

OCENA ZMIAN STĘŻENIA SELENU W KRWI I TKANKACH SAMCÓW SZCZURA POD WPŁYWEM ZMIANY SKŁADU DIETY I JEJ SUPLEMENTCJI WYBRANYMI WITAMINAMI Z GRUPY B

APPRECIATION OF SELENIUM CONCENTRATION IN BLOOD AND TISSUES OF MALE RAT AS A RESULT OF DIET INGREDIENTS CHANGES AND ITS SUPPLEMENTATION WITH CHOSEN GROUP B VITAMINS

Mariola Friedrich¹, Zuzanna Goluch-Koniuszy¹, Anna Dolot¹,
Bogumiła Pilarczyk²

¹Zakład Fizjologii Żywienia Człowieka

²Katedra Biotechnologii Rozrodu Zwierząt i Higieny Środowiska
Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie

Słowa kluczowe: selen, suplementacja, witaminy z grupy B, szczury

Key words: selenium, supplementation, B group vitamins, rats

STRESZCZENIE

W przeprowadzonym doświadczeniu badano wpływ składu diety i jej suplementacji wybranymi witaminami z grupy B na stężenie selenu w surowicy krwi i tkankach oraz aktywność peroksydazy glutationowej w krwi i wątrobie samców szczura. Zwierzęta, w wieku 5 miesięcy, podzielono na trzy grupy i żywiono ad libitum, granulowanymi mieszankami. Grupę I mieszanką podstawową zawierającą m.in. pełne ziarna zbóż, grupę II mieszanką zmodyfikowaną, w której pełne ziarna zbóż zastąpiono mąką pszenną i częściowo sacharozą i grupę III mieszanką zmodyfikowaną suplementowaną nadmiarowo witaminami B₁, B₂, B₆ i PP. Doświadczenie trwało 6 tygodni, w trakcie których na bieżąco obliczano ilość spożytej paszy, a raz na tydzień kontrolowano masę ciała zwierząt. Po zakończeniu doświadczenia w krwi i w wątrobie oznaczano aktywność GSH-Px metodą spektrofotometryczną natomiast w surowicy krwi, mięśniach i w wątrobie stężenie selenu metodą fluorymetryczną. Stwierdzono, że zmiana składu diety i jej suplementacja wybranymi witaminami z grupy B, sprzyjała obniżaniu zawartości selenu w badanych tkankach, a spadek ten wynikał nie tylko ze zmniejszonego spożycia badanego pierwiastka, ale też ze zwiększonego jego zużycia, wymuszonego zachodzącymi pod wpływem składu diety i jej suplementacji, przemianami.

ABSTRACT

The influence of diet ingredients and its supplementation with chosen B group vitamins on concentration of selenium in blood serum and tissues and activity of glutathione peroxidase in blood and liver of male rats was examined in the conducted experiment. The animals, aged 5 months, were divided into three groups and fed ad libitum with granulated mixes. Group I with basic mix containing among other things full grains, Group II with modified mix in which full grains were exchanged for wheat flour and in part with saccharose and Group III with modified mix supplemented in excess with vitamins B₁, B₂, B₆ and PP. The experiment was conducted for six weeks during which the amount of consumed feeding stuff was calculated currently and once a week body mass of the animals was checked. When the experiment was finished the activity of GSH-Px was determined by spectrophotometric method in blood and liver whereas concentration of selenium in blood serum, muscles and in liver by fluorometric method. It was ascertained that the change of diet ingredients and its supplementation with chosen group B vitamins was in favour of lowering the amount of selenium in the examined tissues, and the decrease was not only the result of lower amount of the consumed element, but also of its increased usage, forced by the changes taking place under the influence of diet components and its supplementation.

Adres do korespondencji: Mariola Friedrich, Zakład Fizjologii Żywienia Człowieka, Zachodniopomorski Uniwersytet Technologiczny w Szczecinie, 71-479 Szczecin, ul. Papieża Pawła VI nr 3, tel. 91 449 65 70, faks 91 449 62 01, e-mail: Mariola.Friedrich@zut.edu.pl

WSTĘP

Prowadząc na zwierzętach modelowych badania nad wpływem suplementacji diety witaminami z grupy B, stwierdzono m.in. niekorzystne zmiany stężeń, w krwi i wątrobie, nieenzymatycznych składników obrony antyoksydacyjnej tj. glutationu zredukowanego (GSH) i całkowitych grup sulfhydrylowych (-SH) oraz zawartości dialdehydu malonowego (MDA) będącego markerem wolnorodnikowych procesów peroksydacji lipidów. Zmiany wyraźnie wskazujące na nasilenie, pod wpływem zastosowanej suplementacji, reakcji wolnorodnikowych [7].

Jednym z ważniejszych enzymów bariery antyoksydacyjnej w organizmie jest peroksydaza glutationu (GSH-Px), której zadaniem jest m.in. katalizowanie redukcji nadtlenków lipidowych z użyciem glutationu, zapobiegające szerzeniu się procesu utleniania lipidów [3]. Natomiast aktywność GSH-Px w dużym stopniu zależy od zawartości selenu występującego w centrum aktywnym tego enzymu [17], przy czym rola tego pierwiastka w organizmie jest o wiele szersza i dotyczy m. in. udziału w odporności organizmu, profilaktyce schorzeń wirusowych, nowotworowych i układu krążenia.

Biorąc pod uwagę rolę selenu w organizmie, powszechność stosowania przez społeczeństwo różnego rodzaju suplementacji oraz fakt wzbogacania żywności w witaminy z grupy B, często w ilościach większych niż deklarowane [10] postanowiono zbadać, na modelu zwierzęcym, jaki wpływ wywiera zmiana składu diety i jej suplementacja wybranymi witaminami z grupy B na stężenie selenu w surowicy krwi, jego zawartość w wybranych tkankach oraz aktywność peroksydazy glutationowej.

MATERIAŁ I METODY

Doświadczenie (po uzyskaniu zgody Lokalnej Komisji Etycznej 17/2009) przeprowadzono w wiwarium Zakładu Fizjologii Żywienia Człowieka, na 36 samcach szczurów rasy WISTAR, w wieku około 5 miesięcy, które przebywały w indywidualnych klatkach, w klimatyzowanym wiwarium, w temperaturze $21 \pm 1^\circ\text{C}$, cykl jasność/ciemność 12h/12h.

Zwierzęta podzielono na 3 grupy żywieniowe (po 12 osobników w każdej), o średniej masie ciała $434,9 \text{ g} \pm 29,1 \text{ g}$ i żywiono *ad libitum* granulowanymi mieszankami, wyprodukowanymi z tych samych, poza różnicującymi, komponentów, po wdrożeniu procedury 5.14.5 „Czyszczenie maszyn i urządzeń”, przez Wytwórnę Pasz w Kcyni. Grupa I otrzymywała mieszankę podstawową zawierającą między innymi pełne ziarna pszenicy i kukurydzy. Grupa II i III mieszankę zmodyfikowaną, w której w stosunku do mieszanki

podstawowej, pełne ziarna pszenicy zastąpiono mąką pszenną, a 50% kukurydzy - sacharozą.

W celu ustalenia składu chemicznego zastosowanych w doświadczeniu pasz, przeprowadzono podstawowe analizy chemiczne. Z przygotowanych prób zgodnie z normami [5] pobrano naważki (po 4 z każdej), w których oznaczono procentową zawartość: białka ogólnego, tłuszczu surowego, suchej masy i popiołu ogólnego. Względna zawartość węglowodanów obliczono z różnicy pomiędzy suchą masą a sumą białka, tłuszczu i popiołu. W próbkach obu rodzajów pasz, oznaczono również zawartość selenu, metodą fluorymetryczną, wg *Watkinsona* [19], zmodyfikowaną przez *Grzebulę i Witkowskiego* [9], przy użyciu spektrofotometru RF-5001 PC Schimadzu. Pełny skład zastosowanych w doświadczeniu pasz przedstawia tabela 1, a ich skład chemiczny tabela 2. Pasze były izokaloryczne.

Tabela 1. Procentowy udział składników w zastosowanych paszach

Percentage of components of fodders

Nazwa komponentu	Pasza podstawowa (%)	Pasza zmodyfikowana (%)
Pszennica	36,4	6
Kukurydza	20	10
Otręby pszenne	20	20
Serwatka suszona	3,0	3,0
Sól pastewna	0,3	0,3
Śruta sojowa 48%	18	18
Kreda pastewna	1,5	1,5
Fosforan 2-CA	0,8	0,8
Mąka pszenna typ 500	-	30,4
Sacharoza	-	10

Tabela 2. Skład chemiczny pasz zastosowanych w doświadczeniu

Chemical composition of fodders used in the experiment

Komponent	Pasza podstawowa	Pasza zmodyfikowana
Białko ogółem [%]	19,1	18,5
Tłuszcz surowy [%]	2,8	2,3
Węglowodany [%]	63,8	65,5
Sucha masa [%]	91,8	92,3
Popiół ogółem [%]	6,1	6,0
Energia brutto [kcal/g]	3,99	3,98
[kJ/g]	16,73	16,67
Energia metaboliczna [kcal/g]	3,57	3,57
[kJ/g]	14,95	14,94
Selen [$\mu\text{g/g}$ paszy]	0,709	0,723

Do picia zwierzęta grupy I i II otrzymywały czystą, odstanną wodę wodociągową. Zwierzęta grupy III, w porze wzmożonej aktywności, otrzymywały 30 ml wodnego roztworu witamin, w ilościach: B₁ - 0,560 mg, B₂ - 0,130 mg, B₆ - 0,490 mg, PP - 5,25 mg w przelicze-

Tabela 3. Wpływ składu diety i jej suplementacji witaminami na badane parametry u samców szczura ($x \pm SD$, $n = 36$)
The effect of diet type and supplementation on the examined parameters in male rats ($x \pm SD$, $n = 36$)

Badane parametry	Pasza podstawowa (a)	Pasza zmodyfikowana (b)	Pasza zmodyfikowana + suplementacja (c)	Istotność różnic
Spożycie paszy [g]	765,3 ± 62,4	754,8 ± 46,4	738,6 ± 24,1	–
Spożycie paszy [g/100g masy ciała]	164,1 ± 13,1	158,1 ± 6,8	156,0 ± 5,3	a - c*
Spożycie Se [µg/100g masy ciała]	116,3 ± 9,3	114,3 ± 4,9	112,8 ± 3,8	a - c*
Przyrosty masy ciała [g/100g paszy]	4,8 ± 1,1	4,9 ± 1,3	5,5 ± 1,3	–
Tłuszcz okołojelitowy [g/100g paszy]	0,22 ± 0,04	0,26 ± 0,05	0,33 ± 0,05	a - c** b - c**

*, ** - różnica istotna statystycznie $p \leq 0,05$; $0,01$

*, ** - statistically significant difference $p \leq 0.05$; 0.01

niu na 100 g paszy, co 5x przekraczało ilości, o które została zubożona pasza w trakcie zamiany składników (wielkość zastosowanej suplementacji do pewnego stopnia imitowała sposób suplementacji u ludzi). Po wypiciu witamin zwierzęta dopajano czystą odstaną wodą wodociągową.

Doświadczenie (po jednotygodniowym okresie kondycjonowania zwierząt) trwało 6 tygodni, w trakcie których na bieżąco obliczano ilość spożytej paszy, a w grupie suplementowanej także ilość pobranych witamin oraz raz na tydzień kontrolowano masę ciała zwierząt. Po zakończeniu doświadczenia zwierzęta uśpiono anestetykiem (Ketanest) i pobrano krew, w której oznaczono aktywność peroksydazy glutationowej (GSH-Px, E.C. 1.11.1.9) wg metody *Puglia i Velentine* [16], przy użyciu zestawu diagnostycznego RANSEL (RS 505 Randox, W. Brytania) i spektrofotometru Metertech SP-8001.

Oznaczenia aktywności peroksydazy glutationowej w wątrobach wykonano według tej samej metody i przy użyciu tych samych odczynników jakie wykorzystano do określenia jej aktywności we krwi, po uprzednim przygotowaniu próbek wątroby do analizy (homogeni-

zacja 1 g tkanki w 10 ml izotonicznego buforu fosforanowego o pH 7,4, w temp. 4°C w homogenizatorze MPW-120, następnie liza komórek poprzez trzykrotne zamrażanie i rozmrażanie, wirowanie w wirówce laboratoryjnej MPW-365 w temp. 4°C przy prędkości 8 000 obr.×min⁻¹). W surowicy krwi, wypreparowanych mięśniach (*m. quadriceps femoris*, *m. biceps femoris*, *m. semimembranosus*, *m. adduktor femoris*, *m. superficialis gluteus*) oraz w wątrobach badanych zwierząt oznaczono również stężenie selenu wg tej samej metody jaką zastosowano przy oznaczaniu jego zawartości w paszy. Tłuszcz okołojelitowy wypreparowywano na bieżąco i ważono z dokładnością do 0,001 g. Uzyskane wyniki poddano jednoczynnikowej analizie wariancji, przy użyciu komputerowego programu statystycznego Statistica®, z zastosowaniem testu *Duncana*.

WYNIKI

Analizując wpływ zmiany składu diety i jej suplementacji wybranymi witaminami z grupy B, na wielkość

Tabela 4. Wpływ składu diety i jej suplementacji witaminami na stężenie selenu i aktywność peroksydazy glutationu w badanych tkankach samców szczura ($x \pm SD$, $n = 36$)
The effect of diet type and supplementation on selenium levels and glutathione peroxidase activity in male rats tissues ($x \pm SD$, $n = 36$)

Badany parametr	Pasza podstawowa (a)	Pasza zmodyfikowana (b)	Pasza zmodyfikowana + suplementacja (c)	Istotność różnic
Se w surowicy [µg/ml]	0,508 ± 0,10	0,524 ± 0,05	0,515 ± 0,06	-
Se w mięśniach [µg/g]	0,101 ± 0,01	0,133 ± 0,01	0,119 ± 0,01	a - b, c**
Se w wątrobie [µg/g]	0,470 ± 0,07	0,584 ± 0,06	0,457 ± 0,09	b - a, c**
GSH-Px w krwi [U/g białka]	73,9 ± 22,6	55,4 ± 21,5	43,3 ± 10,8	a - b*, c** b - c*
GSH-Px w wątrobie [U/g białka]	1549 ± 444	786 ± 242	621 ± 127	a - b, c**

*, ** - różnica istotna statystycznie $p \leq 0,05$; $0,01$

*, ** - statistically significant difference $p \leq 0.05$; 0.01

spożycia paszy i przyrosty masy ciała stwierdzono, że pomimo izokaloryczności zastosowanych pasz, najmniej i istotnie mniej w porównaniu do pozostałych grup spożywały, w g/100 g masy ciała, zwierzęta grupy suplementowanej, co przekładało się na istotnie mniejsze spożycie selenu (Tab. 3). Temu najmniejszemu spożyciu paszy towarzyszyły jednak wyższe, w przeliczeniu na 100 g spożytej paszy, przyrosty masy ciała i gromadzenie wisceralnej tkanki tłuszczowej.

Analizując stężenie selenu w surowicy krwi badanych zwierząt nie stwierdzono istotnych różnic pomiędzy grupami doświadczalnymi. Stwierdzono jednak wpływ zmiany składu diety i jej suplementacji na zawartość tego pierwiastka w mięśniach i wątrobie. Istotnie wyższą zawartość selenu, w stosunku do zwierząt żywionych paszą podstawową, obserwowano w mięśniach i wątrobie zwierząt na paszy zmodyfikowanej. Natomiast zastosowana suplementacja nieznacznie obniżała jego zawartość w mięśniach i istotnie w wątrobie (Tab. 4).

Stwierdzono, że zmiana składu diety spowodowała również istotny spadek aktywności peroksydazy glutationowej (GSH-Px) w pełnej krwi i wątrobie badanych zwierząt, a zastosowana suplementacja jeszcze ten efekt nasilała (Tab. 4).

DYSKUSJA

Analizując wpływ zastosowanych diet na wielkość spożycia i przyrosty masy ciała stwierdzono, że dieta, w której pełne ziarna zbóż izokalorycznie zastąpiono mąką pszenną i sacharozą, sprzyjała zmniejszonemu spożyciu paszy, a zastosowana suplementacja jeszcze ten efekt pogłębiała. Temu zmniejszonemu spożyciu towarzyszyły jednak zwiększone, w przeliczeniu na jednostkę spożytej paszy, przyrosty masy ciała, w porównaniu z przyrostami obserwowanymi u zwierząt nie suplementowanych oraz istotnie większe gromadzenie wisceralnej tkanki tłuszczowej. Efekt ten związany był z wpływem, na określone torę metaboliczną, suplementowanych witamin. Szczególnie tiaminy biorącej udział w przemianach glukozy w szlaku pentozofosforanowym, służącym do syntezy NADPH, używanego do syntez redukujących, w tym do syntezy kwasów tłuszczowych. Stymulujący wpływ w tym zakresie mogły również wywierać kwas pantotenowy oraz witamina B₆, wzmagająca aktywność *delta*-saturazy.

Stwierdzone zmniejszone spożycie paszy, przekładało się na zmniejszone spożycie selenu, które jednak nie znalazło odbicia w stężeniu tego pierwiastka ani w surowicy krwi, ani w jego zawartości w badanych tkankach, a wprost przeciwnie. Zawartość selenu w mięśniach i wątrobie zwierząt żywionych paszą zmodyfikowaną była istotnie większa od zawartości stwierdzanej w tkankach zwierząt żywionych paszą podstawową.

Selen jest obecny we wszystkich tkankach i stanowi pulę utrzymującą homeostazę tego pierwiastka w organizmie [1]. U samców dodatkowo znaczna jego ilość zdeponowana jest w jądrach w celu ochrony struktury mitochondriów plemników przed procesami oksydacyjnymi [18]. Selen wchłonięty z przewodu pokarmowego jest początkowo wiązany przez erytrocyty oraz przez albuminy i globuliny krwi, a następnie transportowany do tkanek. Biorąc pod uwagę obserwowany efekt można przypuszczać, że przyczyną wzrostu jego zawartości w surowicy krwi i w tkankach mogła być zmniejszona, w paszy zmodyfikowanej, ilość składników mineralnych, w tym magnezu. *Jimenez* i wsp. [11] wykazali, że niedobory magnezu powodują wzrost stężenia selenu w surowicy krwi i tkankach, kosztem jego zawartości w erytrocytach. Wyższa zawartość selenu w mięśniach badanych szczurów mogła wynikać również z jego większego deponowania w tej tkance, jako endogenngo buforu dla zapewnienia homeostazy w okresie niedostatecznego dowozu w diecie [2]. Natomiast różnice w zawartości selenu w badanych tkankach pomiędzy grupą suplementowaną i niesuplementowaną, mogły wynikać między innymi z różnic w natężeniu przemian glukozy w krwi badanych zwierząt. We wcześniejszych badaniach własnych wykazano już, że suplementacja zastosowanej diety wybranymi witaminami z grupy B obniża stężenie glukozy we krwi poprzez wprowadzenie jej w szlak pentozowofosforanowy [8]. Mechanizm tego zjawiska może być związany z zużyciem selenu do wzmożonej biosyntezy peroksydazy glutationu, wymuszonej wzrostem natężenia wolnorodnikowych reakcji, związanych z przemianami glukozy.

Potwierdza to obserwowany istotny spadek aktywności GSH-Px tak w osoczu krwi jak i w wątrobie badanych zwierząt, wskazujący na wzrost natężenia procesów wolnorodnikowych, których przyczyną była zmiana składu diety oraz zastosowana suplementacja. Obserwowany spadek stężenia badanego enzymu mógł wynikać z braku w diecie zmodyfikowanej wielu, naturalnie występujących w pełnych ziarnach pszenicy i kukurydzy, antyoksydantów, takich jak: witamina E, kwasy fenolowe, likopen, zeaksantyna i inne. Wykazano już, że niedobory naturalnych, obecnych w diecie antyoksydantów powodują większe zużycie glutationu zredukowanego [7], który nie tylko bezpośrednio reaguje z pojawiającym się w środowisku rodnikiem hydroksylowym, rodnikami organicznymi i nadtlenkiem wodoru, ale jest też substratem dla peroksydazy glutationu [4]. Przyczyną mogła być również zmniejszona w diecie zmodyfikowanej zawartość cynku. *Kim* i wsp. [12] w badaniach na szczurach, wykazali dodatnią korelację pomiędzy zawartością cynku w diecie, a stężeniem peroksydazy glutationu w surowicy krwi.

Natomiast obserwowany wzrost natężenia negatywnych zmian w postaci dalszego obniżania się aktywności peroksydazy glutationu zachodzącej pod

wpływem zastosowanej suplementacji, mógł wynikać z kilku przyczyn. Pierwsza przyczyna to wzrost natężenia przemian glukozy i związanych z tym procesów wolnorodnikowych, natomiast druga to stwierdzone gromadzenie wisceralnej tkanki tłuszczowej. W licznych badaniach wykazano już, że zjawisko to jest niezależnym czynnikiem wzrostu natężenia procesów wolnorodnikowych i peroksydacji lipidów [14]. Zwiększona oksydacja kwasów tłuszczowych osłabia reakcje komórek wątroby na insulinę, co stymuluje glukoneogenezę, zwiększa stężenie glukozy, biosyntezę triacylogliceroli i cykl się zamyka. Nie bez wpływu na obniżanie aktywności GSH-Px, musiało być też zmniejszone spożycie selenu, jego zużywanie do syntezy enzymu i w efekcie obniżenie jego zawartości, szczególnie w wątrobie, co jak wykazali Payne i Southern [15] jest czynnikiem limitującym biosyntezę peroksydazy glutationu.

Oceniając całość zaistniałych zmian stwierdzono, że zmiana składu diety, polegająca na zamianie pełnych ziaren zbóż na białą mąkę i sacharozę, i jej suplementacja wybranymi witaminami z grupy B, może sprzyjać, poprzez różne mechanizmy wpływu, na obniżanie zawartości selenu w tkankach, wpływając tym samym na homeostazę ustroju. W przeprowadzonym doświadczeniu wpływ ten dał się zauważyć m. in. w obniżeniu aktywności jednego z ważniejszych enzymów antyoksydacyjnych - peroksydazy glutationu. Z danych literaturowych wynika, że obniżona zawartość selenu oraz spadek aktywności GSH-PX w wątrobie wpływa nie tylko na funkcjonowanie selenoprotein ale również genów zaangażowanych w ksenobiotyczny metabolizm wątrobowy [6]. Liczne są również doniesienia mówiące o roli niedoboru selenu w zaburzeniach gospodarki lipidowej [13] i chorobach układu sercowo-naczyniowego [20].

WNIOSKI

Analiza uzyskanych wyników pozwoliła na stwierdzenie, że:

1. zmiana składu diety i jej suplementacja wybranymi witaminami z grupy B, sprzyjała obniżaniu zawartości selenu w badanych tkankach,
2. spadek zawartości selenu wynikał nie tylko ze zmniejszonego spożycia badanego pierwiastka, ale także ze zwiększonego jego zużycia, wymuszonego przemianami zachodzącymi pod wpływem składu diety i jej suplementacji.

PIŚMIENNICTWO

1. *Alissa E.M., Bahijri S.M., Ferns G.A.*: The controversy surrounding selenium and cardiovascular disease: a review of the evidence. *Med. Sci. Monit.*, 2003, 9, 9-18.
2. *Behne D., Alber D., Kyriakopoulos A.*: Effects of long-term selenium yeast supplementation on selenium status. *J. Trac. Elem. Med. Bio.*, 2009, 23, 258-264.
3. *Comhair S.A., Erzurun S.C.*: The regulation and role of extracellular glutathione peroxidase. *Antioxid. Redox. Signal.*, 2005, 7, 72-79.
4. *Deneke S.M.*: Thiol-bases antioxidants. *Curr. Top. Cell. Regul.*, 2000, 36, 151-180.
5. Rozporządzenie Ministra Rolnictwa i Rozwoju Wsi w sprawie metodyki postępowania analitycznego w zakresie określania zawartości składników pokarmowych i dodatków paszowych w materiałach paszowych, premiksach, mieszankach paszowych i paszach leczniczych. *Dz. U.* 2006, Nr 54, poz. 389.
6. *Fischer A., Pallauf J., Rimbach G.*: Selenium and vitamin E dependent gene expression in rats: Analysis of differentially expressed mRNAs. *Methods Enzymol.*, 2002, 347, 267-276.
7. *Friedrich M. Dolot A.*: Assessment of effects of diet composition and vitamin B supplementation on free radical-related process in the body. Contents of non-enzymatic components of antioxidation defence and lipid peroxidation products in rat tissues. *Pol. J. Food Nutr. Sci.*, 2009, 3, 255-263.
8. *Friedrich M., Sadowska J., Sawicka A.*: Wpływ składu diety i jej suplementacji witaminami z grupy B na metabolizm ustroju szczura. W: 60-letni dorobek nauki na Pomorzu Zachodnim wnoszony do Unii Europejskiej. *Nauki przyrodnicze. Szczecińskie Towarzystwo Naukowe.* AR Szczecin, 2007, 21-37.
9. *Grzebuła S., Witkowski P.*: The determination of selenium trace levels in biological materials with fluorometric method. Selenium determination in tissues and bodily fluids (in Polish). *Pol. Arch. Wet.*, 1977, 20, 125-138.
10. *Jantarska D., Ratkovska B., Kunachowicz H.*: Wzbogacanie żywności-wartości deklarowane a rzeczywiste. *Przem. Spoż.*, 2007, 61 (1), 24-27.
11. *Jimenez A., Planells E., Aranda P., Sanchez-Vinas M., Llopis J.*: Changes in bioavailability and tissue distribution of selenium caused by magnesium deficiency in rats. *J. Am. Coll. Nutr.*, 1997, 16(2), 175-80.
12. *Kim S.H., Keen C.L.*: Influence of dietary carbohydrate on zinc-deficiency-induced changes in oxidative defense mechanisms and tissue oxidative damage in rats. *Biol. Trace Elem. Res.*, 1999, 70(1), 81-96.
13. *Nawarro-Alacrón M., López-Martinez M.C.*: Essentiality of selenium in the human body: relationship with different diseases. *Sci. Total. Environ.*, 2000, 249(1-3), 347-371.
14. *Olusi S.*: Obesity is an independent risk factor plasma lipid peroxidation and depletion of erythrocyte cytoprotective enzymes in humans. *Int. J. Obes.*, 2002, 26(9), 1159-1164.
15. *Payne R.L., Southern L.L.*: Changes in glutathione peroxidase and tissue selenium concentrations of broilers after consuming a diet adequate in selenium. *Poult. Sci.*, 2005, 84, 8, 1268-1276.
16. *Puglia D.E., Valentine W.N.*: Studies on the quantitative and qualitative characterization of erythrocyte glutathione peroxidase. *J. Lab. Clin. Med.*, 1967, 70, 158-169.

17. *Rotruck, J.T., Pope, A.L., Ganther, H.E., Swanson, A.B., Hafeman, D.G., Hoekstra, W.G.*: Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 1973, 179, 588-590.
18. *Roveri A., Orsini F., Flohe L., Miorino M.*: PHGPx and spermatogenesis. *Biofactors* 2001, 12, 213-222.
19. *Watkinson J. H.*: Fluorometric determination of selenium in biological material with 2,3-diaminonaphtalene. *Ann. Chem.*, 1966, 38, 92-97.
20. *Zagrodzki P., Łaszczyk P.*: Selen a choroby układu sercowo-naczyniowego - wybrane zagadnienia. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2006, 60, 624-631.

Otrzymano: 11.02.2010

Zaakceptowano do druku: 25.11.2010