

## UTILIZATION OF ORGANIC AND INORGANIC FORMS OF SELENIUM IN RATS

Lohnisky A., Mares P., Krobot R., Zeman L.

Department of Animal Nutrition and Forage Production, Faculty of Agronomy, Mendel University in Brno, Zemědělská 1, 613 00 Brno, Czech Republic

E-mail: adam.lohnisky@centrum.cz

---

### ABSTRACT

Selenium is a biogenic element microelement contained in all cellular compartments of animals. As the basic functions of selenium along with vitamin E is given the protection of cells and tissues against oxidative damage by free oxygen radicals. The amount of selenium in animal feed is dependent on the content of selenium in soils. The Czech Republic belongs among countries with low selenium content and, therefore, this mineral must be added to the feed. Lack of selenium may be added in inorganic form or as organic selenomethionine, which is obtained from selenium-enriched yeast. Utilization of selenium from different chemical forms and storing them in the body is the ongoing goal of our experiment.

**Key words:** selenium, rats, inorganic and organic forms, utilization

**Acknowledgments:** This work was supported by grant IGA TP 8/2010

## ÚVOD

Selen je biogenní mikroelement obsažený ve všech celulárních prostorech živočichů. Pro celou řadu biochemických pochodů v organismu je nezbytný a nemůže být zastoupen jinými prvky. Jako základní funkce selenu společně s vitamínem E je uváděna ochrana buněk a tkání před oxidativním poškozením volnými kyslíkovými radikály. Jedná se vysoce reaktivní látky vznikající při metabolických procesech, zvláště pak při různých patologických stavech. Jejich toxicita je založena na reakci s dvojnými vazbami nenasyčených mastných kyselin a její přeměně na vazbu peroxidickou. V organismu živočichů se nachází selen v mnoha sloučeninách – selenoproteinech, které mají enzymatickou aktivitu (JELÍNEK et al., 2003). Hlavní fyziologická funkce selenu je zajištěna pomocí izoenzymu glutathionperoxidázy (GSH-Px), která zabezpečuje odstraňování nadbytku peroxidu vodíku z cytoplazmy buněk. Jedním z dalších významných selenoproteinů je iodothyronin deiodináza regulující přeměnu tyroxinu na aktivní formu hormonu štítné žlázy trijodotyronin (LARSEN, BERRY, 1995). Přeměna hormonů štítné žlázy je důležitá zejména z hlediska dosažení optimálních růstových schopností zvířat. Nedostatek selenu společně s hypovitaminózou E je spojován s celou řadou onemocnění a produkčních poruch. Mezi nejčastěji diskutovaná postižení patří nutriční myopatie, poruchy reprodukce způsobené sníženou aktivitou spermií, erytrocytární hemolýza, nekróza jater, degenerace renálních tubulů, snížení imunitní kapacity organismu. Příčinou nedostatku selenu u zvířat je dlouhodobý příjem krmiva, které bylo vypěstováno v selen deficitních oblastech (obsah selenu menší jak 0,1 ppm) (PAVLATA, PECHOVÁ, ILLEK, 2002). Obsah selenu v půdě se celosvětově pohybuje ve velkém rozmezí. Na základě znalostí půdních koncentrací selenu je možné předpokládat výskyt karence v dané oblasti. V České republice jsou považovány za nejvíce deficitní oblasti západních, severních, severovýchodních Čech a severní Moravy (PAVLATA et al., 2002). V Evropě se pak jedná o území Skandinávie, severní Anglie, Skotska, jižní Francie a Balkánu (OLDFIELD, 2000). Nebezpečím však nemusí být nutně jen nedostatek selenu, rizikem se stává i nadbytek tohoto mikroprvku. Vznik intoxikace v našich podmínkách je zapříčiněn předávkováním selenem z preventivních, či terapeutických příčin. Za bezpečné množství selenu pro potkany je považována dávka 0,15 mg/kg krmiva (NRC – National Research Council). Překročení doporučeného množství selenu v krmivu vede nejčastěji k intoxikaci s chronickým průběhem. Při množství selenu v krmivu 5 – 8 mg/kg byla u prasat pozorována anorexie, alopecie, anemie, degenerativní změny jater a ledvin. K subakutním otravám dochází při příjmu krmiva s obsahem selenu 9,7 – 27 mg/kg. Klinické příznaky se projevují ataxií zadních končetin až úplnou paralýzou. Fyziologické i toxické dávky selenu jsou metabolizovány stejnými metabolickými drahami. U prasat se jedná o tzv. redukční metabolickou dráhu, která začíná neenzymatickou oxidací čtyř molů glutathionu na

každý mol redukovaného seleničitanu. Vzniká tak superoxid, peroxid vodíku a kyslíkové radikály. Za negativní účinky selenu je z kyslíkových radikálů považován selenidový aniont (SVOBODOVÁ et al., 2008). K uhrazení dostatečné hladiny selenu v krmné dávce je možné využít dvou chemických forem. Anorganicky vázaný selen se používá nejčastěji ve formě seleničitanu sodného ( $\text{Na}_2\text{SeO}_3$ ). Organicky vázaný selen se nejčastěji používá ve formě selenem obohacených kvasnic, které obsahují mikroprvek ve formě selenomethioninu. Anorganické sloučeniny selenu jsou nejvíce vylučovány močí, zatímco organická forma výkaly (HITCHCOCK et al., 1978). MAHAN, PARRET (1996) ve své práci zjistili vyšší využitelnost u organické formy (75,7 %), než u selenu vázaného v anorganické formě (49,9 %). Vyšší biologická dostupnost organicky vázaného selenu byla potvrzena výsledky pokusu, kdy autoři zjistili 3x vyšší hladiny v mléce a kolostru (FAJT et al., 2009). Dostatečná suplementace zvířat selenem není důležitá jen z hlediska udržení dobrého zdravotního stavu a užitkovosti zvířat, ale může prostřednictvím vyššího obsahu v produktech zvířat zvýšit příjem lidskou populací.

## MATERIÁL A METODIKA

### *Biologický materiál*

Experiment probíhá v pokusném zařízení Ústavu výživy zvířat a pícninářství AF MENDELU v Brně (v souladu se Zákonem na ochranu zvířat proti týrání č. 246/1992 Sb.). Pokusným materiálem je 80 rostoucích samců laboratorního potkana outbredního kmene *Wistar albino* kvality SPF (Biotest s.r.o.). Zvířata jsou rozdělena do 5 pokusných skupin po 16 samcích, tak aby maximální hmotnostní rozdíly mezi pokusnými skupinami byly menší 5 gramů (KACEROVSKY, 1990). Potkanům jsou zkrmovány směsi s odlišnými formami selenu (seleničitan sodný  $\text{Na}_2\text{SeO}_3$  a selenomethionin zastoupený v komerčním výrobku Sel-Plex od společnosti Alltech) na hladinách 0%, 50% (0,075 mg), 1000% (1,5 mg) normy NRC viz. schéma pokusných krmných směsí.

### *Postup experimentu*

Zvířatům ustájených v plastových klecích jsou předkládány vlhčené krmné směsi a zdravotně nezávadná voda ad libitum. Každý den zeznaménáváme skupinový čistý příjem krmiv. Hmotnostní parametry zvířat jsou zjišťovány v pravidelných třídenních intervalech a současně jsou odebírány vzorky výkalů pro analýzu (NL, vláknina, BNLV, tuk). Dvě zvířata z každé pokusné skupiny budou poslední týden experimentu podrobena bilančnímu testování (7 dní). Výběr zvířat pro individuální ustájení v bilančních jednotkách proběhne na základě živé hmotnosti, tak aby byla dodržena doporučení, které uvádí KACEROVSKY (1990). Každodenní sledování čistého příjmu krmiv a vody, množství vyloučených výkalů a moči poslouží pro určení stravitelnosti základních živin (NL, BNLV, tuku, vlákniny), retence selenu a čistého příjmu vitamínu E.

### *Odběr biologických vzorků*

**MENDELNET 2010**

První den experimentálního období a následně každý třetí den jsou odebrány vzorky od jedinců s nejnižší a nejvyšší vahou ve skupině (2 zvířata z experimentální skupiny). Pro analýzu jsou použity vzorky plné krve a tkáně (stehenní sval, játra, ledviny, mozek). Před odběrem krve kardiální punkcí je zvířatům aplikována intraperitoneálně dávka Fraxiparine (0,001 ml/100 g) ředěného 500x sterilním fyziologickým roztokem. Poté jsou zvířata uvedena diethyletherem do celkové inhalační anestezie. Krevní vzorek je odebrán do heparinem potažených zkumavek (Dispolab), které jsou do analýzy uchovávány v termoboxech s ledem.

Ze vzorku 15 um je plně automatizovaným přístrojem (ABC Vet) stanoven krevní obraz v následujícím rozsahu: počet erytrocytů, leukocytů, trombocytů, hemoglobin, hematokrit. Pro potřeby biochemického vyšetření odebíráme 1,0 ml plné krve. Ze vzorku je šetrnou centrifugací (800g/10min.) separována krevní plazma, ze které analyzujeme počet celkových bílkovin, obsah albuminu, aktivitu glutathionreduktasy, plazmatické glutathionperoxidázy, glutathiontransferázy, tokoferoly, antioxidační aktivitu, superoxidodismutázu, bilirubin, kyselinu močovou, glukózu, AST, ALT.

**Analyza krmiva**

Ze sestavených krmných směsí byly odebrány dílčí vzorky a provedeny rozborů na obsah živin: NL, Vlákny, Tuku, BNLV, Sušiny, Popela, Se (AAS) a vitamínu E (HPLC).

Spektrofotometrická měření jsou prováděna na automatickém chemickém analyzátoru BS-200 (Co. Mindray, China). Reakční roztoky a vzorky jsou umístěny na chlazeném disku (4 °C) a automaticky pipetovány do plastických kyvet s optickou dráhou 0,5 cm. Směs je následně promíchána. Inkubace probíhá v kyvetovém prostoru temperovaném na 37 °C. Promývání dávkovacích jehel destilovanou vodou je prováděno mezi jednotlivými pipetováními. Přístroj je řízen softwarem BS-200 (Co. Mindray, China).

*Tabulka 1: Schéma pokusných krmných směsí*

	<b>1 Kontrola 0%</b>	<b>2 Seleničitan 50% anorganický 0,075 mg Se</b>	<b>3 Sel-Plex 50% organický 0,075 mg Se</b>	<b>4 Seleničitan 1000% anorganický 1,5 mg</b>	<b>5 Sel-Plex 1000% organický 1,5 mg</b>
<i>Pšenice</i>	60,54	60,54	60,54	60,54	60,54
<i>Sojový extrahovaný šrot 47%</i>	12	12	12	12	12
<i>Slunečnicový olej</i>	2	2	2	2	2
<i>Lysin 78%</i>	0,46	0,46	0,46	0,46	0,46
<i>Premix PO MAR 01</i>	5	5	5	5	5
<i>Škrob kukuřičný</i>	20	19	19	0	0
<i>Seleničitan zředěný nosič škrob</i>	0	1	0	20	0
<i>Sel-Plex zředěný nosič škrob</i>	0	0	1	0	20

**ZÁVĚR**

Předmětem zájmu našeho experimentu je porovnání využitelnosti selenu vázaného v organické a anorganické formě. Využitelnost bude porovnávána na základě obsahu selenu v analyzovaných tkáních, aktivity selenoproteinů (plazmatické glutathionperoxidázy, glutathionreduktázy, glutathiontransferázy), antioxidační aktivity, přímého stanovení selenu v plazmě, množství přijatého krmiva, konverze a výše přírůstku. Výsledky pokusu mohou sloužit chovatelům hospodářských zvířat jako vodítko při výběru formy selenu do krmných dávek. Zjištěné výsledky bychom rádi publikovali v časopise Czech Journal of Animal Science.

**LITERATURA**

FAJT, Z., et al. Selen a jeho význam pro zdravotní stav prasat. Veterinářství. 2009, 59, s. 221-224.

HITCHCOCK, J.P., et al. Effects of arsenic acid and vitamin upon utilization of natural supplemental selenium by swine. Journal Animal Science. 1978, 46, s. 425.

JELÍNEK, P., et al. Fyziologie hospodářských zvířat. Vydání 1. Brno : MZLU v Brně, 2003. s. 414 ISBN 80-7157-644-1.

KACEROVSKÝ, O., et al. Zkoušení a posuzování krmiv. Praha : Státní zemědělské nakladatelství, 1990, s. 216.

LARSEN P. R., BERRY M. J. Nutritional and hormonal regulation of thyroid hormone deiodinase. Ann. Rev. Nutr. 1995, 15, s. 323-352.

MAHAN, D.C.; PARRET, N.A. Evaluating the efficacy of selenium -enriched yeast and sodium selenite of tissue selenium retention and serum glutathione peroxidase activity in grower and finishing swine. Journal Animal Science. 1996, 74, s. 2967-2974.

OLDFIELD, J.E. . Kde všude ve světě se selen vyskytuje. Feedings times. 2000, 5, s. 8-9.

PAVLATA, L.; PECHOVÁ, A.; ILLEK, J. Praktická doporučení pro diagnostiku karence selenu u skotu v České republice. Veterinářství. 2002, 52, s. 170-173.

PAVLATA, L., et al. Selenium status in cattle in the Czech republic. Acta veterinaria. 2002, 71, s. 3-8.

SVOBODOVÁ, Z., et al. Veterinární toxikologie v klinické praxi. Praha : ProfiPress, 2008. s. 253 s