

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Zemědělská fakulta

Studijní program: B4103 Zootechnika

Studijní obor: Zootechnika

Katedra: Katedra zootechnických věd

Vedoucí katedry: doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE
Vliv supranutričních dávek organické formy selenu na vybrané
krvní parametry králíků

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Roman Konečný, Ph.D.

Konzultant bakalářské práce: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.

Autor bakalářské práce: Marie Mirandová

České Budějovice, 2016

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE
(PROJEKTU, UMĚLECKÉHO DÍLA, UMĚLECKÉHO VÝKONU)

Jméno a příjmení: **Marie MIRANDOVÁ**
Osobní číslo: **Z13134**
Studijní program: **B4103 Zootechnika**
Studijní obor: **Zootechnika**
Název tématu: **Vliv supranutričních dávek organické formy selenu na vybrané krevní parametry králíků**
Zadávací katedra: **Katedra zootechnických věd**

Z á s a d y p r o v y p r a c o v á n í :

Selen je významný esenciální mikroelement, který v podobě selenoproteinů zasahuje do biochemických a fyziologických procesů. Deficientní nebo toxické dávky představují funkční zátěž projevující se změnami vnitřního prostředí, parametrů zdraví a výkonnosti.

Cílem práce je zhodnotit účinek suplementace supranutričních dávek organické formy selenu na krevní parametry králíka.

Zpracujete literární přehled o selenu, jeho metabolismu a fyziologických funkcích. Uvedete základní údaje o krevních parametrech králíků. Vyhodnotíte vliv 4 a 9 týdenní suplementace různých dávek selenu na vybrané hematologické a biochemické parametry. Pomocí vhodných statistických metod provedete analýzu získaných dat mezi skupinami pokusných králíků a trváním suplementace.

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
Fakulta zemědělská
370 02 České Budějovice


Rozsah grafických prací: 5 tabulek, 5 grafů
Rozsah pracovní zprávy: 30 - 40 stran
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická
Seznam odborné literatury:

- Hu, M. L., Chung, C., Spallholz, J. E. (1984): Hematologic data of selenium-deficient and selenium-supplemented rats. *Journal of Inorganic Biochemistry*, 22, 165-173.
- Mueller, A. S. Pallauf, J., Most, E. (2002): Parameters of dietary selenium and vitamin E deficiency in growing rabbits. *Journal of Trace Element Medical Biology*, 16 (1), 47-55.
- Rayman, M. P. (2002): The argument for increasing selenium intake. *Proceedings of the Nutrition Society*, 61, 203-215.
- Silva, T. O., Kreutz, L. C., Barcellos, L. J. G., Borella, J. S., Auren, B., Souza, C. (2005): Reference values for chinchilla (*Chinchilla laniger*) blood cells and serum biochemical parameters. *Ci?ncia Rural*, 35(3), 602-606.
- Surai, P. F. (2006): Selenium in nutrition and health. Nottingham University Press, Nottingham, UK. 974 p.
- Washington, I. M., Van Hoosier, G. (2012): Clinical Biochemistry and Hematology In: Suckow, M. A., Karla Stevens, A. K., Wilson R. P. (Eds). *The Laboratory Rabbit, Guinea Pig, Hamster, and Other Rodents*, Academic Press, 57-116 pp.
- Whanger, P., Vendeland, S., Park, Y. C., Xia, Y. (1996): Metabolism of subtoxic levels of selenium in animals and humans. *The Annals of Clinical and Laboratory Science*, 26(2), 99-113.
- Elektronické informační zdroje Akademické knihovny JU v Č. Budějovicích (internetové databáze): ISI Web of Knowledge (Web of Science), Pubmed, příslušné odborné a vědecké časopisy.

Vedoucí bakalářské práce: Ing. Roman KONEČNÝ, Ph.D.
Katedra zootechnických věd
Konzultant bakalářské práce: prof. Ing. Jan Trávníček, CSc.
Katedra zootechnických věd
Datum zadání bakalářské práce: 16. března 2015
Termín odevzdání bakalářské práce: 15. dubna 2016


prof. Ing. Miloslav Soch, CSc., dr. h. c.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Studentská 13
370 05 České Budějovice


doc. Ing. Miroslav Maršálek, CSc.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 16. března 2015

Prohlášení

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své bakalářské práce v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách při zachování mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby stejnou elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne

.....

Podpis

Poděkování

Chtěla bych poděkovat Ing. Romanovi Konečnému, Ph.D. za vedení mé práce a cenné rady. Dále bych ráda poděkovala prof. Ing. Janu Trávníčkovi, CSc. za odbornou pomoc a rady, které mi byly při vypracovávání mé bakalářské práce velice nápomocné. V neposlední řadě bych chtěla poděkovat celé své rodině za podporu při studiu.

Abstrakt

Selen je významný esenciální mikroprvek, který v organismu působí prostřednictvím celé řady selenoproteinů. Jak jeho nedostatek, tak i nadbytek má však na organismus negativní vliv. V posledním období se při léčbě různých onemocnění lidí využívají supranutriční dávky tohoto prvku. Předkládaná bakalářská práce se zabývá vlivem supranutričních dávek organické formy selenu (selenem obohacená řasa *Chlorella*) na koncentraci selenu v krevním séru a vybrané krevní parametry králíků (hodnota hemoglobinu a hematokritu, počty leukocytů a erytrocytů, koncentrace močoviny, obsah triglyceridů, hodnota gama-glutamyltransferázy a celková koncentrace plazmatických bílkovin). Devítidenní experiment byl proveden na 18 králících, kteří byli rozděleni do 3 pokusných skupin. Skupina 1 (kontrolní) přijímala selen v dávce 0,15 mg/kg sušiny krmiva, skupina 2 v dávce 0,3 mg/kg sušiny krmiva a skupina 3 v dávce 4,3 mg/kg sušiny krmiva. Po dobu experimentu nebyly zaznamenány klinické projevy související s případnou toxicitou selenu. Supranutriční dávky vedly u skupiny 3 k rychlejšímu a statisticky významnému zvýšení koncentrace selenu v krevním séru. Parametry hemopoézy, růstu a látkového metabolismu nebyly u skupin 2 a 3 se supranutričními dávkami negativně ovlivněny. Výsledky nepotvrzují jednoznačný pozitivní či negativní účinek supranutriční dávky Se na vybrané krevní parametry. Z výsledků vyplývá, že pro suplementaci králíků jsou vhodné doporučené dávky selenu (0,15 mg Se/kg sušiny krmiva).

Klíčová slova: organický selen, selenoproteiny, *Chlorella*, krevní parametry, králíci

Abstract

Selenium is an important essential mikroelement, that acts through a number of selenoproteins. Both it's lack, and it's plenty has a negative influence on the organism. Recently is used Se during the various diseases treatment of people with supranutritive dosages of this element. The presented thesis deals with the supranutritive dosages influence of Selenium concentration organic form (*Chlorella*, enlarged alga with selenium) in blood serum and selected rabbits blood parameters (hemoglobin and hematocrit level, leukocytes and erythrocytes, urea concentration, triglycerides, gamma value glutamyltransfers and total concentration of plasmatical proteins). Nine week experiment was performed on 18 rabbits, which were divided in to three experimental groups. Group 1 (control group) has received the selenium at a dosage of 0.15 mg / kg dry matter of feed, group 2 at a dosage of 0.3 mg / kg dry matter feed and group 3 at a dosage of 4.3 mg / kg of dry matter feed. During the experiment weren't registered any clinical symptoms associated with the possible Se toxicity. Supranutritive dosages in the group 3 led to faster and statistically significant increase of the selenium concentration in the blood serum. Parameters of the hemopoiesis, the growth and the substantial metabolism had no influnece with supranutritive dosages in the groups 2 and 3. The results has not confirmed the clear positive or negative effect of selenium supranutritive dosages on selected blood parameters. The results show, that after rabbits supplementation are suitable recommended dosages of 0.15 mg Se / kg dry matter feed.

Keywords: organic selenium, selenoproteins, *Chlorella*, blood parameters, rabbits

Obsah

1	ÚVOD	10
2	LITERÁRNÍ PŘEHLED	11
2.1	Historie selenu a obecná charakteristika selenu	11
2.1.1	Obsah selenu v prostředí	11
2.2	Selenoproteiny	12
2.3	Funkce selenu v organismu	17
2.3.1	Antioxidační účinky selenu	17
2.3.2	Selen a hormony štítné žlázy	17
2.3.3	Vliv selenu na reprodukci	18
2.3.4	Antikarcinogenní účinky	18
2.3.5	Neutralizace toxických účinků těžkých kovů a jiných toxinů v těle....	18
2.4	Absorpce a metabolismus organické formy selenu	19
2.5	Exkrece selenu	20
2.6	Požadavky zvířat na příjem selenu	21
2.7	Projevy nadbytečného příjmu selenu a selenového deficitu.....	21
2.7.1	Projevy nadbytečného příjmu selenu (intoxikace).....	21
2.7.2	Projevy selenového deficitu	22
2.8	Zdroje organických forem selenu ve výživě zvířat	23
2.8.1	Selenem obohacená řasa (Chlorella)	23
2.8.2	Selenem obohacené kvasnice	23
2.9	Krevní parametry králíků	24
3	CÍL PRÁCE	25
4	MATERIÁL A METODY	26
4.1	Experimentální podmínky	26
4.1.1	Odběr krve a zjišťování živé hmotnosti	26
4.1.2	Výživa pokusných zvířat.....	26
4.2	Metody zpracování vzorků krve	27
4.2.1	Stanovení koncentrace selenu v krevním séru	27
4.2.2	Stanovení hematologických parametrů	27
4.2.3	Stanovení metabolických parametrů	27
4.3	Statistické zpracování dat	27
5	VÝSLEDKY A DISKUZE	28
5.1	Živá hmotnost experimentálních zvířat	28
5.2	Koncentrace selenu v krevním séru.....	29
5.3	Hematologické vyšetření	30

5.3.1	Hodnota hemoglobinu	30
5.3.2	Hodnota hematokritu.....	31
5.3.3	Počet erytrocytů	32
5.3.4	Počet leukocytů	33
5.3.5	Koncentrace močoviny.....	34
5.3.6	Obsah triglyceridů.....	35
5.3.7	Hodnota gama-glutamyltransferázy	36
5.3.8	Celková koncentrace plazmatických bílkovin	37
6	ZÁVĚR	38
7	SEZNAM ZKRATEK.....	39
8	SEZNAM OBRÁZKŮ	39
9	SEZNAM TABULEK.....	39
10	SEZNAM GRAFŮ.....	40
11	SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	41

1 ÚVOD

Selen (Se) se řadí mezi esenciální stopové prvky a je důležitý ve výživě lidí i zvířat. Na výzkum biologických účinků tohoto prvku je v posledních letech kladena stále vyšší pozornost. V organismu působí Se ve formě selenoproteinů, které hrají velmi důležitou funkci v ochraně a regulaci celé řady procesů v živočišném organismu. Mezi jeho nejdůležitější funkce patří antioxidantivní ochrana, snižování účinků těžkých kovů, vliv na imunitní systém a regulace vlivu thyroideálních hormonů tvorbou a deaktivací hormonu trijodthyroninu, který je produkovaný folikulárními buňkami štítné žlázy. Další výzkumy poukazují na vliv Se na plodnost, vývoj jedince a v neposlední řadě také snížení virulence různých virů (Kvíčala, 2003b).

Nedostatečný přísun Se do organismu se projevuje sníženou odolností a užitkovostí hospodářských zvířat a také nižší kvalitou živočišných produktů. Krmiva i minerální doplňky obsahují Se v anorganických i organických sloučeninách. Organické formy jsou v rostlinných krmivech obsaženy především jako selenomethionin (SeMet) nebo selenocystein (SeCys). Chemická podobnost methioninu (Met) a SeMet umožňuje jejich záměnu při syntéze proteinů a dochází k vytváření zásob selenu v organismu, především ve svalech. Při využití anorganické formy selenu se rezervy v organismu nevytvářejí. Z tohoto důvodu se upřednostňuje využití organické formy selenu před anorganickou a to hlavně ve stresových podmínkách (Schneiderová, 2002).

2 LITERÁRNÍ PŘEHLED

2.1 Historie selenu a obecná charakteristika selenu

Selen byl objeven roku 1817 švédským chemikem Jönsem Jakobem Bernzeliem při zkoumání sirných sloučenin. Byl pojmenován podle řecké bohyně měsíce „Selene“ (Mandžuková, 2005). Zprávy o onemocnění koní, jež se později objasnily jako otravy Se, však pocházejí již z dob Marco Pola (Kvasničková, 1998). Jako prvek byl sice identifikován před 180 lety, ale celých 140 let byl považován za jedovatý, teratogenní a mutagenní. Až Schwartz s Foltzem v roce 1957 zjistili jeho nezbytnost pro živočišné organismy na základě uplatnění Se u faktoru 3, který zabraňuje nekróze krysích jater (Kvíčala, 2003a). V 60. letech se začala léčit myopatie (nemoc bílých svalů) vyvolaná deficitem Se u pastevně odchovávaného skotu a ovcí v Jižních Čechách selenovými preparáty (Selevit), po níž klinické projevy myopatií ustupovaly (Kvíčala, 2009). Roku 1973 byl objeven první enzym obsahující Se glutathionperoxidáza (GSH-Px).

Selen je polokov s atomovým číslem 34 a atomovou hmotností 78,94 (NRC, 2005). V periodické tabulce prvků se nachází ve čtvrté periodě ve skupině chalcogenů (NRC, 2005). V této skupině ho doprovázejí kyslík, síra, tellur a polonium. Proto chemické a biochemické vlastnosti Se a síry jsou podobné (Kvasničková, 1998). Se se vyskytuje v pevném skupenství, přičemž teplota tání tohoto prvku je 217°C a teplota varu 685°C (Greenwood et Earnshaw, 1993). V přírodě se tento prvek nachází jedna v různých minerálech v podobě elementární (0), selenidu (⁻²), seleničitanu (⁺⁴) a selenanu (⁺⁶) nebo v organické formě zejména jako aminokyseliny SeMet a SeCys.

2.1.1 Obsah selenu v prostředí

Selen stojí na šedesátém devátém místě zastoupení prvků v zemské kůře (McDowell, 2003). Šimek (2009) uvádí, že velké koncentrace tohoto prvku se vyskytují v hroudách síry sopečného původu. Průměrný obsah Se v 1 kg zeminy je 0,09 mg (Bankhofer, 1996), přičemž množství Se závisí na lokalitě. Na zemi se vyskytují místa jak s nízkým tak naopak s vysokým (Severní Dakota) obsahem tohoto

prvku v prostředí. Česká republika se řadí mezi oblasti s poměrně nízkým obsahem Se.

Jak bylo výše poznamenáno, Se se vyskytuje také v organické podobě.

V rostlinách je koncentrace Se různá a závisí jednak na množství Se v půdě, ale také na jejich absorpční schopnosti, která je ovlivněna pH půdy (Surai,2006).

V těle živočichů je obsah Se velmi nízký, pohybuje se mezi 15 až 25 μg na kg živé hmotnosti. Z hlediska zastoupení v organismu je Se nejvíce obsažen v kosterní svalovině, dále v ledvinách, játrech, pankreatu, varlatelych a myokardu. Naopak relativně nízký obsah Se je v plicích a nervové tkáni. V tukové tkáni se Se téměř nevyskytuje. Obsah Se v tkáních je závislý na jeho příjmu v potravě a také na chemické formě (Jelínek et Koudela 2003).

2.2 Selenoproteiny

Biologický účinek Se je zprostředkován zejména proteiny, které mají ve svém polypeptidovém řetězci zabudovanou 21. aminokyselinu SeCys - selenoproteiny. V organismu se vyskytuje velké množství těchto selenoproteinů (až 100), avšak pouze 30 jich bylo blíže specifikováno (Arthur et Beckett, 1994; García-Barrera et al., 2015). Jednotlivé selenoproteiny s jejich lokalizací a biologickou funkcí znázorňuje tabulka 1.

Dle umístění SeCys v polypeptidovém řetězci se selenoproteiny dělí do dvou kategorií. V první kategorii se SeCys nachází v blízkosti C terminálního konce. Do této kategorie patří thioredoxin reduktázy a selenoproteiny I, K, O, R, S. Zatímco ve druhé kategorii je SeCys lokalizován na N terminálním konci. Mezi zástupce druhé kategorie patří glutathionperoxidázy (GSH-Px), selenofosfát syntázy 2 (SPS2), jodthyronin dejodázy, selenoproteiny H, M, N, T, V, W a 15 kDa selenoprotein (Papp et al., 2007).

Tabulka 1- Selenoproteiny, jejich lokalizace a funkce

Rodina selenoproteinů	Člen/označení	Lokalizace	Funkce
Glutathion peroxidázy	Glutathion peroxidáza 1 (GSH-Px1)	Všechny buňky	Antioxidační aktivita, ochrana proti virovým infekcím, zásoba Se v játrech
	Glutathion peroxidáza 2 (GSH-Px2)	Cytoplazma, epitel GI jater, plic, kůže, mléčné žlázy	Ochrana GI před oxidačním poškozením
	Glutathion peroxidáza 3 (GSH-Px3)	Plazma, játra, ledviny, srdce, plíce, štítná žláza, GI, mléčná žláza, tuková tkáň	Antioxidační aktivita
	Glutathion peroxidáza 4 (GSH-Px4)	Cytoplazma, játra, plíce, ledviny, varlata	Antioxidační aktivita, ochrana membrán před oxidační destrukcí, ochrana před oxidačním poškozením DNA, přímá redukce fosfolipidových a cholesterolových hydroperoxidů, fertilita samců
	Glutathion peroxidáza 6 (GSH-Px6)	Čichový epitel, embryonální tkáň	Není známa
Thioredoxin reduktázy	Thioredoxin reduktáza 1 (TrxR-1)	Cytoplazma	Regulace intracelulárního redoxního stavu, redukce thioredoxinu, buněčná signalizace
	Thioredoxin reduktáza 2 (TrxR-2)	Cytoplazma a mitochondrie	Regulace intracelulárního redoxního stavu, redukce thioredoxinu
	Thioredoxin reduktáza 3 (TrxR-3)	Mitochondrie, varlata	Regulace intracelulárního redoxního stavu

Upraveno dle: Papp et al. (2007); Fairweather-Tait et al. (2010); Hawkes et Alkan (2010); Konečný (2012) a Fradejas et al. (2015)
 ER- endoplazmatické retikulum, GI- gastrointestinální trakt, GA- Golgiho aparát

Pokračování tabulky 1

Rodina selenoproteinů	Člen/označení	Lokalizace	Funkce
Jodthyronin dejodázy	Jodthyronin - 5' dejodáza, typ I (DIO-1)	Cytoplazmatická membrána Ledviny, játra, štítná žláza, hnědá tuková tkáň, hypofýza	Metabolismus thyroidních hormonů, dejodace thyroxinu (T4) na biologicky aktivní 3,3',5,-trijodothyronin (T3)
	Jodthyronin - 5' dejodáza, typ II (DIO-2)	ER Štítná žláza, mozek, hypofýza, hnědá tuková tkáň, kosterní svalovina	Metabolismus thyroidních hormonů, dejodace thyroxinu (T4) na biologicky aktivní 3,3',5,-trijodothyronin (T3)
	Jodthyronin - 5' dejodáza, typ III (DIO-3)	Cytoplazmatická membrána Placenta, mozek, embryo	Inaktivace thyroidních hormonů, ochrana embryonální tkáně proti vysokým hladinám thyroidních hormonů
Selenoproteiny	Selenoprotein P (SelP)	Plazma Mozek (vysoká exprese), játra a varlata, další tkáně	Homeostáza a transport Se, antioxidační aktivita, ochrana proti neurotoxicitě
	Selenoprotein W (SelW)	Mozek, srdce, kosterní svalovina, tlusté střevo, prostata, thymus, burza Fabricii, slezina	Metabolismus kosterního a srdečního svalstva, antioxidační aktivita
	Selenoprotein N (SelN)	ER Kosterní svalovina, srdce, plíce, placenta	Regulace redoxní signalizace, homeostáza vápníku
	Selenoprotein S (SelS)	ER	Regulace zánětlivých cytokinů, odstranění proteinů s nesprávnou vyšší strukturou z ER

Upraveno dle: Papp et al. (2007); Fairweather-Tait et al. (2010); Hawkes et Alkan (2010); Konečný (2012) a Fradejas et al. (2015)
ER- endoplazmatické retikulum, GI- gastrointestinální trakt, GA- Golgiho aparát

Pokračování tabulky 1

	Rodina selenoproteinů	Člen/označení	Lokalizace	Funkce
Selenoproteiny		Selenoprotein K (SelK)	ER Srdce, kosterní svalovina, pankreas, játra, placenta, thymus, slezina, mízní uzliny	Regulace příjmu vápenatých kationtů do buněk imunitního systému
		Selenoprotein R (SelR, MSrB1)	Cytoplazma	Reparace bílkovin, antioxidant, metabolismus methioninu
		Selenoprotein H (SelH)	Jádro, široká exprese	Jádro DNA vazebný protein, regulace genů syntézy glutathionu a druhá fáze detoxikace, tvorba cytochromu C v mitochondriích
		Selenoprotein I (SelI)	ER	Není známa
		Selenoprotein M (SelM)	ER Mírná exprese - srdce, plíce, ledviny, děloha, placenta Vysoká exprese - štítná žláza, mozek	Antioxidační aktivita, syntéza proteinů v ER
		Selenoprotein O (SelO)	Mitochondrie	Není známa

Upraveno dle: Papp et al. (2007); Fairweather-Tait et al. (2010); Hawkes et Alkan (2010); Konečný (2012) a Fradejas et al. (2015)
ER- endoplazmatické retikulum, GI- gastrointestinální trakt, GA- Golgiho aparát

Pokračování tabulky 1

Rodina selenoproteinů	Člen/označení	Lokalizace	Funkce
Selenoproteiny	Selenoprotein T (SelT)	ER, GA Mízní uzliny, thymus, slezina	Buněčná adheze, redoxní regulace
	Selenoprotein V (SelV)	Cytoplazma spermatid Varlata	Není známa
	15kDa selenoprotein (Sel15)	ER Vysoká exprese - mozek, plíce, varlata, játra, štítná žláza, ledviny	Skladba glykoproteinů, možná regulace apoptózy
	Selenofosfát syntáza 2 (SPS2)	Cytoplazma	Syntéza selenoproteinů

Upraveno dle: Papp et al. (2007); Fairweather-Tait et al. (2010); Hawkes et Alkan (2010); Konečný (2012) a Fradejas et al. (2015)
ER- endoplazmatické retikulum, GI- gastrointestinální trakt, GA- Golgiho aparát

2.3 Funkce selenu v organismu

2.3.1 Antioxidační účinky selenu

V organismu vzniká během metabolických procesů velké množství volných radikálů a další volné radikály se do těla dostávají z okolí. Pro organismus mají volné radikály důležitou funkci, ale jejich množství však nesmí převýšit množství antioxidantů. Pakliže jsou volné radikály a antioxidanty v poměru 1:3, jsou v rovnováze. Jestliže nejsou v rovnováze, dochází k tzv. oxidačnímu stresu. Antioxidanty tak nejsou schopny eliminovat přemíru volných radikálů a dojde tak k poškození buněk a vzniku některých onemocnění (Racek, 2003; Hřebíčková, 2009). Nezbytnou složkou antioxidační ochrany organismu je enzym glutathionperoxidáza, který katalyzuje redukci peroxidu vodíku a hydroperoxidů mastných kyselin glutathionem (Velíšek, 1999).

2.3.2 Selen a hormony štítné žlázy

Pro správnou funkci metabolismu hormonů štítné žlázy je nutné, aby měl organismus dostatek Se. Jodthyronin dekodázy, které jsou zodpovědné za regulaci potřebného množství thyroideálních hormonů, umožňují regulaci teplotního a energetického systému, udržují katabolicko-anabolickou rovnováhu a další funkce thyroideálních hormonů v organismu (Kvíčala, 2003c). Jodthyronin dekodázy umožňují změnu hormonu thyroxinu (T4) na metabolicky aktivnější trijodthyronin (T3) (Velíšek, 1999). Nedostatek Se způsobuje snížení vzniku jodthyronin dekodáz což je provázeno zvýšením poměru T3/T4, to znamená změnu ve prospěch fyziologicky méně účinného T4. Toto může vést i k vývoji myxedematózního kretenismu u lidí (Kvíčala, 2003c). Frączek et Pasternak (2013) uvádí, že nízká hladina hormonů štítné žlázy nepříznivě ovlivňuje činnosti nervové tkáně, snižuje duševní odolnost a objevují se depresivní stavy.

2.3.3 Vliv selenu na reprodukci

Selen je nepostradatelný pro správnou funkci pohlavního aparátu obou pohlaví. U samců je Se nezbytný pro biosyntézu testosteronu a pro vznik, zrání a fyziologický vývoj spermií. Proto tkáň varlat obsahuje vysoké množství tohoto prvku (Mistry et al., 2012). Selenoproteiny se vyskytují v jádru spermie. Nezanedbatelné množství GSH-Px v jádru spermií slouží k ochraně spermie v průběhu jejího vývoje, s dozráváním se mění na strukturální protein s pohyblivou funkcí a se schopností vázat k sobě spermii a bičík. Nedostatek Se vede k poklesu syntézy GSH-Px a tedy i ke snížení pohyblivosti i životnosti spermie (Kvíčala, 2003b).

U samic nízká hladina Se v organismu vede k častějšímu výskytu abortů zejména prvního trimestru gravidity. Kvíčala (1999) a Kvíčala (2003b) se domnívá, že k potratům dochází díky nízké antioxidační (nízké aktivitě GSH-Px) ochraně buněčných membrán a DNA embryonálních buněk.

2.3.4 Antikarcinogenní účinky

Mnohé studie se zabývaly účinky Se suplementace v boji proti rakovině. Při léčbě rakoviny se využívá toho, že nádorově pozměněné buňky jsou metabolicky vysoce aktivní a z mimobuněčné tekutiny vstřebávají sloučeniny Se, které reagují s glutathionem (GSH). Tento děj vede k oxidativnímu poškození buňky, po kterém následuje její smrt (Holeček, 2010). Účinnost léčby je specifická pro dané druhy nádorů. Důležitým faktorem při léčbě je forma a dávka Se a také typ nádorového onemocnění (Kvíčala, 2003c; Fairweather-Tait et al., 2011). Rayman (2012) poukazuje na studie, které poskytují důkazy o pozitivním vlivu Se na riziko vzniku rakoviny močového měchýře, tlustého střeva, jícnu, jater, plic a štítné žlázy. Kvíčala (2003) uvádí, že při léčbě se používá Se jak v koncentracích běžných nutričních dávek, tak především supranutričních dávkách.

2.3.5 Neutralizace toxických účinků těžkých kovů a jiných toxinů v těle

Selen a jeho sloučeniny výrazně snižují toxické účinky rtuti, arsenu, kadmia, olova i některých organických sloučenin (Jelínek et Koudela, 2003).

2.4 Absorpce a metabolismus organické formy selenu

Vstřebávání Se není ovlivněno jeho zásobou v organismu (Hall, 2007) a probíhá v tenkém střevě (především v duodenu), v menším rozsahu také v tlustém střevě (Jelínek et Koudela, 2003).

Selenocystein a SeMet jsou absorbovány stejným transportním enzymovým systémem jako aminokyseliny Cys a Met, tedy Na-dependentním neutrálním aminokyselinovým transportním systémem. Při vstřebávání dochází k rivalitě mezi Met a SeMet, podobně i mezi Cys a SeCys. SeMet není okamžitě metabolizován, ale je začleněn do orgánů, ve kterých probíhá syntéza bílkovin ve velké míře, tj. kosterní svalovina, erytrocyty, slinivka břišní, ledviny, játra, žaludek a sliznice zažívacího traktu (Schrauzer, 2000).

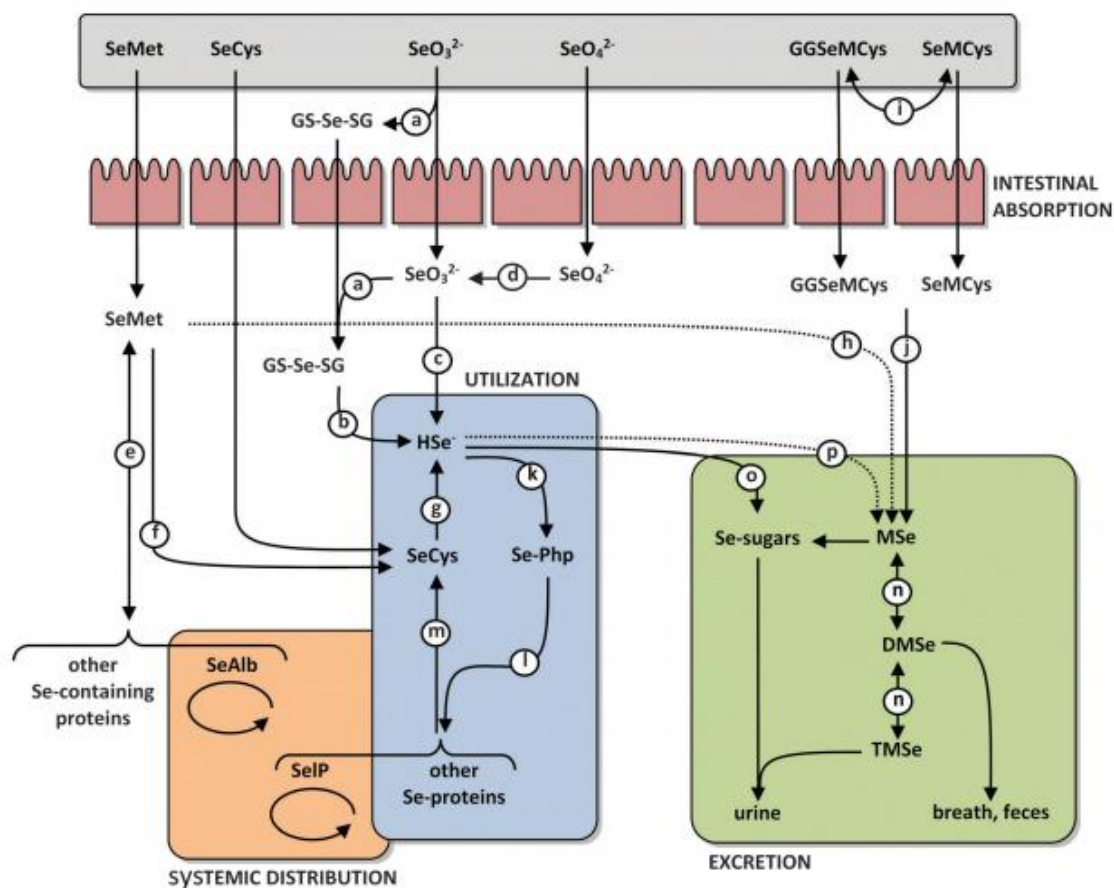
Po absorpci ve střevech musí být všechny formy Se, které slouží k biosyntéze selenoproteinů, včetně SeCys samotného, převedeny nejprve na selenovodík (H_2Se). Ze selenovodíku, běžně anglicky označovaného jako „centrální selenový pool“, dochází k syntéze selenofosfátu. Selenofosfát dále reaguje s fosfoseryl-tRNA za vzniku selenocysteinyl-tRNA. Selenocysteinyl-tRNA dokáže rozpoznat UGA kodon (ve většině případů funguje jako STOP kodon) v mRNA v rámci 3'-selenocysteinu vkládací frekvence. Díky této schopnosti se molekula SeCys začlení do rostoucího polypeptidového řetězce shodným způsobem jako ostatní aminokyseliny. Selenid je také výchozí látkou při syntéze trimethylselenidu ($(CH_3)_3Se$) a selenocukrů (Turanov et al., 2011).

Se-methylované sloučeniny jako je SeMet nebo syntetická methylselenová kyselina (MSA) mohou dát vznik methylselenolu (MeSeH). Selenid může být methylován rovněž za vzniku MeSeH. Předpokládá se, že MeSeH může sloužit jako prevence před rakovinou, díky svým protinádorovým účinkům, jež byly zjištěny na zvířatech, kterým byly podávány supranutriční dávky Se ($> 400 \mu g$ na 1 den lidské ekvivalentní dávky). Mezi účinky, které jsou připisovány MeSeH, patří též indukce apoptózy, zastavení stresu ER a buněčného cyklu (Cassidy et al., 2015).

Rychlost štěpení SeMet je velká. Dokazuje to rychlé vytvoření a vymizení anorganických selenových metabolitů v krevním séru krys, kterým byl perorálně podáván SeMet či selenid. Metabolismus SeMet je závislý na přítomnosti vitamínu B6 (pyridoxin), protože je důležitý k jeho aktivaci. Míra ukládání SeMet ve tkáních a jeho využití pro syntézu GSH-Px závisí rovněž na stavu Met v organismu.

U kryš postrádajících Met, kterým byl podán SeMet, byla aktivita GSH-Px nižší než u kryš, kterým byl SeMet podán a přitom měly dostačující množství Met v těle. V další studii dieta Met a procentuální obsazení Se spojeném s GSH-Px spolu přímo souvisely (Schrauzer, 2000).

Obrázek 1- Zdroje, metabolismus, distribuce a exkrece selenu v organismu.



Převzato od Roman et al. (2014).

2.5 Exkrece selenu

Vylučování Se se uskutečňuje výkaly, močí, mlékem a dýcháním (Obrázek 1). Selen je však primárně vylučován z organismu močí (Yang et al., 1989) ve formě selenocukrů (Kobayashi et al., 2002). Ve výkalech je přítomen Se, který se nevstřebal nebo se do střev vyloučil prostřednictvím pankreatické a střevní šťávy či žluči (Jelínek et Koudela, 2003). V době laktace je Se též vylučován mlékem. Jeho koncentrace v mlezivu je čtyři až pětkrát vyšší než je koncentrace Se v mléce (Underwood et Suttle, 1999). Při vysoké suplementaci Se, je tento prvek vyloučen

plícemi ve formě dimethylselenidu a dalších methylovaných sloučenin (McConnell et Roth, 1966).

2.6 Požadavky zvířat na příjem selenu

Většina živočišných druhů má požadavek na Se cca 0,1 mg/kg živé hmotnosti (Pavlata et al., 2000). Doporučené dávky Se pro králíky se v literárních zdrojích liší. Například Xiccato (1996) uvádí, že doporučená dávka Se pro králíky je podobná jako u dalších druhů zvířat, tj. 0,15 mg Se/kg sušiny krmiva. Tyto hodnoty se příliš neliší od doporučených dávek Se pro přežvýkavá zvířata, které se pohybují v rozmezí od 0,1 do 0,3 mg na kg sušiny krmiva (Sommer et al., 1994; Cempírková et Čermák, 2008). Dávky Se vyšší než uvedené doporučené dávky (0,15 mg/kg krmiva), které se však pohybují do maximální tolerované hodnoty, se nazývají jako dávky supranutriční. Hall (2013) uvádí, že tyto dávky mají pozitivní vliv na zdraví a výkon jedince, prevenci před nádorovým onemocněním plic, prostaty a tlustého střeva. Navzdory tomu mohou vést supranutriční dávky Se ke vzniku diabetu typu II (Zachariah et al., 2014).

Literární údaje o toxických dávkách Se u králíků jsou odlišné. V NRC (1983) bylo uvedeno, že minimální toxickou dávkou Se pro králíky je 1,5- 3,0 mg /kg živé váhy. Naproti tomu Svobodová et al. (2008) uvádí, že pro býložravce se za toxickou dávku považuje množství v rozmezí 1- 5 mg/kg živé hmotnosti.

2.7 Projevy nadbytečného příjmu selenu a selenového deficitu

2.7.1 Projevy nadbytečného příjmu selenu (intoxikace)

Zvýšený příjem Se může vyvolat intoxikaci. K intoxikaci může dojít spontánně při příjmu krmiva s vysokou koncentrací Se (5,0- 40,0 mg na 1 kg sušiny) či při předávkování seleničitanem sodným a jinými selenovými sloučeninami podávanými ve formě minerálních krmných doplňků. Půdy s vysokým podílem Se se v ČR nevyskytují, proto se zde může toxicita Se objevit pouze po neuvážené a nadměrné aplikaci Se v krmných doplňcích (Ludvíková et Pavlata, 2005). Whanger et al. (1996) uvádí, že maximální bezpečnou dávkou Se pro králíky je 15 µg/kg živé hmotnosti na den. U prasat se vyšší dávky než 5 mg/kg sušiny krmiva projevují

klinickými příznaky, u přežvýkavců se za maximální tolerovanou dávku považuje 3 mg Se/kg sušiny krmiva (Kroupová et al., 2005; Svobodová et al., 2008).

Otravy Se jsou nejčastěji popisovány ve třech formách. Jako akutní, subakutní a chronické. Průběh akutních otrav je velice rychlý, objevují se příznaky apatie, slabosti, kolikových bolestí a z dechu je cítit česnekový zápach. Akutní otravy končí smrtí způsobenou respiratorním selháním. Subakutní otravy se projevují plynulou ztrátou hybnosti a neschopností pít či přijímat krmivo. Zvířata se potácí a slzí. V závěru dochází k paralýze a smrti udušením (Svobodová et al., 2008). Jestliže dojde k chronické intoxikaci, nastanou patologické změny na myokardu, játrech, ledvinách, rohovině kopyt a paznehtů. Projevuje se zánětem škáry, kulháním, apatií, ztrátou srsti, hubnutím a poruchami reprodukce (Jelínek et Koudela, 2003; Svobodová et al., 2008).

Rayman (2004) uvádí, že anorganické formy Se jsou více toxické než formy organické. Naproti tomu, organické formy Se mohou být při dlouhodobém užívání také velmi toxické díky jejich rychlému začlenění do struktury tkáňových bílkovin. V roce 2002 Scientific Committee on Food vyslovila obavu, že organické formy Se (např. SeMet nebo Se kvasnice) mohou v tkáních dosáhnout toxické úrovně. Dle četných studií se však potvrdilo, že se dlouhodobé podávání Se-kvasinek v dávkách až 0,8 mg/den obešlo bez toxických účinků. Z těchto studií lze vyvodit, že Se nemůže být transportován dále do tkání a díky tomu není možná toxicita vyšší, než je tomu u anorganických forem. Závislost organického Se na H_2Se je možným regulátorem biologické dostupnosti Se, který může chránit organismus proti nadměrnému začleňování Se do proteinů (Rayman, 2004).

2.7.2 Projevy selenového deficitu

Klinické dopady nedostatku Se jsou u hospodářských zvířat velice rozsáhlé (Underwood et Suttle, 1999). Mezi choroby způsobené deficitem Se patří nutriční svalová dystrofie, mastitidy, poruchy imunitního systému, poruchy reprodukce, anémie, nekróza jater, snížená chladová rezistence, poruchy syntézy steroidních hormonů, nedostatečný růst a další (Underwood et Suttle, 1999; Pavlata, 2004). Nutriční svalová dystrofie (NSD) je onemocnění příčně pruhované svaloviny a bývá hlavní známkou deficitu Se a vitamínu E u novorozených zvířat. Např. u novorozených telat patří k nejčastějším poruchám poruchy sání (dystrofické změny

svaloviny jazyka) a brzké úhyny. NSD je vyznačována strnulostí, celkovou slabostí a degenerací svalů (Pavlata et al., 2002)

2.8 Zdroje organických forem selenu ve výživě zvířat

Ve výživě zvířat se používají různé zdroje organické formy Se. Mezi nejčastěji používané suplementy lze zařadit Se obohacené řasy a kvasnice. Dalším možným zdrojem je například čistý seleno-L-methionin (Se-L-Met) (Whanger, 2002). Na rozdíl od krmných doplňků založených na anorganických formách Se, umožňuje organická forma Se tvorbu rezerv v těle, ze které může být Se prostřednictvím kolostra předáván potomkům (Suková, 2006). Odlišné Se-aminokyseliny obsažené v Se obohacených kvasnicích a v Se obohacené řase (Se-*Chlorella*) mohou vysvětlovat rozdíly mezi oběma zdroji Se (Machát et al., 2005).

2.8.1 Selenem obohacená řasa (Se-*Chlorella*)

Chlorella vulgaris je rod jednobuněčných řas patřících do kmene *Chlorophyta*. Je tvořena samostatnými buňkami, obvykle kulovitěho tvaru (Luo et al., 2006). Plastid této řasy obsahuje chlorofyly A i B, je obklopen dvěma membránami a obsahuje vlastní genom (Palmer, 2003). Tato sladkovodní řasa je schopna absorbovat při kultivaci v solárních bioreaktorech ze selenových roztoků až 500 mg Se na 1 kg sušiny řasové biomasy (Doucha et al., 1999). *Chlorella* také obsahuje širokou škálu žlutých a oranžových karotenoidů, které se podílejí na fotosyntéze a chrání buněčné struktury před poškozením ultrafialovým zářením a volnými radikály. Nejcennějším z nich je beta-karoten, který je v této řase obsažen v rozmezí mezi 0,1- 0,2% sušiny (Kotrbaček et al., 2015). V *Chlorelle* obohacené Se bylo identifikováno hned několik sloučenin Se: SeMet, Se-allyl-selenocystein (Seac) a dimethylselenonium propionát (Larsen et al. 2001).

2.8.2 Selenem obohacené kvasnice

Tyto produkty jsou závislé na kmenech kvasinek, které jsou kultivované v prostředí s vysokým obsahem Se. Jedním z kmenů je například *Saccharomyces*

cerevisiae. Podobně jako řasy, také kvasinky přijímají Se z kultivačního média a tvoří tak řadu organických forem, které jsou shodné s formami v zrninách a pícech (Suková, 2006). V Se obohacených kvasnicích převládá především SeMet, ve stopových množstvích obsahují také methylselenol, SeCys, selenohomocystein, selenoadenosin a další (Roman et al., 2014).

2.9 Krevní parametry králíků

Objem krve u králíka se pohybuje mezi 4,5– 8,1 % tělesné hmotnosti, což je asi 55-65 ml/kg hmotnosti. Pro analýzu může být u zdravého jedince odebráno 6-10 % z celkového objemu krve, to je 3,5- 6,5 ml/kg živé hmotnosti. Jelikož králíci velmi špatně snášejí stresové situace, rozrušení bezprostředně před odběrem krve nebo během odběru může vést k řadě odchylek laboratorních parametrů od standardu. Z tohoto důvodu je vhodné omezit manipulaci se zvířetem před odběrem krve na minimum (Škorová, 2016). Referenční hodnoty vybraných krevních parametrů jsou zobrazeny v následující tabulce (Tabulka 2).

Tabulka 2- Referenční hodnoty vybraných krevních parametrů

Krevní parametr	Hodnoty
Hemoglobin (g.l ⁻¹)	111,0– 156,0
Hematokrit (l/l)	0,33- 0,48
Erytrocyty (T/l)	4,0 – 7,0
Leukocyty (G/l)	5,2 – 16,5
Močovina (mmol/l)	6,14- 8,38
Triglyceridy (mmol/l)	1,4-1,76
Gama-glutamyltransferáza (UI/l)	0,0–7,0
Celková koncentrace plazmatických bílkovin (g/l)	54,0–75,0

Vytvořeno dle Škorová (2016); Gilett (1994); Zimmerman et al. (2010);
[T/l]= 10¹²/l ; [G/l]= 10⁹/l

3 CÍL PRÁCE

Cílem bakalářské práce je zhodnotit účinek suplementace supranutričních dávek organické formy selenu na vybrané krevní parametry králíka.

Práce zahrnuje následující cíle:

- a) Sledování koncentrace Se v krvi pokusných zvířat.
- b) Sledování hmotnosti králíků.
- c) Zhodnocení stavu vybraných krevních parametrů.

4 MATERIÁL A METODY

4.1 Experimentální podmínky

Pro posouzení vlivu supranutričních dávek organické formy Se (Se obohacená řasa *Chlorella*) na krevní parametry králíků byl realizován 9 týdenní experiment. Do pokusu bylo zařazeno 18 králíků plemene činčila velká ve věku 7 měsíců. Zvířata byla rozdělena dle živé hmotnosti a pohlaví do tří experimentálních skupin (Tabulka 3).

4.1.1 Odběr krve a zjišťování živé hmotnosti

Odběr vzorků probíhal vždy mezi 9-10 h a to 0., 4., a 9. týden experimentu. Krev byla získávána z *vena auricularis*. Po každém odběru krve byla u každého jedince zjišťována živá hmotnost s přesností na 0,001 kg.

4.1.2 Výživa pokusných zvířat

Zvířata použitá k tomuto experimentu byla krmena kompletní krmnou směsí TM- MaK1 (Mlýn Kocanda). Tato směs obsahovala následující komponenty: oves, pšenici, ječmen, vojtěškové úsušky, pšeničné klíčky, pšeničné otruby a sušené odstředěné mléko. K dané směsi byl přidán minerální a vitaminový doplněk Aminovitan (Biofaktory Praha spol. s.r.o.), ve kterém byl Se, jako součást biomasy *Chlorella* v koncentraci 255 mg/kg sušiny. Obsah Se ve složkách krmné směsi byl 0,17 mg/kg sušiny. Krmivo i voda byly zvířatům poskytovány ad libitně.

Tabulka 3 - Hmotnost pokusných zvířat před zahájením experimentu a množství Se v krmné dávce

Skupina zvířat	Živá hmotnost (kg)	Selen (mg/kg suš.)
1 (kontrolní)	3,01 ± 0,33	0,15
2	3,22 ± 0,15	0,30
3	3,26 ± 0,13	4,30

4.2 Metody zpracování vzorků krve

4.2.1 Stanovení koncentrace selenu v krevním séru

V krevním séru byla koncentrace Se stanovena spektrofluorometricky (Kvíčala et al., 1995) v Endokrinologickém ústavu v Praze a je dána v $\mu\text{g/l}$.

4.2.2 Stanovení hematologických parametrů

Stanovení koncentrace hemoglobinu, hodnoty hematokritu, počtu erytrocytů a leukocytů byla provedena na automatickém hematologickém analyzátoru ALVET 2000 od firmy DIALAB spol. s.r.o. Obsah hemoglobinu je udáván v g/l krve, hematokritová hodnota (podíl erytrocytů z celkového obsahu krve) v l/l, počty erytrocytů v T/l krve a leukocytů v G/l krve.

4.2.3 Stanovení metabolických parametrů

Obsah celkových bílkovin (CB), triglyceridů, močoviny, enzymu gama-glutamyltransferázy (GMT) v krevní plazmě byl stanoven biochemickým analyzátozem ELLIPSE (DIALAB spol. s r.o.). Obsah CB se udává v g/l plazmy, triglyceridů a močoviny v mmol/l a aktivita enzymu GMT se vyjadřuje v UI/l krevní plazmy.

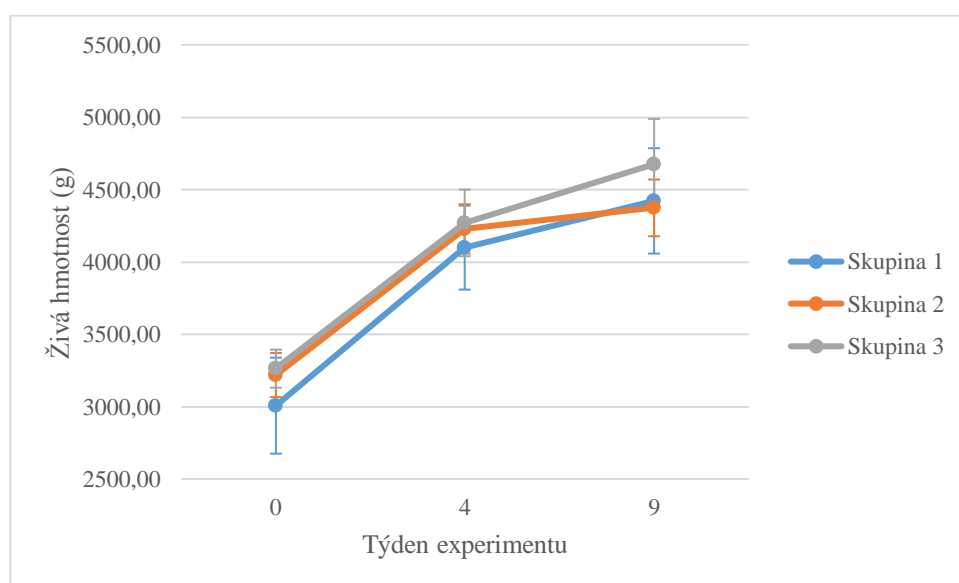
4.3 Statistické zpracování dat

Pro statistické vyhodnocení zjištěných hodnot byla použita analýza rozptylu (ANOVA) Tukeyův HSD test v programu Statistika 10 (StatSoft. Inc.) Základní statistická průkaznost byla akceptována na hladině významnosti $P < 0,05$.

5 VÝSLEDKY A DISKUZE

Během experimentu nebyly pozorovány žádné klinické příznaky související se zvýšenou dávkou Se. Rovněž nebyly pozorovány ani projevy nechutenství nebo ztráta srsti.

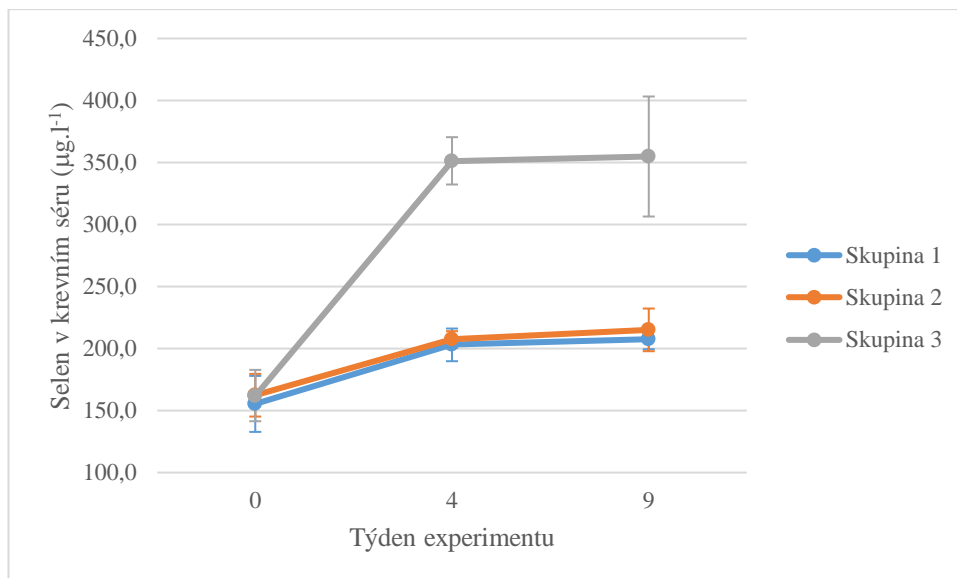
5.1 Živá hmotnost experimentálních zvířat



Graf 1- Průměrná živá hmotnost králíků

Z grafu 1 je patrné, že na začátku a na konci experimentu nebyly mezi jednotlivými skupinami pozorovány statisticky významné rozdíly v tělesné hmotnosti. Kim et Mahan (2001) uvádějí, že u prasat suplementace Se do dávky 5 mg Se/kg krmiva neovlivňuje změny tělesné hmotnosti. Ke změnám dochází až při suplementaci vyšší než 10 mg Se/kg krmiva. Obdobně nezaznamenali žádné významné změny v živé hmotnosti králíků a v příjmu krmiva Bem et al. (2006) při podávání Se v dávce 0 až 30,0 mg Se/kg sušiny krmiva ve formě difenyl diselenidu. Oproti údajům Kim et Mahana (2001) suplementace 4,3 mg Se/kg sušiny krmiva (skupina 3) vedla ke zvýšení intenzity růstu králíků mezi 4. – 9. týdnem experimentu. Rozdíly v hmotnosti 9. týden pokusu však nebyly statisticky významné. Průměrná hmotnost králíků kontrolní skupiny (skupina 1) byla 9. týden pokusu 4423 g. U experimentální skupiny 2 (0,30 mg Se /kg sušiny krmiva) 4375 g a skupiny 3 (4,3 mg/kg sušiny krmiva) 4675 g.

5.2 Koncentrace selenu v krevním séru



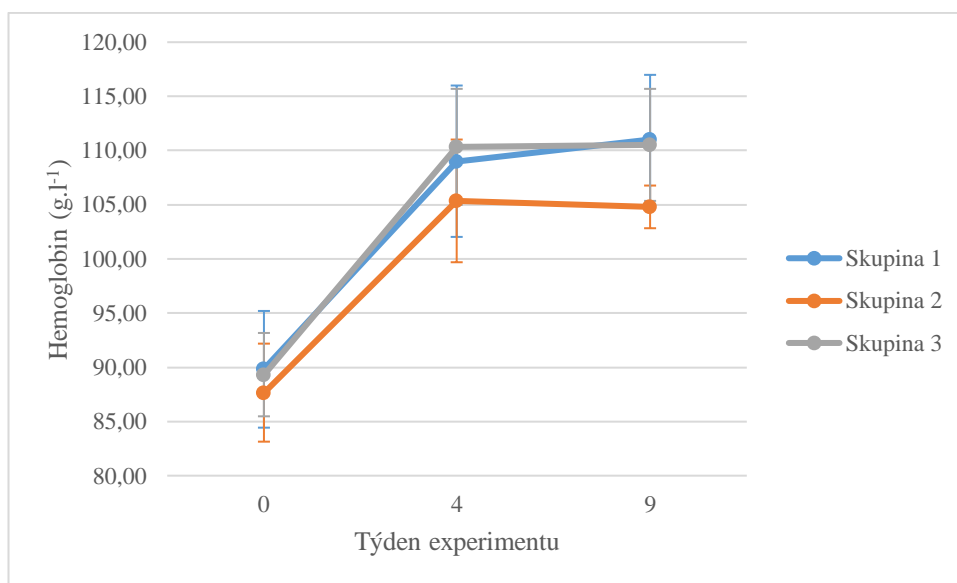
Graf 2 - Koncentrace Se v krevním séru

Obecně je známo, že úroveň suplementace Se se odráží v množství tohoto prvku v krevním séru (Trávníček et al., 2007). Tato skutečnost je také patrná z grafu 2. U všech experimentálních skupin došlo po 4 týdenní suplementaci Se k signifikantnímu zvýšení (skupina 1, 2 $P < 0,05$; skupina 3 $P < 0,01$) jeho koncentrace v krevním séru. Množství Se v krmné dávce nemá pouze vliv na koncentraci Se v krevním séru, ale ovlivňuje také dynamiku jeho růstu, jak je patrné z grafu 2. Nejvyšší nárůst obsahu Se v séru vykazovala skupina s nejvyšším obsahem Se v krmné dávce (skupina 3). Průměrný obsah Se v krevním séru na konci experimentu (v 9. týdnu pokusu) byl u králíků skupiny kontrolní (skupina 1) 207,8 µg/l, u 2. skupiny 215,0 a u 3. skupiny 355,1 µg/l. Ve srovnání s obsahem Se v krevním séru králíků po 2 měsíčním podávání anorganické formy Se v podobě difenyl diselenidu v množství 0,3–30 mg/kg sušiny (Bem et al., 2006), byl obsah Se v séru králíků našeho pokusu ve všech skupinách vyšší. U králíků s příjmem 4,3 mg Se/kg sušiny krmiva (skupina 3) více než dvakrát. Při srovnání účinku suplementace Se ve stejné formě (Se-*Chlorella*) v množství 0,2 a 0,4 mg/kg sušiny krmiva u ovcí (Trávníček et al., 2007; Konečný et al., 2015), byla koncentrace Se v krevním séru králíků ve srovnání s ovci vyšší o 141,18 % respektive 126,32 %. Podle Alazze et

Abu-Zanat (2004) lze za normální obsah Se v krevní plazmě považovat hodnoty v rozmezí 100–200 µg/l, ačkoliv Stowe et Herdt (1992) uvádí jako optimální hodnotu 120–150 µg/l krevního séra.

5.3 Hematologické vyšetření

5.3.1 Hodnota hemoglobinu

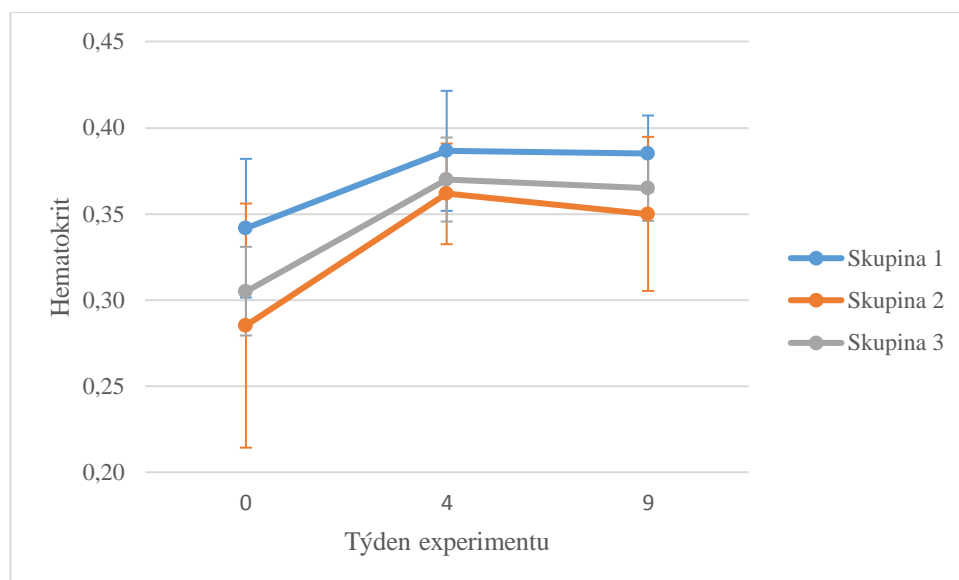


Graf 3 - Koncentrace hemoglobinu v krvi

Na začátku experimentu nebyly mezi skupinami pozorovány statisticky významné rozdíly v koncentraci hemoglobinu a u všech skupin králíků byly tyto koncentrace pod referenčními hodnotami (111- 156 g/l), které uvádí Škorová (2016), Gillet (1994) a Zimmerman et al. (2010). Během experimentu došlo bez rozdílu skupin ke vzestupu koncentrace hemoglobinu, přičemž pouze u kontrolní skupiny (skupina 1) s doporučenou dávkou Se byl pozorován vzestup až do konce experimentu. U skupiny 2 a 3 po statisticky významném vzestupu ($P < 0,01$) ve 4. týdnu experimentu došlo k mírnému, statisticky nevýznamnému poklesu koncentrace hemoglobinu. Z grafu 3 je patrné, že nejnižší hodnoty hemoglobinu se vyskytovaly u experimentální skupiny 2 s dávkou 0,30 mg/kg sušiny krmiva. Vzhledem k tomu, že rozdíly mezi hodnotami hemoglobinu jednotlivých skupin králíků nebyly statisticky významné, nelze předpokládat výraznější vliv použitých dávek Se na koncentraci hemoglobinu v krvi. Významné je, že supranutriční dávka

(4,3 mg Se/kg sušiny krmiva) negativně neovlivnila erythropoetický systém, který je v případě toxických dávek Se poškozen (Zapletal et al., 2001).

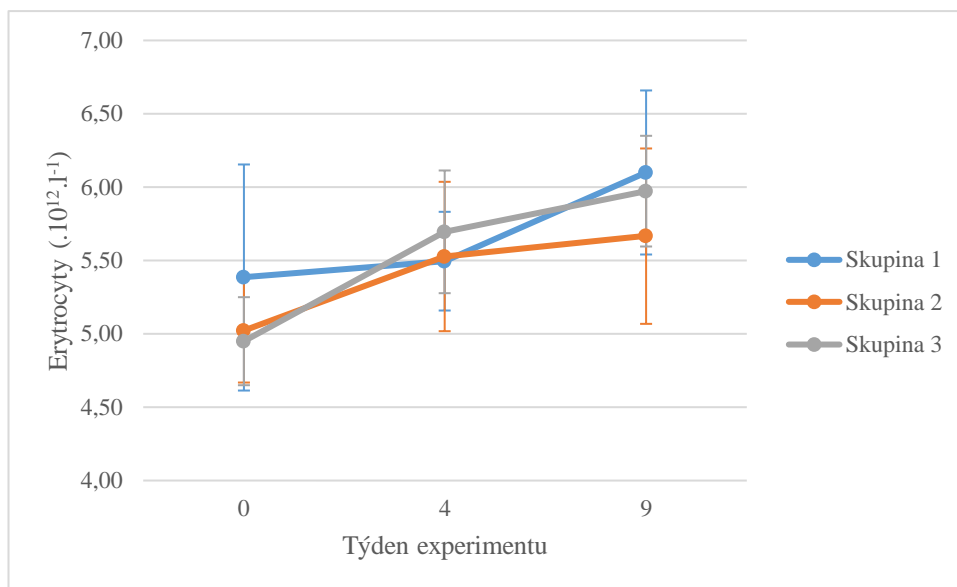
5.3.2 Hodnota hematokritu



Graf 4 - Hodnota hematokritu

Na začátku experimentu (Graf 4) měly skupiny 2 a 3 hodnotu hematokritu pod spodní hranicí referenčních hodnot (0,33–0,48 l/l) a pouze u kontrolní skupiny (skupina 1) hematokrit odpovídal referenčním hodnotám (Škorová, 2016; Gillet, 1994; Zimmerman et al. 2010). Čtvrtý týden experimentu došlo u všech skupin ke statisticky významnému nárůstu hodnoty hematokritu (kontrolní skupina a skupina 2 $P < 0,05$; skupina 3 $P < 0,01$). Od 4. týdne se již hematokritové hodnoty u všech skupin pohybovaly v rámci fyziologického rozmezí. Po 4. týdnu až do konce experimentu došlo u obou experimentálních skupin (skupina 2 a 3) k mírnému, statisticky nevýznamnému poklesu hematokritové hodnoty. Naše výsledky se neshodují s údaji autorů Vošňálová et al. (2013), kteří při 6 měsíční Se (240 μg Se) suplementaci mužů nepozorovali změny hematokritové hodnoty.

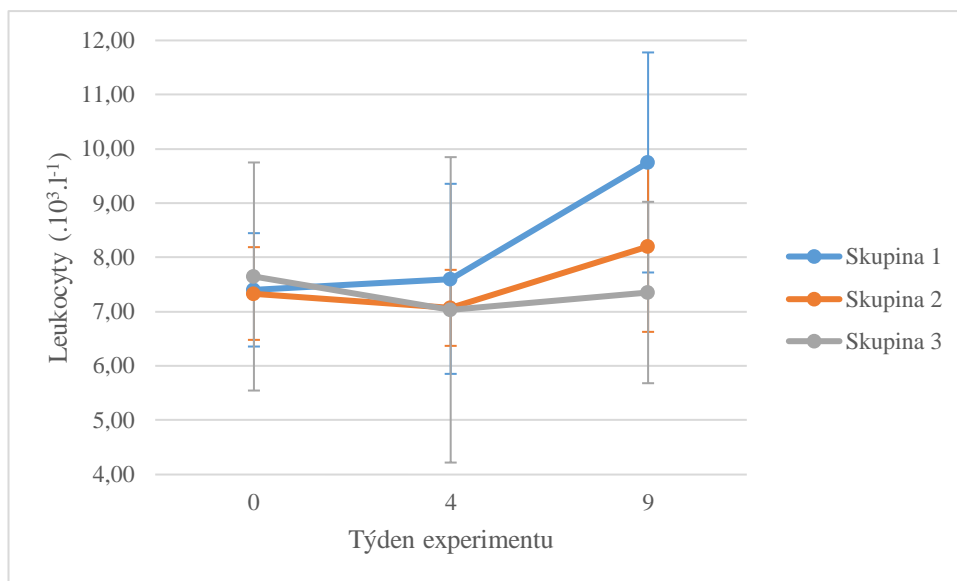
5.3.3 Počet erytrocytů



Graf 5 - Počet erytrocytů v krvi

V průběhu experimentu se průměrné počty erytrocytů pohybovaly ve fyziologickém rozmezí (Škorová, 2016; Gillet, 1994; Zimmerman et al. 2010). Z grafu 5 vyplývá, že nejvyššího počtu erytrocytů v krvi na začátku i na konci experimentu dosáhla kontrolní skupina (0,15 mg Se/kg sušiny). Skupiny 2 a 3 měly téměř obdobnou vzrůstající tendenci. Přes odlišnou dynamiku během experimentu mezi hodnotami nebyly stanoveny statistické rozdíly. Obdobně jako u předcházejících ukazatelů úrovně erytropoézy ani počty červených krvinek nebyly negativně ovlivněny zvýšenými dávkami Se. Brown et al. (2000) při svém pokusu na lidech zjistili, že dávka Se-L-Met má na obsah erytrocytů v krvi stejný vliv, jako podávání placeba. Míra koncentrací erytrocytů se v jejich případě lišila a nelze ji, dle kolektivu autorů, připisovat kolísání koncentrace Se v potravě.

5.3.4 Počet leukocytů

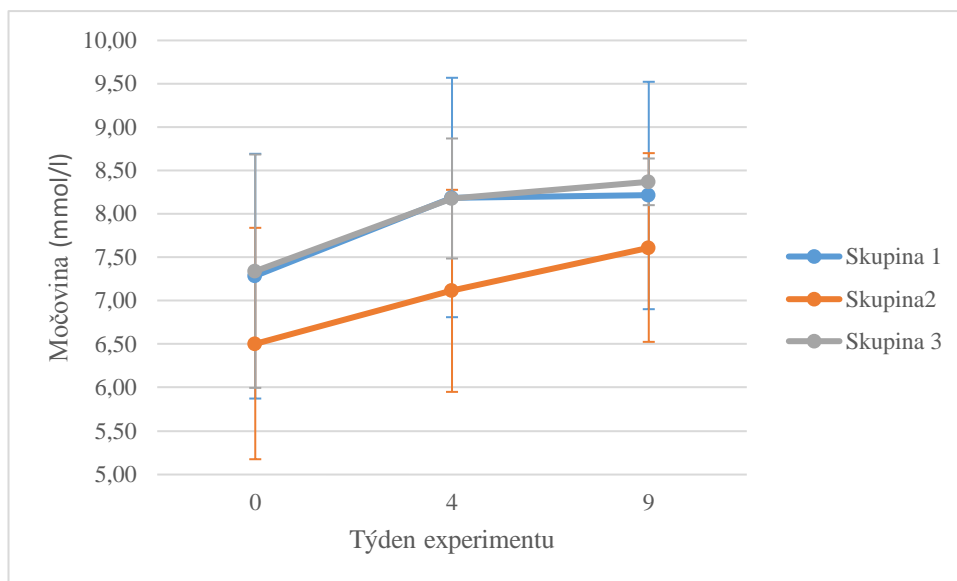


Graf 6 - Počet leukocytů v krvi

Během celého experimentu byly hodnoty leukocytů v krvi králíků v rozmezí referenčních hodnot uváděných Škorová (2016), Gillet (1994) a Zimmerman et al. (2010). Z grafu 6 je patrné, že na začátku experimentu se hodnoty leukocytů v krvi u jednotlivých skupin lišily, avšak tento rozdíl nebyl statisticky významný. Mezi 4. – 9. týdnem experimentu došlo k nárůstu počtu leukocytů v krvi u všech skupin. Nejvyšší nárůst hodnot proběhl u skupiny kontrolní (skupina 1) s dávkou 0,15 mg Se/kg sušiny krmné dávky. U skupin 2 a 3 již nebyl vzrůst příliš výrazný. Nejnižší nárůst hodnot vykazovala skupina s nejvyšší dávkou Se v krmivu (4,3 mg/kg sušiny), kdy na konci experimentu byly tyto hodnoty oproti skupině kontrolní statisticky významně nižší ($P < 0,05$).

Písek et al. (2013) pozorovali při suplementaci Šumavských ovcí Se obohacenou řasou *Chlorella* v dávce 0,16 mg Se/kg sušiny statisticky nevýznamný vzestup počtu leukocytů. Podobně jako Písek et al. (2013) jsme pozorovali u skupiny s doporučenou dávkou Se vzestup počtu leukocytů, avšak nárůst hodnot byl na konci experimentu statisticky významný ($P < 0,01$). Získané výsledky odpovídají výsledkům McKenzie et al. (1998), kteří popisují pozitivní účinky suplementace Se na počty leukocytů. Naše výsledky také naznačují možný negativní vliv supranutričních dávek Se (4,3 mg Se/kg sušiny) na počty leukocytů, přestože byly u všech skupin hodnoty leukocytů v referenčním rozmezí.

5.3.5 Koncentrace močoviny

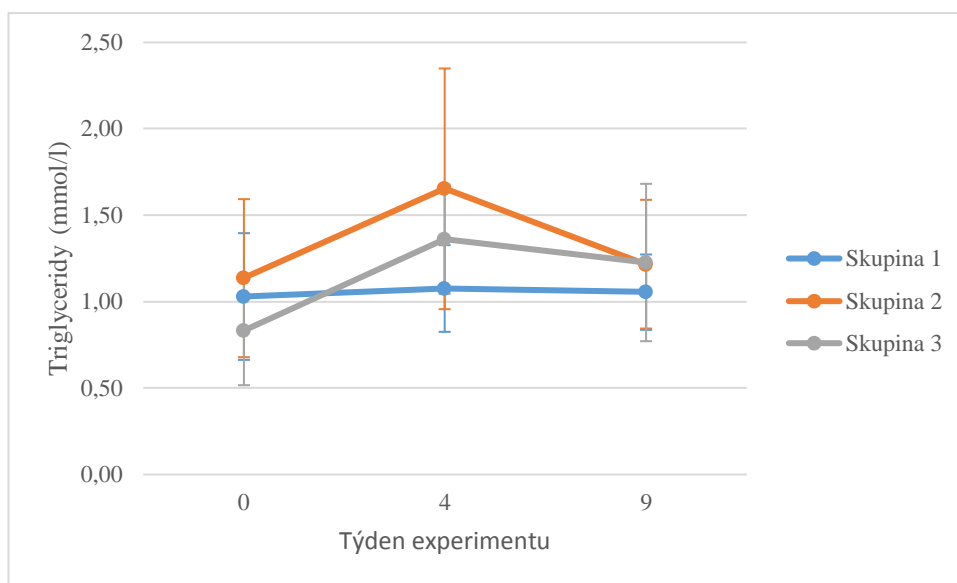


Graf 7 - Koncentrace močoviny v krvi

Koncentrace močoviny v krvi se od začátku do ukončení pokusu u všech tří skupin zvyšovala (Graf 7). Meziskupinový rozdíl, který byl pozorován na začátku experimentu, byl zachován i na konci pokusu. Nelze tedy předpokládat vliv doporučené (skupina 1) nebo supranutriční dávky Se (skupina 3) na zvýšenou tvorbu močoviny v játrech, která by podle některých autorů mohla signalizovat hepatotoxický účinek zvýšených dávek Se (Bem, 2006). Během experimentu koncentrace močoviny v krvi mírně stoupala, především kontrolní skupina (skupina 1) se skupinou 3 měly takřka shodnou tendenci vzrůstu hodnot. Hodnoty se však pohybovaly v rozmezí referenčních hodnot (6,14 – 8,38 mmol/l) a byly tudíž fyziologické.

Koncentrace močoviny v krvi se zvyšuje s vyšším přísunem bílkovin v krmné dávce na kg živé hmotnosti zvířete. Naopak s nižším příjmem bílkovin v krmivu koncentrace močoviny v krvi klesá (Kvasnicová, 2002). Obdobně i pravidelný nárůst močoviny v plazmě králíku v našem experimentu může odrážet příznivější nutriční podmínky užitím vhodné kompletní krmné směsi a její podávání ad libitum. Mudgal et al. (2008) tvrdí, že Se v krmné dávce nemá vliv na hodnoty krevních parametrů zvířat, s výjimkou zvýšené koncentrace globulinů, což se projevuje na zlepšené imunitní odezvě organismu. Dle výsledných hodnot z našeho experimentu se lze k tomuto tvrzení přiklonit.

5.3.6 Obsah triglyceridů

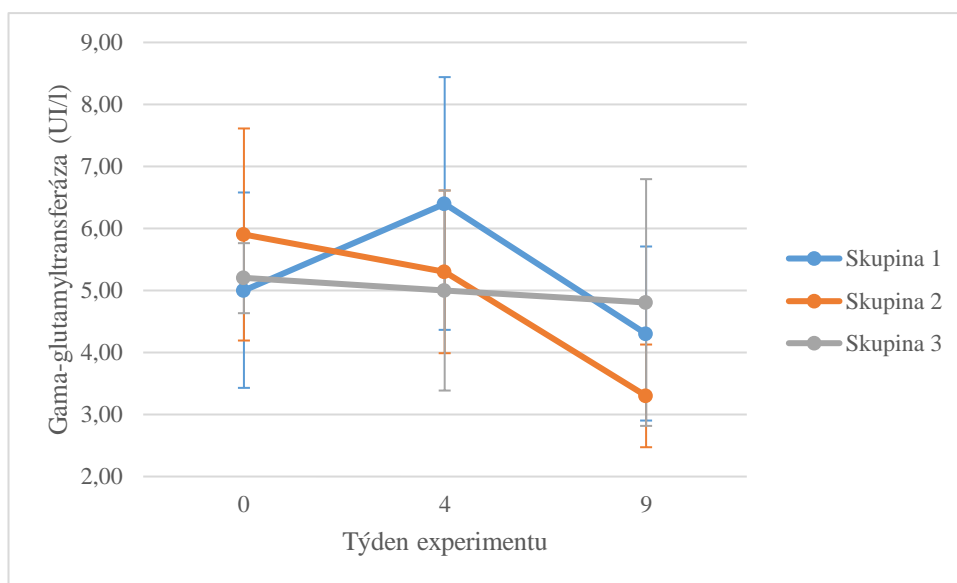


Graf 8 - Obsah triglyceridů v krvi

Ebeid et al. (2013) publikovali, že suplementace Se v krmné dávce neovlivňuje obsah triglyceridů v krvi. V jejich případě kontrolní skupina králíků měla v den ukončení experimentu obsah triglyceridů v krvi ($45,25 \pm 2,08$ mg/dl) téměř shodný jako skupina králíků, která měla krmivo obohacené o 0,3 mg Se/kg sušiny krmiva ($44,89 \pm 2,08$ mg/dl).

Z grafu 8 vyplývá, že u všech skupin došlo ve 4. týdnu experimentu k nárůstu obsahu triglyceridů v krvi, který však až do konce experimentu měl sestupnou tendenci. U kontrolní skupiny se hodnoty po celou dobu experimentu lišily jen mírně, avšak ani rozdíly skupin 2 a 3 mezi jednotlivými týdny experimentu nebyly statisticky významné, proto lze souhlasit s tvrzením Ebeid et al. (2013).

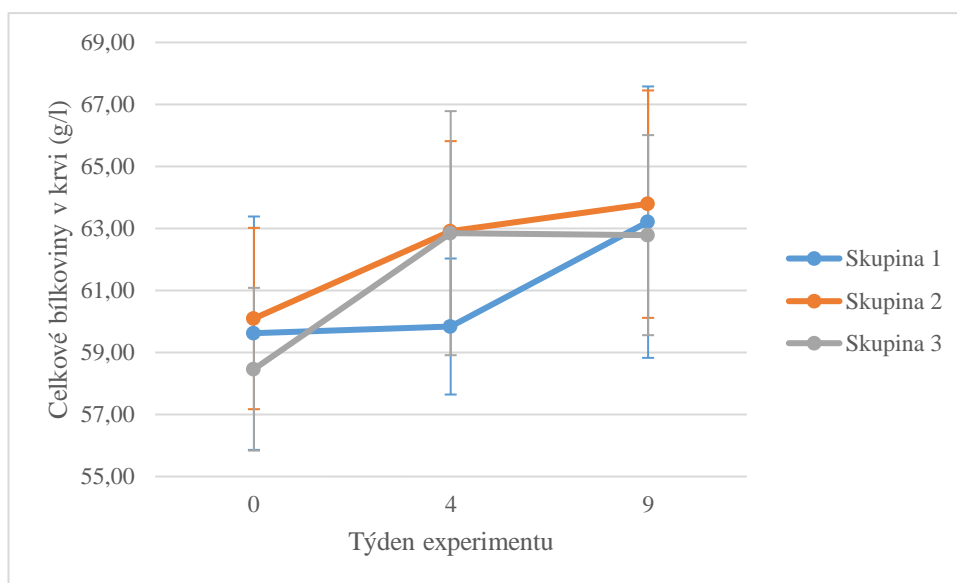
5.3.7 Hodnota gama-glutamyltransferázy



Graf 9 - Hodnota gama-glutamyltransferázy (GMT)

Z grafu 9 je patrné, že u kontrolní skupiny (skupina 1) má křivka vzestupnou tendenci do 4. týdne experimentu, poté hodnota gama-glutamyltransferázy (GMT) klesá. U skupin 2 a 3 má po celou dobu experimentu sestupnou tendenci. Hodnoty GMT naměřené u všech skupin během celého experimentu však odpovídají fyziologickému rozmezí (0-7,0 UI/l), proto nelze potvrdit vliv Se na tento krevní parametr. Zvýšená aktivita jaterního enzymu GMT by odrážela narušení jaterního parenchymu (Hofírek et al., 2004; Svobodová et al., 2008).

5.3.8 Celková koncentrace plazmatických bílkovin



Graf 10 – Celková koncentrace plazmatických bílkovin

Ebeid et al. (2013) jsou názoru, že suplementace Se v krmné dávce neovlivňuje obsah celkových bílkovin v krevní plazmě. V jejich případě kontrolní skupina králíků měla v den ukončení experimentu koncentraci celkových bílkovin krve ($5,14 \pm 0,14$ g/dl) jen málo se lišící od skupiny králíků našeho experimentu, která měla krmivo obohacené o 0,3 mg Se/kg sušiny krmiva ($5,25 \pm 0,14$ g/dl).

V našem experimentu byla skupině 2 podávána shodná dávka Se do krmné dávky jako v případě pokusu Ebeid et al. (2013), přičemž u této skupiny byl celkový obsah bílkovin po celou dobu experimentu nejvyšší. Z grafu 10 vyplývá, že u kontrolní skupiny (skupina 1) nedošlo mezi 0. - 4. týdnem experimentu k nárůstu celkových bílkovin, jako tomu bylo u skupin 2 a 3. Mezi 4. a 9. týdnem došlo u skupiny 3 s podáváním 4,3 mg Se/kg krmné dávky k mírnému snížení celkového obsahu plazmatických bílkovin, naopak u skupin 1 a 2 se jejich počet zvýšil. Rozdíly v hodnotách během celého trvání experimentu však nebyly statisticky významné, proto nelze konstatovat, že má Se vliv na celkový počet bílkovin v krvi a lze se přiklonit ke tvrzení Ebeid et al. (2013). Vzestup koncentrace plazmatických bílkovin u králíků všech tří skupin souvisí pravděpodobně, obdobně jako vzestup plazmatické močoviny, s příznivějšími nutričními podmínkami králíků v průběhu pokusu.

6 ZÁVĚR

- Supranutriční dávka 4,3 mg Se/kg sušiny krmiva nevedla u sedmiměsíčních králíků ke klinickému projevu nadbytku Se.
- Supranutriční dávka 4,3 mg Se/kg sušiny krmiva vedla k rychlejšímu a statisticky významnému zvýšení koncentrace Se v krevním séru.
- Supranutriční dávka 0,3 mg Se/kg sušiny krmiva neovlivnila ve srovnání s příjmem doporučené dávky (0,15 mg Se/kg sušiny krmiva) obsah Se v krevním séru.
- Výsledky naznačují, že vyšší dávky Se nežli 4,3 mg Se/kg sušiny by mohly mít negativní vliv na počty leukocytů
- Supranutriční dávky neovlivnily negativně sledované parametry hemopoézy a látkového metabolismu.
- Pro suplementaci králíků jsou vhodné doporučené dávky selenu (0,15 mg Se/kg sušiny krmiva).
- V dalším výzkumu supranutričních dávek Se by bylo vhodné, se zaměřit na jiné hematologické či biochemické parametry nebo experimentální zvířata zatížit vybraným infekčním agens, a sledovat, zda námi určené dávky Se nemají například imunostimulační účinky.

7 SEZNAM ZKRATEK

Cys	Cystein
ER	Endoplazmatické retikulum
GA	Golgiho aparát
GI	Gastrointestinální trakt
GMT	Gama-glutamyltransferáza
GSH	Glutathion
GSH-Px	Glutathionperoxidáza
H ₂ Se	Selenovodík
MeSeH	Methylselenol
Met	Methionin
NSD	Nutriční svalová dystrofie
Se	Selen
Seac	Se-allyl-selenocysteine
SeCys	Selenocystein
SeMet	Selenomethionin
Se-L-Met	Seleno-L-methionin
T3	Trijodthyronin
T4	Thyroxin

8 SEZNAM OBRÁZKŮ

Obrázek 1- Zdroje, metabolismus, distribuce a exkrece selenu v organismu. 20

9 SEZNAM TABULEK

Tabulka 1 - Selenoproteiny, jejich lokalizace a funkce 13

Tabulka 2 - Referenční hodnoty vybraných krevních parametrů 24

Tabulka 3 - Hmotnost pokusných zvířat před zahájením experimentu a množstvíSe v krmné dávce 26

10 SEZNAM GRAFŮ

Graf 1 - Průměrná živá hmotnost králíků.....	28
Graf 2 - Koncentrace Se v krevním séru.....	29
Graf 3 - Koncentrace hemoglobinu v krvi.....	30
Graf 4 - Hodnota hematokritu.....	31
Graf 5 - Počet erytrocytů v krvi.....	32
Graf 6 - Počet leukocytů v krvi.....	33
Graf 7 - Obsah močoviny v krvi.....	34
Graf 8 - Koncentrace triglyceridů v krvi.....	35
Graf 9 - Hodnota gama-glutamyltransferázy (GMT).....	36
Graf 10 – Celková koncentrace plazmatických bílkovin.....	37

11 SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

1. Alazzeh, A. Y., Abu-Zanat, M. M. (2004): Impact of feeding saltbush (*Atriplex* sp.) on some mineral concentrations in the blood serum of lactating Awassi ewes. *Small Ruminant Research*. 54: 81–88.
2. Arthur, J. R., Beckett, G. J. (1994): New Metabolic Roles for Selenium. *Proceedings of the Nutrition Society*. 53: 615-624.
3. Bankhofer, H. (1996): Bio-selen: přirozená obrana vašeho imunitního systému. 1. vyd. Olomouc: FIN. 151 s. ISBN 80-7182-029-6.
4. Birringer, M., Pilawa, S., Flohé, L. (2002): Trends in selenium biochemistry. *Natural Product Reports*. 19(6): 693-718. DOI: 10.1039/B205802M. ISSN 0265-0568.
5. Brinkman, M., Buntinx, F., Muls, E., Zeegers, M. P. (2006): Use of selenium in chemoprevention of bladder cancer. *The Lancet Oncology*. 7(9): 766-774. DOI: 10.1016/S1470-2045(06)70862-2. ISSN 14702045. Dostupné také z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S1470204506708622>
6. Brown, K. M., Pickard, K., Nicol, F., Beckett, G. J., Duthie, G. G., Arthur, J. R. (2000): Effects of organic and inorganic selenium supplementation on selenoenzyme activity in blood lymphocytes, granulocytes, platelets and erythrocytes. *Clinical Science*. 98: 593–599.
7. Cassidy, P. B., Leachman, S.A., Moos, P.J. (2015): Selenium and Skin Cancer. 391 p. DOI: 10.1039/9781782622215-00391. Dostupné také z: <http://ebook.rsc.org/?DOI=10.1039/9781782622215-00391>
8. Cempírková, R., Čermák, B. (2008): Krmiva konvenční a ekologická: Feedstuffs conventional and ecological: vědecká monografie. 1. vyd. České Budějovice: Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta. ISBN 978-80-7394-141-3.
9. De Bem, A. F., De Lima Portella, R., Perottoni J., et al. (2006): Changes in biochemical parameters in rabbits blood after oral exposure to diphenyl diselenide for long periods. *Chemico-Biological Interactions* [online]. 162(1): 1-10 [cit. 2016-04-27]. DOI: 10.1016/j.cbi.2006.04.005. ISSN 00092797. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0009279706000950>

10. Doucha, J., Livanský, K. (1999): Proces of outdoor thin-layer cultivation of microalgae and blue-green algae and bioreactor for performing the process. United States Patent and Trademark Office. No 5981271.
11. Ebeid, T. A., Zeweil, H. S., Basyony, M. M., Dosoky, W. M., Badry, H. (2013): Fortification of rabbit diets with vitamin E or selenium affects growth performance, lipid peroxidation, oxidative status and immune response in growing rabbits. Elsevier: *Livestock Science*. 155: 323-331. DOI: 10.4172/2155-9929-1000150. ISSN 2155-9929.
12. Fairweather-Tait, S. J., Collings, R., Hurst, R. (2010): Selenium bioavailability: current knowledge and future research requirements. *The American Journal of Clinical Nutrition*, 91: 1484-1491.
13. Fairweather-Tait, S. J., Bao, Y., Broadley, M. R., Collings, R., Ford, D., Hesketh, J. E., Hurst, R. (2011): Selenium in human health and disease. *Antioxidants & Redox Signaling*. 14(7): 1337-1383.
14. Ferencík, M., Ebringer, L. (2003): Modulatory effects of selenium and zinc on the immune system. *Folia Microbiologica*. 48(3): 417-426.
15. Frączek, A., Pasternak, K. (2013): Selenium in medicine and treatment. *Journal of Elementology*. 18(1): 145-163.
16. Fradejas, N., Braun, D., Seeher, S., Schweizer, U. (2015): Biochemistry and Molecular Biology of Selenoproteins. 16. DOI: 10.1039/9781782622215-00016. Dostupné také z: <http://ebook.rsc.org/?DOI=10.1039/9781782622215-00016>
17. García-Barrera, T., Gómez-Ariza, J. L., Gómez Jacinto, V., Garbayo Nores, I., Vilchez Lobato, C., Gojkovica, Z. (2015): Functional Foods Enriched in Selenium. In: V. R. Preedy (Ed). *Selenium: Chemistry, Analysis, Function and Effects*. The Royal Society of Chemistry. 221-239, ISBN: 978-1-84973-891-0
18. Gillet, S. C. (1994): Selected drug dosages and clinical reference data. In: Manning, P. J., Ringler, D. H., Newcomer, C. E. (Eds.), *The Biology of the Laboratory Rabbit*, 2nd ed. Academic Press. 467- 472.
19. Greenwood, N. N., Earnshaw, A. (1993): *Chemie prvků*. 1. vyd. Brno: Informatorium. ISBN 80-85427-38-9.
20. Hall, J. O. (2007): Selenium. In: Gupta, R. C. (Ed.) *Veterinary toxicology: basic and clinical principles*. 1st ed. Amsterdam: Elsevier Academic Press. 453-460. ISBN 978-0-12-370467-2.

21. Hall, J. A., Vorachek, W. R., Stewart, W. C., Gorman, M. E., Mosher, W. D., Pirelli, G. J., Bobe, G., Chakravorty, D. (2013): Selenium Supplementation Restores Innate and Humoral Immune Responses in Footrot-Affected Sheep. PLOS ONE. 8(12): e82572-. DOI: 10.1371/journal.pone.0082572. ISSN 1932-6203. Dostupné také z: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0082572>
22. Hawkes, W. C., Alkan, Z. (2010): Regulation of redox signaling by selenoproteins. Biol Trace Elem Res, 134: 235-251.
23. Hofírek, B., Pechová, A., Doležel, R., Pavlata, L., Dvořák, R., Fleischer, P. a kol. (2004): Produkční a preventivní medicína v chovech mléčného skotu. Část klinická. Veterinární a farmaceutická univerzita Brno. 184s. ISBN 80-7305-501-5.
24. Holeček, V. (2010): Oxidační stres u nádorových onemocnění. Klinická biochemie a metabolismus. 4: 225-230. ISSN 1210-7921
25. Hřebíčková, Š. (2009): Výživa a potraviny, antioxidanty a volné radikály. Výživa a potraviny. 2: 30-32. ISSN 1211-846X.
26. Jelínek, P., Koudela, K. (2003): Fyziologie hospodářských zvířat. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. 414 s. ISBN 807157-644-1.
27. Kim, Y. Y., Mahan, D. C. (2001): Comparative effects of high dietary levels of organic and inorganic selenium on selenium toxicity of growing-finishing pigs. Journal of Animal Science, 79, 942-948.
28. Kobayashi, Y., Ogra, Y., Ishiwata, K., Takayama, H., Aimi, N., Suzuki, K. T. (2002): Selenosugars are key and urinary metabolites for selenium excretion within the required to low-toxic range. Proceedings of the National Academy of Sciences, 99: 15932-15936.
29. Konečný, R. (2012): Vliv selenu na lymfatický systém králíků. [Disertační práce]. České Budějovice, 141 s. Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, Katedra veterinárních disciplín a kvality produktů.
30. Konečný, R., Hasoňová, L., Trávníček, J., Samková, E., Hladký, J. a Křížová, Z. (2015): Effect Of Organic Selenium And Iodine Supplementation On Selenium And Thyroid Hormones Status Of Lactating Ewes And Lambs. Acta Veterinaria [online]. 65(4)- [cit. 2016-04-25]. DOI: 10.1515/acve-2015-0040. ISSN 1820-7448. Dostupné z:

<http://www.degruyter.com/view/j/acve.2015.65.issue-4/acve-2015-0040/acve-2015-0040.xml>

31. Kotrbáček, V., Doubek, J., Doucha, J. (2015): The chlorococcalean alga *Chlorella* in animal nutrition: a review. *Journal of Applied Phycology*. 27(6): 2173-2180. DOI: 10.1007/s10811-014-0516-y. ISSN 0921-8971. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s10811-014-0516-y>
32. Kroupová, V., Trávníček, J., Kursa, J., Staňková, M. (2005): Nutriční, produkční a ekologický význam suplementace selenu u přežvýkavců. In: *Mikroelementy 2005*, s. 67-70.
33. Kvasnicová, V. (2002): Databáze online [cit. 2016-04-15]. Dostupné na: <http://ciselniky.dasta.mzcr.cz/hypertext/200610/hypertext/AJDOZ.htm>
34. Kvasničková, A. (1998): Minerální látky a stopové prvky: Esenciální minerální prvky ve výživě. 1. vyd. Praha: ÚZPI Slezská 7. ISBN 80-85120-94-1.
35. Kvičala, J. (1999): Selen a organismus. *Časopis lékařů českých*. 4: 99-106. ISSN 0008-7335.
36. Kvičala, J. (2003a): Selen a regulace organismu hormonu štítné žlázy. Dostupné z: <http://zdravi.e15.cz/clanek/priloha-lekarske-listy/selen-a-regulace-organismu-hormony-stitne-zlazy-155816>. Staženo dne 7.3.2016.
37. Kvičala, J. (2003b): Zvýšení příjmu mikronutrientu selenu - utopie, fikce, prozřetelnost či nutnost? *Interní medicína pro praxi* [online]. 6. Dostupný z WWW: <http://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2003/06/06.pdf>.
38. Kvičala, J. (2003c): Zvýšení příjmu mikronutrientu selenu – utopie, fikce, prozřetelnost či nutnost? – II. část. *Interní medicína pro praxi* [online]. 7. Dostupný z WWW: <http://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2003/07/07.pdf>.
39. Kvičala, J. (2004): Úloha selenoproteinů v organismu. *Vox paediatricae*. 9: 36. ISSN 1213-2241.
40. Kvičala, J. (2009): Význam selenu, stav a příjem selenu u jednotlivce i populace- způsoby určování, výhody a chyby. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa*. 29-34.
41. Larsen, E. H., Hansen, M., Fan, T., Vahl, M. (2001): Speciation of selenoaminoacids, selenonium 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.

42. Ludvíková, E., Pavlata, L. (2005): Selen a vitamín E v chovech koní v České republice. *Veterinářství*. 55: 642-645.
43. Luo, W., Pflugmacher, S., Proschold, T., Walz, N., Krienitz, L. (2006): Genotype versus phenotype variability in *Chlorella* and *Micractinium* (Chlorophyta, Trebouxiophyceae). *Protist*. 157: 315-333
44. Machát, J., Čmelík, J., Doucha, J., Otruba, V. (2005): Selenem obohacené řasy *Chlorella* - frakcionace forem selenu (Selenized algae *Chlorella* - fractionation of selenium forms). In *Mikroelementy. Český Těšín: 2 THETA*. 5: 71-75. ISBN 80-86380-31-9.
45. Mandžuková, J. (2005): Léčivá síla vitamínů, minerálů a dalších látek. Vyd. 1. Benešov: Start, J. Horáka 1558. 267 s. ISBN 80-86231-36-4.
46. McConnell, K. P., Roth, D. M. (1966): Respiratory excretion of selenium. *Proceedings of The Society for Experimental Biology and Medicine*. 123: 919-921.
47. McDowell, L. R. (2003): *Minerals in animal and human nutrition*. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier. ISBN 0444513671.
48. McKenzie, R. C., Rafferty, T. S., Beckett, G. J. (1998): Selenium: an essential element for immunefunction. *Immunol Today* 19: 342–345.
49. Mistry, H. D., Pipkin, F. B., Redman, Ch. W. G., Poston, L. (2012): Selenium in reproductive health. *American Journal of Obstetrics and Gynecology*. 206(1): 21-30.
50. Mudgal, V., Barg, A. K., Dass, R. S., Varshney, V. P. (2008): Effect of Selenium and Copper Supplementation on Blood Metabolic Profile in Male Buffalo (*Bubalus bubalis*) Calves. *Biological Trace Element Research*. 121(1): 31-38. DOI: 10.1007/s12011-007-8002-x. ISSN 0163-4984. Dostupné také z: <http://link.springer.com/10.1007/s12011-007-8002-x>
51. NRC (1983): *Underutilized Resources as Animal Feedstuffs*. National Academies Press. Washington, D. C.
52. NRC (2005): *Mineral Tolerance of Animals, Second Revised Edition*. National Academies Press, Washington, D. C.
53. Palmer, J. D. (2003): The symbiotic birth and spread of plastids: how many times and whodunit? *Journal of Phycology*. 39: 4–11.

54. Papp, L. V., Lu, J., Holmgren, A., Khanna, K. K. (2007): From selenium to selenoproteins: synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxidants and redox signaling*, 9: 775-806.
55. Pavlata, L., Pechová, A., Illek, J. (2000): Direct and indirect assessment of selenium status in cattle - a comparison. *Acta Veterinaria Brno*. 69: 281-287.
56. Pavlata L., Pechová, A., Illek, J. (2002): Praktická doporučení pro diagnostiku karence selenu u skotu v České republice. *Veterinářství*. 52: 170-173.
57. Pavlata, L. (2004): Poruchy metabolismu selenu a vitamínu E a jejich vztah ke zdraví u velkých zvířat. [Habilitationní práce]. Brno. 174 s. Fakulta veterinárního lékařství Veterinární a farmaceutické univerzity Brno.
58. Perrone, D., Monteiro, M., Côrtes Nunes, J. (2015): CHAPTER 1. The Chemistry of Selenium. 3. DOI: 10.1039/9781782622215-00003. Dostupné také z: <http://ebook.rsc.org/?DOI=10.1039/9781782622215-00003>
59. Pisek, L., Travnicek, J., Salat, J., Kroupova, V., Soch, M. (2008): Changes in white blood cells in sheep blood during selenium supplementation. *Veterinary Medicine*. 53: 255-259.
60. Praag, E., Maurer, A., Saarony, T. Complete blood count and biochemistry reference values in rabbits. *MediRabbit*. [online]. © 2003-2016 [cit. 2016-04-14]. Dostupné z: http://www.medirabbit.com/EN/Hematology/blood_chemistry.htm
61. Racek, J. (2003): Oxidační stres a možnosti jeho ovlivnění. Praha: Galén. ISBN 80-7262-231-5.
62. Rayman, M. P. (2004): The use of high-selenium yeast to raise selenium status: how does it measure up?. *The British journal of nutrition*. 92(4): 557-573.
63. Rayman, M. P. (2012): Selenium and human health. *The Lancet* [online]. 379(9822): 1256-1268 [cit. 2016-04-20]. DOI: 10.1016/S0140-6736(11)61452-9. ISSN 01406736. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0140673611614529>
64. Rodinová, H. (2008): Vliv zkrmování různých forem selenu na úroveň plazmatických bílkovin a aktivitu glutathionperoxidázy u ovcí. [Disertační práce]. České Budějovice, 103 s. Jihočeská univerzita, Zemědělská fakulta, Katedra anatomie a fyziologie hospodářských zvířat.

65. Roman, M., Jitaru, P., Barbante, C. (2014): Selenium biochemistry and its role for human health. *Metallomics*. 6(1): 25-54. DOI: 10.1039/C3MT00185G. ISSN 1756-5901.
66. Schneiderová, P. Selen ve výživě zvířat: Úloha selenu ve výživě, zdroje selenu. In [online]. 12.1.2002 [cit. 2016-03-13]. Dostupné z WWW: <www.agronavigator.cz>.
67. Schneiderová, P. Selen: základní živina pro zvířata a lidi. In [online]. 25.8. 2006 [cit. 2016-03-21]. Dostupné z WWW: <www.agronavigator.cz>.
68. Schrauzer, G. N. (2000): Selenomethionine: A Review of Its Nutritional Significance, Metabolism and Toxicity. *Journal of Nutrition*. 130: 1653-1656. ISSN 1541-6100.
69. Sommer, A., et al. (1994): Potřeba živin a tabulky výživné hodnoty krmiv pro přežvýkavce. 1. vyd. VÚVZ Pohořelice, 198s.
70. Stowe, H. D., Herdt, T. H. (1992): Clinical-assessment of selenium status of livestock. *Journal of Animal Science*, 70: 3928–3933.
71. Suková, I., Formy selenu v suplementech, In [online]. 13.11. 2006 [cit. 2016-03-22]. Dostupné z WWW: <www.agronavigator.cz>.
72. Surai, P. F. (2006): Selenium in nutrition and health. Nottingham: Nottingham University Press, 974 p. ISBN 1904761116.
73. Svobodová, Z. et al. (2008): Veterinární toxikologie v klinické praxi. Praha: Profi Press. ISBN 978-80-86726-27-4.
74. Šimek, M. (2009): Minerální výživa prasat a drůbeže. *Farmář*. 15(6): 31-33. ISSN 1210-9789.
75. Škorová, K. Hematologické vyšetření u králíků a morčat. *Laboklin*. [online]. © 2016 [cit. 2016-04-14]. Dostupné z: http://www.laboklin.de/pages/html/cz/VetInfo/aktuell/lab_akt_0910_cz.htm
76. Travnicek, J., Pisek, L., Herzig, I., Doucha, J., Kvicala, J., Kroupova, V., Rodinova, H. (2007): Selenium content in the blood serum and urine of ewes receiving selenium-enriched unicellular alga *Chlorella*. *Veterinary Medicine*. 52:42-48.
77. Travnicek, J., Racek, J., Trefil, L., Rodinova, H., Kroupova, V., Illek, J., Doucha, J., Pisek, L. (2008): Activity of glutathione peroxidase (GSH-Px) in the blood of ewe and their lambs receiving the selenium-enriched unicellular alga *Chlorella*. *Czech Journal of Animal Science*. 53:292-298.

78. Trojan, S. (2003): *Lékařská fyziologie*. 4. vyd. Praha: Grada Publishing, a.s. 771 s. ISBN 80-247-0512-5.
79. Turanov, A. A., Xu, X. M., Carlson, B. A., Yoo, M. H., Gladyshev, V. N., Hatfield, D. L. (2011): Biosynthesis of selenocysteine, the 21st amino acid in the genetic code, and a novel pathway for cysteine biosynthesis. *Advances in Nutrition*. 2:122–128. DOI: 10.3945/an.110.000265
80. Underwood, E. J.; Suttle, N. F. (1999): *The mineral nutrition of livestock*. 3. ed. Wallingford: CABI Publishing: CAB International. 614 p. ISBN 085199-128-9
81. Velíšek, J. (1999): *Chemie potravin* 2. Vyd. 1. Tábor: OSSIS. 304 s. ISBN 80902391-4-5.
82. Voš'álová, J., Vidlář, A., Ulrichová, J., Vrbková, J., Šimánek, V., Student, V. (2013): Use of selenium–silymarin mix reduces lower urinary tract symptoms and prostate specific antigen in men. *Phytomedicine*. 21(1): 75-81. DOI: 10.1016/j.phymed.2013.07.018. ISSN 09447113
83. Whanger, P., Vendeland, S., Park, Y. C., Xia, Y. (1996): Metabolism of subtoxic levels of selenium in animals and humans. *Annals of clinical and laboratory science*. 26: 99-113.
84. Whanger, P. D. (2002): Selenocompounds in plants and animals and their biological significance. In *Journal of American College of Nutrition*, 21(3): 223-232.
85. Xiccato, G. (1996): Nutrition of lactating does. *Proceedings of the 6th World Rabbit Congress, Toulouse*. Association Francaise de Cuniculture, Lempdes, France, 175-180.
86. Yang, G., Zhou, R., Yin, S., Gu, L., Yan, B., Liu, Y., Li, X. (1989): Studies of safe maximal daily dietary selenium intake in a seleniferous area in China. I. Selenium intake and tissue selenium levels of the inhabitants. *Journal of trace elements and electrolytes in health and disease*. 3: 77-87.
87. Zachariah, M., Rayman M., Agouni A. (2014): High selenium intake is associated with endothelial dysfunction: Critical role for endoplasmic reticulum stress. *Heart*. DOI: 10.1136/heartjnl-2014-306916.13. ISSN 1355-6037.
88. Zapletal, O., Ruprich, J., Dvořáková, D., Nepejchalová, L., Vránová, E. (2001): *Speciální veterinární toxikologie: pro posluchače Fakulty veterinární*

hygieny a ekologie a posluchače Fakulty veterinárního lékařství. 1. vyd. Brno: Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně. ISBN 80-7305-403-5.

89. Zimmerman, K. L., Moore, D. M., Smith, S. A. (2010): Hematology of Laboratory Rabbits (*Oryctolagus Cuniculus*). In: Weiss, D. J., Wardrop, K. J. (Eds.) Schalm's Veterinary Hematology. 6: 862-869. ISBN 978-0-8138-1798-9.