

SELENYUM VERİLEN FARELERDE KAN VE DOKULARDAKİ SELENYUM DÜZEYLERİNİN BELİRLENMESİ

Ibrahim Pirinçci^{1@} Ahmet Ateşşahin¹ İzzet Karahan¹ İrfan Demirbaş¹

The Determination of the Selenium Levels in the Blood and Tissues of Mice Given Selenium

Summary: In this study, the selenium levels in the blood and tissue samples of mice experimentally poisoned with selenium were investigated. In the investigation, 210 mice were used. The blood and tissue samples were taken at 5, 10, 15, 30th min, 1, 2, 4, 8, 24, 48 and 72th hours following the intraperitoneal administration of selenium at the doses of 1 and 2 mg/kg. Similarly, the blood and tissue samples were taken at 30, 60 and 90th days following the oral administration of selenium at doses of 0.5, 3 and 10 ppm. The selenium levels in the samples were spectrophotometrically measured at 420 nm. In conclusion, the selenium levels were determined to increase depending on time and dose in mice treated with selenium orally. Whereas, when it was intraperitoneally given, the selenium levels were defined to reach to the maximum levels in blood at 10 and 30th min; in liver at 30th min and 2 nd hours; in kidney at 1st hour; in spleen at 15 and 30th min; in heart at 10 and 15th min; in muscle at 24 and 8th hours according to doses, respectively. Afterwards, the selenium levels were established to decrease, gradually.

Key words: Selenium levels, Blood, Tissues, Mice.

Özet: Bu çalışmada deneysel olarak selenyumla zehirlenen farelerin kan ve dokularındaki selenyum düzeyleri araştırıldı. Araştırmada 210 adet fare kullanıldı. Selenyumun periton içi yolla 1 ve 2 mg/kg dozlarında verilmesini takiben 5, 10, 15, 30.dk, 1, 2, 4, 8, 24, 48 ve 72.saatlerde kan ve doku örnekleri alındı. Aynı şekilde, selenyumun ağız yoluyla 0.5, 3 ve 10 ppm dozlarında verilmesini takiben 30, 60 ve 90. günlerde kan ve doku numuneleri alındı. Numunelerdeki selenyum düzeyleri spektrofotometrik olarak 420 nm'de ölçüldü. Sonuç olarak, ağız yoluyla selenyum verilen farelerde selenyum düzeylerinin zamana ve doza bağlı olarak arttığı belirlendi. Buna karşın, selenyum periton içi yolla verildiğinde selenyum düzeylerinin dozlara göre sırasıyla kanda 10 ve 30.dk; karaciğerde 30.dk ve 2.saatte; böbrekte 1.saatte; dalakta 15 ve 30.dk; kalpte 10 ve 15.dk; kasta 24 ve 8. saatlerde doruk noktaya ulaştığı ve daha sonra tedrici bir şekilde azaldığı belirlendi.

Anahtar kelimeler: Selenyum Düzeyleri, Kan, Doku, Fare.

Giriş

Selenyum, canlılarda küçük dozlarda koruyucu ve sağaltıcı, yüksek dozlarda zehir etkileri olan bir elementtir (Combs ve Stephanie Combs, 1986; Ellenhorn ve Barceloux, 1988). Yapılan bazı çalışmalarda (Burguera ve ark., 1990; Combs ve Gray, 1998; Gladyshev ve ark., 1998; Knekt ve ark., 1998; Gladyshev ve Hatfield, 1999; Gladyshev ve ark., 1999) selenyumun oksidasyon-redüksiyon reaksiyonlarını katalize eden tiyoredoksin redüktaz ve p450 gibi birçok enzimin aktivasyonunu sağlayarak kanseri önlediği, glutasyon peroksidazın yapısında bulunmasından dolayı vücuttaki oksidasyon olaylarını engellediği, immun sistem fonksiyonlarını artırdığı, vücutta yangı reaksiyonlarına neden olan

prostaglandinleri inhibe ettiği ve erkeklerde sperma motilitesini artırarak fertilitenin artmasına sebep olduğu bildirilmiştir. Ayrıca, selenyumun iyodotironin deiyodinaz, selenoprotein P ve selenoprotein W'nin yapısına girerek bir çok fizyolojik olayda rol aldığı belirtilmiştir (Read ve ark., 1990; Bellisola ve ark., 1998; Hagmar ve ark., 1998).

Janghorbani ve ark. (1990), ratlara selenyum 4 mg/ml dozunda 30 gün süre ile içme suyu içerisinde verdiğinde bu elementin bağırsaklardan % 90 oranında emildiği, % 10 oranında dışkı ile atıldığını belirtmişlerdir. Aynı çalışmada, selenyumun yüksek oranda böbrek ve karaciğerde (sırasıyla, 2.85 ve 1.61 mg/g), daha az oranda plazma, kalp, iskelet kası ve beyinde (sırasıyla, 0.68, 0.41, 0.18

ve 0.14 mg/g) biriktiğini bildirmişlerdir.

Canlı dokularındaki selenyumun azlığı kadar fazlalığı da problem oluşturmaktadır. Bu durum dik-kate alınarak bu çalışmada farelere ağız ve periton içi yollarla farklı dozlarda verilen selenyumun kan ve dokulardaki düzeylerinin belirlenmesi amaçlanmıştır.

Materyal ve Metot

Hayvan materyali: Araştırmada cinsiyetleri göz önünde bulundurulmayan 35-40 g ağırlıklarında 210 adet beyaz fare kullanıldı. Deneylere başlamadan önce farelere 1 ay süre ile yem ve su serbestçe verilerek ortama alışmaları sağlandı. Bundan sonra farelere periton içi (Pi) ve ağız yoluyla (içme suyuna katılarak) selenyum uygulaması yapıldı. Uygulamalarda kullanılan selenyum sodyum selenit (Merck) tuzu şeklinde bidistile su içerisinde çözdürülerek hazırlandı. Araştırmada kullanılan ağız ve periton içi yolla selenyum verilen fareler diye iki gruba ayrıldı.

Ağız yolu ile selenyum verilen hayvan grupları: Her grupta 18 fare olacak şekilde 4 alt gruba ayrıldı.

- 1.Grup: Kontrol grubu,
- 2.Grup: 0.5 ppm selenyum verilen grup,
- 3.Grup: 3 ppm selenyum verilen grup,
- 4.Grup: 10 ppm selenyum verilen grup.

Periton içi yolla selenyum verilen hayvan grupları: Bu grupta kullanılan fareler kontrol grubu için 6, deneme grupları için ise her birinde 66 fare olacak şekilde 2 alt gruba ayrıldı.

- 1.Grup: Kontrol grubu,
- 2.Grup: 1 mg/kg selenyum verilen grup,
- 3.Grup: 2 mg/kg selenyum verilen grup.

Periton içi yolla selenyum verilmesi ve doku örneklerinin alınması: Kontrol grubundaki farelere bidistile su, deneme gruplarına ise 1 ve 2 mg/kg dozlarında selenyumun periton içi olarak verilmesini takiben 5, 10, 15, 30.dk, 1, 2, 4, 8, 24, 48 ve 72.saatlerde farelerin boğazları kesilerek kan ve doku örnekleri alındı.

Ağız yolu ile selenyum verilmesi ve doku örneklerinin alınması: Kontrol grubundaki farelere distile su, deney grubundaki farelere ise 0.5, 3 ve 10 ppm selenyum içeren içme suyu suluklar içe-

risinde verildi. Bu uygulamadan sonra 30, 60 ve 90. günlerde farelerin boğazları kesilmek suretiyle kan, karaciğer, böbrek, dalak, kalp ve kas gibi doku örnekleri alındı. Ağız yolu ile selenyum uygulanan farelerin günlük olarak tükettikleri içme suyu miktarları 1 ay boyunca her kafesteki farelerin tükettikleri su miktarlarının fare ve gün sayısına bölünmesi ile belirlendi.

Selenyum düzeylerinin belirlenmesi: Alınan kan ve doku örneklerindeki selenyum analizleri Marczenko (1976), Neve ve ark. (1983) ile Thines ve Halley (1972) tarafından önerilen spektrofotometrik yöntemler laboratuvar şartlarımıza uyarlanarak kullanıldı. Bu metotlarla selenyum analizleri +4 değerlikli selenyumun 3,3 diaminobenzidin ile reaksiyona girerek oluşturduğu piazselenol bileşiğinin 420 nm'de absorbanlarının okunması esasına dayanmaktadır.

İstatistiksel analizler: Grupların karşılaştırılmasında SPSS for-Windows bilgisayar paket programı kullanılarak tek yönlü varyans analizi, alt grup karşılaştırmalarında ise Duncan testi yapılmıştır (Düzgüneş ve ark., 1983).

Bulgular

Kontrol ve deneme gruplarının kan, karaciğer, böbrek, dalak, kalp ve kas doku örneklerine ait selenyum düzeyleri ile tükettikleri günlük ortalama su miktarları tablo 1, 2, 3 ve 4'te sunulmuştur.

Tablolar değerlendirildiğinde farelerde ağız ve periton içi yollarla belli zaman aralıklarında farklı dozlarda selenyum verilmesinin kan ve dokulardaki selenyum düzeylerini artırdığı ($p < 0.01$), 3 ve 10 ppm selenyum verilen gruplarda ise su tüketimini azalttığı tespit edilmiştir (Tablo 1, 2, 3 ve 4).

Tablo 1. Farklı dozlarda selenyum uygulanan farelerin deney süresince günlük ortalama su tüketimleri (ml/gün).

Dozlar	Süre		
	30.gün	60.gün	90.gün
Kontrol	5.1±0.14	5.0±0.22	5.1±0.11
0.5 ppm	5.2±0.16	5.1±0.26	5.2±0.20
3 ppm	4.8±0.30	4.7±0.22	4.7±0.26
10 ppm	4.1±0.21	3.9±0.41	3.6±0.35

Selenyum Verilen Farelerde Kan ve Dokulardaki Selenyum...

Tablo 2. Ağız yolu ile farklı dozlarda selenyum verilen farelerde kan, karaciğer, böbrek, dalak, kalp ve kas selenyum düzeylerinin (ppm) zamana göre değişimi.

Doku	Dozlar	Kontrol	30.gün	60.gün	90.gün	F
Kan	0.5 ppm	0.44 B	0.50 Ac	0.52 Ac	0.53 Ac	9.57*
	3 ppm	0.44 C	0.71 Bb	0.78 Ab	0.80 Ab	93.31*
	10 ppm	0.44 B	1.62 Aa	1.74 Aa	1.76 Aa	146.55*
	F	-	134.63*	101.14*	275.91*	
K.ciğer	0.5 ppm	1.52 C	1.54 Bc	1.63 Ac	1.65 Ac	18.38*
	3 ppm	1.52 C	1.81 Bb	1.86 Bb	1.95 Ab	80.06*
	10 ppm	1.52 C	2.67 Ba	2.71 Ba	3.01Aa	148.14*
	F	-	190.94*	399.34*	256.04*	
Böbrek	0.5 ppm	1.31 C	1.38 Cc	1.40 Bc	1.50 Ac	8.33*
	3 ppm	1.31 C	1.74 Bb	1.76 Bb	1.83 Ab	124.33*
	10 ppm	1.31 C	2.26 Ba	2.30 ABa	2.41 Aa	181.87*
	F	-	267.73*	177.94*	115.30*	
Dalak	0.5 ppm	0.47 B	0.49 Bc	0.51Abc	0.55Ac	5.33*
	3 ppm	0.47 B	0.79 Ab	0.79 Ab	0.85 Ab	72.37*
	10 ppm	0.47B	1.00 Ba	1.06ABa	1.16 Aa	7.27*
	F	-	110.43*	169.44*	338.97*	
Kalp	0.5 ppm	0.28 C	0.38 Bc	0.42 Ab	0.44 Ac	31.48*
	3 ppm	0.28 C	0.44 Bb	0.46 Bb	0.53 Ab	136.87*
	10 ppm	0.28 C	0.51 Ba	0.53 Ba	0.57 Aa	105.72*
	F	-	44.30*	14.23*	30.23*	
Kas	0.5 ppm	0.21 C	0.23 Cb	0.26 Bc	0.33 Ab	22.24*
	3 ppm	0.21 B	0.27 Ab	0.33 Ab	0.37 Ab	17.87*
	10 ppm	0.21 C	0.35 Ba	0.44 Aa	0.44 Aa	31.51*
	F	-	9.81*	1.47-	3.26-	

- : Grup ortalamaları arası fark önemsizdir.

* : Grup ortalamaları arası fark önemlidir ($p < 0.01$).

A,B,C : Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası fark önemlidir.

a,b,c: Aynı sütunda farklı harf taşıyan gruplar arası fark önemlidir.

Tablo 3: Farelere periton içi yolla 1 ve 2 mg/kg selenyum verilmesinden sonra kan, karaciğer ve böbrek selenyum düzeylerinin (ppm) zamana göre değişimi.

Zaman	KAN			KARACİĞER			BÖBREK		
	Kontrol	1 mg/kg	2 mg/kg	Kontrol	1 mg/kg	2 mg/kg	Kontrol	1 mg/kg	2 mg/kg
5. Dk	0.31	1.92	1.80	1.21	3.67	4.56	0.72	1.87	2.66
10. Dk	0.31	1.94	1.87	1.21	5.31	6.65	0.72	2.32	4.65
15. Dk	0.31	1.60	2.10	1.21	6.35	9.11	0.72	2.27	5.27
30. Dk	0.31	1.08	2.13	1.21	7.62	9.54	0.72	5.40	8.96
1. S	0.31	0.88	1.69	1.21	4.90	12.15	0.72	6.22	13.44
2. S	0.31	0.76	1.70	1.21	4.56	17.02	0.72	2.84	7.13
4. S	0.31	0.76	1.50	1.21	4.51	13.90	0.72	2.69	3.44
8. S	0.31	0.71	1.49	1.21	3.58	9.78	0.72	1.65	3.56
24. S	0.31	0.48	1.19	1.21	1.83	4.31	0.72	1.27	2.11
48. S	0.31	0.40	0.84	1.21	1.58	1.96	0.72	1.25	1.87
72. S	0.31	0.30	0.45	1.21	1.16	1.44	0.72	0.97	1.81
Ort.	0.31c	0.98b	1.52a	1.21c	4.09b	8.22a	0.72c	2.61b	4.99a
F	-	54.23*	68.45*	95.23*	10.06	110.58*	224.89*	325.62*	412.57*

-: Grup ortalamaları arası fark önemsizdir.

*: Grup ortalamaları arası fark önemlidir (p<0.001).

a,b,c: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası fark önemlidir.

Tablo 4: Farelere periton içi yolla 1 ve 2 mg/kg selenyum verilmesinden sonra dalak, kalp ve kas selenyum düzeylerinin zamana göre değişimi.

Zaman	DALAK			KALP			KAS		
	Kontrol	1 mg/kg	2 mg/kg	Kontrol	1 mg/kg	2 mg/kg	Kontrol	1 mg/kg	2 mg/kg
5. Dk	0.60	2.00	3.63	0.56	0.97	1.14	0.21	0.20	0.21
10. Dk	0.60	4.22	3.71	0.56	1.89	1.17	0.21	0.21	0.23
15. Dk	0.60	4.83	4.24	0.56	1.76	2.31	0.21	0.23	0.46
30. Dk	0.60	1.33	4.29	0.56	1.61	2.10	0.21	0.28	0.54
1. S	0.60	1.23	3.17	0.56	1.14	1.87	0.21	0.24	0.61
2. S	0.60	1.12	1.96	0.56	1.00	1.53	0.21	0.26	0.59
4. S	0.60	1.05	1.84	0.56	1.01	1.51	0.21	0.24	0.64
8. S	0.60	1.04	1.85	0.56	0.79	1.54	0.21	0.35	0.64
24. S	0.60	0.77	1.41	0.56	0.67	1.18	0.21	0.43	0.61
48. S	0.60	0.76	1.01	0.56	0.66	0.88	0.21	0.34	0.53
72. S	0.60	0.69	1.04	0.56	0.67	0.91	0.21	0.25	0.54
Ort.	0.60c	1.73b	2.55a	0.56c	1.10b	1.46a	0.21b	0.27b	0.50a
F	-	14.20*	88.15*	-	101.06*	112.48*	-	12.57*	25.62*

-: Grup ortalamaları arası fark önemsizdir.

*: Grup ortalamaları arası fark önemlidir (p<0.001).

a,b,c: Aynı satırda farklı harf taşıyan gruplar arası fark önemlidir.

Tartışma ve Sonuç

Selenyum, doğada organik ve inorganik bileşikler halinde bol miktarda bulunur. Canlılar tarafından selenyumlu bileşik ve bitkilerin alınmasına bağlı olarak akut, subakut ve kronik zehirlenmeler oluşmaktadır (Levander ve Baumann, 1966; Levander ve Morris, 1970; Echevarria ve ark., 1988; Whanger ve ark., 1993).

Palmer ve Olson (1973) tarafından yapılan bir çalışmada içme suyu içinde 3 ppm selenyum verilen ratlarda günlük ortalama su tüketiminde azalmaya sebep olduğu belirtilmiştir. Tablo 1 incelendiğinde 0.5, 3 ve 10 ppm dozlarında içme suyu ile selenyum verildiğinde farelerde günlük ortalama su tüketiminin 0.5 ppm'lik dozda kontrol grubuna yakın miktarlarda olduğu, 3 ve 10 ppm'lik dozlarda ise kontrol grubuna göre düşük olduğu görülmüştür.

Bazı araştırmacılar (Mahan ve Moxon, 1978; Meyer ve ark., 1981; Baker ve ark., 1989) deney hayvanlarında yaptıkları çalışmalarda farklı dozlarda (0.1-2 ppm ile 26 ppm) selenyum verildiğinde kan selenyum düzeylerinin kontrol grubuna göre yükseldiğini belirtmişlerdir. Tablo 2 incelendiğinde ağız yolu ile farelere 0.5, 3 ve 10 ppm dozlarında içme suyu ile selenyum verilmesinden sonra alınan kan örneklerindeki selenyum düzeyleri 30. günden itibaren normal değerlere göre artmaya başladığı, 90. günde dozlara göre sırasıyla 0.53, 0.80 ve 1.76 ppm değerleriyle doruk noktaya ulaştığı tespit edilmiştir.

Baker ve ark. (1989) tarafından yapılan bir çalışmada hayvanlara sodyum selenit şeklinde ağız yolu ile verilen selenyumun karaciğer, böbrek, kalp ve kas gibi dokularda selenyum düzeylerini doza ve zamana göre artırdığı gösterilmiştir. Tablo 2, 3, 4 incelendiğinde ağız ve periton içi yolla verilen tüm dozlarda selenyum başta karaciğer ve böbrek olmak üzere dalak, kalp ve kas gibi organlarda selenyum düzeylerini dozlara ve zamana göre artırdığı görülmüştür ($p < 0.001$).

Yapılan bazı çalışmalarda (Levander ve Baumann, 1970; Echevarria ve ark., 1988; Janghorbani ve ark., 1990) ağız yolu ile alınan selenyumun doza bağlı olarak en fazla sırasıyla karaciğer, böbrek, dalak, kalp ve kan gibi dokularda biriktiği belirtilmiştir. Ayrıca, aynı çalışmalarda akut selenyum zehirlenmelerinde safrada 2-5 ppm düzeyinde selenyum bulunduğu ve en önemli hedef dokunun karaciğer olduğu bildirilmiştir. Yapılan bu çalışmada ilgili tablolar incelendiğinde doza bağlı olarak en yüksek düzeyde

karaciğerde biriktiği, bunu böbrek, dalak, kalp ve kan gibi dokuların izlediği görülmektedir. Bu çalışmada elde edilen sonuçlar yukarıdaki araştırmacıların görüşlerini doğrulamaktadır.

Sonuç olarak ağız ve periton içi yolla farklı doz ve zaman aralıklarında verilen selenyumun doza bağlı olarak kan ve dokulardaki düzeylerinin değiştiği, en yüksek düzeylerde karaciğerde biriktiği, bunu böbrek, dalak, kalp ve kan gibi dokuların izlediği belirlenmiştir.

Kaynaklar

- Baker, D.C., James, L.F., Hartley, W.J., Panter, K.E., Maynard, H.F., Pfister, J. (1989). Toxicosis in Pigs Selenium Accumulating Astragalus Plant Species or Sodium Selenate. *Am. J. Vet. Res.*, 50, 8, 1396-99.
- Bellisola, G., Bratter, P., Cingue, G., Froncia, G., Gallassini, S., Gavlik, D., Negretti de Bratter, V.E., Azzolina, L. (1998). The TSH-Dependent Variation of the Essential Elements Iodine, Selenium and Zinc Within Human Thyroid Tissues. *J. Trace Elem. Med. Biol.*, 12,3, 177-82.
- Burguera, J.L., Burguera, M., Gallinani, M., Alarcon, O.M., Burguera, J.A. (1990). Blood Serum Selenium in the Province of Merida, Venezuela, Related to Sex, Cancer Incidence and Soil Selenium Content. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.*, 4, 73-77.
- Combs, G.F., Combs Stephanie. B. (1986). The Role of Selenium in Nutrition. Academic Pres Inc., London.
- Combs, G.F., Gray, W.P. (1998). Chemopreventive Agents: Selenium. *Pharmacol. Ther.*, 79, 3, 179-92.
- Düzgüneş, O., Kesici, T., Gürbüz, F. (1983). İstatistik Metotları, I. Ankara Üniversitesi Ziraat Fakültesi Yayınları, 861, Ankara.
- Echevarria, M.G., Henry, P.R., Ammerman, C.B., Rao, P.V. (1988). Effects of Time and Dietary Selenium Concentration as Sodium Selenite on Tissue Selenium Uptake by Sheep. *J. Anim. Sci.*, 66, 2299-2305.
- Ellenhorn, M.J., Barceloux, D.G. (1988). Metals and Related Compounds. In: *Medical Toxicology Diagnosis and Treatment of Human Poisoning*, p. 1059-1060, London.
- Gladyshev, V.N., Factor, V.M., Housseau, F., Hatfield, D.L. (1998). Contrasting Patterns of Regulation of the Antioxidant Selenoproteins, Thioredoxin Reductase and Glutathione Peroxidase, in Cancer Cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 251, 2, 488-93.
- Gladyshev, V.N., Hatfield, D.L. (1999). Selenocysteine-Containing Proteins in Mammals. *J. Biomed. Sci.*, 6, 3, 151-60.
- Gladyshev, V.N., Krause, M., Xu, X.M., Korotkov, K.V., Kyrukov, G.V., Sun, Q.A., Lee, B.J., Wootton, J.C., Hatfield, D.L. (1999). Selenocysteine-Containing Thioredoxin Reductase in C.Elegans. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 259, 2, 244-249.
- Hagmar, L., Persson-Moschos, M., Akesson, B., Schutz,

- A. (1998). Plasma Levels of Selenium, Selenoprotein P and Glutathione Peroxidase and Their Correlation to Fish Intake and Serum Levels of Thyrotropin Hormones: A Study on Latvian Fish Consumers. *Eur. J. Clin. Nutr.*, 52, 11, 796-800.
- Janghorbani, M., Rockway, S., Mooers, C.S., Robert, E.M., Ting, B.T.G, Sitrin, M.D. (1990). Effect of Chronic Selenite Supplementation on Selenium Excretion and Organ Accumulation in Rats. *J. Nutr.*, 120, 274-279.
- Knekt, P., Marniemi, J., Teppo, L., Heliövaara, M., Aromaa, A. (1998). Is Low Selenium Status a Risk Factor for Lung Cancer? *Am. J. Epidemiol.*, 148, 10, 975-82
- Levander, O.A., Baumann, C.A. (1966). Selenium Metabolism. Effect of Arsenic on the Excretion of Selenium in the Bile. *Toxicology and Applied Pharmacology*, 9, 106-115.
- Levander, O.A. and Morris, V.C. (1970). Interactions of Methionine, Vitamin E and Antioxidants in Selenium Toxicity in the Rat. *J. Nutrition*, 100, 1111-1118.
- Marczenko, Z. (1976). Spectrophotometric Determination of Elements. Ellis Horwood Limited Warsaw, Poland, USA, 475-479.
- Mahan, D.C., Moxon, A.L. (1978). Effects of Adding Inorganic Selenium Sources to the Diets of Young Swine. *J. Anim. Sci.*, 47, 2, 457-466.
- Meyer, W.R., Mahan, D.C., Moxon, A.I. (1981). Value of Dietary Selenium and Vitamin E for Weaning Swine as Measured by Performance and Tissue Selenium and Glutathione Peroxidase Activities. *J. Anim. Sci.*, 52, 2, 302-311.
- Neve, J., Hanocq, M., Malle, L. (1983). Study of Factors Affecting the Efficiency of the Wet Digestion Procedures for the Total and/or Differential Determination of Selenium in Biological Materials. *Anal. Chem.*, In: *Med. and Biol.*, 859-876.
- Palmer, I.S., Olson, O.E. (1973). Relative Toxicities of Selenite and Selenate in the Drinking Water of Rats. *J. Nutr.*, 104, 306-314.
- Read, R., Bellew, T., Yang, J.G., Hill, K.E, Palmer, I.S., Burk, R.F. (1990). Selenium and Amino Acid Composition of Selenoprotein P, the Major Selenoprotein in Rat Serum. *The Journal of Biological Chemistry*, 265, 29, 17899-17905.
- Thines, C.H., Haley, T.J. (1972). *Clinical Toxicology*, Henry Kimpton Publishers, London.
- Whanger, P., Xia, V., Thomson, C. (1993). Metabolism of Different Forms of Selenium in Humans. *J. Trace Elem. Electrolytes Health Dis.*, 7, 121.