v důležitých biochemických reakcích a to může narušit normální fungování a neporušenost buněk. Nahrazení atomu S v keratinu atomem Se souvisí s problémy poškozující srst a kopyta (Raisbeck, 2000). Druhým principem je reakce mezi seleničitanem a glutathionem; tato reakce spotřebovává volné nebo na proteiny vázané thioly a následně ruší enzymové aktivity (Vernie et al., 1978). Třetím uvažovaným principem je produkce volných radikálů, jako jsou superoxidové aniony, při reakci některých sloučenin Se s tkáňovými thioly, ty pak způsobují tkáním oxidační zranění (NRC, 2005).

Doposud bylo u lidí objeveno 12 na selenu závislých enzymů a 15 selenoproteinů. Přestože metabolická funkce mnoha selenoproteinů zůstává neznámá, je jasné, že se podílí na antioxidační funkci a na metabolismu hormonů štítné žlázy (NRC, 2005).



Obrázek č. 2 Schéma zjednodušeného metabolismu Se (Tinggi, 2003).

### 3.3.4 Exkrece

Zvířata a člověk mohou selen vylučovat výkaly i dechem, ale primárně je homeostáza udržována ledvinami, skrz které nadbytečný selen odchází z těla pryč. Na základě studia literatury, kterou provedli Eichler et Mestek (2010) může být selen v moči obsažen v těchto formách: jako seleničitan, selenan, methyselenol, methyseleničitan, trimethylselen, selenomethionin, selenoglutation, selenomethionin, selenocystin, selenomočovina a v několika dalších. Pouze v případech extrémního nadbytku a při otravách dochází k vylučování Se dechem ve formě dimethylselenidu (NRC, 2005; Bencko et al., 2011). Cesta, množství a doba vylučování Se nezávisí pouze na množství přijímaného selenu, ale také na

jeho formě, obsahu Se v tkáních a na dietárním příjmu mědi, olova, rtuti a arsenu (NRC, 2005).

### **3.4 Stanovení obsahu Se v organismu a jeho mezní hodnoty**

#### **3.4.1 Způsob stanovení obsahu Se v organismu**

Stav Se u zvířat i lidí může být hodnocen jeho přímým stanovením v krvi nebo nepřímo odvozen z měření aktivity GPx. Rozdíl mezi těmito způsoby měření je ten, že koncentrace Se v krvi odráží okamžitý stav Se přijímaného organismem, kdežto v případě měření GPx, kde je Se součástí molekuly, měříme dlouhodobou zásobovanost tímto prvkem (Ludvíková et al., 2005). U destruktivních metod používaných na pokusných zvířatech může být obsah Se zjišťován i v jednotlivých orgánech jako jsou játra, ledviny, varlata, mozek, svalovina, slinivka břišní, slezina i v dalších tkáních.

#### **3.4.2 Mezní hodnoty obsahu Se**

Při pokusech s křečky, kteří byli tři týdny krmeni selenem obohaceným krmivem na hodnotu 5 mg/kg nebyly pozorovány žádné nežádoucí účinky, ale zdvojnásobení dávky dietárního selenu na 10 mg/kg vedlo ke snížení růstu nebo k úmrtí (Julius et al., 1983).

Při zjišťování koncentrací v tělních tkáních a tekutinách u různých živočišných druhů krměných dietárním selenem (mg Se v kg krmiva), byly deficitní hodnoty zjištěny u živočichů krměných dietou s obsahem Se menším než 0,1 mg/kg. U zvířat krměných krmivem s obsahem Se 0,1 – 0,25 mg/kg byl zjištěn okrajový nedostatek Se. Tam, kde byl obsah 0,3 – 2 mg/kg byly hodnoty Se přiměřené. Při zvýšení na 3 – 5 mg/kg již byly hodnoty v tkáních vysoké a při hodnotách nad 5 mg/kg chronicky toxické. Krmiva s obsahem Se vyšším než 20 mg/kg se již ukázaly jako akutně toxické. Ve většině případů pak byly nejvyšší hodnoty Se naměřeny v ledvinách (Puls, 1994). Maximálním přípustným množstvím pro dietně přijímaný minerál je dietární úroveň, kdy se při krmení po stanovenou dobu nebude zhoršovat zdraví ani výkonnost krměných zvířat. Pro selen byla národní americkou akademií věd (NRC) navržena hodnota 2 mgSe/kg krmiva pro všechny druhy (NRC, 2005).

Z důvodu nedostatku dat u lidí, byly první mezní hodnoty příjmu Se založeny na výpočtech z pokusů na zvířatech. Bylo zjištěno, že dieta s obsahem 1 mg Se v kilogramu potravy je dostačující pro růst i rozmnožovací funkci u všech zkoumaných savců (WHO, 1996). Po objevení Keshanské nemoci bylo možné využít data z těchto oblastí pro zjištění



nejnižšího množství Se požadovaného lidským organizmem, aniž by se nemoc projevila. Provedením průzkumů v místech Číny, kde se Keshanská nemoc objevuje a kde ne, byli výzkumníci schopni dokázat, že se Keshanská nemoc neobjevuje tam, kde je denní příjem selenu mužem o hmotnosti 60 kg vyšší než 19.1  $\mu\text{g}$  za den (Yang et al., 1988).

Z druhé strany Yang a jeho kolegové stanovili denní maximální mezní hodnotu přijímaného Se na 750 – 850  $\mu\text{g}$  (Yang et al., 1989). Při příjmu Se v těchto hodnotách, se již mohou u některých vnímavých jedinců objevit známky nadměrného příjmu. Z důvodů nejistoty okolo škodlivé dávky Se pro člověka byla střední hodnota 800  $\mu\text{g}$  vydělena dvěma a maximální bezpečná dávka Se pro dospělého člověka stanoven na 400  $\mu\text{g}$  za den (WHO, 1996).

Ke stanovení obsahu Se v těle se nejčastěji používá stanovení z krve nebo krevní plazmy, kdy plazma obsahuje okolo 75% Se obsaženého v krvi, přičemž jako optimální koncentrace byla stanovena hodnota 95 – 135  $\mu\text{g}$  v litru krevní plazmy (Kvíčala et al., 2008; Střítecká et al., 2009). Dávka selenu, která by měla být denně přijímána, aby bylo dosaženo této hodnoty, se v různých zdrojích liší, vesměs se ale pohybuje v rozmezí mezi 50 až 200  $\mu\text{g}$  Se za den. Podle SZÚ je doporučovaná denní dávka organických sloučenin Se 40 – 70  $\mu\text{g}$  pro muže a 45 – 55  $\mu\text{g}$  pro ženy (Ruprich et Řehůrková, 2003).

## **3.5 Selen v rostlinách**

### **3.5.1 Se v rostlinách obecně**

Zatímco pro živočichy je příjem Se nezbytný, u rostlin jeho esencialita zatím nebyla prokázána (Sager, 2006). Protože rostliny selen pro svůj růst nevyžadují, a pokud nerostou v půdách s jeho vysokou koncentrací, tak ho ani neakumulují, jsou hladiny selenu ve vegetariánském jídle všeobecně nízké, s výjimkou některých konkrétních případů např. česnek, cibule (Střítecká et al., 2009). Nízká tolerance vůči Se u rostlin, které nepatří mezi jeho akumulátory, je přičítána kompetici mezi selenem a sírou, která vede k produkci selenocysteinu a selenomethioninu namísto běžných sírných aminokyselin. Pokud jsou tyto aminokyseliny začleněny do proteinů, snižují jejich funkční aktivitu a stabilitu (Filek et al., 2010). Na druhou stranu někteří autoři ve svých studiích uvádějí, že při nízkých koncentracích má Se na rostliny pozitivní účinky, podporuje růst, zvyšuje antioxidační kapacitu, snižuje peroxidaci lipidů a zvyšuje hromadění škrobů a cukrů (Filek et al., 2010).

V provzdušněných a zásaditých půdách s hodnotami pH v rozmezí 7,5 až 8,5 byl  $\text{Se}^{\text{VI}}$  zjištěn jako dominantní rozpustná forma selenu. Tato forma je často rostlinami absorbována, nicméně v provzdušněných půdách často oxiduje na selenanové ionty a ty jsou pro rostliny ještě snadněji dostupné (Wadge et Hutton, 1985). Vedle toho elementární Se je v půdě inertní a Se vázaný v humínových látkách zvýší svou dostupnost až po rozložení organického materiálu. V kyselých půdách je Se obvykle vázán na hydroxidy železa a v této formě je považován za nedostupný pro rostliny (Sager, 2006). Selen ve formě selanů je pro rostliny mnohem přístupnější než ve formě seleničitanů (Sager, 2006).

Ve vysokých koncentracích je Se pro rostliny toxický, přičemž toxické působení se projevuje zakrnělým růstem, chlorózami, sníženou syntézou bílkovin a oxidačním stresem (Filek et al, 2010).

Obsah Se v rostlinách se výrazně mění v závislosti na geologickém původu půdy, na její pH, na druhu rostliny, na jejím stáří a na obsahu bílkovin (Sager, 2006). Zelenina bohatá na škrob a na cukry je obecně chudá na obsah Se. Do potravního řetězce ho dodávají kmín, zelí, brokolice, hořčice, česnek a houby. Přesto potravinami živočišného původu je dodáváno 69% a 75% požadovaného množství Se pro ženy, respektive muže (Müller et al., 2003).

### 3.5.2 Řepka olejka

Bylo dokázáno, že některé druhy rostlin, které vyžadují vyšší koncentrace síry v půdě, například některé z rodu brukvovitých, pro svou podobnost se sírou, bez rozlišení přijímají a kumulují selen, pokud jsou pěstovány v půdách bohatých na selen (Bañuelos et Meet, 1990). Bañuelos et al. (1997) proto navrhli, že takovýto rostlinný materiál by mohl být mixován s ostatními krmivy a být podáván zvířatům v místech, která jsou postižena deficitem selenu. Vhodnou rostlinou pro tento postup doplňování Se do potravinového řetězce je řepka olejka (*Brassica napus*). V semenech řepky, která se využívají pro výrobu oleje, je Se koncentrován v neolejnaté frakci, a proto pak může být odtučněný řepkový šrot, který je odpadem z výroby řepkového oleje, používán jako krmivo hospodářských zvířat (Balán et al., 2014). Balán et al. (2014) provedli pokus, kdy ve vegetační fázi provedli postřik řepky seleničitanem sodným. Po porovnání s kontrolními rostlinami pak bylo zjištěno, že došlo k výraznému zvýšení koncentrace Se v odtučněném řepkovém šrotu. Z toho vyplývá, že postřik listů vedl k transportu Se až do semen rostlin.

Na základě pokusů provedených s jehňaty lze usuzovat, že řepka pěstovaná pro fytoremediaci Se v Se bohatých půdách by mohla být pěstována a bezpečně přidávána do

krmiva pro skot a jehňata za účelem dosažení požadovaného příjmu selenu v místech s jeho nedostatkem (Bañuelos et Mayland, 2000).

Také se ukázalo, že u krav krmených řepkou obohacenou o Se se zvýšení obsahu Se v těle krávy nepromítlo do obsahu Se v mléce na rozdíl od krav, které byly krmeny selenem obohacenou vojtěškou (Bañuelos et Myland, 2000).

Bylo zjištěno, že vyšší koncentrace Se jsou v řepce obsaženy ve vyšších částech rostliny než v kořenech. Také bylo zjištěno, že řepka je schopna akumulovat několikrát více Se než pšenice. Vedle toho se ukázalo, že sazenice řepky efektivně akumulují i ostatní prvky (Filek et al., 2010). Akumulace selenu zvířaty se může lišit podle toho, v jakých formách je Se podáván. Ve studiích pak bylo zjištěno, že selenomethionin je dominantní aminokyselina obsažená v Se obohacené řepce (Banuelos et Mayland, 2000). A podle Petera (1982) je absorpce a zadržení Se právě ve formě selenomethioninu u živočichů vyšší než u anorganických seleničitanů. Řepka byla, jako vhodná rostlina pro doplňování selenu do potravního řetězce, zvolena i pro náš pokus s potkany.

### 3.6 Selen v půdách

Příjem selenu, stejně jako u ostatních minerálů závisí na jeho obsahu v půdě a zejména na podílu vodorozpustných sloučenin. Při zjišťování obsahu Se v půdě by měly být odebrány vzorky z ornice i podloží, protože podloží může obsahovat více Se a mít vyšší pH. Naopak svrchní půda může být obohacena o selen z hnoje zvířat nebo z popílku ze spalování uhlí. (NRC, 2005).

Dalším faktorem, který ovlivňuje množství Se v půdě, jsou mikroorganismy jako *Aspergillus*, *Candida*, *Cephalosporium*, *Penicillium* a další houby a bakterie. Ty totiž redukují seleničitany na těkavé sloučeniny jako je dimethylselenid, dimethyldiselenid, a dimethylselenon. Proto se při přidavku organické hmoty do půdy pro podpoření mikroorganismů zvyšuje odpařování Se z půdy a tím se v takto ošetřené půdě snižuje jeho koncentrace. K jeho největším únikům volatilizací tak dochází zejména v rašelinách (Sager, 2006).

Normální půdy obsahují pod 2 mg/kg celkového obsahu selenu nebo méně než 50 µg/kg vodě rozpustného Se a rostliny na nich rostoucí běžně dosahují méně než 1 mgSe/kg (Kappel et al., 1984).

Na základě detailních a specifických analýz je půda v USA rozdělena na čtyři typy. První z nich je půda s nízkým obsahem Se (přibližně 80% rostoucích krmiv a jejich zrn

obsahuje pod 0,05 mg/kg). Druhý typ je půda variabilní (přibližně 50% rostlin obsahuje pod 0,1 mg/kg), třetí typ je adekvátní (přibližně 80% pěstovaných krmiv a obilovin obsahuje více než 0,1 mg/kg), poslední čtvrtá skupina jsou lokální oblasti, kde akumulátory Se obsahují více než 50 mg/kg (Kubota et Allaway, 1972).

V sousedním Rakousku jsou dle rakouských půdně monitorovacích programů střední hodnoty v různých půdních typech v rozmezí od 0,11 do 0,41 mg v kilogramu půdy (Danneberg, 1999). Podle rakouského standardu ÖNORM L1075, jsou půdy obsahující více než 1 mg Se v kilogramu půdy podezřelé z kontaminace a půdy s větším obsahem než 5 mg/kg by neměly být používány pro zemědělské účely (Sager, 2006). V České republice limity pro maximální přípustný obsah Se v půdě stanoveny nejsou.

### **3.7 Obsahy selenu v České republice**

Jak bylo řečeno, obsah selenu v půdách v Evropě je vesměs nízký. V sousedních státech jako je Polsko nebo Německo, byl zjištěn nedostatek Se u hospodářských zvířat včetně koní a ne jinak je tomu i u nás v České Republice (Ludvíková et al., 2005).

Ludvíková et al. (2005) zjistili, že různí autoři mají různé názory na doporučené množství Se v krvi koní, ale většina z nich se shoduje, že úrovně ohraničující nedostatek jsou mezi 55 – 75  $\mu\text{g}$  v litru krve. Na základě výsledků z okolních států se Ludvíková a její kolegové rozhodli zjistit obsah Se v koních i v České Republice. Z výsledků jejího zkoumání bylo zjištěno, že 47% koní z 35 různých chovů trpí nedostatkem. Rozdíly mezi jednotlivými farmami závisí především na způsobu krmení koní. Bylo zjištěno, že tam, kde koně krmí pouze senem a obilím není obsah Se dostačující. Také byly zjištěny rozdíly ve využití koní, zatímco závodní koně měli dostatečné množství Se, koně chované pro zábavu měli spíše nedostatek (Ludvíková et al., 2005).

Při pokusech na lesní zvěři bylo zjištěno, že střední obsah Se v kosterní svalovině jelenů je 16,2  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , srnců 36,9  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a u divokých prasat 27,6  $\mu\text{g}/\text{kg}$ . U všech tří druhů byl zjištěn nízký obsah Se a jeho velká variabilita, kdy nejnižší naměřená hodnota byla 8,3  $\mu\text{g}/\text{kg}$  a nejvyšší 83,3  $\mu\text{g}/\text{kg}$ , přičemž nejnižší hodnoty byly zaznamenány v lokalitách chráněné krajinné oblasti Šumava (Kursa et al., 2010).

V rámci zjišťování obsahu Se u skotu bylo provedeno celkem 879 stanovení z 93 chovů z různých oblastí České Republiky. Po zpracování výsledků bylo zjištěno, že 54% chovů, respektive 50% zvířat má deficitní nebo mezní hodnotu obsahu Se. Chovy

s nedostatečným zásobením se vyskytovaly napříč územím po celém území České Republiky. Nejnižší koncentrace Se v krvi potom byly objeveny u býků v okresech Tachov, Frýdek Místek, u krav a telat v okresech Semily a Litoměřice a u jalovic v okrese Jičín. Toto zjištění o obecně vysokém nedostatku Se ve skotu v České Republice je v souladu s údaji o stavu selenu u lidské populace, ty naznačují, že se řadíme k zemím s velmi nízkou koncentrací příjmu Se a množství Se v krvi lidí je zde nižší než je průměrná hodnota Evropy. Doplnění Se u skotu tedy není důležité jen pro zdraví a podporu výkonu zvířat, ale také jako prostředek pro zvýšení příjmu Se lidskou populací skrz mléko a hovězí maso (Pavlata et al., 2002).

Z různých výsledků studií provedených na území České Republiky lze usuzovat, že problém nedostatku Se je u nás aktuálním problémem a je třeba hledat způsoby, jak chybějící selen v potravinovém řetězci doplnit.

V Evropě mají základní složky krmiv, jako jsou obiloviny, obsah Se pod 0,15 mg/kg. S cílem podpoření optimálního růstu hospodářských zvířat a zvýšení jejich odolnosti vůči různým nemocem je povoleno dodávat seleničitan sodný do komerčních krmiv až k obsahu Se 0,5 mg/kg. Přidávat ostatní Se sloučeniny do krmiv by bylo finančně náročnější (Sager, 2006).

Jako alternativní varianta k tomuto postupu se jeví příkrmování domestikovaných zvířat rostlinami, jako je řepka olejka, které jsou schopné v sobě kumulovat selen a ten pak dále distribuovat do potravinového řetězce živočichům.

### **3.8 Interakce selenu s ostatními prvky**

Po zjištění skutečnosti, že je selen při živočichy nezbytně potřebný a o jeho všeobecném nedostatku v prostředí a také faktu, že je možné ho uměle dodávat do potravinového řetězce se mnoho studií a pokusů zabývalo právě problematikou suplementace Se, ale pouze málo z nich se zabývá tím, jaké vedlejší účinky toto počínání může mít a zda nedochází, vlivem zvýšeného příjmu selenu, k nedostatku jiných esenciálních mikroprvků potažmo makroprvků, důležitých pro správný a zdravý růst rostlin a živočichů. Jak je zmíněno v části zabývající se rostlinami, některým druhům rostlin zvýšené koncentrace Se v půdě vadí, protože jej zaměňují se sírou. Rostlina tak Se přijímá, až dosáhne kritické hodnoty, po jejímž překročení se Se stává pro rostliny toxickým.

Selen a fosfor jsou prvky, které jsou rostlinami přijímány ve formě anionů, ale na druhé straně se na základě jejich odlišnosti neočekává, že by se tyto dva prvky vzájemně

omezovaly (Tobiasz et al., 2014; Hopper et Parker, 1999). Až po několikanásobném zvýšení koncentrace fosfátů v půdě dochází k omezení příjmu Se (Hopper et Parker, 1999).

Molybden a některé další prvky, například železo, zinek, měď, mangan jsou pro růst a vývoj rostlin nezbytné, protože se podílejí na stavbě mnoha rostlinných enzymů (Tobiasz et al., 2014). Pokles aktivity těchto enzymů pak vede ke zvýšení citlivosti rostlin na vlivy okolního prostředí (Gurgul et Herman 1994). Selen ve formě seleničitanů je velmi mobilní v xylemu rostlin a je transportován z kořenů do vyšších částí rostlin, zejména listů, kde se ukládá (Longchamp et al. 2013).

V pokusech provedených s pšenicí, byl vliv Se na hromadění dalších prvků v tkáních rostliny závislý na množství přidaného Se i na fázi vývoje rostliny. Při obsahu 5  $\mu\text{M}$  v živném roztoku byly pozorované účinky velmi malé. Více nápadné změny v akumulaci prvků v listech byly pozorovány při zvýšení koncentrace Se na 15  $\mu\text{M}$ , kdy se zvýšila hodnota hořčíku o 40% a hodnota vápníku a molybdenu o přibližně 50% v listech rostlin. Obsah molybdenu se zvýšil i v jiných částech rostlin než jen v listech. Relativně malé změny byly zaznamenány v obsahu síry. V semenech se obsah prvků výrazně nezměnil, pokles byl zjištěn pouze u hořčíku a molybdenu (Tobiasz et al., 2014).

Vedle rostlin byly vzájemné interakce prvků zkoumány i na zvířatech. U jehňat krmených zvýšenými hladinami zinku, selenu a vitamínu E, bylo zjištěno, že v bederní svalovině jehňat se zvýšila koncentrace Se a vitamínu E zatímco u zinku tento nárůst nebyl prokázán. U rostoucích jehňat způsobil zvýšený dietární příjem Se, Zn a vitamínu E snížení obsahu cholesterolu v krvi i mase jehňat (Gabryszuk et al., 2007). Falkowska et al. (2000) dokázali, že dostatečný přísun Se a vitamínu E významně zvýšily hladinu vysokodenzitního lipoproteinu (HDL) u krav. Brzóška et Brzóška (2004) upozorovali, že zvýšení dietárního selenu u krav způsobuje snížení hladin cholesterolu.

Je prokázáno, že kadmium vytváří kompenzační komplex se selenem v krevní plazmě ve formě selenidu, ten se potom váže na selenoprotein P a jako protein o vysoké molekulární hmotnosti mění metabolismus Cd v těle (Sasakura and Suzuki 1998). Vedle toho se zdá, že Se také snižuje oxidativní stres v tkáních způsobený kadmiiem (Lazarus et al., 2009).

Z experimentů Lazaruse et al. (2009) na kojenech potkanech vyplývá, že vzájemné působení Se a Cd způsobuje snížení hodnot obsahu obou těchto prvků v krvi potkanů ve srovnání s potkany, kterým byl dietně dodáván pouze jeden z těchto prvků (Lazarus et al., 2009). U potkanů s dietárním příjmem Se byla největší koncentrace Se pozorována v játrech a to se nezměnilo, ani když bylo společně se Se podáváno i Cd. Naopak kumulace Cd v játrech

po podání diety s obsahem Se výrazně klesla v porovnání s potkany s dietou obsahující pouze Cd. Dále se u mláďat potkanů ukázalo, že mláďata s dostatečným přísunem Se jsou odolnější vůči hromadění Cd v mozku, ke kterému u novorozeňat na rozdíl od dospělých jedinců často dochází. Z výsledků také vyplývá, že je účinnější preventivní dodávání Se do organismu než pouhé doplňování během expozice Cd. Tento účinek byl nejvíce viditelný na játrech a ledvinách (Lazarus et al., 2009).

Na základě těchto výsledků, kdy byly obsahy Cd v tkáních mláďat potkanů nižší, by se dalo očekávat, že dochází k zvýšenému vylučování kadmia močí a stolicí, ale dle rozborů Lazaruse et al. (2009) tomu tak není a to potvrzuje dřívější domněnky, že princip zvýšeného vylučování není mechanismus, kterým Se chrání organismus před účinky kadmia. Dokázalo se tedy, že zejména preventivní podávání Se do potravy mláďat potkanů vede ke snížení akumulace Cd v tkáních a v důsledku toho je možné snížit možné toxické účinky kadmia (Lazarus et al., 2009).

## 4 PRAKTICKÁ ČÁST

### 4.1 Materiál a metody

#### 4.1.1 Pokusná zvířata

Experiment se zvířaty byl proveden ve Fyziologickém ústavu Akademie věd ČR v Krči. Pokus probíhal ve dvou etapách. Pro první studii bylo použito 24 samců laboratorních potkanů kmene Wistar, pro druhou studii pak 32 samců téhož kmene. Zvířata byla získána od chovatele ve 30 dnech věku a byla umístěna do klecí (1 zvíře na klec) v místnosti s kontrolovanou teplotou (pohybující se mezi 23 a 25 °C) a za přirozených světelných podmínek. Zvířata byla v obou etapách rozdělena do 4 skupin, v první etapě po šesti jedincích a byla krmena polosyntetickou dietou podle experimentálního schématu po dobu 47 dní, v druhé etapě pak bylo v jednotlivých skupinách 8 jedinců a zvířata byla krmena po dobu 60 dní.

#### 4.1.2 Složení krmných směsí a schéma pokusu

Krmivo a voda byly zvířatům dodávány *ad libitum*. Spotřeba krmiva a přírůstky tělesné hmotnosti zvířat byly sledovány týdně. Kontrolní skupina byla krmena polosyntetickou dietou skládající se z 47 % pšeničné hrubé mouky, 12,6 % rybí moučky, 14 % sojového extrahovaného šrotu, 0,28 %  $\text{CaHPO}_4$ , 1,12 % vápence, 3,8 % vojtěškové moučky, 0,6 % minerálních přísad (AMINOVITAN STER PLUS, Biofaktory s.r.o., Česká republika), 7,4 % droždí, 4,4 % pšeničných klíčků a 9 % ovesné mouky.

U pokusných skupin byla definovaná část sojového extrahovaného šrotu nahrazena řepkovým extrahovaným šrotem, který byl připraven z řepkových semen 00 kvality (odrůda NK Oktans) v laboratořích VŠCHT (Balán et al., 2014). Pokusné diety byly připraveny následovně: v první etapě pokusu byl použit řepkový šrot bez fortifikace selenem a náhrada sojového extrahovaného šrotu řepkovým šrotem představovala u jednotlivých skupin 30 %, 60 % a 100 % podílu sojového šrotu v krmné směsi. Byly tedy získány 4 pokusné skupiny (včetně kontrolní) s různým zastoupením řepkového extrahovaného šrotu. Ve druhé etapě pak byla použita semena řepky téže odrůdy, kdy porost řepky byl ošetřen ve fázi dlouhivého růstu (BBCH 30-32) roztokem selenanu sodného v množství, které odpovídalo dávce 50 g selenu na hektar. Z těchto semen pak byl připraven extrahovaný šrot a následně pokusné diety podle



téhož schématu jako v první etapě. Byly tedy opět připraveny pokusné diety pro 4 skupiny zvířat.

#### **4.1.3 Odběr a zpracování vzorků**

Po ukončení jednotlivých částí experimentu byla zvířata po anestezii usmrcena a vykrvena a z plné krve byly odebrány vzorky. Anestezie byla provedena pomocí přípravků Xylapan (xylasin) a Narketan (ketamin). Vzorky krve byly ošetřeny  $K_2EDTA$  a okamžitě použity pro stanovení obsahu prvků. Dále byly odebrány vzorky jater a ledvin, které byly lyofilizovány a před vlastní analýzou homogenizovány pomocí laboratorního mlýnku. Stejným způsobem byly homogenizovány laboratorní vzorky jednotlivých diet.

#### **4.1.4 Analytické metody**

Celkový obsah prvků byl stanoven po rozkladu na mokré cestě s mikrovlnným ohřevem. Ze zhomogenizovaného vzorku jater, ledvin a diety bylo naváženo do teflonových reakčních nádob 0,5 g vzorku, u plné krve bylo odebráno 0,5 ml. Navážka byla zalita 8 ml 65 % kyseliny dusičné a 2 ml 30 % peroxidu vodíku. Takto připravený vzorek byl rozložen v uzavřeném systému s mikrovlnným ohřevem v zařízení Ethos 1 (MLS GmbH, Německo) po dobu 30 minut a teplotě 220 °C. Po částečném ochlazení byl vzorek zakoncentrován odpařením cca 80% objemu reakční směsi. Po ochlazení byl mineralizát kvantitativně převeden do 20 ml zkumavky a doplněn demineralizovanou vodou, poté uchován při laboratorní teplotě až do doby měření.

Stanovení selenu v mineralizátech bylo provedeno pomocí hmotnostní spektrometrie s indukčně vázaným plazmatem (ICP MS, Agilent 7700x firmy Agilent Technologies, Inc., USA) v HeHE (high energy helium) modu s využitím automatického dávkovače ASX-500, tříkanálové peristaltické pumpy a zmlžovače typu MicroMist. Obsah As, Cd, Cu, Pb, Fe, Mn, P, S a Zn v mineralizátech byl stanoven optickou emisní spektrometrií s indukčně vázaným plazmatem (ICP OES) s axiální orientací plazmové hlavičky na přístroji Agilent 720 (Agilent Technologies, Inc., USA) s využitím dvoukanálové peristaltické pumpy, mlžné komory typu Struman Masters a pneumatického zmlžovače typu „V-groove“ vyrobeného z inertního materiálu. Podmínky měření byly následující: příkon do plazmatu 1.2 kW, průtok plazmového argonu 15.0 L min<sup>-1</sup>, průtok pomocného argonu 0.75 L.min<sup>-1</sup>, průtok argonu zmlžovačem 0.9 L.min<sup>-1</sup>. Obsah Ca, Mg a K v mineralizátech byl pak stanoven pomocí atomové absorpční spektrometrie s plamenovým atomizátorem (F-AAS, Varian 280FS,

Varian, Australia) za následujících podmínek: průtok vzduchu 13.5 L min<sup>-1</sup>, průtok acetyleny 2.2 L min<sup>-1</sup>, výška hořáku 13.5 mL, průtok vzorku zmlžovačem 5 mL min<sup>-1</sup>.

#### 4.1.5 Statistické zpracování dat

Ke statistickému zhodnocení a zpracování získaných dat byly použity programy Microsoft Word 2010, Microsoft Excel 2010 a StatSoft Statistica 12. K porovnání průměrného obsahu jednotlivých prvků byla použita metoda analýzy rozptylu (ANOVA) s nastavenou hladinou významnosti  $\alpha = 0,05$ .

Ve výsledných tabulkách je vždy kontrolní skupina potkanů označena jako Potkan 1. Potkan 2 je pak označení pro skupinu krmenou náhradou 30 % sojové moučky, potkan 3 je označení pro 60 % náhradu sojové moučky a potkan 4 je označení pro skupinu, u které bylo 100 % sojové moučky nahrazeno příslušným řepkovým šrotem.

V tabulkách je vždy uveden průměr vypočítaný z hodnot naměřených u všech pokusných potkanů ve skupině a směrodatná odchylka. Vedle toho je tam písmenem označeno, zda je mezi jednotlivými skupinami statisticky významný rozdíl. Písmenem „a“ jsou značeny skupiny, mezi kterými není statisticky významný rozdíl, tam kde je statisticky významný rozdíl, je pak označení písmenem „b“ případně „c“ v závislosti na tom, jak se mezi sebou spočtené průměry liší. Stanovené obsahy jednotlivých prvků jsou uvedeny v mg/l u krve, v tkáních ledvin a jater pak v mg/kg.

## 4.2 Výsledky a diskuse

Od doby, kdy bylo zjištěno, že je selen pro živočichy důležitým esenciálním prvkem, bylo napsáno mnoho článků v různých vědeckých a odborných publikacích po celém světě. Proběhly stovky, možná tisíce pokusů na zvířatech, lidech i rostlinách, ve snaze objasnit jeho přesnou úlohu v živočišném či rostlinném organizmu. Byla hlášena široká škála interakcí selenu se základními prvky, vitamíny, xenobiotiky i se síru obsahujícími aminokyselinami. Velká pozornost je věnována vlivu Se na snížení toxicity mnoha kovů včetně rtuti, kadmia, olova, stříbra a do jisté míry i mědi (Risher et al., 2003).

Ovšem pouze minimum těchto pokusů se zabývalo tím, jaký má přídavek selenu vliv na příjem ostatních důležitých mikro a makro prvků. Pokud se tímto problémem někdo zabýval, jednalo se spíše o pokusy na rostlinách a interakce prvků v nich. Podle Fenga et al. (2013) obecně platí, že přídavek Se rostlinám často vykazuje antagonistické účinky u

některých základních prvků jako je například fosfor nebo síra. Z důvodu podobnosti se sírou vede zvýšený obsah Se v prostředí ke konkurenci těchto dvou prvků a začlenění Se do rostlinných proteinů (Filek et al., 2010). Za určitých podmínek se antagonistické účinky objevují i u vápníku, hořčíku, draslíku, železa, mědi a zinku. Filek et al. (2010) uvádí, že u řepky změny vyvolané přidavkem Se jsou tím silnější, čím vyšší dávka je Se je rostlinám podávána.

Interakce selenu s prvky v tkáních živočichů jsou složité a jejich účinky zatím nejsou příliš známy, ale ukázalo se, že komplexní interakce Se s kovy, vitamíny a živinami obvykle vedou k snížení toxicity interregující látky nebo selenu samotného (Risher et al., 2003). Proto je u živočichů zájem soustředěn zejména na interakce selenu a rizikových prvků. Jejich obsahy ale byly v našem pokusu, vyjma kadmia, pod mezí detekce. Jaký má přídavek Se do diety vliv na paralelní příjem ostatních prvků, zatím není dostatečně prozkoumáno.

V našem pokusu jsme se tedy pokusili zjistit, jaký vliv bude mít zvyšující se množství dietně přijímaného Se u potkanů na obsahy ostatních prvků v krvi, ledvinách a játrech. Pokus probíhal ve dvou etapách, kdy v první z nich byla zvířata krmena pouze krmivem s přidavkem řepkového šrotu. Ve druhé byl přídavek řepkového šrotu nahrazen řepkovým šrotem obohaceným o selen. Literatura totiž uvádí, že přídavek řepkového šrotu může mít nepříznivý vliv na organismus hospodářských zvířat (Smulikowska et al. 1998, Smith and Bray 1992). Pokusili jsme se tedy oddělit vliv řepkového šrotu jako takového od případného účinku přídavku selenu.

## 4.2.1 Pokus I - Příklad přídavek řepkového šrotu

### 4.2.1.1 Vliv přídavku řepkového šrotu na hmotnost potkanů

Protože jsme chtěli zjistit celkový účinek přijímané diety na potkany, byla u všech skupin potkanů na konci pokusu zjištěna jejich hmotnost. Po provedení analýzy rozptylů bylo zjištěno, že žádná z dietárních úrovní přijímaného množství řepkového šrotu nemá statisticky významný vliv na hmotnost potkanů a jejich přírůstek. Výsledky z analýzy jsou zobrazeny v tabulce č. 1.

**Tab. č. 1** Hmotnost potkanů krmných přídavkem řepkového šrotu.

	<b>Potkan 1</b>	<b>Potkan 2</b>	<b>Potkan 3</b>	<b>Potkan 4</b>
<b>Hmotnost [g] 77 dní věku</b>	487,2 ± 12,6 a	462,8 ± 28,2 a	463,5 ± 24,8 a	500,7 ± 45,8 a

#### 4.2.1.2 Obsah prvků ve vzorcích krmiva

V první fázi pokusu, kdy byl zkoumán vliv pouze přídatku řepkového šrotu, bylo zjištěno, že částečné ani úplné nahrazení sojového šrotu za šrot řepkový nevede k žádným statisticky významným změnám v obsahu ostatních sledovaných prvků v krmivu. Konkrétní výsledky z analýzy jednotlivých diet jsou zobrazeny v tabulce č. 2.

**Tab. č. 2** Obsah prvků v krmivu (mg/kg).

	<b>Krmivo 0 %</b>	<b>Krmivo 30 %</b>	<b>Krmivo 60 %</b>	<b>Krmivo 100 %</b>
<b>Se</b>	0,354 ± 0,012 a	0,328 ± 0,021 a	0,336 ± 0,008 a	0,345 ± 0,007 a
<b>Ca</b>	12453 ± 69 a	13250 ± 277 a	12985 ± 698 a	13259 ± 452 a
<b>Cu</b>	6,23 ± 0,32 a	6,12 ± 0,11 a	5,96 ± 0,69 a	5,86 ± 0,36 a
<b>Fe</b>	286 ± 69 a	312 ± 62 a	259 ± 25 a	325 ± 16 a
<b>K</b>	7889 ± 115 a	8265 ± 559 a	8125 ± 255 a	8214 ± 77 a
<b>Mg</b>	1832 ± 61 a	1845 ± 38 a	1712 ± 59 a	1851 ± 105 a
<b>Mn</b>	46,5 ± 2,6 a	48,6 ± 9,2 a	49,3 ± 5,4 a	48,3 ± 10,2 a
<b>P</b>	9211 ± 85 a	8695 ± 225 a	8126 ± 7,6 a	7996 ± 59 a
<b>S</b>	2596 ± 99 a	2854 ± 126 a	2854 ± 68a	2755 ± 36 a
<b>Zn</b>	49,6 ± 5,2 a	44,5 ± 0,8 a	55,3 ± 7,3 a	47,3 ± 5,96 a

#### 4.2.1.3 Stanovené obsahy prvků v krvi potkanů

V případě stanovení obsahu prvků v krvi, bylo zjištěno, že přídavek řepkového šrotu do krmiva nemá statisticky významný vliv na obsah žádného ze sledovaných prvků v krvi. Výsledky jsou shrnuty v tabulce č. 3.

**Tab. č. 3** Obsah prvků v krvi (mg/kg).

	<b>Potkan 1</b>	<b>Potkan 2</b>	<b>Potkan 3</b>	<b>Potkan 4</b>
<b>Se</b>	0,511 ± 0,104 a	0,487 ± 0,075 a	0,475 ± 0,119 a	0,461 ± 0,143 a
<b>Ca</b>	56,28 ± 6,11 a	58,34 ± 8,25 a	56,5 ± 5,06 a	54,73 ± 12,8 a
<b>Cu</b>	0,935 ± 0,062 a	0,957 ± 0,032 a	1,053 ± 0,086 a	0,968 ± 0,157 a
<b>Fe</b>	381,3 ± 17,2 a	369,2 ± 15,22 a	405,3 ± 12,19 a	353,3 ± 65,11 a
<b>K</b>	1297 ± 102 a	1356 ± 60,8 a	1433 ± 60,7 a	1310 ± 239,8 a
<b>Mg</b>	31,7 ± 2,27 a	30,84 ± 2,79 a	32,4 ± 2,23 a	31,93 ± 6,25 a
<b>Mn</b>	0,623 ± 0,031 a	0,61 ± 0,041 a	0,624 ± 0,015 a	0,586 ± 0,108 a
<b>P</b>	367,2 ± 17,8 a	351,2 ± 30,36 a	377,3 ± 24,35 a	357,3 ± 66,5 a
<b>S</b>	1416 ± 56 a	1403 ± 35,59 a	1531 ± 34,6 a	1401 ± 269,3 a
<b>Zn</b>	4,38 ± 0,7 a	3,91 ± 0,304 a	4,47 ± 0,267 a	3,7 ± 0,799 a

#### 4.2.1.4 Stanovené obsahy prvků v ledvinách potkanů

Podobně jako u krve tomu bylo i v případě ledvin, zde se ale již u mědi a u manganu rozdíl projevil. V případě mědi má kontrolní skupina obsah Cu  $41,62 \pm 8,21$  mg/kg, ale u skupiny č. 4 se 100 % nahrazením krmiva za řepkový šrot došlo k statisticky významnému snížení obsahu Cu na  $27,67 \pm 5,65$  mg/kg. Skupiny krmené krmivem s obsahem 30 % a 60 % se od těchto skupin významně neliší. Naopak tomu bylo v případě manganu, kdy přídavek řepky způsobil zvýšení příjmu tohoto prvku. V kontrolní skupině byl obsah Mn  $2,81 \pm 0,04$  mg/kg, ve skupině s 30 % náhradou byl stanoven obsah Mn na  $2,96 \pm 0,255$  mg/kg. K statisticky výraznému rozdílu ovšem dochází při nahrazení 60 % šrotu, kdy obsah Mn vystoupal na  $3,53 \pm 0,127$  mg/kg, při dalším zvýšení na 100 % řepky v krmivu sice dochází k jistému snížení obsahu Mn na  $3,29 \pm 0,193$  mg/kg, přesto je zde stále v porovnání se skupinami 0 % a 30 % statisticky významný rozdíl. Obsahy ostatních prvků se v jednotlivých skupinách významně nelišily, jak je zřejmé z tabulky č. 4.

**Tab. č. 4** Obsah prvků v ledvinách (mg/kg).

	<b>Potkan 1</b>	<b>Potkan 2</b>	<b>Potkan 3</b>	<b>Potkan 4</b>
<b>Se</b>	$7,89 \pm 1,3$ a	$7,62 \pm 0,834$ a	$7,067 \pm 0,832$ a	$7,798 \pm 0,995$ a
<b>Ca</b>	$270,2 \pm 38,31$ a	$253,2 \pm 17,97$ a	$285,3 \pm 24,57$ a	$260,7 \pm 16,28$ a
<b>Cu</b>	$41,62 \pm 8,21$ a	$32,75 \pm 7,57$ ab	$35,7 \pm 5,05$ ab	$27,67 \pm 5,65$ b
<b>Fe</b>	$189,67 \pm 10,1$ a	$201,67 \pm 22,69$ a	$203,2 \pm 11,04$ a	$194,5 \pm 25,24$ a
<b>K</b>	$9655 \pm 287,5$ a	$9239 \pm 1073$ a	$9203 \pm 595,7$ a	$9362 \pm 576,6$ a
<b>Mg</b>	$602,2 \pm 13,1$ a	$630,17 \pm 54,85$ a	$644,3 \pm 45,05$ a	$642,8 \pm 35,3$ a
<b>Mn</b>	$2,81 \pm 0,04$ a	$2,96 \pm 0,255$ a	$3,53 \pm 0,127$ b	$3,29 \pm 0,193$ b
<b>P</b>	$9227 \pm 154,8$ a	$9512 \pm 869$ a	$9679 \pm 685$ a	$9346 \pm 481,9$ a
<b>S</b>	$8648 \pm 162,6$ a	$9267 \pm 639$ a	$9437 \pm 587$ a	$9376 \pm 517,9$ a
<b>Zn</b>	$74,13 \pm 2,97$ a	$74,77 \pm 6,15$ a	$78,48 \pm 5,59$ a	$77,18 \pm 1,604$ a

#### 4.2.1.5 Stanovené obsahy prvků v játrech potkanů

V případě jater byly statisticky významné rozdíly zjištěny u třech prvků. Rozdíl byl zjištěn u fosforu, kdy ke statisticky významnému snížení obsahu P oproti kontrole ( $9125 \pm 613$  mg/kg), došlo u skupiny č. 3 krmené 60 % přídatkem řepky ( $7943 \pm 239$  mg/kg). K dalšímu statisticky významnému snížení došlo u síry, kdy sice kontrolní skupina ( $8022 \pm 624$  mg/kg) nemá významný rozdíl s žádnou z dalších skupin, ale statisticky významný rozdíl je mezi skupinou č. 2 ( $8165 \pm 901$  mg/kg) krmenou 30 % náhradou a skupinou č. 3 krmenou 60 % náhradou ( $7092 \pm 269$  mg/kg). Skupina č. 4 se od ostatních významně neliší. U zinku je pak statisticky významný rozdíl mezi kontrolní skupinou  $83,8 \pm 9,0$  mg/kg a skupinou č. 3 s obsahem Zn  $69,7 \pm 1,9$  mg/kg. Skupiny č. 2 a 4 se pak od kontroly ani skupiny č. 3 významně neliší. Obsahy ostatních prvků se v jednotlivých skupinách významně nelišily, jak je zřejmé z tabulky č. 5.

**Tab. č. 5** Obsah prvků v játrech (mg/kg).

	<b>Potkan 1</b>	<b>Potkan 2</b>	<b>Potkan 3</b>	<b>Potkan 4</b>
<b>Se</b>	$3,55 \pm 0,28$ a	$3,19 \pm 0,224$ a	$3,15 \pm 0,289$ a	$3,26 \pm 0,718$ a
<b>Ca</b>	$123 \pm 12,26$ a	$115,5 \pm 12,16$ a	$106,7 \pm 5,9$ a	$107,5 \pm 12,28$ a
<b>Cu</b>	$12,3 \pm 0,47$ a	$12,38 \pm 1,07$ a	$11,78 \pm 0,85$ a	$12,3 \pm 0,735$ a
<b>Fe</b>	$347,7 \pm 81,82$ a	$365,5 \pm 46,04$ a	$311 \pm 21,09$ a	$328,8 \pm 63,31$ a
<b>K</b>	$9234 \pm 160$ a	$9371 \pm 465,2$ a	$9307 \pm 440$ a	$9121 \pm 381$ a
<b>Mg</b>	$578 \pm 38,5$ a	$570 \pm 56,83$ a	$515 \pm 15,7$ a	$537 \pm 40,58$ a
<b>Mn</b>	$6,097 \pm 0,54$ a	$6,1 \pm 0,537$ a	$6,04 \pm 0,375$ a	$5,95 \pm 0,484$ a
<b>P</b>	$9125 \pm 613$ a	$9002 \pm 844$ a	$7943 \pm 239$ b	$8535 \pm 709$ ab
<b>S</b>	$8022 \pm 624$ ab	$8165 \pm 901$ b	$7092 \pm 269,1$ a	$7549 \pm 423$ ab
<b>Zn</b>	$83,8 \pm 9,01$ b	$80,35 \pm 9,18$ ab	$69,73 \pm 1,88$ a	$79,25 \pm 7,3$ ab



## 4.2.2 Pokus II – Příklad Se obohaceného řepkového šrotu

### 4.2.2.1 Vliv přídatku Se-oboženého šrotu na hmotnost potkanů

U zvířat, vystavených pokusné dietární expozici fortifikovaného řepkového šrotu, byla stanovena hmotnost ve 30 dnech věku, tedy při zahájení pokusu a ve věku 90 dní, tedy v den ukončení pokusu. Po provedení analýzy rozptýlů bylo zjištěno, že ani jedna z dietárních úrovní přijímaného Se nemá statisticky významný vliv na hmotnost potkanů a jejich přírůstky. Výsledky z analýzy jsou zobrazeny v tabulce č. 6. Při podobných pokusech Jensen (1975) zjistil, že u kuřat, kterým byla podána dieta se zvýšeným obsahem Se, došlo k statisticky výraznému snížení hmotnosti kuřat.

**Tab. č. 6** Hmotnost potkanů krmných Se-oboženou řepkou.

	<b>Krmivo 0 %</b>	<b>Krmivo 30 %</b>	<b>Krmivo 60 %</b>	<b>Krmivo 100 %</b>
<b>Hmotnost [g] 30 dní věku</b>	125,3 ± 8,5 a	131,1 ± 10,9 a	130,6 ± 8,6 a	128,6 ± 6,1 a
<b>Hmotnost [g] 90 dní věku</b>	508,4 ± 50,6 a	534,2 ± 38,9 a	495,9 ± 43,8 a	544,8 ± 65,2 a

### 4.2.2.2 Obsah prvků ve vzorcích krmiva

Při zjišťování jednotlivých obsahů prvků v krmivu, bylo zjištěno, že přídatok šrotu z řepky ošetřené selenem, nevede k statisticky významnému rozdílu v obsahu ostatních prvků v krmivu. Jak je patrné z tabulky č. 7, jediným prvkem, jehož obsah se v krmivu výrazně mění, je právě přidávaný selen. V krmivu, kde bylo přidáno 30 % obohaceného šrotu, rozdíl v obsahu selenu ještě nebyl statisticky významný, ale při nahrazení 60 % a 100 % se již rozdíl projevil. V kontrolním vzorku je obsah Se 0,398 ± 0,009 mg/kg krmiva, po nahrazení 60 % pokrutin se jeho obsah ve skupině č. 3 zvýšil na 0,52 ± 0,013 mg Se v kg krmiva, při úplném nahrazení pak obsah Se stoupl na 0,6 ± 0,014 mg/kg.

Vedle makro a mikro prvků byly v krmivu, krvi a tělních tkáních při pokusu II měřeny i hodnoty obsahu rizikových prvků. Vyjma kadmia byly všechny rizikové prvky pod mezí detekce, a proto je ve studii zmíněno pouze kadmium. V krmivu nebyl prokázán statisticky významný vliv přídatku Se-oboženého řepkového šrotu na obsah Cd v krmivu.

**Tab. č. 7** Obsah prvků v krmivu s přidavkem Se-obohaceného řepkového šrotu (mg/kg). výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka; varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší ( $\alpha=0,05$ )

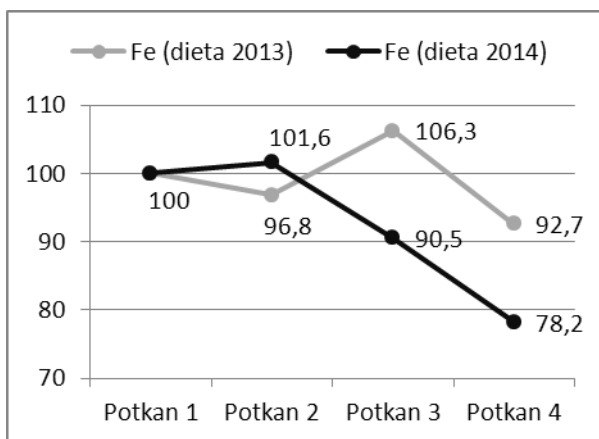
	<b>Krmivo 0 %</b>	<b>Krmivo 30 %</b>	<b>Krmivo 60 %</b>	<b>Krmivo 100 %</b>
<b>Se</b>	0,398 ± 0,009 a	0,402 ± 0,043 a	0,52 ± 0,013 b	0,6 ± 0,014 b
<b>Ca</b>	11585 ± 409 a	12743 ± 2747 a	13114 ± 228 a	13991 ± 57,78 a
<b>Cu</b>	6,65 ± 0,127 a	5,59 ± 1,107 a	6,01 ± 0,17 a	4,61 ± 0,055 a
<b>Fe</b>	202,7 ± 25,36 a	243,4 ± 53,46 a	195,9 ± 15,87 a	226,74 ± 5,07 a
<b>K</b>	8692,6 ± 21,8 a	8533 ± 1685 a	7595 ± 187,3 a	7524 ± 140,3 a
<b>Mg</b>	1923 ± 50,66 a	1714 ± 317,8 a	1683 ± 229 a	1681 ± 98,99 a
<b>Mn</b>	45,97 ± 0,318 a	47,96 ± 8,64 a	46,22 ± 0,74 a	45,68 ± 2,99 a
<b>P</b>	8606 ± 3,45 a	9093 ± 1859 a	8797 ± 8,88 a	8983 ± 156,1 a
<b>S</b>	2414 ± 125,37 a	2192 ± 436,5 a	2787 ± 363 a	2542 ± 127,2 a
<b>Zn</b>	54,61 ± 4,26 a	43,07 ± 8,52 a	52,31 ± 7,82 a	49,52 ± 1,77 a
<b>Cd</b>	0,16 ± 0,025 a	0,16 ± 0,005 a	0,16 ± 0,034 a	0,13 ± 0,005 a

Z tabulky č. 7 je patrné, že použité krmivo má vyjma selenu ve všech případech stejné obsahy jednotlivých živin a nemá na kumulaci a obsah prvků v krvi a tělních orgánech potkanů vliv, protože přidavek řepky obohacené o selen nemá statisticky významný vliv na obsah těchto prvků v krmivu. Rozdíly v množství těchto prvků v krvi a tělních tkáních jsou tedy přímo závislé na zvýšeném příjmu selenu.

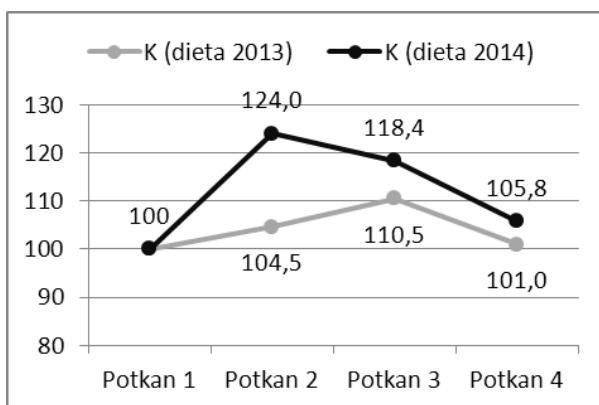
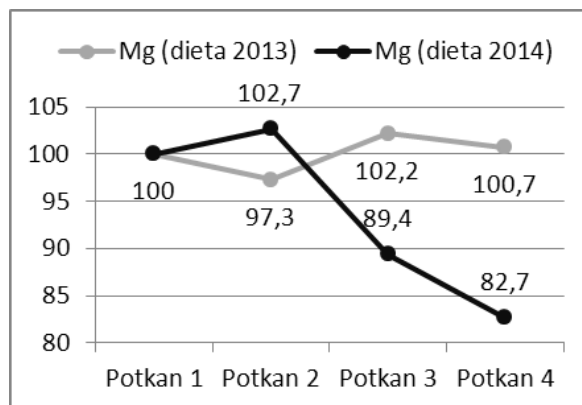
#### 4.2.2.3 Obsah prvků v krvi

U potkanů krmených dietou s přidavkem fortifikovaného řepného šrotu došlo v porovnání s potkany krmenými dietou s přidavkem řepného šrotu k několika významným změnám. Zatímco u potkanů krmených řepným šrotem bez přidavku Se se v krvi neprojevili žádné statisticky významné rozdíly, u potkanů krmených řepným šrotem obohaceným o Se se hned u několika prvků objevily statisticky významné změny v přítomnosti těchto prvků v krvi. Samotného selenu se tyto změny překvapivě nedotkly. Podle Wattse (1994) je možná existence antagonizmu mezi selenem a železem, tato domněnka se potvrzuje i v našem pokusu, kde se projevil statisticky významný rozdíl v obsazích železa; u skupiny č. 4 klesla koncentrace o téměř 22 % na hodnotu  $325 \pm 54$  mg/l krve oproti kontrole obsahující  $416 \pm 47$  mg/l krve. Pokles je zobrazen na grafu č. 1. U skupin s 30 % a 60 % náhradou nebyl rozdíl významný.

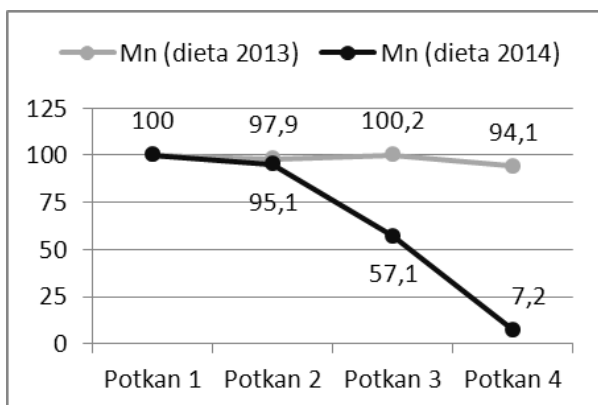
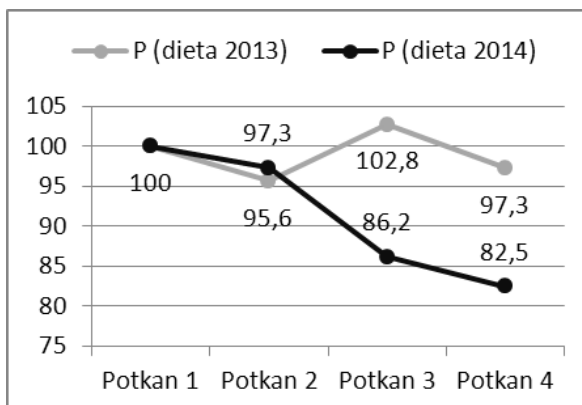
**Graf č. 1** Obsah železa v %.



U draslíku došlo k nejvýznamnějšímu rozdílu mezi kontrolou obsahující  $2920 \pm 453$  mg/l a skupinou č. 2, kde byl naměřen výrazný vzestup koncentrace K o 24 % na  $3620 \pm 306$  mg/l. Dále již obsah K se zvyšujícím se přidavkem Se klesal, ale ne statisticky významně. Průběh změn obsahů K je zobrazen na grafu č. 2. Podobný trend byl zjištěn i u hořčíku, ale s tím rozdílem, že u skupiny č. 2 se obsah Mg  $30,6 \pm 3,1$  mg/l od kontroly  $29,8 \pm 3,0$  mg/l zvýšil pouze nepatrně, zatímco u skupiny č. 4 se projevil statisticky významný pokles o 20 % na hodnotu  $24,6 \pm 3,4$  mg/l. Hodnota naměřená u skupiny č. 3 se statisticky nelišila ani od skupiny č. 1 a č. 2 ani od skupiny č. 4. Jednotlivé obsahy Mg jsou zobrazeny na grafu č. 3.

**Graf č. 2** Obsah draslíku v %.**Graf č. 3** Obsah hořčíku v %.

Na obsahu manganu v krvi se selen projevil postupným poklesem obsahu Mn s postupným zvyšováním obsahu Se v dietě. Mezi kontrolní skupinou č. 1 s obsahem Mn  $0,387 \pm 0,05$  mg/l a skupinou č. 2 s obsahem  $0,368 \pm 0,046$  mg/l statisticky významný rozdíl není. To se ale změnilo u skupiny č. 3, kde obsah Mn klesl o 43 % na hodnotu  $0,221 \pm 0,222$  mg/l, zde vznikl statisticky významný rozdíl od skupiny kontrolní, ale i od skupiny č. 4, kde obsah Mn klesl ještě razantněji o dalších 50 % na hodnotu  $0,028 \pm 0,01$  mg/l tedy pouhých 7,2 % obsahu skupiny kontrolní a skupina č. 4 se tedy statisticky významně liší jak od skupiny č. 3, tak i od skupin č. 1 a č. 2. Průběh poklesu je znázorněn na grafu č. 4. Tato skutečnost potvrzuje domněnku Wattse (1994), že mezi manganem a selenem existuje antagonismus. U fosforu také dochází k poklesu obsahu P se zvyšujícím se procentem přidaného Se až na nejnižší hodnotu  $257 \pm 44$  mg/l u skupiny č. 4, která je o 22,5 % nižší než skupina kontrolní, jež obsahuje  $312 \pm 37$  mg/l, a tak se tyto dvě skupiny statisticky významně liší. Skupiny č. 2 a č. 3 se statisticky neliší od skupin č. 1 a č. 4. Průběh klesajícího obsahu P je zobrazen na grafu č. 5.

**Graf č. 4** Obsah manganu v %.**Graf č. 5** Obsah fosforu v %.

U zbylých prvků nebyla prokázána statisticky významná změna v jejich obsahu v krvi. Kompletní výsledky s obsahy jednotlivých prvků v krvi jsou zaznamenány v tabulce č. 8. Při pokusech, které provedli Tomza et al. (2011) na skotu byla zjištěna korelace mezi Se a těžkými kovy v krvi, která v případě olova a kadmia vedla k výraznému snížení koncentrací těchto prvků v krvi skotu. V našem případě byla koncentrace kadmia, stejně jako ostatních rizikových prvků v krvi, pod mezí detekce, a proto není Cd v tabulce uvedeno. Vedle rizikových prvků Tomza et al. (2011) pozorovali pokles i ostatních kovů, jako jsou měď a zinek, tento pokles již ale nebyl statisticky významný, s tím se shodují i naše výsledky. Interakce ostatních prvků bohužel zatím není dostatečně probádána, a proto se ani v literatuře pro naše výsledky nevyskytuje dostatečné množství informací pro případné porovnávání.

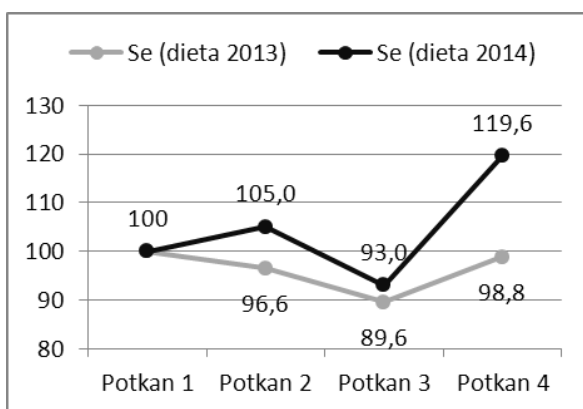
**Tab. č. 8** Stanovené obsahy prvků v krvi potkanů (mg/kg). výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka; varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší ( $\alpha=0,05$ )

	<b>Potkan 1</b>	<b>Potkan 2</b>	<b>Potkan 3</b>	<b>Potkan 4</b>
<b>Se</b>	0,241 ± 0,04 a	0,27 ± 0,015 a	0,231 ± 0,046 a	0,232 ± 0,035 a
<b>Ca</b>	37,54 ± 8,48 a	43,54 ± 9,29 a	39,37 ± 5,71 a	47,26 ± 20,43 a
<b>Cu</b>	0,764 ± 0,06 a	0,781 ± 0,071 a	0,717 ± 0,067 a	0,702 ± 0,09 a
<b>Fe</b>	415,9 ± 46,9 a	422,7 ± 50,34 a	376,4 ± 64,71 ab	325,4 ± 53,71 b
<b>K</b>	2920 ± 453 a	3620 ± 305,9 b	3458 ± 549,9 ab	3090 ± 503,6 ab
<b>Mg</b>	29,8 ± 3,03 a	30,61 ± 3,11 a	26,64 ± 3,12 ab	24,64 ± 3,437 b
<b>Mn</b>	0,387 ± 0,05 a	0,368 ± 0,046 ab	0,221 ± 0,222 b	0,028 ± 0,01 c
<b>P</b>	311,5 ± 37,1 a	303,07 ± 39,13 ab	268,5 ± 25,47 ab	256,9 ± 43,67 b
<b>S</b>	1347 ± 151 a	1461 ± 165,1 a	1298 ± 219,7 a	1239 ± 184,7 a
<b>Zn</b>	2,39 ± 0,62 a	2,529 ± 0,504 a	2,176 ± 0,487 a	2,342 ± 1,64 a

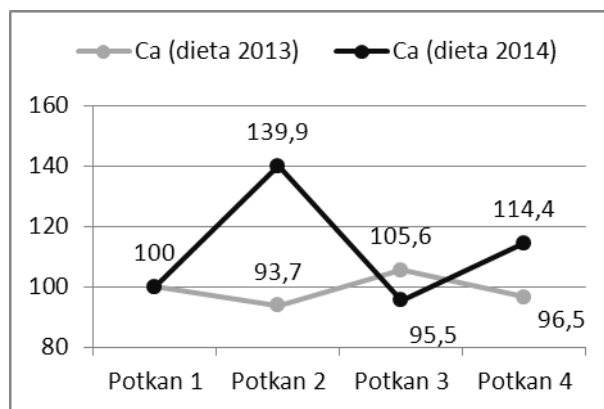
#### 4.2.2.4 Obsah prvků v ledvinách

K nejrazantnějším změnám v obsahu prvků v tělních tkáních došlo u ledvin. Přídavek fortifikovaného řepkového šrotu způsobil statisticky významný rozdíl u většiny prvků, neovlivněny zůstaly pouze měď, mangan, síra a kadmium. U selenu je zajímavé, že u skupiny č. 2 s obsahem  $6,74 \pm 0,81$  mg/kg dochází oproti kontrole  $6,42 \pm 0,43$  mg/kg k mírnému vzestupu koncentrace, která ovšem u třetí skupiny naopak mírně klesá na hodnotu  $5,97 \pm 0,40$  mg/kg. U skupiny č. 4 pak dochází ke statisticky výraznému zvýšení obsahu oproti skupině č. 3 o 21 % na konečnou hodnotu  $7,68 \pm 1,63$  mg/kg. Podrobně je průběh obsahů Se zobrazen v grafu č. 6. Obsah vápníku v ledvinách se nejvýrazněji (o necelých 40 %) mění u druhé skupiny, kde došlo ke zvýšení na hodnotu  $360 \pm 99$  mg/kg. Skupina č. 2 se tak statisticky významně liší jak od skupiny kontrolní, která obsahuje  $257,6 \pm 36,48$  mg/kg, tak i od skupiny č. 3 s obsahem Ca  $246 \pm 34$  mg/kg. U skupiny krmené 30 % náhradou tedy došlo k významnému zvýšení obsahu vápníku v tkáni ledvin, čtvrtá skupina se od ostatních výrazně neliší. Průběh obsahů Ca jsou zobrazeny v grafu č. 7.

**Graf č. 6** Obsah selenu v %.



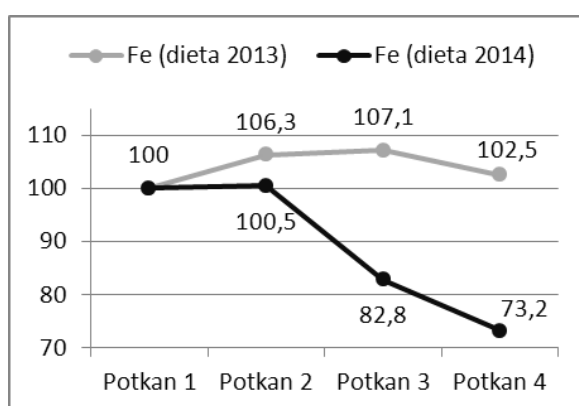
**Graf č. 7** Obsah vápníku v %.



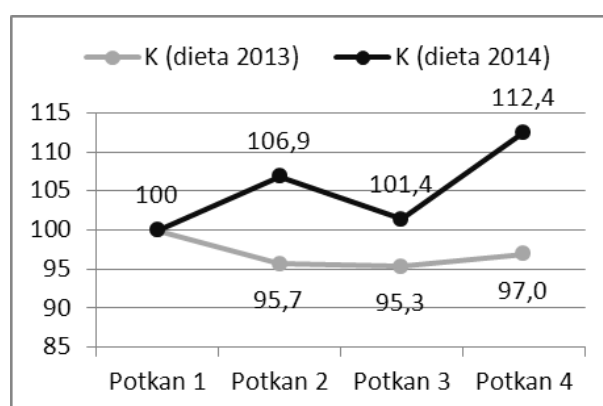
V případě množství železa dochází vlivem zvýšení koncentrace Se v potravě ke statisticky výraznému snížení množství Fe o 27 % u čtvrté skupiny s obsahem  $208,6 \pm 47$  mg/kg na rozdíl od kontrolní skupiny s obsahem  $285 \pm 32$  mg/kg. U skupiny č. 2 oproti kontrole nedochází prakticky k žádné změně a u skupiny č. 3 s obsahem Fe  $236 \pm 24$  mg/kg k statisticky významnému poklesu sice nedochází, ale jistý pokles je zde již také patrný, průběhy obsahů Fe jsou zobrazeny na grafu č. 8. Trend kolísání obsahů draslíku se velmi podobá obsahům selenu. Nejdříve dochází k mírnému zvýšení koncentrace u skupiny č. 2 na hodnotu  $9220 \pm 522$  mg/kg oproti kontrole s naměřenou hodnotou  $8627 \pm 418$  mg/kg.

Pak u skupiny č. 3 dochází k poklesu na hodnotu  $8749 \pm 64$  mg/kg, která je jen o málo zvýšená než koncentrace u kontrolní skupiny, ale u skupiny č. 4 dochází k statisticky významnému zvýšení obsahu K o více než 12 % oproti kontrole až na hodnotu  $9701 \pm 564$  mg/kg. Obsah draslíku se tedy u čtvrté skupiny, krmené pouze fortifikovaným řepkovým šrotem, významně liší, jak od skupiny kontrolní, tak i od skupiny č. 3 krmené 60 % náhradou. Trend vlivu přídatku Se na obsah K v tkáních ledvin je u všech pokusných skupin zvýšený oproti skupinám s dietou neobsahující přídatek selenu, přičemž u železa tomu bylo přesně naopak. Celkový trend průběhu obsahů K je zobrazen v grafu č. 9.

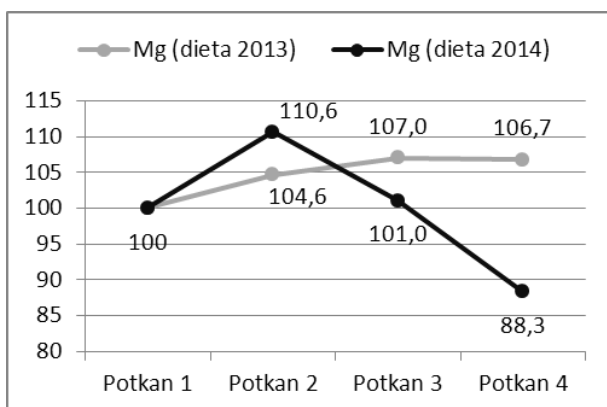
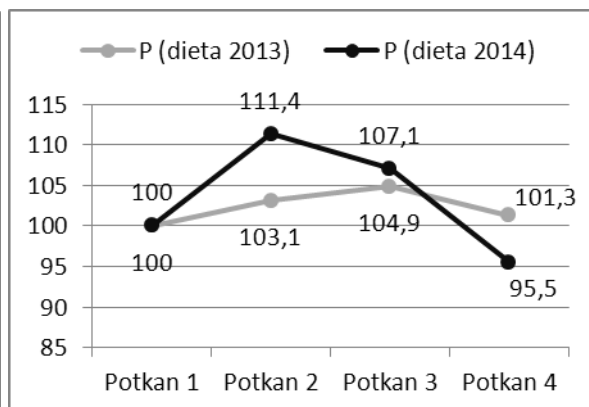
**Graf č. 8** Obsah železa v %.



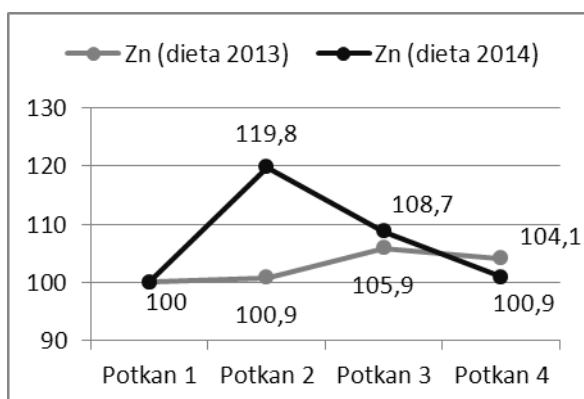
**Graf č. 9** Obsah draslíku v %.



Ledviny kontrolní skupiny s obsahem Mg  $781 \pm 25$  mg/kg se statisticky významně neliší od skupiny č. 2 a č. 3. U druhé skupiny sice došlo k zvýšení obsahu Mg na  $864 \pm 77$  mg/kg, ale u třetí skupiny již dochází k poklesu na hodnotu  $789 \pm 42$  mg/kg, která je stále o zhruba 1 % vyšší než u kontrolní skupiny. Nicméně u čtvrté skupiny pokles pokračuje až na hodnotu  $690 \pm 115$  mg/kg a vzniká zde statisticky významný rozdíl (22 %) se skupinou č. 2, u které se projevil jistý vzestup v koncentraci Mg. Průběh je zobrazen v grafu č. 10. Obdobně je tomu i v případě fosforu, kdy obsah P u druhé skupiny stoupá o 11 % na hodnotu  $12016 \pm 770$  mg/kg oproti skupině kontrolní s obsahem  $10790 \pm 329$  mg/kg. U skupiny č. 3 opět klesá na  $11555 \pm 432$  mg/kg. Nejedná se o statisticky významné rozdíly, ale pokud se zvyšuje obsah Se v dietě, pokles obsahu fosforu v ledvinových tkáních pokračuje až na hodnotu  $10303 \pm 1665$  mg/kg, která je nižší než u kontrolní skupiny a dochází zde k statisticky významnému rozdílu o 15 % mezi skupinou č. 2 a č. 4. Obsahy fosforu jsou zobrazeny v grafu č. 11.

**Graf č. 10** Obsah hořčíku v %.**Graf č. 11** Obsah fosforu v %.

A podobný průběh se objevuje i v případě obsahu zinku. Zde je rozdíl ten, že k nejvýraznějšímu statisticky významnému vzestupu koncentrace zinku v ledvinách o 20 % dochází u skupiny č. 2, jejíž obsah Zn dosahuje hodnot  $86,4 \pm 10,5$  mg/kg, zatímco u kontrolní skupiny to je  $72,1 \pm 6,5$  mg/kg. U skupin č. 2 a č. 3 koncentrace Zn opět klesá. U skupiny č. 4 koncentrace Zn klesla až na hodnotu  $72,8 \pm 11,2$  mg/kg a je zde tedy statisticky významný rozdíl v obsahu Zn mezi skupinou č. 2 a skupinami č. 1 a č. 4. Průběh obsahů zinku je zobrazen v grafu č. 12. Schrauzer (1984) objevil antagonismus mezi Se a Zn, v našem pokusu se negativní vliv Se na příjem Zn neprojevil, u skupiny krmené dietou s nejvyšším obsahem Se byl obsah Zn v ledvinách prakticky totožný se skupinou kontrolní. V pokusech Lazaruse et al. (2009) také nebyl zaznamenán statisticky významný vliv přídatku Se na obsah Zn v ledvinách mláďat potkanů.

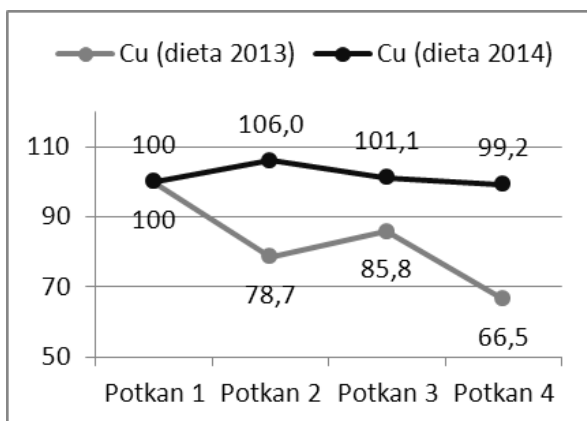
**Graf č. 12** Obsah zinku v %.



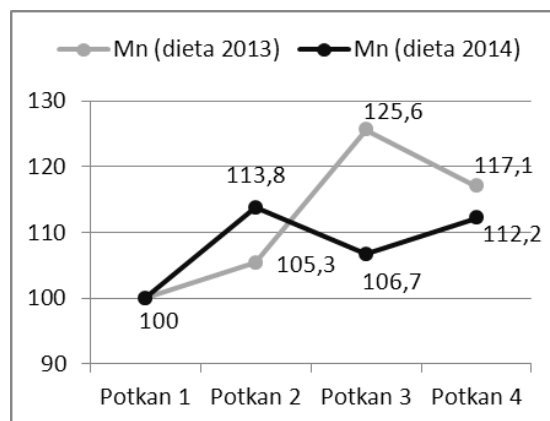
K podobnému průběhu došlo i v případě kadmia, ovšem zde nedošlo k žádným statisticky významným rozdílům mezi jednotlivými skupinami. Kompletní výsledky naměřených hodnot v ledvinách jsou zobrazeny v tabulce č. 9.

Je zajímavé si povšimnout, že u potkanů krmených fortifikovaným řepkovým šrotem nebyl stanoven statisticky významný rozdíl v obsahu mědi a manganu na rozdíl od pokusu I, kde byli potkani krmeni pouze přídatkem řepkového šrotu bez fortifikace selenem. U čtvrté skupiny potkanů krmených dietou se 100 % obsahem řepkového šrotu v pokusu I došlo u mědi ke statisticky významnému poklesu oproti kontrolní skupině, zatímco u potkanů v pokusu II nedošlo v obsahu mědi k statisticky významnému rozdílu u žádné ze skupin potkanů. Jensen (1975) zjistil, že zvýšený přírvek mědi do diety kuřat snižuje toxické působení zvýšených hladin přijímaného Se, my jsme zjistili, že v opačném případě, pokud zvýšíme dietární příjem Se, nedochází v případě mědi k žádným statisticky významným změnám v jejím obsahu v ledvinách potkanů. V některých studiích (Watts 1994) bylo dokázáno, že mezi mědí a selenem existuje synergický vztah. Lazarus et al. (2009) zjistili, že zvýšený příjem selenu nemá statisticky významný vliv na hladinu mědi v ledvinách a ani v játrech. Tomu odpovídají i naše výsledky, kdy při zvýšení příjmu Se dochází k zamezení sníženého příjmu Cu, jež vznikl u potkanů krmených nefortifikovanou řepkou. V případě manganu v pokusu I došlo k statisticky výraznému zvýšení koncentrace tohoto prvku u skupin č. 3 a č. 4. Po fortifikaci krmiva selenem se tento statisticky významný rozdíl v obsahu Mn v ledvinách potkanů eliminoval. Ukázalo se tedy, že v případě těchto dvou prvků má přidávaný Se do diety vliv na vyváženější příjem mědi a manganu. Průběhy obsahů mědi a manganu jsou zobrazeny v grafech č. 13 a č. 14.

**Graf č. 13** Obsah mědi v %.



**Graf č. 14** Obsah manganu v %.



**Tab. č. 9** Stanovené obsahy v ledvinách potkanů (mg/kg). výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka; varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší ( $\alpha=0,05$ )

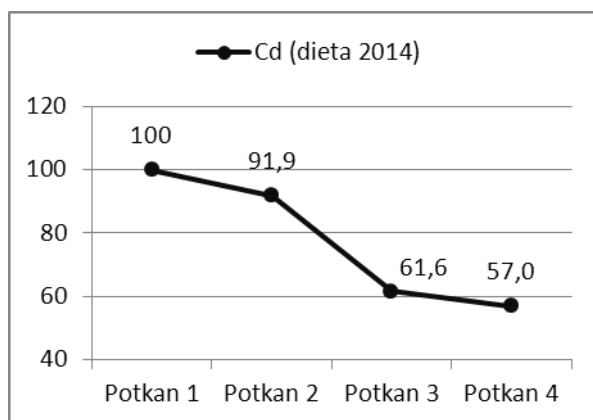
	<b>Potkan 1</b>	<b>Potkan 2</b>	<b>Potkan 3</b>	<b>Potkan 4</b>
<b>Se</b>	6,42 ± 0,426 ab	6,74 ± 0,81 ab	5,97 ± 0,403 a	7,68 ± 1,63 b
<b>Ca</b>	257,6 ± 36,48 a	360,4 ± 99,44 b	246,1 ± 33,66 a	294,7 ± 73,81 ab
<b>Cu</b>	33,06 ± 4,63 a	35,03 ± 4,01 a	33,43 ± 4,55 a	32,79 ± 9,5 a
<b>Fe</b>	284,8 ± 32,4 a	286,2 ± 43,23 a	235,8 ± 24,1 ab	208,6 ± 47 b
<b>K</b>	8627 ± 418 a	9220 ± 522 ab	8749 ± 641 a	9701 ± 564 b
<b>Mg</b>	781,1 ± 25,32 ab	864,2 ± 77,53 b	789,3 ± 41,52 ab	690,1 ± 115 a
<b>Mn</b>	2,54 ± 0,163 a	2,89 ± 0,43 a	2,71 ± 0,38 a	2,85 ± 0,716 a
<b>P</b>	10790 ± 329 ab	12016 ± 770 b	11555 ± 432 ab	10303 ± 1665 a
<b>S</b>	8779 ± 197,4 a	9663 ± 920 a	9379 ± 681 a	8925 ± 1264 a
<b>Zn</b>	72,13 ± 6,53 a	86,42 ± 10,49 b	78,41 ± 3,42 ab	72,76 ± 11,23 a
<b>Cd</b>	0,1 ± 0,031 a	0,11 ± 0,4 a	0,08 ± 0,022 a	0,07 ± 0,029 a

#### 4.2.2.5 Obsah prvků v játrech

Obdobně jako Lazarus et al. (2009), kteří vedle interakcí selenu a kadmia sledovali také hladiny mědi, železa a zinku, ani naše pokusy neukázaly statisticky významné změny v obsahu těchto prvků. V našem pokusu se zvýšení obsahu přijímaného selenu u jater, se neprojevalo na příjmu ostatních prvků tak razantně a v takovém množství jako tomu bylo v případě ledvin a krve. V játrech se vliv selenu v dietě statisticky významně projevil pouze u kadmia, kde postupné zvyšování obsahu Se v dietě vedlo k postupnému snižování koncentrace Cd v játrech potkanů. U kontrolní skupiny byla naměřena hodnota obsahu Cd  $0,09 \pm 0,031$  mg/kg. U skupiny č. 2 se tato hodnota mírně snížila na  $0,08 \pm 0,033$  mg/kg. Mezi skupinou č. 2 a č. 3 došlo k výraznějšímu poklesu o 30 % a mezi skupinou č. 3, s obsahem  $0,050 \pm 0,013$  mg/kg a kontrolní skupinou již vznikl statisticky významný rozdíl o necelých

40 %. U čtvrté skupiny obsah Cd opět mírně klesl na hodnotu  $0,049 \pm 0,006$  mg/kg a vznikl statisticky významný rozdíl od kontrolní skupiny č. 1 s rozdílem 43 %. Zde se tedy projevil protektivní charakter selenu před tímto rizikovým prvkem. Lazarus et al. (2009) ukázali, že nejvyšší hladiny Cd v organizmu se nacházejí v játrech, které jsou následovány ledvinami. To se potvrdilo i v našem pokusu, kdy množství Cd přesáhlo mez detekce právě u těchto orgánů, v krvi byla jeho koncentrace příliš nízká. Lazarus et al. (2009) také zaznamenali, že zvýšený příjem Se reguluje a snižuje množství Cd v těle u dospělých zvířat i u mláďat a to zejména v játrech, ledvinách, krvi a mozku. Stanovení obsahů prvků v mozku v našem pokusu nebylo provedeno, v krvi byla koncentrace Cd pod mezí detekce, ale v případě ledvin a jater se toto tvrzení potvrdilo a to zejména v případě jater. Lazarus et al. (2009) dále zjistili, že při společném podávání Se a Cd diety nedochází ke snížení obsahů Se v játrech, ale vedle toho dochází ke snížení koncentrace Cd. Tento fakt jsme pozorovali i v našem pokusu, kdy u skupiny potkanů krmených dietou s největším obsahem Se došlo k statisticky významnému poklesu koncentrace Cd oproti skupině kontrolní. Tento jev potvrzují i výzkumy, ve kterých Chen et al. (1975) objevili, že Se výrazně snižuje obsah Cd v játrech a ledvinách. Postupné snížení obsahu Cd je zobrazeno v grafu č. 15, hodnoty pro rok 2013 zde chybí, protože hodnoty rizikových prvků nebyly měřeny. Hodnoty obsahů ostatních prvků v játrech potkanů jsou zobrazeny v tabulce č. 10.

**Graf č. 15** Obsah kadmia v %.



Stejně jako v případě ledvin je zajímavé, že přidavek selenu do diety u některých prvků způsobil, že se jejich obsahy mezi jednotlivými skupinami statisticky výrazně neliší na rozdíl od skupin potkanů krmených krmivem s přidavkem řepky neošetřené selenanem sodným. U potkanů krmených přidavkem fortifikovaného krmiva se statisticky významný rozdíl projevil pouze u kadmia. V případě potkanů z pokusu I nebyl obsah kadmia v tkáni

jater bohužel stanoven, ale došlo zde k statisticky významnému poklesu obsahu fosforu, síry a zinku. V případě fosforu u skupiny č. 3 došlo k významnému poklesu oproti kontrolní skupině. Stejný průběh byl zjištěn i v případě zinku, kdy se také třetí skupina výrazně lišila od skupiny kontrolní. U síry se od sebe lišila skupina č. 2 a skupina č. 3, u které došlo k statisticky výraznému poklesu obsahu síry. Ukázalo se tedy, že přídavek fortifikovaného selenu má v případě jater pozitivní vliv nejen na kumulaci kadmia, ale také na omezení snižujícího se příjmu fosforu, síry a zinku oproti potkanům s dietou bez fortifikace krmiva selenem.

V opačně postaveném pokusu Kotyzová et al. (2010) zjistili, že snižování množství Se v dietě vede u mědi k tomu, že se její obsah v játrech zvyšuje, naopak Monedera et al. (2014) kteří zvyšovali dávky dietárně přijímaného Se, zaznamenali snížení jaterních hodnot mědi. V našem pokusu se zvyšování přijímaného Se na hladinách mědi nepromítlo ani kladně, ani záporně. Velké diskuse se vedou okolo interakce Se a Zn. Zatímco někteří autoři uvádějí, že doplňování Se do diety vede ke snížení Zn v játrech (Khan et al., 1993), jiní autoři uvádějí přesný opak (Chmielnicka et al., 1988), jiní zase hlásí, že Se nemá na hladiny Zn vliv žádný (Ghazi et al., 2012). Monedera et al. (2014) také nepozorovali žádné změny v jaterních hladinách Zn. V našem pokusu také nedošlo k statisticky významným změnám hladiny zinku v játrech, ale oproti našemu pokusu I, zvýšený příjem Se zamezil snížení příjmu Zn, který se projevil u potkanů krmených řepkou bez fortifikace. V případě železa v játrech Monedera et al. (2014) pozorovali zvyšující se trend obsahu Fe v játrech, v našem pokusu tento trend nebyl potvrzen. Co se týká obsahů manganu, tak ani v našem pokusu, ani v případě výsledků, které publikovali Monedera et al. (2014) nebyly pozorovány žádné statisticky významné změny. Ovšem Khan et al. (1993) zjistili, že doplňování Se vede ke snížení obsahu Mn v tkáních jater.

**Tab. č. 10** Stanovené obsahy v játrech potkanů (mg/kg). výsledky jsou vyjádřeny jako průměr ± směrodatná odchylka; varianty označené stejnými písmeny se od sebe statisticky významně neliší ( $\alpha=0,05$ )

	<b>Potkan 1</b>	<b>Potkan 2</b>	<b>Potkan 3</b>	<b>Potkan 4</b>
<b>Se</b>	4,48 ± 0,297 a	4,79 ± 0,495 a	4,42 ± 0,529 a	4,85 ± 0,525 a
<b>Ca</b>	142,2 ± 38,34 a	125,7 ± 47,19 a	129,7 ± 44,8 a	126,6 ± 22,85 a
<b>Cu</b>	11,7 ± 0,873 a	11,3 ± 1,12 a	11,88 ± 1,23 a	12,27 ± 0,99 a
<b>Fe</b>	395,8 ± 88,26 a	356,6 ± 40,9 a	399,7 ± 67,5 a	339,6 ± 61,4 a
<b>K</b>	10707 ± 689 a	10523 ± 699 a	10527 ± 448 a	11123 ± 259 a
<b>Mg</b>	619 ± 58,92 a	560,4 ± 56,19 a	565,6 ± 33,09 a	589,4 ± 64,34 a
<b>Mn</b>	6,13 ± 0,661 a	5,72 ± 0,782 a	5,81 ± 0,804 a	5,79 ± 0,827 a
<b>P</b>	9707 ± 921 a	8605 ± 821 a	8701 ± 713 a	9037 ± 1185 a
<b>S</b>	8084 ± 743 a	7361 ± 793 a	7467 ± 524 a	7544 ± 762 a
<b>Zn</b>	81,63 ± 8,1 a	77,3 ± 11,87 a	74,7 ± 6,72 a	78,04 ± 8,46 a
<b>Cd</b>	0,086 ± 0,031 b	0,079 ± 0,033 ab	0,053 ± 0,013 a	0,049 ± 0,006 a

## 5 ZÁVĚR

Od dob, kdy byl Jönsem Jacobem Berzeliem selen poprvé popsán uplynulo již mnoho let. Postupem času bylo zjištěno, že je selen důležitým komponentem a že pro živočichy a jejich zdravý růst je nepostradatelný. Selen do potravinového řetězce vstupuje skrze rostliny a jeho hlavním rezervoárem v prostředí je půda. Bohužel v České republice i okolních státech střední Evropy je obsah selenu v půdách všeobecně nízký a to se promítá i do jeho obsahů v hospodářských zvířatech a potažmo i v lidech. Jedním z možných způsobů zvyšování jeho koncentrace v populaci je využití selenem obohaceného řepkového šrotu, tedy odpadu z výroby řepkového oleje, jako možného krmiva pro hospodářská zvířata. Ovšem vliv zvýšeného příjmu selenu na ostatní makro a mikro prvky není doposud dostatečně prozkoumán.

Náš pokus s potkany probíhal ve dvou fázích, kdy při první z nich byl vyloučen vliv přídavku řepkového šrotu do krmiva potkanů. Ve druhé fázi již byli potkani krmeni dietou, kde byla určitá část sojového šrotu nahrazena selenem fortifikovaným řepkovým šrotem. Zvířata byla rozdělena do čtyř skupin a vedle skupiny kontrolní byly ostatní skupiny krmeny krmivem s 30%, 60% a 100% náhradou.

Při analýze krmiva se ukázalo, že zvýšení koncentrace selenu v krmivu nevede k žádným statisticky významným změnám obsahů ostatních prvků, změny, které jsme v našich pokusech sledovali, jsou tedy přímo závislé na zvýšení dietního příjmu selenu. Ani u jedné ze sledovaných skupin nebyl pozorován vliv přídavku selenu na tělesnou hmotnost potkanů.

Zjistili jsme, že postupné zvyšování přijímaného selenu vede v krvi potkanů k snížení koncentrací fosforu, hořčíku, železa a manganu. U železa a hořčíku způsobilo nahrazení 30 % pokrutin mírné zvýšení koncentrací těchto prvků v krvi, ovšem další zvyšování koncentrace selenu v potravě vedlo k výraznému snížení koncentrace těchto prvků oproti kontrole. Hodnoty fosforu a manganu klesaly kontinuálně hned od prvního přídavku selenu do potravy. Zvláště u manganu se projevil velmi razantní pokles jeho koncentrace, která u skupiny č. 4 klesla o 93 % oproti skupině kontrolní. Opačný jev byl pozorován v případě draslíku, kdy selen naopak zvýšil koncentrace draslíku v krvi. Koncentrací Se se dieta překvapivě nedotkla.

K největším změnám, respektive k ovlivnění největšího množství sledovaných prvků, došlo po přídavku selenu do krmiva v tkáních ledvin. V případě železa došlo v ledvinách k velmi podobnému poklesu jako v případě krve. Železo je zároveň jediným prvkem, kde se projevil výrazný pokles. V případě hořčíku a fosforu byl pokles sledován pouze u čtvrté skupiny. V těchto dvou případech tedy došlo k statisticky významnému rozdílu mezi

skupinou č. 4 a skupinou č. 2, u které 30% nahrazení způsobilo naopak nevýznamné zvýšení koncentrace Mg a P oproti kontrole. K jistému, ovšem ne statisticky významnému poklesu, došlo i u kadmia. V případě vápníku, draslíku a zinku bylo zaznamenáno zvýšení obsahů těchto prvků v ledvinách. U K došlo ve všech skupinách k zvýšení oproti kontrole, přičemž největší změna byla pozorována u skupiny č. 4. Zn dosáhl nejvyšších hodnot u skupiny č. 2 a stejně tak i Ca. Zajímavé je si povšimnout, že přídavek Se u potkanů způsobil i vyrovnaný příjem mědi a manganu na rozdíl od potkanů krměných přídatkem neobohaceného řepkového šrotu, kde došlo k poklesu u Cu, respektive zvýšení u Mn.

V játrech byla statisticky významná změna pozorována pouze v případě kadmia. Zde s postupným zvyšováním koncentrace přijímaného selenu, koncentrace Cd v játrech kontinuálně klesala, přičemž u čtvrté skupiny došlo k poklesu o 43% oproti kontrole. Potvrdil se nám tedy již dříve objevený antagonismus mezi těmito prvky a fakt, že přídavek selenu v potravě chrání organismus před tímto rizikovým prvkem.

Zjistili jsme, že v krvi, ledvinách a játrech se přídavek selenu do hodnot ostatních prvků promítl, u některých dokonce poměrně výrazně. Naše hypotéza, že přídavek fortifikovaného řepkového šrotu do diety potkanů zvýší hladinu selenu v organismu zvířat, aniž by ovlivnil hladiny dalších esenciálních prvků, se tedy nepotvrdila.

## 6 Seznam použité literatury:

### 6.1 Seznam použitých knižních zdrojů

ANDREWS, E.D., W.J. HARTLEY and A.B. GRANT. 1968. Selenium-responsive diseases of animals in New Zealand. *New Zealand Veterinary Journal*, vol. 16, 1-2, p. 3-17. DOI: 10.1080/00480169.1968.33738.

BALÁN, J., VOSMANSKÁ, M., SZÁKOVÁ, J. a MESTEK, O. 2014. Speciační analýza selenu v odtučněném řepkovém šrotu. *Chemické listy*, roč. 108, č. 3, s. 256-263. ISSN: 0009-2770.

BAÑUELOS, G. S. and D. W. MEEK. 1990. Accumulation of Selenium in Plants Grown on Selenium-Treated Soil. *Journal of Environment Quality*, vol. 19, issue 4, p. 772-. DOI: 10.2134/jeq1990.00472425001900040023x.

BAÑUELOS, G. S., H. A. AJWA, B. MACKEY, L. WU, C. COOK, S. AKOHOUE and S. ZAMBRUZUSKI. 1997. Evaluation of Different Plant Species Used for Phytoremediation of High Soil Selenium. *Journal of Environment Quality*, vol. 26, issue 3, p. 639-. DOI: 10.2134/jeq1997.00472425002600030008x

BAÑUELOS, G.S. and H.F. MAYLAND. 2000. Absorption and Distribution of Selenium in Animals Consuming Canola Grown for Selenium Phytoremediation. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, vol. 46, issue 3, p. 322-328. DOI: 10.1006/eesa.1999.1909.

BARCELOUX, D.G. 1999. Selenium. *Clinical toxicology*, vol, 37, p. 145-172.

BENCKO, Vladimír, Jaroslav NOVÁK a Miloš SUK. 2011. *Zdraví a přírodní podmínky: (medicína a geologie)*. Praha: Dolin, 398 s. ISBN 978-809-0504-707.

BERZELIUS J. Jöns. 1818. Additional Observations on Lithion and Selenium, *Annals of Philosophy*, vol. 11, p 373.



BRZÓSKA F. and BRZÓSKA B. 2004. Effect of dietary selenium on milk yield of cows and chemical composition of milk and blood. *Annals of Animal Science*, vol. 4, p. 57-67.

COMBS, Gerald F. and Stephanie B. COMBS. 1986. *The role of selenium in nutrition*. Orlando: Academic Press, xii, p. 532, ISBN 01-218-3495-6.

DANNEBERG O. H. 1999. *Mitteilungen der Österreichischen Bodenkundlichen Gesellschaft*, vol. 57, p. 7–24.

EICHLER Š. a MESTEK O. 2010. Speciační analýza selenu v moči spojením HPLC a ICP/MS. *Chemické listy*, č. 104, s. 13-16.

ESAKI, N., NAKAMURA, TANAKA and SODA. 1982. Selenocysteine lyase, a novel enzyme that specifically acts on selenocysteine - mammalian distribution and purification and properties of pig-liver enzyme. *The Journal of biological chemistry*, vol. 257, p. 4386-4391.

FALKOWSKA A., MINAKOWSKI D. and TYWOŃCZUK J. 2000. The effect of supplementing rations with selenium and vitamin E on biochemical parameters in blood and performance of cows in the early stage of lactation. *Journal of Animal and Feed Sciences*, vol. 9, p. 271-282.

FANG, W., WU, HU and HUANG. 2003. Environmental Se-Mo-B deficiency and its possible effects on crops and Keshan-Beck disease (KBD) in the Chousang area, Yao County, Shaanxi Province, China. *Environmental geochemistry and health*, vol. 25, p. 349-358.

FENG, Renwei, Chaoyang WEI, Shuxin TU, Yongzhen DING and Zhengguo SONG. A. 2013. Dual Role of Se on Cd Toxicity: Evidences from the Uptake of Cd and Some Essential Elements and the Growth Responses in Paddy Rice. *Biological Trace Element Research*, vol. 151, issue 1, p. 113-121. DOI: 10.1007/s12011-012-9532-4.

FILEK, Maria, Maria ZEMBALA, Andrzej KORNAŚ, Stanisław WALAS, Halina MROWIEC and Helinä HARTIKAINEN. 2010. The uptake and translocation of macro- and microelements in rape and wheat seedlings as affected by selenium supply level. *Plant and Soil*, vol. 336, issue 1-2, p. 303-312. DOI: 10.1007/s11104-010-0481-4.

GABRYSZUK, M., M. CZAUDERNA, A. BARANOWSKI, N. STRZAŁKOWSKA, A. JÓŹWIK and J. KRZYŻEWSKI. 2007. The effect of diet supplementation with Se, Zn and vitamin E on cholesterol, CLA and fatty acid contents of meat and liver of lambs. *Animal science papers and reports / Polish Academy of Sciences Institute of Genetics and Animal Breeding, Jastrzębiec*, vol. 25, issue 1, p. 25-33.

GALGAN, Vera and Adrian FRANK. 1995. Survey of bioavailable selenium in Sweden with the moose (*Alces alces* L.) as monitoring animal. *Science of The Total Environment*, vol. 172, issue 1, p. 37-45. DOI: 10.1016/0048-9697(95)04715-8.

GE, K. and G. YANG. 1993. The epidemiology of selenium deficiency in the etiological study of endemic diseases in China. *The American journal of clinical nutrition*, vol. 57, p. 259-263.

GHAZI H. S., HABIBIYAN M., MOEINI M.M. and ABHDOLMOMAMMADI A.R. 2012. Effects of dietary selenium, vitamin E, and their combination on growth, serum metabolites, and antioxidant defense system in skeletal muscle of broilers under heat stress. *Biological Trace Element Research*, vol. 148, p. 322–330.

GIBSON, R. 1994. Content and bioavailability of trace elements in vegetarian diets. *American journal of clinical nutrition*, vol. 59, p. 1223-1232.

GURGUL, E. and HERMAN, B. 1994. Influence of nitrogen, phosphorus and potassium on chemical composition and activity of some enzymes in celery during its growth. *Plant biology*, vol. 36, p. 261- 265.

HALVERSON, A. W., P. L. GUSS, and O. E. OLSON. 1962. Effect of sulfur salts on selenium poisoning in the rat. *Journal of Nutrition*, vol. 77, p.459–464.

HAMILTON, Steven J. 2004. Review of selenium toxicity in the aquatic food chain. *Science of The Total Environment*, vol. 326, issue 1-3, p. 1-31. DOI: 10.1016/j.scitotenv.2004.01.019.

HAYES, A. 2008. *Principles and methods of toxicology*. 5th ed. Boca Raton: CRC Press/Taylor, xxiii, 2270 p. ISBN 08-493-3778-X.

HINTZE, Korry J., Gregory P. LARDY, Martin J. MARCHELLO and John W. FINLEY. 2002. Selenium Accumulation in Beef: Effect of Dietary Selenium and Geographical Area of Animal Origin. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, vol. 50, issue 14, p. 3938-3942. DOI: 10.1021/jf011200c.

HOEKSTRA, W. 1974. Trace element metabolism in animals--2: proceedings of the second International Symposium on Trace Element Metabolism in Animals, held in Madison, Wisconsin, on 18-22 June, 1973. Baltimore: University Park Press, xxvi, 775 p. ISBN 08-391-0696-3.

HOPPER, Jennifer L. and David R. PARKER. 1999. Plant availability of selenite and selenate as influenced by the competing ions phosphate and sulfate. *Plant and soil: International journal of plant nutrition, plant chemistry, soil microbiology and soil-born plant diseases*, vol. 210, issue 2, P. 199-207. DOI: 10.1023/A:1004639906245.

HSIEH, H. E. and GANTHER. 1977. Biosynthesis of dimethyl selenide from sodium selenite in rat liver and kidney cell-free systems. *Biochimica et biophysica acta*, vol. 497, p. 205-217.

CHEN, R. W., WHANGER, P. D. and WESWIG, P. H. 1975. Selenium-induced redistribution of cadmium binding to tissue proteins: a possible mechanism of protection against cadmium toxicity. *Bioinorganic Chemistry*, vol. 4, issue2, p. 125-133.

CHENG, W. H., B. A. VALENTINE, and X. G. LEI. 1999. High levels of dietary vitamin E do not replace cellular glutathione peroxidase in protecting mice from oxidative stress. *Journal of Nutrition*, vol. 129, p. 1951-1957.

CHMIELNICKA J., ZAREBA G., WITASIK M. and BRZEŹNICKA E. 1988. Zinc–selenium interaction in the rat. *Biological Trace Element Research*, vol. 15, p. 267–276.

JENSEN, S. Leo. 1975. Modification of a Selenium Toxicity in Chicks by Dietary Silver and Copper. *Journal of nutrition*, vol. 105, p. 769-775.

JULIUS, A. D., M. H. DAVIES, and D. F. BIRT. 1983. Toxic effects of dietary selenium in the Syrian hamster. *Annals of Nutrition and Metabolism*, vol. 27 p. 296–305.

KAPPEL, L. C., R. H. INGRAHAM, E. B. MORGAN, J. M. DIXON, L. ZERINGUE, D. WILSON, and D. K. BABCOCK. 1984. Selenium concentrations in feeds and effects of treating pregnant Holstein cows with selenium and vitamin E on blood selenium values and reproductive performance. *American Journal of Veterinary Research*, vol. 45, p. 691–694.

KHAN M. Z., SZAREK J. and MARKIEWICZ K. 1993. Concurrent oral administration of monensin and selenium to broiler chickens: effects on concentration of different elements in the liver. *Acta Vet Hung*, vol. 41, p. 365–379.

KOTYZOVÁ, Dana, Pavla ČERNÁ, Ladislav LEŠETICKÝ a Vladislav EYBL. 2010. Trace Elements Status in Selenium-Deficient Rats—Interaction with Cadmium. *Biological Trace Element Research*, vol. 136, issue 3, p. 287-293. DOI: 10.1007/s12011-009-8541-4.

KUBOTA, J., and W. H. ALLAWAY. 1972. Geographic Distribution of Trace Element Problems. In *Micronutrients in Agriculture*. J.J. Mortvedt, P.M. Giordano, and W.L. Lindsay ed. Soil Science Society of America, Inc. Madison, WI. p. 525-554.

KURSA, Jaroslav, Ivan HERZIG, Jan TRÁVNÍČEK, Josef ILLEK, Vlasta KROUPOVÁ a Šárka FUKSOVÁ. 2010. Iodine and Selenium Contents in Skeletal Muscles of Red Deer (*Cervus elaphus*), Roe Deer (*Capreolus capreolus*) and Wild Boar (*Sus scrofa*) in the Czech Republic. *Acta Veterinaria Brno*, vol. 79, issue 3, p. 403-407. DOI: 10.2754/avb201079030403.

KVICALA, J., V. ZAMRAZIL, J. NEMECEK a J. JIRANEK. 2008. Selenium status of South Bohemia seniors characterized by INAA of blood serum. *Journal of Radioanalytical and Nuclear Chemistry*, vol. 278, issue 3, p. 537-541. DOI: 10.1007/s10967-008-1001-3.

LAZARUS, Maja, Tatjana ORCT, Jasna JURASOVIÆ and Maja BLANUŠA. 2009. The effect of dietary selenium supplementation on cadmium absorption and retention in suckling rats. *BioMetals*, vol. 22, issue 6, p. 973-983. DOI: 10.1007/s10534-009-9249-9.

LONGCHAMP, M., ANGELI, N. and CASTREC-ROUELLE, M. 2013. Selenium uptake in *Zea mays* supplied with selenate or selenite under hydroponic conditions. - *Plant Soil* 362: 107-117.

LUDVÍKOVÁ, E., L. PAVLATA, M. VYSKOČIL a P. JAHN. 2005. Selenium Status of Horses in the Czech Republic. *Acta Veterinaria Brno*, vol. 74, issue 3, p. 369-375. DOI: 10.2754/avb200574030369.

MIHAILOVIĆ, Momčilo, Gliša MATIĆ, Paul LINDBERG and Bogdan ŽIGIĆ. 1992. Accidental selenium poisoning of growing pigs. *Biological Trace Element Research*, vol. 33, issue 1-3, p. 63-69. DOI: 10.1007/BF02783993.

MONEDERO-PRIETO, María José, José María GONZÁLEZ-PÉREZ, Emilio GONZÁLEZ-REIMERS, Onán HERNÁNDEZ-PÉREZ, María MONEREO-MUÑOZ, Luis GALINDO-MARTÍN, Geraldine QUINTERO-PLATT and Pedro ABREU-GONZÁLEZ. 2014. Effects of Selenium on Liver and Muscle Contents and Urinary Excretion of Zinc, Copper, Iron and Manganese. *Biological Trace Element Research*, vol. 158, issue 2, p. 224-229. DOI: 10.1007/s12011-014-9928-4.

MÜLLER R., M. ANKE and K. FROBUS. 2003. *Fresenius Environmental Bulletin*, vol. 12, issue 6, p. 584–588.

NATIONAL REASERCH COUNCIL. 2005. Mineral tolerance of animals. 2nd rev. ed. Washington, D.C.: National Academies Press, xiv, 496 p. ISBN 0-309-55027-0.

OLDFIELD, J. E. 2003. Some recollections of early swine research with selenium and vitamin E. *American Society of Animal Science*, vol. 81, p. 145-148.

O'TOOLE, D. and M. F. RAISBECK. 1995. Pathology of experimentally induced chronic. *Journal of Veterinary Diagnostic Investigation*, vol. 7, p. 364-373.

PAŘÍZEK, J., J. KALOUSKOVÁ, J. BENEŠ, a L. PAVLÍK. 1980. Interactions of selenium-mercury and selenium-selenium compounds. *Annals of the New York Academy of Sciences*, vol. 355, p. 347–360.

PAVLATA, L., J. ILLEK, A. PECHOVÁ a M. MATĚJÍČEK. 2002. Selenium Status of Cattle in the Czech Republic. *Acta Veterinaria Brno*, vol. 71, issue 1, p. 3-8. DOI: 10.2754/avb200271010003.

PETER, D.W. and N.D. COSTA. 1992. Selenium in animal production in Australia. *Proceedings of the Nutrition Society of Australia*, vol. 17, p. 99-108.

PETER, D. W., WHANGER, P. D., LINDSAY, J. P. and BUSCALL, D. J. 1982. Excretion of selenium, zinc, and copper by sheep receiving continuous intraruminal infusions of selenite or selenomethionine. *Proceedings of the Nutrition Society of Australia*, vol 7, p. 178-186.

PULS, R. 1994. *Mineral Levels in Animal Health, Second Edition: Diagnostic Data*. Clearbrook, British Columbia, Canada: Sherpa International. p. 93–109.

RAISBECK, M. F. 2000. Selenosis. *Veterinary Clinics: Food Animal Practice*, vol. 16, p. 465–480.

RISHER, J., A.R. MCDONALD, M.J. CITRA, S. BOSCH and R.J AMATA. 2003. Agency for toxic substances and disease registry. Toxicological profile for selenium. Atlanta. Dostupné z: <http://www.atsdr.cdc.gov/ToxProfiles/tp92.pdf>

RUPRICH J. a ŘEHŮŘKOVÁ I. 2003. Dietární expozice selenu v České republice. SZÚ. Dostupné z: [www.chpr.szu.cz/chemtox/chem/selen/selen.htm](http://www.chpr.szu.cz/chemtox/chem/selen/selen.htm)

SAGER, M. 2006. Selenium in agriculture, food, and nutrition. *Pure and Applied Chemistry*, vol. 78, issue 1, p. 111-133. DOI: 10.1351/pac200678010111.

SASAKURA, Chieka and Kazuo T. SUZUKI. 1998. Biological interaction between transition metals (Ag, Cd and Hg), selenide/sulfide and selenoprotein P. *Journal of Inorganic Biochemistry*, vol. 71, p. 3-4. 159-162. DOI: 10.1016/S0162-0134(98)10048-X.

SCHRAUZER G.N. 1984. : Selenium in nutritional cancer prophylaxis: An update. *Vitamins, nutrition, and cancer*. Prasad AS, Ed. Karger Pub. Basel, p. 240-250.

SMITH, T.K., BRAY, T.M. 1992. Effect of dietary cysteine supplements on canola-meal toxicity and altered hepatic glutathione metabolism in the rat. *Journal of Animal Science*, vol. 70, p. 2510-2515.

SMULIKOWSKA, S., PASTUSZEWSKA, B., OCHTABINSKA, A., MIECZKOWSKA, A. 1998. Composition and nutritional value for chickens and rats of seeds, cake and solvent meal from low-glucosinolate yellow-seeded spring rape and dark-seeded winter rape. *Animal Feed Science and Technology*, vol. 7, p. 415-428.

SCHWARZ, K. and FOLTZ, C.M., 1957. Selenium as an integral part of factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *Journal of the American Chemical Society*, vol. 79, p. 3292-3293.

STŘÍTECKÁ, Hana, Pavol HLUBIK a Jitka NOVÁKOVÁ. 2009. Serum selenium status in a group of 386 volunteers from the Czech Republic Rescue Fire Brigades. *Mediterranean Journal of Nutrition and Metabolism*, vol. 2, issue 2, p. 133-138. DOI: 10.1007/s12349-009-0049-0.

SUNDE, R. A. 2001. Selenium, In: Bowman, B. A. – Russel, R. M.: *Present Knowledge in nutrition*, 9th edition, Washington DC: ILSI Press, p. 352-364.

SVENSSON, B.-G., A. SCHÜTZ, A. NILSSON, I. ÅKESSON, B. ÅKESSON and S. SKERFVING. 1992. Fish as a source of exposure to mercury and selenium. *Science of The Total Environment*, vol. 126, 1-2, p. 61-74. DOI: 10.1016/0048-9697(92)90484-A.

TINGGI, Ujang. 2003. Essentiality and toxicity of selenium and its status in Australia: a review. *Toxicology Letters*, vol. 137, p. 1-2, 103-110. DOI: 10.1016/S0378-4274(02)00384-3.

TOBIASZ, A., S. WALAS, M. FILEK, H. MROWIEC, K. SAMSEL, A. SIEPRAWKA and H. HARTIKAINEN. 2014. Effect of selenium on distribution of macro- and micro-elements to different tissues during wheat ontogeny. *Biologia Plantarum*, vol. 58, issue 2, p. 370-374. DOI: 10.1007/s10535-014-0407-8.

TOMZA-MARCINIAK, Agnieszka, Bogumiła PILARCZYK, Małgorzata BAŃKOWSKA, Renata PILARCZYK, Jerzy WÓJCIK, Andrzej MARCINIAK and Diana HENDZEL. 2011. Relationship Between Selenium and Selected Heavy Metals Concentration in Serum of Cattle from a Non-Polluted Area. *Biological Trace Element Research*, vol. 144, p. 1-3. 517-524. DOI: 10.1007/s12011-011-9075-0.

ULLREY, P.S., W.T. BRADY, WHETTER, KU and MAGEE. 1977. Selenium supplementation of diets for sheep and beef cattle. *Journal of Animal Science*, vol. 45, issue 3, p. 559-565.

VERNIE, L. N., H. B. GINJARR, I. T. WILDERS, and W. S. BONT. 1978. Amino acid incorporation in a cell-free system derived from rat liver studied with the aid of selenodiglutathione. *Biochimica et Biophysica Acta*, vol. 518, issue 3, p.507–517.

WADGE A. and M. HUTTON. 1985. *Proceedings of International Conferences. Heavy Metals in the Environment*. Athens p. 562–563.



WASCHULEWSKY, R. A. and Roger A. SUNDE. 1988. Effect of dietary methionine on utilization of tissue selenium from dietary selenomethionine for glutathione peroxidase in the rat. *The Journal of nutrition*, vol. 118, p. 367-374.

WATANEBE, T. and A. ENDO. 1991. Effects of selenium deficiency on sperm morphology and spermatocyte chromosomes in mice, *Mutation Research*, vol. 262, p. 93-99.

WATTS, L. David. 1994. The Nutritional Relationships of Selenium. *Journal of Orthomolecular Medicine*, vol. 9.

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

WHO. 1987. Selenium, Geneva: World Health Organization, 306 p. Environmental Health Criteria. ISBN 92-415-4258-6.

WRIGHT and BELL. 1966. Comparative metabolism of selenium and tellurium in sheep and swine. *American journal of physiology*, vol. 211, p. 6-10.

YANG, G.Q., S.Z. WANG, R.H. ZHOU and S.Z. SUN. 1983. Endemic selenium intoxication of humans in China. *American journal of clinical nutrition*, vol. 37, p. 872-881.

YANG, G. Q., K. Y. GE, J. S. CHEN and X. S. CHEN. 1988. Selenium-related endemic diseases and the daily selenium requirement of humans. *World review of nutrition and dietetics*, vol. 55, p. 98-152.

YANG, G., R. YIN, L. ZHOU, B. GU, Y. YAN and LIU. 1989. Studies of safe maximal daily dietary Se-intake in a seleniferous area in China: Part 11: Relation between Se-intake and the manifestation of clinical signs and certain biochemical alterations in blood and urine. *Journal of trace elements and electrolytes in health and disease*, vol. 3, p. 123 - 130.

## 6.2 Seznam použitých internetových zdrojů

Dimethylselenide. Sigma-Aldrich [online]. 2015 [cit. 2015-03-31]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/41572?lang=en&region=CZ>

Selen. 2014. Periodická tabulka [online]. [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://www.prvky.com/34.html>

Selenium. 2007. Chemistry explained: Foundations and Applications [online]. [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://www.chemistryexplained.com/elements/P-T/Selenium.html>

Selenium. 2012. Chemicool: Cooler than absolute zero [online]. [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://www.chemicool.com/elements/selenium.html>

Selenium. 2015. LENNTECH. Lenntech: Water Treatment Solutions [online]. [cit. 2015-03-11]. Dostupné z: <http://www.lenntech.com/periodic/elements/se.htm>

Selenocystathionine. Chemspider: Search and share chemistry [online]. 2015 [cit. 2015-03-31]. Dostupné z: <http://www.chemspider.com/Chemical-Structure.24774947.html?rid=c0222310-fa53-4609-82a4-9d73ab8f1f20>

Selenocysteina. Wikipedia: the free encyklopedia [online]. 2015 [cit. 2015-03-31]. Dostupné z: <https://pl.wikipedia.org/wiki/Selenocysteina>

Selenomethionin. Wikipedia: the free encyklopedia [online]. 2014 [cit. 2015-03-31]. Dostupné z: <https://de.wikipedia.org/wiki/Selenomethionin>

Sodium selenate. Wikipedia: the free encyclopedia [online]. 2009 [cit. 2015-03-31]. Dostupné z: [https://en.wikipedia.org/wiki/Sodium\\_selenate](https://en.wikipedia.org/wiki/Sodium_selenate)

Sodium selenite. Sigma-Aldrich [online]. 2015 [cit. 2015-03-31]. Dostupné z: <http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/sigma/s5779?lang=en&region=CZ>

Trimethylselenonium. CHEBI: Chemical Entities of Biological Interest [online]. 2014 [cit. 2015-03-31]. Dostupné z: <http://www.ebi.ac.uk/chebi/chebiOntology.do;jsessionid=3163FBF02E873A8EFD7C973020CF163B?chebiId=77058>