

Česká zemědělská univerzita v Praze
Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů
Katedra mikrobiologie, výživy a dietetiky



**Česká zemědělská
univerzita v Praze**

**Vliv organických forem selenu na inhibici produkce
zánětlivých markerů**

Diplomová práce

Bc. Matyáš Krtička

Výživa a potraviny

Ing. Ivo Doskočil, Ph.D.

© 2024 ČZU v Praze

Čestné prohlášení

Prohlašuji, že svou diplomovou práci "Vliv organických forem selenu na inhibici produkce zánětlivých markerů" 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 19.4.2024

Poděkování

Rád bych touto cestou vyjádřil vděk panu Ing. Ivo Doskočilovi, Ph.D., za jeho cenné rady, trpělivost během konzultací mé diplomové práce, odborné vedení práce a čas, který mi věnoval při psaní práce.

Vliv organických forem selenu na inhibici produkce zánětlivých markerů

Souhrn

Selen patří mezi esenciální minerální nezbytné pro zdraví. Jeho význam spočívá v účasti celé řady biologických pochodů v buňce, kde je většinou součástí selenoproteinů. Tyto selenoproteiny mají mimo jiné antioxidační efekt jako například glutathionperoxidáza, která funguje jako endogenní antioxidant zhašující reaktivní formy kyslíku. Další významné organické formy jsou selenocystein (SeCys) a selenomethylcystein (SeMetCys), které mají antioxidační a protizánětlivou aktivitu. Tyto sloučeniny mohou hrát významnou úlohu při zánětlivém onemocnění střev a přispívá tak k prevenci tohoto onemocnění.

Cílem této práce bylo stanovit vliv organických forem selenu na schopnost inhibovat produkci oxidu dusnatého (NO) jako jednoho z markerů vznikajícího zánětu.

V rámci práce byly testovány SeCys a SeMetCys, které prošli *in vitro* statickým modelem trávení INFOGEST 2.0. V rámci trávení došlo k postupnému orálnímu, gastrickému a intestinálnímu fázi trávení. Následně byla trávenina filtrována a uskladněna při -80°C do dalšího testování na buněčném modelu. Ten byl vytvořen z buněčné linie myších makrofágů RAW264.7, kdy došlo k 2h pre-inkubaci samotných buněk v mikrotitrační destičce a následně k nim byly přidány vzorky tráveniny v koncentraci 10 – 0,31 % tráveniny, současně s 1 $\mu\text{g/ml}$ lipopolysacharidu (LPS), který buňky stimuluje k produkci NO. Po 24h inkubaci bylo odebráno 50 μl supernatantu a v nové destičce smícháno s 50 μl Griesova činidla. Výsledný produkt byl měřen na modulárním readru Tecan SPARK při 540 nm. Výsledek byl vyjádřen jako % produkce NO a statisticky zpracován v programu Graphpad Prism.

Bylo zjištěno, že námi testované organické formy snižují produkci NO v buněčném modelu v porovnání s kontrolou stimulovanou pouze pomocí LPS a to u obou testovaných vzorků o více jak 30 % ($p < 0,0001$), v porovnání se seleničitanem je to snížení více jak o 5 % více, při koncentraci 10 % tráveniny. Dále bylo zjištěno, že SeMetCys od koncentrace 2,5 % tráveniny naopak výrazně zvyšuje produkci NO i o více jak 35 % oproti kontrole a ostatním vzorkům ($p < 0,0001$).

Z námi dosažených výsledků je patrné, že při nižších dávkách SeMetCys má negativní vliv na inhibici NO a může tak přispívat ke vzniku zánětu.

Klíčová slova: Cytokiny; oxid dusnatý; SeCys; MetSeCys; RAW264.7.

Effect of organic forms of selenium on inhibition of inflammatory marker production

Summary

Selenium is among the essential micronutrient necessary for health. Its significance lies in its involvement in various biological processes within the cell, where it is predominantly a component of selenoproteins. These selenoproteins have antioxidant effects, such as glutathione peroxidase, which acts as an endogenous antioxidant scavenging reactive oxygen species. Other significant organic forms include selenocysteine (SeCys) and selenomethylcysteine (SeMetCys), which possess antioxidant and anti-inflammatory activities. These compounds may play a significant role in preventing inflammatory bowel disease.

The aim of this study was to determine the impact of organic forms of selenium on the ability to inhibit the production of nitric oxide (NO), one of the markers of inflammation.

SeCys and SeMetCys were tested using the in vitro static digestion model INFOGEST 2.0. The digestion process simulated oral, gastric, and intestinal phases. Subsequently, the digests were filtered and stored at -80°C for further testing using a cellular model. The model was created using the mouse macrophage cell line RAW264.7, where cells were pre-incubated for 2 hours in a microtiter plate, followed by the addition of digests at concentrations ranging from 10% to 0.31%, along with $1\ \mu\text{g/ml}$ lipopolysaccharide (LPS) to stimulate NO production. After 24 hours of incubation, $50\ \mu\text{l}$ of supernatant was collected and mixed with $50\ \mu\text{l}$ of Griess reagent in a new plate. The resulting product was measured using a Tecan SPARK modular reader at 540 nm. The results were expressed as % NO production and statistically analyzed using GraphPad Prism.

It was found that the tested organic forms reduced NO production in the cellular model compared to the control stimulated only with LPS, with both tested samples showing a reduction of more than 30% ($p < 0.0001$). Compared to selenite, this reduction was more than 5% greater at a concentration of 10% digest. Furthermore, it was observed that SeMetCys significantly increased NO production from a concentration of 2.5% digest by more than 35% compared to the control and other samples ($p < 0.0001$).

From our results, it is evident that lower doses of SeMetCys have a negative impact on NO inhibition and may contribute to the development of inflammation.

Keywords: Cytokines; nitric oxide; SeCys; SeMetCys; RAW264.7.

Obsah

1	Úvod	7
2	Vědecká hypotéza a cíle práce	8
3	Literární řešerše.....	9
3.1	Gastrointestinální trakt a příjem selenu	9
3.1.1	Příjem a zdroje selenu	11
3.1.2	Absorpce selenu	12
3.1.3	Metabolismus selenu	14
3.1.4	Biosyntéza selenoproteinů.....	16
3.2	Selen v lidském organismu	17
3.2.1	Toxicita selenu a nadbytek selenu	18
3.2.2	Selenová deficiencie	19
3.3	Imunitní funkce selenu	25
4	Metodika.....	27
4.1	Materiál.....	27
4.1.1	<i>In vitro</i> trávení INFOGEST.....	27
4.1.2	Kultivace buněčné linie RAW264.7.....	29
4.1.3	Příprava mikrotitrační destičky	29
4.1.4	Stanovení produkce oxidu dusnatého (NO) Griessovou reakcí	29
4.1.5	Statistické vyhodnocení.....	29
5	Výsledky	30
6	Diskuze.....	32
7	Závěr	35
8	Literatura	36
9	Seznam použitých zkratk a symbolů.....	45

1 Úvod

Selen je esenciálním stopovým prvkem, který má v těle zásadní roli v mnoha biologických procesech, včetně ochrany proti oxidačnímu stresu a regulace imunitního systému. Selen hraje klíčovou roli v metabolismu člověka. Podílí se například na syntéze hormonů štítné žlázy T3 a T4 a je rovněž zapojen do správné činnosti významných enzymů jako například glutathionperoxidáza. Deficience tohoto prvku pak vede k vývoji malignit ať už v prenatálním období v období raného vývoje organismu anebo rozvoji chorob souvisejících s nedostatkem selenu a jódu v průběhu života. Aktuálně se výzkumu selenu samotného, selenoproteinů, selenových aminokyselin a metabolických drah, kterých se selen účastní, věnuje velká pozornost. To je způsobeno jednak rizikem deficience tohoto mikronutrientu, ale zároveň se předpokládá zdravotní benefit určitých forem selenu při prevenci některých chorob nebo zmírnění jejich dopadu či jejich léčbě.

K nejvýznamnějším zdrojům selenu ve výživě lidí patří maso, vejce, obiloviny, ořechy a ryby. Záleží však na formě selenu ve které organismus mikroprvek přijímá. Je známo, že organické formy selenu jsou pro lidský organismus mnohem lépe stravitelné než anorganické formy a například selenomethionin, methylselenocystein jsou významnými zdroji tohoto prvku a předpokládá se jejich potenciální zdravotní benefit. Nedávný výzkum ukazuje, že tyto organické formy selenu mohou mít také inhibiční účinky na produkci zánětlivých markerů, včetně oxidu dusnatého, který je klíčovým signálem v procesu zánětu. Porozumění této inhibiční schopnosti může mít důležité důsledky pro prevenci a léčbu zánětlivých onemocnění. Tato diplomová práce se zaměřuje na zkoumání vlivu organických forem selenu na inhibici produkce zánětlivých markerů s důrazem na oxid dusnatý a na identifikaci mechanismů, které stojí za tímto účinkem.

2 Vědecká hypotéza a cíle práce

Hypotéza: Organické formy selenu mají zdravotní benefit při zánětlivých onemocněních, kdy dokáží stimulovat makrofágy a inhibovat produkci zánětlivých markerů jako je oxid dusnatý.

Cílem práce je na myších makrofázích otestovat schopnost organických forem selenu inhibovat produkci oxidu dusnatého.

Organické formy selenu, budou stráveny pomocí statického modelu trávení INFOGEST. Následně bude trávenina přidání na makrofágy buněčné linie RAW264.7, které budou stimulovány pomocí lipopolysacharidu. Po společné kultivaci bude odebrán supernatant, ze kterého bude stanovena koncentrace oxidu dusnatého.

3 Literární rešerše

3.1 Gastrointestinální trakt a příjem selenu

Funkce trávicího traktu spočívá v procesu trávení, absorpci potravy a následném vylučování odpadních produktů. Dutina ústní plní čtyři hlavní funkce: začíná senzoryckou analýzou potravního materiálu před polykáním a následuje mechanickým zpracováním prostřednictvím pohybu zubů, jazyka a patrových ploch (Ogobuiro et al. 2022). Poskytuje rovněž zvlhčení smícháním potravního materiálu s mucinem a výměšky slinných žláz a při tomto procesu též dochází k omezenému trávení sacharidů a lipidů (Kittnar, 2020). Sliznice dutiny ústní je vybavena jak keratinizovanými (na horní ploše jazyka a tvrdém patře), tak nekeratinizovanými plochými epitelovými buňkami (na tvářích, rtech a spodní ploše jazyka), z nichž žádné nejsou známy svou účastí na absorpci, s výjimkou sliznice pod jazykem (Mínekus et al. 2014).

Primární funkcí jazyka je mechanické zpracování potravy stlačením, otíráním a deformací. Manipuluje s potravou pro usnadnění žvýkání a připravuje materiál k polykání. Dalšími funkcemi jsou senzorycká analýza dotykem, teplotou a chuťovými receptory a sekrece mucinů a jazykové lipázy. Jazyková lipáza má široký rozsah pH a rozkládá lipidy (převážně triglyceridy) (Ogobuiro et al. 2022). Rozsah pH 3,5 až 6 umožňuje jazykové lipáze pracovat i v kyselém prostředí žaludku (Mínekus et al. 2014). Zuby zajišťují mechanický rozklad potravního materiálu, například pojivových tkání masa a rostlinných vláken (Mínekus et al. 2014).

V dutině ústní se nachází tři páry slinných žláz. Mezi první pár patří parotidní slinné žlázy umístěné pod obloukem lícím a posterolaterálně k mandibule. Parotidní žlázy produkují sérové výměšky obsahující velké množství slinné amylázy, která rozkládá sacharidové komplexy. Následují podjazykové slinné žlázy umístěné na dně ústní dutiny, které produkují mukózní výměšek sloužící jako lubrikant (Ogobuiro et al. 2022). Třetí jsou podčelistní slinné žlázy, lokalizované na dně ústní dutiny v mandibulárním žlábků. Jejich funkce spočívá v sekreci směsi glykoproteinů známých jako muciny a rovněž produkují slinné amylázy. Celkem tyto žlázy produkují 1,0 až 1,5 l slin denně. Téměř 99,4 % slin tvoří voda a zbývajících 0,6 % se skládá z elektrolytů, glykoproteinů (mucinů), protilátek, enzymů a odpadních produktů (Silbernagl et al., 2016). Sliny slouží primárně pro zvlhčení sliznice dutiny ústní, sekundárně pak pro zvlhčení sousta pro snadné polykání.

Hltan slouží jako průchod potravního materiálu do jícnu. Během polykání dochází k uzavření nosohltanu a hrtanu, aby se udržel správný směr potravy a tento proces je kontrolován pomocí lebečních nervů IX a X (Ogobuiro et al. 2022). Z hltanu potravní materiál putuje do jícnu. Hlavní funkcí jícnu je transportovat potravní materiály do žaludku prostřednictvím peristaltiky jeho podélných a kruhových svalů. Horní třetina jícnu je převážně složena z kosterní svaloviny, střední část je kombinovaná z kosterní a hladké svaloviny a dolní třetina je tvořena převážně hladkou svalovinou. Kosterní svaly v hltanu a horním svalů jícnu jsou ovládnuty reflexem polykání (Kittnar, 2020).

Trávený materiál je přiveden do žaludku, kde může být dočasně skladován. Dochází k mechanickému mělnění stěnou žaludku a chymus je chemicky rozkládán působením žaludečních kyselin a enzymů. Žaludek má tři svalové vrstvy: vnitřní šikmou vrstvou, střední

kruhovou vrstvu a vnější podélnou vrstvu (Ogobuiro et al. 2022). Kontrakce a relaxace těchto tří svalových vrstev žaludku pomáhají při míchání. Chemický rozklad potravního materiálu v žaludku je zprostředkován žaludečními žlázami, vytvářenými především parietálními buňkami, hlavními buňkami, G-buňkami, foveolárními buňkami a buňkami krční sliznice (Li et al. 2020a).

Parietální buňky vylučují vnitřní faktor a kyselinu chlorovodíkovou. Vnitřní faktor je nezbytný pro absorpci vitamínu B12 v ileu tenkého střeva. Kyselina chlorovodíková, produkována parietálními buňkami, udržuje pH žaludku mezi 1,5 a 2,0 (Minekus et al. 2014). Kyselé prostředí žaludku ničí většinu mikroorganismů požitých s potravou, denaturuje bílkoviny, rozkládá buněčné stěny rostlin a je nezbytné pro aktivaci a funkci pepsinu, proteinového enzymu vylučovaného hlavními buňkami, které produkují zymogen zvaný pepsinogen, který se aktivuje při pH mezi 1,5 a 2 na Pepsin (Li et al. 2020a). Foveolární buňky produkují hlen, který chrání žaludeční epitel před poškozením kyselinou. G-buňky jsou bohaté v pylorické části žaludku a produkují gastrin, který stimuluje sekrece parietálních a hlavních buněk. Buňky D ve žlázách pyloru žaludku produkují somatostatin, který inhibuje uvolňování gastrinu (Cheng et al. 2010).

Chymus je směřován do tenkého střeva, kde probíhá vstřebávání. Na rozdíl od žaludku, který má minimální absorpční vlastnosti, se 90 % absorpce potravy odehrává v tenkém střevě. To má tři segmenty: duodenum, jejunum a ileum (Minekus et al. 2014). Do dvanáctníku přichází chymus ze žaludku a trávicí látku z pankreatu a jater. Jejunum je místem, kde převažuje chemické trávení a absorpce. Ileum má také absorpční funkce a je posledním segmentem tenkého střeva obsahujícím ileocekální ventil, sfinkter, který reguluje tok materiálu z ilea do slepého střeva. Mukóza tenkého střeva obsahuje klky a každý klk má několik mikroklků, které zvyšují povrchovou absorpční plochu. Rozsáhlé síť kapilár v klcích přenášejí absorbované živiny do portální cirkulace. Lymfatické kapiláry nazývané laktely pomáhají při přepravě chylomikronů do žilní cirkulace. Díky mikroklkům lze zvětšit celkový povrch až 25krát, což výrazně usnadňuje absorpci látek. Mikroklky v trávicí soustavě tvoří tzv. kartáčový lem. (Ogobuiro et al. 2022).

Střevo obsahuje jak endokrinní, tak exokrinní žlázy produkující hormony, enzymy a alkalický hlenitý mukus. Enzymy produkovávané tenkým střevem zahrnují lipázu pro trávení tuků, peptidázu pro rozklad peptidů a sukrázu, maltázu a laktázu pro rozklad sacharózy, maltózy a laktózy. Brunnerovy žlázy, především se nacházející ve dvanáctníku, produkují bikarbonát pro neutralizaci kyseliny (Silbernagl et al., 2016).

Ve dvanáctníku se nachází ústí přídatných orgánů, jako jsou játra a slinivka břišní, které uvolňují trávicí sekrety. Játra jsou největším vnitřním orgánem a žlázou v lidském těle. Játra produkují žluč, která emulguje tuky a různé lipidy pro optimální trávení. Žluč vyprodukovaná v játrech je skladována ve žlučníku. Žlučník se stahuje, aby uvolnil žluč do dvanáctníku (Kittnar, 2020).

Exokrinní žlázy slinivky břišní produkují několik prekurzorů enzymů, včetně trypsinogenu, chymotrypsinogenu a prokarboxypeptidázy, které jsou aktivovány enteropeptidasou v tenkém střevě. Dalšími enzymy, které se účastní trávení jsou aktivní alfa-amyláza lipázy a kolipázy, které působí na triglyceridy a fosfolipidy, ribonukleáza, elastáza a kolagenáza (Minekus et al. 2014).

Neabsorbovaný a nerozložený potravní materiál postupuje dále do tlustého střeva. V tomto okamžiku se již nazývá stolice. Tlusté střevo má délku přibližně 1,5 m a zahrnuje slepé střevo, vzestupné střevo, příčné střevo, sestupné střevo a sigmoideální střevo. V tlustém střevě se absorbují voda a elektrolyty (Kittnar, 2020). V tlustém střevě je rovněž velké množství mikroorganismů, které souhrnně nazýváme mikrobiom, díky kterému se dále rozkládají některé jinak pro člověka nestravitelné látky a vstřebává se zde vitamín K. Peristaltický pohyb tlustého střeva přenáší stolici do konečníku. V konečníku, po podráždění sensorických buněk, dochází k procesu defekace, který zahrnuje reflexivní uvolnění hladkého svalstva vnitřního svěrače a vědomé uvolnění svalstva kosterního svěrače (Ogobuiro et al. 2022).

3.1.1 Příjem a zdroje selenu

Selen je získáván z rostlinných a živočišných produktů v organické formě, která je pro lidský metabolismus vhodná (Whanger et al. 1996). Člověk přijímá selen hlavně alimentární cestou. Méně významným zdrojem selenu je voda a vstup selenu do organismu může probíhat i prostřednictvím respiračních cest, s odhadovaným denním příjmem v městském prostředí kolem 1-2 μg (Whanger et al. 1996). V České republice je kvůli nízkým koncentracím selenu v půdě (0,07 - 0,12 $\text{mg}\cdot\text{kg}^{-1}$) příjem tohoto prvku značně omezen (Kvičala et al. 1995). Běžný denní příjem selenu v Evropě se také pohybuje ve spodních hodnotách, 25-50 μg a následně je nutné v populaci prvek doplňovat do potravin (Finley, 2005). Podle standardů Světové zdravotnické organizace (WHO) je doporučená denní dávka selenu pro dospělého člověka 55 $\mu\text{g}/\text{den}$, maximálně tolerovatelný denní příjem bez vedlejších účinků byl stanoven na 400 μg (Reyman, 2020).

Anorganické sloučeniny mají nízkou biologickou hodnotu a mohou se dostat do potravin jako kontaminanty. Potravin s vysokým obsahem bílkovin, jako vejce, játra a ledviny, jsou vhodným zdrojem selenu. Vnitřnosti a mořské produkty obsahují 0,4-1,5 mg/kg , maso 0,1-0,4 mg/kg , cereálie 0,1-0,8 mg/kg (Amouroux et al. 2021). Mořské plody a ryby s vysokým obsahem selenu, mají nižší využitelnost kvůli reakci s těžkými kovy. V České republice jsou hlavními zdroji selenu vejce, mléko, pečivo, luštěniny, vepřové a drůbeží maso, kdy při výkrmu zvířat je využíváno zkrmování potrawy s vyšším obsahem selenu a maso je tak obohaceno (Batáariová et al., 2005). Zdroje selenu živočišného původu zahrnují mořské ryby, játra a vejce. Rostlinné zdroje, jako luštěniny, ořechy a celozrnné pečivo, jsou bohatým zdrojem selenu (Reyman, 2020). Nejnižší příjem selenu je u starší populace, kde i přes nárůst obsahu selenu v potravinách nedosahuje doporučeného denního příjmu 0,5 μg na kg tělesné hmotnosti. Nejvyšší expozice je odhadována u dětí ve věku 4-6 let. I přes mírný nárůst obsahu selenu stále existuje nedostatečné množství tohoto prvku v stravě (W. Hu et al. 2021).

Selen se v posledních letech používá k vývoji funkčních potravin buď zvýšením koncentrace selenu v půdě a tím i v potravinových produktech (biofortifikace) nebo jako přísada k obohacení komerčních potravinářských výrobků (Combs, 2001). Využitím těchto dvou strategií byly vyvinuty různé potraviny obohacené selenem, jako je čaj (Xu et al., 2003), selenem obohacená kuchyňská sůl, jogurt a selenem obohacené dětské mléčné výživy (Dilip Pophaly et al., 2014). Kvasinky mají pozoruhodnou schopnost transformovat a integrovat anorganický selen do svých buněčných struktur, čímž zvyšují jeho biologickou dostupnost a snižují toxicitu. V posledních letech se kvasinky staly předmětem zájmu jako potenciální

alternativní zdroje bílkovin. Stresové podmínky hrají důležitou roli při ovlivňování množství a velikosti nanokrystalů selenu (SeNPs), které vyprodukovaly testované kvasinky. Syntéza SeMet byla omezena pouze u kvasinky *Pichia fermentas* CCDM 2012 a *S. boulardii* CCDM 2020, přičemž *S. cerevisiae* CCDM 272 vůbec neprodukovala SeMet. Během simulované střevní trávení došlo k největšímu uvolňování SeCys, SeMet a SeNPs ze selenizovaných kvasinek během střevní fáze (Hyrslava et al., 2024).

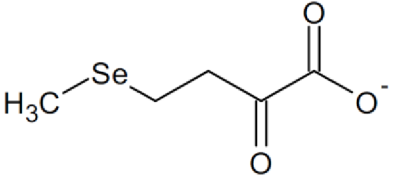
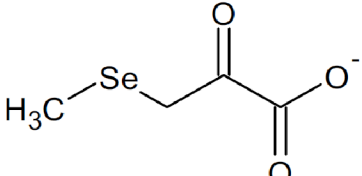
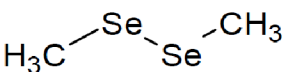
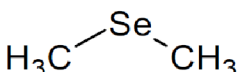
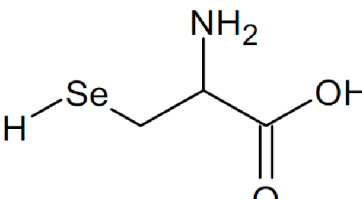
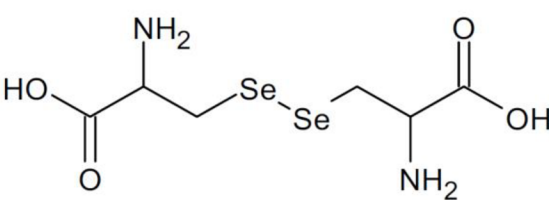
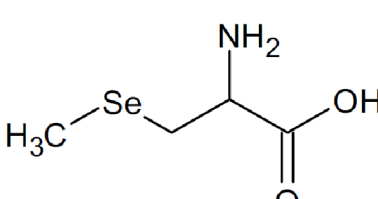
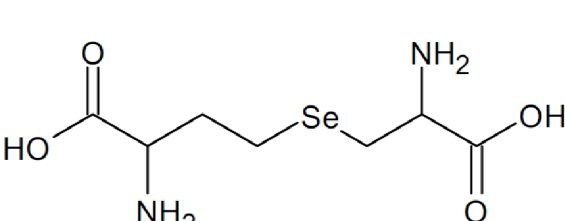
3.1.2 Absorpce selenu

Selen se v potravě objevuje v organické formě a převážně jako selenomethioninu (SeMet), což je esenciální aminokyselina, a produkt syntézy rostlin a živočišný selenocysteinu (SeCys). Anorganické formy selenu jsou vzácnější v potravě a mají absorpční účinnost přibližně 50 % (Davis et al. 1999). Absorpce SeMet probíhá prostřednictvím aktivního transportu, který využívá aktivní místa pro methionin a L-methionin absorbuje efektivněji než směs izomerů L, D-methioninu. SeCys je absorbován rovněž aktivním transportem společně se základními aminokyselinami. V trávicím ústrojí se absorbuje 95-100 % přijatého selenu, především v duodenu (Amouroux et al. 2021).

Se je přítomen ve všech živých organismech (lidech, zvířatech a rostlinách) jak v anorganických, tak organických sloučeninách. Mezi anorganické formy patří prvkový selenid (Se^{2-}), selenit (SeO_3^{2-}) a selenát (SeO_4^{2-}), zatímco hlavními organickými sloučeninami jsou SeMet, SeCys, SeMetCys, selenocystathionin a proteiny obsahující tyto aminokyseliny v Tabulce 1 jsou zobrazeny struktury nejběžnějších organických forem selenu vztažené k člověku.

Organické sloučeniny se ukládají v tkáních, zatímco anorganické formy jsou vyloučeny močí (Finley, 2005). Absorpce seleničitanu je zajištěna pasivní difúzí a je ovlivněna příjmem vysoké dávky vitamínu C (W. Hu et al. 2021). Na^+ /selenanový kotransport společně se sulfáty zajišťuje absorpci selenanu a jeho vstřebávání je účinnější než u seleničitanu. V červených krvinkách se následně přeměňuje do formy interagující s bílkoviny. Formy selenoproteinu P jsou transportovány a plasmatická koncentrace je ovlivněna stresovými hormony. Nejvyšší koncentraci selenu vykazují orgány jako štítná žláza, ledviny, játra a varlata (W. Hu et al. 2021). Převážně se selen vylučuje močí (50-80 %), stolicí (20-30 %) a dechem (asi 10 %) (Willhite et al. 1992).

Tabulka 1: Strukturní vzorce vybraných forem organického selenu.

Molekulární struktura	Název
	alfa-keto-gama-methylselenobutyrát
	beta-methylselenopyruvát
	dimethyldiselenid
	dimethylselenid
	selenocystein
	selenocystin
	methylselenocystein
	selenocystathionin

3.1.3 Metabolismus selenu

Přijímané formy selenu do lidského těla jsou nejprve přeměněny na selenid (Kvicala 2023). Organické formy selenu jsou pro lidské tělo snadněji vstřebatelné a rovněž vykazují mnohem menší toxicitu než anorganické formy (Ferenčík & Ebringer 2003). Výzkum seloenzymů nabral na obrátkách po roce 1973, kdy byl objeven první a to, glutaithionperoxidáza (GPx). Následovalo objevení dalších 18 selenoproteinů a posléze s vývojem nových metod bylo identifikováno dalších 30 selenoproteinů a výzkum funkčních skupin a interakcí pokračuje do dnes. Nejhojnější selenoproteiny v lidském těle jsou SeCys a SeMet. Selen, přijatý v nějaké formě prostřednictvím trávicího ústrojí, je fosforylován seloenzymem selenofosfátsyntetázou na monoselenofosfá (Genchi et al. 2023).

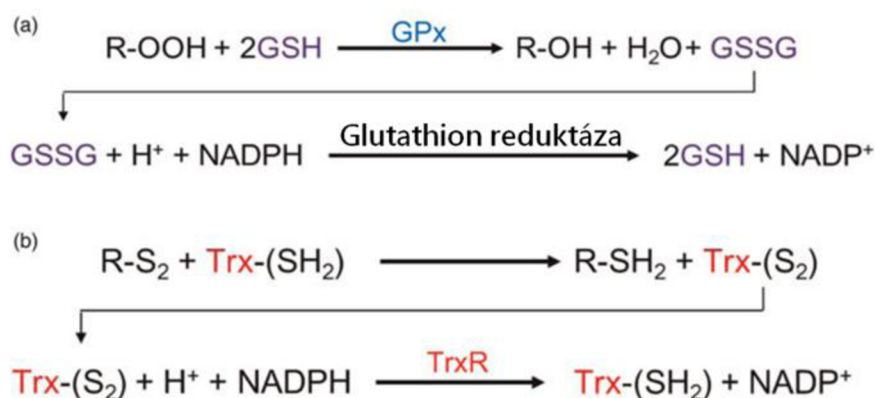
V těle savců existují dva významné kompartmenty a ty se odlišují ve schopnosti homeostatické regulace, přičemž SeCys kompartment je regulovatelný, zatímco SeMet není (Sunde et al. 2021). SeMet vstupuje do SeMet kompartmentu skrze stravu. Následně může být integrován do tělních proteinů nebo, pokud je SeMet v potravě nadbytek, dochází k jeho transformaci na SeCys prostřednictvím transsulfuračního mechanismu (Burk, 2015). Začlenění SeMet do proteinů na místo methioninu je relativně snadné, neboť enzymy savčího organismu katalyzující tuto reakci nerozlišují mezi methioninem a SeMet (Sunde et al. 2021). V SeCys kompartmentu probíhá klíčový metabolismus selenu. Vstupují zde anorganické sloučeniny selenu a SeCys, ať už z potravy nebo v důsledku přeměny SeMetu. Tyto sloučeniny jsou systematicky přetvářeny do kompartmentu selanu (selenovodíku, H_2Se) (Daniels 1996).

Anorganické sloučeniny jsou metabolizovány pomocí redukováného glutathionu (GSH) na selenodiglutathion (G-S-Se-S-G) a při nadbytku glutathionu se utváří nestabilní sloučenina (G-S-Se), která se rozkládá na H_2Se a glutathion. SeCys také podléhá degradaci na (H_2Se) prostřednictvím β -lyázy. Selan (H_2Se) představuje prekurzor poskytující selen v aktivní formě pro syntézu selenoproteinů, avšak může být také methylován S-adenosylmethioninem a eliminován z organismu (Sunde et al. 2021).

Během resorpce a metabolismu sloučenin selenu sehraje klíčovou roli redukováný glutathion (G-SH) a cystein. Anorganické sloučeniny selenu procházejí metabolickými transformacemi, vytvářející tzv. selenotrisulfidy R-S-Se-S-R (Whanger, 1998). Například reakce G-SH s seleničitanem vede k vzniku selenotrisulfidu známého jako selenodiglutathion (G-S-Se-S-G). Při nadbytku glutathionu vzniká nestabilní sloučenina G-S-SeH, která se rozkládá na selan (selenovodík, H_2Se) a glutathion (Minich, 2022).

GPx a TrxR jsou klíčové enzymy, které hrají rozhodující roli v ochraně buněk před reaktivními formami kyslíku (ROS) a udržování redoxní rovnováhy v buněčném prostředí (Whanger, 1998). GPx, neboli glutathion peroxidáza, katalyzuje chemickou redukci lipidových peroxidů a peroxidu vodíku (H_2O_2) na odpovídající alkoholy a vodu. Tento proces využívá koenzym glutathion (GSH), který se oxiduje na glutathion disulfid (GSSG) (Mattmiller et al. 2013). Následně glutathion reductáza obnovuje GSH zpět v přítomnosti NADPH. Na druhé straně, TrxR neboli thioredoxin reductáza, se podílí na redukci oxidovaných disulfidů proteinů a dalších volných radikálů na odpovídající thioly (Minich, 2022). Reakce je mediována oxidovaným thioredoxinem (Trx) a její katalýza vyžaduje přítomnost NADPH. Tyto enzymy společně představují klíčový obranný mechanismus buněk proti oxidativnímu stresu a jejich aktivita je nezbytná pro udržení buněčné integrity. Na Obrázku 1 jsou znázorněny obecné

mechanismy reakcí pro antioxidant glutathion peroxidáza (GPx) a thioredoxin reduktáza (TrxR) zahrnující zásadní kroky v neutralizaci reaktivních formy kyslíku (ROS) a udržování buněčné redoxní rovnováhy (Mattmiller et al. 2013).



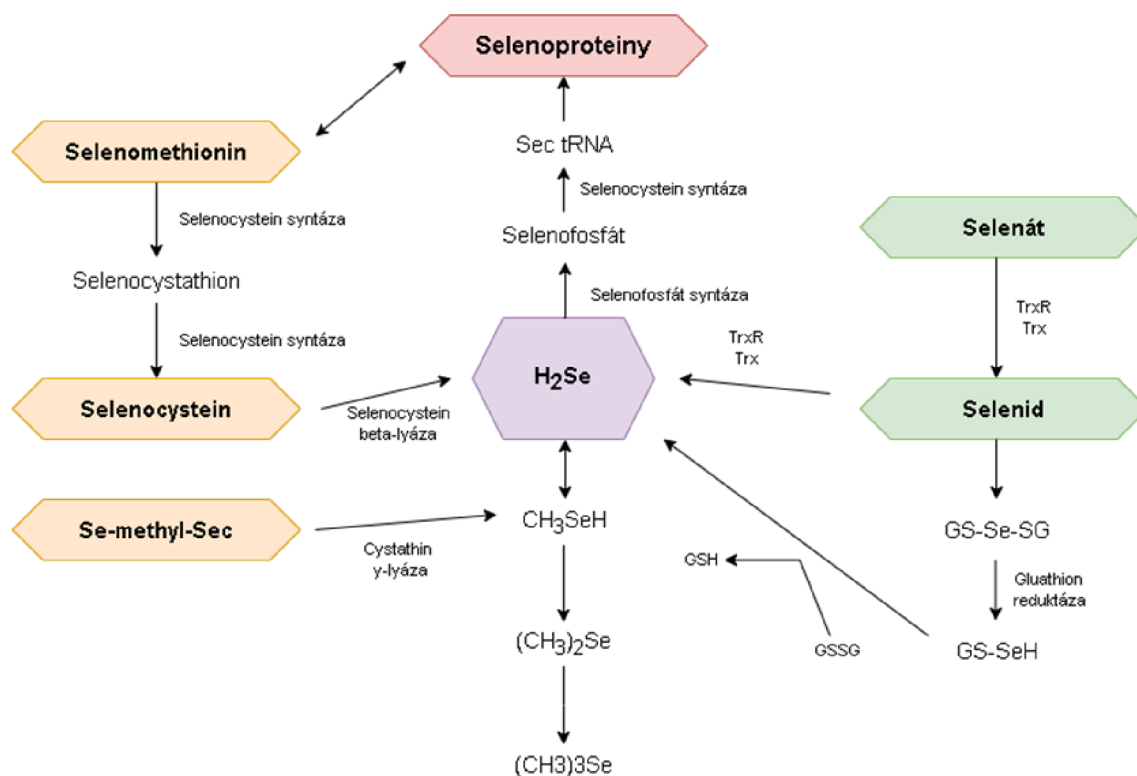
Obrázek 1: Obecné mechanismy reakcí pro antioxidant glutathionperoxidáza (GPx) a thioredoxinreduktáza (TrxR) zahrnují zásadní kroky v neutralizaci ROS a udržování buněčné redoxní rovnováhy (Mattmiller et al. 2013).

Selenoproteiny jsou přítomny jak v eukaryotických, tak v prokaryotických buňkách a proces syntézy SeCys a jeho začlenění do proteinů je v obou skupinách identický, tudíž SeCys přijatý potravou nebo vzniklý katabolickou cestou SeMet, nemůže být přímo využit k začlenění do proteinů a musí být syntetizován (Kang et al. 2020).

Pro tvorbu nového SeCys poskytuje uhlíkatý skelet serin, který je součástí ser-tRNA^{Sec} (Mattmiller et al. 2013). Selen získáváme z selenidového anionu (HSe^-), který je nejprve přeměněn na selenofosfát (HSePO_3^{-2}) katalyzovaný selenofosfát syntetázou s využitím ATP. Následně je -OH skupina serinu nahrazena -SeH skupinou ze selenofosfátu, což vytváří sec-tRNA^{Sec} (Kang et al. 2020). Tato tRNA rozpoznává kodon UGA ve struktuře mRNA, čímž umožňuje syntézu SeCys, který se následně stává klíčovou součástí důležitých selenoproteinů (Sunde et al. 2021). Selan může buď participovat na opětovné syntéze SeCys, nebo být methylován a vyloučen z organismu. Degradaci SeCys katalyzuje specifická SeCys lyáza, uvolňující elementární selen. Tento selen je následně neenzymaticky redukován na selan (H_2Se) prostřednictvím glutathionu nebo dalších thiolů. Forma a množství vylučovaného selenu je ovlivněny množstvím přijatého selenu a hladinou selenu v těle. Methylování za použití S-adenosylmethioninu vzniká methylselenol (CH_3SeH), dimethylselenid [$(\text{CH}_3)_2\text{Se}$] a trimethylselenoniový ion [$(\text{CH}_3)_3\text{Se}^+$]. Tyto reakce jsou katalyzovány methyltransferázou (Sunde et al. 2021). Například trimethylselenonium se vyskytuje v moči krys s deficitem selenu pouze v omezeném množství. U lidí je hlavní formou selenu v moči trimethylselenoniový ion [$(\text{CH}_3)_3\text{Se}^+$]. Při příjmu vysokých dávek selenu se nadbytečný selen vylučuje přes plíce ve formě dimethylselenidu (Kang et al. 2020).

Jak je zobrazeno na Obrázku 2 zdroje selenového příjmu zahrnují anorganické sloučeniny selenistanu a selenidu (znázorněné zelenými šestiúhelníky), zatímco organické zdroje

(znázorněné červenými šestiúhelníky) jsou získány z živočišných a rostlinných zdrojů, které poskytují selen ve formě SeCys, SeMet a SeMetCys.



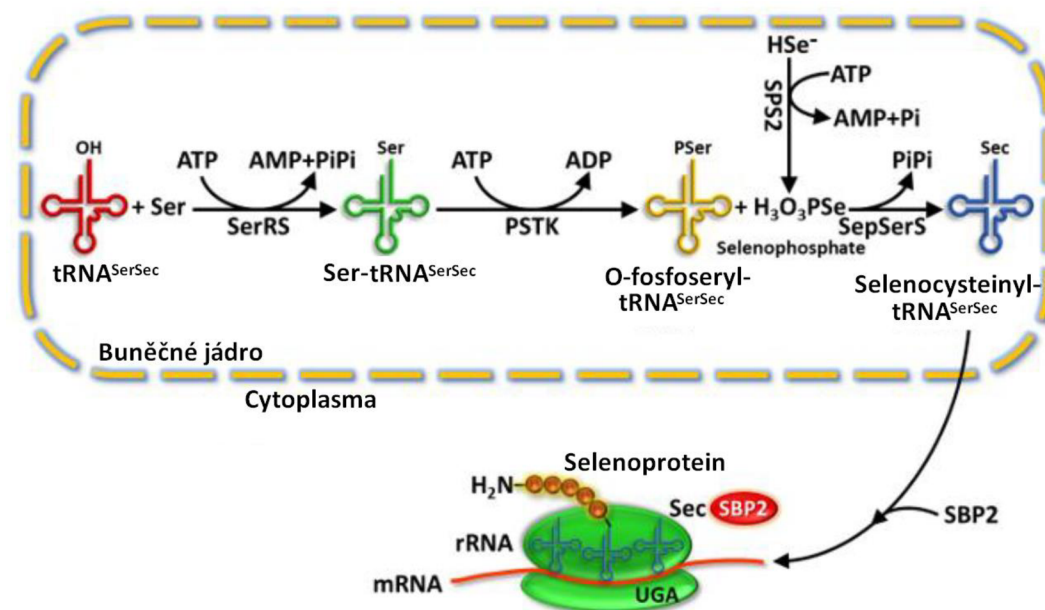
Obrázek 2: Metabolismus selenu z různých zdrojů stravy (Mattmiller et al. 2013).

Anorganické formy selenu jsou redukovány thio-redoxin-reduktázou (TrxR) a thio-redoxinem (Trx) nebo převedeny na selenodiglutathion (GS-Se-SG) glutathion-disulfidem (GSSG), redukovány glutathion-reduktázou na glutathioselenol (GS-SeH) a následně převedeny na selan (H_2Se) v reakci s GSSG. Selenoproteiny jsou v enterocytech střeva rozkládána lyázami na H_2Se , který může být poté převeden na selenofosfát skrze selenofosfát-syntázu a Sec skrze SeCys. H_2Se může být rovněž převeden na metylované metabolity pomocí methyltransferáz, které jsou převážně vylučovány výdechem, močí a stolicí (Mattmiller et al. 2013).

3.1.4 Biosyntéza selenoproteinů

Selen je nezbytný stopový prvek pro lidské zdraví, jehož příznivé účinky jsou převážně způsobeny jeho začleněním ve formě SeCys do skupiny proteinů nazývaných selenoproteiny. SeCys (považován za 21. aminokyselinu) je funkční analog cysteinu, u něhož je sírový atom nahrazen selenovým (Moghadaszadeh & Beggs 2006). Vzhledem k tomu, že v těle není volný SeCys, jeho syntéza probíhá na specifickém tRNA (SeCysyl tRNA^{SeRSeC}) s anticodonem UCA, který je komplementární ke stop kodonu UGA, jak je znázorněno na Obrázku 3 (Genchi et al. 2023). SeCys je začleněn do proteinů prostřednictvím tRNA^{SerSeC}, který dekóduje kodon UGA jako SeCys místo stop kodonu (Forchhammer & Böck 1991).

U eukaryotních organismů začíná syntéza SeCys tak, že seryl-tRNA syntetáza aktivuje tRNA_{SerSeC} serinem v přítomnosti ATP. Následně jsou hydroxylové skupiny serinu fosforylovány pomocí O-fosfoseryl-tRNA kinázy (PSTK) v přítomnosti ATP a nakonec je O-fosfoseryl tRNA_{SerSeC} nahrazen selenovým atomem v přítomnosti selenofosfátu a enzymů selenofosfát syntetázy 2 (SPS2) a SeCysyl-tRNA syntetázy (SepSerS) (Vanda Papp et al. 2007). Selenocystenyl tRNA_{SerSeC} dekóduje kodon UGA a je použit pro integraci SeCys do aminokyselinové sekvence, která tvoří selenoprotein (Chen & Berry 2003). SeCys je zakódován kodonem UGA, jedním z tří stop kodonů nezbytných pro ukončení poly-peptidového řetězce (Ganyc et al. 2007). Kodon UGA zakóduje selenoprotein pouze v přítomnosti sekvence vložení SeCys (SECIS) a proteinových faktorů včetně proteinu vázajícího se na SECIS prvek 2 (SBP2), který je jaderným proteinem (Genchi et al. 2023).



Obrázek 3: Biosyntetická dráha selenoproteinů (Genchi et al. 2023).

SerRS katalyzuje reakci mezi tRNA_{SerSec} a Ser za přítomnosti ATP a vzniká Ser-tRNA_{SerSec}, který je následně fosforylován za přítomnosti ATP a PSTK, za vzniku O-fosfoseryl-tRNA_{SerSec}. O-fosfoseryl-tRNA_{SerSec} je poté nahrazen Se za přítomnosti selenofosfátu a SepSerS, aby se syntetizovalo Sec-tRNA_{SerSec}. Sec-tRNA_{SerSec} je přenesen na ribozom díky SECIS a SBP2. Nakonec je kodon UGA rozpoznán jako sekvenční kodon Sec do aminokyselinové sekvence selenoproteinu. Zkratky: SeCys = Selenocystein; SerRS = Seryl-tRNA syntetáza; mRNA = messenger RNA; rRNA = ribozomální RNA; PSTK = O-fosfoseryl tRNA kináza; SPS2 = selenofosfát syntetáza 2; SepSerS = O-fosfoseryl-tRNA:SeCysyl-tRNA syntetáza; SECIS = SeCys Sekvence vkládání; SBP2 = SECIS Vazební Protein 2 (Genchi et al. 2023).

3.2 Selen v lidském organismu

Selen představuje stopový minerál s rozsáhlým výskytem v životním prostředí, nesmírně důležitý pro lidské zdraví. Původně byl vnímán jako toxický prvek a svou esenciální roli v lidském těle začal odhalovat až 150 let po svém objevu v roce 1957. I přes jeho nízkou koncentraci v lidském těle hraje selen klíčovou a unikátní roli mezi stopovými esenciálními

prvky (Reyman, 2012). Jako jediný má geneticky zakódovanou schopnost začlenění do proteinů, představující konstitutivní část 21. aminokyseliny, SeCys. Forma, přítomná v aktivních centrech selenzávislých enzymů (glutathion peroxidáz, thioredoxin reduktáz a jodthyronin deiodináz), definuje selenoproteiny. Proteiny, obsahující alespoň jeden SeCys zbytek, který plní řadu fyziologických funkcí, s hlavním cílem udržování redoxní rovnováhy v buňkách (Weller et al. 2014).

Data z experimentů, zejména na myších a buněčných kulturách, naznačují, že doplnění selenu ovlivňuje epigenetické markery. Tento efekt lze pravděpodobně přičítat inhibici DNA methyltransferázy selenem a jeho interakcím s jednovláčkovým metabolismem (Schulz, 2017). Dostatečné hladiny selenu jsou zásadní pro několik aspektů lidské biologie, včetně mužské reprodukční biologie, endokrinního systému, svalové funkce, centrálního nervového a kardiovaskulárního systému a imunity (Weller et al. 2014).

Intenzivní příjem selenu nebo strava bohatá na produktech s vysokým obsahem selenu může způsobit otravu. Ve Venezuele došlo k otravě selenem způsobené konzumací plodu druhu *Lecythis ollaria*, který akumuluje vysoké množství selenu (7–12 g Se na kg sušiny), což se projevilo akutními příznaky, jako jsou ztráta vlasů, průjem a zvracení (Plant et al. 2014).

3.2.1 Toxicita selenu a nadbytek selenu

U krysu byla stanovena mediánová smrtelná dávka (LD₅₀) intraperitoneálního SeMet na 4,25 mg Se/kg. Intravenózní podání sloučenin selenu u myši vedlo především ke kardiorespiračním účinkům, paralýze zadních končetin a smrti. LD₅₀ bylo stanoveno na 8,8 mg/kg pro SeMet (Longnecker et al., 1991) a selenit byl 4× toxičtější než SeMet. Chronická suplementace vysokými dávkami selenu byla studována u makaků rhesus (*Macaca mulatta*) (Turck et al., 2023), kteří byli suplementováni až 300 mg/kg SeMet denně po dobu 30 dní. Maximálně tolerovaná dávka byla 150 mg/kg a toxicita byla spojena s hladinami selenu v erythrocytech >2,3 mg/ml, hladinami selenu v plazmě >2,8 mg/ml a hladinami selenu v srsti >27 mg/g (Swanson et al., 1990).

Údaje o toxicitě selenu u lidí jsou převážně založeny na studii jedinců vystavených vysokým hladinám selenové stravy. Endemická selenóza byla popsána v Číně (Enshi County) v roce 1983, kde byl zdroj vysledován ke kamennému uhlí. Uhlí bylo spáleno a selen z uhlí vstoupil do půdy a byl absorbován rostlinami, které byly následně konzumovány místní komunitou (Longnecker et al., 1991). Zatímco konzumovaná forma selenu nebyla specifikována, rostlinné zdroje selenu jsou převážně SeMet (Turck et al., 2023). Symptomy zahrnovaly vznik křehkých vlasů, svědivé vyrážky a křehké nehty. Nehty také vykazovaly podélné pruhy nebo příčné linky na povrchu nehtu ve formě žluto-bílé nebo červené změny barvy. Dech po česneku nebo zápach se zvyšující se expirací dimethylselenidu. Kožní léze se vyvinuly především na končetinách a zahrnovaly zarudnutí, vezikulaci a sekundární infekci. Nejčastějším příznakem otravy byla ztráta vlasů a nehtů. V oblastech s vyšší incidencí mohly být postiženy také léze kůže, nervového systému a pravděpodobně také zuby (Longnecker et al., 1991). Zubní kaz, únava, podrážděnost, svalová bolest, třes, hyperflexie a kovová chuť byly také hlášeny, ale přímý kauzální vztah nebyl potvrzen (Turck et al., 2023).

Jednotlivá toxická úroveň selenu byla 1054 ng/ml a odpovídající denní příjem byl odhadnut na 910 mg/den (Swanson et al., 1990). Studie těchto jedinců několik let poté ukázaly

ústup symptomů selenózy v souvislosti se snížením průměrné hladiny selenu v séru z 1346 ng/ml na 968 ng/ml (Turck et al., 2023). S chronickou expozicí a periferními hladinami selenu přesahujícími 1000 ng/ml byla popsána prodloužená protrombinová doba a zvýšení počtu bílých krvinek (Swanson et al., 1990). Tyto čínské epidemiologické údaje naznačují, že 750–850 mg je horní hranice bezpečné denní expozice (Reid et al., 2004).

Toxicita selenu závisí na jeho chemické formě, dávce, interakcích s dalšími složkami stravy a fyziologickém stavu těla. Anorganické formy selenu vykazují vyšší toxicitu než organické. Zatímco anorganický selen má prooxidantní efekt na tioly, generující ROS, organické formy jsou snáze eliminovány (Reyman, 2012). Akutní otrava selenem je obtížná diagnostikovat kvůli nespecifickým symptomům, včetně hypotenze, tachykardie a neurologických poruch, jako jsou třes a svalové kontrakce (Petrović, 2021).

Chronická toxicita selenu, známá též jako selenóza, se projevuje vypadáváním vlasů, změnami a křehkostí nehtů, kožními vyrážkami, bolestmi kloubů, zubním kazem a charakteristickým česnekovým zápachem vydechovaným dechem v důsledku přítomnosti volatilní sloučeniny dimethylselenidu (Reyman, 2012). Nedávná studie jako například: „Role of selenium in type 2 diabetes, insulin resistance and insulin secretion“ autorů Pilar Casanova a Daniel Monleon naznačují spojitost mezi zvýšeným příjmem selenu a rizikem vzniku diabetu 2. typu (Casanova & Monleon, 2023). Chronické otravy selenem jsou častější v oblastech s vysokým obsahem selenu v půdě a pitné vodě. Příjem 1 mg selenu denně ve formě seleničitanu sodného po delší dobu je považován za chronicky toxický, ačkoli příznaky vymizí po snížení příjmu selenu (Petrović, 2021).

Rostliny mají schopnost absorbovat, asimilovat a akumulovat selen v listech a kořenech. Tato schopnost je nyní využívána v procesu označovaném jako „fytoremediace“, kde rostliny odstraňují nadbytečný selen z kontaminovaných oblastí. Fytoremediace selenem kontaminovaných půd představuje neznečišťující a nákladově efektivní způsob, jak zabránit úniku selenu z půdy a jeho kontaminaci podzemní vody, povrchových vod nebo odtokových vod (Plant et al. 2014).

3.2.2 Selenová deficience

Chronický nedostatek selenu v lidském těle vede k závažným onemocněním, negativně ovlivňuje fungování kardiovaskulárního systému a může být přímo spojen s infarktem myokardu. Keshan a Kashin-Beck jsou dobře známá endemická onemocnění vyvolaná nedostatkem selenu. Nízké hladiny selenu jsou také spojeny s poruchami vývoje plodu, mužskou neplodností a zvýšeným rizikem astmatu, způsobeným sníženou obranou proti oxidaci a poklesem aktivity Gpx (Bernabei et al. 2023). Existují rovněž důkazy o tom, že nedostatek selenu oslabuje imunitní systém a ovlivňuje správnou funkci nervového systému. Nedostatek selenu postihuje přibližně jednu miliardu lidí na světě, je dán nedostatečnou konzumací potravin obsahující selen (Doğan, 2023).

Bylo zjištěno, že nedostatek selenu může být spojen s řadou dalších zdravotních problémů u lidí. Mezi ně patří obtížně léčitelné záchvaty, revmatoidní onemocnění, arterioskleróza, nepříznivé respirační výsledky u nedonošených novorozenců, potraty, neurologické poruchy, deprese a zvýšené riziko rakoviny (Shreenath et al., 2023). Kromě toho se zdá, že nedostatek selenu může zvyšovat riziko poškození srdečního svalu během ischemie

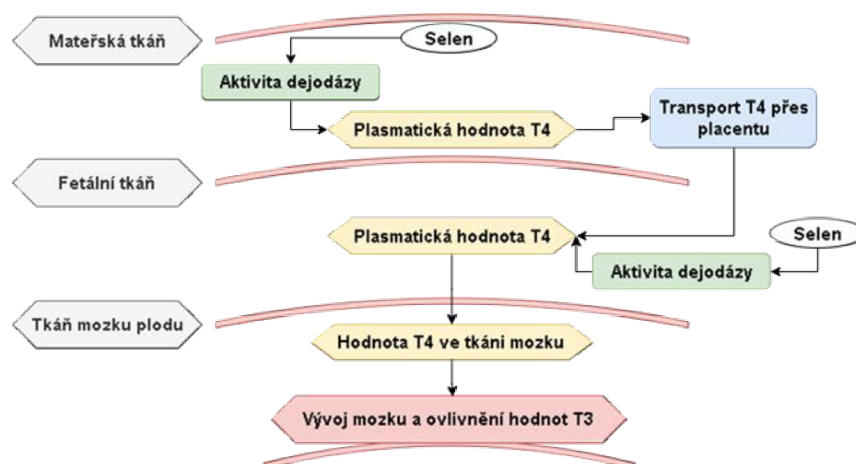
a následné reperfúze (Beck et al., 2003). V každém z těchto případů zůstává nejasné, zda je nedostatek selenu hlavním rizikovým faktorem, či zda je pouze jedním z mnoha parametrů, které přispívají k náchylnosti k onemocnění vyvolanému jinými etiologickými agens. U pacientů infikovaných virem HIV bylo prokázáno, že nedostatek selenu se vyvíjí s postupem AIDS a stav množství selenu byl silný indikátor závažnosti onemocnění (Shreenath et al., 2023)

Myxedematózní kretenismus

Myxedematózní kretenismus je porucha růstu kostí, neurologického vývoje a zahrnuje hypotyreózu a atrofii štítné žlázy. Onemocnění se liší od neurologického kretenismu, který je charakterizován těžkým mentálním postižením, abnormalitami v řeči a sluchu, neuromuskulárními poruchami (Vanderpas et al., 1990). Neurologický kretenismus se vyskytuje v oblastech s velmi vážným nedostatkem jódu a jeho vývoj není závislý na množství selenu v potravě. Lidé s kretinismem mohou mít symptomy jedné klasifikace nebo se symptomy mohou míchat (Goyens et al., 1987). Endemický myxedematózní kretenismus se objevuje v oblastech s rozsáhlým výskytem strumy, kde je průměrná hladina selenu v séru dětí pod 500 nmol/L. Největší koncentrace se vyskytuje ve střední Africe, zatímco neurologický kretenismus převládá v Latinské Americe, Asii a Nové Guineji. V roce 1990 byla struma přítomna u 65–85 % populace severní Demokratické republiky Kongo a kretenismus, převážně myxedematózního typu, u 2–6 % populace (Dumont et al., 1994).

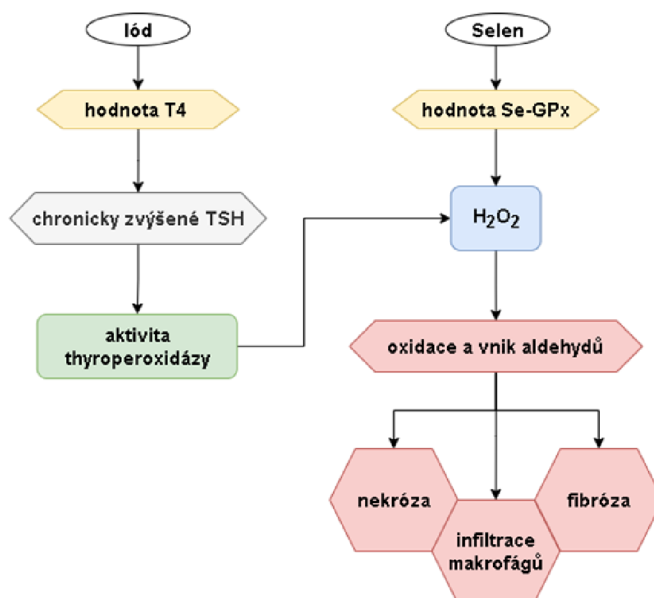
Mezi symptomy kretenismu myxedematózního typu patří suchá šupinatá kůže, dětské obličejové rysy, deformity dlouhých kostí vedoucí ke krátké postavě, nedostatečný srůst lebečních kostí, nepravidelné zakořenění zubů, zpožděná sexuální dospělost a hypotyreóza spojená s atrofií (involucí) štítné žlázy (Dumont et al., 1994). Kostní abnormality byly popsány jako " Stippled epiphyses " (Tečkovaná epifýza), protože mineralizace probíhá z několika rozptýlených míst v epifýzární chrupavčité tkáni. Rozdíly mezi formami kretenismu naznačují, že hormony štítné žlázy jsou během různých období vývoje nedostatečné a výsledkem neurologický kretenismus vzniká v důsledku nedostatečného množství hormonů během fetálního neurologického vývoje a myxedematózní kretenismus vzniká z nedostatečnosti hormonů později v gestaci a dětství (Genchi et al., 2023).

Hormon štítné žlázy je syntetizován štítnou žlázou jako prohormon 3,5,3',5'-tetrajodotyronin (T4, tyroxin) a je přeměňován v periférii na aktivní 3,5,3' -triiodotyronin (T3). Syntéza T4 začíná jodací reakcí aminokyseliny tyrosinu a tento krok vyžaduje produkci H₂O₂ thyroperoxidázou. 3,5-diiodotyrosin je uložen v koloidní jádře folikulu štítné žlázy a při stimulaci žlázy je dimerizován a modifikován tak, aby vznikl T4, který je uvolněn do cirkulačního systému (Coppinger & Diamond, 2001). T4 je přeměněn na T3 5' thyronin dejodázami typů I a II v tkáních a plazmě. 5-thyronin dejodináza typu III přeměňuje T4 na neaktivní izomer 3,3',5' -triiodotyronin (rT3) a také inaktivuje T3 dalším dejodinacím. Všechny tři dejodinázové enzymy jsou selenoproteiny, ale dejodáza II je méně ovlivněna nedostatkem selenu a nebyla identifikována jako selenoenzym až do roku 1996. Během nedostatku selenu je aktivita dejodázy udržována v mozku a dalších kritických orgánech, pravděpodobně s převahou dejodázy II (Coppinger & Diamond, 2001).



Obrázek 4: Role selenu v nedostatku vývoje nervového systému plodu při nedostatku jódu (Coppinger & Diamond, 2001).

Neurologický vývoj u myxedematózního kretenismu se zdá být udržován interakcemi mateřského nedostatku jódu a selenu a tento děj je zachycen na Obrázku 4. Fetální štítná žláza není plně funkční přibližně až do dvacátého týdne gestace, ale tkáňové dejdázy plodu se stanou aktivními mnohem dříve (Genchi et al., 2023). Před aktivací syntézy T4 závisí plod na placentárním transportu mateřského T4. U matky s nedostatkem jódu a selenu jsou koncentrace cirkulujícího T4 zvýšeny kvůli nízké aktivitě dejdáz, což umožňuje větší placentární transport T4 k plodu (viz Obrázek 4) (Coppinger & Diamond, 2001).



Obrázek 5: Role nedostatku selenu a jódu při involuci štítné žlázy u myxedémového kretenismu (Coppinger & Diamond, 2001).

Osoby s myxedematózním kretenismem mají velmi nízké hladiny T3 a T4 v plazmě a koncentrace TSH přes 20× vyšší než ostatní obyvatelé komunity bez kretenismu, což naznačuje, že štítná žláza není schopna reakce na stimulaci TSH. Štítná žláza u lidí s myxedematózním ztrácí odezvu na doplnění jódu v dětství a stává se involutní, silně

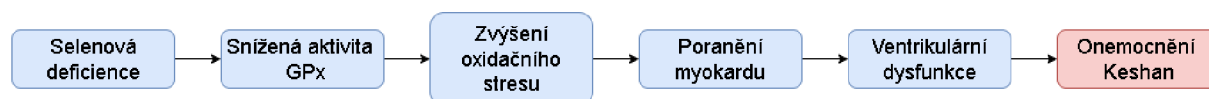
fibrotickou, nekrotickou a není schopná podporovat růst a sexuální zralost (Vanderpas et al., 1990). Za podmínek, které jsou naznačeny na Obrázku 5 dochází ke kolapsu koloidního jádra folikulu štítné žlázy, rychlé nekróze, infiltraci tkání makrofágy a následně k fibrotizaci (Coppinger & Diamond, 2001). Involuce štítné žlázy může být způsobena sníženou aktivitou selenoproteinu glutathionperoxidáza při nedostatku selenu, což způsobuje větší oxidační poškození a produkci toxických aldehydů (Goyens et al., 1987). Nedostatek jódu vede k chronickému zvýšení hladiny hormonu štítné žlázy stimujícího štítnou žlázu (TSH) a aktivity thyreperoxidázy (Coppinger & Diamond, 2001).

Onemocnění Keshan

Onemocnění Keshan představuje dilatovanou kardiomyopatii úzce spojenou s nedostatkem minerálu selenu ve stravě. Selen hraje klíčovou roli při ochraně těla před oxidanty a je esenciální součástí několika antioxidantových enzymů, jako je glutathion peroxidáza (GPx) a glutathion reductáza a je rovněž důležitou součástí selenoproteinů, jako jsou selenoprotein P, dejodináza. Onemocnění je pojmenováno podle severovýchodního čínského okresu Keshan, kde je vysoká prevalence způsobená selenem-deficientní půdou (Zhou et al., 2011). Endemické oblasti s vyšší prevalencí jsou obvykle odlehlé, venkovské a ekonomicky znevýhodněné, charakterizované chudobou a hornatým terénem. Keshanova choroba je považována za onemocnění interakce mezi geny a životním prostředím (Lei et al. 2011).

Na národní úrovni byla choroba identifikována ve 2953 městech v 327 okresech 16 provincií, pokrývajících oblast od severovýchodu k jihozápadu, v pásu. Tyto endemické oblasti zahrnují přibližně 60,487 milionů obyvatel. Průměrná roční incidence dosáhla hodnoty 10/100000 obyvatel (Lei et al. 2011). V roce 1960 překročila nejvyšší incidence onemocnění v regionu Chuxiong v provincii Yunnan hranici 100/100000 a úmrtnost přesáhla 98 %. Onemocnění obvykle postihuje děti ve věku 2-10 let a ženy v plodném věku, zatímco muži jsou vzácně postiženi. Průměrný denní příjem selenu u postižených žen je méně než 12 µg/den- (Shi et al. 2021)

V posledních desetiletích byla nejčastěji hlášena chronická a latentní forma. U chronické formy onemocnění je nástup pomalý. Pacient trpí chronickým srdečním selháním, dilatací komor, myokardiální fibrózou a ztenčením srdeční stěny (Hou et al., 2011). U latentní formy je epizoda maskovaná a srdeční funkce pacienta je relativně. Ventrikulární kontrakce a změny v pravé větvové blokáde nebo ST-T jsou běžné. Na Obrázku 6 je zobrazen diagram vývoje onemocnění Keshan (Lei et al. 2011).



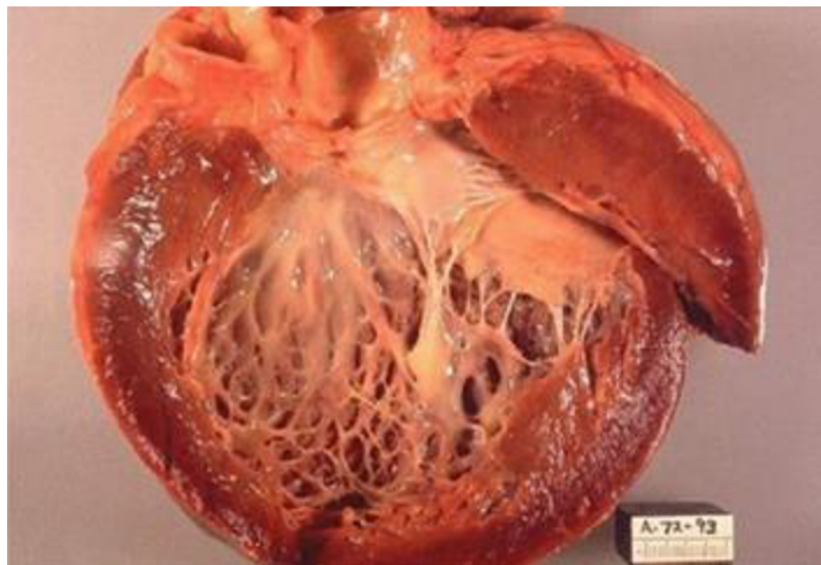
Obrázek 6: Diagram vývoje choroby Keshan (Lei et al. 2011).

Zjištění obsahu selenu v ornici naznačilo, že koncentrace selenu jsou obvykle nižší než 0,125 mg/kg, s koncentracemi nad 3 mg/kg v neendemických oblastech. V roce 2020 studie zkoumala hladiny selenu v séru u 571 jednotlivců a zjistila, že hladiny u těch, kteří žijí

v endemických oblastech, byly pouze 0,97 $\mu\text{mol/L}$. Číslo bylo výrazně nižší než u těch, kteří žijí v neendemických oblastech (1,01 $\mu\text{mol/L}$). Stav selenu v srdci, játrech, ledvinách a svalstvu ve srovnání s jednotlivci s onemocněním byl až o 10 \times nižší (Chen, 2012).

Klinické projevy pacientů s onemocněním zahrnují převážně srdeční selhání, akutní srdeční selhání a srdeční arytmie. Projevy onemocnění zahrnují akutní nebo chronické epizody srdeční choroby charakterizované kardiogenním šokem, srdečním selháním a arytmií, spolu s kardiomegalií (viz. Obrázek 7). Na základě výzkumu srdeční funkce, klinických projevů a patologických výsledků je etiologie onemocnění rozdělena do čtyř typů: akutní onemocnění, subakutní onemocnění, chronická onemocnění a latentní onemocnění (Li et al. 2000).

U akutní onemocnění je nástup náhlý, projevující se jako akutní srdeční selhání, srdeční nedostatečnost jako plicní edém, závažná arytmie a kardiogenní šok. Elektrokardiogram (EKG) obvykle odhaluje změny ST-T. U subakutních případů je nástup pomalejší než u akutních pacientů a většina případů ukazuje "klikatý" srdeční rytmus a otoky obličejů (Chen, 2012).



Obrázek 7: Keshan onemocnění představuje endemickou formu dilatované kardiomyopatie, charakterizovanou patologickým zvětšením srdce. Morfologie srdce je výrazně větší a kulatější než u normálního srdce (Lei et al. 2011).

Onemocnění je obecně považováno za multifaktoriální interakce prostředí a genů. Nedostatek selenu výrazně podporuje oxidativní stres a poranění, což může také posílit oxidativní poškození dalších přispívajících patogenních faktorů, včetně virových a jiných infekcí (Shi et al. 2021). Důležitou podporu pro hypotézu nedostatku selenu přineslo pozorování, že dlouhodobá orální suplementace anorganickým selenovým sloučením, selenitem, byla účinná při odvrácení nemoci v endemických oblastech (Hou et al., 2011). Vědecké studie prokázaly, že vedle selenového deficitu hraje roli i virová infekce, přičemž enteroviry byly izolovány z krve a tkání pacientů (Li et al. 2000).

Kashin-Beckova nemoc

Kashin-Beckova nemoc, endemické onemocnění osteochondrálního charakteru, je široce rozšířené v oblasti od jihozápadu k severovýchodu Číny a Severní Koreje až po východní Sibiř v Rusku. V Číně samotné existují důkazy o tom, že přibližně 1,3 milionu jednotlivců vykazuje

nějakou formu symptomů tohoto syndromu, přičemž skutečné číslo může být dokonce podhodnoceno. Na rozdíl od globálního trendu nárůstu případů osteoartritidy, počet lidí trpících Kashin-Beckovým syndromem v Číně významně klesl (Guo et al. 2014). V roce 2013 bylo přibližně 64000 jednotlivců postiženo onemocněním a u 1160000 hrozila možnost vzniku. Snížení prevalence je připisováno preventivním opatřením prováděným v Číně jako jsou distribuce doplňků stravy a poskytování čisté vody milionům lidí a dokonce i přemístění celých vesnic (Han et al. 2015).

Kashin-Beckův syndrom se převážně vyskytuje u dětí ve věku 5-13 let, a to především v nejhudších rodinách. Projevuje se degenerací a nekrózou kloubů a růstových destiček na horních a dolních končetinách. Výsledkem jsou končetiny, které jsou nejen krátké, ale také deformované, s zakrnělým svalstvem a celkově menší postavou. Klouby nejvíce postižené touto patologií zahrnují kotníky, kolena, zápěstí a lokty (Guo et al. 2014).

Epifyzární růstová ploténka a kloubní chrupavka jsou primárně postiženými anatomickými strukturami. Mikroskopickým pohledem se degenerativní změny v chrupavce vyznačují chondronekrózami lokalizovanými v několika oblastech hluboké zóny chrupavky. Fokální chondronekrózy a narušená endochondrální osifikace převažujícím způsobem vedou k sekundární chronické osteoartropatii (Peng et al. 1991). Ve fetální a juvenilní chrupavce je většina změn lokalizována v oblastech zrající a hypertrofované chrupavky. Nekrotická pole mohou sahát až do přechodné oblasti mezi proliferativními a hypertrofovanými zónami růstové ploténky a ve vyspělém stadiu onemocnění dokonce do všech zón (Peng et al. 1991). Chondronekróza růstové ploténky může způsobit narušenou endochondrální osifikaci a dokonce indukovat brzké uzavření epifyzální růstové ploténky, což vede k zpožděnému růstu, jako jsou krátké prsty, krátké končetiny, zpomalený růst a postižení v pokročilých stádiích (Yao et al. 2011).



Obrázek 8: Habitus Kashin-Beckova syndromu (Guo et al. 2014).

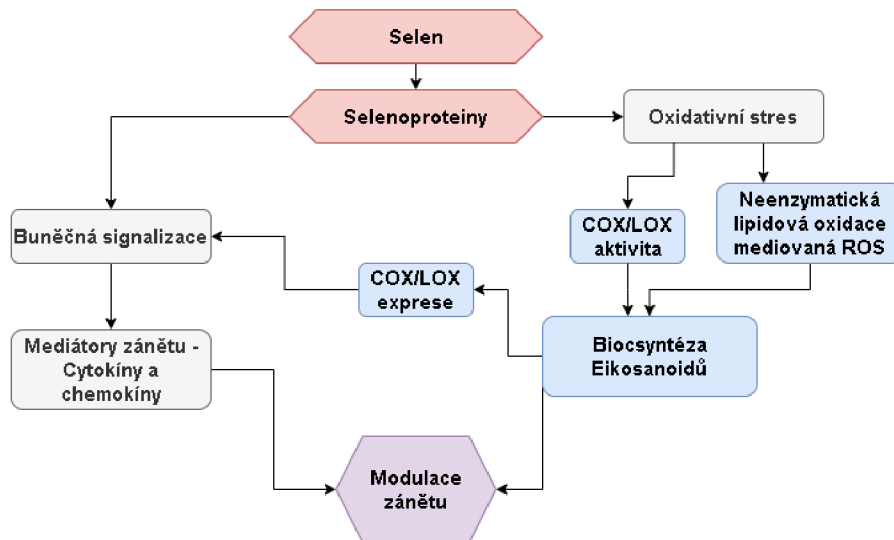
Vzhledem k tomu, že růstová ploténka chrupavky je růstovým centrem kosti, jsou vývojové deformity u pacientů pravděpodobně výsledkem narušené diferenciaci chondrocytů a endochondrální osifikace. Čím dříve se objeví symptomy, tím závažnější malformace se vyvinou. Kromě toho může chondronekróza kloubní chrupavky indukovat tvorbu jizev, zvětšení kostí, osteofyty a zúžení kloubního prostoru. Chondrocyty se projevují otoky mitochondrií a sníženou hustotou mitochondriální matrix ve srovnání s normálními (Allander, 2009). Na Obrázku 8 je fotka pacienta, který trpí Kashin-Beckovým syndromem.

3.3 Imunitní funkce selenu

Indukovatelná izoforma syntázy oxidu dusnatého (iNOS) je spojována s aterosklerózou, malignitou, revmatoidní artritidou, poškozením tkání a reperfučními poraněními (Arthur et al. 2002). Klíčovým faktorem pro oxidativní versus ochranné účinky oxidu dusnatého je základní redoxní stav tkáně. Selenoproteiny, jako jsou GPx a thioredoxin reduktázy, jsou klíčovými složkami buněčné obrany a podporují optimální rovnováhu mezi antioxidanty a oxidanty (Mattmiller et al. 2013b). Tyto enzymy jsou zapojeny do mnoha biochemických procesů, jako je ochrana před oxidačním stresem a redoxní regulace exprese genů (Arthur et al. 2003). Nedostatek selenu vede ke významnému poklesu Se-GPx a zvýšení produkce ROS (Arthur et al. 2002). Kromě toho je nedostatečná výživa selenem spojena se zvýšenou produkcí reaktivních forem dusíku (RNS) jako je NO a peroxynitrit, což bylo spojeno se zvýšeným rizikem onemocnění jako je kardiomyopatie, revmatoidní artritida, rakovina, Alzheimerova choroba a roztroušená skleróza (Mattmiller et al. 2013b). Buněčný stav selenu hraje důležitou roli při snižování oxidačního stresu v těle. Mnoho imunitních buněčných typů, včetně makrofágů, syntetizuje NO, který reguluje jejich buněčnou funkci. Navíc bylo zjištěno, že NO je také hlavním mezidruhovým poslem zapojeným do různých aktivit, jako je neurální signalizace a vazorelaxace (Bogdan et al. 2000).

Trvalá produkce NO vybavuje makrofágy cytostatickou nebo cytotoxickou aktivitou proti virům, bakteriím, houbám, prvokům, helmintům a nádorovým buňkám (Coleman 2001). Nicméně, kvůli své vysoké reaktivitě může být NO v naprodukcí také destruktivní pro zdravé buňky těla (Mattmiller et al. 2013b). Navíc se NO rychle oxiduje na RNS, které modifikovat klíčové signální molekuly jako jsou kinázy a transkripční faktory (Bogdan et al. 2000).

Syntáza oxidu dusnatého (NOS) katalyzuje rozklad L-argininu na NO a citrulin. V savcích jsou přítomny tři různé izoformy NOS, a to dva konstitutivní enzymy (neuronální NOS a endoteliální NOS) a jeden indukibilní enzym (iNOS) (Bogdan et al. 2000). Je známo, že různé stimuly, jako je UV záření, cytokiny a lipopolysacharid (LPS), up-regulují exprese iNOS v makrofázích. Kromě toho existují důkazy, že zvýšená exprese iNOS a produkce nitritů zahrnují aktivaci jaderného faktoru- κ B (NF- κ B) a následné vázání enhancerových prvků κ B v promotoru genu iNOS (Coleman 2001). Předpokládaný efekt selenu na imunitní funkce je znázorněna na Obrázku 9 (Mattmiller et al. 2013b).



Obrázek 9: Efekt selenu na imunitní funkce (Mattmiller et al. 2013b).

V práci Sandeep et al. (2002) zkoumali vztah mezi stavem selenu, jakožto důležitým modulátorem buněčného oxidačního stresu a exprese iNOS po stimulaci LPS v buňkách RAW264.7, myší buněčné linii makrofágů. Tyto buňky byly dříve použity jako model pro studium exprese iNOS (Coleman 2001). Studie vychází z hypotézy, že nedostatečný stav selenu v makrofázích vede k nerovnováze oxidantů a antioxidantů a je zodpovědný za aktivaci redoxně aktivního transkripčního faktoru NF- κ B, který následně indukuje exprese iNOS. Jedná se o první zprávu, která ukazuje na inverzní vztah mezi stavem selenu a exprese iNOS v celulárním systému. Tyto výsledky naznačují inverzní vztah mezi buněčným stavem selenu a exprese iNOS u LPS-stimulovaných buněk RAW264.7 a poskytují důkazy pro příznivé účinky dietárního doplnění selenu při prevenci případně při léčbě zánětlivých onemocněních vyvolaných v důsledku oxidačního stresu (Sandeep et al. 2002).

Dle výzkumu Cheng et al. (2011) SeMet inhiboval expresi genů IL-1 β -indukovaného iNOS a COX2 v chondrocytech s odpovídajícím poklesem produkce NO a PGE2. Vysoké dávky SeMet ztlumily IL-1 β indukovanou aktivaci p38 MAPK, ale ne signální dráhy extracelulárně regulovaných kináz (ERK) 1/2, c-Jun N-terminální kinázy (JNK) nebo nukleární faktor κ B (NF κ B) (Cheng et al. 2011.). Tato studie objasňuje jeden potenciální ochranný mechanismus Se, a to prostřednictvím změny signálních drah buněk a následné transkripce prozánětlivých účinků IL-1 β . Právě tato práce naznačuje, že selen má potenciální ochranné účinky při osteoartritidě, ale přesný mechanismus je stále nejasný (Cheng et al. 2011).

4 Metodika

4.1 Materiál

K práci bylo použito kultivační médium RPMI1640 (SigmaAldrich), fetální serum (Fetal bovine serum – FBS) (Biowest), neesenciální aminokyseliny (VWR) glukóza, Griesovo činidlo (SigmaAldrich) a dusitan sodný (Lachner). Složení kultivačního media RPMI1640 je následující: 10 % FBS (Foetal bovine serum), 5 % neesenciálních aminokyselin, 10 % roztoku glukózy, 5 % ZELL Shield (ochrana buněčné kultury) (BioConsult).

Pro *in vitro* trávení byla použita ultra-pure water (utračistá voda), α -amyláza z prasečí slinivky břišní (Sigma Aldrich), prasečí pepsin (Sigma Aldrich), prasečí žluč, prasečí pankreatin (Sigma Aldrich), dihydrát chloridu vápenatého (VWR), hydroxid sodný p.a. (Lachner), kyselina chlorovodíková (VWR), chlorid draselný (Sigma Aldrich), dihydrogenfosforečnan draselný p.a. (Lachner), hydrogenuhličitan sodný p.a. (Lachner), chlorid sodný p.a. (Lachner), hexahydrát chloridu hořečnatého (VWR), uhličitan amonný (Sigma Aldrich). Vzorky selenu ve formě SeMet, SeMetCys a selenitu byly poskytnuty z Vysoké školy chemicko-technologické v Praze.

4.1.1 *In vitro* trávení INFOGEST

Vzorky byly podrobeny trávení podle statického modelu trávení INFOGEST 2.0, podle postupu uvedeného Brodtkorbem et al. (2019). Každý vzorek vážil 5 g a byl postupně tráven orální, žaludeční a intestinální fází.

V orální fázi byl vzorek smíchán se slinami s aktivitou amylázy 75 U/ml v poměru 1:1 a inkubován při 37 °C za stálého míchání po dobu 2 minut.

Ve žaludeční fázi byl vzorek smíchán se zásobním roztokem $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$, pepsinem (2000 U/ml), žaludeční lipázou (60 U/ml) a destilovanou vodou v poměru 1:1. pH bylo upraveno na 3 pomocí HCl a inkubováno při 37 °C po dobu 2 hodin za stálého míchání.

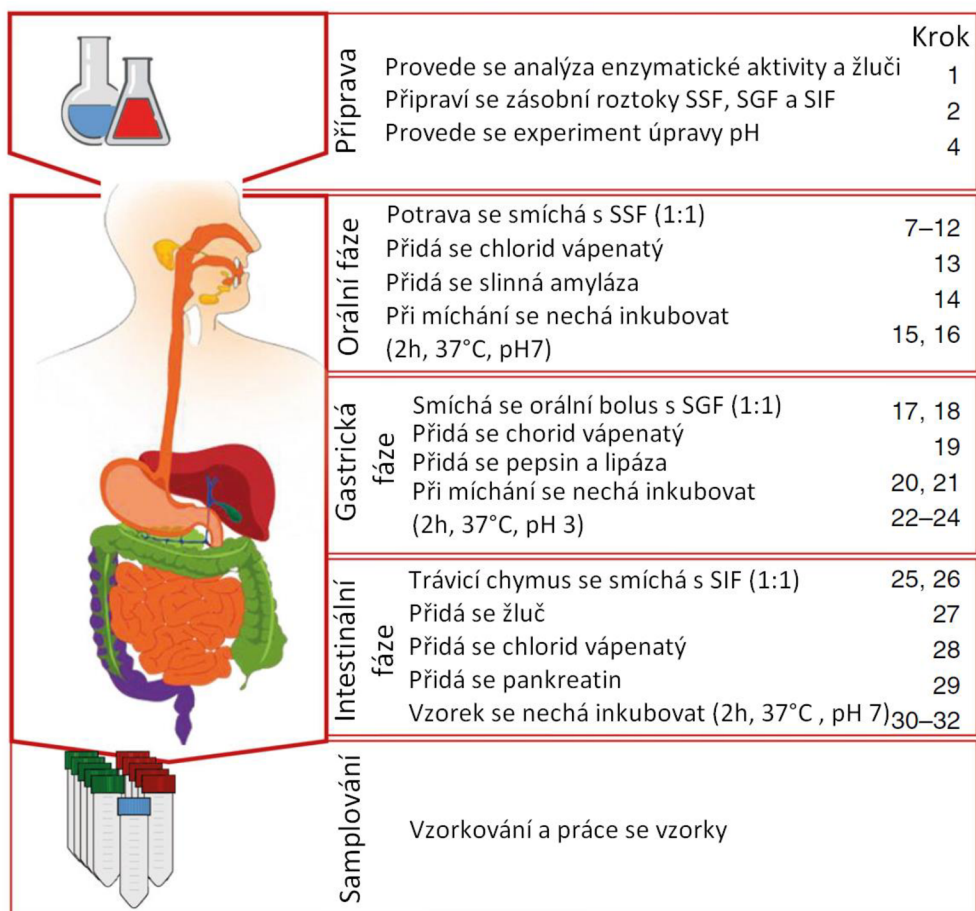
V intestinální fázi byla trávenina smíchána se zásobním roztokem žlučových solí (10 mmol) po dobu 30 minut při 37 °C. Následně byly přidány $\text{CaCl}_2(\text{H}_2\text{O})_2$, pankreatin (100 U/ml trypsinu) a pankreatická lipáza (2000 U/ml) a inkubováno po dobu 2 hodin při 37 °C za stálého míchání.

Po trávení byly vzorky centrifugovány a odebrán supernatant, který byl filtrován přes stříkačkové mikrofiltry o průměru 0,2 μm do sterilních vialek. Následně byly vzorky uloženy při teplotě -80 °C až do dalšího testování. V Tabulce 2 jsou zobrazeny jednotlivé chemikálie použité v trávicí šňávě.

Tabulka 2: Jednotlivé koncentrace chemikálií v trávicí šťávě.

Chemikálie	Koncentrace (M)	SSF (ml)	SGF (ml)	SIF (ml)
Chlorid draselný	0,500	15,100	6,900	6,800
Dihydrogenfosforečnan vápenatý	0,500	3,700	0,900	0,800
Hydrogenuhličitan sodný	1,000	6,800	15,500	42,500
Chlorid sodný	2,000	-	11,800	9,600
Hexahydrát chloridu hořečnatého	0,150	0,500	0,400	1,100
Uhličitan amonný	0,500	0,060	0,500	-
Kyselina chlorovodíková	0,600	0,090	1,300	0,700
Dihydrát chloridu vápenatého	0,300	0,025	0,005	0,040

Na Obrázku 10 je zobrazen diagram metody trávení INFOGEST 2.0. Časový rámeček a vývojový diagram metody *in vitro* trávení INFOGEST 2.0 pro potraviny. Na diagramu je znázorněn očekávaný rámeček (vlevo), fáze a odpovídající čísla kroků v postupu (vpravo). SGF simulovaná žaludeční tekutina, SIF - simulovaná střevní tekutina, SSF - simulovaná slinivková tekutina.



Obrázek 10: Diagram metody trávení INFOGEST 2.0 (Brodkorb et al., 2019).

4.1.2 Kultivace buněčné linie RAW264.7

Po rozmražení byly buněčné linie RAW264.7 kultivovány v kompletním mediálním prostředí RPMI1640 se suplementy. Po dvou dnech, při dosažení 80% konfluency, byly makrofágy mechanicky sklizeny a centrifugovány po dobu 10 minut $170 \times g$. Poté byl odstraněn supernatant a buňky byly rozředěny v čerstvém kompletním mediálním prostředí. Objem 1×10^6 buněk byl vložen do baňky společně s 10 ml kompletního mediálního prostředí a ponechán ve vlhkém CO₂ inkubátoru při teplotě 37 °C k dalšímu růstu po dobu 48 hodin.

4.1.3 Příprava mikrotitrační destičky

Zbytek buněčné suspenze z předchozího kroku byl naředěn na koncentraci $2,5 \times 10^5$ buněk/ml a napipetován do 96 jamkové mikrotitrační destičky v objemu 100 μ l. Takto připravená destička byla inkubována po dobu 2 hodin v CO₂ inkubátoru za standardních podmínek. Následně byly přidány testované tráveniny jednotlivých vzorků v koncentraci 20-0,009 % tráveniny a směs čistých trávicích enzymů pro kontrolu. Poté bylo do destičky přidáno lipopolysacharid (LPS) v koncentraci 1 μ g/ml. Jako negativní kontrola byly ponechány buňky bez přídatku LPS. Celkový objem v každé jamce byl 200 μ l. Takto připravená destička byla inkubována po dobu 24 hodin.

4.1.4 Stanovení produkce oxidu dusnatého (NO) Griessovou reakcí

Po 24 hodinách inkubace byla destička centrifugována po dobu 5 minut při $170 \times g$. Poté bylo z každé jamky přeneseno 50 μ l supernatantu do nové destičky a přidáno 50 μ l Griessova činidla. Destička byla inkubována po dobu 10 minut při 37 °C. Absorbance byla následně měřena na čtečce mikrotitračních destiček SPARK (Tecan, Švýcarsko) při vlnové délce 540 nm. Kalibrační křivka byla získána z roztoku NaNO₂ v rozmezí koncentrací 125-8 μ M/ml. Koncentrace NO u jednotlivých vzorků byla stanovena lineární regresí.

4.1.5 Statistické vyhodnocení

Výsledky byly prezentovány jako průměr s doprovodnou směrodatnou odchylkou. Pro statistické vyhodnocení byl využit software GraphPad Prism a proveden dvoufaktorovou ANOVou s Tuckeyho post-hoc testem.

5 Výsledky

Námi testované vzorky vykazovali schopnost snižovat produkci NO v závislosti na zvolené dávce. V Tabulce 3 můžeme vidět, že produkce NO byly výrazně snížena při 10% koncentraci tráveniny obsahující námi testované vzorky SeMet, SeMetCys a SeIV. Při této koncentraci došlo k více jak 25 % poklesu produkce NO v porovnání s ošetřenou kontrolou pomocí LPS, kdy tento pokles byl statisticky potvrzen na hladině významnosti ($p < 0,0001$), jak je patrné z Tabulky 3. Snižování koncentrace tráveniny vedlo ke zvyšování produkce a u SeMetCys, kde při koncentraci 10% bylo nejvyšší a to o více jak 33 %, tak v poloviční koncentraci se již produkce téměř nelišila od produkce kontroly. V koncentraci 2,5 % tráveniny byla již u SeMetCys zvýšena o více jak 30 % až po koncentraci 0,3125 % tráveniny kdy zvýšení produkce NO bylo o více jak 40 % s prokázanou statistickou významností na hladině $\alpha = 0,0001$

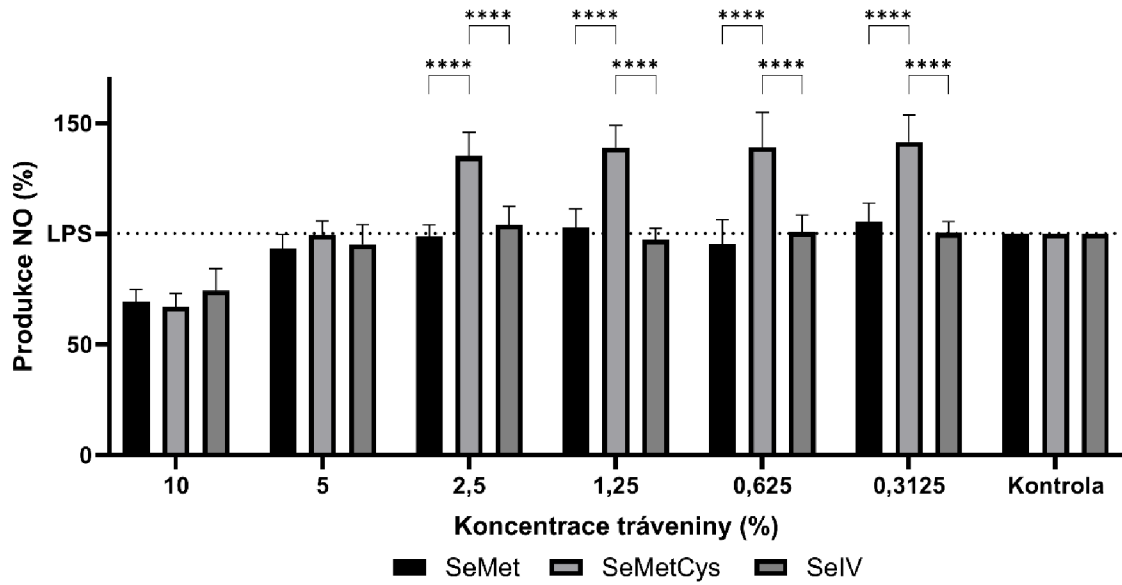
Naopak u ostatních testovaných vzorků nedocházelo ke zvýšení ani snížení produkce v porovnání s ošetřenou kontrolou.

Tabulka 3: Průměrné hodnoty oxidu dusnatého po ošetření buněčné linie LPS.

		SeMet	SeMetCys	SeIV	Kontrola
		% produkce NO			
		průměr ± směrodatná odchylka			
Koncentrace tráveniny v %	10	69,22 ± 5,56****	66,86 ± 6,12****	74,26 ± 9,99****	
	5	93,37 ± 6,16	99,42 ± 6,40	95,07 ± 9,10	
	2,5	98,92 ± 5,03	134,99 ± 10,85****	103,99 ± 8,44	100
	1,25	102,90 ± 8,40	138,89 ± 10,01****	97,26 ± 5,28	
	0,625	95,31 ± 11,04	139,18 ± 15,74****	100,75 ± 7,77	
	0,3125	105,68 ± 8,05	141,59 ± 12,04****	100,41 ± 4,99	

Hvězdičky ukazují významnost středních hodnot pro tři vzájemná měření ve srovnání s kontrolou **** ($p < 0,001$). Hodnoty jsou udány v procentech a je vždy udána směrodatná odchylka.

Jak je patrné z Obrázku 11 mezi koncentracemi tráveniny 2,5 až 0,3125 % je mezi SeMetCys na jedné straně a SeMet a SeIV na druhé straně statistická významnost v produkci NO, kdy SeMetCys má statisticky průkazně zvýšenou produkci NO na hladině významnosti $\alpha = 0,0001$. Toto zvýšení představuje v průměru 30 % oproti SeMet a SeIV.



Obrázek 11: Produkce NO na buněčné linii myších makrofágu RAW264.7 stimulovaných pomocí 1 µg/ml LPS (100 %) s přidáním tráveniny obsahující testované formy selenu v koncentraci 10 – 0,3125 %. Hvězdičky ukazují významnost středních hodnot měření v porovnání jednotlivých vzorků **** ($p < 0,0001$).

6 Diskuze

Selen představuje nezbytný mikronutrient pro organismus. V organismu mají často antioxidační funkci s protizánětlivými účinky (Sharma et al. 2007). Účastní se též mechanismu hojení ran při redukcí oxidačního stresu. Glutathionperoxidáza (GPx) je hlavní selenoprotein přítomný v lidském těle, který pomáhá kontrolovat nadměrnou produkci volných radikálů na místě zánětu. Kromě GPx zahrnují další selenoproteiny například selenoprotein-S, který reguluje zánětlivé cytokiny, a selenoprotein-P, který slouží jako induktor homeostázy (Sharma et al. 2007). Některé sloučeniny obsahující selen, které mohou působit jako prevence a terapeutika proti nádorovým onemocněním. Tyto sloučeniny přímo či nepřímo projevují antioxidační vlastnosti, které udržují intracelulární redoxní stav a tyto aktivity chrání zdravé buňky před poškozením způsobeným ROS (Hariharan & Dharmaraj 2020).

Jak je patrné z našich výsledků, tak při vyšší koncentraci 10 % tráveniny organických forem selenu a seleničitanu dochází k prokazatelnému snížení produkce oxidu dusnatého, a to i o více jak 30 %. Na rozdíl od toho však se snižující se koncentrací tráveniny u SeMetCys dochází k opačnému efektu, kdy je naopak produkce NO výrazně zvýšena oproti ošetřené kontrole a o více jak 30 % už od 2,5 % tráveniny v testovaném vzorku. Jak uvádí Xia et al. (2020), tak SeMetCys má schopnost snižovat produkci NO v lidských arteriálních endoteliálních buňkách (HAECs) vyvolané přítomností elaidové kyseliny (9t18:1). a to díky aktivaci fosfolipázy A2, která reguluje expresi proteinů intercelulární adhezní molekuly ICAM-1 a E-selektinu a IL-8. Ke snížení produkce NO o více jak 30 % může přispět i rýžový hydrolyzát obohacený o selen a to již při koncentraci od 100 µg/ml ve srovnání s pozitivní kontrolou na buněčné lince RAW264.7 (Fang et al., 2019).

Evidentně však záleží na formě selenu přijatého organismem, jak uvádí studie Luo et al. (2019) zabývající se selenovými polysacharidy z *Hericium erinaceus* (Se-HEP-PLGA) a polysacharid z *Hericium erinaceus* obohacený o polymerní nanočástice z co-polymeru mléčné kyseliny a glykolové kyseliny (PLGA), zintenzivňují imunitní reakce a jejich účinek byl studován *in vitro* na makrofázích. Po ošetření nanočásticemi byly vyhodnoceny účinky fagocytózy, exprese ko-stimulačních molekul, oxidu dusnatého (NO) a sekrece cytokinů. Nanočástice významně stimulovaly fagocytární aktivitu, exprese CD40 a CD86 u makrofágů. Kromě toho byly hladiny NO, TNF- α , IL-1 β a IL-6 zvýšeny v peritoneálních makrofázích. Se-HEP-PLGA prokázala nejlepší účinky na exprese co-stimulačních molekul, sekreci NO a cytokinů. Tyto výsledky naznačují, že Se-HEP-PLGA může zvýšit aktivaci makrofágů.

Naproti tomu v práci Sun et al. (2023) sledovali stabilitu a aplikaci selenových nanočástic (SeNPs). V této studii byly k přípravě dispergovaných SeNPs použity kvasnicové glukany s různými stupni aminace (BNs) a byly obohaceny nanočásticemi selenu. Byla připravena řada stabilních roztoků BNs/SeNPs s různým stupněm aminace a obsahem selenu. Velikosti částic 100–300 nm (BNs/SeNPs) dokázaly efektivně potlačit tvorbu NO, IL-1 β a IL-6 v makrofázích RAW 264.7 indukovaných LPS a snížit transkripci mRNA iNOS, IL-1 β , IL-6 a chemokinů (CCL2 a CCL5), což naznačuje, že BNs/SeNPs vykazují protizánětlivou aktivitu (Sun et al. 2023). Makrofágy aktivované LPS navíc způsobují uvolňování zánětlivých mediátorů, jako jsou PGE2, TNF- α , IL-1 β a IL-6, z nichž každý má různé biologické funkce. Tyto mediátory například regulují imunitní reakce, zánět a homeostázu (Zhai et al., 2016).

V práci Campo-Sabariz et al. (2022) byla zkoumána role 2-hydroxy-(4-methylseleno)-butanové kyseliny (OH-SeMet), formy organického selenu, v syntéze selenoproteinů a zánětlivé odpovědi lidských makrofágů odvozených z THP-1 stimulovaných pomocí LPS. U LPS-stimulovaných makrofágů OH-SeMet zvýšil exprese genu GPx1, zlepšil fagocytózní a antiproliferační schopnosti, současně snížil produkci ROS a cytokinů. Navýšení množství OH-SeMet v makrofázích navíc podpořilo exprese genů GPx1. Tento gen kóduje enzym z třídy glutathionperoxidázy. Glutathionperoxidáza má funkci v detoxikaci peroxidu vodíku a je jedním z nejdůležitějších antioxidantních enzymů u lidí. Takže OH-SeMet optimalizovalo a regulovalo zánětlivou odpověď a tím zlepšilo fagocytární schopnosti makrofágů. (Campo-Sabariz et al. 2022)

Ve studii Sandeep et al. (2002) autoři určovali, zda je indukovatelná izoforma syntázy oxidu dusnatého (iNOS) zapojena do aterosklerózy, malignity, revmatoidní artritidy, tkáňových a reperfučních poranění. Klíčovým determinantem pro-oxidačních versus ochranných účinků NO je základní redoxní stav tkáně. Selenoproteiny, jako jsou glutathionperoxidázy (GPx) a thioredoxinreduktázy, jsou klíčovými složkami buněčné obrany a podporují optimální rovnováhu. Aktivita GPx v buňkách je ukazatel množství selenu a hodnota byla 17× nižší u buněčné linie myších makrofágů RAW 264.7 s nedostatkem Se. Po stimulaci těchto buněk pomocí LPS, autoři zjistili výrazně vyšší úroveň transkriptu proteinu iNOS a zvýšenou produkci NO u buněčné linie RAW 264.7 s nedostatkem selenu oproti buňkám s běžným množstvím selenu. Výsledky výše zmíněných studií naznačují, že SeMetCys ovlivňuje produkci NO, která následně reguluje zánětlivou odpověď makrofágů buněčné linie RAW264.7 (Sandeep et al. 2002).

V práci Mal'tseva et al. (2022) byly shrnuty aktuální dostupné informace o účincích selenové insuficience při onemocnění COVID-19. Nedostatečný příjem selenu se obecně považuje za rizikový faktor pro několik chronických onemocnění u zvířat i lidí, spojených s oxidačním stresem a imunitní odpovědí. Vede rovněž k zvýšené citlivosti těla na řadu virových infekcí kvůli působení na různé intracelulární mechanismy jak viru samotného, tak hostitelské buňky. Nedávno bylo prokázáno, že nízký stav selenu je spojen s vyšším rizikem úmrtí na COVID-19. Nejvíce studované organické sloučeniny selenu zahrnují selenomethionin (SeMet), methylselenocystein (SeMetCys) a methylselenovou kyselinu (MSA). MSA je zapojena do aktivace fagocytózy makrofágů, stejně jako do fungování T buněk, Nrf-2 a lýzy NK buněk. MSA zvyšuje expresi glutathionperoxidázy v krvi, stejně jako hladinu NKG2D, INF a MHC1, a moduluje aktivitu různých ligandů NKG2D. Rovněž má výraznou antivirotickou aktivitu, zejména proti viru SARS-COV-2, kdy snižuje jeho replikační schopnost prostřednictvím reakce s proteázou HS-Cys-145-Mpro. Důležitost adekvátní hladiny selenu v potravě a jeho efektivního začlenění do selenoproteinů pro imunitu byla prokázána v buněčných kulturách a zvířecích modelech a bylo zjištěno, že SeMet, SeMetCys a methylselenová kyselina účinně působí při prevenci virových infekcí, jako jsou chřipka H1N1, Enterovirus 71, infekce virem hepatitidy a SARS-CoV-2.

V posledních několika desetiletích dosáhl výzkum selenu pozoruhodného zájmu. Zvláště jeho role při syntéze různých typů selenoproteinů a mnoha regulačních metabolických člověka (Hariharan & Dharmaraj 2020). Během let bylo identifikováno mnoho nových selenoproteinů a byla zdůrazněna jejich důležitost v různých aspektech (Sharma et al. 2007). Sloučeniny selenu

se ukázaly jako prospěšné při léčbě a diagnostice nádorového bujení a v poslední době získaly značnou pozornost v boji proti různým typům nádorů. V budoucnu budou hrát klíčovou roli v prevenci a terapii nádorových onemocnění a rovněž může vzniknout mnoho nových přípravků týkajících se zánětů a jiných chorob (Hariharan & Dharmaraj 2020).

7 Závěr

Cílem práce bylo otestovat hypotézu, zda vybrané formy selenu (methylselenocystein, selenomethionin a selenit) mohou mít zdravotní přínos při zánětlivých onemocněních. Naše hypotéza byla potvrzena jen částečně, kdy při koncentraci 10% tráveniny skutečně došlo k významnému poklesu produkce NO. Nicméně s klesající koncentrací došlo u SeMetCys naopak k výrazné podpoře produkce NO a to o více jak 30 % a mohlo by to hrát negativní roli při zánětlivém onemocnění.

8 Literatura

- Allander, E. (1994). Kashin-Beck disease. An Analysis of research and public health activities based on a bibliography 1849-1992. *Scandinavian Journal of Rheumatology*, 23(S99), 1–36. <https://doi.org/10.3109/03009749409117126>
- Amouroux, D., Liss, P. S., Tessier, E., Hamren-Larsson, M., & Donard, O. F. X. (2001). Role of oceans as biogenic sources of selenium. www.elsevier.com/locate/epsl
- Arthur, J. R., McKenzie, R. C., & Beckett, G. J. (2002). Selenium in the Immune System. *The Journal of Nutrition*, 133(5), 1457S-1459S. <https://doi.org/10.1093/JN/133.5.1457S>
- Arthur, J. R., Mckenzie, R. C., & Beckett, G. J. (2003). Immunity Enhanced by Trace Elements Selenium in the Immune System 1,2. *J. Nutr*, 133, 1457–1459.
- Barceloux, D. G. (1999). Selenium. *Journal of Toxicology - Clinical Toxicology*, 37(2), 145–172. <https://doi.org/10.1081/CLT-100102417>
- Barrett, J. E., Board, P. E., Flockerzi, V., Frohman, H. M. A., Brook, S., Geppetti, N. P., Hofmann, F. F. B., Michel, M. M. C., Page, M. C. P., Rosenthal, L. W., & Wang, B. K. (2017). *Handbook of Experimental Pharmacology*. <http://www.springer.com/series/164>
- Batáriová, A., Černá, M., Spěváčková, V., Čejchanová, M., Beneš, B., & Šmíd, J. (2005). Whole blood selenium content in healthy adults in the Czech Republic. *Science of the Total Environment*, 338(3), 183–188. <https://doi.org/10.1016/j.scitotenv.2004.06.024>
- Beck, M. A., Levander, O. A., & Handy, J. (2003). Oxidative Stress Mediated by Trace Elements Selenium Deficiency and Viral Infection 1. *J. Nutr*, 133, 1463–1467.
- Beilstein, M. A., & Whanger, P. D. (1988). Glutathione Peroxidase Activity and Chemical Forms of Selenium in Tissues of Rats Given Selenite or SeMete*.
- Bernabei, I., So, A., Busso, N., & Nasi, S. (2023). Cartilage calcification in osteoarthritis: mechanisms and clinical relevance. *Nature Reviews. Rheumatology*, 19(1), 10–27. <https://doi.org/10.1038/S41584-022-00875-4>
- Bhatia, V., & Tandon, R. K. (2005). Stress and the gastrointestinal tract. *Journal of Gastroenterology and Hepatology (Australia)*, 20(3), 332–339. <https://doi.org/10.1111/J.1440-1746.2004.03508.X>
- Blaak, E. E., Cardoso, B. R., Cominetti, C., & Seale, L. A. (2022). Editorial: Selenium, Human Health and Chronic Disease. *Frontiers in Nutrition | Wwww.Frontiersin.Org*, 1, 827759. <https://doi.org/10.3389/fnut.2021.827759>
- Bogdan, C., Röllinghoff, M., & Diefenbach, A. (2000). Reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates in innate and specific immunity. *Current Opinion in Immunology*, 12(1), 64–76. [https://doi.org/10.1016/S0952-7915\(99\)00052-7](https://doi.org/10.1016/S0952-7915(99)00052-7)
- Bowen, D. J., & Tinker, L. F. (2020). Controversies in Changing Dietary Behavior. *Nutrition and Health*, 45–66. <https://doi.org/10.1201/9781003068822->

2/CONTROVERSIES-CHANGING-DIETARY-BEHAVIOR-DEBORAH-BOWEN-LESLEY-TINKER

- Brodkorb, A., Egger, L., Alminger, M., Alvito, P., Assunção, R., Ballance, S., Bohn, T., Bourlieu-Lacanal, C., Boutrou, R., Carrière, F., Clemente, A., Corredig, M., Dupont, D., Dufour, C., Edwards, C., Golding, M., Karakaya, S., Kirkhus, B., Le Feunteun, S., ... Recio, I. (2019). INFOGEST static in vitro simulation of gastrointestinal food digestion. <https://doi.org/10.1038/s41596-018-0119-1>
- Bronner, F. (2020). Nutrition and Health. <https://doi.org/10.1201/9781003068822>
- Cardoso, B. R., Braat, S., & Graham, R. M. (2021). Selenium Status Is Associated With Insulin Resistance Markers in Adults: Findings From the 2013 to 2018 National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *Frontiers in Nutrition*, 8. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2021.696024>
- Cardoso, B. R., Cominetti, C., & Seale, L. A. (2021). Selenium, Human Health and Chronic Disease. *Frontiers in Nutrition*, 8, 827759. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2021.827759>
- Casanova, P., & Monleon, D. (2023). World Journal of Diabetes Role of selenium in type 2 diabetes, insulin resistance and insulin secretion Specialty type: Endocrinology and metabolism Provenance and peer review: Peer-review model: Single blind Peer-review report's scientific quality classification Grade a (Excellent): 0 Grade B (Very good): B Grade C (Good): C Grade D (Fair): 0 Grade E (Poor): 0 P-Reviewer. *World J Diabetes*, 14(3), 147–158. <https://doi.org/10.4239/wjd.v14.i3.147>
- Chen, J., & Berry, M. J. (2003). Selenium and selenoproteins in the brain and brain diseases. *Journal of Neurochemistry*, 86(1), 1–12. <https://doi.org/10.1046/J.1471-4159.2003.01854.X>
- Cheng, A. W. M., Stabler, T. V., Bolognesi, M., & Kraus, V. B. (2021). SeMet inhibits IL-1 β inducible nitric oxide synthase (iNOS) and cyclooxygenase 2 (COX2) expression in primary human chondrocytes. <https://doi.org/10.1016/j.joca.2010.10.019>
- Coleman, J. W. (2001). Nitric oxide in immunity and inflammation. *International Immunopharmacology*, 1(8), 1397–1406. [https://doi.org/10.1016/S1567-5769\(01\)00086-8](https://doi.org/10.1016/S1567-5769(01)00086-8)
- Combs, G. F. (2001). Selenium in global food systems. *British Journal of Nutrition*, 85(5), 517–547. <https://doi.org/10.1079/BJN2000280>
- Combs, G. F. (2019). Impact of Selenium and Cancer-Prevention Findings on the Nutrition-Health Paradigm. *Nutrition and Cancer*, 6–11. <https://doi.org/10.4324/9781410608000-3/IMPACT-SELENIUM-CANCER-PREVENTION-FINDINGS-NUTRITION-HEALTH-PARADIGM-GERALD-COMBS>
- Conor Reilly. (2006). Selenium in Food and Health. [https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=55TkaGbyuU8C&oi=fnd&pg=PR13&dq=Introduction+Selenium+Fact+Sheet+for+Health+Professionals.+\(a.n.d.\).&ots=QaGFCvP0gL&sig=VExpB1VZjXI9HJRBOv4yAQbcM_4&redir_esc=y#v=0](https://books.google.cz/books?hl=cs&lr=&id=55TkaGbyuU8C&oi=fnd&pg=PR13&dq=Introduction+Selenium+Fact+Sheet+for+Health+Professionals.+(a.n.d.).&ots=QaGFCvP0gL&sig=VExpB1VZjXI9HJRBOv4yAQbcM_4&redir_esc=y#v=0)

nepage&q=Introduction%20Selenium%20Fact%20Sheet%20for%20Health%20Pr
ofessionals.%20(a.n.d.).&f=false

- Contempre, B., Dumont, J. E., Denef, J. F., & Many, M. C. (1995). Effects of selenium deficiency on thyroid necrosis, fibrosis and proliferation: a possible role in myxoedematous cretinism. *European Journal of Endocrinology*, 133(1), 99–109. <https://doi.org/10.1530/EJE.0.1330099>
- Coppinger, R. J., & Diamond, A. M. (2001). Selenium deficiency and human disease. *Selenium*, 219–233. https://doi.org/10.1007/978-1-4615-1609-5_18
- Daniels, L. A. (1996). Selenium metabolism and bioavailability. *Biological Trace Element Research*, 54(3), 185–199. <https://doi.org/10.1007/BF02784430/METRICS>
- Davis, C. D., Feng, Y., Hein, D. W., & Finley, J. W. (1999). Biochemical and Molecular Roles of Nutrients The Chemical Form of Selenium Influences 3,2-Dimethyl-4-aminobiphenyl-DNA Adduct Formation in Rat Colon 1. *J. Nutr*, 129, 63–69.
- Dias, J. P. V., Costa Sobrinho, P. de S., Pimenta, A. M., Hermsdorff, H. H. M., Bressan, J., & Nobre, L. N. (2021). Dietary Selenium Intake and Type-2 Diabetes: a Cross-Sectional Population-Based Study on CUME Project. *Frontiers in Nutrition*, 8. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2021.678648>
- Dilip Pophaly, S., Singh, P., Kumar, H., Kumar Tomar, S., & Singh, R. (2014). Selenium enrichment of lactic acid bacteria and bifidobacteria: a functional food perspective. <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2014.07.006>
- Dumont, J. E., Corvilain, B., & Contempre, B. (1994). The biochemistry of endemic cretinism: roles of iodine and selenium deficiency and goitrogens. *Molecular and Cellular Endocrinology*, 100(1–2), 163–166. [https://doi.org/10.1016/0303-7207\(94\)90297-6](https://doi.org/10.1016/0303-7207(94)90297-6)
- Duntas, L. H., & Hubalewska-Dydejczyk, A. (2015). Selenium and inflammation-potential use and future perspectives. *US Endocrinology*, 11(2), 97–102. <https://doi.org/10.17925/use.2015.11.02.97>
- El-Bayoumy, K. (2019). Overview: The Late Larry C. Clark Showed the Bright Side of the Moon Element (Selenium) in a Clinical Cancer Prevention Trial. *Nutrition and Cancer*, 4–5. <https://doi.org/10.4324/9781410608000-2/OVERVIEW-LATE-LARRY-CLARK-SHOWED-BRIGHT-SIDE-MOON-ELEMENT-SELENIUM-CLINICAL-CANCER-PREVENTION-TRIAL-KARAM-EL-BAYOUMY>
- Falk, M., Bernhoft, A., Framstad, T., Salbu, B., Wisløff, H., Kortner, T. M., Kristoffersen, A. B., & Oropeza-Moe, M. (2018). Effects of dietary sodium selenite and organic selenium sources on immune and inflammatory responses and selenium deposition in growing pigs. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 50, 527–536. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2018.03.003>
- Ferenčík, M., & Ebringer, L. (2003). Modulatory effects of selenium and zinc on the immune system. *Folia Microbiologica*, 48(3), 417–426. <https://doi.org/10.1007/BF02931378/METRICS>

- FitzPatrick, M. E. B., & Keshav, S. (2020). Structure and function of the gastrointestinal tract. *Oxford Textbook of Medicine*, C15.1-C15.1.P42. <https://doi.org/10.1093/MED/9780198746690.003.0284>
- Forchhammer, K., & Böck, A. (1991). SeCyse synthase from *Escherichia coli*. Analysis of the reaction sequence. *Journal of Biological Chemistry*, 266(10), 6324–6328. [https://doi.org/10.1016/S0021-9258\(18\)38121-3](https://doi.org/10.1016/S0021-9258(18)38121-3)
- Frankenberger. (1994). Selenium in the Environment. <https://doi.org/10.1201/9781482293432>
- Frankenberger, W. T., & Engberg, R. A. (1998). Environmental Chemistry of Selenium. *Environmental Chemistry of Selenium*. <https://doi.org/10.1201/9781482269949/ENVIRONMENTAL-CHEMISTRY-SELENIUM-WILLIAM-FRANKENBERGER-RICHARD-ENGBERG>
- Ganyc, D., Talbot, S., Konate, F., Jackson, S., Schanen, B., Cullen, W., & Self, W. T. (2007). Impact of trivalent arsenicals on selenoprotein synthesis. *Environmental Health Perspectives*, 115(3), 346–353. <https://doi.org/10.1289/EHP.9440/ASSET/6BA6E376-3A15-48C5-921D-CFF80B9AB47F/ASSETS/GRAPHIC/EHP0115-000346F9.JPG>
- Genchi, G., Lauria, G., Catalano, A., Sinicropi, M. S., & Carocci, A. (2023). Biological Activity of Selenium and Its Impact on Human Health. *International Journal of Molecular Sciences*, 24(3). <https://doi.org/10.3390/IJMS24032633>
- Gertz, K., Priller, J., Kronenberg, G., Fink, K. B., Winter, B., Schröck, H., Ji, S., Milosevic, M., Harms, C., Böhm, M., Dirnagl, U., Laufs, U., & Endres, M. (2006). Physical Activity Improves Long-Term Stroke Outcome via Endothelial Nitric Oxide Synthase-Dependent Augmentation of Neovascularization and Cerebral Blood Flow. <https://doi.org/10.1161/01.RES.0000250175.14861.77>
- Goodman, B. E. (2010). Insights into digestion and absorption of major nutrients in humans. *American Journal of Physiology - Advances in Physiology Education*, 34(2), 44–53. <https://doi.org/10.1152/ADVAN.00094.2009/ASSET/IMAGES/LARGE/ZU10021025780006.JPEG>
- Goyens, P., Golstein, J., Nsombola, B., Vis, H., & Dumont, J. E. (1987). Selenium deficiency as a possible factor in the pathogenesis of myxoedematous endemic cretinism. *Acta Endocrinologica*, 114(4), 497–502. <https://doi.org/10.1530/ACTA.0.1140497>
- Greenwood-Van Meerveld, B., Johnson, A. C., & Grundy, D. (2017). Gastrointestinal physiology and function. *Handbook of Experimental Pharmacology*, 239. https://doi.org/10.1007/164_2016_118
- Gregersen, H., & Kassab, G. (1996). Biomechanics of the gastrointestinal tract. *Neurogastroenterology & Motility*, 8(4), 277–297. <https://doi.org/10.1111/J.1365-2982.1996.TB00267.X>
- Hadrup, N., & Ravn-Haren, G. (2021). Absorption, distribution, metabolism and excretion (ADME) of oral selenium from organic and inorganic sources: a review. In *Journal*

- of Trace Elements in Medicine and Biology (Vol. 67). Elsevier GmbH. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2021.126801>
- Han, J., Wang, W., Qu, C., Liu, R., Li, W., Gao, Z., Guo, X., Editor, R., & Di Battista, J. (2015). Role of inflammation in the process of clinical Kashin-Beck disease: latest findings and interpretations Aquaglyceroporin CCP Cyclic citrullinated peptide COX Cyclooxygenase CSGALNACT Chondroitin sulfate N-acetylgalactosaminyltransferase CTX-II Type II collagen DAMPs Damage (or danger) associated molecular patterns. *Inflammation Research*, 64, 853–860. <https://doi.org/10.1007/s00011-015-0861-6>
- Hariharan, S., & Dharmaraj, · Selvakumar. (2020). Selenium and selenoproteins: it's role in regulation of inflammation. *Inflammopharmacology*, 1, 667–695. <https://doi.org/10.1007/s10787-020-00690-x>
- Hawkes, W. C., Willhite, C. C., Craig, K. A., Omaye, S. T., Cox, D. N., Choy, W. N., & Hendrickx, A. G. (1992). Effects of excess SeMet on selenium status indicators in pregnant long-tailed macaques (*Macaca fascicularis*). *Biological Trace Element Research*, 35(3), 281–297. <https://doi.org/10.1007/BF02783772>
- Hawkes, W. C., Willhite, C. C., Omaye, S. T., Cox, D. N., Choy, W. N., & Tarantal, A. F. (1994). Selenium kinetics, placental transfer, and neonatal exposure in cynomolgus macaques (*Macaca fascicularis*). *Teratology*, 50(2), 148–159. <https://doi.org/10.1002/TERA.1420500209>
- Hou, J., Wang, T., Liu, M., Li, S., Chen, J., Liu, C., Zhang, H., Wang, Y., Liu, Z., Liang, N., Wan, Y., Li, Q., Sun, S., Zhang, L., Feng, H., Liu, Y., Wang, H., Hou, J., Wang, T., ... Li, Q. (2011). Suboptimal Selenium Supply-A Continuing Problem in Keshan Disease Areas in Heilongjiang Province. *Biol Trace Elem Res*, 143, 1255–1263. <https://doi.org/10.1007/s12011-011-8961-9>
- Hu, Y., Chai, X., Men, J., Rao, S., Cong, X., Cheng, S., & Qiao, Z. (2022). Does Methionine Status Influence the Outcome of Selenomethionine Supplementation? a Comparative Study of Metabolic and Selenium Levels in HepG2 Cells. *Nutrients*, 14(18). <https://doi.org/10.3390/nu14183705>
- Huang, Z., Rose, A. H., & Hoffmann, P. R. (2012). The Role of Selenium in Inflammation and Immunity: From Molecular Mechanisms to Therapeutic Opportunities. <https://doi.org/10.1089/ars.2011.4145>
- Hyršlova, I., Kana, A., Nesporova, V., Mrvikova, I., Doulgeraki, A. I., Lampova, B., Doskocil, I., Musilova, S., Kieliszek, M., & Krausova, G. (2024). In vitro digestion and characterization of selenized *Saccharomyces cerevisiae*, *Pichia fermentans* and probiotic *Saccharomyces boulardii*. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology : Organ of the Society for Minerals and Trace Elements (GMS)*, 83. <https://doi.org/10.1016/J.JTEMB.2024.127402>
- Hyršlová, J. (2014). SUSTAINABILITY REPORTING-A REVIEW OF TRENDS AND SITUATION IN CR.
- Jackson, A. D., & Mclaughlin, J. (2009). Digestion and absorption. *Surgery*, 27, 231–236. <https://doi.org/10.1016/j.mpsur.2009.03.003>

- Kieliszek, M., & Serrano Sandoval, S. N. (2023). The importance of selenium in food enrichment processes. a comprehensive review. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 79, 127260. <https://doi.org/10.1016/J.JTEMB.2023.127260>
- Krause, R. J., Glocke, S. C., Sicuri, A. R., Ripp, S. L., & Elfarrar, A. A. (2006). Oxidative metabolism of seleno-L-methionine to L-methionine selenoxide by flavin-containing monooxygenases. *Chemical Research in Toxicology*, 19(12), 1643–1649. <https://doi.org/10.1021/TX0601915>
- Krausová, M. G. (2020). Charakterizace selenem-obožených mikroorganismů. https://www.vumlekarensky.cz/upload/soubory/metodiky/COST_CM_2022.pdf
- Kvicala, J. (2023). ZVÝŠENÍ PŘÍJMU MIKRONUTRIENTU SELENU – UTOPIE, FIKCE, PROZŘETELNOST ČI NUTNOST? – II. ČÁST.
- Kvicala, J., Zamrazil, V., Soutorová, M., & Tomiška, F. (1995). Correlations between parameters of body selenium status and peripheral thyroid parameters in the low selenium region. *The Analyst*, 120(3), 959–965. <https://doi.org/10.1039/AN9952000959>
- Larry C. Clark. (2001). Nutrition and Cancer. <https://doi.org/10.4324/9781410608000>
- Larry E. Johnson. (2023). Selenium Toxicity - Nutritional Disorders - MSD Manual Professional Edition. <https://www.msdmanuals.com/professional/nutritional-disorders/mineral-deficiency-and-toxicity/selenium-toxicity>
- Lei, C., Niu, X., Xiangke, •, • M., & Wei, J. (2010). Is selenium deficiency really the cause of Keshan disease? <https://doi.org/10.1007/s10653-010-9331-9>
- Li, H. F., McGrath, S. P., & Zhao, F. J. (2008). Selenium uptake, translocation and speciation in wheat supplied with selenate or selenite. *New Phytologist*, 178(1), 92–102. <https://doi.org/10.1111/J.1469-8137.2007.02343.X>
- Li, Y., Peng, T., Yang, Y., Niu, C., Archard, L. C., & Zhang, H. (2000). High prevalence of enteroviral genomic sequences in myocardium from cases of endemic cardiomyopathy (Keshan disease) in China. *Heart*, 83(6), 696–701. <https://doi.org/10.1136/HEART.83.6.696>
- Li, Z., Dong, Y., Chen, S., Jia, X., Jiang, X., Che, L., Lin, Y., Li, J., Feng, B., Fang, Z., Zhuo, Y., Wang, J., Xu, H., Wu, D., & Xu, S. (2021). Organic Selenium Increased Gilts Antioxidant Capacity, Immune Function, and Changed Intestinal Microbiota. *Frontiers in Microbiology*, 12. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.723190>
- Longnecker, M. P., Taylor, P. R., Levander, O. A., Howe, S. M., Veillon, C., McAdam, P. A., Patterson, K. Y., Holden, J. M., Stampfer, M. J., Morris, J. S., & Willett, W. C. (1991). Selenium in diet, blood, and toenails in relation to human health in a seleniferous area. *American Journal of Clinical Nutrition*, 53(5), 1288–1294. <https://doi.org/10.1093/ajcn/53.5.1288>
- Macfarlane, N. G. (2018). Digestion and absorption.
- Mal'tseva, V. N., Goltyaev, M. V., Turovsky, E. A., & Varlamova, E. G. (2022). Immunomodulatory and Anti-Inflammatory Properties of Selenium-Containing Agents: Their Role in the Regulation of Defense Mechanisms against COVID-19.

- In International Journal of Molecular Sciences (Vol. 23, Issue 4). MDPI. <https://doi.org/10.3390/ijms23042360>
- Mattmiller, S. A., Carlson, B. A., & Sordillo, L. M. (2013). Regulation of inflammation by selenium and selenoproteins: Impact on eicosanoid biosynthesis. *Journal of Nutritional Science*, 2, 1–13. <https://doi.org/10.1017/jns.2013.17>
- Mcquilken, S. A. (2019). Digestion and absorption. <https://doi.org/10.1016/j.mpaic.2024.01.009>
- Minich, W. B. (2022). Selenium Metabolism and Biosynthesis of Selenoproteins in the Human Body. In *Biochemistry (Moscow)* (Vol. 87, pp. S168–S177). Pleiades journals. <https://doi.org/10.1134/S0006297922140139>
- Moghadaszadeh, B., & Beggs, A. H. (2006). Selenoproteins and their impact on human health through diverse physiological pathways. *Physiology*, 21(5), 307–315. <https://doi.org/10.1152/PHYSIOL.00021.2006/ASSET/IMAGES/LARGE/Y0021-6-03.JPEG>
- Mrvikova, I., Hysrlova, I., Kana, A., Kantorova, V., Lampova, B., Dorskocil, I., & Krausova, G. (2024). Selenium enriched bifidobacteria and lactobacilli as potential dietary supplements. *World Journal of Microbiology & Biotechnology*, 40(5). <https://doi.org/10.1007/S11274-024-03960-W>
- Nelson, S. M., Shay, A. E., James, J. L., Carlson, B. A., Urban, J. F., & Sandeep Prabhu, K. (2015). Selenoprotein Expression in Macrophages Is Critical for Optimal Clearance of Parasitic Helminth *Nippostrongylus brasiliensis* *. <https://doi.org/10.1074/jbc.M115.684738>
- Nogueira, C. W., Barbosa, N. V., & Rocha, J. B. T. (2021). Toxicology and pharmacology of synthetic organoselenium compounds: an update. *Archives of Toxicology*, 95, 1179–1226. <https://doi.org/10.1007/s00204-021-03003-5>
- Ogobuiro, I., Gonzales, J., Shumway, K. R., & Tuma, F. (2023). Physiology, Gastrointestinal. StatPearls. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537103/>
- Pan, M. H., Hong, H. M., Lin, C. L., Jhang, A. Z., Tsai, J. H., Badmaev, V., Nagabhushanam, K., Ho, C. T., & Chen, W. J. (2011). Se-methylSeCyse inhibits lipopolysaccharide-induced NF- κ B activation and iNOS induction in RAW 264.7 murine macrophages. *Molecular Nutrition and Food Research*, 55(5), 723–732. <https://doi.org/10.1002/MNFR.201000481>
- P.D. Whanger. (1998). Metabolism of selenium in humans - The Journal of Trace Elements in Experimental Medicine - Wiley Online Library. [https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/\(SICI\)1520-670X\(1998\)11:2/3%3C227::AID-JTRA13%3E3.0.CO;2-T](https://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1002/(SICI)1520-670X(1998)11:2/3%3C227::AID-JTRA13%3E3.0.CO;2-T)
- Peng, A., Yang, C., Rui, H., & Li, H. (1992). Study on the pathogenic factors of kashin-beck disease. *Journal of Toxicology and Environmental Health, Part a Current Issues*, 35(2), 79–90. <https://doi.org/10.1080/15287399209531597>
- Petrović, M. (2021). Selenium: widespread yet scarce, essential yet toxic. *ChemTexts*, 7, 11. <https://doi.org/10.1007/s40828-021-00137-y>

- Reid, M. E., Stratton, M. S., Lillico, A. J., Fakih, M., Natarajan, R., Clark, L. C., & Marshall, J. R. (2004). Trace Elements Trace Elements a report of high-dose selenium supplementation: response and toxicities. *Medicine and Biology Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 18, 69–74. <https://doi.org/10.1016/j.jtemb.2004.03.004>
- Roman, M., Jitaru, P., & Barbante, C. (2014). Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics*, 6(1), 25–54. <https://doi.org/10.1039/C3MT00185G>
- Sandeep, K., Zamamiri-Davis, F., Stewart, J. B., Thompson, J. T., Sordillo, L. M., & Reddy, C. C. (2002). Selenium deficiency increases the expression of inducible nitric oxide synthase in RAW 264.7 macrophages : role of nuclear factor- κ B in up-regulation. *Biochem. J*, 366, 203.
- Santos, A. de C., Passos, A. F. F., Holzbach, L. C., & Cominetti, C. (2021). Selenium Intake and Glycemic Control in Young Adults With Normal-Weight Obesity Syndrome. *Frontiers in Nutrition*, 8. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2021.696325>
- Schrauzer, G. N. (2003). THE NUTRITIONAL SIGNIFICANCE, METABOLISM AND TOXICOLOGY OF SEMETE. [https://doi.org/10.1016/S1043-4526\(03\)47002-2](https://doi.org/10.1016/S1043-4526(03)47002-2)
- Sharma, J. N., Al-Omran, A., & Parvathy, S. S. (2007). Review Role of nitric oxide in inflammatory diseases. *Infl Ammopharmacology*, 15, 252–259. <https://doi.org/10.1007/s10787-007-0013-x>
- Shreenath, A. P., Hashmi, M. F., & Dooley, J. (2023). Selenium Deficiency. *StatPearls*. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK482260/>
- Sun, Y., Wang, Z., Gong, P., Yao, W., Ba, Q., & Wang, H. (2023). Review on the health-promoting effect of adequate selenium status. *Frontiers in Nutrition*, 10, 1136458. <https://doi.org/10.3389/FNUT.2023.1136458/BIBTEX>
- Swanson, C. A., Longnecker, M. P., Veillon, C., Howe, S. M., Levander, O. A., Taylor, P. R., McAdam, P. A., Brown, C. C., Stampfer, M. J., & Willett, W. C. (1990). Selenium intake, age, gender, and smoking in relation to indices of selenium status of adults residing in a seleniferous area. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 52(5), 858–862. <https://doi.org/10.1093/AJCN/52.5.858>
- Turck, D., Bohn, T., Castenmiller, J., de Henauw, S., Hirsch-Ernst, K.-I., Knutsen, H. K., Maciuk, A., Mangelsdorf, I., McArdle, H. J., Peláez, C., Pentieva, K., Siani, A., Thies, F., Tsabouri, S., Vinceti, M., Aggett, P., Crous Bou, M., Cubadda, F., Ciccolallo, L., ... Naska, A. (2023). Scientific opinion on the tolerable upper intake level for selenium. *EFSA Journal*. European Food Safety Authority, 21(1), e07704. <https://doi.org/10.2903/j.efsa.2023.7704>
- Ujang Tinggi. (2005). *Selenium Toxicity and Its Adverse Health Effects*. CRC Press. <https://doi.org/10.1201/9781420037524-2>
- Utiger, R. D. (1998). Kashin–Beck Disease — Expanding the Spectrum of Iodine-Deficiency Disorders. *New England Journal of Medicine*, 339(16), 1156–1158. <https://doi.org/10.1056/NEJM199810153391611>

- Vanda Papp, L., Holmgren, A., Kum Khanna, K., Finley, J. W., Sies, H., Stolz, J. F., & Williamson, G. (2007). From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, Identity, and Their Role in Human Health. *https://Home.Liebertpub.Com/Ars*, 9(7), 775–806. <https://doi.org/10.1089/ARS.2007.1528>
- Vanderpas, J. B., Contempré, B., Duale, N. L., Goossens, W., Bebe, N., Thorpe, R., Ntambue, K., Dumont, J., Thilly, C. H., & Diplock, A. T. (1990). Iodine and selenium deficiency associated with cretinism in northern Zaire. *American Journal of Clinical Nutrition*, 52(6), 1087–1093. <https://doi.org/10.1093/ajcn/52.6.1087>
- Vinceti M, Filippini T, & Del Giovane C. (2020). Cochrane Library Cochrane Database of Systematic Reviews Selenium for preventing cancer (Review). <https://doi.org/10.1002/14651858.CD005195.pub4>
- Wang, L., Jing, J., Yan, H., Tang, J., Jia, G., Liu, G., Chen, X., Tian, G., Cai, J., Shang, H., & Zhao, H. (2011). Selenium Pretreatment Alleviated LPS-Induced Immunological Stress Via Upregulation of Several Selenoprotein Encoding Genes in Murine RAW264.7 Cells. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1333-y>
- Whanger, P. D. (1996). The Relationship of Dietary Selenium to Carcinogenesis. *Therapeutic Uses of Trace Elements*, 341–344. https://doi.org/10.1007/978-1-4899-0167-5_58
- Willhite'i ", C. C., Hawkes~, W. C., Omaye, S. T., Choy[[, W. N., Cox, D. N., & Cukierski, M. J. (1992). DISTRIBUTION AND ELIMINATION OF L-SEMETE IN NON-HUMAN PRIMATES*. *Fd Chem. Toxic*, 30, 903–913.
- Xia, J., Xia, X., Wang, W., Xia, J., & Li, M. (2020). Protective Effect of Se-MethylSeCyse on Elaidic Acid-Induced Inflammation in Human Arterial Endothelial Cells. *J Nutr Sci Vitaminol*, 66, 577–582.
- Yin, M. B., Li, Z. R., Tóth, K., Cao, S., Durrani, F. A., Hapke, G., Bhattacharya, A., Azrak, R. G., Frank, C., & Rustum, Y. M. (2006). Potentiation of irinotecan sensitivity by Se-methylSeCyse in an in vivo tumor model is associated with downregulation of cyclooxygenase-2, inducible nitric oxide synthase, and hypoxia-inducible factor 1 α expression, resulting in reduced angiogenesis. *Oncogene* 2006 25:17, 25(17), 2509–2519. <https://doi.org/10.1038/sj.onc.1209073>
- Zhang, H.-Y., Zhang, A.-R., Lu, Q.-B., Zhang, X.-A., Zhang, Z.-J., Guan, X.-G., Che, T.-L., Yang, Y., Li, H., Liu, W., & Fang, L.-Q. (2021). Association between fatality rate of COVID-19 and selenium deficiency in China. <https://doi.org/10.1186/s12879-021-06167-8>
- Zhang, J., & Spallholz, J. E. (2009). Toxicity of Selenium Compounds and Nano-Selenium Particles. *General, Applied and Systems Toxicology*. <https://doi.org/10.1002/9780470744307.GAT243>
- Zhou, H., Wang, T., Li, Q., & Li, D. (2011). Prevention of Keshan Disease by Selenium Supplementation: a Systematic Review and Meta-analysis. <https://doi.org/10.1007/s12011-018-1302-5>

9 Seznam použitých zkratk a symbolů

Zkratka	Význam
ATP	adenosintrifosfát
BNs	kvasnicové glukany s různými stupni aminace
COX2	cyklooxygenáza 2
EKG	elektrokardiogram
ERK	extracelulárně regulované kinázy
E-selektin	CD62 antigen-like člen rodiny E, endoteliální-leukocytová adhezni molekula
FBS	Fetal bovine serum
GPx	glutathionperoxidáza
GSH	redukovaný glutathion
G-SH	redukovaný glutathion
G-S-Se	nestabilní sloučenina při nadbytku glutathionu
GS-SeH	glutathioselenol
G-S-Se-S-G	selenodiglutathion
GSSG	glutathion disulfid
HAECs	arteriální endoteliální buňky
ICAM-1	intercelulární adhezni molekuly
IL-1 β	interleukin 1 beta
IL-6	interleukin 6
IL-8	interleukin 8
iNOS	izoforma syntázy oxidu dusnatého
JNK	c-Jun N-terminální kináza
LPS	lipopolysacharid
mRNA	messenger RNA
MSA	methylselenovou kyselinu
NADPH	nikotinamidadenindinukleotidfosfát
NF- κ B	jaderného faktoru- κ B
NO	oxid dusnatý
NOS	syntáza oxidu dusnatého
OH-SeMet	2-hydroxy-(4-methylseleno)-butanové kyseliny
PGE2	prostaglandin E2
PLGA	co-polymeru mléčné kyseliny a glykolové kyseliny
PSTK	O-fosfoseryl-tRNA kinázy
RNS	reaktivní formy dusíku
ROS	reaktivními formy kyslíku
rRNA	ribosomální RNA
R-S-Se-S-R	selenotrisulfidy
rT3	izomer 3,3',5' -triiodotyronin
SECIS	SeCys Sekvence vkládání
SeCys	selenocystein

Se-GPx	selen - dependetní glutathionperoxidáza
Se-HEP-PLGA	selenovými polysacharidy z <i>Heridium erinaceus</i>
SeIV	selenit
SeMetCys	selenomethylcystein
SeNPs	nanokrystaly selenu
SepSerS	SeCysyl-tRNA syntetázy
SerRS	Seryl-tRNA syntetáza
SGF	simulovaná žaludeční tekutina
SIF	simulovaná střevní tekutina
SPS2	selenofosfát syntetázy 2
SSF	simulovaná slinivková tekutina
T3	3,5,3' - triiodotyronin
T4	3,5,3',5' - tetrajodotyronin
THP-1	monocytární lidská buněčná linie
TNF- α	tumor necrosis factor α
Trx	thioredoxinem
TrxR	thioredoxinreduktáza
TSH	štítné žlázy stimulujícího štítnou žlázu
WHO	Světová zdravotnická organizace