

Tükürük Selenyumunu

Ebru Işık Alturfan, Ünsal Veli Üstündağ

Marmara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı, Biyokimya Bilim Dalı, İstanbul - Türkiye

Yazışma Adresi / Address reprint requests to: Ebru Işık Alturfan
Marmara Üniversitesi, Diş Hekimliği Fakültesi, Temel Tıp Bilimleri Anabilim Dalı, Biyokimya Bilim Dalı, Nişantaşı, İstanbul - Türkiye
Elektronik posta adresi / E-mail address: eiemekli@marmara.edu.tr
Kabul tarihi / Date of acceptance: 27 Mayıs 2014 / May 27, 2014

ÖZET

Tükürük selenyumunu

Son yıllarda invaziv olmayan yöntemler gerektirip daha kolay elde edilebilir olmasından dolayı tükürükte yapılan analizlerin sayısı artmıştır. Birçok önemli fonksiyonunun yanı sıra tükürük antioksidan içeriğine bağlı olarak oral mukozayı oksidatif hasara karşı korur. Çeşitli hastalıkların tükürüğün oksidan-antioksidan dengesinin bozulması ile ilişkili olduğu gösterilmiştir. Selenyum antioksidan olarak görev yapan glutatyon peroksidaz ve tiyoredoksin redüktaz enzimlerinin yapısında olup organizmadaki antioksidan aktiviteye katkıda bulunur. Ancak selenyumun diş çürüğü oluşumu üzerine etkileri ile ilgili olarak yapılmış çalışmaların sonuçları çelişkilidir. Bu derlemede tükürük selenyumunun önemi ve ağız sağlığı üzerine etkileri literatür ışığında ele alınmıştır.

Anahtar sözcükler: Selenyum, tükürük, ağız sağlığı

ABSTRACT

Salivary Selenium

In recent years, the analyses in the saliva have gained importance because of the easy availability using noninvasive methods. Besides many other functions, due to its antioxidant content saliva protects oral mucosa against oxidative damage. Various diseases have been shown to be related with the impaired oxidant-antioxidant status in saliva. Selenium is a trace element involved in the structure of antioxidant enzymes glutathione peroxidase and thioredoxin reductase, and may contribute to the antioxidant activity of the organism. On the other hand, contradictory results were reported on the effect of selenium on dental caries. In this review, the studies evaluating the effects of selenium on oral health and the importance of salivary selenium have been reviewed.

Key words: Selenium, saliva, oral health

Tükürük Selenyumunu

1. Tükürük ve Tükürüğün Bileşenleri

Ağız ve diş sağlığı üzerine etkileri nedeniyle tükürüğün vücut sıvıları arasında önemli bir yeri vardır. Tükürük sindirim, tat alma, koruma ve kayganlaştırma, seyreltme ve temizleme gibi fonksiyonlara sahiptir. Ayrıca tamponlama kapasitesi ve antibakteriyel özelliği ile tükürük ağız sağlığının sürdürülebilmesi için hayati öneme sahiptir. Tükürük esas olarak (%99,5) sudan oluşmaktadır. Ayrıca tükürükte proteinler, immüoglobulinler, enzimler, münisler ve azotlu ürünler olarak üre ve amonyak mevcut olup potasyum, kalsiyum, sodyum, magnezyum, bikarbonat ve fosfat gibi elektrolitler de bulunmaktadır (1-3).

Tükürük bileşenlerinin ve akışkanlığının bazı hastalıkların değerlendirilmesi ve takibi, klinisyenler için önemli bilgiler

sağlar. Bir çok hastalıkta tükürük içeriğinin değişmesine bağlı olarak oral fonksiyonlarda anormallikler görülebilir (4,5).

Sağlıklı bir yaşam ve organizmanın fizyolojik aktivitesi için diyetle alınması gereken mineraller olan iz elementlerin gerekliliğine verilen önem her geçen gün artmaktadır. Buna göre, son 20 yılda iz elementlerle ilgili tıp, teknoloji, diş hekimliği, beslenme ve çevre alanlarında yapılmış araştırmalarda kademeli bir artış vardır. Enstrümental analiz yöntemlerindeki gelişmeler sayesinde iz elementlerin nanogram hatta pikogram seviyesinde incelenebilmesi mümkün olmuştur. Bu sayede tükürük dahil olmak üzere vücut sıvılarında iz element araştırmaları artmıştır. Tükürükteki %0,3 ve %0,2 oranlarında bulunan organik ve inorganik iz elementler, ağız boşluğundaki fonksiyonel bütünlüğü sürdürmek için gereklidir. Diş çürüğü ve tükürükteki iz element kompozisyonu arasındaki ilişki çeşitli araştırmacılar tarafından incelenmiştir (6,7). Selenyum tükürük içinde bulunan esan-

siyel iz elementlerden biridir. Fonksiyonel ve yapısal olarak selenyum ağız sağlığının korunması için gereklidir ve tükürük selenyum içeriğinin çeşitli hastalıklardan etkilendiği gösterilmiştir (8-10).

2. Tükürükte Selenyum

Diş çürükleri ile tükürük içeriği arasındaki ilişki uzun yıllar fazla dikkat çekmemekle beraber birçok çalışmada ağırlıklı olarak diş ve tükürük içindeki florüre odaklanıldı. Florürün çürük prevalansını düşürdüğünün bulunmasından sonra araştırmacılar diğer iz elementlerin çürük oluşumunu önleyici etkilerini incelemeye başladılar.

Hojo (11) insan saç, tırnak, kan, idrar ve tükürüğünde farklı konsantrasyonda selenyum olduğunu bildirmiştir. Selenyum konsantrasyonu tükürükte en az olmakla beraber süt, plazma ve eritrositlerde azalan miktarlarda bulunmaktadır. Florometrik metodlar kullanılarak tükürükte ortalama 2,3 ng/mL selenyum varlığı bildirilmiştir. Tükürük selenyum miktarı 1971'de ilk kez Hadjimarkos ve Shearer (10) tarafından selenyum ve diş çürüğü arasındaki ilişkiyi anlamak amacıyla değerlendirilmiştir. Oregon devlet okulundan 11-12 yaşlarında 26 çocuktan alınan örneklerin florometrik değerlendirmesi sonucunda tükürük selenyum içeriğinin 1,1-5,2 ppb oranları arasında, ortalama 3,1 ppb olduğu bildirilmiştir. Erkek ve kadınlarda tükürük selenyum konsantrasyonu benzer bulunmuştur (10). Raghunath ve ark. (12) Mumbai'de yaşayan yetişkinlerde tükürük selenyum konsantrasyonunu 2 ng/mL olarak bildirmişlerdir.

Tükürük selenyum seviyesi bazı farklı fizyolojik ve patolojik koşullarda araştırılmıştır. Abbas ve ark. (9) renal ve üreterik taşları olan hastaların serum ve tükürük selenyum seviyelerini değerlendirmiş ve sağlıklı kontrollerle karşılaştırıldığında taş oluşan hastalarda serum ve tükürük selenyum seviyelerinde anlamlı bir azalma olduğunu bildirmiştir. Yazarlar tükürük selenyum seviyesinin, renal taşı olan hastalarda bir belirteç olarak kullanabileceğini önermişlerdir. Abbas ve ark. (9)'nın bulguları selenyumun bir renal taş inhibitörü olarak kristal oluşumunu, agregasyonunu ve büyümesini engelleyebileceğini bildiren Sakly ve ark. (13)'nın sonuçları ile uyumludur.

Chicharro ve ark. (14) tarafından yapılan başka bir çalışmada, fiziksel egzersizin tükürük iz element kompozisyonu üzerine etkileri incelenmiştir. Bu çalışmada en çok dikkati çeken, egzersiz sonrası sodyum ve magnezyum seviyelerinin

de anlamlı artış ve manganez seviyesindeki anlamlı azalmadır. Dinlenme ve egzersiz sonrası selenyum seviyeleri sırasıyla 0,91 ve 0,64 mg/L olup ve aralarında anlamlı bir fark bulunmamıştır. Ayrıca Zaichk ve Bagirov (15) periodontal hastalık insidansı yüksek yetişkinlerde tükürük demir, skandiyum, mangan, krom, kobalt, bakır, selenyum, gümüş ve civa konsantrasyonlarında artış, çinko konsantrasyonunda ise azalma olduğunu bildirmiştir.

3. Selenyum ve Diş

İnsan dişinin selenyum içeriği ile ilgili ilk çalışmalar Hadjimarkos ve Bonhorst (16) tarafından yapılmıştır. Yazarlar selenyumun mine ve dentinin normal bir bileşeni olduğunu bildirmiş, süt dişlerindeki selenyum içeriğinin, yetişkin dişlerinden daha yüksek olduğunu ve yetişkin diş minesinde selenyum içeriğinin yaş ile doğru orantılı bir şekilde artmadığını bildirmişlerdir.

1973'te Shearer ve Hadjimarkos (17) anne ve yavru sıçanlarda selenyum enjeksiyonunun sert ve yumuşak dokularda dağılımını inceleyen çalışmalarında, sıçan molar diş gelişiminde, selenyumun mine ve dentinde protein fraksiyonlarına katılımını ve molar dişler tarafından alınımı gelişimsel olarak değerlendirmişlerdir. Yazarlar selenyumun gelişmekte olan ve olgun dişlerin mine ve dentin fraksiyona selenosistein ve selenometiyonin şeklinde katıldığını bildirmişlerdir.

1979'da Johnson ve Shearer (18) sığır kesici diş minesini katmanlarında selenyumun konsantrasyon gradyanı oluşturmadığını ve yaş ile artış olmadığını gözlemlemişlerdir. Yazarlar ayrıca selenyumun sıçanların büyümekte olan kesici dişlerine diyetle doğru orantılı olarak katıldığını bildirmişlerdir. Selenyumun tükürük bezleri ve tükürüğün yapısına katılması incelenmiş olup selenyum aktivitesi tükürük bezlerinde de bildirilmiştir. Ancak tükürük bezlerinde selenyum birikimi olmamakla beraber, tükürük bezlerinin bu elemente karşı geçirgen olduğu bulunmuştur (19). Navia (20) selenyumun dişin ekstrasvasküler kısımlarında ve pulpasında fazla miktarda, dişin mineralize kısımlarında ise düşük konsantrasyonlarda bulunduğunu bildirmiştir.

4. Selenyum ve Diş Çürükleri

Selenyum uzun süre potansiyel toksik bir madde olarak kabul edilmiş ve 1930 ile 1960 yılları arasında selenyum toksisitesi ile ilgili çalışmalar yapılmıştır. Selenyum toksisitesi

Amerika'nın batısı ve Çin çöllerinde kuraklık döneminde selenyum akümülatör bitkilerden *Astragalus cinsi* ile beslenen hayvanlarda görülmüştür (21). 1937'de ilk defa Smith ve Westfall (21) selenyumlu bölgelerde "çürüğe yatkın dış" insidansının yüksek olduğunu bildirmiştir.

Amerika Birleşik Devletleri'nde yapılan çalışmalarda dış çürüğü prevalansında birçok bölgesel farklılık rapor edilmiştir. Akla ilk olarak bölgelerdeki jeolojik durumu yansıtan toprak ve su farklılığı gelmiştir. Ancak içme suyunun yiyeceklerle karşılaştırıldığında insanda iz elementleri için önemli bir kaynak olmadığı ve florür dışındaki iz elementlerin diyetteki kaynağının içme sularının olmadığı ileri sürülmüştür (22,23).

Hadjimarkos ve ark. (24) tarafından yapılan çalışmada selenyum alımı ve çürük arasında doğrudan bir ilişki olduğu bulunmuştur. 14-16 yaş arası 2.069 adet çocuklarda yapılan bir dizi epidemiyolojik çalışmada çocuklarda farklı çürük prevalansları olduğu bildirilmiştir. Selenyum toksisitesinin yaygın olduğu bölgelerde en sık görülen semptom yüksek dış çürüğü prevalansı olarak bildirilmiştir. Yazarlar ayrıca idrar selenyumu ve dış çürüğü prevalansı arasında doğrudan bir ilişki olduğunu bildirmişler, selenyumun dişleri çürüğe daha duyarlı hale getirebildiğini ve çürük-selenyum arasındaki ilişkiyi anlayabilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç olduğunu belirtmişlerdir (25). Diğer yandan, 1960'ta Yeni Zelanda'da Cadell ve Cousins (26) tarafından yürütülen çalışmada benzer bir etki bulunmamıştır. Yazarlar dişlerdeki selenyum ile 24 saatte idrarla atılan selenyum arasında korelasyon olmadığını ve gruplar arasındaki selenyum ekstraksiyonundaki farkın çürük prevalansı ile bir ilişkisi olmadığını bildirmişlerdir. Yapılan başka bir çalışmada, Wyoming'de çiftlik hayvanlarında selenyum toksisitesi görülen bölgelerde doğan çocukların diğer bölgelerde doğan çocuklara göre çürük oluşumuna daha duyarlı oldukları bildirilmiştir (26-29).

Shearer ve Hadjimarkos (10) selenyum tüketimine bağlı olarak dış çürüklerinin artmasını selenyumun mine tabakasında bulunan protein fraksiyonlarına bağlanması ile mineralizasyonun inhibe olmasına bağlamıştır.

5. Selenyumun Laboratuvar Hayvanlarında Çürük Oluşumuna Etkisi

İnsanlarda selenyum ve dış çürükleri arasındaki ilişkinin gösterilmesinden sonra selenyumun deney hayvanlarında dış çürükleri üzerine etkileri incelenmeye başlanmıştır.

Ancak sonuçların genelde birbiri ile çelişkili olduğu görülmektedir. 1941'de English (30) tiyourasil veya organik selenyumun dış köpeklerin dış minelerinde hipoplastik değişikliklere neden olduğunu bildirmiştir. 1951'de Wheatcroft ve ark. (31) yetişkin sıçanlara intraperitoneal olarak verilen sodyum selenitin dentisyonu etkilemediğini ancak kg başına 0,5 ve 1,0 mg selenyumun verilmesinin ise sıçanlarda önemli toksik etkiye neden olduğunu bildirmiştir. Yazarlar verilen bu dozda çürük insidansının arttığını gözlemlemişlerdir. Muhler ve ark. (32) selenyumun tiroid aktivitesini bastırdığını ve bu etkisinin tiyoursil ile benzer olduğunu bildirmiştir. Sıçanlarda dış çürüğü insidansı tiroid bezi aktivitesi ile ilgili olup, tiroksin enjeksiyonunun dış çürüklerini anlamlı derecede azalttığı radyotiroidektominin ise anlamlı derecede arttırdığı bilinmektedir (33). 1957'de Muhler and Shafer (34) bir diyet bileşeni olarak sodyum selenit kullanarak selenyumun sıçan dış çürüklerinde etkisini araştırmışlardır. Karşılaştırma olarak kontrol gruplarına da selenyum içermeyen diyet verildiğinde dış çürüklerinde bir değişiklik olmadığını bildirmişlerdir. Ayrıca selenyum uygulamasının tükürük bezlerinin histolojisinde bir değişikliğe sebep olmadığı belirtilmiştir. Buttner (35) içme suyunda sodyum selenit (5-10 ppm) içeren diyete tabi tutulan sıçanlarda dış çürüklerinde %38-54 oranında artma ile beraber üremede ve vücut ağırlığında azalma olduğunu belirtmişlerdir. Claycomb ve ark. (36) diyetle 4,56 ppm sodyum selenyum takviyesinin dış çürüğü üzerine etkisini araştırmış ve 100 günlük deney periyodu boyunca test ve kontrol gruplarında dış çürüğü görülme insidansında anlamlı fark gözlemlenmişlerdir. Navia ve ark. (37) da sıçanlara içme suyu veya diyetteki 4 ppm oranında katılan selenyumun etkisini incelemişler ve içme sularındaki selenyumun sulkal lezyonları dışında bir etkisinin görülmediğini bildirmişlerdir.

Yukarıda özetlenen epidemiyolojik ve hayvan çalışmalarının sonuçlarına göre, selenyumun az miktarda da olsa çürük oluşumunu teşvik edici özelliğine sahip olduğu belirtilebilir. Diğer taraftan, selenyumun dental çürükler üzerinde etkisini açığa kavuşturmak, toksik ve fizyolojik etkilerini ayırt edebilmek için daha fazla çalışmaya ihtiyaç vardır.

6. Selenyumun Tükürük Antioksidan Aktivitesinde Rolü

Serbest oksijen radikallerinin neden olduğu oksidatif hasar, birçok hastalığın patolojisinde rol oynamaktadır.

Tükürüğün antioksidan kapasitesi ile ilgili son yıllarda yapılan çalışmalar, bazı hastalıkların tükürük antioksidanlarını etkileyebileceğini göstermektedir. Özellikle serbest radikaller ve antioksidanlar arasındaki dengesizlik bazı inflamatuvar oral patolojilere sebep olabilir.

Periodontitisli hastalarda tükürük antioksidan aktivitesi ni incelediğimiz bir çalışmada, tükürük glutatyon seviyeleri kontrol grubuna göre hasta grubunda yüksek bulunmuştur. Periodontitis grubunda artmış glutatyon miktarına bağlı olarak lipid peroksidasyon ise azalmıştır. Ayrıca periodontitis grubunda inflamasyonun göstergesi olarak siyalik asit miktarları da artmış olarak bulunmuştur (38). Meme kanseri olan hastaların tükürük örneklerini incelediğimiz başka bir çalışmada ise, tükürük lipid peroksidasyonun hasta grubunda sağlıklı gruba göre azaldığı bildirilmiştir (5). Bu çalışmada tükürük antioksidanları değerlendirilmemiş olmakla birlikte azalmış lipid peroksidasyonun kanser ve kanser terapisinin oral komplikasyonlarına karşı bir savunma mekanizması olarak değerlendirilebileceği öne sürülmüştür.

Selenyum glutatyon peroksidaz (GSH-Px) ve tiyoredoksin redüktaz antioksidan enzimlerinin yapısında bulunur, hidrojen peroksit ve organik hidroperoksidin indirgenmesini katalizler. Bu nedenle, selenyum hücre zarını oksidatif hasara karşı korur, kanser riskini azaltır, yaşlanma sürecini yavaşlatır (38). Selenyumun kansere karşı olan koruyucu etkisinin antioksidan özelliğinden kaynaklandığı bildirilmiştir (39,40). İnsan tükürüğünde selenyum bağımlı GSH-Px aktivitesi ilk kez Hojo (11) tarafından tespit edilmiştir. Bu

çalışmada GSH-Px ve selenyum arasında önemli bir pozitif korelasyon olduğunu bildirilmiştir. Khanna ve ark. (41) oral kanser ve prekanser gruplarının selenyum seviyelerinin kontrol grubuna göre anlamlı derecede azaldığını bildirmişlerdir.

Kuntsal ve ark. (8) sıvı diyet tüketimine bağlı submandibular bezlerin dejenerasyonuna karşı selenyum takviyesinin etkilerini incelemiş ve selenyumun hücre bütünlüğünü koruduğunu, serbest radikal üretimini engellediğini dolayısıyla, hücre bütünlüğünün korunduğunu ve organellerin yapısının sağlam kaldığını bildirmişlerdir.

Literatürde tükürüğün antioksidan kapasitesi ile ilgili birçok çalışma olsa da, antioksidan kapasitede tükürükteki selenyumun rolünü araştıran çalışma sayısı çok azdır. Bu nedenle selenyumun tükürükteki antioksidan aktivitesine katkısını açığa çıkaracak daha fazla çalışmaya ihtiyaç bulunmaktadır.

7. Sonuç

Selenyumun antioksidan aktivitesi olan önemli bir iz element olduğu bilinmekle beraber bu elementin tükürük ve ağız sağlığındaki fonksiyonu uzun yıllar gözardı edilmiştir. Ayrıca selenyum ile ilgili bu elementin çürük oluşturucu etkisini inceleyen 1960'lı yıllarda yapılan çalışmaların dışında gelişmiş metodlarla yapılan çalışma sayısı sınırlıdır. Dolayısıyla literatürdeki çelişkili sonuçların aydınlatılması için bu konuda yeni çalışmalara ihtiyaç vardır.

KAYNAKLAR

- Humphrey SP, Williamson RT. A review of saliva: Normal composition, flow, and function. *J Prosthet Dent.* 2001;85:162-169.
- Edgar WM. Saliva: Its secretion, composition and functions. *Br Dent J.* 1992;172:305-312.
- Zahir S, Sarkar S. Study of trace elements in mixed saliva of caries free and caries active children. *J Indian Soc Pedod Prev Dent.* 2006;24:27-29.
- Shatzman AR, Henkin RI. Gustin concentration changes relative to salivary zinc and taste in humans. *Proc Natl Acad Sci USA.* 1981;78:3867-71.
- Emekli-Alturfan E, Demir G, Kasikci E, Tunali-Akbay T, Pisiriciler R, Caliskan E, Yarat A. Altered biochemical parameters in the saliva of patients with breast cancer. *Tohoku J Exp Med.* 2008;214(2):89-96.
- Duggal MS, Chawla HS, Curzon ME. A study of the relationship between trace elements in saliva and dental caries in children. *Arch Oral Biol.* 1991;36:881-884.
- Borella P, Fantuzzi G, Aggazzotti G. Trace elements in saliva and dental caries in young adults. *Sci Total Environ.* 1994;153:219-24.
- Kuntsal L, Firat D, Sirin Y. Prevention of liquid-diet-induced damages on submandibular glands by selenium supplementation in rats. *Tohoku J Exp Med.* 2003; 201(3):191-199.
- Abbas WA, Fadil A, Al-Khazraji SK. Evaluation of selenium and chloride levels in both sera and saliva samples in renal stone former patients. *AJPS.* 2011;10(2):158-164.
- Hadjimarkos DM, Shearer TR. Selenium concentration in human saliva. *Am J Clin Nutr.* 1971;1210-1211.
- Hojo Y. Selenium and glutathione peroxidase in human saliva and other human body fluids. *Sci Total Environ.* 1987;65:85-94.
- Raghunath R, Tripathi RM, Mahapatra S, Sadasivan S. Selenium levels in biological matrices in adult population of Mumbai, India. *Sci. Total Environ.* 2002;285:21-27.

13. Sakly R, Chaouch A, el Hani A, Najjar MF. Effects of intraperitoneally administered vitamin E and selenium on calcium oxalate renal stone formation: Experimental study in rat. *Ann Urol (Paris)*. 2003;37(2):47-50.
14. J L Chicharro, V Serrano, R Ureña, A M Gutierrez, A Carvajal, P Fernández-Hernando, A Lucía. Trace elements and electrolytes in human resting mixed saliva after exercise. *Br J Sports Med*. 1999;33:204-207.
15. Zaichk VE, Bagirov ShT. The chemical element content of mixed unstimulated saliva in periodontal diseases. *Stomatologiya (Mosk)*. 1994;73:8-11.
16. Hadjimarkos DM, Bonhorst CW. The selenium content of human teeth. *Oral Surgery, Oral Medicine, Oral Pathology*. 1959;12(1):113-116.
17. Shearer TR, Hadjimarkos DM. Comparative distribution of 75 Se in the hard and soft tissues of mother rats and their pups. *J. Nutr*. 1973;103:553-559.
18. Johnson JR, Shearer TR. Selenium uptake into teeth determined by fluorimetry. *J Dent Res*. 1979;58(8):1836-9.
19. Claycomb CK, Sorenson FM, Gatewood DC, Jump EB, Weaver ME. Further studies on the presence of Se75 in rat saliva and teeth after intracardiac injection of radioactive sodium selenite. *J Dental Res*. 1961;40:504-510.
20. Navia JM. Effects of minerals on dental caries. Dietary chemicals vs. dental caries. In *Dietary chemicals vs. dental caries*, Editor(s): Robert S. Harris, Volume 94, 1970,139-140.
21. Smith MI, Westfall BB. Further field studies on the selenium problem in relation to public health. *United States Public Health Report*. 1937;52:1375-1384.
23. Rosenfeld I, Beath OA. Selenium – Geobotany, biochemistry, toxicity and nutrition. Academic Press, New York, 1964.
24. Hadjimarkos DM. Selenium: a caries-enhancing trace element. *Caries Res*. 1969;3(1):14-22.
25. Hadjimarkosa DM, Storvicka CA, Remmerta LF. Selenium and dental caries: An investigation among school children of Oregon. *J Pediatrics*. 1952;4:451-455.
26. Cadell PB, Cousins FB. Urinary selenium and dental caries. *Nature*. 1960;185,863-864.
27. Hadjimarkos DM. Effect of selenium on dental caries. *Arch Environ Health*. 1965;10:893-899.
28. Hadjimarkos DM. Micronutrient elements in relation to dental caries. *Bordens Rev Nutr Res*. 1966;27(3):1-14.
29. Hadjimarkos DM. Effect of trace elements on dental caries. In: Staple PH, eds., *Advances in Oral Biology*. Academic Press, New York; 1968;Vol.3, p.253.
30. English JA. Experimental effects of thiouracil and selenium on the teeth and jaws of dogs. *J Dent Res*. 1949; 28:172-194.
31. Wheatcroft MG, English JA, Schlack CA. Effects of selenium on the incidence of dental caries in white rats. *J Dent Res*. 1951;30:523-524.
32. Muhler JC, Bixer D, Shafer WC. Effect of replacement therapy on dental caries experience of radiothyroidectomized rats. *Proc Soc Exptl Biol Med*. 1956;93:328-330.
33. Muhler JC, Shafer WC. Experimental dental caries. IV. The effect of feeding desiccated thyroid and thiouracil on dental caries in rats. *Science*. 1954;119,687-689.
34. Muhler JC, Shafer WG. The effect of selenium on the incidence of dental caries in rats. *J Dent Res*. 1957;36(6):895-896.
35. Buttner W. Action of trace elements on the metabolism of fluoride. *J Dent Res*. 1963;42:453-460.
36. Claycomb CK, Summers GW, Jump EB. Effect of dietary selenium on dental caries in Sprague-Dawley rats. *J Dental Res*. 1965;44:826.
37. Navia JM, Menaker L, Seltzer J, Harris RS. Effect of NA2SeO3 supplemented in the diet or the water on dental caries of rats. *Federation Proc*. 1968;27: 676.
38. Emekli-Alturfan E, Yarat A, Çalişkan-Ak E, Pisiriciler R, Kuru B, Noyan Ü. Determination of storage time of saliva samples obtained from patients with and without chronic periodontitis for the comparison of some biochemical and cytological parameters. *J Clin Lab Anal*. 2013;27(4):261-266.
39. Mates JM, Segura JA, Alonso FJ, Marquez J. Oxidative stress in apoptosis and cancer: an update. *Arch Toxicol*. 2012;86:1649-1665.
40. Schlag P, Seeling W, Merkle P, Betzler M. Changes of serum Zn in breast cancer. *Langenbecks Arch*. 1978;2:129-133.
41. Khanna S, Udas AC, Kumar G K, Suvarna S, Karjodkar F R. Trace elements (copper, zinc, selenium and molybdenum) as markers in oral sub mucous fibrosis and oral squamous cell carcinoma. *J Trace Elem Med Biol*. 2013;27(4):307-311.