

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Katedra anatomie a fyziologie hospodářských zvířat

OBOROVÁ RADA: OBECNÁ ZOOTECHNIKA



DISERTAČNÍ PRÁCE

NA TÉMA:

**VLIV ZKRMOVÁNÍ RŮZNÝCH FOREM SELENU NA
ÚROVEŇ PLAZMATICKÝCH BÍLKOVIN
A AKTIVITU GLUTATIONPEROXIDÁZY U OVCÍ.**

2008

ŠKOLITEL:

doc. Ing. Jan Trávníček, CSc.

ŠKOLITEL SPECIALISTA:

prof. RNDr. Ing. Vlasta Kroupová, CSc.

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem disertační práci na téma „Vliv zkrmování různých forem selenu na úroveň plazmatických bílkovin a aktivitu glutathionperoxidázy u ovcí“ **vypracovala samostatně** na základě vlastních zjištění a materiálů, které jsem uvedla v seznamu literatury.

.....

Ing. Hana Rodinová

V Českých Budějovicích dne 25.8.2008

PODĚKOVÁNÍ

Ráda bych tímto poděkovala mému školiteli a vedoucímu katedry **doc. Ing. Janu Trávníčkovi, CSc.**, a školiteli specialistovi **prof. RNDr. Ing. Vlastě Kroupové, CSc.**, za jejich cenné rady a odborné vedení při řešení úkolů předložené disertační práce. Dále bych ráda poděkovala celému kolektivu **katedry anatomie a fyziologie hospodářských zvířat** za tvůrčí prostředí, které mi pomohlo tuto práci vypracovat a také za jejich nemalý podíl při získávání vzorků. Speciální poděkování patří **paní Richterové a Ing. Staňkové** za cenné rady v průběhu laboratorních analýz a **paní Randákové** za pomoc při řešení problémů administrativního rázu. Za pomoc při ošetřování pokusných zvířat dekuji **Ing. Karlíčkové** a všem zaměstnancům ŠZP. Velký dík patří kolektivu Lékařské fakulta Univerzity Karlovi a Fakultní nemocnice Plzeň, Ústav klinické biochemie a hematologie, vedeným **prof. MUDr. Jaroslavem Rackem, DrSc.**, za pomoc při stanovení a zpracování výsledků aktivity GSH-Px. V neposlední řadě děkuji své rodině a blízkým za cennou morální podporu a trpělivost v průběhu mého studia.

1. ÚVOD

V koncepci agrární politiky české republiky pro období po vstupu do EU jsou v živočišné produkci zdůrazněny principy zajištění celkové pohody zvířat včetně optimálního příjmu živin s ohledem na jejich maximální geneticky danou produkční kapacitu, která se v souvislosti s šlechtitelskými programy stále zvyšuje. Tato skutečnost i změny životního prostředí zvyšují intenzitu látkové přeměny a s tím i zátěž organismu, což je provázáno intenzivní peroxidací. V této souvislosti se i dieta hospodářských zvířat obohacuje o tzv. antioxidanta, mezi která lze zařadit i selen, jehož nepostradatelnost byla objevena teprve v roce 1957.

V současnosti představuje selen běžný komponent minerálních krmných přísad pro všechna hospodářská zvířata a celosvětově se rozvinul výzkum optimálních forem jeho dotace z hlediska fyziologického i ekonomického.

Katedra Anatomie a fyziologie hospodářských zvířat na Zemědělské fakultě, Jihočeské Univerzitě v Českých Budějovicích se problematikou selenu zabývá již od roku 1969. V tomto období docházelo v souvislosti s nedostatkem Se a vitamínu E k hromadnému uléhání mladého skotu po přesunu na horské pastviny Šumavy.

V současnosti lze již využít rozvinuté laboratorní techniky k podrobnějšímu průzkumu metabolického uplatnění selenu a k vymezení jeho optimálního příjmu s ohledem na množství a formu jeho podávání. Katedra anatomie a fyziologie hospodářských zvířat ZF JU v Č. Budějovicích navázala spolupráci s výzkumníky na Akademii věd v Třeboni, kterým se podařilo připravit organickou formu selenu vázanou na sladkovodní řasu rodu *Chlorella*.

Mezi hlavní cíle předložené práce patří testace dopadu podávání organické a anorganické formy selenu na reprodukci a imunitu ovcí jako hospodářských zvířat vhodných pro experiment i významných v budoucnosti pro výživu člověka a přírodě blízké obhospodařování trvalých travních porostů, především v oblastech s vyšším stupněm ochrany přírody.

2. LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Selen a jeho charakteristika

Selen objevil švédský chemik Jöhn Jakob Berzelius v bahně olověných komor při výrobě kyseliny sírové a nazval jej selen, podle řeckého označení měsíce, aby naznačil jeho příbuznost s telurem.

Selen je polokov, po chemické stránce se podobá síře. Jeho atomové číslo je 34 a atomová hmotnost 78,96. Vyskytuje se v pevném skupenství s bodem tání 221°C a varu 685°C. Selen se vyskytuje jako selenid (2^-), selenatan (2^+), seleničitan (4^+) a selenan (6^+). Jeho sloučeniny jsou ve vysoké koncentraci pro organismus toxické (McDowell 1992; <http://cs.wikipedia.org>).

Selen byl původně studován v souvislosti s toxickými účinky na zvířata a lidi, které byly popsány v severní Americe jako „alkalická choroba“ u skotu spásajícího rostliny s vyšším obsahem selenu. Příznaky podobné otravě selenem popsal již ve 13. století u koní Marco Polo během svého pobytu v Číně. Ještě ve 30. letech minulého století byl selen považován nejen za toxický, ale i karcinogenní. Teprve Schwarz et Foltz (1957) obrátili pozornost vědecké veřejnosti na jeho fyziologické účinky, na význam pro růst a zdraví u zvířat i lidí. Rozsáhlý biomedicínský výzkum prokázal nepostradatelnost selenu. Bylo objeveno mnoho regulačních a ochranných dějů, ve kterých selen hraje důležitou roli. Jde o antioxidační a antiradikálovou aktivitu skupin GSH-peroxidáz a dalších selenoproteinů, působících samostatně nebo ve spolupráci s jinými enzymy a organickými látkami.

Objev selenu jako nepostradatelného stopového prvku (Schwarz et Foltz 1957) a průkaz jeho účinků v prevenci a terapii chorobných stavů u hospodářských zvířat souvisejících s jeho nedostatkem v krmivech přispěl již v polovině minulého století k řešení významných problémů živočišné výroby (Rosenfeld et Beath 1964; Diplock 1970).

Ukázalo se, že projevy karence selenu jsou zajímavé nejen teoreticky (Hess a Zimmermann 2004). Ve sdělení autorů (Pavlata et al. 2001a; Pavlata 2004) se potvrzují ne zcela zanedbatelné ztráty v živočišné výrobě a dle Kvičala et Kroupová (1999); Kvičala et al. (2005) i oslabení lidského zdraví.

2.1.1 Metabolismus selenu

2.1.1.1 Resorpce selenu

Resorpce selenu probíhá aktivním způsobem v tenkém střevě, především v duodenu a v menší míře v tlustém střevě. Míra resorpce je u monogastrických zvířat vyšší než u přežvýkavců, protože v redukčním prostředí předžaludků dochází k tvorbě nerozpustných a špatně vstřebatelných sloučenin selenu (Undervood et Suttle 1999; Jelínek et al. 2003). Bachorové mikroorganizmi redukuje mnoho anorganického Se z diety na nevstřebatelný elementární Se nebo selenovodík. U monogastrických zvířat dosahuje resorpce až 80%, u přežvýkavců jen 30 – 40%. Zvláště nízká je resorpce u ovcí (29%). V podobě selenomethioninu se vstřebávání selenu zvyšuje a dosahuje 50 - 60% (Wright et Bell 1966; Wolframm et al. 1989; van Ryssen et Schroeder 2003).

Resorpce selenu a jodu se na rozdíl od zinku, železa, mědi a manganu uskutečňuje na úrovni střeva jen minimálně a během pasáže ve střevech nedochází u těchto prvků k významným interakcím s dalšími složkami diety. Organismus je víceméně pasivně vystaven přísunu selenu ze střeva v závislosti na množství tohoto prvku v dietě.

Hlavní homeostatická regulace metabolismu selenu v organismu se odehrává prostřednictvím jeho renální exkrece. Při nedostatku selenu se jeho resorpce zvyšuje a ukládá se v relativně vyšší koncentraci v játrech, ledvinách a svalovině.

Resorpce je ovlivněna věkem zvířat, množstvím selenu v krmné dávce a především chemickou formou a rozpustností selenových sloučenin (Jelínek et al. 2003; Pavlata 2004).

U novorozených mláďat a v období mléčné výživy není vazba na geografickou lokalitu a obsah selenu v rostlinných krmivech přímá a saturace jejich organismu tímto prvkem je závislá na saturaci organismu matek, neboť selen přestupuje přes placentární i mamární bariéru. Enjalbert et al. (1999) sledovali úroveň zásobení selenem u krav s jeho karencí a u jejich telat při podávání selenu kravám před nebo po otelení. Došli k závěru, že placentární transfer selenu je efektivnější než přechod selenu do organismu telat prostřednictvím přijímaného mléka. Pokud byl selen podáván březím kravám, byla pak jejich telata tímto prvkem dostatečně zásobena, kdežto telata od krav dotovaných selenem až po otelení byly i přes injekční aplikaci selenu zjištěny jeho nízké hodnoty.

2.1.1.2 Oběh selenu v organismu

Důležitým zdrojem selenu ve výživě zvířat jsou organicky vázané selenoaminokyseliny, selenomethionin (SeMet), selenocystein (SeCys) a anorganický selen ve formě seleničitanu nebo selenanu. Selenomethionin představuje hlavní přirozeně se vyskytující formu Se v rostlinných komponentech krmiv. Kukuřice, pšenice a sója obsahují až 81% Se ve formě selenomethioninu – rozhodujícího nutričního zdroje Se pro člověka a zvířata vzhledem k jejich neschopnosti syntetizovat methionin a jejich závislosti na jeho příjmu potravou (Schrauzer 2001). Zatímco selenoaminokyseliny jsou hlavním selenovým zdrojem rostlinného původu, lokalizovaným hlavně v bílkovinných frakcích, seleničitan a selenan jsou plošně zvířatům dodávány jako anorganické lizy.

Metabolické cesty anorganické a organické formy Se přijatého krmivem se liší. Selen použitý na syntézu selenoproteinů musí být nejprve přeměněn na selenovodík (H_2Se). Ten může být zabudován do selenoproteinu nebo je vyloučen močí. Včlenění selenu do metabolismu vyžaduje jeho transformaci na selenofosfát, který je pomocí selenocysteinyl-tRNA zabudován do selenocysteinylového zbytku (Daniels 1996). Selenan je redukován na seleničitan sodný a ten přes selenodiglutation na selenovodík (Foster et Sumar 1997). Selenomethionin (Se-Met) je nejprve aktivovaný adenozytlázou, demetylovaný a konvertovaný na selenocystein cestou selenohomocysteinu a selenocysteinu na analog methioninu. Alternativně může být hydrogen selenid ze Se-Met uvolněn cestou L-methionin- γ -lyázy (Stunde 1990).

Selenomethionin má schopnost se nescificky včlenit do tělních proteinů, při čemž u bakterií, rostlin i u zvířat tRNA^{met} nerozlišuje methionin od selenomethioninu (Daniels 1996). Se-Met nepoužitý na syntézu selenoproteinů je takto zabudovaný do orgánů a tkání s vysokou syntézou proteinů jako jsou kosterní svalovina, erytrocyty, slinivka, játra, ledviny a žaludek (Schrauzer 2000b). Větší část anorganického Se nepoužitá v játrech na syntézu selenoproteinů je rychle vylučovaná močí. Začlenění selenomethioninu do tělních bílkovin umožňuje vytváření tkáňových rezerv, využitelných při zvýšené potřebě Se v organismu během gravidity nebo obrany proti chorobám a při jeho přenosu na potomstvo (embryonální a fetální období). Se ze selenoaminokyselin nacházejících se v mléku zabezpečuje snadno metabolizovatelnou zásobu Se pro mláďata.

2.1.1.1.2 Řasa jako nosič prvků

Řasy jsou jednoduché [fotosyntetizující](#) organismy, tradičně řazené mezi [nižší rostliny](#). Mezi řasami najdeme jednobuněčné i mnohobuněčné formy. Nejsou schopné přežít v suchém prostředí, žijí proto ve sladké nebo slané vodě, suchozemské formy jsou malé, nenápadné a hojněji se vyskytují ve vlhkých tropických oblastech (www.sinicearasy.cz).

Většina řas je schopná fotosyntézy a je proto [autotrofní](#). [Chloroplasty](#) vznikly primární endosymbiózou se sinicí nebo až sekundárně symbiózou s jinou řasou. Některé jednobuněčné řasy jsou [mixotrofní](#) nebo sekundárně chloroplasty dokonce úplně ztratily. Řasy jsou součástí vodních ekosystémů (Graham et Wilcox 2000).

Řasa rodu *Chlorella*

Systematika

Říše: Plantae

Oddělení: Chlorophyta

Třída: Chlorophyceae

Řád: Chlorococcales

Čeleď: Oocystaceae

Rod: *Chlorella*

Druh: *Chlorella vulgaris pyrenoidosa*, [Chlorella pyrenoidosa](#)

Chlorella se vyskytla na Zemi jako druh planktonu asi před 3 miliardami let. Vzhledem ke svým malým rozměrům byla objevena až v roce 1890 holandským mikrobiologem M. W. Beijerinckem při mikroskopování. Jedná se o jednobuněčnou sladkovodní řasu. Pravděpodobně jde o jednu z prvních jednobuněčných forem s pravým jádrem. Její přežití až do dnešní doby je zdůvodňováno silnou genetickou stabilitou, tvrdostí a pevností buněčné stěny a neobvykle účinným mechanismem oprav DNA (www.sinicearasy.cz).

Chlorella má detoxikační schopnosti díky svým jedinečným buněčným stěnám. Buněčné stěny chlorelly absorbují těžké kovy (Hg, Pb, Co, Cd), a to nejen z prostředí kontaminovaného těmito kovy, ale i z organismu a tím snižuje hladinu těchto rizikových látek anebo zabraňuje inkorporaci (Blasch 2003).

Mikrobiologický ústav AV ČR v Třeboni upravil technologii kultivace a finálního zpracování řas rodu *Chlorella* ve prospěch zvýšení využitelnosti celého buněčného obsahu zařazením dezintegrace celulóзовých stěn buněk. V současné době je pěstování *Chlorelly* přísně řízený proces, ve kterém lze využít schopností řas absorbovat mikroprvky z prostředí (Doucha et Livanský 1999). V případě selenu lze jeho obsah v sušině biomasy z řas zvyšovat v průměru až na 500 mg Se.kg⁻¹ sušiny.

2.1.1.3 Exkrece selenu

Selen je z organismu vylučován především prostřednictvím moče a výkalů, případně vydechováním. Při perorální aplikaci Se u přežvýkavců se selen vylučuje především výkaly, zatímco u monogastrů převyšuje vylučování selenu močí. Ve výkalech přežvýkavců je selen neabsorbovaný z krmiva a malé množství selenu vyloučeného žlučí, pankreatickými a střevními šťávami. Selen vyloučený výkaly se zvyšuje s jeho příjmem v sušině. Selen v moči u přežvýkavců je často nesprávně považován za méně vypovídající údaj než selen ve výkalech, přesto že se touto cestou vylučuje 40-50% přijatého selenu. Při injekční aplikaci je většina selenu u přežvýkavců vyloučena močí. Při intoxikaci selenem se určité množství selenu vylučuje dechem i potem (McDowell 1992; Underwood et Suttle 1999).

U laktujících zvířat se selen vylučuje rovněž přes mléko. Koncentrace selenu v kolostru je čtyři až pětkrát vyšší než koncentrace v mléce a poukazuje na stav zásobení organismu samic přežvýkavců selenem (Underwood et Suttle 1999).

2.2 Biologické funkce selenu

Selen je nezbytný pro růst a plodnost zvířat a jako prevence kondičních chorob, účastní se všech biologických funkcí v těle.

Selen patří mezi základní esenciální nutriční složky, jejichž hlavní funkcí je ochrana buněk a tkání před oxidačním poškozením. Je součástí enzymových i neenzymových ochranných systémů těla. Jeho hlavní fyziologickou funkcí, spolu s vitamínem E, je ochrana buněk před působením volných kyslíkových radikálů. Zatímco vitamín E chrání buněčnou membránu, selen prostřednictvím glutathionperoxidázy (GSH-Px), jejíž je hlavní součástí, se spolu s ostatními selenoproteiny podílí na ochraně cytoplazmy buněk (Toman et al. 2000).

Hlavní biologické funkce selenu jsou:

- antioxidační prevence proti oxidačnímu stresu
- udržení buněčného redox stavu
- vývoj a udržení imunokompetence
- správná funkce thyroïdních hormonů
- účast při detoxikaci těžkých kovů a některých xenobiotik
- protirakovinový efekt některých metyl selenových sloučenin

(McKenzie et al. 1998; Schrauzer 2000a; Arnér et Holmgren 2000; Arthur et al. 2003; Köhrle 2005).

2.2.1 Selenoproteiny a jejich funkce

V současné době je známo 30-40 selenoproteinových izotopových variant, z nichž 20 je již charakterizováno. Většina selenoproteinů představuje antioxidační intracelulární enzymy, které odstraňují volné radikály a redukují peroxidy vodíku a lipidů na vodu a alkohol. Jejich funkce v živých organizmech je antioxidační ochrana, spoluúčast na funkci thyroïdních hormonů, v imunitním systému, tvorbě a motilitě spermií, funkci prostaty a dalších orgánových systémů (Undervood et Suttle 1999; Behne et Kyriakopoulos 2001; McKenzie et al. 2002).

2.2.1.1 Peroxidázy

Glutationperoxidázy (GSH-Px) katalyzují redukci peroxidu vodíku a organických hydroperoxidů, čímž chrání buňky těla před oxidačním poškozením (Artur 2000). V současné době je známo a popsáno pět typů GSH-Px: cytoplazmatická (klasická) GSH-Px, gastrointestinální GSH-Px, extracelulární GSH-Px, fosfolipidová GSH-Px a GSH-Px přítomná v jádrech spermií (Behne et Kyriakopoulos 2001).

Podle literárních údajů zpracovaných Dercksen et al. (2007) se u skotu, ovcí, koz, prasat a koní pohybuje aktivita GSH-Px v rozmezí 120 – 600 U/g Hb. U ovcí se průměrně hodnota pohybuje v rozsahu 600 ± 400 s maximálními hodnotami 1 500 U/g Hb.

Pavlata et al. (2001b) prokázali v plné krvi vysokou závislost mezi obsahem Se a aktivitou GSH-Px ($r = 0,93$). Vysokou závislost mezi aktivitou GSH-Px u telat a jejich matek uvádějí Pavlata et al. (2003).

Podávání organických forem selenu se u přežvýkavců obvykle projeví vyšší aktivitou enzymu i zvýšenou koncentrací Se ve tkáních ve srovnání s jeho anorganickou formou (Chung et al. 2007; Lee et al. 2007, Qin et al. 2007). Vyšší aktivitu GSH-Px, vyšší koncentraci Se v plné krvi a krevním séru zaznamenali Rock et al. (2001) u bahnic a jejich jehňat při suplementaci 300 μg Se/kg sušiny krmné dávky v podobě selenizovaných kvasnic ve srovnání se stejnou dávkou Se v podobě seleničitanu sodného. Aktivitu GSH-Px převyšující 750 U/g Hb u ovcí po 3měsíční suplementaci 278.6 μg Se denně v podobě Na_2SeO_3 nebo selenizovaných kvasnic zjistili Boldizarová et al. (2005), přičemž rozdíly v aktivitě enzymu mezi skupinami nebyly statisticky významné. Efekt suplementace organické formy selenu na antioxidační stav a množství selenu v tkáních u prasat a králíků sledovali Bobcek et al. (2004) případně Dokoupilova et al. (2007).

Většina používaných minerálních krmných přísad obsahuje selen v podobě anorganických solí. V posledních letech se zvyšuje nabídka minerálních doplňků s organicky vázaným selenem (většinou na bázi selenem obohacené kvasniční biomasy) u něhož se předpokládá lepší resorpce (Ortman a Pehrson 1999; Kim a Mahan 2001, Sustala et al. 2003). Alternativním zdrojem organicky vázaného selenu jsou i jednobuněčné řasy rodu *Chlorella*, které při kultivaci v solárních bioreaktorech mohou ze selenových roztoků absorbovat až 500 mg selenu na 1 kg sušiny řasové biomasy (Doucha and Livanský 1999). V laboratorně kultivovaných řasách byly nalezeny dimethylselenonium propionát, Se-allylselenocystein a selenomethionin (Larsen et al.

2001). Pozitivní efekt selenem obohacené řasy rodu *Chlorella* na obsah selenu v drůbežích vejcích zaznamenali Skřivan et al. (2006).

Tab. 1 Aktivita GSH-Px v krvi přežvýkavců v přepočtu na g Hb při definovaném příjmu selenu.

druh	GSH-Px U /g Hb	definovaný příjem Se	zdroj
ovce	50	ad libitum seno	Milad et al. (2001)
	227	ad libitum seno + 0,4 mg Na ₂ SeO ₃ na kg hmotnosti	
ovce	120*	25-50 µg/kg	Olivera et al. (2004)
jehňata	255*	z mleziva matek	
jehňata	800	278,6 µg/den ve formě Na ₂ SeO ₃ nebo Se- <i>kvavnice</i>	Boldižárová et al. (2005)
	175	50,6 µg/den	
kozy	>1000	0,5 mg/kg krmiva	Dercksen et al. (2007)
skot	355*	1,11 mg/kg KD	Šustala et al. (2003)
skot	300-333*		Pavlata et al. (2000; 2002)
skot	222-411*	0,035 mg/kg sušina KD	Knowles et al. (1999)

*Přepočteno na g Hb uváděného Jelínkem et al. (2003)

Cytoplazmatická glutationperoxidáza (cGSH-Px – EC 1.11.1.9)

Cytoplazmatická, dříve označovaná také jako klasická GSH-Px (cGSH-Px) byla prvním identifikovaným selenoproteinem (Flohé et al. 1973; Rotruck et al. 1973). Vyskytuje se ve všech buňkách těla a je zásobní formou selenu. Má tetramerní strukturu tvořenou čtyřmi identickými selenocysteinovými podjednotkami o molekulové hmotnosti 19 – 25 kDa. Každá podjednotka má vazebné místo a selenocysteinový zbytek v aktivním místě (Undervood et Suttle 1999; McKenzie et al. 2002). cGSH-Px rozkládá H₂O₂ na vodu a O₂ (Adelekan et Thurnham 1998; Awadeh et al. 1998). Pomocí redukovaného glutationu hraje cGSH-Px důležitou úlohu v obraně buněk před poškozením peroxidem vodíku a organickými peroxidy (Avsian-Kretchmer et al. 2004), čímž doplňuje účinek vitamínu E, který omezuje funkci volných radikálů (Smith et al. 1997) a stabilizuje

strukturu biologických membrán (Xu et Diplock 1983). Patologické změny v souvislosti s poklesem aktivity cGSH-Px byly zjištěné především u zvířat s kombinací nedostatku Se a vit. E (Xu et Diplock 1983; Combs et Combs 1986; Sunde et al. 1997). Aktivita cGSH-Px v buňkách a tkáních je přímo závislá na nutričním přísunu selenu (Yoshida et al. 1999). Při jeho dostatečném příjmu je aktivita cGSH-Px v buňkách a tkáních úzce regulována (Taylor et al. 1993). Při rostoucím příjmu selenu se aktivita cGSH-Px stabilizuje a dále se nezvyšuje (Kelner et al. 1995).

Gastrointestinální glutathionperoxidáza (giGSH-Px)

Gastrointestinální glutathionperoxidáza (giGSH-Px) je podobná cytoplazmatické (klasické) glutathionperoxidáze v tom, že je cytoplazmatickým selenoenzymem, který obsahuje 4 identické selenocysteinové podjednotky o velikosti 22 kDa a katalyzuje redukcí různých peroxidáz (Chu et al. 1993). Specifickým tkáňovým enzymem je giGSH-Px, který byl zjištěný u krys jen v trávicím traktu a u lidí rovněž v játrech. V epitelu trávicího traktu hlodavců tvoří giGSH-Px asi polovinu celkové aktivity GSH-Px (Esworthy et al. 1998). Tím, že je specifickým tkáňovým enzymem, může sloužit jako hlavní složka ochrany proti lipidovým hydroperoxidům přijatých potravou (Esworthy et al. 1998), případně vznikajících během trávení, při čemž se může významně uplatňovat v prevenci rakoviny tlustého střeva (Chu et al. 1997).

Extracelulární (plasmová) glutathionperoxidáza (pGSH-Px)

Plazmová glutathionperoxidáza (pGSH-Px) byla identifikovaná jako tetramerní GSH-Px s podjednotkami o velikosti přibližně 23 kDa. Liší se od cGSH-Px a od gi-GSH-Px v tom, že je glykoproteinem nacházejícím se v extracelulárních tekutinách (Takahashi et al. 1987). Je syntetizovaná v různých tkáních, odkud přestupuje do extracelulárních tekutin. Ledviny obsahují vysokou koncentraci mRNA pro pGSH-Px a jsou hlavním místem produkce tohoto enzymu (Yoshimura et al. 1991; Chu et al. 1992; Avissar et al. 1994). Podobně jako ostatní tetramerní GSH-Px katalyzuje také pGSH-Px redukcí H₂O₂ a jiných organických peroxidů. Její specifická enzymatická aktivita představuje jen 10% účinnosti cGSH-Px (Takahashi et al. 1987), ale její biologická úloha není úplně objasněná (Behne et Kyriakopoulos 2001).

Fosfolipidová glutathionperoxidáza (PHGSH-Px – EC 1.11.1.12)

Fosfolipidová glutathionperoxidáza (PHGSH-Px) je druhým identifikovaným selenoenzymem (Ursini et al. 1985). Na rozdíl od ostatních třech popsaných GSH-Px, je monomérem o velikosti 19,7 kDa. Tato GSH-Px je vázaná na membránu. Spolu s vitamínem E přispívá k ochraně fosfolipidových membrán. Studie in vitro ukázaly, že tento enzym je specificky vnášena do mitochondrií (Pushpa-Rekha et al. 1995; Arai et al. 1996). Na rozdíl od ostatních tetramerních GSH-Px může PHGSH-Px přímo redukovat fosfolipidové a cholesterolové hydroperoxy (Ursini et al. 1985; Tamura et Stadtman 1996). Tato glutathionperoxidáza je považována za důležitý faktor v ochranném systému proti oxidační destrukci biomembrán. Předpokládá se, že má významnou funkci v různých procesech, jako jsou záněty nebo apoptóza a je přítomný hlavně ve tkáních reprodukčního a endokrinního systému. PHGSH-Px má také významnou úlohu ve spermiogenezi. Je přítomná v mitochondriální membráně spermií (Calvin et al. 1981). V mitochondriálním pouzdře je přítomná v neaktivní formě a její úlohou je ochrana membrán proti poškození peroxidy (Ursini et al. 1999).

Glutathionperoxidáza přítomná v jádrech spermií (snGSH-Px)

Glutathionperoxidáza jádra spermie (snGSH-Px) byla detekovaná pouze ve varlatech a spermiích (Behne et al. 1988). Byla zjištěná s nástupem puberty a lokalizovaná v jádrech spermií (Behne et al. 1997). Glutathionperoxidáza lokalizovaná v jádru spermie se liší od PHGSH-Px její N-terminální sekvencí (Pfeifer et al. 2001), která je zodpovědná za její specifickou biologickou úlohu. Obsahuje signál pro lokalizaci tohoto enzymu v jádře. SnGSH-Px je nezbytná pro dozrávání spermií a jejich fertilitu (Behne et Kyriakopoulos 2001).

2.2.1.2 Reduktázy

Jodothyronindeiodinázy (JD)

Jejich hlavní fyziologickou funkcí je aktivace a inaktivace tyroidních hormonů, které regulují různé metabolické procesy a jsou nepostradatelné pro normální vývoj nervové tkáně plodu. Jsou popsány 3 izoformy tohoto enzymu. Dejodinázy kontrolují lokální funkci a koncentraci aktivní formy tyroidního hormonu 3,3',5-trijódtyronínu (T_3). Tyto enzymy katalyzují konverzi inaktivní formy tyroidního hormonu (T_4), který je sekretován štítnou žlázou na T_3 – aktivní formu tyroidního hormonu (typ I a II JD) anebo dejodinaci T_4 na T_3 neaktivní metabolity (typ III JD) (Behne et Kyriakopoulos 2001).

JD typ I je selenoprotein o velikosti 27kDa lokalizovaný hlavně ve štítné žláze, ledvinách, játrech a v hypofýze. Ve svém aktivním centru obsahuje kovalentně vázaný atom Se. JD typu 2 je selenoprotein o velikosti 30 kDa lokalizovaný hlavně v mozku, hnědé tukové tkáni, hypofýze a v placentě. JD typu 3 je selenoprotein o velikosti 32 kDa lokalizovaný hlavně v CNS, placentě a v pokožce (Behne et al. 1990; Behne et Kyriakopoulos 2001).

Thioredoxínreduktázy (TR)

Tyto savčí thioredoxínreduktázy jsou rodinou homodimerních flavoenzymů vyskytujících se v různých tkáních (Behne et Kyriakopoulos 2001). Pomocí NADPH, který slouží jako donor elektronů, redukuje thioredoxínreduktáza thioredoxín. Samotný thioredoxín potom zvyšuje redukční kapacitu enzymů, které se zúčastňují antioxidačních aktivit (Mustacich et Powis 2000).

Thioredoxínová reduktáza 1 je enzym nacházející se ve formě dimeru s dvěma identickými subjednotkami o velikosti 56 kDa obsahujícími Se (Tamura et Stadtman 1996). Thioredoxín reduktáza 2 je enzymem o velikosti 56 kDa u lidí a hovězího dobytka a 53 kDa u potkanů. Od thioredoxín reduktázy 1 se liší N-terminálním úsekem, který tvoří její hlavní sekvenci (Miranda-Vizueté et al. 1999). Thioredoxín reduktáza 3 byla izolovaná z myších varlat, v porovnání s ostatními dvěma izoenzymy obsahuje delší N-terminální úsek o velikosti 65 kDa (Sun et al., 1999).

Předpokládá se existence dalších druhů thioredoxín reduktáz, které se liší distribucí v tkáních a různou specifickou biologickou úlohou (Behne et Kyriakopoulos 2001).

2.2.1.3 Ostatní selenoproteiny

Selenofosfátová syntetáza 2

Byla zjištěna v různých tkáních lidí a myší. Selenofosfátová syntetáza 2 katalyzuje reakci selenu s AMP. Výsledným produktem je selenofosfát sloužící jako donor Se při biosyntéze selenocysteinu (Guimaraes et al. 1996).

Selenoprotein P (SelP)

SelP je glykoprotein o velikosti 43 kDa a představuje více než 60 % plasmového selenu (Read et al. 1990). I když větší část Se v krvi přežvýkavců je v červených krvinkách, SelP se nachází v plazmě. SelP byl zastoupený v 20% celkových sérových proteinů u krav, které denně dostávaly selen v krmné dávce (Awadeh et al. 1998).

Selenoprotein W (SelW)

SelW je menší než 10 kDa (Vendeland et al. 1993) a poprvé byl popsán v roce 1969 (Yeh et al. 1997). Je obsažen v kostech, srdečním svalu, mozku, varlatech a slezině, ale byl nalezen i v dalších tkáních (Sun et al. 1998).

15-kDa selenoprotein (Sep15)

Selenoprotein o velikosti 15 kDa je přítomný v mnohých tkáních s nejvyšším výskytem v epiteliálních buňkách prostaty. Byl izolován u potkanů a je přítomný také v T lymfocytech u lidí. Jeho funkce a biologický význam nejsou známy, nejnovější studie popisují, že gen pro selenoprotein-15 je lokalizovaný na chromozómu, který je často poškozený při nádorech prostaty (Kalcklösch et al. 1995; Gladyshev et al. 1998).

18-kDa selenoprotein

Tento selenoprotein se vyskytuje ve více tkáních u potkanů (Behne et al. 1988). Byl identifikovaný jako selenoprotein obsahující selenocystein, který se nachází hlavně v mitochondriálních membránách (Kyriakopoulos et al. 1996). Jeho biologická funkce zatím není známa. Selenoprotein 18 kDa je jedním z přednostně zásobovaných selenoproteinů selenem při Se-deficitu, což může souviset s jeho biologickou úlohou (Behne et Kyriakopoulos 2001).

Selenoprotein N (SelN)

Jedná se o doposud jediný selenoprotein přímo spojovaný s chorobným stavem (Moghadaszadeh et al. 2001, Rederstorff et al. 2006). Je přítomen ve většině tkání v membráně endopazmatického retikula (Papp et al. 2007).

Selenoprotein R (SelR)

Převážně se nachází v jádru a cytoplazmě buněk (Kim et Gladyshev 2004). Je také znám jako methionin-R-sulfoxidreduktáza a patří do rodiny enzymů katalyzujících průběh redukce oxidovaných reziduí methionininu. Tento proces je důležitý, jelikož při oxidaci methioninu dochází k významnému zvyšování koncentrací ROS poškozujících proteiny (Stadtman 2006).

Selenoprotein M (SelM)

Je srovnatelný se Sel15. U myši je lokalizován v myokardu, plicích, ledvinách, děloze a placentě. Nejvíce je zastoupen ve štítné žláze a mozku (Korotkov et al. 2002). Jeho uplatnění v Alzheimerově chorobě zatím není objasněno (Hwang et al. 2005).

Selenoprotein S (SelS)

Předpokládá se, že tento protein má regulační úlohu u makrofágy produkovaných cytokinů a tím se uplatňuje v průběhu zánětlivé reakce (Curran et al. 2005; Gao et al. 2006).

Selenoprotein K (SelK)

Jeho převážná část se nachází v srdeční a kosterní svalovině a dokazatelné množství je ve slinivce, játrech a placentě. Vyšší exprese SelK vede ke snížení koncentrace intracelulárních ROS a k vyšší ochraně kardiomyocytů před oxidačním stresem (Lu et al. 2006).

Selenoproteiny bez vymezených funkcí

Do této skupiny patří selenoproteiny H, O, I, T a V.

2.2.2 Antioxidační funkce selenu

Antioxidantům se v poslední době věnuje zvláštní pozornost ve výživě lidí i zvířat. Hlavní příčinou je jejich vztah k volným radikálům, jejich schopnost podporovat imunitní systém na buněčné úrovni a podpora zdraví organismu. Volné radikály a druhy reaktivního kyslíku mají nespárovaný elektron, takže se jedná o neúplné molekuly, které jsou vysoce reaktivní. Jejich volný elektron přitahuje elektrony jiných molekul, přičemž se vytvářejí nové volné radikály a v některých případech spouštějí řetězovou reakci (Passwater, 1993).

Antioxidant je látka, jejíž [molekuly](#) omezují aktivitu reaktivních forem kyslíku (ROS) - snižují pravděpodobnost jejich vzniku nebo je převádějí do slabě reaktivních nebo nereaktivních stavů. Tím omezují proces [oxidace](#) v organismu, krmných směsích, nebo potravinách, které chrání především před nadměrnou oxidací tuků. Další antioxidanty se vyskytují ve formě [enzymů](#) v organismu, kde působí podobně. Jejich přítomnost v potravě je pro antioxidační uplatnění v organismu omezena jejich rozkladem během trávicího procesu (Kalač 2003).

Chemické sloučeniny, které se účastní reakcí, při nichž vznikají toxické formy kyslíku se nazývají **prooxidanty**. Mezi nimi a **antioxidanty** existuje v organismu rovnováha. Při jejím narušení dochází k oxidačnímu stresu, jehož dlouhodobé trvání představuje ohrožení zdraví (Blache et al. 1999).

Přítomnost přirozených antioxidantů v potravinách prodlužuje jejich [trvanlivost](#) a snižuje pravděpodobnost vzniku [srdečně-cévních chorob](#) a některých typů [rakoviny](#) (Kalač 2003). V krmivech se antioxidanty uplatňují v ochraně složek náchylných k oxidaci a v případě Se a vit. E se o tyto cenné látky obohacují i živočišné produkty a současně se zvyšuje jejich oxidační stabilita (Marounek 2006).

Antioxidanty se rozdělují:

- podle původu na:

- přirozené
- průmyslově vyráběné (některé se odvozují z přírodních látek)

- podle prostředí působení na:

- hydrofilní
- lipofilní
- amfifilní

- podle způsobu účinku na:

- neenzymatické povahy (vitamíny E a C, Se, Zn, glutation, kyselina močová atd.)
- enzymy (glutathionperoxidáza, superoxid-dismutáza, kataláza atd.)

2.2.3 Imunokompetentní funkce

2.2.3.1 Imunitní systém

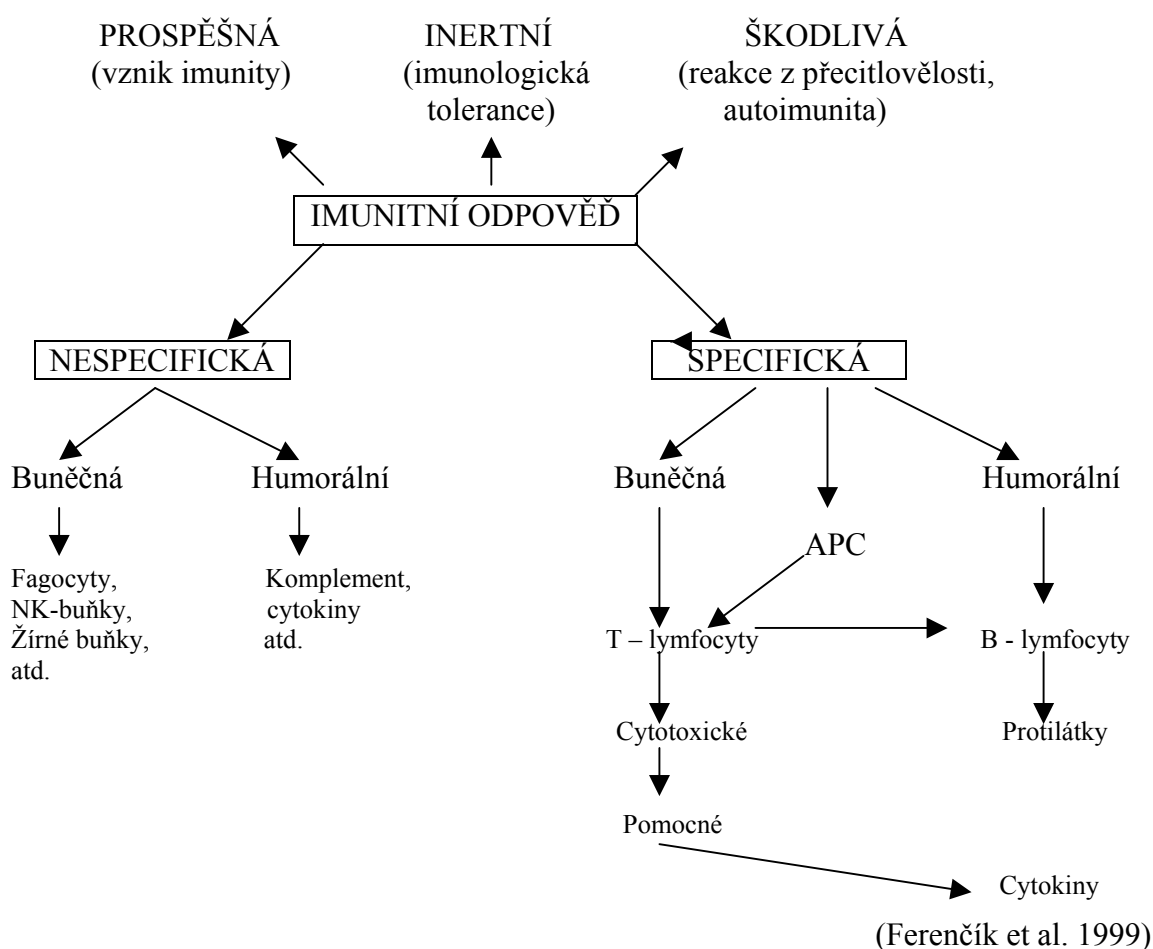
Imunitní systém patří k základním homeostatickým mechanismům organismu. Jeho funkcí je udržování integrity organismu tím, že rozpoznává škodlivé od neškodného a chrání tak organismus proti škodlivinám zevního a vnitřního původu. Tato funkce se projevuje jako (Hořejší et Bartůňková 2002):

- obranyschopnost (imunitní systém rozpozná vnější škodliviny a chrání organismus proti patogenním mikroorganismům a jejich toxickým produktům)
- autotolerance (rozpoznání a tolerance vlastních tkání)
- imunitní dohled (imunitní systém průběžně odstraňuje staré, poškozené a některé mutované buňky)

Imunitní systém je adaptační a regulační soustava, která je součástí neuro-endokrinno-imunitního systému a podílí se na zajištění integrity mnohobuněčného organismu a udržení jeho funkcí ve vitálních mezích – homeostáza (Trojan et al. 19994; Ferenčík et al. 1999; Toman et al. 2000).

Druhy imunitních mechanismů

Imunitní mechanismy lze rozdělit do dvou základních kategorií: nespecifické (neadaptivní) a specifické (adaptivní). U obratlovců jsou tyto mechanismy životně důležité, nepostradatelné a navzájem spolupracující (Hořejší et Bartůňková 2002).



V imunitním systému se významně uplatňují bílkoviny krve, které se dělí na albumin, fibrinogen a globuliny.

Plazmatické proteiny řadíme mezi anionty. Na základě různého náboje a velikosti molekuly lze proteiny dělit pomocí [elektroforézy](#), kdy z krevního séra získáme 5 - 6 frakcí: albumin, α_1 -, α_2 -, β - (β_1 a β_2) a γ -globuliny.

Během 24 hodin se koncentrace celkových proteinů mění až o 10 %, změny u jednotlivých bílkovin mohou být ještě vyšší. V delších časových úsecích se koncentrace mění asi o 30 % (Jelínek et al. 2003; Racek et al. 1999; Masopust 1998; Musil et Nováková 1989).

K absolutním změnám v koncentraci proteinů dochází při zvýšení jejich koncentrace (*hyperproteinemie*) nebo snížení koncentrace (*hypoproteinemie*).

K hyperproteinemii může docházet při snížení objemu vody, zánětech, zvýšené produkci růstového hormonu nebo při deficitu železa. Pokud se některé proteiny ve zvýšené míře syntetizují (např. protilátky), dochází naopak ke snížení koncentrace proteinů jiných (hlavně albuminů). Koncentrace celkových proteinů se mění teprve při dlouhodobých poruchách - těžká chronická zánětlivá onemocnění, některé autoimunitní procesy atd. (Masopust 1998).

Při hypoproteinemii dochází většinou ke snížení koncentrace albuminů, vzácněji k poruše syntézy protilátek. Hypoproteinemie je důsledkem nedostatečné tvorby krevní bílkoviny (např. při cirhóze) nebo jejich ztrát při některých chorobách ledvin nebo zažívacího ústrojí. Těžká hypoproteinemie vede k zhoršení celkové odolnosti organismu, případně až k rozsáhlým otokům (Vokurka et Hugo 2000). Ztráty některých proteinů nejsou vždy provázeny hyperproteinemií, pokud současně dochází ke kompenzaci zvýšenou syntézou albuminů (Musil et Nováková 1989; Racek et al. 1999).

Suplementace selenu ovlivňuje kvalitu kolostra a následně i stav bílkovin a řadu dalších paramentů u novorozenců (Rauprich et al. 2000; Pavlata et al. 2004a).

Albumin

Albumin tvoří kolem 55-60 % všech plazmatických bílkovin. Je produkován hepatocyty. Jeho hlavní funkce spočívá v udržování koloidně osmotického tlaku a transportu nízkomolekulárních látek. Albumin přenáší nekonjugovaný bilirubin, neesterifikované mastné kyseliny, thyeroidální hormony (T_4 , méně T_3), minerální látky (Ca, P, Mg a další) a některé léky (např. penicilín). Některé látky (volné mastné kyseliny) se mohou z vazby na albumin vytěsňovat, a některé léky mohou vytěsnit např. bilirubin.

Albumin přispívá k udržení acidobazické rovnováhy a uplatňuje se jako součást extracelulárního antioxidantního systému (Racek et al. 1999).

Albumin se syntetizuje především v játrech (asi 25 % veškerých syntetizovaných proteinů v játrech). Hlavními faktory ovlivňujícími syntézu, jsou změny onkotického tlaku na povrchu hepatocytů a odpovídající příjem kvalitních bílkovin nebo aminokyselin. Syntéza probíhá hlavně při adekvátní výživě. Při nedostatečném přísunu proteinů klesá aktivita enzymů v močovinovém cyklu, během něhož aminokyseliny stimulují svou

přeměnu na albumin. Proteosyntézu podporují rovněž glukokortikoidy, STH, inzulin a testosteron. Naopak glukagon a hormony štítné žlázy proteosyntézu snižují.

Albumin je odváděn z jater žilnou krví do krevního oběhu. Z krevních kapilár proniká do intersticia tkání (50-70 % tělesného albuminů je lokalizováno extravaskulárně, hlavně ve svalech a pojivových tkáních), odkud je lymfatickým systémem vrácen do krevního řečiště. Výměna albuminů mezi krevní plasmou a mezibuněčnou tekutinou probíhá pomalu.

I přes malou molekulovou hmotnost je albumin nejdůležitější složkou v udržování koloidně osmotického tlaku. Hypoalbuminemie s normální nebo zvýšenou hladinou globulinů se projevuje při snížené produkci albuminů či jejich zvýšené ztrátě. Snížená produkce s mírným až středním poklesem úrovně albuminů je typická pro počínající jaterní onemocnění, snížený příjem kvalitních proteinů u hyperglobulinémie. Zvýšená ztráta albuminů se objevuje u ledvinových onemocnění. Hyperalbuminemie ukazuje na stavy spojené s dehydratací, hlavně ve spojení se zvýšenou koncentrací celkové bílkoviny (Schneiderka et al. 2004; Racek et al. 1999; Masopust 1998).

Globuliny

Při elektroforetickém dělení plazmatických bílkovin se globuliny dělí do tří frakcí: α , β a γ . Ve frakci α migrují hlavně reaktanty časné fáze zánětu. Složky komplementu migrují v pásmu β a γ . Největší podíl γ -frakce zaujímají imunoglobuliny, zasahují však až do β a částečně až do α_2 globulinové frakce. Při zánětlivých stavech je upřednostněna syntéza proteinů akutní fáze v játrech, což je provázeno poklesem syntézy albuminů.

Někdy se v oblasti mezi frakcí α_1 a α_2 vyskytuje nárůst inter-alfa-proteinů. Mezi tyto bílkoviny patří řada látek vázajících hormony. V β frakci se vyskytuje fibrinogen, který je syntetizován v játrech. Pokles fibrinogenu je výsledkem jeho nízké produkce nebo zvýšené spotřeby.

Frakce γ globulinů zahrnuje širokou škálu imunoglobulinů Ig G, A, D, E a M. IgG a IgA mohou též migrovat v β frakci. Hypoglobulinémie se fyziologicky vyskytuje u novorozenců (celkový protein dosahuje pouze 60-80% úrovně dospělců). Hypoglobulinémie je nejčastěji provázena snížením koncentrace IgG a A při normální nebo snížené koncentraci IgM. Nejčastějšími příčinami získané hypogamaglobulinémie jsou ztráty většího množství krve a záněty trávicího ústrojí (Masopust 1998; Racek et al. 1999; Schneiderka et al. 2004).

Poměr A/G

Poměr mezi albuminem a globuliny je nutno posuzovat spolu s absolutními hodnotami celkové bílkoviny, albuminů a globulinů. Normální poměr se pohybuje v rozsahu 1 a více. S narůstajícím poměrem A/G se výrazněji uzvyšují albuminové frakce na úkor globulinových (Masopust 1998; Racek et al. 1999).

Podhorský et al. (2007) uvádí u telat v poporodním období poměr A/G v průměru $1,44 \pm 0,55$, při kvalitní celodenní poporodní péči ošetřovatelů se tento poměr snižuje na $1,25 \pm 0,55$, naopak při nedostačující péči ošetřovatelů se tento poměr zvyšuje až na $1,57 \pm 0,50$.

Tab. 2. Celková bílkovina v krevní plasmě a její frakce

celková bílkovina	Frakce bílkovin					jednotka	věk / druh	citace
	albumin	globuliny						
		α_1	α_2	β	γ			
-	51	4,8 $\pm 1,2$	14,1 $\pm 2,6$	7,7 $\pm 1,7$	22,4 $\pm 4,9$	%	122dní / ovce	Kuttler at Marble (1960)
-	56,8	6,5	8,8	9,1	18,8	%	2-3 měsíce / ovce	Irfan (1967)
65	35,7	2,8		13,4	12,9	g.l^{-1}	dospělost	Jelínek et al. (2003)
-	55	8,1		20,8	19,9	%	/ ovce	
60 - 80	24 - 30	3 - 6		11 - 26	9 - 33	g.l^{-1}	dospělost	Jagoš (1981)
-	42	18		9	31	%	/ ovce	
53,63 $\pm 7,89$	30,04 $\pm 2,88$	23,61 \pm 8,21				g.l^{-1}	4 dny / tele	Podhorský et al. (2007)

Lymfatické tkáně a orgány

Buňky imunitního systému spolu s pojivovými buňkami a dalšími strukturami tvoří funkční a anatomické celky – lymfatickou tkáň a lymfatické orgány (Hořejší et Bartůňková 2002).

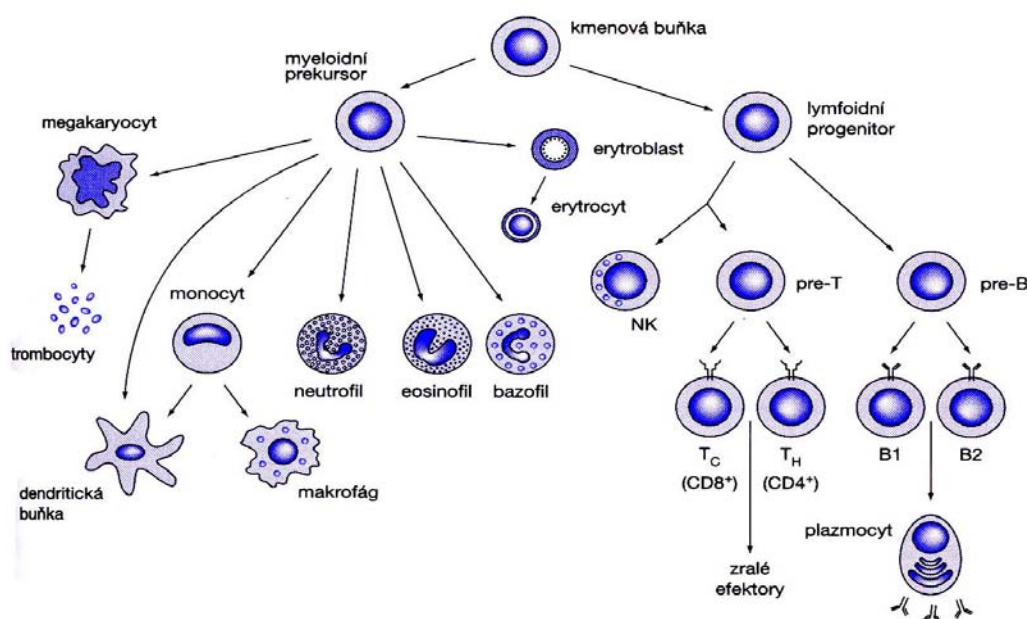
Funkčně se tyto orgány rozdělují na primární lymfatické orgány (thymus, kostní dřeň a Fabriciova burza u ptáků) a sekundární lymfatické orgány (slezina, lymfatické uzliny, další shluky lymfatické tkáně (Peyerovy plaky ve střevě). Lymfatické orgány jsou s ostatními orgány a tkáněmi propojeny sítí lymfatických a krevních cév (Šterzl 1993; Marvan et al. 1998; Hořejší et Bartůňková, 2002).

Buňky imunitního systému (Imunocyty)

Podstatnou část imunitního systému tvoří různé druhy leukocytů. Všechny druhy leukocytů pocházejí z multipotentních kmenových buněk přítomných v kostní dřeni. Kmenové buňky se v kostní dřeni udržují v malém množství po celý život. Pod vlivem různých faktorů se jejich část diferencuje na různé typy leukocytů. Dvě základní linie vznikající z kmenových buněk jsou linie myeloidní a lymfoidní.

Z myeloidní linie vznikají monocyty, tři druhy granulocytů: neutrofilů, eozinofilů a bazofilů, žírné buňky (mastocyty) a dendritické buňky. Z lymfoidní linie se diferencují NK buňky a lymfocyty T a B (Hořejší et Bartůňková 2002).

Obr. 1 Diferenciace různých druhů leukocytů z kmenové buňky (převzato z Hořejší et Bartůňková 2002)



2.2.3.1.1 Specifická humorální imunita

Efektorovými buňkami specifické humorální imunity jsou B-lymfocyty, které vznikají z unipotentních lymfoidních kmenových buněk, jako jednoho z diferenciálních stádií pluripotentních hemopoetických kmenových buněk. Tyto lymfocyty dozrávají u ptáků v burze Fabricii a u savců v kostní dřeni, slezině nebo fetálních játrech (Jelínek et al. 2003). Lymfocyty B mají na svém povrchu receptor pro antigen, který je tvořen částí imunoglobulinové molekuly. Po setkání s příslušným antigenem se lymfocyt B začne dělit, až z něj vznikne klon plazmatických buněk produkujících protilátky - imunoglobuliny proti danému antigenu a klon paměťových buněk pro případné další setkání s daným antigenem a okamžitou produkci protilátek (Bartůňková, Šedivá 1997).

Imunoglobuliny

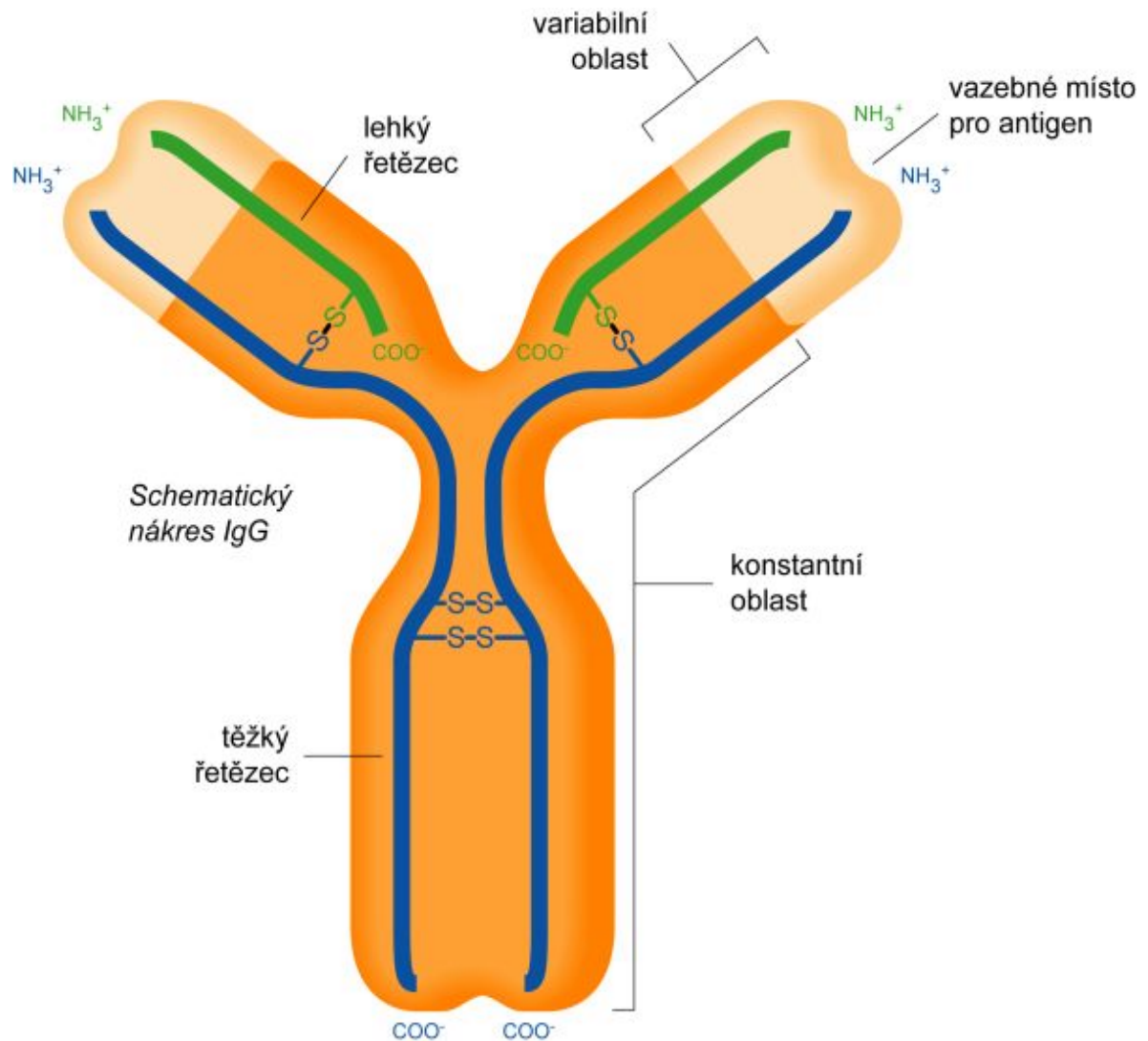
Imunoglobuliny jsou glykoproteiny (82 – 96% polypeptidy a 4 – 18% cukry) vážící se s látkou (antigen), která vyvolala jejich tvorbu. Vznikají jako odpověď organismu na cizorodou látku a jsou produktem indukované odpovědi. Vyskytují se v tělních tekutinách, jsou heterogenní skupinou proteinů tvořících přibližně 20% celkových proteinů séra. Převážná část imunoglobulinů se nachází v γ -globulinové frakci sérových proteinů. Imunoglobuliny jsou charakterizovány dvěma základními vlastnostmi: specifitou pro danou antigenní strukturu a rozmanitostí specifík (diverzitou), která umožňuje jejich reakci se širokou škálou antigenních struktur nacházejících se v zevním prostředí (Goodman 1994).

Imunoglobuliny se vyznačují dle Toman et al. (2000) funkcí rozpoznávací (specifická vazba s cizorodým antigenem prostřednictvím vazebného místa – Fab fragmentu) a efektorovou (eliminace antigenu z organismu).

Struktura imunoglobulinů:

Struktura molekuly je uspořádána do tvaru Y. Rozvětvená část, na kterou se váže antigen, se nazývá variabilní, její struktura určuje specifitu a diverzitu protilátek. Druhá část protilátky se nazývá konstantní a podle ní se rozlišuje pět tříd (izotopů) imunoglobulinů: G, M, A, D a E. Oba termíny vychází z variabilního, resp. konstantního pořadí aminokyselin v dané části řetězce. Základní jednotka obsahuje dva páry lehkých a těžkých řetězců. Označení lehký (L - light) a těžký (H - heavy) řetězec je odvislé od molekulové hmotnosti, která je u těžkého řetězce zhruba dvojnásobně vyšší. Každá molekula imunoglobulinu má dvě vazebná místa pro antigen, každé vazebné místo je pak tvořeno jen malým počtem aminokyselin lehkého a těžkého řetězce ve variabilní části. Disulfidické kovalentní vazby mezi cysteinovými zbytky (-S-S-) jsou nezbytné pro trojrozměrné uspořádání imunoglobulinových molekul. Na základě štěpitelnosti enzymem papainem rozlišujeme v molekule imunoglobulinu několik částí – fragmentů: dva identické Fab fragmenty vážající antigen a jeden Fc fragment, na nějž jsou vázány biologické vlastnosti imunoglobulinů (Goodman 1994; Bartůňková et Šedivá 1997; Toman et al. 2000).

Struktura imunoglobulinů



Imunoglobulin G

Vyskytuje se jako monomer. Jeho obsah v těle představuje 70 – 76% všech imunoglobulinů. Je tvořen čtyřmi podtřídami, které mají následující zastoupení: IgG1 60 – 70%, IgG2 14 – 20%, IgG3 4 – 8% a IgG4 2 – 6%. Zastoupení jednotlivých podtříd je pro každého jedince charakteristické a jejich produkce je geneticky kontrolována. IgG se vyskytuje především v séru a také v intersticiální tekutině. Je účinný v neutralizaci bakteriálních toxinů, inaktivuje viry, aktivuje klasickou dráhu komplementu a má opsonizační charakter. Tvoří se převážně při sekundární imunitní odpovědi. U člověka, primátů a hlodavců přestupuje přes placentu a transport jednotlivých podtříd IgG neodpovídá jejich vzájemnému koncentračnímu zastoupení v séru. U ovcí se

syndesmochoriální placentou je krev matky oddělena od krve plodu pěti bariérami a tento typ placenty neumožňuje přechod imunoglobulinů – mláďata se rodí bez protilátek. Jediným zdrojem protilátek pro novorozené mládě je kolostrum (Goodman 1994; Bartůňková et Šedivá 1997; Toman et al. 2000; Hořejší et Bartůňlová 2002; Jelínek et al. 2003).

Tab. 3. Obsah IgG v krevním séru ovcí a jehňat

kategorie	období	koncentrace IgG (g.l ⁻¹)	citace
jehně	den narození	0,04	Bárta (1993)
	2. den po narození	19,56	
	6. den po narození	8,37	
	60. den po narození	5,52	
	180. den po narození	11,24	
bahnice	dospělá	20,95 – 30,52	
jehňata	den narození	0,2	Maden et al. (2003; 2004)
	1. den po narození	32,1	
	15. den po narození	13,1	
bahnice	den porodu	18,97	
	1. den po porodu	14,8	
	15. den po porodu	20,7	

Z prací zabývajících se optimálním stavem IgG v krevním séru jehňat, zajištěným pasivním přenosem, lze předpokládat, že nejúčinnější je bezprostřední příjem mleziva při společném ustájení jehňat s matkami (Altiner et al. 2005).

Obsah IgG v krevním séru jehňat po narození je závislý na úrovni jeho pasivního transportu z mleziva, který může být ovlivněn přítomností řady enzymů a jiných komponentů. Pasivní transport IgG z mleziva může být u jehňat ztížen. Dle Boland et al. (2005) se při vysokém příjmu minerálních látek a vitamínu E u vysoko březích bahnic zvyšuje fekální adheze, přičemž se snižuje vstřebávání colostrálního IgG. K obdobným závěrům dospěli při vysoké aplikaci vitamínu E Daniels et al. (2000). Vztah mezi pasivním transportem IgG a aktivitou alkalické fosfatázy a γ -glutamyltransferasy v mléce se zabývali Maden et al. (2003; 2004); Parish et al. (1997).

Dynamikou IgG během březosti bahnic se zabývají Hashemi et al. (2008), kteří zjistili, že u karakulských ovcí je nejvyšší koncentrace IgG v séru 1-2 měsíce před porodem, k významnému poklesu došlo do 1 hodiny po porodu, korelační koeficient mezi koncentrací IgG v krevním séru a v mlezivu byl 0,64.

U některých živočišných druhů mají imunoglobuliny funkčně a kvalitativně odpovídající IgG natolik odlišnou stavbu nebo jiné vlastnosti, že se pro ně volí zvláštní označení. Hlavním imunoglobulinem ptáků s protiinfekční aktivitou je imunoglobulin vaječného žloutku označovaný IgY. U koně je obdoba IgG označována jako IgT (Gassmann et al. 1990; Toman et al. 2000).

Imunoglobulin M

Vykytuje se v pentamerní formě, jeho jednotlivé subjednotky jsou propojeny polypeptidovým J řetězcem. Tvoří asi 10% všech Ig krevního séra. Vyskytuje se pouze v séru. Tvoří se při primární protilátkové odpovědi, tedy při prvním styku organismu s antigenem. Má významné aglutinační vlastnosti a aktivuje komplement. Většina přirozených protilátek v organismu jsou izotypu IgM (např. izohemaglutininy krevních skupin). Je hlavním imunoglobulinem exprimovaným na povrchu B lymfocytů (Goodman 1994; Bartůňková et Šedivá 1997; Toman et al. 2000; Hořejší et Bartůňková, 2002; Jelínek et al. 2003).

Imunoglobulin A

Vyskytuje se v mono- i dimerní formě. Tvoří asi 15 – 20% sérových imunoglobulinů. Vyskytuje se jak v séru, tak i v tkáňových tekutinách (sliny, slzy, vaginální sekret, bronchiální sekret, mléko atd.), kde působí jako primární obranný mechanismus proti místním infekcím. Na sliznicích se vyskytuje jako dimer s připojenou sekretonickou komponentou peptidové povahy, která tento modifikovaný sekreční IgA chrání před působením proteolytických enzymů. Jeho funkcí na sliznici je zabránit vstupu cizorodých látek do imunitního systému organismu. Bylo prokázáno, že zabraňuje vstupu virů do buněk a infekci buňky hostitele (Goodman 1994; Bartůňková et Šedivá 1997; Toman et al. 2000; Hořejší et Bartůňková, 2002; Jelínek et al. 2003).

Imunoglobulin D

Vyskytuje se jako monomer. Jeho koncentrace v séru je velmi nízká, přibližně 0,2% sérových imunoglobulinů. Je nestálý, vlivem teplotních změn a proteolytických enzymů podléhá štěpení. Spolu s IgM je hlavním povrchovým imunoglobulinem lymfocytů B, předpokládá se, že se podílí na diferenciaci těchto buněk, byla prokázána jeho protilátková aktivita proti antigenům jako jsou inzulin, penicilín, bílkoviny mléka a další. Jeho hlavní funkce však zůstává zatím neobjasněna (Goodman 1994; Bartůňková et Šedivá 1997; Toman et al. 2000; Hořejší et Bartůňková, 2002; Jelínek et al. 2003).

Imunoglobulin E

Vyskytuje se jako monomer. Jeho zastoupení v krevním séru je pouze 0,002%. Vyskytuje se i v ostatních tělních tekutinách. Za fyziologických podmínek slouží IgE především k obraně proti parazitárním infekcím. Dojde-li k vazbě specifického antigenu - alergenu na IgE fixovaný na povrchu žírných buněk, dochází k jeho degranulaci a uvolnění biologicky aktivních látek (např. histaminu) a tím vyvolání alergie případně až anafylaktický šok (Goodman 1994; Bartůňková et Šedivá 1997; Toman et al. 2000; Hořejší et Bartůňková, 2002; Jelínek et al. 2003).

2.2.3.2 Selen a imunitní systém

Z mnohých prací vyplývá, že adekvátní příjem selenu je esenciálním faktorem a může chránit imunitní systém před oxidačním poškozením (Clark et al. 1996, Baum et al. 1997, McKenzie et al. 1998, Rivera et al. 2003, Šimek et Krása 2007, Vega et al. 2007).

Nepostradatelný význam selenu byl prokázán v četných studiích během posledních 35 let jak pro buněčnou tak i pro humorální imunitu. Spočívá v protizánětlivém působení selenoproteinů, v zajištění redox potenciálu buňky a v cytostatickém uplatnění (Kiremidjian-Schumacher et al. 2000). Deficit Se snižuje humorální (Marsh et al. 1981) i buněčnou imunitu (Combs et Combs 1986), vývin primárních lymfocytárních orgánů (Marsh et al. 1986) a celkovou rezistenci proti chorobám (Marsh et al. 1981). Nejdůležitější projevy selenodeficiency uvádí tabulka 4.

Tab. 4. Přehled změn vybraných parametrů imunitního systému při deficienci selenu (McKenzie et al. 1998)

Stav	Parametr	Druh
↑	shlukování trombocytů a syntéza leukotrienů	člověk
↓	titrů IgG a IgM	člověk
↓	produkce protilátek lymfocyty	člověk, myš
↓	chemotaxe neutrofilů	koza
↓	aktivita leukocytů a neutrofilů	prase
↓	baktericidní aktivita neutrofilů	potkan
↑	CD4 ⁺ T lymfocytů	myš, ovce
↓	CD8 ⁺ T lymfocytů	myš, ovce
↓	CD4 ⁻ /CD8 ⁻ thymocytů	myš

Při nedostatku Se provázeném sníženou aktivitou GSH-P_x se uplatňuje riziko oxidačního stresu, při němž jsou ohroženy makromolekuly i buněčné membrány. Nedostatek Se je provázen poklesem leukotrienů (LTB₄), které se významně uplatňují v chemotaxi neutrofilů (Cao et al. 2000). Deficit Se snižuje efektivnost imunitních buněk (McKenzie et al. 1998). Nedostatek selenu se podílí na snížení imunity i v souvislosti s jeho katalytickým účinkem při přeměně T₄ na T₃ (Olivieri et al. 1996).

Podávání Se stimuluje aktivitu NK buněk. Posiluje se receptor pro IL-2, především u T a B lymfocytů. Stimulace IL-2 z aktivovaných CD4+ Th lymfocytů zvyšuje cytotoxicitu NK buněk, zvyšuje počet lymfocytů, podporuje produkci protilátek v B lymfocytech a zvyšuje citlivost nezralých buněk kostní dřeně na ostatní cytokininy při produkci prekurzorů imunitních buněk. Kombinace IL-2 a interferonu γ vázaného na monocyty a mikrofágy zvyšuje jejich odolnost a schopnost ničení mikroorganismů (Kiremidjian-Schumacher et al. 1996). Se také zvyšuje cytotoxicitu CD8+, počet CD4+, odezvu na mitogeny a prodlužuje přežití CD4+ při HIV (McKenzie et al. 2002). Suplementace Se zpomaluje pokles funkce NK buněk u starých lidí (Ravaglia et al. 2000).

Myši přijímající dietu obohacenou Se vykazovaly vyšší titr protilátek jak IgG tak IgM a vyšší úroveň komplementu. Se v kombinaci s vit. E zvyšuje po vakcinaci počet B buněk a protilátek (McKenzie et al. 1998).

Z prací Turnar and Finch (1991) vyplývá, že většina experimentů dokazujících uplatnění selenu v posílení imunity byla uskutečněna in vitro s izolovanými kulturami lymfocytů. Výsledky imunitních odpovědí na zvířatech přijímajících dietu bez nebo s nízkým obsahem selenu nebývají jednoznačné.

Lymfocyty mají klíčovou regulační a efektorovou úlohu v imunitní odpovědi. Rovněž podání malé dávky Se podporovalo odpověď lymfocytů u jehňat a skotu při deficientním stavu Se (Stabel et al. 1990). Lymfocyty získané od potkanů s nedostatkem Se produkovaly méně prostaglandinů ve srovnání s lymfocyty od potkanů suplementovaných selenem po dobu 12 týdnů (Cao et al. 2000).

Suplementace selenu povzbuzuje buněčnou imunitu trojím způsobem:

- selen zvyšuje expresi receptorů interleukinu 2 (IL2) na T lymfocytech, čímž podporuje jejich imunitní odezvu na antigeny (Roy et al. 1994). T buňky díky svým pomocným signálům, které poskytují B lymfocytům, hrají klíčové postavení v průběhu tvorby protilátek a tím se vysvětluje účinek selenu v tomto procesu. U starších jedinců byla po podávání selenu zjištěna účinnější imunitní odpověď - ve vztahu k IL2 (Roy et al. 1995)
- selen chrání imunokompetentní buňky před poškozením, které vzniká v důsledku oxidačního stresu (McKenzie et al. 1998)
- Se snižuje redukci agregace krevních destiček snižováním poměru tvorby tromboxanu ku leukotrienům (McKenzie et al. 1998)

Na nejvýznamnější efekty suplementace Se poukazuje tabulka 5.

Tab. 5. Přehled změn vybraných parametrů imunitního systému při dostatečné suplementaci selenu (McKenzie et al. 1998)

Stav	Parametr	Druh
<i>In vitro</i>		
↓	aktivace NF-κβ	člověk
↑	protilátková odpověď (primární i sekundární) na viry	skot, ovce
↓	apoptóza buněk kůže v důsledku UV záření	myš, člověk
↓	poškození DNA a peroxidace lipidů	myš, člověk
↑	apoptóza nádorových buněk	myš, člověk
↑	aktivita makrofágů	člověk
↑	aktivita CD8 ⁺ T lymfocytů	člověk
<i>In vivo</i>		
↑	migrace neutrofilů	skot, ovce
↑	afinity receptorů IL2	myš, člověk
↑	proliferace a funkce T lymfocytů	myš, člověk
↑	aktivita NK T lymfocytů	myš, člověk
↑	aktivita CD8 ⁺ T lymfocytů	myš
↑	podpora opožděného typu odpovědi vedoucí k lepší antigenní odpovědi	myš
↓	výskyt rakoviny kůže vyvolané UV zářením	myš

2.3 Poruchy způsobené nedostatkem Se

Všechny tkáně jsou citlivé na oxidační stres a klinické následky nedostatku selenu a vitamínu E, jsou u hospodářských zvířat velmi rozsáhlé (Undervood et Suttle 1999), jejich vznik souvisí s poruchami fyziologických funkcí, které jsou selenem a vitamínem E ovlivňovány (Palata 2004). V přehledech chorob způsobených jejich deficitem u různých živočišných druhů jsou uváděny: nutriční svalová dystrofie, poruchy imunitních funkcí, mastitidy, poruchy reprodukce (retence placenty, metritidy, ovariální cysty, odumrtí plodu), snížená osmotická rezistence erytrocytů a erytrocytární hemolýza, anémie, nekróza jater, nedostatečný růst, exsudativní diatéza a pankreatická fibróza u kuřat, snížená chladová rezistence, narušení syntézy steroidních hormonů a prostaglandinů, kardiovaskulární onemocnění, rakovina u lidí a další (McDowell 1992; Undervood et Suttle 1999; Toman et al. 2000; Palata 2004).

Nutriční svalová dystrofie (NSD) byla zjištěná u pasoucího se dobytka, hříbat, zajíců a ryb. Velká pozornost byla věnovaná především NSD u telat a jehňat. U ovcí, koz a telat se v prevenci NSD význam dotace selenu uplatňuje výrazněji než vitamín E. Nutriční svalová dystrofie je nezánětlivá degenerace případně nekróza různého stupně kosterní nebo srdeční svaloviny. Svalovou degeneraci v ČR poprvé popsal u mladého skotu na Šumavě Kurša (1969) a hromadný výskyt tohoto onemocnění u mladého skotu na Slovensku popsal Vrzgula et al. (1972). Všeobecně se udává, že nejčastější výskyt tohoto onemocnění je popisován u narozených nebo rostoucích jehňat, telat, hříbat a selat. Popsána byla také u kuřat a kachňat ve spojitosti s exudativní diathézou (McDowell 1992; Undervood et Suttle 1999; Palata 2004).

Selen a vitamín E ovlivňují zdravotní stav mléčné žlázy a mají vliv na kvalitu mléka. Jejich deficit je spojován se vzestupem závažnosti intramamárních infekcí a se vzestupem počtu somatických buněk v individuálních i bazénových vzorcích mléka (Palata 2004).

Podle Undervooda et Suttle (1999) a McDowella (1992) se při nedostatku selenu u ovcí zvyšuje perinatální mortalita a zhoršená reprodukce (snížená pohyblivost spermií, snížená plodnost, zadržetí placenty...). Dále se nedostatek selenu u ovcí projevuje poklesem růstové schopnosti nebo sníženou produkcí a kvalitou vlny.

2.4 Toxicita selenu

Nadbytečný příjem Se představuje riziko porušení zdravotního stavu. V České republice se sice vyskytují druhy rostlin (*Astragalus* spp., *Senecio* spp.) schopné aktivně kumulovat selen ve svých pletivech, ale vzhledem k nízké koncentraci selenu v půdě k intoxikacím nedochází. Půdy s vysokým obsahem selenu se v ČR nevyskytují. V podmínkách ČR se může toxicita Se uplatnit při nadměrné a neuvážené aplikaci Se v rámci prevence chorob z jeho nedostatku (Ludvíková et Pavlata 2005).

Mechanismus toxického účinku selenu spočívá v jeho fyzikálně-chemické podobnosti se sírou, kterou nahrazuje v některých biologicky důležitých sloučeninách. Příznaky akutní intoxikace se vyvíjejí přibližně do šesti hodin od přijetí selenu. Dominují mezi nimi pocení, tachykardie, letargie a střední až těžká kolika. Smrt může nastat již za 24 hodin. Subakutní otrava (*blind staggers*) je charakteristická postupnou ztrátou zraku s následným kolapsem a smrtí. Chronická intoxikace (*alkali disease*) je výsledkem týdny až měsíce trvajících nadměrného příjmu selenu v rostlinách. Projevuje se celkovou skleslostí, kachexií, vypadáváním srsti, ztuhlostí a bolestivostí končetin (McDowell 1992; Underwood et Suttle 1999; Pavlata 2004).

Po spásání trávy s vyšším obsahem Se nebo po dlouhodobé suplementaci vysokých dávek Se v krmivu byly zaznamenány selenózy (McDowell 1992).

Toxicita selenu zasahuje především kardiovaskulární, gastrointestinální a hemopoetický systém zvířat. Mechanismus toxicity nadměrného příjmu selenu není jasně definovaný. Davis et al. (2008) nezjistili klinické projevy intoxikace a histopatologické změny na orgánech ovcí (mozek, srdce, ledviny, játra, svaly, paznehty) ani při sedmdesátidvou týdenní příjmu 20 mg seleničitanu sodného na kg sušiny, přestože v krvi vzrostl obsah selenu až na 1 855 µg/l.

Předpokládá se, že při redukci seleničitanu se uvolňuje nadměrné množství volných radikálů, které poškozují tkáň a značně toxické mohou být následky nahrazení síry v sulfhydrilových skupinách selenem (Raisbeck, 2000).

Podle směrnic EU nesmí celková koncentrace selenu v sušině krmné dávky překročit hranici 5 ppm. Tyto směrnice však byly stanoveny pro anorganické formy, které jsou ve vyšších dávkách toxické. Podle výzkumů provedených v několika posledních letech je použití organických sloučenin tohoto stopového prvku bezpečnějším způsobem zvýšení zásoby selenu v těle zvířat při nižším riziku intoxikace (Rytina 2007).

Podle druhu a užitkovosti hospodářských zvířat udávají literární údaje potřebu selenu mezi 0,1 - 0,3 mg.kg⁻¹ sušiny krmiva (Shenkel et Flachowsky 2000, Jeroch et al. 2006).

Podle Reece (1998) se chronická toxicita projevuje: alkalózou při dávkách selenu na Kg sušina 5-10 ppm, slepotou a poruchami chůze při dávce 10-20 ppm, při akutní toxicitě 20 a více ppm nastává náhlá smrt. Toxickým účinkům selenu zabraňuje podávání síranů.

Při dávce 5 mg Na₂SeO₃.kg⁻¹ živé hmotnosti těla byl zaznamenán úhyn dvou (celkový počet čtyři) dvanáctiměsíčních jehňat již po šestnácti hodinách od podání (Smyth et al. 1990). Akutní intoxikace nastupují při dávkách 20 - 80 mg Se.kg⁻¹ živé hmotnosti těla (Puls 1988).

3. CÍLE DISERTAČNÍ PRÁCE

Cílem doktorské disertační práce bylo porovnat účinky zkrmování diet obsahujících odlišné formy selenu (*anorganická* – Na₂SeO₃ a *organická* – selenizovaná řasa rodu *Chlorella*) na obsah selenu, parametry krevních bílkovin a aktivitu glutathionperoxidázy u ovcí a jehňat plemene ovce Šumavská.

Předložená disertační práce vznikla v rámci řešení projektů:

- *MSM 600 766 58/06*, Trvale udržitelný způsob zemědělského hospodaření v podhorských a horských oblastech zaměřené na vytváření souladu mezi jejich produkčním a mimoprodukčním uplatněním,
- *GAČR 523/03/H076*, Zvýšení metodologické úrovně a teoretického vzdělávání studentů akreditovaného DSP 4103V Zootechnika - perspektivního studijního oboru obecná zootechnika,
- *IG 13/06 ZF JCU Č. Budějovice*, Účinnost suplementace selenu na úroveň IgG a lymfocytů (T a B) u hospodářských zvířat

4. MATERIÁL A METODY

4.1 POKUSNÁ ZVÍŘATA A JEJICH USTÁJENÍ

Do pokusu bylo zařazeno patnáct osmnáctiměsíčních jehnic plemene ovce Šumavská. Pokusná zvířata byla ustájena na hluboké podestýlce ve Školním zemědělském podniku JU v Českých Budějovicích v experimentální stáji akreditované pro pokusné účely (číslo akreditace 1020/788/A/00). Zvířata byla ustájena ve skupinových kotcích s volným přístupem do venkovního výběhu s jižní expozicí.

Ovce byly rozděleny do tří skupin po pěti kusech:

- kontrolní - C – bez přídatku Se
- experimentální - E1 – s nutričním přídatkem anorganického Se
- experimentální - E2 – s nutričním přídatkem organicky vázaného Se na sladkovodní řasu rodu *Chlorella*

Tab. 6. Živá hmotnost ovcí, počet a hmotnost narozených jehňat

Skupina (n = 5)	Živá hmotnost ovcí (kg)		Počet narozených jehňat na ovci	Průměrná živá hmotnost (kg)	
	začátek experimentu	2 měsíce po porodu		narozených jehňat	vrhu
C	37,0 ± 2,6	50,0 ± 2,7	1	4,6	4,6
E1	40,0 ± 3,6	52,8 ± 3,9	1	4,7	4,7
E2	39,3 ± 6,0	52,3 ± 3,6	1,8	4,4	7,7

Samotný pokus proběhl od července 2005 do března 2006. Zapouštění ovcí beranem stejného plemene (evidenční číslo: 09047-031CZ) proběhlo od září do října 2005. Ovce byly v průběhu pokusu ve stádiu jalovosti, gravidity a laktace. Všechny ovce zabřezly a porody proběhly v průběhu šesti týdnů. Průměrný počet narozených jehňat na ovci a průměrnou hmotnost jehňat i vrhu v rámci skupin uvádí tabulka 6.

Základní krmná dávka byla shodná pro všechny skupiny. Rozdíl byl pouze v obsahu selenu v minerální krmné přísadě (MKP). Složení krmné dávky na ks a den: 1180 g sena, 240 g vojtěškových úsušků, 270 g ovesného šrotu, 6 g MKP. Minerální krmná přísada (tabulka 10) pro skupinu C neobsahovala selen, pro skupinu E1 obsahovala 180 µg selenu ve formě seleničitanu sodného (Na_2SeO_3) a pro skupinu E2 180 µg selenu vázaného

v biomase jednobuněčné sladkovodní řasy rodu *Chlorella*. Minerální krmná přísada pro skupiny C a E1 obsahovala stejné množství biomasy řasy rodu *Chlorella*, jako pro skupinu E2 bez přidavku selenu v živném roztoku. Celkový příjem selenu krmnou dávkou uvádí tabulka 8.

Tab. 7 Obsah stopových prvků, řasy rodu *Chlorella* a vitamínů na 6g MKP

Skupina	Složka								
	Mn (mg)	Zn (mg)	Cu (mg)	I ₂ (mg)	Se (μg)	Chlorella (mg)	Vit. A (mj)	Vit. D (mj)	Vit. E (mj)
C	30,6	36	3	0,636	0	705,9	5000	600	8,5
E1	30,6	36	3	0,636	180	705,9	5000	600	8,5
E2	30,6	36	3	0,636	180	705,9	5000	600	8,5

Tab. 8. Denní příjem sušiny a Se v krmné dávce na kus a den

Skupina	C			E1			E2		
	Obsah (g)	Suš. (g)	Se (μg)	Obsah (g)	Suš. (g)	Se (μg)	Obsah (g)	Suš. (g)	Se (μg)
Seno	1180	1010	40	1180	1010	40	1180	1010	40
Vojtěška	240	218	6	240	218	6	240	218	6
Ovesný šrot	270	236	9	270	236	9	270	236	9
MKP	6	6	0	6	6	180	6	6	180
<i>Celkem</i>	<i>1696</i>	<i>1470</i>	<i>55</i>	<i>1696</i>	<i>1470</i>	<i>235</i>	<i>1696</i>	<i>1470</i>	<i>235</i>
Obsah Se [μg.kg ⁻¹ suš]			37			160			160

K produkci řasové biomasy byla použita technologie řízené kultivace v solárních bioreaktorech Mikrobiologického ústavu Akademie věd ČR v Třeboni podle patentu Doucha et Livanský (1999). Obsah selenu v 1 kg sušiny vyprodukované biomasy řasy rodu *Chlorella* byl 255 mg.

4.2 ODBĚR A ANALÝZA VZORKŮ

Odběr krve z *vena jugularis* do suché zkumavky pro stanovení IgG a Se v krevním séru a do heparinizované zkumavky pro stanovení aktivity GSH-Px v plné krvi a stanovení celkové bílkoviny a jejích frakcí v krevní plazmě byl prováděn v ranních hodinách (7⁰⁰ – 9⁰⁰) z jednorázovou jehlou. Před zahájením zkrmování selenových diet byl proveden vstupní odběr krve. Po zahájení pokusu byly odběry krve prováděny jedenkrát za měsíc a poslední v průměru 3 týdny před předpokládaným porodem. Období gravidity bylo rozděleno na tři části: **0-50**, **50-100** a **100-150** dnů. Po porodu byly vzorky krve odebrány v intervalech **1. ± 1**, **10. ± 2**, **30. ± 3** a **60. ± 3** den u bahnic a u narozených jehňat **1. ± 1**, **3. ± 1**, **10. ± 2**, **30. ± 3** a **60. ± 3** den. Ve stejných intervalech byla také zjišťována živá hmotnost pokusných ovcí a jehňat.

4.2.1 Sledované parametry

- *Koncentrace Se v krevním séru*
 - koncentrace selenu v krevním séru byla stanovena spektrofotometricky (Kvíčala et al. 1995),
 - obsah selenu je vyjádřen v $\mu\text{g.l}^{-1}$ krevního séra.
- *Aktivita glutathionperoxidázy v plné krvi*
 - byla stanovena kitem firmy Radox v laboratořích Fakultní nemocnice Plzeň
 - aktivita glutathionperoxidázy je vyjádřena v U/g Hb
- *Celková bílkovina v krevní plazmě*
 - byla stanovena kolorimetricky BIO-LA-TESTem firmy PLIVA-Lachema a.s. a je vyjádřena v g.l^{-1} krevní plazmy

- *Bílkovinné frakce v krevní plazmě*
 - bílkovinné frakce byly stanoveny na elektroforetickém systému od firmy Sebia s použitím soupravy Hydrogen protein K 20
 - vyhodnocení bílkovinných frakcí bylo provedeno pomocí programu Phoresis firmy Sebia
 - frakce jsou vyjádřeny v % celkové bílkoviny

- *Koncentrace IgG v krevním séru*
 - ELISA test firmy Immunotech a.s. - A Beckman coulter company
 - koncentrace IgG je vyjádřena v g.l⁻¹ krevního séra

- *Živá hmotnost pokusných jedinců*
 - živá hmotnost pokusných zvířat v kilogramech byla zjišťována v ranních hodinách bezprostředně po odběru krve na analogové decimální váze (účinné rozpětí do 100 kg)

4.3 ZPRACOVÁNÍ A STATISTICKÉ HODNOCENÍ DAT

Ke zpracování této práce byly použity programy Microsoft Word 2003 a Excel 2003. Pro statistické vyhodnocení zjištěných dat byla použita ANOVA Tukeyův HSD test (dle potřeby pro stejná nebo nespolečná - **n**) v programu Statistika 6. firmy Stat Soft. Základní statistická průkaznost byla akceptována na hladině významnosti $P < 0,05$. Další dvě hladiny významnosti byly zvoleny na úrovni $P < 0,01$ a $P < 0,001$.

Tab. 9 Úroveň významnosti korelačních koeficientů ($r_{x,y}$)

Rozmezí hodnot	Korelační koeficient	Rozmezí hodnot
$r_{x,y} > 0,3$	nízký	$r_{x,y} > - 0,3$
$0,3 \leq r_{x,y} < 0,5$	mírný	$- 0,3 \leq r_{x,y} < - 0,5$
$0,5 \leq r_{x,y} < 0,7$	střední	$- 0,5 \leq r_{x,y} < - 0,7$
$0,7 \leq r_{x,y} < 0,9$	vysoký	$- 0,7 \leq r_{x,y} < - 0,9$
$0,9 \leq r_{x,y} < 1,0$	velmi vysoký	$- 0,9 \leq r_{x,y} < - 1,0$
$r_{x,y} = 1,0$	funkční (matematická) závislost	$r_{x,y} = - 1,0$

5. VÝSLEDKY A DISKUZE

5.1. Parametry nutriční saturace bahnic a jehňat selenem

Jako parametry ukazující saturaci organismu selenem se nejčastěji využívá koncentrace selenu v plné krvi, krevním séru, nebo ve tkáních a aktivita GSH-Px (Undervood et Suttle 1999; Pavlata et al. 2000, 2001, 2002; Pavlata 2004).

Koncentrace selenu v krevním séru a aktivita GSH-Px v krvi sajících jehňat je přímo závislá na stavu zásobení matek selenem, jeho transplacentárním přenosu během gravidity a na jeho vylučování mlékem během laktace (van Saun et al. 1989; Knowles et al. 1999; Grace et al. 2001; Pavlata et al. 2004; Zhang et al. 2004; Nandakumaran et al. 2006).

Výsledky koncentrace selenu v krevním séru u bahnic (kapitola 5.1.1) a jehňat (kapitola 5.1.2.) byly publikovány v práci Trávníček et al. (2007).

5.1.1. Koncentrace Se v krevním séru bahnic

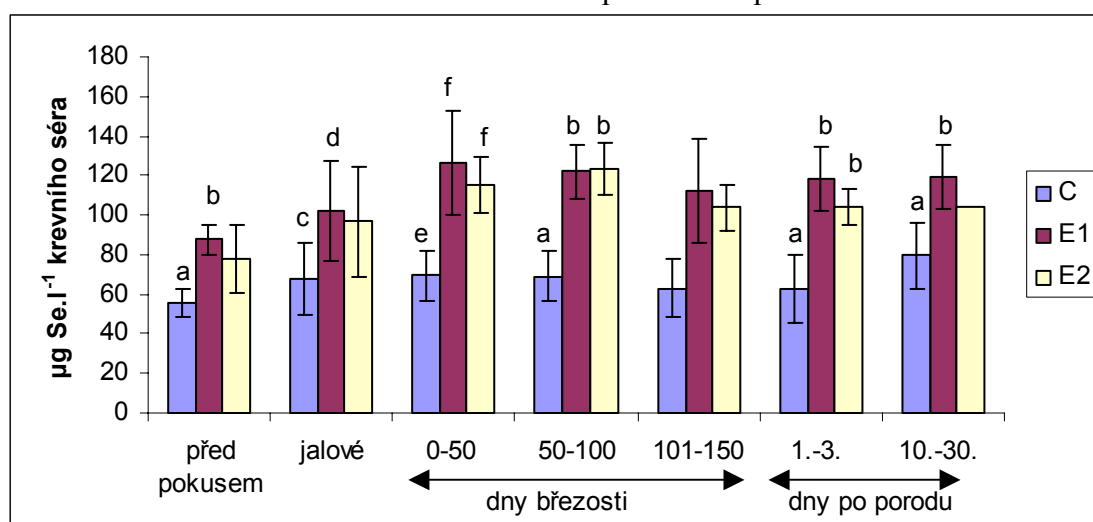
Průměrná koncentrace selenu (tab. 10) v krevním séru ovcí u skupin E1 ($114,2 \pm 23,6 \mu\text{g.l}^{-1}$) a E2 ($103,1 \pm 20,3 \mu\text{g.l}^{-1}$) byla 1,7 a 1,5 krát vyšší než u ovcí kontrolní skupiny C ($68,6 \pm 16,8 \mu\text{g.l}^{-1}$). Rozdíly byly statisticky vysoce významné. Toto zjištění je v souladu s prací Šustaly et al. (2003) a Davis et al. (2008), kteří zjistili vyšší koncentrace selenu v plné krvi suplementovaných dojnic i bahnic selenem ve srovnání se skupinou bez jeho suplementace. V rámci pokusných skupin byl průměrný obsah Se v krevním séru o 11,4 % vyšší u skupiny E1 oproti skupině E2. Rozdíl mezi pokusnými skupinami nebyl statisticky významný. Obdobně neprokázali statisticky významné rozdíly v obsahu selenu v plasmě, plné krvi ani v červených krvinkách Boldižarová et al. (2005) při suplementaci $300 \mu\text{g Se.kg}^{-1}$ sušiny krmiva jako seleničitanu sodného nebo selenem obohacených kvasnic.

Průměrná koncentrace selenu v krevním séru bahnic (tab. 10) byla ve srovnání s referenčním rozmezím selenu v krevním séru $120\text{-}150 \mu\text{g.l}^{-1}$ (Stowe et Herdt 1992) nižší. Referenčního rozmezí dosáhly pouze individuální hodnoty a dílčí průměry u skupin pokusných (graf 1).

Nejvyšší obsah Se v séru bahnic skupiny E1 ($126,5 \pm 26,6 \mu\text{g.l}^{-1}$) byl po 3 - 4 měsících (0 - 50 den gravidity) suplementace selenu, u skupiny E2 ($123,3 \pm 12,9 \mu\text{g.l}^{-1}$) ve 4.-5. měsíci pokusu (50 - 100 dnů gravidity). U všech skupin došlo k poklesu Se v krevním séru v poslední třetině gravidity a v prvním týdnu po porodu. U bahnic skupiny E2 přetrvával pokles do 30. dne po porodu (graf 1). Úbytek selenu v krevním séru od 100. do 150. dne březosti ovčí zaznamenali rovněž Gurdogan et al. (2006).

Rozdíly v obsahu Se v krevním séru a moči bahnic skupin E1 a E2 (Trávníček et al. 2007) v období gravidity a zejména laktace souvisí i s vyššími nároky na selen u bahnic skupiny E2 zajišťující výživu většího počtu plodů a následně i narozených jehňat (viz kapitola Materiál a metody – tabulka 6).

Graf 1 Koncentrace Se v krevním séru bahnic při různé suplementaci Se



^{c,d} $p < 0.05$; ^{a,b} $p < 0.01$; ^{e,f} $p < 0.001$

Tab. 10 Koncentrace Se ($\mu\text{g.l}^{-1}$) v krevním séru bahnic za celé období pokusu při různé suplementaci Se

sk.	n	x	s _x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	48	68,6 ^a	16,8	41,7	114,2	63,4	58,2	81,9
E1	47	114,2 ^b	23,6	70,3	175,0	114,3	97,0	127,6
E2	47	103,1 ^b	20,3	63,5	154,0	101,9	87,8	116,2

^{a,b} $p < 0.001$

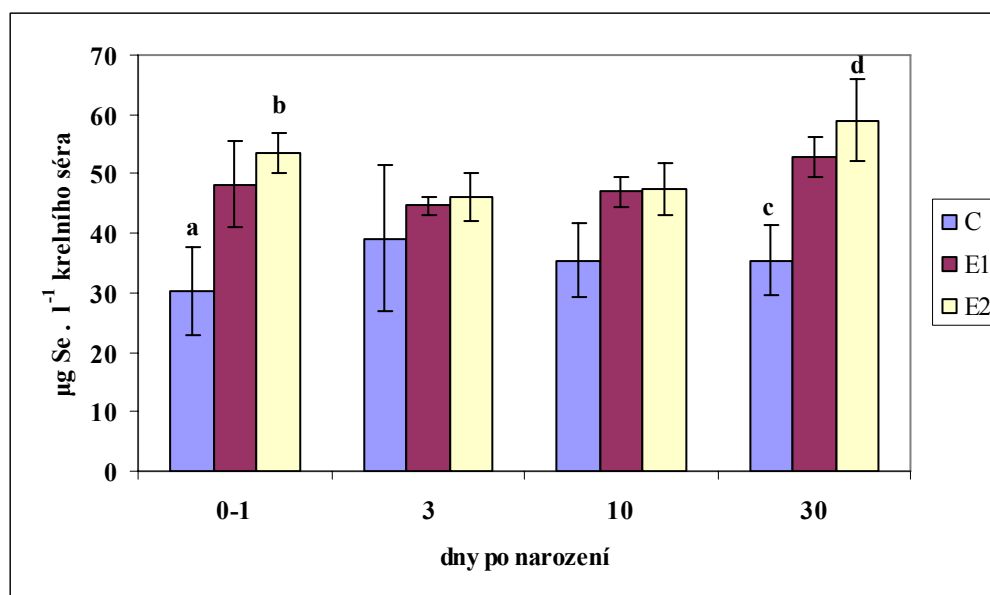
5.1.2. Koncentrace Se v krevním séru jehňat

Uplatnění suplementace selenu bahnicím se projevilo na jeho vyšší koncentraci v krevním séru narozených jehňat (graf 2). Účinek selenu vázaného v biomase řasy *Chlorella* byl výraznější, než doplněk selenu v anorganické formě. Průměrný obsah selenu v séru jehňat bahnic skupiny E2 byl rovněž o 8,9 % vyšší než u jehňat skupiny E1 a o 47,8 % vyšší než u jehňat skupiny C. Zmíněný rozdíl mezi skupinami byl statisticky průkazný (tab. 11). Obsah selenu v séru v den narození (graf 2) byl u jehňat skupiny E1 $48,2 \pm 7,3$, E2 $53,5 \pm 3,4$ a C $30,3 \pm 7,4$ $\mu\text{g.l}^{-1}$ u skupiny C a ve 30 dnech věku: E1 $52,9 \pm 3,4$, E2 $59,0 \pm 7,0$ a C $35,5 \pm 5,8$ $\mu\text{g.l}^{-1}$. Statisticky průkazné rozdíly mezi skupinami C a E2 byly jak v den narození ($P < 0,05$), tak ve věku 30 dnů ($P < 0,01$).

Zvýšení úrovně Se v krevním séru telat po jeho parenterálním podávání matkám prokázali Pavlata et al. (2003). Podle Abdelrahman et Kincaid (1995) dochází k nárůstu selenu telat i po zavedení selenového bolu do bachoru krav (matek).

Vyšší obsah selenu v krevním séru jehňat od narození až do 30. dne věku u skupin E1 a E2 lze vysvětlit jak vyšší úrovní transplacentárního přenosu selenu (van Saun et al. 1989; Pavlata et al. 2004) tak i jeho vyšší koncentrací v kolostru a mléce v závislosti na nutričním příjmu selenu matek (Grace et al. 2001; Pavlata et al. 2004; Zhang et al. 2004; Nandakumaran et al. 2006). Rozdíly v koncentraci selenu mezi pokusnými skupinami E1 a E2 lze přisoudit vyšší retenci selenu v organizmu z organických forem a jeho vyššímu vylučování do mléka (Knowles et al. 1999) ve srovnání s anorganickým selenem.

Graf 2 Koncentrace Se v krevním séru jehňat při různé suplementaci matek selenem



^{a,b} $p < 0.05$; ^{c,d} $p < 0.01$

Tab. 11 Koncentrace Se ($\mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$) v krevním séru jehňat za celé období pokusu při různé suplementaci matek selenem

sk.	n	\bar{x}	s_x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	13	33.9 ^a	9,3	20,9	57,8	35,9	29,7	40,0
E1	18	46,0 ^{b,c}	5,7	39,9	60,9	45,7	43,3	51,8
E2	32	50,1 ^{b,d}	8,6	39,7	72,6	49,9	47,1	53,2

^{a,b} $P < 0.01$, ^{c,d} $p < 0.05$

5.1.3. Aktivita GSH-Px bahnic

Aktivita GSH-Px patří mezi jeden z nejčastěji sledovaných parametrů dokumentujících stav zásobení zvířat selenem (Undervooda et Suttle 1999; Knowles et al. 1999; Milad et al. 2001; Pavlata et al. 2000, 2001, 2002; Šustala et al. 2003; Olivera et al. 2004; Pavlata 2004, Boldižárová 2005; Dercksen et al. 2007).

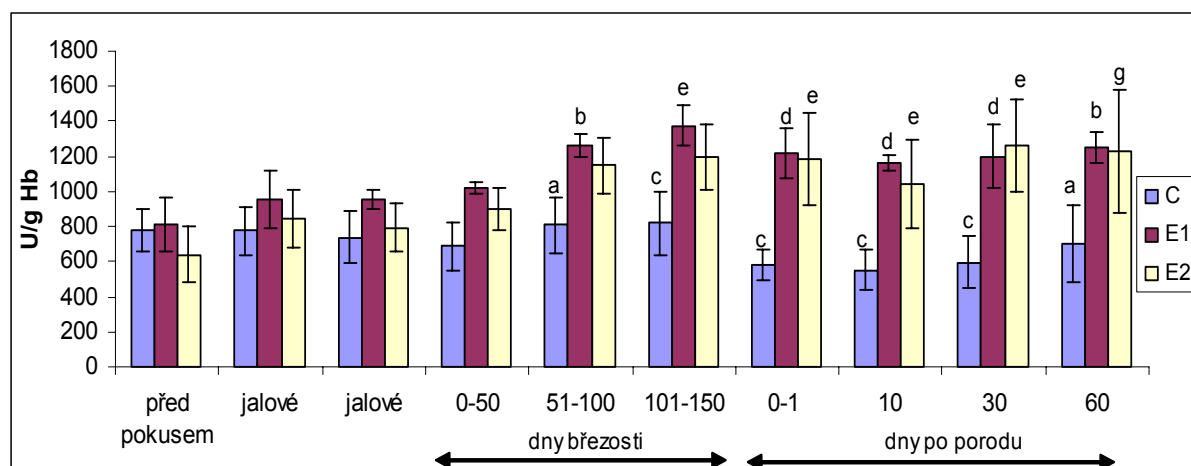
Průměrná aktivita GSH-Px v plné krvi (tab. 12) skupiny E1 ($1147,4 \pm 181,5$ U/g Hb) a E2 ($1056,1 \pm 267,5$ U/g Hb) byla 1.6 respektive 1.5 krát vyšší než u bahnic kontrolní skupiny C ($697,9 \pm 179,3$ U/g Hb). Uvedené změny poměru aktivity GSH-Px mezi skupinami odpovídá i poměru obsahu selenu v krevním séru. Rozdíly mezi kontrolní a pokusnými skupinami byly statisticky vysoce významné. Mezi skupinami pokusnými nebyly významné rozdíly zjištěny.

Dynamika aktivity GSH-Px je zaznamenána v grafu 3. U obou skupin experimentálních je obdobná. Nejvyšších hodnot dosáhla po 5 až 6 měsících suplementace v období, kdy byly bahnice v poslední třetině březosti. Trvale nejnižší hodnoty vykazovala skupina C (bez přídavku Se).

Od počátku suplementace až do třetí třetiny březosti se aktivita GSH-Px u všech skupin zvyšovala, především u skupin experimentálních. Nejvyšších hodnot dosáhla po 5 až 6 měsících suplementace v období, kdy byly bahnice v poslední třetině březosti. Po porodu došlo u všech skupin k poklesu aktivity GSH-Px - výraznějším u skupiny C, který přetrvával až do konce pokusu. U skupin experimentálních byl pokles po porodu méně výrazný.

Ve srovnání s údaji o aktivitě GSH-Px u bahnic po jednorázové s.c. aplikaci (Milad et al. 2001) nebo po 3 měsíční perorální suplementaci organické i anorganické formy Se (Boldižárová et al. 2005) jsou námi zjištěné hodnoty aktivity GSH-Px znatelně vyšší. Soustavně vyšší úroveň aktivity GSH-Px u skupin experimentálních svědčí o dlouhodobém uplatnění suplementace i poměrně nízkého doplňku Se na aktivitu GSH-Px.

Graf 3 Aktivita glutationperoxidázy bahnic při různé suplementaci Se



a,b,a,g p<0.05; c,e p<0.01; c,d p<0.001

Tab. 12 Aktivita glutationperoxidázy (U/g Hb) bahnic za celé období pokusu při různé suplementaci Se

sk.	n	x	s _x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	44	697,9 ^a	181,4	407,3	1081,3	678,1	588,8	808,1
E1	40	1147,4 ^b	183,8	737,5	1544,3	1160,0	1015,9	1273,4
E2	40	1046,9 ^b	273,9	604,8	1722,7	981,1	867,5	1258,5

^{a,b} p<0.001

5.1.4. Aktivita GSH-Px jehňat

Pozitivní efekt suplementace selenu bahnicím se projevil i ve vyšší aktivitě GSH-Px narozených jehňat (graf 4), přičemž organická forma Se (skupina E2) byla příznivější (tab. 12).

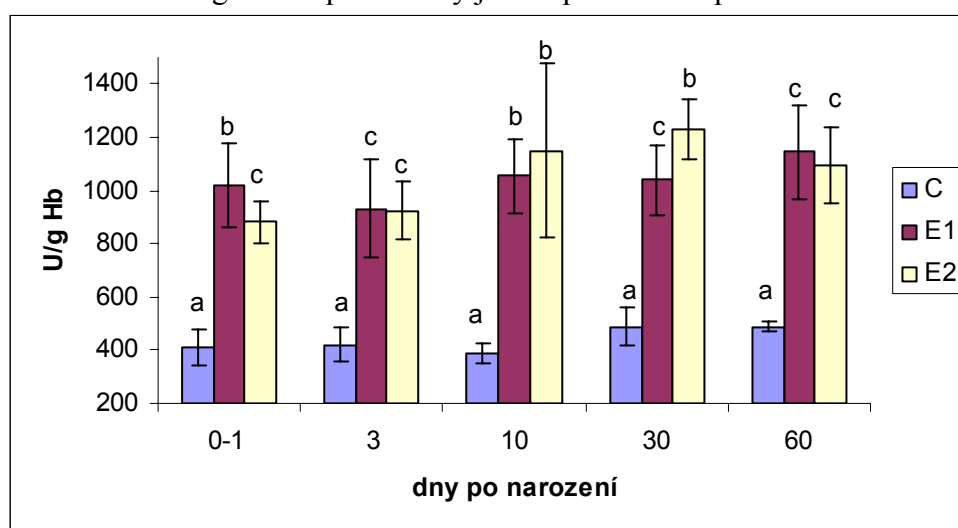
Průměrná aktivita GSH-Px v plné krvi (tab. 13) skupiny E1 (1031,6 ± 177,3 U/g Hb) a E2 (1055,6 ± 238,6 U/g Hb) byla 2.4 krát vyšší než u bahnic kontrolní skupiny C (434,1 ± 72,6 U/g Hb).

Aktivita GSH-Px u jehňat, jejichž matky byly dotovány selenem (E1 a E2), byla po celou dobu statisticky vysoce významně vyšší (p<0.01; p<0.001) oproti jehňatům, jejichž matky nebyly selenem dotovány vůbec (C).

Vyšší aktivitu GHS-Px u jehňat od narození až do 60. dne věku u skupin dotovaných selenem, lze vysvětlit jeho větším transplacentárním přenosem (van Saun et al., 1989; Pavlata et al., 2004), zvýšeným příjmem mlékem (Grace et al., 2001; Pavlata et al., 2004) a jeho předchozí retencí v organizmu bahnic během gravidity.

Vyšší aktivitu GHS-Px v krvi a vyšší obsah Se v krvi narozených jehňat, jejichž matky byly dotovány organickou formou selenu v podobě kvasnic ve srovnání se seleničitanem sodným uvádí také Qin et al. (2007).

Graf. 4 Aktivita glutationperoxidázy jehňat při různé suplementaci matek Se



^{a,c} $p < 0.01$; ^{a,b} $p < 0.001$

Tab.13 Aktivita glutationperoxidázy (U/g Hb) jehňat za celé období pokusu při různé suplementaci matek Se

sk.	n	x	s_x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	18	434,1 ^a	72,6	316,8	561,2	450,7	366,0	476,6
E1	18	1031,6 ^b	177,3	707,4	1357,4	1041,1	880,8	1182,6
E2	34	1055,6 ^b	238,6	748,2	1968,9	1007,2	857,3	1201,2

^{a,b} $p < 0.001$

5.2. Funkční a imunitní uplatnění Se v organismu

Funkční uplatnění úrovně saturace Se v proteosyntéze a imunitě bylo v předložené práci posuzováno na základě celkového stavu plasmatických bílkovin, jejich frakcí a koncentrace IgG v krevním séru.

Proteinémie je výrazně ovlivněna proteosyntézou. Plasmatické bílkoviny obsahují i mimo jiné i aminokyselina jako methionin a cystein, v jejichž molekule může selen částečně nebo úplně zastupovat síru (McDowell 1992; Underwood et Suttle 1999; Pavlata 2004). vzhledem k této skutečnosti a k uplatnění selenu v některých enzymatických procesech, nelze vyloučit potenciální ovlivnění příjmu různých forem selenu na proteinemii. Lze však předpokládat vliv selenu na imunitní odezvu organismu (Clark et al. 1996, McKenzie et al. 1998, Rivera et al. 2003, Šimek et Krása 2007, Vega et al. 2007) a tedy i na zvýšení objemu jak globulinových frakcí, tak i celkového množství imunoglobulinu G a poměru albuminů ke globulinům.

5.2.1. Celková bílkovina krevní plasmy bahnic

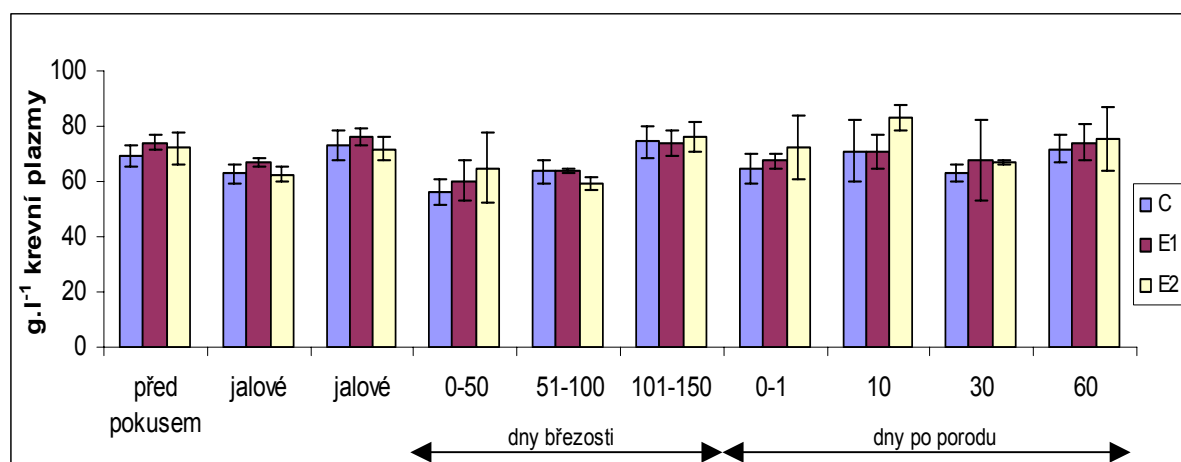
Stav proteinémie zůstal během celého období bez rozdílu mezi skupinami (tab. 14) a odpovídal referenčním hodnotám (Jagoš 1981; Jelínek et al. 2003).

Pokles proteinémie (graf 5) v prvních dvou třetinách březosti byl u všech skupin shodný a statisticky významně se nelišil, avšak v porovnání s literárními údaji (Jagoš 1981; Jelínek et al. 2003) se pohyboval na spodní hranici fyziologických hodnot. Příčinou poklesu byla nízká kvalita sena. V první třetině březosti došlo ke statisticky nevýznamnému přechodnému zvýšení proteinémie u skupin přijímajících selen, zvláště u skupiny E2. V druhé třetině březosti se toto zvyšování již neobjevuje. Naopak u skupiny E2, přijímající organickou formu selenu, je hodnota proteinémie nejnižší.

V metabolicky náročném období na konci gravidity a těsně po porodu, kdy jsou vysoké potřeby živin pro plod až do konce pokusu vykazovala skupina E2 převážně nejvyšší hodnotu proteinémie, přestože se v této skupině rodila a kojila v 80% dvojčata.

Skupina E2 vykazovala nejvyšší průměrné hodnoty proteinémie (tab. 14) na rozdíl od skupiny C (bez přídatku selenu) vykazující hodnoty nejnižší. Rozdíly nebyly statisticky významné.

Graf 5 Proteinémie bahnic při různé suplementaci Se



Tab.14 Průměrná úroveň proteinémie (g.l⁻¹krevní plazmy) bahnic za celé období pokusu při různé suplementaci Se

sk.	n	x	s _x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	49	67,0	8,0	50,4	85,0	66,1	62,3	71,2
E1	46	69,4	7,7	50,7	86,7	69,4	64,4	74,8
E2	46	70,3	10,1	48,6	93,5	68,5	63,5	76,8

5.2.2. Celková bílkovina krevní plasmy jehňat

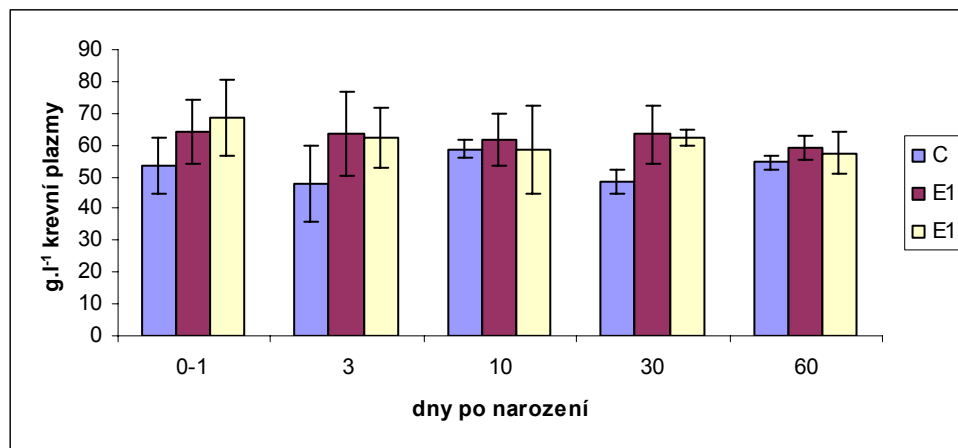
Proteinémie jehňat byla za celé sledované období od narození až do dvou měsíců (tab. 14) u skupin pokusných (E1 a E2), jejichž matky byly suplementovány selenem, statisticky významně vyšší ($p < 0.01$), oproti hodnotám jehňat ze skupiny kontrolní. Mezi skupinami pokusnými nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl.

Navíc je z grafu 6 je patrné, že proteinémie je během sledovaného období u skupin pokusných vyrovnanější. Ve skupině kontrolní jsou hodnoty v jednotlivých intervalech rozptýleny (tab. 15).

Fiala (2004) uvádí, že proteinémie novorozeneých jehňat by měla tvořit 60-80 % z celkové proteinémie dospělých jedinců. Tomuto zjištění odpovídají pouze hodnoty u jehňat skupiny kontrolní. Vyšší proteinémie u jehňat ze skupin pokusných byly

po narození i po celou dobu sledování na spodní hranici fyziologických hodnot dospělých zvířat (Jagoš et al. 1981; Jelínek et al. 2003). Toto zjištění poukazuje na okolnost, že dlouhodobé podávání selenu matkám ovlivňuje rychlost a intenzitu nástupu proteosyntézy u jejich jehňat.

Graf. 6 Proteinémie jehňat při různé suplementaci matek Se



Tab. 15 Průměrná úroveň proteinémie (g.l⁻¹ krevní plazmy) jehňat za celé období pokusu při různé suplementaci matek Se

sk.	n	x	s _x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	18	52,4 ^a	8,7	76,3	27,5	61,2	54,9	46,7
E1	20	62,7 ^b	10,2	104,2	42,2	81,5	62,0	54,3
E2	36	62,0 ^b	11,2	124,6	44,7	88,7	61,2	52,4

^{a,b} p<0.01

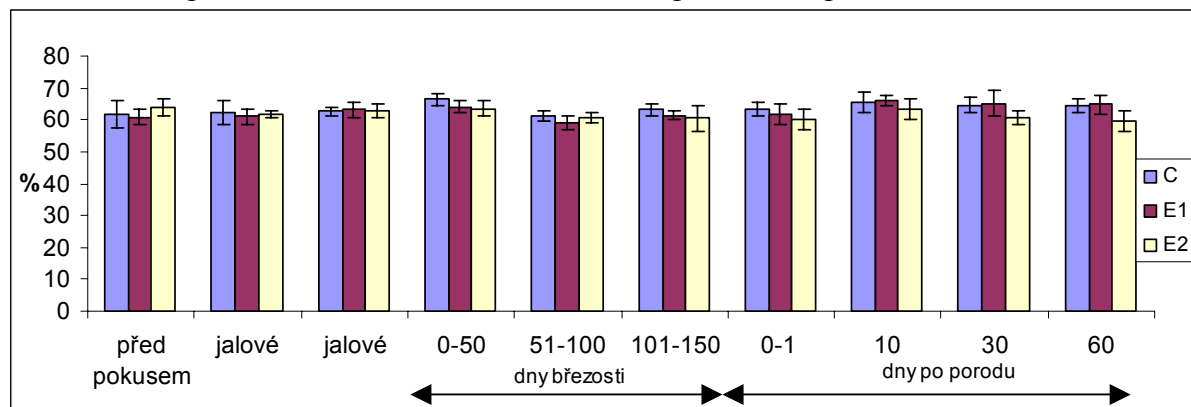
5.2.3. Bílkovinné frakce v krevním séru bahnic

Albuminy

Zastoupení albuminů (graf 7) se po celou dobu sledování pohybovalo významně nad hranicí fyziologických hodnot udávaných u ovcí (Jagoš et al. 1981; Jelínek et al. 2003). Ve srovnání s údaji Irfam (1967) je úroveň albuminů pouze nepatrně vyšší. Po celou dobu pokusu nedošlo k výraznému výkyvu od průměrných hodnot. Statisticky nejvyšší zastoupení albuminů bylo u skupiny C (tab. 16) bez přídavku selenu, především ve srovnání se skupinou E2 s dotací organické formy selenu vykazující současně vyšší zastoupení globulinových frakcí (tab. 20), především α a β a ve srovnání s údaji Jagoš (1981) i γ globulinové frakce.

Přes vyšší zastoupení albuminů u skupiny C nebyla jeho koncentrace vzhledem k nižší úrovni proteinémie (tab. 14) ovlivněna. Z tohoto nálezu vyplývá, že funkce vázané na albuminy (udržování osmotického tlaku a acidobazické rovnováhy, transport látek) a mechanismus jeho produkce v hepatocytech nebyly nedostatkem selenu postiženy.

Graf 7 Zastoupení albuminů v krevním séru bahnic při různé suplementaci Se



tab. 16 Průměrná úroveň procentického zastoupení albuminů v krevním séru bahnic za celé období pokusu při různé suplementaci Se

sk.	n	x	s _x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	49	63,6 ^a	3,1	56,3	68,8	63,9	61,5	65,8
E1	46	62,5	3,3	55,7	69,8	62,2	59,8	64,9
E2	46	61,8 ^b	3,1	52,5	67,7	62,0	59,8	64,0

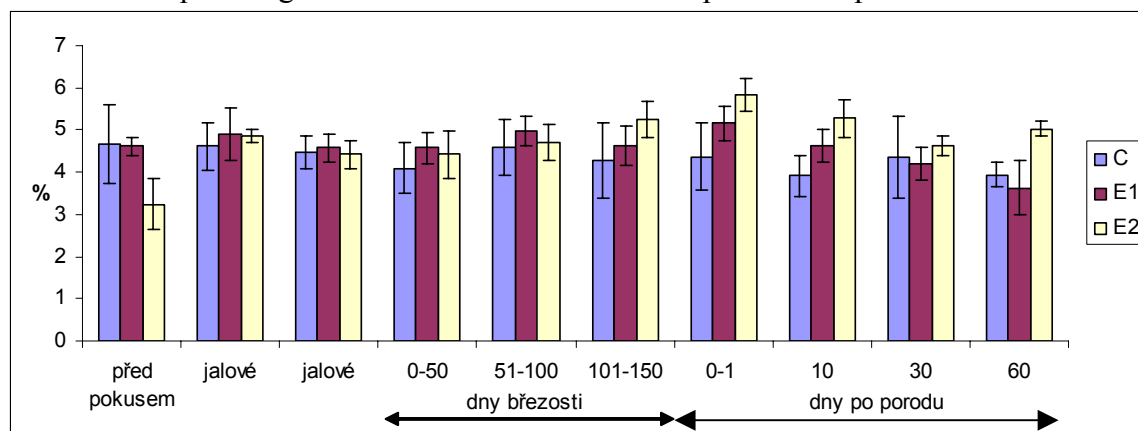
^{a,b} p<0.05

alfa globuliny

Procentické zastoupení α globulinů udávané jako celek je dle Jagoš (1981) 18 %. V předložené práci bylo možno vzhledem k použitému modernímu elektroforetickému přístroji spolehlivě sledovat α_1 a α_2 frakce a jejich celkové zastoupení odpovídá hodnotám udávaným Jagoš (1981). Tyto frakce se na rozdíl od γ globulinové frakce vyskytují u jehňat již bezprostředně po narození.

Globuliny α_1 i α_2 vykazují u bahnic (graf 8, 9) u skupiny E2 počínaje posledními dvěma měsíci před porodem trvale nejvyšší průměrné hodnoty. Vzhledem k transportní funkci α_1 i α_2 globulinů (přenos hormonů, mikroelementů) lze očekávat při suplementaci selenu, především jeho organicky vázané formy, posílení látkového metabolismu. Naproti tomu skupina C vykazovala statisticky významně nejnižší úroveň α_1 i α_2 frakcí (tab. 17, 18). Skupina E1 vykazovala po celou dobu pokusu nejnižší rozkolísání hodnot α_1 i α_2 frakcí (tab. 17, 18).

Graf 8 Zastoupení α_1 globulinu v krevním séru bahnic při různé suplementaci Se

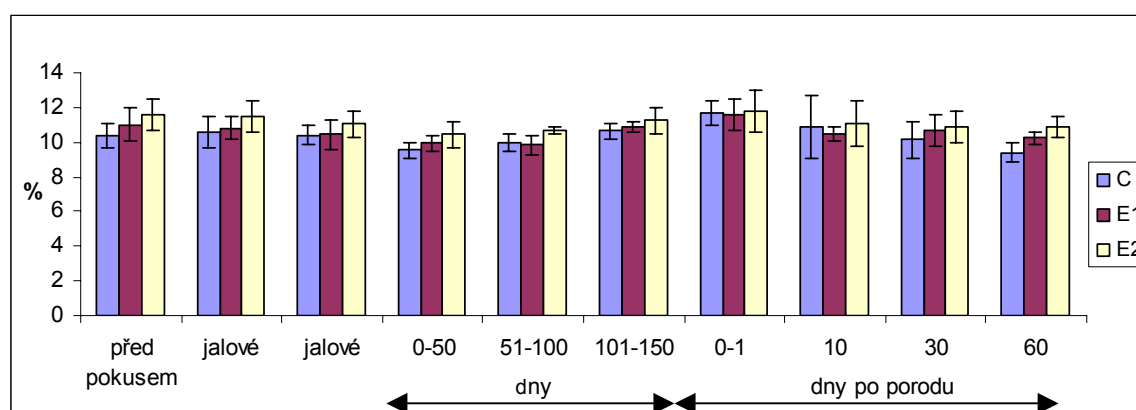


Tab. 17 Průměrná úroveň procentického zastoupení α_1 globulinu v krevním séru bahnic za celé období pokusu při různé suplementaci Se

sk.	n	x	s_x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	49	4,3 ^a	0,7	3,0	6,1	4,2	3,9	4,9
E1	46	4,6	0,6	3,0	5,9	4,7	4,4	5,0
E2	46	4,8 ^b	0,8	2,5	6,4	4,8	4,3	5,3

^{a,b} $p < 0.01$

Graf 9 Zastoupení α_2 globulinu v krevním séru bahnic při různé suplementaci Se



Tab. 18 Průměrná úroveň procentického zastoupení α_2 globulinu v krevním séru bahnic za celé období pokusu při různé suplementaci Se

sk.	n	x	s_x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	49	10,3 ^a	1,1	8,4	14,4	10,1	9,6	10,9
E1	46	10,6 ^b	0,9	9,1	13,1	10,6	9,9	11,2
E2	46	11,1 ^c	1,0	9,4	13,7	11,0	10,3	12,0

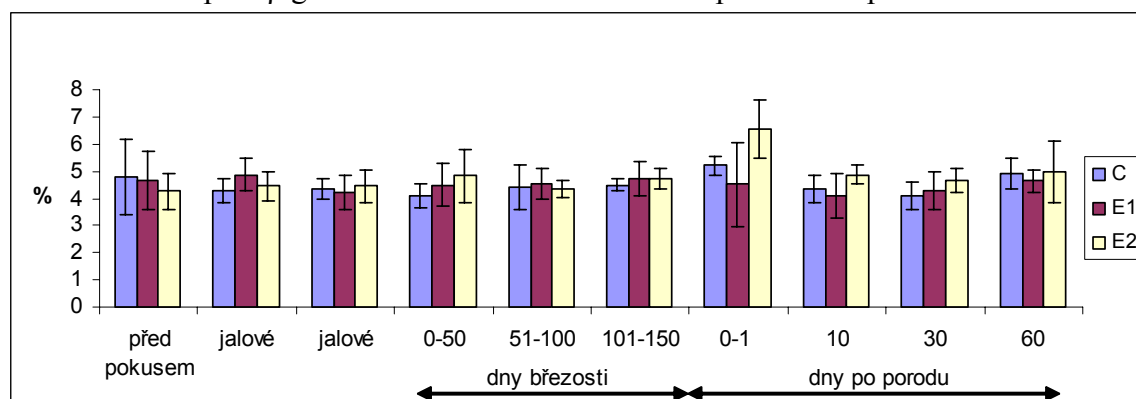
^{b,c} $p < 0.05$, ^{a,c} $p < 0.001$

beta globuliny

Zastoupení β globulinů je v porovnání s literárními údaji v krevní plazmě (Jelínek et al. 2003; Jagoš 1981; Irfan 1967; Kuttler et Marble 1960) nižší, vzhledem k tomu, že bílkovinné frakce byly v předložené práci stanoveny v krevním séru, který neobsahuje ve frakci β globulinů fibrinogen (Fiala 2004; Racek 1999).

Mezi skupinami nebyl zaznamenán statisticky významný rozdíl (tab. 19). Po celou dobu pokusu bylo zastoupení β globulinů vyrovnané s minimálním rozptylem. K výraznějšímu vychýlení došlo pouze v den porodu u skupiny E2 a u skupiny E1 se zvýšila individuální variabilita.

Graf 10 Zastoupení β globulinů v krevním séru bahnic při různé suplementaci Se



Tab. 19 Průměrná úroveň procentického zastoupení β globulinů v krevním séru bahnic za celé období pokusu při různé suplementaci Se

sk.	n	x	s _x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	49	4,5	0,7	3,0	7,4	4,5	4,0	4,8
E1	46	4,5	0,9	2,0	6,3	4,5	3,8	5,1
E2	46	4,8	1,0	3,0	8,6	4,8	4,2	5,2

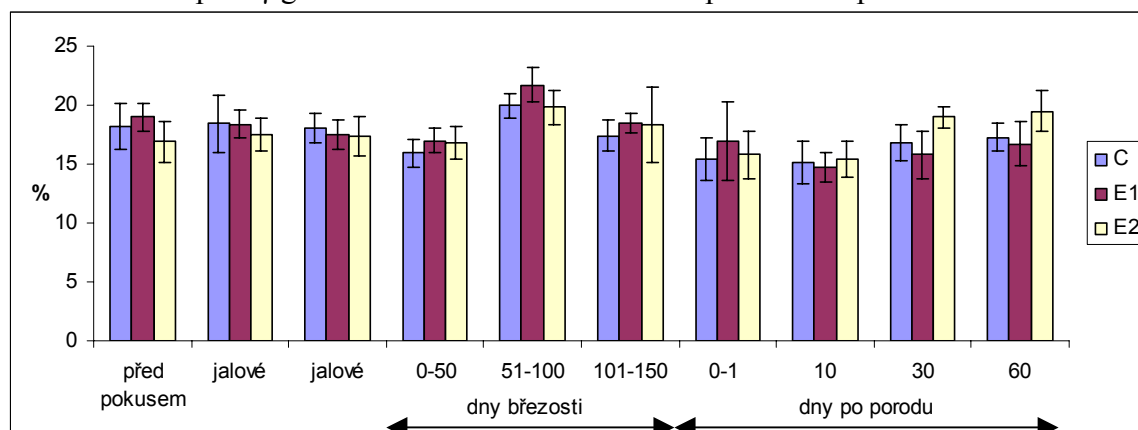
gama globuliny

Z grafu 11 je patrné, že se úroveň γ globulinů mezi skupinami výrazně nelišila, byla však významně nižší než udává Jagoš (1981) a odpovídaly hodnotám uvedeným Irfran (1967) a Kuttler et Marble (1960). Disproporce mezi zjištěnými hodnotami procentického zastoupení bílkovinných frakcí v literárních citacích (tab. 2) byly ovlivněny především různou kvalitou elektroforetického dělení bílkovin postupnou modernizací elektroforetických přístrojů.

Mezi skupinami (tab. 20) nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl průměrných hodnot. Nejvyšší úroveň mediánu u skupina E1 poukazuje na častější zastoupení vyšší úrovně γ globulinu v této skupině.

Vzhledem k tomu, že v γ globulinové frakci jsou soustředěny téměř všechny imunoglobuliny, nelze z dosažených výsledků vyvodit závěr vztahující se k celkovému posílení imunity zvířat při zvýšeném příjmu selenu.

Graf 11 Zastoupení γ globulinů v krevním séru bahnic při různé suplementaci Se



Tab. 20 Průměrná úroveň procentického zastoupení γ globulinů v krevním séru bahnic za celé období pokusu při různé suplementaci Se

sk.	n	x	s _x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	49	17,3	2,1	12,4	22,1	17,3	15,8	18,7
E1	46	17,7	2,5	13,0	24,2	18,0	15,9	19,0
E2	46	17,5	2,3	13,0	24,3	16,9	16,0	19,2

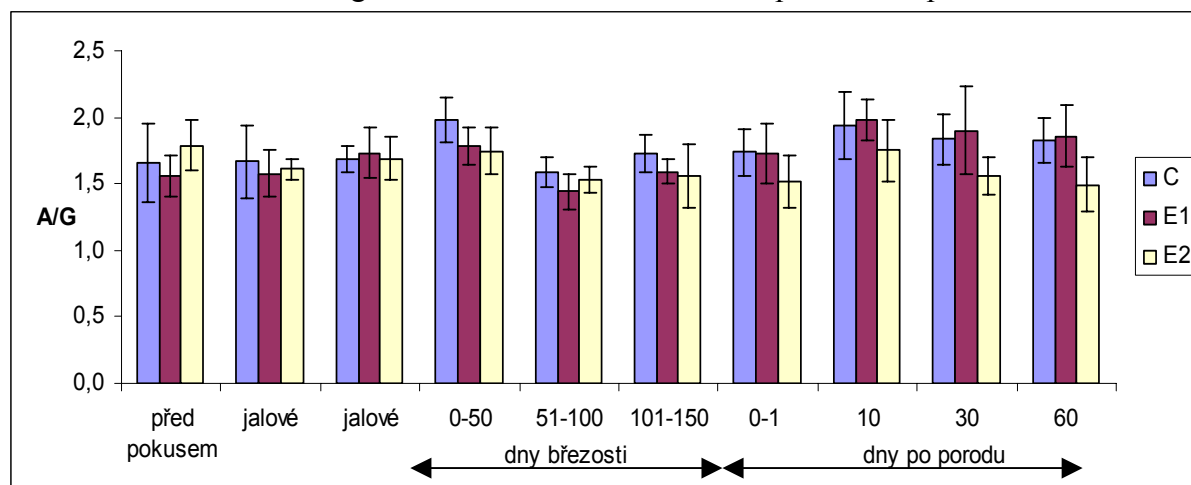
Poměr albuminů a globulinů (A/G) u bahnic

Poměr albuminů a globulinů (A/G) je rámcově vypovídajícím faktorem o stavu bílkovinných frakcí v organismu.

Z grafu 12 je patrné, že poměr A/G byl po celou dobu sledování v rámci skupin i mezi skupinami rozkolísaný. Tendence k jeho poklesu byla zaznamenána u všech skupin během březosti. Přičemž se uplatňuje nejen zvýšená syntéza γ globulinů, ale i vyšší využívání sérových albuminů k proteosyntéze v pohlavním ústrojí (Kolb 1974). Statisticky nevýznamně největší nárůst byl v období po porodu, kdy bahnice předávaly ve zvýšené míře protilátky z γ globulinové frakce do kolostra. V krevním séru došlo k poklesu globulinových frakcí, především γ globulinů (graf 11).

Statisticky významně nejnižší poměr A/G (tab. 21) byl u skupiny E2, která vykazovala nejnižší obsah albuminů a nejvíce globulinových frakcí i v posledním období, rizikovém z hlediska šíření infekce v pohlavních orgánech a v mléčné žláze. Naopak tomu bylo u skupiny C.

Graf 12 Poměr albuminů a globulinů v krevním séru bahnic při různé suplementaci Se



Tab. 21 Průměrná úroveň poměru albuminů a globulinů v krevním séru bahnic za celé sledování období při různé suplementaci Se

sk.	n	x	s _x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	49	1,76 ^a	0,23	1,29	2,21	1,77	1,60	1,92
E1	46	1,70	0,25	1,26	2,31	1,66	1,51	1,86
E2	46	1,63 ^b	0,21	1,11	2,10	1,63	1,49	1,78

^{a,b} p<0.05

5.2.4. Koncentrace IgG v krevním séru bahnic

V grafu 13 je znázorněna koncentrace IgG v průběhu celého pokusu. Během gravidity je patrné postupné narůstání koncentrace IgG v souladu s dynamikou γ globulinů (graf 11). Po porodu následuje pokles IgG u všech skupin.

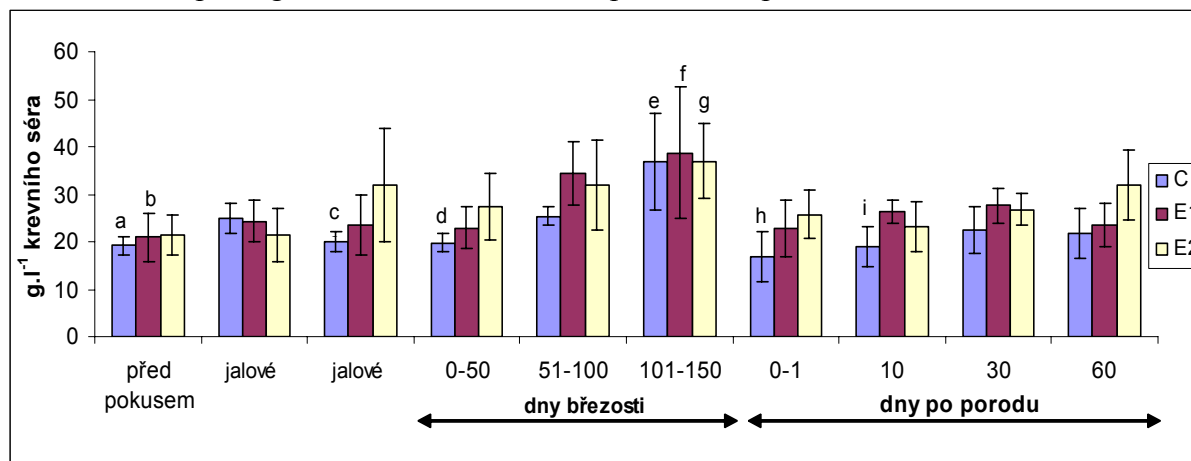
Obsah imunoglobulinů G v krevním séru jalových jehnic (graf 13) zůstal bez rozdílu mezi skupinami v rozsahu 20 – 30 g.l⁻¹ krevního séra, což odpovídá dle Barty (1993) již hodnotám dospělých bahnic. Nárůst IgG začíná březostí a dosahuje statistických významností v jejím závěru bez ohledu na příjem selenu. Tento náález poukazuje na uplatnění komplexu humorálních změn, především vzestupu estrogenů v období pokročilé gravidity (Toman et al. 2000). IgG krevního séra bahnic představuje jejich rozhodující zdroj pro mlezivo a narozená mláďata. V mlezivu ovcí je přítomen především izotyp IgG1 (Barta 1993).

Pokles IgG v krevním séru bahnic první den po porodu dosáhl statistické významnosti ($p < 0,01$) pouze u skupiny C (bez suplementace selenu). U skupin E1 a E2 došlo ke statisticky nevýznamnému poklesu IgG v krevním séru (E1 $p < 0,11$; E2 $p < 0,77$), přestože bahnice ve skupině E2, přijímající organickou formu selenu, porodily vesměs dvojčata. Na základě pozorování Lacetera et al. (1996) o zvýšené produkci kolostra při suplementaci Se lze vysvětlit dobrou prosperitu dvojčat při podávání organické formy selenu matkám.

Statisticky významně nižší ($p < 0,01$; $p < 0,05$) úroveň IgG ve skupině C se udržovala až do desátého dne po porodu, zatímco ve skupině s organickým příjmem selenu a s 80 % výskytem dvojčat byl šedesátý dne po porodu již zaznamenán statisticky nevýznamný nárůst IgG. Tendenci udržení vyšší úrovně selenu a imunoglobulinů G a M v krvi u bahnic při podávání organické formy selenu po porodu rovněž pozoroval u krav Awadeh et al. (1998).

Statisticky významně vyšší úroveň IgG u skupiny E2 za celou dobu pokusu (tab. 22) ve srovnání se skupinou C poukazuje na výraznější uplatnění organicky vázaného selenu pro syntézu IgG.

Graf 13 Zastoupení IgG v krevním séru bahnic při různé suplementaci Se



a;e; b:f; c:f; d:f; e;i; g;i $p < 0,05$; e:h; f:h; g:h; f;i $p < 0,01$

Tab. 22 Průměrná úroveň IgG (g.l^{-1} krevního séra) v krevním séru bahnic za celé období pokusu při různé suplementaci Se

sk.	n	x	s_x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	50	22,6 ^a	7,3	8,7	46,8	21,4	18,4	24,9
E1	45	26,6 ^b	8,9	15,5	58,5	25,9	20,2	30,7
E2	44	27,6 ^c	9,0	14,5	54,9	25,0	22,0	31,5

^{a,b} $p < 0,05$; ^{a,c} $p < 0,01$

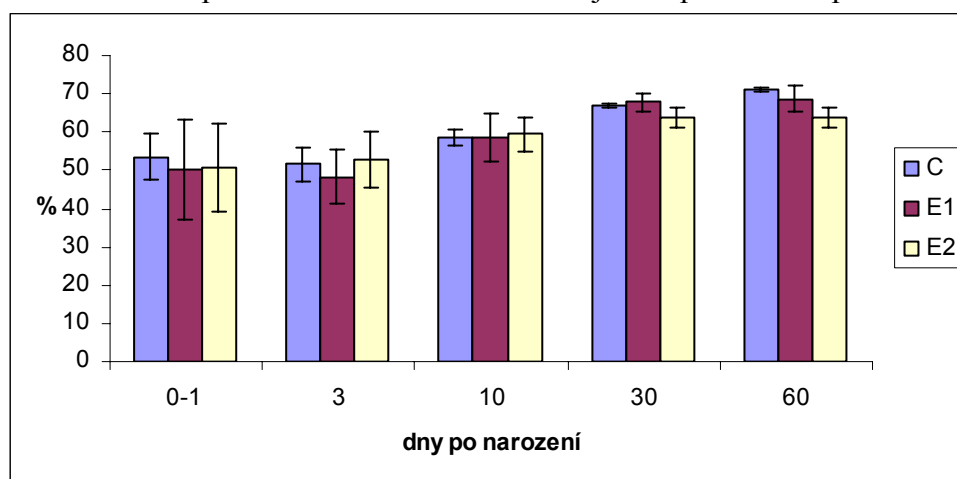
5.2.5. Bílkovinné frakce v krevním séru jehňat

Albuminy

Zastoupení albuminů (graf 14) je ve všech skupinách v období mlezivové výživy bez statisticky významného rozdílu a je nevýznamně nižší než u matek (graf 7). Lze předpokládat, že nižší zastoupení albuminů především do 3 dnů po narození souvisí s vysokým příjmem globulinů v mlezivu (Jelínek et al. 2003; Toman et al. 2000) a nízkou úrovní vlastní proteosyntézy v játrech (Jelínek et al. 2003).

V postnatální dynamice zastoupení albuminů se suplementace selenu neuplatnila (tab. 23, graf 14). Po celou dobu sledování se zastoupení albuminů pohybovalo, obdobně jako u bahnic, nad hranicí fyziologických hodnot udávaných Irfan (1967) a Kuttler a Marble (1960) pro 2 – 3 měsíční jehňata. Z nálezu vyplývá, že proteosyntéza albuminů a tím i jeho funkce (udržování osmotického tlaku a acidobazické rovnováhy, transport látek) nebyla ovlivněna příjmem selenu ani jeho formou. Vyšší zastoupení albuminů, nejvyšší u skupiny C (tab. 23), je na úkor zastoupení globulinových frakcí.

Graf 14. Zastoupení albuminů v krevním séru jehňat při různé suplementaci matek Se



Tab. 23 Průměrná úroveň procentického zastoupení albuminů v krevním séru jehňat za celé období pokusu při různé suplementaci matek Se

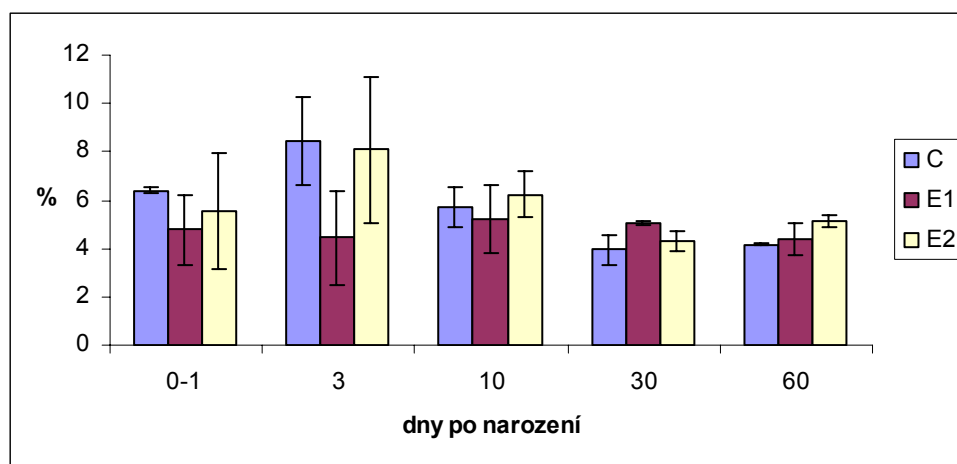
sk.	n	x	s _x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	17	59,5	8,2	44,6	71,8	58,8	53,3	66,6
E1	21	56,8	11,6	32,3	71,4	61,1	46,2	66,1
E2	39	57,4	8,9	28,7	67,4	59,5	52,4	64,2

alfa globuliny

α_1 i α_2 globuliny (tab. 24, 25) odpovídají fyziologickému rozpětí udanému Kuttler et Marble (1960). Dle hodnot udaných Irfran (1967) jsou α_1 globuliny mírně nižší a α_2 globuliny naopak vyšší. V obou případech jsou statisticky nejnižší hodnoty α globulinů u skupiny E1, statisticky nejvyšší hodnoty α_1 globulinu jsou u skupiny E2 a α_2 globulinu u skupiny C.

V grafech 15 a 16 je patrná výrazná individuální rozkolísanost hodnot α_1 i α_2 globulinů mezi skupinami E1 a E2, toto především během prvních 3 dnů po narození. 10. den po narození se hodnoty α globulinů stabilizovaly na úrovni, která přetrvala do konce sledování.

Graf 15. Zastoupení α_1 globulinu jehňat v krevním séru při různé suplementaci matek Se

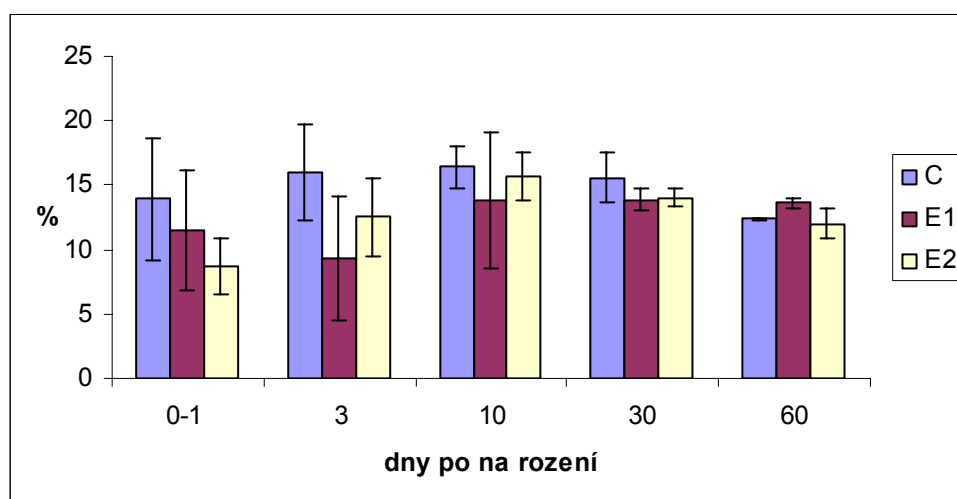


Tab. 24 Průměrná úroveň procentického zastoupení α_1 globulinu v krevním séru jehňat za celé období pokusu při různé suplementaci matek Se

sk.	n	x	s_x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	17	5,9	2,0	3,1	10,5	5,6	4,5	6,5
E1	21	4,8 ^a	1,5	2,7	8,1	4,8	3,7	5,2
E2	39	6,2 ^b	2,5	2,6	12,9	5,4	4,4	7,3

^{a,b} $p < 0.05$

Graf 16 Zastoupení α_2 globulinu v krevním séru jehňat při různé suplementaci matek Se



Tab. 25 Průměrná úroveň procentického zastoupení α_2 globulinu v krevním séru jehňat za celé období pokusu při různé suplementaci matek Se

sk.	n	x	s_x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	17	15,2 ^a	3,3	9,4	21,2	14,3	12,4	17,6
E1	21	12,2 ^b	4,7	5,0	20,4	13,1	8,3	15,0
E2	39	12,6	3,3	5,6	17,4	13,1	9,6	15,3

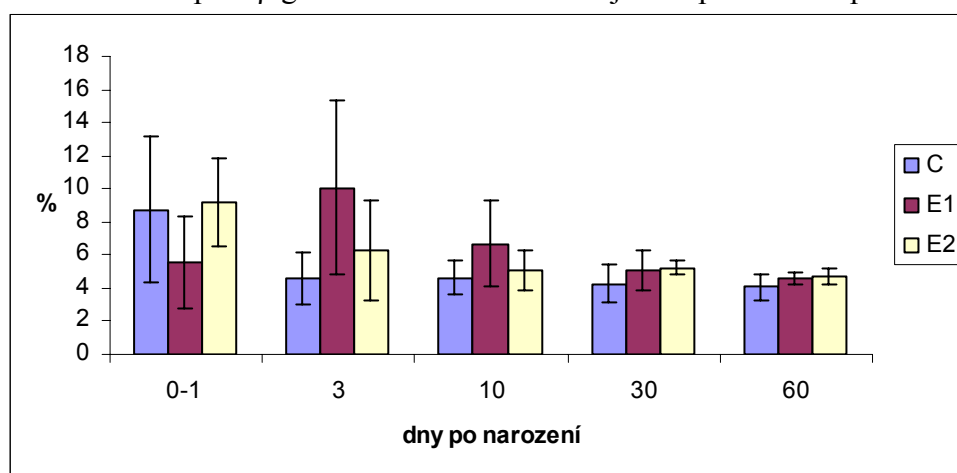
^{a,b} $p < 0.01$

beta globuliny

Průměrné zastoupení β globulinů v krevním séru jehňat (tab. 26) je v porovnání s literárními údaji (Irfan 1967; Kuttler et Marble 1960) nižší podobně jako u jejich matek, neboť v krevním séru není obsažen fibrinogen, který je součástí β globulinů (Fiala 2004; Racek 1999). Mezi skupinami (tab. 26) nebyly zjištěny statistické rozdíly.

Z grafu 17 je v prvních třech dnech po narození patrná velká rozkolísanost β globulinů v rámci skupin. Ke stabilizaci hodnot β globulinů došlo 10. dne po narození. Tato stabilizace β globulinů je významná pro transport lipoproteinů a stopových prvků v rozvíjejícím se látkovém metabolismu mláďat.

Graf 17 Zastoupení β globulinů v krevním séru jehňat při různé suplementaci matek Se



Tab. 26 Průměrná úroveň procentického zastoupení β globulinů v krevním séru jehňat za celé období pokusu při různé suplementaci matek Se

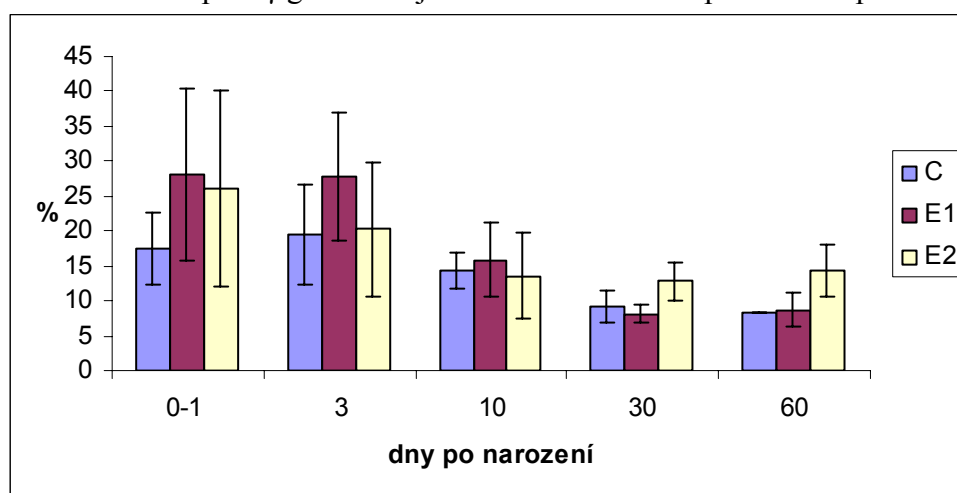
sk.	n	x	s_x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	17	5,2	2,8	1,9	13,8	4,8	3,5	5,7
E1	21	6,7	3,9	2,5	15,0	5,1	4,2	8,4
E2	39	6,2	2,7	3,0	14,1	5,1	4,6	6,8

gama globuliny

Z grafu 18 je patrné, že v prvních třech dnech po narození byly mezi skupinou kontrolní a skupinami pokusnými velké, ale statisticky nevýznamné rozdíly. Desátý den po narození zastoupení γ globulinů u všech skupin kleslo na hodnoty odpovídající fyziologickému postnatálnímu rozmezí (Irfran 1967; Kuttler et Marble 1960). Pokles pokračoval až do třicátého dne po narození pouze u skupiny C a E1, kdy se stabilizoval na stejných hodnotách až do konce pokusu. Naopak u skupiny E2 k tomuto poklesu nedošlo a hodnoty z desátého dne po narození se udržely až do konce sledovaného období. Tento nálezný koresponduje i se zjištěnými hodnotami IgG (graf 20) stanoveného ELISA testem a poukazuje na pohotovější nástup vlastní proteosyntézy.

Mezi skupinami pokusnými a kontrolní (tab. 27) nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl průměrných hodnot, při čemž nejvyšší hodnota mediánu u skupiny E2 poukazuje na častější zastoupení vyšší úrovně γ globulinů u jehňat matek suplementovaných organicky vázaným selenem.

Graf 18. Zastoupení γ globulinů jehňat v krevním séru při různé suplementaci matek Se



Tab. 27 Průměrná úroveň procentického zastoupení γ globulinů v krevním séru jehňat za celé období pokusu při různé suplementaci matek Se

sk.	n	x	s_x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	17	14,2	6,3	6,4	28,9	11,7	10,1	17,1
E1	21	19,5	12,0	6,3	47,4	14,8	11,1	25,0
E2	39	17,7	10,4	5,7	53,5	15,2	10,4	22,3

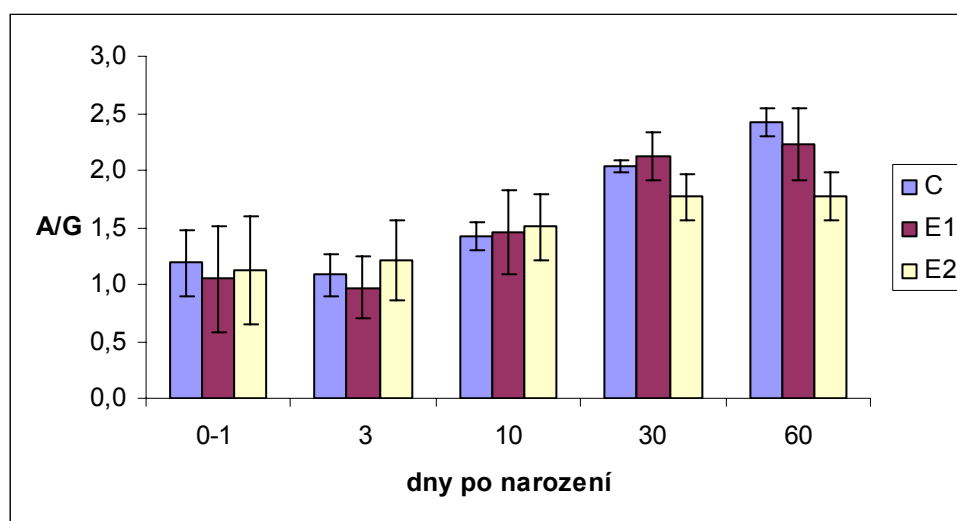
Poměr albuminů a globulinů (A/G) u jehňat

Z grafu 19 je patrné, že poměr albuminů a globulinů se v průběhu sledování u jehňat zvyšuje, což odpovídá přetrvávající nižší úrovni globulinů. V prvních třech dnech po narození se poměr albuminů a globulinů pohybuje v průměru 1,1 což ukazuje na větší množství globulinových frakcí, především IgG, který je postnatálně ve vysoké dávce přijímán z mleziva. Od desátého dne po narození se poměr albuminů a globulinů výrazněji zvyšoval u skupiny C a E1, naopak u skupiny E2 setrval na přibližně stejné úrovni, což ukazuje na vyšší produkci globulinových frakcí u jehňat, jejichž matky byly dlouhodobě saturovány organicky vázaným selenem.

Poměr albuminů a globulinů zjištěný do desátého dne po narození je u všech skupin mírně nižší než hodnoty zjištěné Podhorský et al. (2007) u narozených telat. Teprve po 10. dnu po narození odpovídá poměr albuminů a globulinů u skupiny E2 hodnotám zjištěným Podhorským et al. (2007). U skupin C a E1 jsou hodnoty poměru albuminů a globulinů vyšší.

V průměrném stavu poměru albuminů a globulinů nebyl do 60. dne po narození zjištěn mezi skupinami (tab. 28) statistický rozdíl. Výskyt extrémně nízkých individuálních hodnot byl zaznamenán pouze u skupin pokusných. Lze předpokládat, že některá jehňata matek suplementovaných selenem měla příležitost přijímat v mlezivu větší množství γ globulinů, což se odrazilo na jejich zastoupení v krevním séru (tab. 27).

Graf 19 Poměr albuminů a globulinů v krevním séru jehňat při různé suplementaci matek Se



Tab. 28 Průměrná úroveň poměru albuminů a globulinů v krevním séru jehňat za celé období pokusu při různé suplementaci matek Se

sk.	n	x	s _x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	17	1,56	0,52	0,81	2,55	1,43	1,14	1,99
E1	20	1,45	0,62	0,48	2,50	1,45	0,86	1,83
E2	39	1,43	0,43	0,40	2,07	1,47	1,10	1,80

5.2.6. Koncentrace IgG v krevním séru jehňat

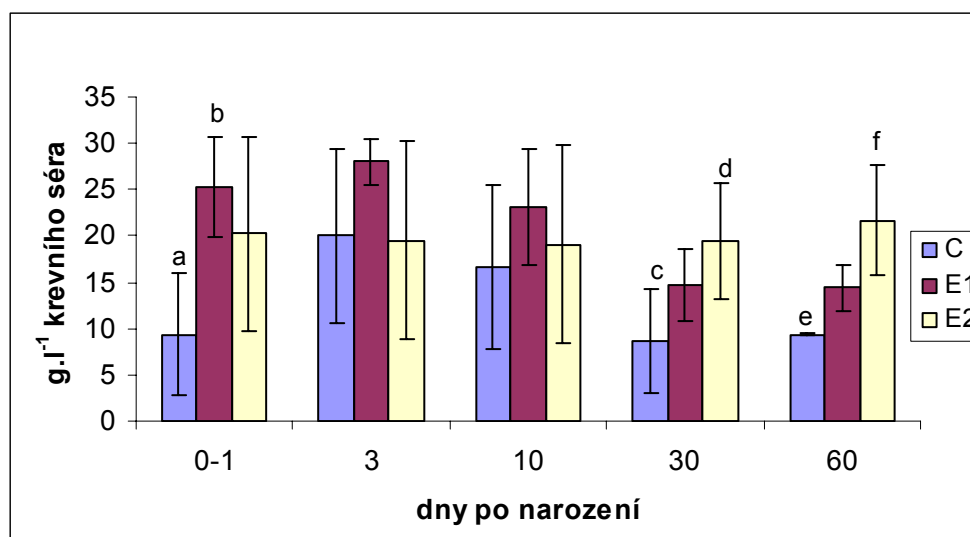
Průměrné hodnoty (graf 20) imunoglobulinů G jehňat se od třetího do desátého dne po narození mezi skupinami statisticky významně nelišily. V tomto období se na stavu IgG v krevním séru jehňat podílí souběžně jejich příjem z mleziva a nastupující vlastní proteosyntéza (Maden et al. 2003; Barta 1993). Po tomto období zůstává úroveň IgG třicátý a šedesátý den po narození ve skupině C statisticky významně nižší ve srovnání se skupinou E2 přijímající organicky vázaný Se v řase rodu *Chlorella*. Trvale vyšší hodnota IgG u skupiny E2 přijímající seleničitan sodný nedosáhla statistické významnosti (třicátý den $p < 0,85$; šedesátý den $p < 0,90$).

Změny obsahu imunoglobulinů G v krvi jehňat (tab. 30) se vyznačují značnou individuální variabilitou, což přisuzujeme také individuálnímu množství přijatého mleziva. Ve skupině kontrolní (C) nebyla první den po narození překročena úroveň 15 g IgG \cdot l⁻¹ krevního séra. V obou skupinách jehňat od matek suplementovaných selenem byly zaznamenány i u dvojčat (slupina E2) hodnoty nad 20 g.l⁻¹ krevního séra svědčící o významu suplementace matek selenem i s ohledem na jeho formu podávání. Pouze přechodně byla zaznamenána významně vyšší hodnota první den po narození u skupiny E1 přijímající seleničitan sodný.

Skupina kontrolní (tab. 29) má nejnižší průměrné hodnoty IgG ($p < 0,01$). Nejvyšší průměrná hodnota i medián byly zjištěny u skupiny E1.

Z dosažených výsledků dynamiky IgG jehňat do dvou měsíců po narození lze usuzovat na významnější posílení imunity jehňat od třiceti dnů po narození při suplementaci bahnice selenem v organické podobě (graf 20), ve srovnání s potomstvem matek suplementovaných anorganickou formou Se a zvláště bez suplementace Se.

Graf 20 Zastoupení IgG v krevním séru jehňat při různé suplementaci matek Se



a:b; c:d $p < 0,05$; e:f $p < 0,01$

Tab. 29 Průměrná úroveň IgG (g.l^{-1} krevního séra) v krevním séru jehňat za celé období pokusu při různé suplementaci matek Se

sk.	n	x	s_x	min.	max.	medián	25. kvantil	75. kvantil
C	17	13,4 ^a	9,1	0,1	30,0	10,4	8,0	17,9
E1	20	22,2 ^b	7,1	10,2	30,0	23,1	15,5	30,0
E2	39	19,9 ^c	9,6	0,4	30,0	19,7	14,5	30,0

^{a:c} $p < 0,05$; ^{a:b} $p < 0,01$

Tab. 30 Individuelní koncentrace sérového IgG (g.l^{-1} krevního séra)
 jehňat za celé období pokusu při různé suplementaci matek Se

Sk.	pohlaví	dny pokusu				
		1	3	10	30	60
C	J	-	28,8	19,5	8,0	-
	B	0,1	> 30	> 30	17,9	9,3
	B	13,7	10,4	9,4	4,8	-
	J	14,3	11,0	7,8	3,7	9,3
E1	B	> 30	> 30	> 30	14,3	18,0
	B	-	> 30	21,7	-	-
	J	24,5	25,5	20,6	10,2	12,5
	B	> 30	> 30	> 30	19,6	12,7
	B	16,7	24,4	13,5	-	-
E2	J	> 30	> 30	29,0	-	-
	J	19,7	10,1	25,2	-	-
	B	> 30	> 30	7,0	-	-
	J	0,4	1,0	1,6	19,4	29,8
	B	14,5	18,6	18,7	20,6	16,9
	J	> 30	> 30	> 30	28,4	16,1
	J	> 30	> 30	> 30	22,8	> 30
	B	20,7	19,0	24,8	18,0	19,3
	B	6,7	6,8	5,7	7,6	17,9

J – jehnička B – beránek

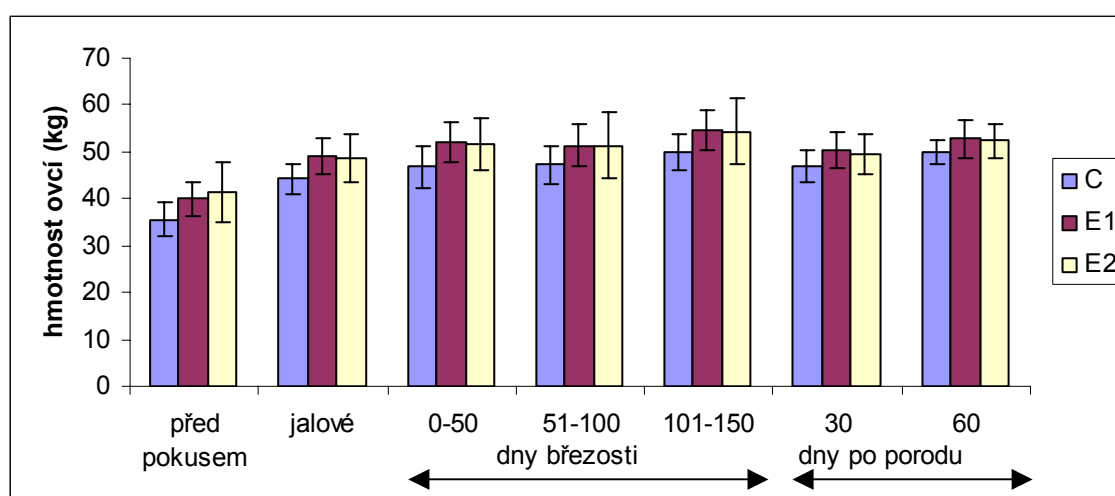
  dvojčata

5.3. Doplnkové parametry

5.3.1 Hmotnost a plodnost bahnic

Hmotnost jehnic, později bahnic (graf 21) se před ani během pokusu významně mezi skupinami nelišila.

Graf 21 Hmotnosti bahnic (kg) při různé suplementaci Se



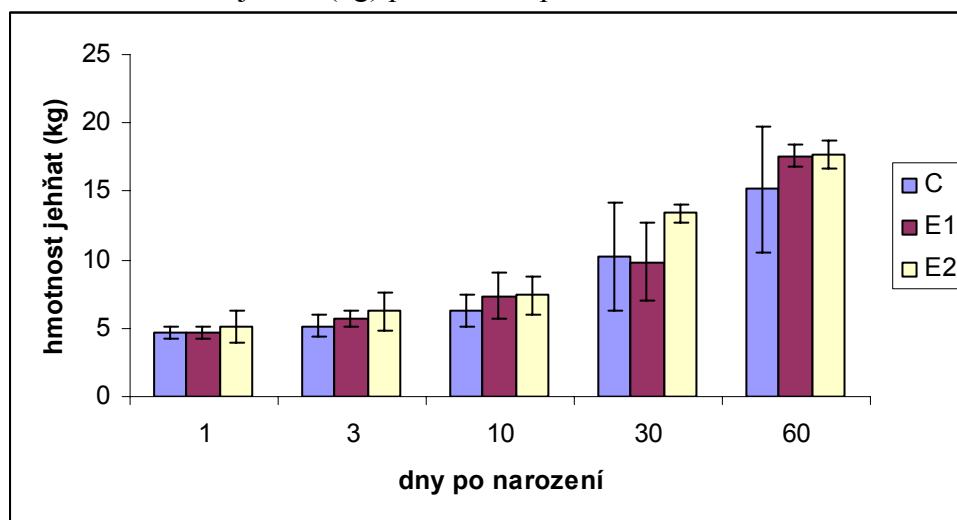
Nejvyšší průměrná hmotnost před zahájením pokusu byla zjištěna u skupiny E2 (41,4 kg), poněkud nižší u skupiny E1 (40,0 kg) a nejnižší u skupiny C (35,5 kg). Původní rozdíly hmotnosti se během pokusu snížily. V námi sledovaném období růstu jehnic se nepodařilo potvrdit předpoklad (Underwood et Suttle 1999), že zvířata suplementovaná selenem nevykazují rychlejší růst, neboť se jednalo o věkovou kategorii se závěrem růstu.

U skupiny bahnic přijímajících selenem obohacené řasy rodu *Chlorella* (skupina E2) byla však výrazně vyšší plodnost. Vzestup plodnosti o 38 % v selenodeficitních oblastech po suplementaci selenu zaznamenali u početné skupiny ovcí Balicka-Ramisz et al. (2006). V našem pokusu se jednalo o 80 % zvýšení plodnosti ve srovnání se skupinou kontrolní a skupinou přijímající anorganickou formu selenu. potvrzení statistické významnosti našeho nálezu vyžaduje opakování pokusu na větším počtu zvířat.

5.3.2 Hmotnost jehňat

Vývoj průměrných hmotností jehňat je znázorněn v grafu 22. Jak je patrné z grafu, všechny skupiny dosahovaly podobné nárůsty hmotností bez statisticky významných rozdílů mezi skupinami obdobně jako v práci Davis et al. (2008) při suplementaci různých dávek seleničitanu sodného. Průměrné porodní hmotnosti byly u všech skupin srovnatelné a pohybovaly se v rozmezí od 4,4 do 4,7 kg. Nejvyšší průměrná hmotnost byla zjištěna u obou pokusných skupin E1 a E2 na úrovni 4,6 kg. V závěru pokusu se průměrné hmotnosti dvouměsíčních jehňat nacházely v rozpětí 15,0 kg až 16,9 kg, s nejnižší hodnotou u skupiny C a nejvyšší u skupiny E1. Zajímavé lze považovat zjištění, že průměr hmotností skupiny E2 se od ostatních skupin neodlišoval i přes 80 % zastoupení dvojčat. Nejvyššího denního průměrného přírůstku bylo dosaženo u skupiny E1 (0,21 kg), druhá v pořadí byla jehňata skupiny E2 (0,20 kg) a jedinci ze skupiny C dosahovali nejnižších přírůstků (0,17 kg). Mezi uvedenými přírůstky nebyl zjištěn statisticky významný rozdíl. Uvedené přírůstky výrazně nezaostávají za hodnotami uváděnými v literatuře (Vejčík et al. 2001, Ochodnický et Poltálský 2003, Horák et al. 2007).

Graf 22 Hmotnost jehňat (kg) při různé suplementaci matek Se



5.4. Závislosti mezi sledovanými biochemickými parametry

Suplementace selenu se výrazně odráží na jeho obsahu v krvi (Trávníček et al. 2007) a na aktivitě enzymů, v nichž selen představuje aktivní složku (Undervood et Suttle 1999; McKenzie et al. 2002). Vzhledem k uplatnění selenu v látkovém metabolismu lze předpokládat i jeho aktivní zásah do preteosyntézy. K potvrzení těchto vztahů byla využita korelační analýza.

Jelikož jednotlivé skupiny dosahovaly velmi podobných korelačních koeficientů, jsou v dalším textu sumarizovány. Hodnoty koeficientů budou posuzovány dle škály uvedené v tabulce 9 (viz kapitola 4. Materiál a metody) a to při zjištění minimálně střední pozitivní či negativní hladiny závislosti.

5.4.1. Bahnice

U ovcí (tab. 31) analýza prokázala dvě středně vysoké pozitivní závislosti mezi obsahem selenu a aktivitou GSH-Px a mezi α_1 a α_2 globuliny. Negativní závislosti byly zjištěny pouze čtyři a všechny byly nízké.

Tab. 31 Korelační koeficienty ($r_{x,y}$) zjištěné mezi parametry bahnic

	Se	GSH-Px	CB	albuminy	α_1	α_2	β	γ	IgG
Se		0,51	-0,01	-0,05	0,04	-0,06	0,03	0,06	0,25
GSH-Px	0,51		0,24	0,06	0,22	0,06	0,08	0,13	0,46
CB	-0,01	0,24		0,10	0,24	0,45	0,34	0,22	0,22
albuminy	-0,05	0,06	0,10		-0,15	0,05	0,02	0,04	0,19
α_1	0,04	0,22	0,24	-0,15		0,50	0,38	0,45	0,24
α_2	-0,06	0,06	0,45	0,05	0,50		0,38	0,44	0,13
β	0,04	0,08	0,34	0,02	0,38	0,38		0,15	0,09
γ	0,06	0,13	0,22	0,04	0,45	0,44	0,15		0,33
IgG	0,25	0,46	0,22	0,19	0,24	0,13	0,09	0,33	

Středně vysokou závislost mezi selenem a GSH-Px prokázalo mnoho autorů, např. Undervood et Suttle 1999; , zvláště vysokou závislost mezi obsahem Se v plné krvi a aktivitou GSH-Px ($r = 0,93$) prokázal Pavlata et al. (2001b). Námi zjištěnou nižší úroveň $r_{x,y}$ lze vysvětlit tím, že selen byl stanoven v krevním séru.

Vysokou závislost mezi α_1 a α_2 globuliny lze vysvětlit molekulární podobností těchto bílkovin, jejichž elektroforetické dělení je méně výrazné než u ostatních globulinových frakcí.

5.4.2. Jehňata

U jehňat (tab. 32) analýza prokázala střední pozitivní závislost mezi obsahem selenu a aktivitou GSH-Px a množstvím celkové bílkoviny a γ globulinů, vysokou pozitivní závislost mezi zastoupením γ globulinů a IgG, který je součástí γ globulinové frakce a střední negativní závislost mezi zastoupením albuminů a γ globulinů.

Tab. 32 Korelační koeficienty ($r_{x,y}$) zjištěné mezi parametry jehňat

	Se	GSH-Px	CB	albuminy	α_1	α_2	β	γ	IgG
Se		0,51	-0,04	0,24	-0,17	0,08	0,05	-0,13	-0,13
GSH-Px	0,51		0,46	0,34	0,04	-0,13	-0,02	0,03	0,12
CB	-0,04	0,46		0,12	-0,07	-0,12	0,27	0,53	0,42
albuminy	0,24	0,34	0,12		0,16	0,20	-0,20	-0,57	-0,49
α_1	-0,17	0,04	-0,07	0,16		-0,04	-0,27	-0,09	-0,14
α_2	0,08	-0,13	-0,12	0,20	-0,04		-0,11	-0,22	-0,21
β	0,05	-0,02	0,27	-0,20	-0,27	-0,11		0,40	0,32
γ	-0,13	0,03	0,53	-0,57	-0,09	-0,22	0,40		0,77
IgG	-0,13	0,12	0,42	-0,49	-0,14	-0,21	0,32	0,77	

Středně vysoká závislost mezi obsahem selenu a GSH-Px se prokázala i u jehňat bez ohledu na formu podávaného selenu.

Ze zjištěných nálezů vyplývá, že v postnatálním nárůstu celkové bílkoviny přispívají především γ globuliny, jejichž největší podíl tvoří IgG (Goodman 1994; Bartůňková et Šedivá 1997; Toman et al. 2000; Hořejší et Bartůňlová 2002; Jelínek et al. 2003), což se současně odrazilo i na střední negativní závislosti mezi albuminy a γ globuliny (Fiala 2004; Racek 1999; Masopust 1998).

6. ZÁVĚR

Suplementace selenu bahnicím v množství $180 \mu\text{g} \cdot \text{ks}^{-1} \cdot \text{den}^{-1}$ v podobě anorganické (Na_2SeO_3) a organické (selen vázaný v řase rodu *Chlorella*) je provázena statisticky významným vzestupem koncentrace selenu v krevním séru ($p < 0,05$) po 100 dnech na $121 \pm 20,4 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ krevního séra.

U bahnic bez suplementace selenu nepřesahuje koncentrace selenu v krevním séru $55 - 79 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$.

Uvedené rozdíly koncentrace selenu v krevním séru bahnic přetrvávaly po celou dobu březosti až do třicátého dne po porodu.

Koncentrace selenu $51,5 \pm 5,2 \mu\text{g} \cdot \text{l}^{-1}$ krevního séra jehňat od matek suplementovaných organickou formou poukazuje na její vyšší postnatální účinnost v porovnání s anorganickou formou.

Aktivita glutationperoxidázy – HSG-Px bahnic se významně zvyšuje v souladu s nárůstem obsahu selenu v krevním séru.

GSH-Px jehňat od matek bez suplementace selenu se trvale udržuje pouze na úrovni $434,0 \pm 72,6 \text{ U/g Hb}$, zatím co jehňata od matek suplementovaných selenem dosáhla do šedesátého dne po narození zvýšení na průměrnou hodnotu $1043,6 \pm 208 \text{ U/g Hb}$ ($p < 0,001$). Tento nálezný vyžaduje podrobnější průzkum intenzity látkového metabolismu při suplementaci selenu.

Diferencovaný příjem selenu u bahnic se neodráží na obsahu celkové bílkoviny a procentuelním zastoupení jejích frakcí v krevní plazmě. Obsah IgG vykazuje bez ohledu na aplikaci selenu významný vzestup v posledních dvou měsících březosti a prudký pokles první den po porodu výraznější u kontrolní skupiny.

Jehňata od matek suplementovaných selenem, bez ohledu na jeho formu, vykazují vyšší úroveň celkové bílkoviny a vyšší zastoupení globulinových frakcí a především vyšší koncentraci IgG. Obsah IgG je od třicátého dne po narození vyšší u jehňat bahnic suplementovaných selenem, především organickou formou ($p < 0,01$).

Z výše uvedených závěrů je patrná nezbytnost suplementace selenu gravidním bahnicím, přičemž se organická forma v podobě selenu vázaného na sladkovodní řasu rodu *Chlorella* jeví jako účinnější pro zajištění vyšší úrovně imunoglobulinu G u jehňat před odstavem. Toto zjištění vyžaduje další navazující experimentální prověření.

Rovněž častější výskyt dvojčat u bahnic suplementovaných organickou formou selenu představuje zajímavý námět k testaci jeho podávání na velkém stádu ovcí v provozních podmínkách.

7. SOUHRN

Cílem disertační práce bylo porovnat účinky zkrmování diet obsahujících odlišné formy selenu (*anorganický* – Na_2SeO_3 a *organický* – selenizovaná řasa rodu *Chlorella*) na ukazatele stavu zásobení organismu selenem, na funkční a imunitní uplatnění selenu u ovcí a narozených jehňat.

Do pokusu bylo zařazeno patnáct osmnáctiměsíčních jehnic plemene ovce Šumavská. Pokusná zvířata byla ustájena ve Školním zemědělském podniku JU v experimentální stáji akreditované pro pokusné účely (číslo akreditace 1020/788/A/00). Vlastní pokus proběhl od července 2005 do března následujícího roku. Ovce byly v průběhu pokusu ve stádiu jalovosti, gravidity a laktace. Všechny ovce zabřezly a porody proběhly v průběhu šesti týdnů.

Základní krmná dávka byla shodná pro všechny skupiny. Složení krmné dávky na kus a den: 1180 g sena, 240 g vojtěškových úsušků, 270 g ovesného šrotu, 6 g minerální krmné přísady (MKP) obsahující vitamíny, makro a mikro prvky s výjimkou selenu u skupiny C. Pro skupinu E1 obsahovala MKP 180 μg selenu ve formě seleničitanu sodného (Na_2SeO_3) a pro skupinu E2 180 μg selenu vázaného v biomase jednobuněčné sladkovodní řasy rodu *Chlorella*.

Vzorky krve byly odebírány v ranních hodinách z *vena jugularis* do heparinizované zkumavky. Po zahájení pokusu byly odběry krve u jehnic prováděny jedenkrát za měsíc a poslední v průměru 4 týdny před předpokládaným porodem. Období gravidity bylo rozděleno na tři části: 0-50, 50-100 a 100-150 dnů. Po porodu u bahnic byly vzorky krve získány první, desátý, třicátý a šedesátý den a u narozených jehňat první, třetí, desátý, třicátý a šedesátý den života. Ve stejných intervalech byla zjišťována živá hmotnost pokusných ovcí a jehňat.

Parametry sledované v průběhu pokusu:

- Koncentrace Se v krevním séru – neutronová aktivační analýza a spektrofluorometrie
- Aktivita glutationperoxidázy v plné krvi – Randox kit
- Celková bílkovina krevní plazma - kolorimetricky
- Bílkovinné frakce v krevním séru - elektroforeticky
- Koncentrace IgG v krevním séru – ELISA test
- Živá hmotnost pokusných jedinců

Při suplementaci Se po dobu 270 dní došlo ke zvýšení ($p < 0,001$) selenu v krevním séru na $114,2 \pm 23,6 \mu\text{g.l}^{-1}$ u skupiny E1 přijímající Na_2SeO_3 a na $103,1 \pm 20,3 \mu\text{g.l}^{-1}$ u skupiny E2 přijímající řasu rodu *Chlorella* obohacenou o organicky vázaný selen. Ve skupině C $68,6 \pm 16,8 \mu\text{g.l}^{-1}$ bez suplementace selenu byla úroveň selenu významně nižší.

Obdobné rozdíly v koncentraci selenu v krevním séru byly v závislosti na jeho příjmu bahnicemi zaznamenány i u jehňat. Koncentrace selenu u jehňat ve skupině E1 byla $40,6 \pm 5,7 \mu\text{g.l}^{-1}$, se skupině E2 byla $50,1 \pm 8,6 \mu\text{g.l}^{-1}$, zatímco potomstvo matek bez suplementace selenu vykazovalo koncentraci selenu v krevním séru pouze ($p < 0,01$) $33,9 \pm 9,3 \mu\text{g.l}^{-1}$.

Obdobné rozdíly jako u koncentrace selenu v krevním séru byly zaznamenány také u aktivity GSH-Px v plné krvi.

U bahnic ze skupiny E1 byla zaznamenány aktivita GSH-Px $1147,4 \pm 181,5$ U/g Hb a u skupiny E2 $1056,1 \pm 267,5$ U/g Hb. Aktivita GSH-Px u skupiny C byly nižší ($p < 0,001$) oproti skupinám pokusným a dosahovala $697,9 \pm 179,3$ U/g Hb.

Průměrná aktivita GSH-Px v plné krvi jehňat skupiny E1 byla $1031,6 \pm 177,3$ U/g Hb a u skupiny E2 byla $1055,6 \pm 238,6$ U/g Hb. Obdobně jako u bahnic byla u jehňat skupiny kontrolní – C zjištěna významně nižší aktivita GSH-Px ($p < 0,001$) $434,1 \pm 72,6$ U/g Hb. Na rozdíl od bahnic byla u jehňat prokázána vyšší koncentrace selenu v krevním séru ($p < 0,05$) u jehňat skupiny E2 oproti jehňatům skupiny E1, u aktivity GSH-Px se tento rozdíl neprokázal.

Diferencovaný příjem selenu u bahnic se neodráží na obsahu celkové bílkoviny a procentuelním zastoupení jejích frakcí v krevní plazmě.

Obsah IgG je u obou skupin suplementovaných selenem vyšší ($p < 0,05$; $p < 0,01$) oproti skupině bez suplementace. V průběhu 270 dnů podávání diferencovaných selenových diet vykazuje obsah IgG bez ohledu na aplikaci selenu významný vzestup v posledních dvou měsících březosti a prudký pokles první den po porodu. U skupiny kontrolní byl pokles výraznější a přetrvával po dobu třiceti dnů po porodu.

U jehňat se suplementace selenu bahnicím projevila na vyšším obsahu celkové bílkoviny ($p < 0,01$) u obou skupin a na vyšším zastoupení globulinů především u skupiny E2 ($p < 0,05$), jejichž matky byly suplementovány organicky vázaným selenem.

Průměrný obsah IgG u jehňat byl v prvních 2 měsících po narození u skupiny E1 $22,2 \pm 7,1 \text{ g.l}^{-1}$ a u skupiny E2 $19,9 \pm 9,6 \text{ g.l}^{-1}$. Významně nižší průměrný obsah IgG ($p < 0,01$ respektive $p < 0,05$) byl zaznamenán u skupiny C $13,4 \pm 9,1 \text{ g.l}^{-1}$. Obsah IgG

zjištěný od třicátého dne po narození byl vyšší u jehňat od bahnic suplementovaných selenem, především organickou formou ($p < 0.01$).

Z uvedených výsledků lze předpokládat, že dlouhodobé podávání organické formy selenu matkám urychluje nástup samostatné proteosyntézy mláďat a dřívější nástup tvorby protilátek.

U jehňat ani u bahnic nebyl prokázán vliv suplementace selenu na jejich hmotnost.

Vztahy mezi úrovní sledovaných krevních parametrů byly posuzovány korelační analýzou.

U ovcí i jejich jehňat byla prokázána středně vysoká závislost mezi obsahem selenu a aktivitou GSH-Px ($r_{x,y} = 0,51$).

U jehňat byla prokázána střední pozitivní závislost mezi množstvím celkové bílkoviny a zastoupením γ globulinů ($r_{x,y} = 0,53$), střední negativní závislost mezi zastoupením albuminů a γ globulinů ($r_{x,y} = - 0,57$) a vysoká pozitivní závislost mezi zastoupením γ globulinů a obsahem IgG ($r_{x,y} = 0,77$). Toto zjištění odpovídá výraznějšímu postnatálnímu vzestupu proteosyntézy ve prospěch γ globulinů u jehňat matek suplementovaných selenem, především jeho organickou formou.

Z údajů předložené práce vyplývá nezbytnost suplementace selenu v optimálních dávkách jalovými a gravidními bahnicemi, přičemž se organická forma v podobě selenu vázaného na sladkovodní řasu rodu *Chlorella* jeví jako účinnější pro zajištění vyšší úrovně imunoglobulinu G u jehňat před odstavením. Toto zjištění vyžaduje další navazující experimentální prověření na vyšším počtu zvířat a v souvislosti s imunitní odezvou na vakcinaci.

Rovněž častější výskyt dvojčat u bahnic suplementovaných organickou formou selenu představuje zajímavý námět k testaci jeho podávání na velkém stádu ovcí v provozních podmínkách.

8. SUMMARY

The aim of the dissertation was to evaluate the impact of inorganic (Na_2SeO_3) and organic (*Chlorella* as a carrier) form of selenium supplementation on the indicators of selenium level, functional and immune impact of selenium in ewes and their offspring.

An experiment was conducted on fifteen ewes of the Sumava sheep breed at 18 months of age. The ewes were divided into three groups of five animals and stabled in the experimental stall (accreditation no. 1020/788/A/00). The experiment was conducted from July 2005 to March 2006. The ewes were in the stage of infertility, pregnancy and lactation during the experiment. All ewes became pregnant and parturitions took place in the course of six weeks.

Feed rations for the groups of ewes differed only in selenium content in a mineral feed additive (MFA). Average feed ration formulation per head/day: 1185 g hay, 240 g dried lucerne pellets, 270 g oat groats, 6 g MFA with vitamins, macro and micro elements with the exception of Se in group C. For group E1 MFA contained 180 μg selenium in the form of sodium selenite (Na_2SeO_3) and for group E2 180 μg selenium bound in the biomass of the alga *Chlorella*.

Blood samples were taken in morning times from *vena jugularis* to the tube with heparin. Blood for selenium analysis were collected in monthly intervals, the last collection was done on average 4 weeks before the expected parturition. The period of gravidity was parted on three periods: 0-50, 51-100 and 101-150 days. After parturition blood samples were taken from lambing ewes on the first, tenth, thirtieth and sixtieth day and from newborn lambs on the first, third, tenth, thirtieth and sixtieth day.

The parameters determination during the experiment:

- the concentration of selenium in blood serum - neutron activation analysis and spectrofluorimetry
- activity of GSH-Px – Randox kit
- blood plasma protein – colorimetric method
- proportion of serum protein fractions – electrophoresis method
- concentration of IgG – ELISA test
- body weight of experimental animals

During 270 days long selenium supplementation the amount of selenium increased to $114,2 \pm 23,6 \mu\text{g.l}^{-1}$ ($p < 0,001$) at E1 group consuming Na_2SeO_3 and to $103,1 \pm 20,3 \mu\text{g.l}^{-1}$ at E2 group consuming the alga *Chlorella* enriched with organically bound selenium. In group C it was $68,6 \pm 16,8 \mu\text{g.l}^{-1}$ without supplementation with Se, the level of Se was apparently lower.

Similar differences in Se concentration in blood serum according to the consuming Se by ewes were noted also at lambs. The concentration of Se at lambs from E1 group was $40,6 \pm 5,7 \mu\text{g.l}^{-1}$ in E2 group it was $50,1 \pm 8,6 \mu\text{g.l}^{-1}$ whereas the lambs of mothers without Se supplementation showed only $33,9 \pm 9,3 \mu\text{g.l}^{-1}$ Se in blood serum ($p < 0,01$).

Similar differences were also determined at GSH-Px activity in full blood.

At ewes from E1 group there was taken the activity of GSH-Px of $1147,4 \pm 181,5$ U/g Hb and in E2 group it was $1056,1 \pm 267,5$ U/g Hb. The activity of GSH-Px at C group was lower ($p < 0,01$) than at experimental groups and it reached $697,9 \pm 179,3$ U/g Hb.

The average activity of GSH-Px in full blood of lambs from E1 group was $1031,6 \pm 177,3$ U/g Hb and in E2 group it was $1055,6 \pm 238,6$ U/g Hb. By analogy, at lambs from check group C there was found significantly lower activity of GSH-Px ($p < 0,01$) $434,1 \pm 72,6$ U/g Hb. At lambs in contrast to ewes there was proved higher concentration of Se in blood serum ($p < 0,05$) at lambs from E1 group than E1 group, this difference was not proved at GSH-Px activity.

Differentiated consumption of Se by ewes is not reflected in the content of total protein and in the percentage occurrence of its fractions in blood plasma.

The content of IgG at both Se supplemented groups is higher than at non/supplemented groups ($p < 0,05$; $p < 0,01$). During 270 days long feeding differentiated Se diets the content of IgG regardless Se application show significant increase in last two months of gravidity and rapid decrease the first day after parturition. At check group the decrease was more apparent and it continued for 30 days after parturition.

At lambs the ewes supplementation with selenium was manifested by higher content of total protein ($p < 0,01$) at both groups and by higher occurrence of globulins especially at E2 group ($p < 0,05$) where mothers were supplemented by organically bound Se.

The average content of IgG at lambs in first two months after birth at E1 group was $22,2 \pm 7,1 \text{ g.l}^{-1}$ and at E2 group $19,9 \pm 9,6 \text{ g.l}^{-1}$. Significantly lower average content of IgG ($p < 0,01$ resp. $p < 0,05$) was noted at C group $13,4 \pm 9,1 \text{ g.l}^{-1}$. The content of IgG

found since the 30th day after birth was higher at lambs of ewes supplemented with Se, especially with organic form ($p < 0,01$).

These results suggest that long term supplementation with organic form of Se to mothers accelerates the start of independent proteosynthesis of the young animals and earlier start of antibodies synthesis.

Neither at lambs nor at ewes was confirmed the influence of Se supplementation on their weight.

The relations between the levels of observed blood parameters were judged by correlative analysis:

At ewes and their lambs there was proved medium-high dependence between Se content and GSH-Px activity ($r_{x,y} = 0,51$).

At lambs there was confirmed middle correlation between the amount of total protein and the concentration proportion of γ globulins ($r_{x,y} = 0,53$), middle regression between the protection of albumins and γ globulins ($r_{x,y} = - 0,57$) and high correlation between γ globulins and IgG ($r_{x,y} = 0,77$). This finding corresponds with marked postnatal increase of γ globulins synthesis lambs of Se supplemented mothers, especially Se in organic form.

The obtained results show the necessity of Se supplementation in optimum doses to infertile and pregnant ewes. The organic form of Se in alga *Chlorella* appears to be more efficient for providing higher level of immunoglobulin G at lambs before weaning. This finding asks for further experimental checking at higher number of animals and in connection with immune response on vaccination.

More frequent occurrence of twins at Se supplemented ewes also represents an interesting topic for testing of Se supplementation on large flock of sheep in field conditions.

9. SEZNAM LITERATURY

1. Abdelrahman M.M., Kincaid R.L. (1995): Effect of selenium supplementation of cows on maternal transfer of selenium to fetal and newborn calves. *J. Dairy Sci.*, 78: 625-630.
2. Adelekan D. A. et Thurnham D. I. (1998): Glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9) and superoxide dismutase (EC 1.15.1.1) activities in riboflavin-deficient rats infected with *Plasmodium berghei* malaria. *British Journal of Nutrition*, 79: 305 – 309.
3. Altiner A., Ozpinar A., Erhart M. (2005): Serum immunoglobulin G levels in lambs fed colostrum and dam milk or cow milk and milk replacer after birth. *Medycyna Weterynaryjna*, 61: 1135 – 1137.
4. Arai M., Imai H., Sumi D., Imanaka T., Takano T. (1996): Import into mitochondria of phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase requires a leader sequence. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 227: 433 – 439.
5. Arnér E. S. J. et Holmgren A. (2000): Physiological functions of thioredoxin reductase. *Eur. J. Biochem.*, 267: 6102-6109.
6. Arthur J.R. (2000): The glutathione peroxidases. *Cell. Mol. Life Sci.*, 57: 1825-1835.
7. Arthur J. R., McKenzie R. C., Beckett G. J. (2003): Selenium in the immune system. *J. Nutr.* 133: 1457-1459.
8. Avsian-Kretchmer O., Gueta-Dahan Y., Lev-Yadun S., Gollop R. and Ben-Hayyim G. (2004): The Salt-Stress Signal Transduction Pathway That Activates the GPX1 Promoter Is Mediated by Intracellular H₂O₂, Different from the Pathway Induced by Extracellular H₂O₂. *Plant Physiol.*, 135: 1685 – 1696.
9. Avissar N., Ornt D. B., Yagil Y., Horowitz S., Watkins R. H. (1994): Human kidney proximal tubules are the main source of plasma glutathione peroxidase. *Am. J. Physiol.*, 266: 367 – 375.
10. Awadeh F.T., Abdelrahman M.M., Kincaid R.L., Finley J.W. (1998): Effects of selenium supplements on the distribution of selenium among serum proteins in cattle. *J. Dairy Sci.*, 81: 1089 – 1094.
11. Balicka-Ramisz A., Pilarczyk B., Ramisz A. et al. (2006): Effects of selenium administration on blood serum Se content and on selected reproductive characteristics of sheep. *Arch. Tier.-Arch. Anim. Breeding*, 49: 176-180.
12. Bobček B., Lahucký R., Mrázová J., Bobček R., Novotná K., Vašíček D. (2004): [Effects of dietary organic selenium supplementation on selenium content](#).

- [antioxidative status of muscles and meat quality of pigs](#). Czech Journal of Animal Science, 49: 411-417.
13. Bárta O. (1993): Radial immunodiffusion quantitative determination of immunoglobulins and C3. In: Toman M., et al. (2000): Veterinární imunologie. Grada Publishing s.r.o., Praha, 400 s.
 14. Bartůňková J., Šedivá A.: Imunologie – minimum pro praxi. Praha, Triton, 1999, 95 s
 15. Baum M.K., Shor-Posener G., Lai, S. et al. (1997): High risk of HIV-related mortality is associated with selenium deficiency. J. Acquir. Immune Defic. Syndr. Hum. Retrovirol., 15: 370-374.
 16. Behne D., Hilmert H., Scheid S., Gessner H., Elger W. (1988): Evidence for specific selenium target tissues and new biologically important selenoproteins. Biochem. Biophys. Acta, 966: 12 – 21.
 17. Behne D., Kyriakopoulos A., Meinhold H., Kohrle J. (1990): Identification of type I. Iodothyronine 5' deiodinase as a selenoenzyme. Biophys. Res. Comm., 173: 1143-1149.
 18. Behne D., Kyriakopoulos A., Kalcklosh M. (1997): Two new selenoproteins found in the prostatic glandular epithelium and the spermatic nuclei. Biomed. Environ. Sci., 10: 340 – 345.
 19. Behne D. and Kyriakopoulos A. (2001): Mammalian selenium-containing proteins. Annu. Rev. Nutr., 21:453 – 473.
 20. Blache D., Gesguière L., Loreau N., Durand P. (1999): Oxidant stress: the role of nutrients in cell lipoprotein interactions. Proc. Nutr. Soc., 58: 559-563.
 21. Blasch P. (2003): Řasa Chlorella v potravinových doplňcích. <http://www.finclub.cz>, nestránkováno
 22. Boland T.M., Keane N., Nowakowski P., Brophy P.O., Crosby T.F. (2005): High mineral and vitamin E intake by pregnant ewes lowers colostral immunoglobulin G absorption by the lamb. J. Anim. Sci, 83: 871 – 878.
 23. Boldižarová K., Grešáková L., Faix S. et al. (2005): Antioxidant status of lambs fed on diets supplemented with selenite or Se-yeast. J. An. Feed Sci., 14: 245-253.
 24. Calvin H.I., Cooper G.W., Wallace E. (1981): Evidence that selenium in rat sperm is associated with a cysteine-rich structural protein of the mitochondrial capsules. Gamete Res., 4: 139 – 149.

25. Cao Y.Z., Reddy C.C., Sordillo L.M. (2000): Altered eicosanoid biosynthesis in selenium-deficient endothelial cell. *Free radicals in Biology and Medicine* 28: 381-389.
26. Clark L.C., Combs G.F., Turnbull B.W. et al. (1996): Effects of selenium supplementation for cancer prevention in patients with carcinoma of the skin. A randomized controlled trial. Nutritional Prevention of Cancer Study Group. *JAMA*, 276: 1957-1963.
27. Combs G.F. and Combs S.B. (1986): Selenium in food and feeds. The role of selenium in nutrition, New York, NYA Academic Press, 41 – 126.
28. Curran J.E., Jowett J.B., Elliot K.S. et al. (2005): Genetic variation in selenoprotein S influences inflammatory process. *Nat. Genet.*, 37: 1234-1241.
29. Daniels L. A. (1996): Selenium metabolism and bioavailability. *Biol. Trace Elem. Res.*, 54: 185-199.
30. Daniels T.J., Hatfield D.E., Burgess D.E., Kott R.W., Bowman J.G. (2000): Evaluation of ewe and lamb immune response when were supplemented with vitamin E. *J. Anim. Sci.*, 78: 2731 – 2736.
31. Davis P.A., McDowell L.R., Wilkinsin N.S., Buergelt C.D., Van Alstyne R., Weldon R.N., Marshall T.T. (2006): Tolerance of inorganic selenium by rengen-type ewes during gestation and lactation. *J. Anim. Sci.*, 84: 660 – 668.
32. Dercksen D.P., Counotte G.H.M., Klein Hazebroek M., Arts W. And van Rijn T. (2007): Seleenbehoefte van melkgevende geiten. *Tijdschr Diergeneeskd*, 132: 468 – 471.
33. Diplock A.T. (1970): Recent studie on the interreactions between vitamin E and selenium. In: Mils, C.F.: Trace element metabolismus in animals. E. And S. Livingstone. Edinburg and London
34. Dokoupilová A., Marounek M., Skřivanová V., Březina P. (2007): [Selenium content in tissues and meat quality in rabbits fed selenium yeast](#). *Czech Journal of Animal Science*, 52: 165-169.
35. Doucha J., Livanský K., Kajan M. et al. (1992): Method and equipment for large-scale cultivation of phototrophic algae and cynobacteria. Czech patent No. 276: 190 s
36. Doucha J., Livanský K. (1999): Process of outdoor thin-layer cultivation of microalgae and blue-green algae and bioreactor for performing the process. US Pat. No 5981271

37. Enjalbert F., Lebreton P., Salat O., Schelcher F. (1999): Effect of pre- or postpartum selenium supplementation on selenium status beef cows and their calves. *J. Anim. Sci.* 77: 223 – 229.
38. Esworthy R.S., Swiderek K.M., Ho Y.S., Chu F.F. (1998): Selenium-dependent glutathione peroxidase-GI is a major glutathione peroxidase activity in the mucosal epithelium of rodent intestine. *Biochim. Biophys. Acta*, 1381: 213 – 226.
39. Ferenčík M., Rovenský J., Nyulassy Š.: *Imunológia, Základní termíny a definície*. Bratislava. Slovak Academic Press s.r.o., 1999, 283 s.
40. Fiala T. (2004): Bílkoviny krevního séra. www.aavet.cz, nestránkováno
41. Flohé L., Günzler W.A., Schoch H.H. (1973): Glutathione peroxidase: a selenoenzyme. *Febs. Lett.*, 32: 132 – 134.
42. Foster L. H., Sumar,S. (1997): Selenium in health and disease. *Crit. Rev. Food Sci.*, 37: 211-228.
43. Gao Y., Hannan N.R., Wanyonyi S., et al. (2006): Activation of the selenoprotein SEPS1 gene expression by proinflammatory cytokines in HepG2 cell. *Cytokine*, 33: 246-251.
44. Gassmann M, Thommes P, Weiser T, Hubscher U. (1990): Efficient production of chicken egg yolk antibodies against a conservative mammalian protein. *FASEB J* 4:2528-2532.
45. Gladyshev V.N., Jeang K.T., Wootton J.C., Hatfield D.L.(1998): A new human selenium-containing protein. Purification, characterization, and cDNA sequence. *J. Biol. Chem.*, 273: 8910 – 8915.
46. Goodman J.W.: *Struktura a funkce imunoglobulinu*. In: Stites D.P., Therr A.I., et al.: *Základní a klinická imunologie*. Victoria Publishing a.s.,1994, 104 – 115
47. Grace N.D., Ankenbauer-Perkins K., Alexander A.M. et al. (2001): Relationship between blood selenium concentration or glutathione peroxidase activity, and milk selenium concentrations in New Zealand dairy cows. *N. Z. Vet. J.*, 49: 24-28.
48. Graham L.E., Wilcox L.W.: *Algae*. New Jersey, Prentice Hall Inc., 2000, 640 s
49. Guimaraes M. J., Peterson D., Vicari A., Cocks B. G., Copeland N. G. (1996): Identification of novel SelD homolog from eukaryotes, bacteria, and archea: Is there an autoregulatory mechanism in selenocysteine metabolism? *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 93: 15086 – 15091.

50. Gurdogan F., Yildiz A., Balikci E. (2006): Investigation of serum Cu, Zn, Fe and Se concentrations during pregnancy (60,100 and 150 days) and after parturition (45 days) in single and twin pregnant sheep. *Turkish J. Vet. Anim. Sci.*, 30: 61-64.
51. Hashemi M., Zamiri MJ., Safdarian M. (2008): Effect of nutritional level during late pregnancy on colostrum production and blood immunoglobulin levels of Karakul ewes and their lambs. *Small ruminant research* 75: 204 – 209.
52. Hess S.Y., Zimmermann M.B. (2004): The effect of micronutrient deficiencies on iodine nutrition and thyroid metabolism. *Int. J. Vitamin. Res.* 74:103 – 115.
53. Horák F. et al.: *Ovce a jejich chov*. Praha, Brázda, 2007, 304 s
54. Hořejší V., Bartůňková J.: *Základy imunologie*. Praha, Triton, 2002, 260 s
55. Hwang D.Y., Cho J.S., Oh J.H., et al. (2005): Differentially expressed genes in transgenic mice carrying human mutant presenilin-2 (N141I): correlation of selenoprotein M with Alzheimer's disease. *Neurochem. Res.*, 30: 1009-1019.
56. Chu F.F., Esworthy R.S., Doroshov J.H., Doan K., Liu X.F. (1992): Expression of plasma glutathione peroxidase in human liver in addition to kidney, heart, lung, and breast in humans and rodent. *Blood*, 79: 3233 – 3238.
57. Chu F.F., Doroshov J.H., Esworthy R.S. (1993): Expression, characterization, and tissue distribution of a new cellular selenium-dependent glutathione peroxidase, GSHPx-GI. *J. Biol. Chem.*, 268: 2571 – 2576.
58. Chu F.F., Esworthy R.S., Ho Y.S., Swiderek K., Elliot R.W. (1997): Expression and chromosomal mapping of mouse Gpx2 gene encoding the gastrointestinal form of glutathione peroxidase, GPX-GI. *Biomed. Environ. Sci.*, 10: 156 – 162.
59. Chung J.Y., Kim J.H., Ko Y.H., Jang I.S. (2007): Effects of dietary supplemented inorganic and organic selenium on antioxidant defense systems in the intestine, serum, liver and muscle of Korean native goats. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 20: 52-59.
60. Irfan M. (1967): *Res. Vet. Sci.*: 8:137. In: Kaneko J.J. and Cornelius C.E.: *Clinical biochemistry of domestic animals*. New York, Academic press, 1970, 439 s
61. Jacques K. A. (2001): Selenium metabolism in animals: the relationship between dietary selenium form and physiological response. In: Jacques K. A. (Ed.): *Science and technology in the feed industry, Proceedings of Alltech's 17th Annual Symposium*, Nottingham University Press, 319-348

62. Jagoš P.: Základní biologické a hematologické hodnoty u domácích zvířat a nové způsoby vyjadřování výsledků laboratorních vyšetření. Brno, Státní veterinární správa, 1981, 29 s
63. Jelínek P. et al.: Fyziologie hospodářských zvířat. Brno, MZLU, 2003, 407 s
64. Jelínek F., Jelínek K.: Morfologie hospodářských zvířat: učební texty pro studující zemědělských fakult. České Budějovice, JU ZF v Českých Budějovicích, 2002, 287 s
65. Jeroch H., Čermák B., Kroupová V.: Základy výživy a krmení hospodářských zvířat. Vědecká monografie. České Budějovice, JU, 2006, 290 s
66. Kalač P.: Funkční potraviny: kroky ke zdraví. České Budějovice, Dona, 2003 130 s
67. Kalcklössch M., Kyriakopoulos A., Hammel C., Behne D. (1995): A new selenoprotein found in the glandular epithelial cells of the rat prostate. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 217: 162 – 170.
68. Kelner M.J., Baglell L.D., Uglík S.F., Montoya M.A., Mullenbach G.T. (1995): Heterologous expression of selenium-dependent glutathione peroxidase affords cellular resistance to paraguant. *Arch. Biochem. Biophys.*, 323: 40 – 46.
69. [Kim Y.Y.](#), [Mahan D.C.](#) (2001): Effects of high dietary levels of selenium-enriched yeast and sodium selenite on macro and micro mineral metabolism in grower-finisher swine. *Asian-Australasian Journal of Animal Science*, 14: 243-249.
70. Kim H.Y., Gladyshev V.N. (2004): Methionine sulfoxide reduction in mammals: Characterization of methionine-R-sulfoxide reductases. *Mol. Biol. Cell*, 15: 1055-1064.
71. Kiremidjian-Scumacher L., Roy M., Wishe H.I., Cohen M.W., Stotzky G. (1996): Supplementation with selenium arguments the function of natural killer an lymphokine-activated killer cells. *Biological Trace Element Research*. 73: 97-111.
72. Kiremidjian-Schumacher L., Roy M. (1998): Selenium and immune function. *Zeitschrift für Ernährungswissenschaft*, 37: 50-56.
73. Kiremidjian-Scumacher L., Roy M., Glickman R. (2000): Selenium and immunocompetence in patients with head and neck cancer. *Biological Trace Element Research*. 24: 1195 – 1201.
74. Knowles S.O., Grace N.D., Wurms K., et al. (1999): Significance of amount and form of dietary selenium on blood, milk, and casein selenium concentrations in grazing cows. *J. Dairy Sci.*, 82: 429-437.

75. Kolb, E., Gürtler, H., Schröder, L. et al.: Lehrbuch der Physiologie der Haustiere. Veb Gustav Fischer Verlag Jena, 1974, 571 s.
76. Köhrle J. (2005): Selenium and the control of thyroid hormone metabolism. *Thyroid*, 15: 841 – 853.
77. Korotkov K.V., Novoselov S.V., Hatfield D.L., et al. (2002): Mammalian selenoprotein in which selenocysteine (Sec) incorporation is supported by a form of Sec insertion sequence element. *Mol. Cell Biol.*, 22: 1402-1411.
78. Kursa J. (1969): Nutriční svalová degenerace u mladého skotu v distriktu Šumavy. *Vet Med*, 14: 549 – 559.
79. Kuttler K.L and Marble D.W. (1960): *Am. J. Vet. Res.*, 24:168. In: Kaneko J.J. and Cornelius C.E. (1970): *Clinical biochemistry of domestic animals*. New York, Academi press, 439
80. Kvíčala J., Kroupová V. (1999): Plasma and urine selenium of cows from various regions of the Czech Republik and its comparison with corresponding human population selenium indexes. In: *Symp. on trace elements in man and animal*, 2-7 May, Evian-France: 280
81. Kvíčala J., Zamrazil V., Němeček J., Hoskovcová P., Jiránek V. (2005): Se status parameters during four years' selenium supplementation. In: *Proceedings of the 5th. International symposium on trace elements in human: New perspectives*. [CD-ROM], October, 13th-15th 2005, Athens, Greece, 2005, s. 603 - 610. Dostupný na: <http://www.med.uoa.gr/>
82. Kyriakopoulos A., Hammel C., Gessner H., Behne D. (1996): Characterization of an 18 kDa-selenium-containing protein in several tissues of the rat. *Am. Biotech. Lab.*, 14: 22 -23.
83. Lacetera N., Bernabuci U., Ronchi B., Nardone A. (1996): Effects of selenium and vitamin E administration during a late stage of pregnancy on colostrum and milk production in dairy cows, and on passive immunity and growth of their offspring. *American Journal of Veterinary Research* 57, 1776-1780
84. Larsen E.H., Hansen M., Fan T., Vahl M. (2001): [Speciation of selenoaminoacids, selenium ions and inorganic selenium by ion exchange HPLC with mass spectrometric detection and its application to yeast and algae](#). *Journal Analytical Atomic Spectrometry*, 16: 1403-1408.
85. Lee S.H., Park B.Y., Yeo J.M., Lee S.S., Lee J.H., Ha J.K., Kim W.Y. (2007): Effects of different selenium sources on performance, carcass characteristics,

- plasma glutathione peroxidase activity and selenium deposition in finishing Hanwoo steers. *Asian-Australasian Journal of Animal Sciences*, 20: 229-236.
86. Lu C., Qiu F., Zhou H., et al. (2006): Identification and characterization of selenoprotein K: an antioxidant in cardiomyocytes. *FEBS Lett.*, 580: 5189-5197.
 87. Ludvíková E. Pavlata L. (2005): Selen a vitamín E v chovech koní v České republice. *Veterinářství*, 55: 642-645.
 88. Maden M., Altumok V., Birdane F.M., Asla V., Nizamlioglu M. (2003): Blood and Colostrum/Milk Serum γ -Glutamyltransferase Activity as a Predictor of Passive Transfer Status in Lambs. *J. Vet. Med. B* 50: 128-131.
 89. Maden M., Birdane F.M., Altunok V., Dere S. (2004): Serum and colostrum/milk alkaline phosphatase activities in the determination of passive transfer status in healthy lambs. *Revue Med. Vet.* 155: 565 – 569.
 90. Marsh J.A., Dietert R.R., Combs Jr. G.F. (1981): Influence of dietary selenium and vitamin E on the humoral immune response of the chick. *Proceedings of the society for experimental biology and medicine* 166: 228-236.
 91. Marsh J.A., Combs Jr G.F., Whitacre M.E., Dietert R.R. (1986): Effect of selenium and vitamin E dietary deficiencies on chick lymphoid organ development. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 182: 425-436.
 92. Marounek M.: Povaha a mechanismus účinku antioxidantů, význam ve výživě zvířat a lidí. Vědecký výbor výživy zvířat. Praha, VUZV Uhřetěves, 2006, 39 s
 93. Marvan F., Hampl A., Hložánková E., Kresan J., Massanyi L., Vernerová E.: Morfologie hospodářských zvířat. Praha, ČZU Praha, 1998, 304 s.
 94. Masopust J.: Klinická biochemie. Požadování a hodnocení biochemických vyšetření. Karolinum, Praha, 1998, 832 s
 95. McDowell L.R.: Minerals in animal and human nutrition. London, Academic Press, INC., 1992, 524
 96. McKenzie R.C., Rafferty T.S., Beckett G.J. (1998): Selenium: an essential element for immune function. *Immunol. Today*, 19: 342-345.
 97. McKenzie R.C., Artur J.R., Miller S.M., Rafferty T.S., Beckett G.J (2002): Selenium and regulation of cell signaling, growth and survival: molecular and mechanistic aspects. *Antioxidant and Redox Signaling* 4: 339-35.
 98. Milad K., Rác O., Šipulová A., Bajova V., Kováč G. (2001): Effect of vitamin E and selenium on blood glutathione peroxidase activity and some immunological parameters in sheep. *Vet. Med.*, 46: 1-5.

99. Miranda-Vizueté A., Damdimopoulos A. E., Pedrajas J. R., Gustafsson J. A., Spyrou G. (1999): Human mitochondrial thioredoxin reductase. *Eur. J. Biochem.*, 261: 405-412.
100. Moghadaszadeh B., Petit N., Jaillard C., et al. (2001): Mutations in SEP1 cause congenital muscular dystrophy with spinal rigidity and restrictive respiratory syndrome. *Nat. Genet.*, 29: 17-18.
101. Mustacich D., Powis G. (2000): Thioredoxin reductase. *Biochem. J.*, 346: 1 – 8.
102. Musil J., Nováková O.: *Biochemie v obrazech a schématech*. Praha, Avicenum, 1998, 358 s
103. Ochodnický D., Poltársky J.: *Ovce, kozy a prasata*. Čáslav, Studiopress, 2003, 104s
104. Olivera P., Jovanovic B., Gvozdic D., Stojic V. (2004): Selenium status of sheep and their lambs in the Northern Serbian Province of Vojvodina. *Acta Veterinaria-Beograd*, 54: 403-409.
105. Olivieri O., Girelli D., Stanzial A.M., Rossi L., Bassi A., Corrocher R. (1996): Selenium, zinc, and thyroid hormones in healthy subjects: low T3/T4 ratio in the elderly is related to impaired Se status. *Biological Trace Element Research*. 51: 31-41.
106. Ortman K., Pehrson B. (1999): [Effect of selenate as a feed supplement to dairy cows in comparison to selenite and selenium yeast](#). *Journal of Animal Science*, 77: 3365-3370.
107. Papp L.V., Lu J., Holmgren A. et al. (2007): From selenium to selenoproteins: Synthesis, Identity, and Their Role in Human Health. *Antioxidants and Redox signaling*, 9: 775-806.
108. Passwater R.A. (1993): Nutrient Interaction in Heart Disease: An interview with Dr. David Kritchevsky. *Whole Foods*. 6 :22- 25.
109. Palata L., Pechová A., Illek J. (2000): Direct and indirect assessment of selenium status in cattle – a comparison. *Acta Vet. Brno* 2001, 69: 281 – 287.
110. Pavlata L., Illek J., Pechová A. (2001a): Blood and tissue selenium concentration in calves treated with inorganic or organic selenium compounds – a comparison. *Acta Vet. Brno* 2001, 70: 19 – 26.
111. Pavlata L., Pechová A., Bečvář O., Illek J. (2001b): Selenium status in cattle at slaughter: analyses of blood, skeletal muscle, and liver. *Acta Veterinaria Brno*, 70: 277-284.

112. Palata L., Pechová A., Illek J. (2002): Praktická doporučení pro diagnostiku karence selenu u skotu v České republice. *Veterinářství*, 52: 170 – 173.
113. Pavlata L., Prášek J., Podhorský A., et al. (2003): Selenium metabolism in cattle: maternal transfer of selenium to newborn calves at different selenium concentrations in dams. *Acta Vet., Brno*, 72: 639-646.
114. Pavlata L.: Poruchy metabolismu selenu a vitamínu E a jejich vztah ke zdraví u velkých zvířat. [Habilitační práce]. Brno 2004. 174 s. VFU Brno
115. Pavlata L., Prášek J., Filípek J. et al. (2004a): Influence of parenteral administration of selenium and vitamin E during pregnancy on selected metabolite parameters and colostrum quality in dairy cows at parturition. *Vet. Med. Czech*, 49: 149-155.
116. Palata L., Pechová A., Dvořák R. (2004b): Microelements in colostrum and blood of cows and their calves during colostrum nutrition. *Acta Vet. Brno*, 73: 421-429.
117. Parish S.M., Tyler J.W., Besser T.E., Gay C.C., Krtytenberg D. (1997): Prediction of serum IgG concentration in Holstein calves using serum gamma glutamyltransferase activity. *Vet. Int. Med.* 11: 344 – 347.
118. Pfeifer H., Conrad M., Roethlein D., Kyriakopoulos A., Brielmeier M. (2001): Identification of a specific sperm nuclei selenoenzyme necessary for protamine thiol cross-linking during sperm maturation. *FASEB J.*, 10: 96 – 104.
119. Podhorský A., Pechová A., Dvořák R., Pavlata L. (2007): Metabolic disorders in dairy calves in postpartum period. *Acta Vet. Brno*, 76: 45-53.
120. Puls R. (1988): Minerals levels in animal health. Diagnostic data, Sherpa Int., Clearbook: 53 s
121. Pushpa-Rekha T.R., Burdsall A.L., Oleksa L.M., Chisolm G.M., Driscoll D.M. (1995): Rat phospholipid-hydroperoxide glutathione peroxidase. cDNA cloning and identification of multiple transcription and translation start sites. *J. Biol. Chem.*, 270: 26993 – 26999.
122. Qin S.Y., Gao J.Z., Huang K.H. (2007): Effects of different selenium sources on tissue selenium concentrations, blood GSH-Px activities and plasma interleukin levels in finishing lambs. *Biological Trace Element Research*, 116: 91-102.
123. Raisbeck M. F. (2000): Selenosis. *Veterinary Clinics of North America: Food Anim. Prac.*, 16: 465-480.
124. Rauprich A.B.E., Hammon H.M., Blum J.W. (2000): Influence of feeding different amounts of first colostrum on metabolic, endocrine, and health status and on growth performance in neonatal calves. *J. Anim Sci*, 78: 896-908.

125. Ravaglia G. et al. (2000): Effect of micronutrient status on natural killer cell immune function in healthy free-living subjects aged > 90 d. *American Journal of Clinical Nutrition*. 71: 590 – 598.
126. Racek J. et al.: *Klinická biochemie*. Praha, Galén, 1999, 392 s
127. Read R., Bellow T., Yang J-G., Hill K.E., Palmer I.S., Burk R.F. (1990): Selenium and amino acid composition of selenoprotein P, the major selenoprotein in rat serum. *J. Biol. Chem.*, 256: 17899 – 17905.
128. Rederstorff M., Krol A., Lescure A. (2006): Understanding the importance of selenium and selenoproteins in muscle function. *Cell Mol. Life Sci.*, 63: 52-59.
129. Reece W. O.: *Fyziologie domácích zvířat*. Praha, Grada Publishing s.r.o., 1998, 456 s
130. Rivera M.T., De Souza A.P., Araujo-Jorge T.C. et al. (2003): Trace elements, innate immune response and parasites. *Clin. Chem. Lab. Med.*, 41: 1020-1025.
131. Rock M.J., Kincaid R.L., Carstens G.E. (2001): Effects of prenatal source and level of dietary selenium on passive immunity and thermo metabolism of newborn lambs. *Small Ruminant Research*, 40: 129-138.
132. Rotruck J.T., Pope A.L., Anther H.E., Swanson A.B., Haefman D.G., Hoekstra W.G. (1973): Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 179: 585 – 590
133. Roy M., Kiremidjian-Schumacher L., Wishe H.I. et al. (1994): Supplementation with selenium and human immune cell functions. I. Effect on lymphocyte proliferation and interleukin 2 receptor expression. *Biol. Trace Elem. Res.*, 41: 103-114.
134. Roy M., Kiremidjian-Schumacher L., Wishe H.I. et al. (1995): Supplementation with selenium restores age-related decline in immune cell function. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, 209: 369-375.
135. Rosenfeld I., Beath O.A. (1964): *Selenium - geobotany, biochemistry, toxicity and nutrition*. Academic Press. New York, London
136. Rytina L. (2007): *Budoucnost je v technologii a vědě*. www.agroweb.cz
137. Schenkel H., Flachowsky G. (2000): Zur Diskussion um Höchstwerte für Spurenelemente aus Sicht der Tierernährung. In: *Mengekn- und Spurenelemente*, Friedrich-Schiller-Univ., Jena, 20: 1018-1033.
138. Schneiderka P. et al.: *Kapitoly z klinické biochemie*. Praha, Karolinum, 2004, 289 s.

139. Schrauzer N. G. (2000a): Anticarcinogenic effects of selenium. *Cell Molecul. Life Sci.*, 57: 1864-1873.
140. Schrauzer N. G. (2000b): Selenomethionine: A review of its nutritional significance, metabolism and toxicity. *J. Nutr.*, 130: 1653-1656.
141. Schrauzer N. G. (2001): Nutritional selenium supplements: product types, quality, and safety. *J. Am. Coll. Nutr.*, 20: 1-4.
142. Schwarz K. and Foltz C.M. (1957): Selenium as an integral part of Factor 3 against dietary necrotic liver degeneration. *J. Am. Chem. Soc.* 79: 3292 – 3293.
143. Skřivan M., Šimáně, J., Dlouhá, G., Doucha J. (2006): [Effect of dietary sodium selenite, Se-enriched yeast and Se-enriched Chlorella on egg Se concentration, physical parameters of eggs and laying hen production.](#) *Czech Journal of Animal Science*, 51: 163-167.
144. Smith K.L., Hogan J.S., Weiss W.P. (1997): Dietary vitamin E and selenium effect mastitis and milk quality. *J. Anim. Sci.*, 75: 1659 – 1665.
145. Smyth J.B., Wang J.H., Barlow R.M. et al. (1990): Experimental acute selenium intoxication in lambs. *J. Comp. Pathol.*, 102: 197-209.
146. Stabel J. R., Nonnecke B. J., Reinhardt T. A. (1990): Effect of in vitro selenium supplementation on bovine lymphocyte proliferation. *Nutr. Res.*, 10: 1053-1059.
147. Stadtman E.R. (2006): Protein oxidation and aging. *Free Radic. Res.*, 40: 1250-1258.
148. Stowe H.D., Herdt T.H. (1992): Clinical-Assessment of selenium status of livestock. *J. Anim. Sci.*, 70: 3928-3933.
149. Stunde R. A. (1990): Molecular biology of selenoproteins. *Annu. Rev. Nutr.*, 10: 451-474.
150. Sun Y, Ha P.C., Butler J.A., Ou B.R., Yeh J.Y., Whanger P. (1998): Effect of dietary selenium W and glutathione peroxidase in 28 tissues of the rat. *J. Nutr. Biochem.*, 9: 23 – 27.
151. Sun Q. A., Wu Y., Zappacosta F., Jeang K. T., Lee B. J. (1999): Redox regulation of cell signaling by selenocysteine in mammalian thioredoxin reductases. *J. Biol. Chem.*, 274: 24522-24530.
152. Sunde R. A., Thompson R. M., Palm M. D., Weiss, S. L., Thompson K. M., Evenson J. K. (1997): Selenium regulation of seleniumdependent glutathione peroxidases in animals and transfected CHO cells. *Biomed. Environ. Sci.*, 10: 346 – 355.

153. Šimek M., Krása A. (2007): Nedostatky v minerální výživě skotu a jejich eliminace. Farmář, Profi Press, Praha, 5: 35-38.
154. Šterzl J.: Imunitní systém a jeho fyziologické funkce. Praha, ČIS, 1993, 480 s.
155. Šustala M., Třináctý J., Illek J. et al. (2003): Effects of short-term supplementation of dairy cow diets with surplus selenium and rapeseed meal on milk and blood selenium levels. Czech J. Anim. Sci., 48: 223-231.
156. Takahashi K., Avissar N., Whitin J., Cohen H. (1987): Purification and characterization of human plasma glutathione peroxidase: a selenoglycoprotein distinct from the known cellular enzyme. Arch. Biochem. Biophys., 256: 677 – 686.
157. Tamura T., Stadtman T. C. (1996): A new selenoprotein from human lung adenocarcinoma cells: purification, properties, and thioredoxin activity. Proc. Nutr. Acad. Sci. USA, 93: 1006 – 1011.
158. Taylor S.D., Davenport L.D., Speranza, M.J., Mullenbach G.T., Lynch R.E. (1993): Glutathione peroxidase protects cultured mammalian cells from the toxicity of adriamycin and paragent. Arch. Biochem. Biophys., 305: 600 – 605.
159. Toman M., et al.: Veterinární imunologie. Praha, Grada Publishing s.r.o., 2000, 416 s.
160. Trávníček J., Písek L., Herzig I., Doucha J., Kvíčala J., Kroupová V., Rodinová H. (2007): Selenium content in the blood serum and urine of ewes receiving selenium-enriched unicellular alga Chlorella. Veterinarni Medicina, 52: 42-48.
161. Trojan S. et al.: Lékařská fyziologie. Praha, Avicenum, 1994, 464 s.
162. Turner J.R., Finch, J.M. (1991): Selenium and the immune response. Proceedings of the Nutrition Society. 50: 275-285.
163. Underwood E.J., Suttle, N.F.: In: Mineral nutrition of Livestock. Walingtond, CAB International, 1999, 421 – 475
164. Ursini F., Maiorino M., Gregolin C. (1985): The selenoenzyme phospholipid hydroperoxide glutathione peroxidase. Biochim. Biophys. Acta, 839: 62-70.
165. Ursini F., Heim S., Kiess M., Maiorino M., Roveri A., Wissing J., Flohe L. (1999): Dual function of the selenoprotein PHGPx during sperm maturation. Science, 285: 1393-1396.
166. van Ryssen J.B.J. and Schroeder G.E. (2003): Effect of heat processing of protein sources on the disappearance of their selenium from mobile bags in the digestive tract of dairy cows. Anim. Feed Sci. Technol., 107: 15 – 27.

167. Vendeland S.C., Beilstein M.A., Chen C.N., Jensen O.N., Barofsky E. And Whanger P.D. (1993): Purification and properties of selenoprotein-W from rat muscle. *J. Biol. Chem.*, 268: 17103 – 17107.
168. Vega L., Rodríguez-Sosa M., García-Montalvo E.A. et al. (2007): Non-optimal levels of dietary selenomethionine alter splenocyte response and modify oxidative stress markers in female mice. *Food Chem. Toxicol.*, 45: 1147-1153.
169. Vejčík A., Frelich J., Matoušek V. et al.: *Chov hospodářských zvířat. České Budějovice, JU, 2001, 176 s*
170. Vokurka M., Hogo J.: *Praktický slovník medicínský. Praha, Maxdorf, 2000, 490 s*
171. Vrzgula L. et al. (1972): Prvý hromadný výskyt nutričnej svalovej degenerácie u mladého hovädzieho dobytku na Slovensku. *Veterinárství*, 22: 56 – 60.
172. Wolfram S., Berger B., Grenacher B., Scharrer E. (1989): Transport of selenoamino acids and their sulfur analogues across the intestinal brush border membrane. *J. Nutr.*, 119, 706-712.
173. Wright P. L., Bell M. C.(1966): Comparative metabolism of selenium and tellurium in sheep and swine. *Am. J. Physiol.*, 211: 6-10. In: McDowell L.R.: *Minerals in animal and human nutrition. London, Academic Press, INC., 1992, 524*
174. Xu G-L., Diplock, A. T. (1983): Glutathione peroxidase (EC 1.11.1.9), glutathione-S-transferase (EC 1.11.1.9), superoxide dismutase (EC 1.15.1.1) and katalase (EC 1.11.1.6) activities in tissues of ducklings deprived of vitamin E and selenium. *British Journal of Nutrition*, 50: 437 – 444.
175. Yeh J.Y. et al. (1997): Selenium influences tissue levels of selenoprotein W in sheep. *J. Nutr.* 127: 393 – 402.
176. Yoshida M., Fukunaga K., Tsuchita H., Yasumoto K. (1999): An evaluation of the bioavailability of selenium in high-selenium yeast. *J. Nutr. Sci. Vitaminol.*, 45: 119–128
177. Yoshimura S., Watanabe K., Suemizu H., Onozawa T., Mizoguchi J. (1991): Tissue specific expression of the plasma glutathione peroxidase gene in rat kidney. *J. Biochem.*, 109: 918-923
178. Zhang Y., Zhao Y., Wang J. et al. (2004): Effects of zinc, copper, and selenium on placental cadmium transport. *Biol. Trace Elem. Res.*, 102(1-3): 39-49
179. <http://cs.wikipedia.org>, staženo březem 2007
180. www.sinecearasy.cz (Chlorella), staženo leden 2008

Seznam příloh:

Životopis

Publikační činnost

Fotodokumentac

Životopis

Jméno: Ing. Hana Rodinová
Narozen: 13.02.1981 ve Strakonících
Bydliště: Rohozná 7, 386 01 Strakonice
Telefon: +420 387 772 620
E-mail: Hana.Rodinova@seznam.cz

Dosavadní praxe:

- od 1. 1. 2007 – OSVČ – zprostředkování obchodu a služeb

Vzdělání:

- 2006 - 2008 Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Pedagogická fakulta, Doplňkový studijní program pro učitele odborných předmětů
- 1999 - 2004 Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích, Zemědělská fakulta, obor: Zemědělské inženýrství
- 1994 - 1999 SOŠ České Budějovice, obor: Veterinární prevence

Kurzy a školení:

- Duben 1999 – *Inseminace skotu*, SOŠ České Budějovice.
- Květen 2006 – SAV Košice, Slovenská republika.
- Duben 2006 – *Školení na ochranu zvířat proti týrání podle § 17 ČNR č. 246/1992 Sb*, Veterinární a farmaceutická univerzita, Brno.
- Červenec 2006 – Měsíční studijní pobyt na jazykové škole HELC v Anglii.
- Duben 2007 – Department of Immunology, Eötvös Lorád University, Budapešť, Maďarsko.

Dovednosti:

- jazyky – aktivně angličtina, pasivně němčina.
- řidičský průkaz – A, B.

- PC programy – MS Word, Excel, PowerPoint, Internet Explorer, Acrobat, Mozilla Firefox, StatSoft, StatPlus.

Publikační činnost:

a/ původní vědecké práce v impaktovaných časopisech

- Rodinová H., Kroupová V., Trávníček J., Staňková M., Písek L.(2008): Dynamics of IgG in the blood serum of sheep with different selenium intake. *Vet. Med.* 53 (5): 260 – 265.
- Trávníček J., Racek J., Trefil L., Rodinová H., Kroupová V., Illek J., Doucha J., Písek L. (2008): Activity of glutathione peroxidase (GSH-Px) in the blood of ewes and their lambs receiving the selenium-enriched unicellular alga *Chlorella*. *Czech J. Anim. Sci.*, 53 (7): 292 – 298.
- Trávníček, J., Písek, L., Herzig, I., Doucha, J., Kvičala, J., Kroupová, V., Rodinová, H. (2007): Selenium content in the blood serum and urine of ewes receiving selenium-enriched unicellular alga *Chlorella*. *Vet. Med.*, 52(1): 42-48.

b/ původní vědecké práce v recenzovaných vědeckých časopisech

- Rodinová H., Kroupová V., Trávníček J., Gradl T. (2006): Impact of immunostimulation preparation Elo Macro on plasma proteins in ovine. *Collection of Scientific Papers, Faculty of Agriculture in České Budějovice Series for Animal Sciences*, 23(1): 49-54.

c/ publikace v odborných časopisech, ve sborníku z konference aj.

- Kroupová, V., Trávníček, J., Rodinová, H., Konedčný R. (2008): Metabolické uplatnění selenu u bahnic během laktace. In. *Proceedings Biotechnology 2008*, Scientific Pedagogical Publishing, Č. Budějovice: 75-78.
- Písek, L., Trávníček, J., Kroupová, V., Rodinová, H. (2007): Effect of gravidity on number of leukocytes and T cells subsets in selenium supplemented ewes. In. *Proceeding Book of Abstracts: VII. Slovak Conference of Animal Physiology*, SPU, Nitra, ISBN 978-80-8069-885-0.

- Rodinová, H., Písek, L., Trávníček, J. (2007): Imunoglobulin G a fagocytóza leukocytů v krvi ovcí při nízkém příjmu selenu. In. Proceeding: VII. Kábrtovy dietetické dny, VFU, Brno, 1: 294-298.
- Kroupová, V., Trávníček, J., Rodinová, H., Písek, L. (2006): Význam imunomodulace v ochraně zdraví zvířat. In. Proceedings Biotechnology 2006, Scientific Pedagogical Publishing, Č. Budějovice: 806-807.
- Rodinová, H., Kroupová, V., Trávníček, J., Písek, L. (2006): Oxidative and osmotic hemolysis of erythrocytes in sheep with different Selenium supplementation. In. Macro and Trace elements, Friedrich Schiller University Jena: 621-625.
- Písek, L., Trávníček, J., Kroupová, V., Rodinová, H. (2006): Influence of feeding different forms of selenium at haematological parameters in sheep and lambs. In. Macro and Trace elements, Friedrich Schiller University Jena: 626-631.
- Kroupová, V., Rodinová, H., Písek, L., Trávníček, J. (2006): Ukazatelé látkového metabolismu telat při podávání hnědých mořských řas. In. Sborník referátů z VI. Ročníku mezinárodní vědecké konference Agroregion 2006, JU, Č. Budějovice: 9-12.
- Trávníček J., Písek L., Rodinová H., Kroupová V. (2006): Růstové a krevní parametry jehnic při podávání mořských řas. In. Sborník referátů z VI. Ročníku mezinárodní vědecké konference Agroregion 2006, JU, Č. Budějovice: 169 – 172.
- Rodinová, H. (2006): Impact of immunostimulation preparation Elo Macro on total plasma proteins in ovine. Proceedings of the International Ph.D. Students' Conference. JU, Č. Budějovice: 89-92.
- Rodinová, H. (2005): Vliv změny technologie ustájení na servis periodu dojníc plemene české strakaté. Aktuální otázky bioklimatologie zvířat 2005. VUZV Praha: 64 – 66
- Rodinová, H. (2005): Vliv změny technologie na produkční a reprodukční ukazatele chovu dojníc. Agromagazín 6 (11):44-46

Foto dokumentace

Obr. I Ovce spolu s jehňaty



Obr. II Volné připouštění beranem stejného plemene (venkovní výběh)



SEZNAM POUŽITÝCH SKRATEK:

Ig – imunoglobulin

IgG – imunoglobulin G

IgM – imunoglobulin M

IgA – imunoglobulin A

IgD – imunoglobulin D

IgE – imunoglobulin E

GSH-Px - glutathionperoxidáza

cGSH-Px - cytoplazmatická glutathionperoxidáza

giGSH-Px - gastrointestinální glutathionperoxidáza

pGSH-Px - extracelulární (plasmová) glutathionperoxidáza

PHGSH-Px - fosfolipidová glutathionperoxidáza

snGSH-Px - glutathionperoxidáza přítomná v jádrech spermií

JD - jodothyronindeiodinázy

TR - thioredoxínreduktázy

SelP - selenoprotein P

SelW - selenoprotein W
Sep15 - 15-kDa selenoprotein
SelN - selenoprotein N
SelR - selenoprotein R
SelM - selenoprotein M
SelS - selenoprotein S
SelK - selenoprotein K
Se-Met - selenomethionin
SeCys - selenocystein
Poměr A/G - poměr mezi albuminem a globuliny
IL – interleukin