

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA

Studijní program: B4103 Zootechnika

Studijní obor: Zootechnika

Katedra: Zootechnických věd

Vedoucí katedry: prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr.h.c.

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Vliv suplementace selenu na vybrané parametry králíků

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

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

Autorka bakalářské práce: Lucie Vodičková

České Budějovice, 2020

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH

Zemědělská fakulta

Akademický rok: 2018/2019

ZADÁNÍ BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

(projektu, uměleckého díla, uměleckého výkonu)

Jméno a příjmení: Lucie VODIČKOVÁ
Osobní číslo: Z17441
Studijní program: B4103 Zootechnika
Studijní obor: Zootechnika
Téma práce: Vliv suplementace selenu na vybrané parametry králíků
Zadávací katedra: Katedra zootechnických věd

Zásady pro vypracování

Selen představuje esenciální mikroelement ve výživě zvířat.
Vysoké dávky tohoto mikroelementu vedou k patologickým změnám v řadě orgánů.
Toxicita selenu se liší na dávce a formě selenu.

Zpracujete literární přehled o mikroelementu selenu (zdroje, metabolismus, funkce).

Vyhodnotíte dopad suplementace selenu na vybrané krevní parametry a orgány králíků.

Získané výsledky porovnáte s dostupnými literárními zdroji.

Rozsah pracovní zprávy: 25 – 35 stran
Rozsah grafických prací: 4 tabulky
Forma zpracování bakalářské práce: tištěná/elektronická

Seznam doporučené literatury:

- Ebeid, T.A., Zeweil, H.S., Basyon, 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. *Livestock Science*, 155, 323-331.
- Marounek, M., Dokoupilová, A., Volek, Z., Hoza, I. (2009): Quality of meat and selenium content in tissues of rabbits fed diets supplemented with sodium selenite, selenized yeast and selenized algae. *World Rabbit Science*, 17, 207-212.
- Elkholy, K., El-Deen, T., Ab El-Latif, A., Mekawy, A. (2019): Effect of Dietary Addition of Two Selenium Sources on Productive Efficiency and Selenium Content in Tissues in Growing Rabbits. *Journal of Sustainable Agricultural Sciences*, 45(1), 27-36.
- Lee, K., Jeong, D. (2012): „Bimodal actions of selenium essential for antioxidant and toxic pro-oxidant activities: The selenium paradox“. *Molecular Medicine Reports* 5.2: 299-304.
- Kvičala, J. (2004): Úloha selenoproteinů v organismu. *Vox paediatricae*. 9: 36.
ISSN 1213-2241.
- Samuelson, D. A. (2007): *Textbook of veterinary histology*. 1st ed. St. Louis: Saunders-Elsevier, 560 s. ISBN0721681743.

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: 26. března 2019

Termín odevzdání bakalářské práce: 30. června 2020



doc. RNDr. Petr Bartoš, Ph.D.
děkan

JIHOČESKÁ UNIVERZITA
V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
ZEMĚDĚLSKÁ FAKULTA
studijní oddělení
Budejovská 1928, 370 00 Česká Budějovice
CZ



prof. Ing. Miloslav Šoch, CSc., dr. h. c.
vedoucí katedry

V Českých Budějovicích dne 10. června 2020

Prohlášení

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

V Českých Budějovicích

Lucie Vodičková

.....

Poděkování

Ráda bych poděkovala Ing Romanu Konečnému, Ph.D. za vedení mé bakalářské práce, cenné rady a podporu. Dále chci také poděkovat prof. Ing. Janu Trávníčkovi za odbornou pomoc a také rady. V neposlední řadě bych ráda poděkovala své rodině za podporu po celou dobu mého studia.

Abstrakt

Selen je jedním z nejvýznamnějších mikroprvků v živočišném organismu, který působí prostřednictvím selenoproteinů. Na organismus negativně působí jeho nedostatek i nadbytek. V této bakalářské práci jsme se soustředili na vliv suplementace různé koncentrace anorganické formy selenu (seleničitan sodný) na obsah selenu v krevním séru a orgánech (ledviny, játra, kosterní sval), hematologické parametry (hematokrit, hemoglobin), biochemické parametry (celkové bílkoviny, močovina, cholesterol, gama glutamyltransferázy). Experiment byl proveden na 18 králících plemene činčila velká ve věku 7-10 měsíců. Králíci byli rozděleni do 3 skupin (3 samci, 3 samice). Kontrolní skupina dostávala krmnou směs bez přidaného selenu. Skupina E1 dostávala krmnou dávku s doplňkem selenu v množství 0,15 mg na 1 kg sušiny a skupina E2 s doplňkem 4,3 mg na 1 kg sušiny (supranutriční dávka). Vzrůst koncentrace selenu v krmivu vedl ke zvýšení koncentrace selenu v krevním séru a sledovaných orgánech. Nebyl prokázán vliv různých dávek selenu na tělesnou hmotnost králíků, hematologické a biochemické parametry. Supranutriční dávka nevyvolala histopatologické změny ve sledovaných orgánech.

Klíčová slova: anorganický selen, králík, hematologie, biochemie, histopatologie, ledviny, játra, kosterní sval

Abstract

Selenium is one of the most important microelements in the animal organism, which acts through selenoproteins and the organism responds negatively on its deficiency or excess. This bachelor thesis focuses on how the supplementation of inorganic form of selenium (sodium selenite) affects the content of selenium in blood serum and organs (kidneys, liver, skeletal muscle), hematological parameters (hematocrit, hemoglobin), biochemical parameters (total proteins, urea, cholesterol, gamma glutamyltransferase). The experiment was performed on eighteen rabbits of the chinchilla breed aging from seven to ten months of age. The rabbits were divided into three groups and each group consisted of three male and three female rabbits. The control group received the compound feed without added selenium. Group E1 received a compound feed with selenium supplement of 0,15 mg per one kilogram of dry matter. Group E2 received a compound feed with supranutritional dose of selenium supplement of 4,3 mg per one kilogram of dry matter. The supranutritional dose did not induce histopathological changes in the monitored organs. The increase of the concentration of selenium in the feed led to an increase in the concentration of selenium in the blood serum and monitored organs. There is no proof that the supplementary doses of selenium had any impact on the rabbits' body weight or haematological and biochemical parameters.

Key words: inorganic selenium, rabbit, hematology, biochemistry, histopathology, kidneys, liver, skeletal muscle

Obsah

1. Úvod a cíl.....	10
2. Literární přehled	11
2.1 Historie selenu	11
2.2 Charakteristika selenu	11
2.3 Selen v prostředí.....	12
2.4 Selen a živočišný organismus.....	13
2.4.1 Metabolismus selenu.....	13
2.4.2 Selenoproteiny	13
2.5 Funkce selenu	20
2.6 Potřeba selenu.....	20
2.7 Nadbytek a nedostatek selenu	21
2.8 Nedostatek selenu.....	21
3. Materiály a metody	23
3.1 Experimentální podmínky	23
3.1.1 Výživa pokusných zvířat	23
3.1.2 Odběr krve a zjišťování živé hmotnosti.....	24
3.2 Metody zpracování vzorků krve.....	25
3.2.1 Stanovení koncentrace selenu v krevním séru a vybraných orgánech králíků	25
3.2.2 Stanovení hematologických parametrů.....	25
3.2.3 Stanovení metabolických parametrů.....	25
3.3 Histologické zpracování vzorků.....	25
3.3.1 Odběr a zpracování vzorků tkání	25
3.3.2 Histologické zpracování vzorků a barvení.....	26
3.4 Statistické zpracování dat	26
4. Výsledky a diskuze	27
4.1 Hmotnost pokusných králíků a vybraných orgánů králíků	27
4.2 Obsah selenu v krevním séru a vybraných orgánech pokusných králíků....	29
4.3 Vliv suplementace selenu na vybrané krevní ukazatele	31
4.3.1 Vliv suplementace selenu na obsah hemoglobinu a hematokrit	31
4.3.2 Vliv suplementace selenu na obsah celkových bílkovin a močoviny v krevní plazmě.....	33

4.3.3	Vliv suplementace selenu na aktivitu gama glutamyltransferázy a obsah cholesterolu v krevní plazmě	34
4.4	Histopatologické vyšetření	35
5.	Závěr	37
6.	Seznam tabulek	38
7.	Seznam grafů	38
8.	Seznam zkratk	39
9.	Seznam použité literatury	40

1. Úvod a cíl

Selen řadíme mezi esenciální mikroprvky. V organismu působí ve formě selenoproteinů. Ty jsou rozšířené ve všech buňkách, tkáních i orgánech. Zastávají mnoho funkcí, například jsou důležité v reprodukci k uchování fertility spermií, podílejí se na imunitním systému, mají vliv na aktivaci a inhibici tyreoidálních hormonů. Především jsou jedním z nejdůležitějších antioxidantů (Larsen *et* Zavacki 2012, Lubos *et al.*, 2011).

Avšak nedostatek i nadbytek tohoto prvku může vyvolat mnohá onemocnění. Hospodářská zvířata selen přijímají z rostlinné potravy, proto je zásadním faktorem jeho obsah v půdě. Vzhledem k tomu, že ČR patří k zemím, ve kterých jsou půdy chudé na selen, zvířatům se tento prvek do krmné dávky přidává, aby byla zajištěna optimální saturace organismu pro tvorbu selenoproteinů. K suplementaci se užívají různé formy selenu, které se liší svými vlastnostmi (utilizace, toxicita). Některé studie popisují, že supranutriční dávky selenu mají prospěšný účinek pro organismus. Na druhou stranu, mezi tolerovanou dávkou a toxickou dávkou selenu je velmi tenká hranice.

Cílem této bakalářské práce bylo vyhodnotit vliv suplementace anorganické formy selenu (seleničitanu sodného) na vybrané orgány a krevní parametry králíků.

2. Literární přehled

2.1 Historie selenu

Selen (Se) je esenciální mikroelement, který byl v roce 1817 objeven švédským chemikem Jönsem Jakobem Bernzeliem. Tento vědec se primárně zabýval studiem sloučenin síry a selen objevil jako vedlejší prvek při výrobě kyseliny sírové. Název tohoto prvku byl odvozen od řeckého slova selene, v překladu měsíc (Mandžuková, 2005).

Více než 140 let byl selen považován za jedovatý, karcinogenní, mutagenní a teratogenní prvek. Tím skutečně je, ale jen ve vysokých koncentracích (Kvíčala, 2003).

Až teprve v roce 1957 zjistili Schwartz s Foltzem, že jeho přítomnost je nezbytná pro živočišný organismus (Kvíčala, 2003). V 60. letech minulého století začala probíhat léčba myopatie (onemocnění známé také jako nemoc bílých svalů), přípravkem Selevit v Jižních Čechách. Zmíněné onemocnění vyvolává nedostatek selenu u ovcí a skotu chovaných na pastvě (Kvíčala, 2009)

V roce 1973 byl objasněn první reakční mechanismus, tedy peroxidázová aktivita cytosolové glutathionperoxidázy. Tím pádem byl objeven i první enzym obsahující Se (Kvíčala, 2003).

2.2 Charakteristika selenu

Selen je 34. prvek periodické tabulky prvků a spolu se sírou náleží do skupiny chalkogenů (NRC 2011). Jeho relativní atomová hmotnost je 78,96 a přirozeně se vyskytuje ve formě šesti izotopů (74, 76, 77, 78, 80, 82), přičemž pět izotopů je stabilních (74, 76, 77, 78, 80) (Boyd, 2011).

Nejvyšší zastoupení mají izotopy ^{80}Se (50 %) a ^{78}Se (24 %) (Boyd, 2011). Selen se v prostředí nachází v elementární podobě (0), anebo v různých oxidačních stavech jako je selenid $^{(2-)}$, seleničitan $^{(4+)}$ a selenan $^{(6+)}$ (Tóth *et* Csapó, 2018).

2.3 Selen v prostředí

Zastoupení selenu je v přirozeném prostředí velmi nízké, dle hojnosti se řadí selen na 69. místo. V zemské kůře se průměrné koncentrace selenu pohybují v rozmezí 0,05–0,10 mg Se/kg (Ryan *et al.*, 2001; McDowell, 2003).

Rozdílnost obsahu Se v zemské kůře se odráží v jeho obsahu v půdě (Lopes *et al.*, 2017). Vysoké koncentrace selenu byly prokázány v sopečných půdách a půdách s vysokým podílem organické hmoty, nízké koncentrace zase v půdách písčitých (Kabata-Pendias, 2011; El-Ramady *et al.*, 2014). V půdě se však nenachází selen pouze litogenního původu, ale také pedogenního, atmosferického a antropogenního původu (Kabata-Pendias, 2011).

Hlavním zdrojem selenu je pro hospodářská zvířata přijímané rostlinné krmivo a voda. Obsah Se v rostlinách je závislý na jeho obsahu v půdě a na jeho biologické dostupnosti. Zásadní roli v biologické dostupnosti selenu hraje adsorpční kapacita půdy (El-Ramady *et al.*, 2014), která je ovlivněna pH, mineralogií, texturou, obsahem organické hmoty, formou selenu, redoxním potenciálem a interakcí selenu s dalšími ionty (Stadlober *et al.*, 2001; Fordyce, 2007; Bisson *et al.*, 2012).

V některých případech rostliny rostoucí v půdách s vysokou koncentrací selenu (díky jeho nízké biologické dostupnosti a tedy vysoké vazbě) obsahují (vykazují) nízké koncentrace (Rayman, 2004).

Rostliny přijímají selen zejména v podobě selenátu kořenovým a vysoce afinním sulfátovým transportérem (Schiavon *et al.*, 2017). Bylo prokázáno, že jednotlivé druhy rostlin se liší ve schopnosti přijímat selen (Broadley *et al.*, 2006).

Na základě tohoto hlediska se rostliny dělí na selen akumulující a selen neakumulující (Broadley *et al.*, 2006). Dle Kvasničkové (1998) nejlépe selen přijímají rostliny z čeledi *Liliaceae* a *Cruciferae*. V rostlinách je selen začleněn do selenoproteinu selenometioninu, který představuje 90 % podílu obsahu Se (Cubadda *et al.*, 2010), zbývající podíl tvoří další selenoproteiny (selenocystein) a anorganické formy Se (White, 2016).

2.4 Selen a živočišný organismus

2.4.1 Metabolismus selenu

Jak je uvedeno výše, v rostlinách se selen vyskytuje převážně v organické formě, a to převážně jako selenometionin. Tuto formu selenu si rostliny samy syntetizují a začleňují ji do svých proteinů (Raymond). Selenometionin dále podléhá tzv. transsulfuračním reakcím a je převeden na selenocystein, který podléhá redukčním reakcím, jejichž působením se mění na selenid vodíku (H_2Se). Tato celá reakce je katalyzována následujícím enzymem, tedy selenocysteinovou lyázou.

Selenid vodíku je dále přeměňován na selenofosát, ten dále podléhá reakci s tRNA serinovými zbytky a vytváří SeCys tRNA, z té je SeCys translatován na další selenoproteiny. Selenid vodíku může být také z těla vylučován močí ve formě trimetyl selenoniumu nebo dechem v podobě dimethyl selenidu (Rayman, 2004; Dalto *et al.*, 2017). Zbýlý selen se váže v hemoglobinu a dalších proteinech.

Často využívané anorganické formy selenu v krmných směsích vykazují oproti organickým formám odlišnou vstřebatelnost a utilizaci (Reilly, 2006). Vstřebávání probíhá zejména v tenkém střevě se sodíkovými ionty (selenan) či pasivně difuzí (seleničitan) (Fairweather-Tait, 1997).

Oproti organickým formám selenu je vstřebatelnost anorganických forem vyšší (90 %), avšak s nižší využitelností (40–70 %), a tedy i s vyšším podílem vyloučení močí (Kumar *et al.*, 1992; Van Dael *et al.*, 2001; Kvíčala, 2003). Vstřebaný selenan je distribuován krví do jater, kde dochází k jeho metabolismu, anebo do ledvin, kde je vyloučen močí. Seleničitan po vstřebání podstupuje v červených krvinkách redukci na H_2Se , který je následně navázán na transportní protein albumin a rovněž dopraven do jater a ledvin (Suzuki *et Ogra*, 2002).

2.4.2 Selenoproteiny

Biologická aktivita selenu v organismu probíhá zejména prostřednictvím selenoproteinů (Labunskyy *et al.*, 2014). Pod pojmem selenoproteiny (selenoenzymy) jsou definovány proteiny, které ve své struktuře obsahují 21. aminokyselinu selenocystein (Kvíčala, 2003). Proteiny, ve kterých je vázán selenomethionin, se obecně za selenoproteiny nepovažují. To proto, že byl selen do proteinu začleněn nespécificky (Heras *et al.*, 2011).

Od roku 1973 bylo objeveno mnoho enzymatických funkcí selenoproteinů, kde je v aktivním centru vázán selenocystein. Ten zde funguje jako redoxně-oxidační centrum (Kvíčala, 2003).

Selenoproteiny se dělí do dvou skupin, a to podle umístění selenocysteinu na polypeptidovém řetězci. Do první skupiny spadají thioredoxin reduktázy a selenoproteiny I, K, O, R, S, u kterých je selenocystein navázán v blízkosti C terminálního konce. Do druhé skupiny patří glutathionperoxidázy (GSH-Px), jodthyronin dejodázy, selenofosfát syntázy 2 (SPS2), selenoproteiny H, M, N, T, V, W a 15kDa selenoprotein, u této skupiny je selenocystein lokalizován na N terminálním konci (Papp *et al.*, 2007).

Selenoproteiny se nacházejí v mnoha organelách a vykonávají celou řadu funkcí (Labunskyy *et al.*, 2014; Guillin, 2019) (Tabulka č. 1, 2, 3, 4). Tvorba a regulace selenoproteinů je zcela závislá na příjmu selenu potravou (Guillin, 2019).

Tabulka 1 Skupina selenoproteinů-Glutathion peroxidázy

Název	Lokalizace	Funkce (účinek)
Glutathion peroxidáza 1 (GPx1)	Široce rozšířen v celém těle, mezibuněčný enzym	Antioxidační aktivita
Glutathion peroxidáza 2 (GPx2)	Játra, gastrointestinální trakt	Chrání GI před oxidačním poškozením
Glutathion peroxidáza 3 (GPx3)	Plasma, srdce, gastrointestinální trakt, ledviny, plíce	Antioxidační, mohou degradovat hypoperoxidy lipidů
Glutathion peroxidáza 4 (GPx4)	Cytoplasma, varlata, buněčné membrány	Antioxidační aktivita, ochrana membrán před peroxidázovou degradací, důležitá pro fertilitu samců a funkčnost spermií, přeměňuje cholesterol na méně škodlivé deriváty

Upraveno dle: Fairweather-Tait et al. (2010), Qazi (2018)

Tabulka 2 Skupina selenoproteinů-Thioredoxin reduktázy

Název	Lokalizace	Funkce (účinek)
Thioredoxin reduktáza 1 (TR1)	Velmi rozšířený (mezibuněčný prostor)	Regulace intracelulárního thioredoxinu, buněčná signalizace
Thioredoxin reduktáza 2 (TR2)	Mitochondrie	Regulace intracelulárního thioredoxinu
Thioredoxin reduktáza 3 (TR3)	Varlata	Regulace intracelulárního thioredoxinu

Upraveno dle: Fairweather-Tait et al. (2010), Qazi (2018)

Tabulka 3 Skupina selenoproteinů-Jodthyronin dejodázy

Název	Lokalizace	Funkce (účinek)
Jodthyronin- 5' dejodáza, typ I (DIO-1)	Játra, ledviny, štítná žláza, hnědá tuková tkáň	Aktivace hormonů štítné žlázy
Jodthyronin- 5' dejodáza, typ II (DIO-2)	CNS, štítná žláza, hnědá tuková tkáň, kosterní svalstvo	Aktivace hormonů štítné žlázy
Jodthyronin- 5' dejodáza- 3, typ III (DIO-3)	Plod, placenta, CNS	Inaktivace hormonů štítné žlázy

Upraveno dle: Fairweather-Tait et al. (2010), Qazi (2018)

Tabulka 4 Skupina selenoproteinů-Selenoproteiny

Název	Lokalizace	Funkce (účinek)
Selenoprotein P (SelP)	Plazma, většina tkání, mozek, játra	Transport a homeostáza selenu, antioxidant, snížení lipidových hydroperoxidů
Selenoprotein W (SelW)	Většina tkání, mozek (velké množství) srdce, kosterní svalovina, střevo, prostata	Metabolismu kosterní a srdeční svaloviny, antioxidant
Selenoprotein S (SelS)	Většina tkání, endoplasmatické retikulum	Není úplně jasná, pravděpodobně má funkci při vývoji a ve svalech
Selenoprotein K (SelK)	Membránový protein, endoplasmatické retikulum	Zánětlivá odpověď, odstranění poškozených proteinů z ER
Selenoprotein R (SelR)	Cytosol	Metabolismus methioninu, antioxidant
Selenoprotein H (SelH)	Většina tkání (jádro)	Protein, který váže DNA, regulace genů syntézy glutathionu, detoxikace fáze II
Selenoprotein I (SelI)	Neznámá	Neznámá

Pokračování tabulky 4

Název	Lokalizace	Funkce (účinek)
Selenoprotein M (SelM)	Endoplazmatické retikulum	Antioxidant, syntéza bílkovin v endoplazmatickém retikulu
Selenoprotein O (SelO)	Neznámá	Neznámá
Selenoprotein T (SelT)	Neznámá	Neznámá
Selenoprotein V (SelV)	Varlata	Neznámá
15 kD selenoprotein (Sel15)	Endoplazmatické retikulum	Thioredoxin má roli v proteinové odpovědi
Selenofosfát syntetáza 2 (SPS-2)	Neznámá	Biosyntéza selenoproteinů

Upraveno dle: Fairweather-Tait et al. (2010), Qazi (2018)

2.5 Funkce selenu

V tabulkách 1–4 jsou popsány významné funkce selenoproteinů. Z uvedených údajů je zřejmé, že je selen v podobě selenoproteinů rozšířen ve všech buňkách, tkáních a orgánech. Množství a typ selenoproteinů v jednotlivých buňkách (tkáních, orgánech) je závislé na jejich metabolické aktivitě a jejich typu metabolismu. Významnou roli hrají selenoproteiny v antioxidačním systému, a to zejména prostřednictvím glutathion peroxidáz (Gpx). GPx 1 představuje u savců nejvíce zastoupený selenoprotein (Lubos *et al.*, 2011).

Dále se selen podílí prostřednictvím jodthyronin deiodáz na aktivaci a inhibici tyreoidálních hormonů (Larsen *et Zavacki*, 2012). Pro správnou funkci štítné žlázy není tedy nezbytná pouze dostatečná saturace organismu jodem, nýbrž také selenem (Drutel *et al.*, 2013). Štítná žláza je dokonce jeden z orgánů, který je preferován z hlediska zásobení selenem při jeho deficitu (Guillin, 2019).

Selenoproteiny jsou také potřebné pro udržení optimální reprodukce. Tuto skutečnost lze demonstrovat přítomností GPx 4 ve spermiích. GPx 4 je zásadní pro fertilitu a maturaci spermií (Schneider *et al.*, 2009). Další ze selenoproteinů, který zasahuje do vývoje spermií, je selenoprotein P (Olson *et al.*, 2005).

Řadou studií byl prokázán vztah selenu k imunitnímu systému a různým nádorovým onemocněním. Selen zasahuje do imunitního systému jak na úrovni nespecifické, tak specifické imunity. Studie dokládají působení selenu na fagocytární aktivitu makrofágů a jejich migraci, aktivitu NK buněk, regulaci exprese alfa a beta řetězce interleukinu 2, diferenciaci T lymfocytů v různé fenotypy a cytotoxickou aktivitu CD8⁺ lymfocytů (McKenzie *et al.*, 2002; Hoffmann *et al.*, 2010; Huang *et al.*, 2012).

V případě nádorových onemocnění selen dle Kvasničkové (1998) působí na čtyřech stupních: ochrana před ROS, omezení reprodukce karcinogenních virů, omezení proliferace nádorových buněk a snižuje také mutagenicitu karcinogenů.

2.6 Potřeba selenu

Pro optimální syntézu selenoproteinů je nezbytná dostatečná zásoba tohoto mikroelementu v organismu. Potřeba selenu je závislá jednak na druhu, jednak na kategorii zvířat. Doporučená dávka selenu pro králíky je 0,15 mg Se/kg sušiny

(Xiccato, 1996; Mateos *et al.*, 2010) však uvádí o něco nižší hodnoty, a to 0,08 mg Se/kg.

Dávky selenu, které převyšují doporučené koncentrace a jsou nižší, nežli maximální tolerována dávka, jsou označovány jako supranutriční (Hall, 2013). U těchto dávek byly prokázány jak pozitivní, tak negativní účinky (Zachariah *et al.*, 2014; Hall, 2013; Racourt *et Cheng*, 2013; Wang *et al.*, 2014). Jako minimální toxickou dávku NRC (1983) uvádí 1,5 mg/ kg živé hmotnosti.

2.7 Nadbytek a nedostatek selenu

Otrava selenem, neboli tzv. selenoza, je charakteristická hlavně silným, po česneku zapáchajícím dechem (Glover JR, 1970, Barceloux DG, 1999). Mechanismus toxicity selenu není zcela jasný. Často však souvisí s interakcí Se a intracelulárními sulfhydrylovými sloučeninami (Turan *et al.*, 1997).

U zvířat může mít intoxikace selenem dvě formy:

1) Akutní

Při této formě dochází k jednorázovému pozření velké dávky selenu. Příznaky se projevují během několika málo minut nebo maximálně do několika hodin (Whanger *et al.*, 1996). Mezi nejzávažnější příznaky patří hypertenze nebo tachykardie (ATSDR, 2003).

2) Chronická

Zde se jedná o mnohonásobné pozření menších dávek selenu v delších časových intervalech. Příznaky se projevují v řádu dnů, někdy i během delší doby (Whanger *et al.*, 1996). Příznaky této formy jsou zvracení, průjem, kožní léze, hyperreflexe, bolest končetin a snížené kognitivní funkce (Yang *et al.*, 1983)

2.8 Nedostatek selenu

Nedostatek selenu se odvíjí již od jeho nízké koncentrace v půdě, tudíž následně i v rostlinách. Většina nemocí způsobených nedostatkem selenu úzce souvisí také s nedostatkem vitamínu E. Mezi tyto nemoci u hospodářských zvířat patří například hepatická fibróza, exsudativní diatéza, pankreatická fibróza, nutriční svalová dystrofie (převážně u mladých zvířat). Při deficitu selenu byla také

zaznamenána zvýšená embryonální mortalita a zadržetí lůžka (Levender, 1986; Oldfield, 1999).

U králíků se však uvádí, že tento druh zvířat je vůči nedostatku více tolerantní a větší dopad má deficit vitamínu E (Mateos *et al.*, 2010). Mc Nitt (2013) dokonce uvádí, že u králíků nebyly nikdy pozorovány symptomy deficitu selenu.

3. Materiály a metody

3.1 Experimentální podmínky

Do dvanáctidenního experimentu bylo zařazeno osmnáct sedmiměsíčních králíků plemene činčila velká. Na základě tělesné hmotnosti a pohlaví byly vytvořeny tři šestičlenné skupiny zvířat (3 samice, 3 samci): kontrolní skupina (C), experimentální 1 (E 1) a experimentální 2 (E 2).

3.1.1 Výživa pokusných zvířat

Zvířata byla krmena kompletní krmnou směsí TM-MaK1 (Mlýn Kocanda) s přidaným minerálním a vitamínovým doplňkem Aminovitan (Biofaktory Praha spol. s.r.o.) s rozdílným obsahem selenu. U kontrolní skupiny Aminovitan nebyl dotován selenem, u experimentální skupiny 1 obsahoval 0,15 mg Se/kg sušiny a u experimentální skupiny 2 4,30 mg Se/kg sušiny (tabulka č. 5).

Krmná směs TM-MaK1 (Mlýn Kocanda) byla složena z ovsa, pšenice, ječmene, vojtěškových úsušků, pšeničných klíčků, pšeničných otrub a sušeného odstředěné mléka. Obsah Se ve složkách krmné směsi byl 0,17 mg/kg sušiny. Krmivo i vodu zvířata přijímala ad libitně.

Tabulka 5 Složení premixů Aminovitan

Komponenty premixu	Měrná jednotka	Skupina C	Skupina E1	Skupina E2
Vitamín A 1000	m.j.	1200000,0	1 200 000,0	1 200 000,0
Vitamín D3	m.j.	200 000,0	200 000,0	200 000,0
Vitamín E	mg	5 000,0	5 000,0	5 000,0
Vitamín K3	mg	200,0	200,0	200,0
Vitamín B1	mg	300,0	300,0	300,0
Vitamín B2	mg	700,0	700,0	700,0
Vitamín B6	mg	400,0	400,0	400,0
Vitamín B12	mg	2,0	2,0	2,0
Niacinamid	mg	5 000,0	5 000,0	5 000,0
Pantothenan Ca	mg	2 000,0	2 000,0	2 000,0
Biotin	mg	20,0	20,0	20,0
Kys. listová	mg	170,0	170,0	170,0
Cholinchlorid	mg	60000,0	60000,0	60000,0
L-lysin mohohydrochlorid	g	20,0	20,0	20,0
DL-methionin	g	100,0	100,0	100,0
Seleničitan sodný (Se)	mg	0	15,0	430,0
Síran měďnatý pentahydrát	mg	2000,0	2000,0	2000,0
Síran železnatý monohydrát	mg	5000,0	5000,0	5000,0
Jodičnan vápenatý bezvodný (I)	mg	120,0	120,0	120,0
Oxid manganatý (Mn)	mg	4700,0	4700,0	4700,0
Oxid zinečnatý (Zn)	mg	5000,0	5000,0	5000,0
Bis/uhličitan/tris/ hydroxid/kobaltnatý/ mono-hydrát (Co)	mg	100,0	100,0	100,0
Butylhydroxytoluen	mg	1500,0	1500,0	1500,0
Ethoxychin	mg	1111,1	1111,1	1111,1
Butylhydroxyanisol	mg	200,0	200,0	200,0
Salinomycinát sodný	mg	2250,0	2250,0	2250,0

3.1.2 Odběr krve a zjišťování živé hmotnosti

Odběr vzorků krve probíhal vždy mezi 9-10 h a to 0., 4., 8. a 12. týden experimentu. Krev byla získávána z *vena auricularis*. Po ukončení odběru krve byla u každého jedince zjišťována tělesná hmotnost.

3.2 Metody zpracování vzorků krve

3.2.1 Stanovení koncentrace selenu v krevním séru a vybraných orgánech králíků

V krevním séru byla koncentrace Se stanovena spektrofluorometricky (Kvíčala *et al.*, 1995) v Endokrinologickém ústavu v Praze ($\mu\text{g/l}$). Koncentrace selenu v ledvinách, játrech a kosterním svalu byla stanovena hydridovou technikou atomové absorpční spektrofotometrie (HG AAS) ve Veterinární a farmaceutické univerzitě v Brně (PECHOVÁ *et al.*, 2005).

3.2.2 Stanovení hematologických parametrů

Koncentrace hemoglobinu a hodnoty hematokritu byly stanoveny na automatickém hematologickém analyzátoru ALVET 2000 (DIALAB spol. s r.o.). Obsah hemoglobinu je udáván v g/l krve, hematokritová hodnota (podíl erytrocytů z celkového obsahu krve) v l/l.

3.2.3 Stanovení metabolických parametrů

Obsah celkových bílkovin (CB), močoviny, cholesterolu a aktivity 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, močoviny a cholesterolu v mmol/l a aktivita enzymu GMT se vyjadřuje v $\mu\text{kat/l}$ krevní plazmy.

3.3 Histologické zpracování vzorků

3.3.1 Odběr a zpracování vzorků tkání

Po uplynutí doby experimentu byli králíci zváženi, dle legislativy usmrceni a provedena pitva. Játra a ledviny byly po vyjmutí z dutiny břišní zváženy a následně vloženy podobně jako vzorek kosterní svalové tkáně z pažního svalu do nádoby naplněné s pufrovaným 10% formalínem. Ze zjištěné hmotnosti orgánů byla vypočítána jejich relativní hmotnost (hmotnost orgánu/ hmotnost zvířete před pitvou (g/kg))

3.3.2 Histologické zpracování vzorků a barvení

Po dostatečném profixování byly vzorky vyjmuty z fixační tekutiny, přikrojeny a vloženy do kazet. Poté byly kazety promyty v destilované vodě a vloženy do přístroje autotechnikon AT4, kde došlo k odvodnění tkáně a prosycení parafinem (70% alkohol – 2.5 hod., 80% alkohol – 2.5 hod., 4 × 96% alkohol – po 3 hod., aceton – 1 hod., směs acetonu a xylenu (1 : 1) – 20 min., parafin – 3 hod., parafin – 2,5 hod.). Prosycené vzorky byly zality do parafinových bloků, schlazeny a sáňkovým mikrotomem (Reichert) proběhlo nařezání řezů o síle 5 μm . Získané řezy byly napnuty na vodní lázni a přilepeny na podložní skla. Podložní skla s přilepenými řezy, byla přes noc inkubována v termostatu při teplotě 37 °C a druhý den barvena hematoxylin eosinem následujícím postupem:

- 1) Odparafinování a zavodnění řezů (3x xylen – 5 min., 2x 96 % -alkohol – 5 min., 70% alkohol – 5 min.).
- 2) Vyprání ve vodovodní vodě a oplach destilovanou vodou.
- 3) Inkubace hematoxylinem dle Kod'ouska – 7 min.
- 4) Alkalizace vodovodní vodou – 8 min. (3 min. teplá voda, 5 min. studená).
- 5) Oplach destilovanou vodou a inkubace eozinem (ve vodě rozpustný 0.1 %) – 5 min.
- 6) Odvodnění vzestupnou řadou alkoholu (alkohol 80 % – 1 min., alkohol 96 % – dvě lázně po 1 min.)
- 7) Projasnění (Aceton – dvě lázně po 1 min., aceton : xylen (1 : 1) po 1 min., xylen – 2 lázně po 1 min.
- 8) Zamontování do kanadského balzámu.

K posouzení histologických preparátů byl použit mikroskop Leica DM 2500 (Leica Microsystems).

3.4 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 $P < 0,05$.

4. Výsledky a diskuze

Selen je esenciální stopový prvek ve výživě zvířat (Johnson *et al.*, 2000). Vzhledem ke skutečnosti, že v České republice je přirozený obsah selenu na velmi nízké úrovni, přičemž by nepokryl požadavky jednotlivých kategorií a věkových skupin zvířat, musí se tedy tento mikroelement do krmiva (krmných směsí) přidávat.

Podobně jako u dalších mikroelementů hrozí i u selenu při neuvážené či chybné suplementaci zvířat intoxikace. Na druhou stranu byl prokázán pozitivní vliv supranutričních dávek. Whanger *et al.* (1996) uvádí jako bezpečnou dávku Se pro králíky 15 µg/kg živé hmotnosti na den. V provedeném pokusu byl experimentálním skupinám podáván selen v anorganické formě jako seleničitan sodný v dávkách 0,15 (E1) a 4,3 mg/kg sušiny (E2). V případě dávky u experimentální skupiny E2 se již jednalo o supranutriční dávku.

4.1 Hmotnost pokusných králíků a vybraných orgánů králíků

V tabulce 1 je uvedeno porovnání hmotnosti králíků kontrolní skupiny (C) s hmotnostmi králíků pokusných skupin E1 a E2. Vzhledem k tomu, že se jednalo o zvířata ve věku 7 měsíců s průměrnou hmotností od 3,87 do 4,12 kg na začátku pokusu, došlo během 3 měsíců experimentu k zvýšení hmotnosti pouze o 43 g až 71 g. Nejméně u skupiny králíků E1 (o 11 %), nejvíce u skupiny E2 (o 17,2 %).

Rozdíly v průměrných hmotnostech na začátku i na konci pokusu nebyly mezi skupinami statisticky významné. Vliv doplňkového příjmu selenu v našem pokusu tak statisticky významně neovlivnil hmotnost králíků. Výsledky jsou v souladu s autory Turan *et al.* (1997), Muller *et al.* (2002), Barnes *et al.* (2009) a Konečný (2012), kteří rovněž neprokázali u skupin králíků s odlišnou suplementací selenem statisticky významný rozdíl v tělesné hmotnosti. V porovnání s hmotnostmi králíků plemene činčila velká ve stejném věku (7 měsíců), vycházející z růstové křivky tohoto plemene (KLUBCV, 2020), byly hmotnosti králíků v našem pokusu lehce nadprůměrné.

Tabulka 6 Tělesná hmotnost pokusných králíků na začátku a na konci experimentu

Skupina	n	Hmotnost		
		Začátek pokusu (Kg)	Konec pokusu (Kg)	Konec pokusu* (%)
C (0 mg Se)	6	3,87±0,21	4,41±0,73	113,90
E1 (0,15 mg Se)	6	4,29±0,16	4,76±0,62	111,00
E2 (4,30 mg Se)	6	4,12±0,33	4,83±0,70	117,20

N – počet jedinců ve skupině, * hmotnost na konci pokusu : hmotnost na začátku pokusu x 100 = %

Hmotnost vybraných orgánů králíků po ukončení pokusu a po porážce králíků (3 měsíce od začátku experimentu) je uveden v tabulce 2. Určitou závislost ve vztahu k příjmu selenu je možné sledovat v případě jater. Skupiny s vyšším obsahem selenu v krmivu (E1 a E2) vykazovaly úměrně vyšší průměrnou hmotnost jater vyjádřenou v gramech i jejich relativní hmotnost (podíl hmotnosti jater z celkové porážkové hmotnosti zvířete vyjádřeno v %). Průměrná hmotnost jater skupiny králíků E1 byla o 5,2 g ve srovnání s kontrolní skupinou C vyšší, průměrná hmotnost jater skupiny E2 byl vyšší již o 42,3 g. Obdobné rozdíly byly i u relativní hmotnosti jater (skupina C 2,41 %, skupina E2 3,30 %). Obdobnou závislost ve vztahu k obsahu Se v krmivu však nevykazovala absolutní ani relativní hmotnosti ledvin.

Tabulka 7 Hmotnost vybraných orgánů pokusných králíků na konci experimentu

Orgán	n	Játra		Ledviny	
		g	%*	g	%*
C (0 mg Se)	6	106,3±10,6	2,41	21,83±1,10	0,49
E1 (0,15 mg Se)	6	111,5±16,5	2,44	26,08±5,87	0,54
E2 (4,30 mg Se)	6	159,5±55,3	3,30	21,32±2,79	0,44

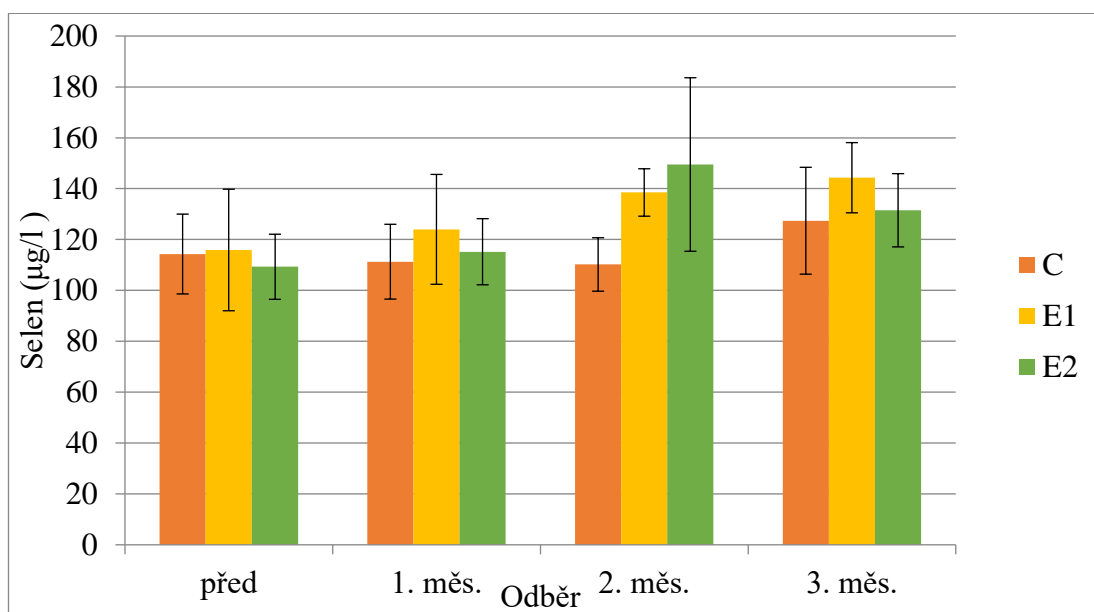
Hmotnost jater: hmotnost králíka na konci pokusu x 100 = %

4.2 Obsah selenu v krevním séru a vybraných orgánech pokusných králíků

Syvyk *et al.* (2018) v experimentu s různou suplementací králíků selenem pozorovali se zvyšující se dávkou selenu zvyšující se koncentraci tohoto prvku v krvi. Podobně i Zhang *et al.* (2011) zjistil signifikantní zvýšení koncentrace selenu v krevním séru v závislosti na jeho obsahu v krmivu. Naše výsledky rovněž potvrzují vztah mezi dávkou selenu v krmivu a jeho obsahem v krevním séru (Graf 1).

U skupiny E2 s vyšší suplementací selenu do krmiva byl nejvyšší nárůst selenu v krevním séru (ve srovnání s obdobím před pokusem) ve 2. měsíci experimentu, a to $40,2 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (36,8 %). U skupiny E1 s doplňkem pouze 0,15 mg Se v kg sušiny krmiva byl nejvyšší obsah v krevním séru zaznamenán až ve 3. měsíci pokusu – $28,4 \mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$ (24,5 %). V grafu 1 je také patrný u skupiny E2 pokles koncentrace selenu v krevním séru po 2. měsíci experimentu. Pozorovaný pokles lze vysvětlit sníženým vstřebáváním nebo jeho ukládáním do tkání případně jeho vyšší exkrecí v souvislosti s jeho výrazným nadbytkem.

Graf 1 Obsah selenu v krevním séru králíků ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)



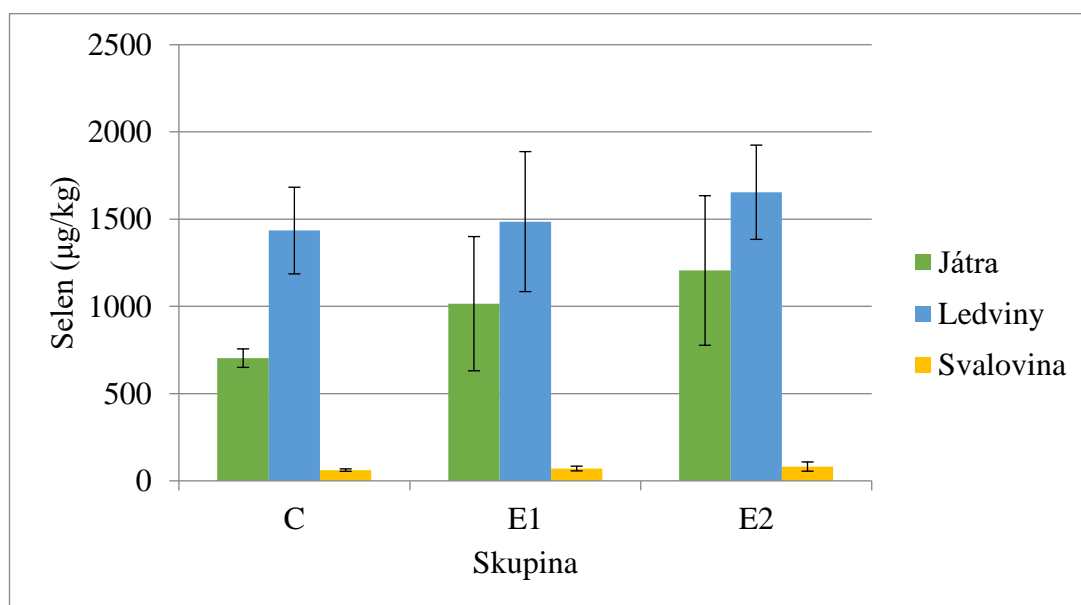
C- kontrolní skupina (0 mg Se), E1 experimentální skupina (0,15 mg Se) 1, E2 – experimentální skupina 2 (4,30 mg Se)

V grafu 2 je znázorněn obsah selenu ve tkáni jater, ledvin a svaloviny. Nejvíce selenu u všech skupin, bez ohledu na jeho obsah v krmivu, respektive jeho suplementaci, byl v ledvinách. Následují játra, přičemž nejméně selenu bylo ve

svalovině. Například ve skupině C (bez suplementace selenu) bylo ve tkáni ledvin 2,0 krát více selenu než v játrech a 23,3 krát více než ve svalovině a ve skupině E2 1,4 více než v játrech a 20,2 krát více než ve svalovině. Ve všech třech tkáních je zjevný nárůst obsahu selenu v souvislosti s jeho příjmem. Podobné výsledky také publikovali autoři Grotto *et al.* (2018) u potkanů, kteří přijímali seleničitan sodný v dávce 2 a 6 mg/l.

Studiem koncentrací selenu v játrech králíků se také zabývala Dokoupilová *et al.* (2007), kde k suplementaci králíků použili selenem obohacené kvasnice v dávce 0,50 mg Se/kg krmiva. I v případě této formy selenu autoři zaznamenali zvýšení obsahu selenu v játrech, a to na $1\,414 \pm 48 \mu\text{g Se/kg}$. Při porovnání obsahu selenu v játrech králíků suplementovaných nejvyšší dávkou selenu (4,30 mg Se/kg sušiny) s výsledky Dokoupilová *et al.* (2007) je zřejmé nižší uplatnění anorganické formy selenu.

Graf 2 Obsah selenu ve vybraných orgánech králíků ($\mu\text{g/kg}$)



C- kontrolní skupina (0 mg Se), E1 experimentální skupina (0,15 mg Se) 1, E2 – experimentální skupina 2 (4,30 mg Se)

Z grafu 2 a tabulky 3 lze také odvodit vliv úrovně obsahu selenu v krmivu na jeho saturaci ve tkáních. Zvýšený příjem selenu se nejvíce projevil nárůstem jeho koncentrace v játrech: obsah Se u skupiny E1 byl ve srovnání se skupinou C o 44,7 % vyšší a u skupiny E2 o 79,0 % vyšší. Naopak nejnižší vliv suplementace selenu na

jeho koncentraci ve tkáni byl u ledvin (pouze 3,6 % u skupiny E1 a 15,3 % u skupiny E2).

Tabulka 8 Vliv obsahu selenu v krmivu na jeho saturaci v krevním séru a vybraných orgánech

Skupina	C	E1 (%)	E2 (%)
Tkáň / orgán	($\mu\text{g/l}$, $\mu\text{g/kg}$)	($\text{E1} : \text{C} \cdot 100 = \%$)	($\text{E2} : \text{C} \cdot 100 = \%$)
Krevní sérum			
2. měs. experimentu	110,20	125,70	135,70
Krevní sérum			
3. měs. experimentu	117,80	122,50	111,60
Játra			
3. měs. experimentu	703,30	144,70	179,00
Ledviny			
3. měs. experimentu	1434,80	103,60	115,30
Svalovina			
3. měs. experimentu	61,50	115,10	133,20

C- kontrolní skupina (0 mg Se), E1 experimentální skupina 1 (0,15 mg Se), E2 – experimentální skupina 2 (4,30 mg Se)

4.3 Vliv suplementace selenu na vybrané krevní ukazatele

Vliv různé úrovně selenu v krmné dávce králíků byl hodnocen i ve vztahu k vybraným krevním ukazatelům. Z hematologických ukazatelů byl vyhodnocen vliv selenu na obsah hemoglobinu a na hodnotu hematokritu. Z biochemických parametrů byly vybrány: obsah plazmatických bílkovin, močoviny, cholesterolu a aktivita gama glutamyltransferázy.

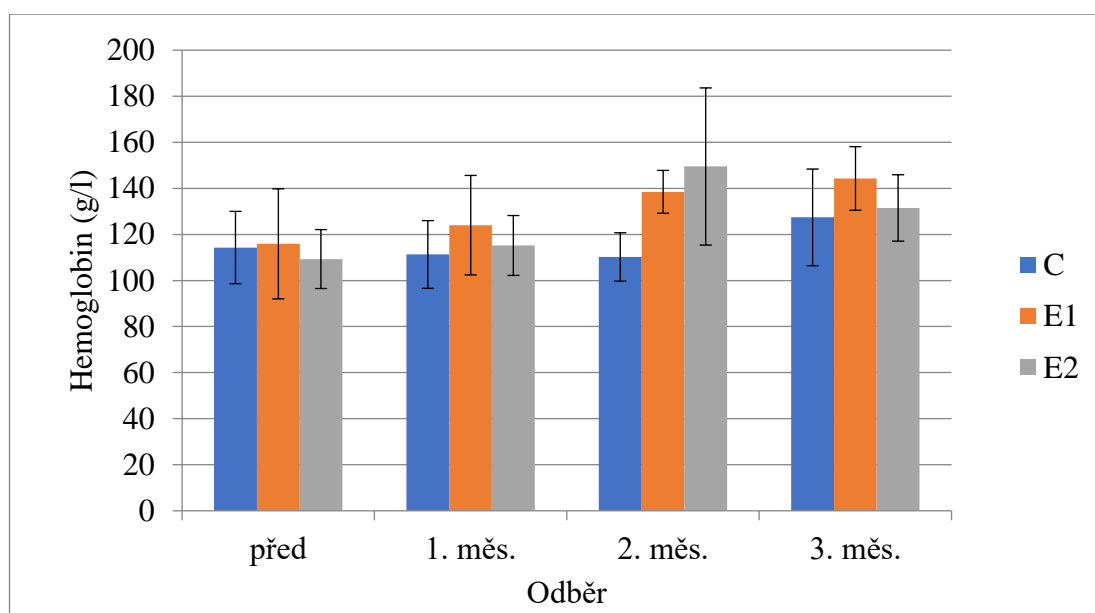
4.3.1 Vliv suplementace selenu na obsah hemoglobinu a hematokrit

Vliv různé suplementace selenu na obsah hemoglobinu (Hb) je uveden v grafu 3. Před zahájením pokusu byl mezi skupinami statisticky nevýznamný rozdíl, který dosahoval 6,6 %. Rozdíl v obsahu Hb se mezi skupinami udržel téměř po celou dobu pokusu. Nejvyšší byl ve 2. měsíci experimentu (15,47 %), kde byl však statisticky nevýznamný. Z uvedených hodnot a dynamiky obsahu Hb nelze vyvodit takový závěr, ve kterém by příjem Se v rozmezí užitém v našem pokusu ovlivnil obsah hemoglobinu v krvi. Hodnoty hemoglobinu (Hb) u všech skupin po dobu

celého pokusu odpovídaly údajům Olayemi *et al.* (2007), který pro dospělé králíky plemene novozélandský bílý udává hodnotu $119,8 \pm 1,33$ g/l.

Obdobné hodnoty ($119,50 \pm 0,66$ g/l) uvádí také Chodová *et al.* (2017) pro sedmdesátidenní králíky brojlerového typu hyplus. Vyšší koncentrace Hb ($138-146$ g/l) uvádí bez ohledu na plemennou příslušnost králíků například (Jelínek, Koudela *et al.* 2003).

Graf 3 Obsah hemoglobinu (g/l)



Průměrné hodnoty hematokritu (Hk) se pohybovaly u všech skupin v průběhu celého pokusu v rozmezí 0,37 do 0,41 l/l. Na konci pokusu (3. měsíc) byly hodnoty Hk téměř shodné: skupina C $0,39 \pm 0,03$, skupina E1 $0,40 \pm 0,03$ a skupina E2 $0,39 \pm 0,03$ l/l.

Z výsledků obsahu hemoglobinu a hodnot hematokritu vyplývá, že u žádné ze skupin nedošlo ke snížení krevetvorby nebo narušení syntézy hemoglobinu. Nebyly zjištěny žádné formy anemií. Získané výsledky odpovídají údajům publikovaných Turan *et al.* (1997), kteří rovněž nepozorovali signifikantní změny v uvedených hematologických parametrech u králíků suplementovaných různými dávkami selenu.

4.3.2 Vliv suplementace selenu na obsah celkových bílkovin a močoviny v krevní plazmě

V tabulce 4 jsou uvedeny koncentrace celkových bílkovin (celkový obsah proteinů) a močoviny v krevní plazmě. Kromě imunoglobulinů jsou téměř všechny bílkoviny obsažené v krevní plazmě syntetizovány v játrech. Na začátku i na konci pokusu nebyly mezi skupinami významné rozdíly v obsahu celkových bílkovin (CB).

Před pokusem byl největší rozdíl mezi skupinami 1,7 %, na konci pokusu to bylo 5,1 %. U všech skupin byl v průběhu pokusu zaznamenán mírný vzestup koncentrace CB, u skupiny C 11,5, u skupiny E2 7,9 g/l. Z výsledků nelze vyvodit jednoznačný závěr, že nestejný příjem selenu ovlivnil syntézu bílkovin v játrech a tím i obsah bílkovin v krevní plazmě. Ve srovnání s literárními údaji, jsou výsledky obsahu CB v plazmě blízké údajům Olayemi *et al.* (2007), který pro dospělé králíky uvádí hodnotu $58,3 \pm 5,50$ g/litr. Nižší hodnoty ($50,70 \pm 4,24$ g/l uvádí pro králíky ve věku 70 dní Chodová *et al.* (2017).

Obsah močoviny v rozmezí uváděném v tabulce 4 odpovídá údajům Chodové *et al.* (2017), která zjistila u králíků ve věku 60–70 dní obsah močoviny v rozmezí 6,90–7,46 (mmol/l). Močovina se syntetizuje v játrech a změny jejího obsahu v krevní plazmě od fyziologického rozmezí vesměs souvisí s narušením syntetických procesů v játrech, se zvýšeným katabolizmem bílkovin nebo nutričními nedostatky (Jelínek *et Koudela*, 2003). Z našich výsledků vyplývá, že nestejný příjem selenu neovlivnil negativně činnost jater spojenou s metabolismem bílkovin. Získané výsledky odpovídají i údajům publikovaných Turan *et al.* (1997).

Tabulka 9 Vliv suplementace selenu na obsah celkových bílkovin a močoviny v krevní plazmě

Skupina	n	Celkové bílkoviny (g/l)		Močovina (mmol/l)	
		Před pokusem	3. měsíc pokusu	Před pokusem	3. měsíc pokusu
C	6	60,93±1,55	67,93±6,84	6,43±0,60	6,84±0,46
E1	6	60,33±5,36	65,65±6,90	6,95±1,32	7,60±1,16
E2	6	59,93±1,46	64,66±2,69	6,55±0,40	7,35±1,39

4.3.3 Vliv suplementace selenu na aktivitu gama glutamyltransferázy a obsah cholesterolu v krevní plazmě

Enzym gama glutamyltransferáza (GMT) patří mezi tkáňové enzymy s významnou vazbou na jaterní tkáň. Její zvýšení je vázáno na onemocnění jater. Hodnoty aktivity by neměly přesahovat 1,0 μ kat/l, pro většinu hospodářských zvířat se udávají v rozmezí 0,1–0,6 μ kat/l (Jelínek *et* Koudela, 2003).

Tabulka 10 Vliv suplementace selenu na aktivitu gama glutamyltransferázy (GMT) a obsah cholesterolu v krevní plazmě a močoviny v krevní plazmě

Skupina	n	GMT (μ kat/l)		Cholesterol (mmol/l)	
		Před pokusem	3. měsíc pokusu	Před pokusem	3. měsíc pokusu
C	6	0,09 \pm 0,02	0,05 \pm 0,03	0,56 \pm 0,34	1,64 \pm 0,62
E1	6	0,09 \pm 0,01	0,06 \pm 0,03	0,64 \pm 0,29	1,30 \pm 0,26
E2	6	0,05 \pm 0,02	0,04 \pm 0,02	0,70 \pm 0,20	1,43 \pm 0,47

Obsah cholesterolu je ovlivněn zejména syntézou v játrech (esterifikovaný cholesterol) nebo jeho příjmem, což je s příjmem tuků krmnou dávkou. U všech třech skupin byly koncentrace cholesterolu před pokusem nižší, než uvádí například Chodová *et al.* (2017) pro králíky ve věku 70 dní (1,30 \pm 0,49 mmol/l). Na konci pokusu se shodují s údaji uvedených autorů.

Vzestup obsahu cholesterolu v průběhu 3 měsíčního pokusu souvisí s nutričními změnami v průběhu experimentu. Z aktivity pro játra specifického enzymu GMT a obsahu cholesterolu v krevní plazmě nelze, obdobně jako v případě předcházejících krevních ukazatelů, vyvozovat výrazný vliv suplementace selenu v dávkách 0,15 a 4,3 mg/kg sušiny krmiva na metabolismus králíků. Získané výsledky nejsou však úplně ve shodě s Turan *et al.* (1997), kteří u skupiny králíků suplementovaných 4,2 mg Se/kg krmiva jako seleničitan sodný zaznamenali oproti kontrolní skupině zvýšenou aktivitu GMT a koncentrace cholesterolu. Na druhou stranu He *et al.* (2014) u potkanů přijímajících selen v podobě nanočásti v dávce 0,2; 0,4; 0,8; 2, 4, 8 mg /kg zaznamenali zvýšení koncentrace cholesterolu pouze u skupiny zvířat s nejvyšší dávkou.

4.4 Histopatologické vyšetření

Jak deficit selenu, tak i jeho nadbytek vedou k poškození různých orgánů na odlišné úrovni. Předpokládá se, a řada studií to také dokládá, že mechanismus poškození orgánů a tkání je založen na narušení aktivity antioxidantních enzymů (např. GSHpx) a také na tvorbě volných kyslíkových radikálů, které poškozují buněčné membrány a narušují buněčný metabolismus (Spallholz, 1997; Turan *et al.*, 1997; Mezes *et al.* Balogh 2009; Garousi *et al.* Farzaneh 2015).

Vzhledem k jisté orgánové hierarchii zásobení orgánů selenem a různé intenzitě a úrovni metabolismu buněk jsou některé orgány primárně zasaženy při obou nefyziologických stavech (Surai, 2006). V předložené práci byl studován dopad nízké a vysoké suplementace selenu na histologickou stavbu jater, ledvin a kosterního svalu. Turan *et al.* (1997) popisuje v játrech králíků s deficitním příjmem selenu dilataci jaterních sinů, kongesci, ložiska vakuolární degenerace hepatocytů a leukocytární infiltraci periportální oblasti. Podobné změny autoři zaznamenali také u skupiny králíků s vysokým příjmem selenu (4,2 mg Se/kg krmiva), avšak s výraznější leukocytární infiltrací.

V našem případě jsme zjistili histopatologické změny v játrech pouze u jednoho jedince (1/6) ze skupiny E2 s vysokým příjmem selenu (4,3 mg Se/kg krmiva), konkrétně výraznou hydropickou dystrofii hepatocytů. Zajímavé je, že oproti Turan *et al.* (1997) byla u králíků skupiny E2 analyzována vyšší koncentrace selenu v krevním seru, a to o 31, 1 $\mu\text{g/l}$. Rozdíl mezi naším zjištěním a Turan *et al.* (1997) lze připsat rozdílné délce experimentu a také odlišnému plemeni králíků. Experiment Turan *et al.* (1997) probíhal 15 týdnů na plemeni novozélandský bílý. Autoři však popisují obdobné změny i v játrech potkanů (Turan *et al.*, 2001).

Dopad vysokých dávek selenu na histologickou stavbu jater potkanů studovali i Šlencu *et al.* (2013), kteří u skupiny s výrazně vysokým příjmem selenu (3 mg Se/ kg tělesné hmotnosti) zjistili rovněž hydropickou dystrofii hepatocytů, avšak u 100 % jedinců. Šlencu *et al.* (2013) se dále zabývali histopatologickými změnami v ledvinách, ve kterých zaznamenali hydropickou degeneraci, kongesci a vaskulární ektasii. Při porovnání koncentrací selenu v játrech a ledvinách (Graf 2) je zřejmé, že v ledvinách byly detekovány vyšší koncentrace selenu, což může odrážet skutečnost, že ledviny jsou hlavní exkretční orgán tohoto mikroelementu Grotto *et al.* (2018)

Za situace dlouhodobého zvýšeného metabolismu lze předpokládat, že dojde k vyčerpání homeostatických mechanismů, které vyústí v poškození buněk ledvin. Grotto (2018) popisují u myší suplementovaných selenem v dávce 1mg/kg tělesné hmotnosti u 60 % jedinců parenchymatozní degeneraci renálních tubulů. V našem experimentu jsme zaznamenali histopatologické změny u tří jedinců (50 %) ze skupiny E2 s vysokým příjmem selenu, a to ve dvou případech (33 %) ojedinělé drobné lymfocytární infiltráty v intersticiu a v jednom případě (17 %) iniciální fázi glomerulonefrosy. Glomerulonefrosu popisují také He *et al.* (2014) u potkanů přijímajících selen v podobě nanočásti v dávce 8 mg/kg tělesné hmotnosti. V případě kosterního svalu, bez rozdílu skupin nebyly ani u jednoho jedince shledány histopatologické změny.

5. Závěr

Z výsledků práce vyplývají tyto závěry:

- Suplementace různých dávek selenu neovlivnila tělesnou hmotnost králíků.
- V případě změn hmotnosti vybraných orgánů byl zaznamenán větší nárůst hmotnosti pouze u jater (u skupiny E1 o 5,2 g a u skupiny E2 o 42,3 g).
- Vliv suplementace selenu jsme však zaznamenali u krevního séra. U skupiny E1 byl zaznamenán nejvyšší nárůst ve 3. měsíci pokusu o 24,5 % a u skupiny E2 v 2. měsíci pokusu a to o 3,8 %. Poté začal obsah klesat, což je možné vysvětlit nižším vstřebáváním, ukládáním do tkání nebo vyšší exkrecí Se.
- U orgánů byl nejvyšší obsah Se zaznamenán u ledvin, dále u jater a nejnižší obsah Se u svaloviny. U skupiny C byl obsah Se v ledvinách 23,3krát vyšší než u svaloviny.
- Supranutriční dávky selenu neměly zásadní vliv na hematologické ani biochemické parametry.
- Supranutriční dávka anorganické formy selenu nevedla k histopatologickým změnám jater, ledvin a kosterního svalu.

6. Seznam tabulek

Tabulka 1 Skupina selenoproteinů-Glutathion peroxidázy	15
Tabulka 2 Skupina selenoproteinů-Thiredoxin reduktázy	15
Tabulka 3 Skupina selenoproteinů-Jodthyronin dejodázy	17
Tabulka 4 Skupina selenoproteinů-Selenoproteiny	18
Tabulka 5 Složení premixů Aminovitan	24
Tabulka 6 Tělesná hmotnost pokusných králíků na začátku a na konci experimentu	28
Tabulka 7 Hmotnost vybraných orgánů pokusných králíků na konci experimentu...	28
Tabulka 8 Vliv obsahu selenu v krmivu na jeho saturaci v krevním séru a vybraných orgánech	31
Tabulka 9 Vliv suplementace selenu na obsah celkových bílkovin a močoviny v krevní plazmě	33
Tabulka 10 Vliv suplementace selenu na aktivitu gama glutamyltransferázy (GMT) a obsah cholesterolu v krevní plazmě a močoviny v krevní plazmě.....	34

7. Seznam grafů

Graf 1 Obsah selenu v krevním séru králíků ($\mu\text{g}\cdot\text{l}^{-1}$)	29
Graf 2 Obsah selenu ve vybraných orgánech králíků ($\mu\text{g}/\text{kg}$)	30
Graf 3 Obsah hemoglobinu (g/l)	32

8. Seznam zkratek

CB	celkové bílkoviny
GMT	gama-glutanyl transferáza
GSH-Px	glutathion peroxidáza
H ₂ Se	selenid vodíku
Hb	hemoglobin
Hk	hematoklrit
Se	selen
SeCys	selenocystein
SeMet	selenomethionin

9. Seznam použité literatury

- 1) AGENCY FOR TOXIC SUBSTANCES AND DISEASE REGISTRY (ATSDR). (2003) Toxicological Profile for Selenium. U.S. Department of Health and Human Services, Public Health Services, Atlanta, GA.
- 2) BARCELOUX DG. (1999) Selenium. *J Toxicol Clin Toxicol* ; 37:145-172. Benešov: Start, J. Horáka 1558. 267 s. ISBN 80-86231-36-4.
- 3) BISSON, M.; GAY, G.; GUILLARD, D.; GHILLEBAERT, F.; TACK, K. (2012) *Le sélénium et ses composés*. Available online: <http://www.ineris.fr/substances/fr/substance/getDocument/3012> (accessed on 28 January 2012)
- 4) BOYD, R. (2011) Selenium stories. *Nature Chem* 3, 570.
- 5) BROADLEY MR, WHITE PJ, BRYSON RJ, ET AL. (2006) Biofortification of UK food crops with selenium. *Proc Nutr Soc.* 2006;65(2):169-181.
- 6) BURK, R. F., HILL, K. E., OLSON, G. E., WEEBER, E. J., MOTLEY, A. K., WINFREY, V. P., AUSTIN, L. M. (2007). Deletion of apolipoprotein E receptor-2 in mice lowers brain selenium and causes severe neurological dysfunction and death when a low-selenium diet is fed. *Journal of Neuroscience*, 27(23), 6207-6211.
- 7) CUBADDA F, AURELI F, CIARDULLO S, ET AL. (2010) Changes in selenium speciation associated with increasing tissue concentrations of selenium in wheat grain. *J Agric Food Chem.* 2010;58(4):2295-2301.
- 8) DALTO, D.; MATTE, J.-J. (2017), Pyridoxine (vitamin B6) and the glutathione peroxidase system; a link between one-carbon metabolism and antioxidation. *Nutrients* ,9, 189.
- 9) DOKOUPILOVÁ, A., MILAN, 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. .
- 10) DRUTEL A, ARCHAMBEAUD F, CARON P (2013) Selenium and the thyroid gland: more good news for clinicians. *Clin Endocrinol (Oxf).* 2013;78(2):155-164.

- 11) EL-RAMADY, HASSAN, DOMOKOS-SZABOLCSY, EVA, ABDALLA, NEAMA, ALSHAAL, TAREK, SHALABY, TAREK, SZTRIK, ATTILA, JOE, PROKISCH, FÁRI, MIKLÓS. (2014). Selenium and nano-selenium in agroecosystems. *Environmental Chemistry Letters*. 12. 10.1007/s10311-014-0476-0.
- 12) FAIRWEATHER-TAIT SJ. (1997) Bioavailability of selenium. *European Journal of Clinical Nutrition*. Jan;51 Suppl 1:S20-3.
- 13) FORDYCE, F. (2007). Selenium geochemistry and health. *Ambio*. 36, 94-97.
- 14) G.G. MATEOS, P.G. REBOLLAR AND C. DE BLAS (2010) Nutrition of the rabbit. *Minerals, Vitamins and Additives* 119
- 15) GAROUSI, FARZANEH. (2015). The toxicity of different selenium forms and compounds – Review. *Acta Agraria Debreceniensis*. 33-38. 10.34101/actaagrar/64/1859.
- 16) GLOVER JR. (1970) Selenium and its industrial toxicology. *Ind Med Surg* 1970;39:50-54.
- 17) GROTTO, D., CARNEIRO, M.F.H., DE CASTRO, M.M. ET AL. (2018) Long-Term Excessive Selenium Supplementation Induces Hypertension in Rats. *Biol Trace Elem Res* **182**, 70–77.
- 18) GUILLIN, O.M.; VINDRY, C.; OHLMANN, T.; CHAVATTE, L. (2019) Selenium, Selenoproteins and Viral Infection. *Nutrients* 2019, 11, 2101.
- 19) HALL, JEAN A., ET AL. (2013) "Effects of feeding selenium-enriched alfalfa hay on immunity and health of weaned beef calves." *Biological Trace Element Research* 156.1-3: 96-110.
- 20) HE, YUDAN, ET AL. "Toxicity of selenium nanoparticles in male Sprague–Dawley rats at supranutritional and nonlethal levels." *Life sciences* 115.1-2 (2014): 44-51.
- 21) HERAS, I., PALOMO, M., AND MADRID, Y. (2011). Selenoproteins: the key factor in selenium essentiality. State of the art analytical techniques for selenoprotein studies. *Anal. Bioanal. Chem.*, 400, 1717-1727.
- 22) HOFFMANN, F. W., HASHIMOTO, A. C., SHAFER, L. A., DOW, S., BERRY, M. J., HOFFMANN, P. R. (2010). Dietary selenium modulates

- activation and differentiation of CD4+ T cells in mice through a mechanism involving cellular free thiols. *The Journal of nutrition*, 140(6), 1155-1161.
- 23) HUANG Z., ROSE A.H., HOFFMANN P.R. (2012) The role of selenium in inflammation and immunity: From molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid. Redox Signal* ;16:705–743.
- 24) CHODOVÁ, D., TUMOVÁ, EVA., HÄRTLOVÁ HELENA., FUČÍKOVÁ ALENA., VOLEK ZDENĚK A VLČKOVÁ JANA. (2017). Changes of haematological and biochemical indices with age in rabbits with ad libitum and limited feed intake. *Acta Veterinaria Brno.* 86. 29-35. 10.2754/avb201786010029.
- 25) JELÍNEK, P., KOUDELA, K. (2003): Fyziologie hospodářských zvířat. Vyd. 1. Brno: Mendelova zemědělská a lesnická univerzita v Brně. 414 s. ISBN 807157-644-1.
- 26) JOHNSON, V. J., TSUNODA, M., SHARMA, R. P. (2000): Increased production of proinflammatory cytokines by murine macrophages following oral exposure to sodium selenite but not to seleno-L-methionine. *Arch Environ Contam Toxicol*, 39, 243-250
- 27) KABATA-PENDIAS E (2011) Trace elements in soils and plants, 4th edn. LLC, CRC Press/Taylor & Francis Group, Boca Raton
- 28) Klub chovatelů činčily velké [online]. [cit. 2020-06-28]. Dostupné z: <http://www.klubcv.wz.cz/>
- 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) KUMAR, SUSHIL, MIKAEL BJOERNSTEDT, AND ARNE HOLMGREN. (1992) "Selenite is a substrate for calf thymus thioredoxin reductase and thioredoxin and elicits a large non-stoichiometric oxidation of NADPH in the presence of oxygen." *European journal of biochemistry* 207.2 (1992): 435-439.
- 31) KVASNIČKOVÁ, A. (1998): Minerální látky a stopové prvky: Esenciální minerální prvky ve výživě. 1. vyd. Praha: ÚZPI Slezská 7. ISBN 80-85120-94-1.

- 32) KVÍČALA, J. (2003): Zvýšení příjmu mikronutrientu selenu-utopie, fikce, prožřetelnost či nutnost? *Interní medicína pro praxi* [online]. 6. Dostupný z WWW: <http://www.internimedicina.cz/pdfs/int/2003/06/06.pdf>.
- 33) KVÍČALA, J. (2009): Význam selenu, stav a příjem selenu u jednotlivce i populace-způsoby určování, výhody a chyby. *Diabetologie, metabolismus, endokrinologie, výživa*. 29-34.
- 34) LABUNSKYY, V. M., HATFIELD, D. L., GLADYSHEV, V. N. (2014). Selenoproteins: molecular pathways and physiological roles. *Physiological reviews*, 94(3), 739–777.
- 35) LARSEN, P. R., ZAVACKI, A. M. (2012). The role of the iodothyronine deiodinases in the physiology and pathophysiology of thyroid hormone action. *Eur. Thyroid J*, 1 (4), 232–242.
- 36) LEVANDER, O. A. (1986). Selenium. In Trace Elements in Human and Animal Nutrition (W. Mertz, Ed.), *Academic Press, London*, s. 139–197.
- 37) LOPES, GUILHERME, ÁVILA, FABRICIO, GUILHERME, LUIZ. (2017). Selenium behavior in the soil environment and its implication for human health. *Ciência e Agrotecnologia*. 41. 605-615. 10.1590/1413-70542017416000517.
- 38) LUBOS E, LOSCALZO J, HANDY DE. (2011) Glutathione peroxidase-1 in health and disease: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxidants Redox Signaling* 15: 1957–1997, 2011
- 39) M.J. BARNES, P. KREBS, N. HARRIS, C. EIDENSCHENK, R. GONZALEZ -QUINTIAL, C.N. ARNOLD, K. CROZAT, S. SOVATH, E.M. MORESCO, A.N. (2009) Theofilopoulos, et al. Commitment to the regulatory T cell lineage requires CARMA1 in the thymus but not in the periphery *PLoS Biol.*, p. e51
- 40) MANDŽUKOVÁ, J. (2005): Léčivá síla vitamínů, minerálů a dalších látek. Vyd. 1.
- 41) MCDOWELL, L. R. (2003): Minerals in animal and human nutrition. 2nd ed. Amsterdam: Elsevier. ISBN 0444513671.
- 42) MCKENZIE, RODDIE C., et al. (2002) "12 Selenium and the Immune System." *Nutrition and immune function* : 229.

- 43) MCNITT, J. I., LUKEFAHR, S. D., CHEEKE, P. R., PATTON, N. M. (2013). Rabbit production (No. Ed. 9). CABI.
- 44) MEZES, M. AND K. BALOGH. (2009) Prooxidant mechanisms of selenium toxicity—a review. *Acta Biologica Szegediensis* 53, 15-18.
- 45) MULLER, A. S., PALLAUF, J., MOST, E. (2002): Parameters of dietary selenium and vitamin E deficiency in growing rabbits. *J Trace Elem Med Biol*, 16, 47-55. O'Toole
- 46) NRC (1983): Underutilized Resources as Animal Feedstuffs. National Academies Press. Washington, D. C.
- 47) NRC, N. (2011). Nutrient requirements of fish and shrimp.
- 48) OLAYEMI, F. O., NOTTIDGE, H. O. (2007). Effect of age on the blood profiles of the New Zealand rabbit in Nigeria. *African Journal of Biomedical Research*, 10(1).
- 49) OLDFIELD, J. E. (1999). Selenium World Atlas, *Selenium-Tellurium Development Association, Grimbergen, Belgium*. Stranky???
- 50) PAPP, L., LU, J., HOLMGREN, A., AND KHANNA, K. (2007). From Selenium to Selenoproteins: Synthesis, identity, and their role in human health. *Antioxid. Redox Sign.*, 9, 775-806.
- 51) PECHOVÁ A., ANTOŠOVÁ L., PAVLATA L., PODHORSKÝ A. (2015): Effect of sodium selenite or lactate-protein selenium complex supplementation on selenium status in goat kids. *Czech J. Anim. Sci.*, 60: 16-24.
- 52) QAZI, I.H.; ANGEL, C.; YANG, H.; PAN, B.; ZOIDIS, E.; ZENG, C.J.; HAN, H.; ZHOU, G.B. (2018) Selenium, Selenoproteins, and Female Reproduction: A Review. *Molecules*, 23, 3053
- 53) RAYMAN, M.P. (2004) The use of high-selenium yeast to raise selenium status: How does it measure up? *Br. J. Nutr.* 2004, 92, 557–573.
- 54) RAYMOND F. BURK AND KRISTINA E. HILL (2015), Regulation of Selenium Metabolism and Transport, *Annual Review of Nutrition*, 35:1, 109-134
- 55) REILLY, CONOR. (2006) "The biology of selenium." *Selenium in Food and Health* : 20-42.

- 56) ROCOURT, C. R., CHENG, W. H. (2013). Selenium supranutrition: are the potential benefits of chemoprevention outweighed by the promotion of diabetes and insulin resistance? *Nutrients*, 5(4), 1349–1365.
- 57) RYAN, BARRY., DITTRICK, MAGGIE. (2001). Selenium in the Mist Mountain Formation of Southeast British Columbia. British Columbia Geological Survey, *Geological Fieldwork* 2000, Paper 2001-1.
- 58) SCHIAVON, MICHELA, AND ELIZABETH AH PILON-SMITS. (2017) "The fascinating facets of plant selenium accumulation–biochemistry, physiology, evolution and ecology." *New Phytologist* 213.4 (2017): 1582-1596.
- 59) SCHNEIDER M, FÖRSTER H, BOERSMA A, ET AL (2009) Mitochondrial glutathione peroxidase 4 disruption causes male infertility. *FASEB J.* 2009;23(9):3233-3242.
- 60) SLENCU, BOGDAN., SOLCAN, CARMEN, CIOBANU., CONSTANTIN, AVASILCAI., LILIANA CUCIUREANU, RODICA. (2013). Dose-dependent subacute toxicity of sodium selenite in male Wistar rats. *Jokull.* 63. 57-69
- 61) SPALLHOLZ, J.E. (1997) Free radical generation by selenium compounds and their prooxidant toxicity. *Biomed. Environ. Sci.* 10, 260-270.
- 62) STADLOBER M, SAGER M, IRGOLIC KJ (2001) Effects of selenate supplemented fertilisation on the selenium level of cereals - identification and quantification of selenium compounds by HPLC-ICP-MS. *Food Chem* 73:357-366
- 63) SURAI, P. F. (2006): Selenium in nutrition and health. Nottingham: *Nottingham University Press*, 974 p. ISBN 1904761116.
- 64) SUZUKI, K. T., AND Y. OGRA. (2002) "Metabolic pathway for selenium in the body: speciation by HPLC-ICP MS with enriched Se." *Food Additives & Contaminants* 19.10 (2002): 974-983.
- 65) SYVYK, TETYANA, DYACHENKO, LEONID, TYTARIOVA, OLENA TYTARIOVA, M, OLHA, SHULKO, P, OSIPENKO, OLEG LIUDMYLA, TALAKH PIROVA, V BILKEVYCH, VITA. (2018). Productivity of rabbits and balance of selenium in their body by feeding different doses of selenium. *Bulgarian Journal of Agricultural Science.* 24.

- 66) TÓTH, R., CSAPÓ, J. (2018). The role of selenium in nutrition – A review, *Acta Universitatis Sapientiae, Alimentaria*, 11(1), 128-144.
- 67) TURAN, B., ACAN, N.L., ULUSU, N.N. ET AL. A. (2001) Comparative study on effect of dietary selenium and vitamin E on some antioxidant enzyme activities of liver and brain tissues. *Biol Trace Elem Res* **81**, 141–152.
- 68) TURAN, B., ZALOGLU, N., KOC, E., SARAN, Y., AKKAS, N. (1997): Dietary selenium-and vitamin E-induced alterations in some rabbit tissues. *Biol Trace Elem Res*, 58, 237-253.
- 69) VAN DAEL, PETER, ET AL. (2001) "Selenium absorption and retention from a selenite-or selenate-fortified milk-based formula in men measured by a stable-isotope technique." *British Journal of Nutrition* 85.2 (2001): 157-163.
- 70) WANG, HONGQIANG, ET AL. (2014) "A novel type of one-dimensional organic selenium-containing fiber with superior performance for lithium–selenium and sodium–selenium batteries." *RSC advances* 4.106 (2014): 61673-61678.
- 71) WHANGER P, VENDELAND S, PARK YC, XIA Y. (1996) Metabolism of subtoxic levels of selenium in animals and humans. *Ann Clin Lab Sci* ;26:99-113.
- 72) WHITE PJ. (2016) Selenium accumulation by plants. *Ann Bot.* 2016;117(2):217-235.
- 73) XICCATO, GEROLAMO. (1996). Nutrition of lactating does. *Proc.: 6th World Rabbit Congress*. 1. 29-47.
- 74) YANG G, WANG S, ZHOU R, SUN S. Endemic selenium intoxication of humans in China. *Am J Clin Nutr* 1983; 37:872-881.
- 75) ZACHARIAH, M, RAYMAN, MP AND AGOUNI, A (2014) High selenium intake is associated with endothelial dysfunction: critical role for endoplasmic reticulum stress in: Autumn Meeting of the *British-Society-for-Cardiovascular-Research (BSCR)*, 2014-09-08 - 2014-09-09
- 76) ZHANG W, CHEN Z, LIU H, ZHANG L, GAO P, LI D (2011) Biosynthesis and structural characteristics of selenium nanoparticles by *Pseudomonas alcaliphila*. *Colloids Surf B: Biointerf* 88:196–201