

Aerosole Maruz Kalan İşçilerde, Serum Antioksidan Vitaminler (A, E, C), Selenyum ve Malondialdehit Düzeyleri

Serum Antioxidant Vitamins (A, E, C), Selenium and Malondialdehyde Levels in Workers Exposed to Aerosol

Fikret Karataş¹, Tuncer Tuğ², Vahit Konar³

¹Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Elazığ, Türkiye

²Abant İzzet Baysal Üniversitesi Tıp Fakültesi, Göğüs Hastalıkları Anabilim Dalı, Bolu, Türkiye

³Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Biyoloji Bölümü, Elazığ, Türkiye

ÖZET

Boyacılık mesleğinde çalışmakta olan ve çalıştıkları ortamında kullanılan aerosol şeklindeki boya ürünlerine inhalasyon yoluyla maruz kalan kişilerin serumlarında antioksidan vitaminler (A, E, C), malondialdehit (MDA) ve selenyum (Se) düzeylerinin, normal kontrol değerlerine göre değişimleri araştırıldı. Boyacılık mesleğinde çalışan 20 kişi ve kontrol grubu olarak saptanan sağlıklı 22 kişinin serum vitamin A, E, C, MDA ve Se düzeyleri HPLC ile belirlendi. Kontrol grubuna göre, boyacıların vitamin A, E ve Se düzeyleri düşük bulundu ($p<0.05$). Boyacıların MDA düzeylerinde kontrol grubu değerlerine göre yükseklik ($p<0.005$) saptanırken; C vitamini düzeylerinde farklılık olmadığı belirlendi ($p>0.05$). Sonuç olarak, boyacılarda serbest radikal aktivitenin (oksidatif stresin) anlamlı düzeyde arttığı; buna karşın non-enzimatik antioksidan sistemi yansıtan parametrelerin serum düzeylerinde düşüklük (vitamin A ve E ve Se) saptanmıştır. Bu sonucun, endojen antioksidan savunmanın serbest radikal artışını karşılayamaması sonucu gelişen tüketim artışına mı, yoksa bir başka etkenin yol açtığı antioksidan vitamin ve Se yetersizliğine mi bağlı olduğunun belirlenmesi bu çalışmanın daha ileri bir aşaması olmalıdır.

Anahtar sözcükler: aerosol, vitaminler, selenyum, HPLC

Geliş tarihi: 02.04.2007

Kabul tarihi: 16.08.2007

ABSTRACT

We investigated serum antioxidant vitamins (A, E and C), selenium (Se) and malondialdehyde (MDA) levels in subjects who were exposed to aerosol (dye products) via inhalation, as compared to unexposed control subjects. Twenty paint workers and 22 controls participated for this study. The serum vitamins (A, E, C) MDA and Se levels in both groups were measured using HPLC. The levels of vitamin A, E and selenium levels were significantly decreased in workers ($p<0.05$), while serum MDA levels were significantly increased ($p<0.005$), and the levels of vitamin C were almost the same in dye paint workers as in the control subjects ($p>0.05$). Free radical activity (oxidative stress) levels were increased whereas non-enzymatic parameters were decreased in painters exposed to aerosol inhalation compared to controls. To determine whether the observed results were related to endogen antioxidant deficiency or vitamin deficiency or Se levels deficiency, or whether another unknown agent is involved requires further investigation.

Key words: aerosol, vitamins, selenium, HPLC

Received: 02.04.2007

Accepted: 16.08.2007

GİRİŞ

Günümüz dünyasında önemli bir endüstriyel ürün olan boya, hem sanayide hem de günlük yaşamda yoğun ve yaygın bir şekilde kullanılmaktadır. Genellikle, endüstriyel boyaların içerisinde parlaticı cilalar, tutkallar ve organik çözücüler gibi birçok kimyasal katkı maddesi bulunmaktadır [1]. Boyaların viskozitesinin azaltılmasında kullanılan bir katkı maddesi olan selülozik tiner ise birden fazla organik çözücülerden oluşmaktadır. Tiner, toluen, benzen ve ksilen benzeri organik çözücüler solunduğunda toksik reaktif ok-

sijen bileşiklerinin aşırı üretilmesine sebep olmaktadır. Ayrıca tinerin yapısında bulunan toluenin, lipofilik özelliğinden dolayı hücre duvarının lipid yapısını ve miyelin kılıfını etkilediği bilinmektedir. Toluene aşırı solunması sonucu oluşan oksidatif stres, hücre membranlarında lipid peroksidasyonuna neden olmaktadır. Toluene maruz kalınma süresi ile lipid peroksidasyonu ürünleri arasında anlamlı bir ilişkinin varlığı da rapor edilmiştir [2-4].

Meslekleri gereği iş yeri ortamında aerosol halde bulunan sentetik-endüstriyel boya ürünlerine inhalasyon yoluyla maruz kalan kişilerde mortalite ve morbidite belirgin olarak artmaktadır. Uçucu maddelerin kalp-damar sistemi üzerinde de ciddi toksik etkilerinin olduğu ve ölümcül

Yazışma Adresi: Dr. Fikret Karataş, Fırat Üniversitesi Fen Edebiyat Fakültesi, Kimya Bölümü, Elazığ, Türkiye Tel.: +90 424 237 00 00 E-posta: fkaratas1@hotmail.com

ritm bozukluklarına yol açabileceği bilinmektedir. Endüstriyel alanda özellikle toluenin yüksek dozlarda kullanılması, kronik ensefalopati ve epileptik nöbetlere sebep olduğu bildirilmiştir [5,6].

Oksijenli solunum yapan canlılarda, metabolik olaylar sırasında oksijenin kullanımı sonucu serbest oksijen radikalleri doğal olarak oluşmaktadır. Aktif oksijen radikalleri olarak bilinen süperoksit (O_2^-), hidrojen peroksit (H_2O_2), serbest hidroksil radikali ($HO\cdot$) ve bunların etkisiyle oluşan lipid peroksitleri ve diğer benzer türevler, hücrenin farklı kısımlarında bulunan protein, karbonhidrat, lipid ve DNA gibi önemli yapısal ve fonksiyonel molekülleri etkileyerek önemli değişikliklere neden olurlar. Özellikle hücre zarında bulunan doymamış yağ asitleri, serbest radikaller için çok iyi birer hedefidir [7,8].

A, E ve C vitaminleri ve Se gibi enzimatik olmayan antioksidanlar, serbest oksijen radikallerinde (SOR) bulunan yüksek enerjili elektronları yapılarına alarak SOR'nin meydana getireceği oksidatif hasarın azaltılmasına katkıda bulunurlar [9]. Organizmada süperoksit radikalleri enzimatik dismutasyonla temizlenirken, antioksidan olarak bilinen bileşikler de oksijen radikallerinin yok edilmesini sağlarlar. Antioksidan bileşikler arasında bulunan A, E ve C vitaminleri ile selenyum (Se) bu savunmada önemli rol oynamaktadırlar [10].

Bu çalışmada, mesleki iş ortamında aerosol halde bulunan endüstriyel sentetik boya ürünlerine inhalasyon yoluyla maruziyetin, oto ve mobilya boyacılığı gibi endüstriyel iş kollarında çalışan kişilerin serumlarında antioksidan vitaminler (A, E ve C), Se ve MDA düzeylerini etkileme dereceleri araştırılmıştır.

GEREÇ VE YÖNTEM

Çalışma grubu, Elazığ ili sanayi sitesinde oto ve mobilya boyama işinde çalışan, ilaç, sigara ve alkol alışkanlığı bulunmayan, en az 15 yıldan beri bu mesleği yapan, araştırılan parametreleri etkileyebilecek bir başka kronik hastalığı bulunmayan ve yaş ortalaması 33.77 ± 6.98 yıl olan toplam 20 kişiden (20 erkek) oluşturuldu.

Kontrol grubu olarak seçilen kişiler, alkol, sigara ve sürekli ilaç kullanmayan, boya ve organik çözücüler yada diğer kimyasal ürünlerle mesleki olarak direkt ilişkisi olmayan, son altı ay içinde radyografik olarak herhangi bir tetkik yaptırmamış ve araştırma sırasında akut yada kronik bir enfeksiyon hastalığı saptanmayan bireylerden oluşturuldu. Kontrol grubu yaş ortalaması 30.58 ± 5.32 yıl olan 22 erkekten oluşuyordu. Çalışma ve kontrol grubunu oluşturan bireylerden alınan kanlar hemen santrifüj edilerek serumları ayrıştırıldı. Normal tüplerden elde edilen serumlar ise en geç ertesi gün çalışılmak üzere polietilen tüplere alınarak $-20^\circ C$ 'de derin dondurucuda saklandı.

A ve E Vitaminlerinin Tayini: 0.4 ml serum üzerine 1.5 ml etil alkol ilave edilerek vortekste karıştırıldı. Daha sonra karışım 2000 devirde 3 dakika santrifüje edildi ve üzeri-

ne 0.2 ml n-hekzan ilave edilerek çalkalandı, böylece A ve E vitaminleri n-hekzan fazına ekstrakte edildi. Bu ekstraksiyon işleminin iki kez tekrarı ile elde edilen ve birleştirilen n-hekzan fazları azot gazı altında kuruyuncaya kadar buharlaştırıldı. Tüpteki kalıntı 0.2 ml metanolle çözülerek High performance liquid chromatography (HPLC)'de analize hazır hale getirildi. A ve E vitaminlerinin tayininde ODS-2 kolonu ve metanol:asetonitril:kloroform (47:42:11, v/v) karışımından oluşmuş mobil faz kullanıldı. Mobil fazın akış hızı 1 ml.dk-1 olarak ayarlandı. E vitamini 296 nm, A vitamini 326 nm'de tayin edildi [11,12].

C Vitamini ve Malondialdehit Tayini: Serum örneğinden 0.3 ml alınarak üzerine 0.5M $HClO_4$ 'den 0.3 ml ilave edilerek proteinler çöktürüldü. Sonra saf su ile toplam hacim 1.5 ml'ye tamamlanarak çözelti santrifüjlenip çökelek ve süzütünün ayrılması sağlandı [13]. Daha sonra üstteki süzütünden 20 μL alınarak HPLC'de Mobil faz: 3.7 mM KH_2PO_4 (pH: 4, H_3PO_4 ile) Akış hızı:1ml dk-1. Dalgaboyu: 245 nm'de C18 kolonu kullanılarak C vitamini tayin edildi [14]. Aynı şekilde, mobil faz 30 mmol KH_2PO_4 ve metanol karışımı (%65-%35, H_3PO_4 ile pH=4) olan ve akış hızı 1.5 ml/dk'ya ayarlanarak 254 nm'de ise malondialdehit (MDA) miktarı belirlendi [15].

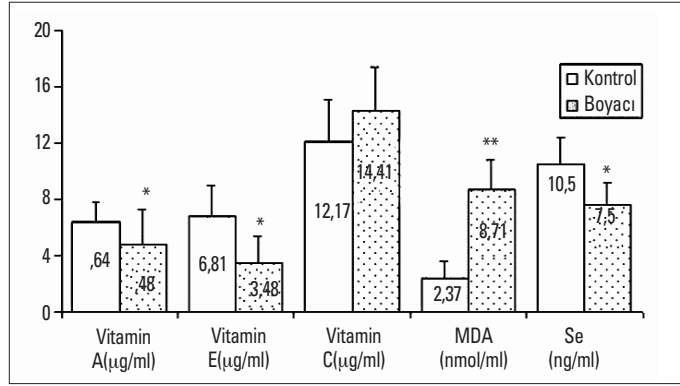
Selenyum Tayini: 1.0 ml serum örneği (1:5, v/v oranında) perklorik asit ve nitrik asit karışımında teflon bomba içerisinde parçalandı [16]. Daha sonra 1, 2- diaminobenzen çözeltisi ile kompleks oluşturuldu. Kompleks n-hekzan fazına alınarak HPLC'ye enjekte edildi. HPLC'de ODS-2 kolonunda mobil faz olarak 1:1 oranında metanol:su karışımı (pH: 4) 1 ml/dk hızla geçirilerek 332 nm'de, Se tayin edildi [17].

İstatistik: İstatistiksel değerlendirmeler SPSS 10.0 bilgisayar programı ile yapıldı. Veriler aritmetik ortalama \pm standart sapma (ortalama \pm SD) olarak verildi ve gruplar arası karşılaştırmalarda Student t testi kullanıldı. $p < 0.05$ anlamlılık düzeyi olarak kabul edildi.

BULGULAR

Kontrol grubunun yaşı 30.58 ± 5.32 yıl iken, boyacılık yapanları ise 33.77 ± 6.98 yıl olup her iki grup arasında istatistiksel açıdan anlamlı bir fark olmadığı belirlenmiştir ($p > 0.05$).

Ayrıca kontrol grubunun serum A, E ve C vitamini, MDA ve Se miktarları sırası ile 0.64 ± 0.14 , 6.81 ± 2.20 , 12.17 ± 2.90 $\mu g/ml$, 2.37 ± 1.30 nmol/ml ve $105,00 \pm 19.00$ ng/ml olarak belirlendi. Boyacılık yapanlarda ise sırası ile 0.48 ± 0.25 , $3.48 \pm 1,90$, $14.31 \pm 3,10$ $\mu g/ml$, $8.71 \pm 2,10$ nmol/ml, 76.00 ± 16.00 ng/ml olarak bulundu (Şekil 1). Boya yapan kişilerin serum vitamin A ve E ile Se düzeylerinin, kontrol grubuna göre anlamlı derecede düşük oldukları ($p < 0.05$) tespit edildi. Oysa kontrol grubu ve boya yapan kişilerin serum C vitamini değerleri arasında istatistiksel bir fark olmadığı ($p > 0.05$) belirlenirken, boya yapan kişilerin serum MDA değerlerinin, kontrol grubuna göre önemli düzeyde yüksek ($p < 0.005$) olduğu gözlemlendi.



Şekil 1. Çalışma grubunun serum vitamin A, E, C, MDA ve Se değerlerinin, kontrol değerleriyle karşılaştırılması

* Anlamlılık düzeyi $p < 0.05$, ** ise $p < 0.005$ anlamlılık düzeyini temsil etmektedir.

TARTIŞMA

İnhalasyon yolu ile alınan tiner, toluen, benzen ve ksilen gibi organik çözücü özellikteki kimyasalların vücut metabolizması üzerinde oldukça zararlı etkileri vardır [18]. Bu maddelerin serbest radikal oluşumunu artırdığı ve organik çözücülere maruz kalınma süresi ile lipid peroksidasyonu ürünlerindeki artış arasında anlamlı bir ilişkinin varlığı rapor edilmiştir [3,19]. Genel olarak, bu tür maddelerin toksik etkisi, reaktif oksijen bileşiklerinin (reactive oxygene species, ROS) aşırı miktarlarda oluşması şeklinde ortaya çıkmakta ve oluşan ROS'lar biyolojik membranlarda lipid peroksidasyonuna yol açarak yüzden fazla hastalığın oluşum ve ilerlemesinden sorumlu tutulmaktadır [3,18,20]. Oluşan lipid peroksiditler hızlıca parçalanır ve reaktif karbon bileşiklerini oluşturur. Bu reaktif karbon bileşikleri arasında en önemlisi MDA olup, yaygın olarak lipid peroksidasyonunun bir göstergesi olarak kullanılmaktadır [21].

Şekil 1 incelendiğinde, çalışma grubumuzu oluşturan ve boya yapan kişilerin serum MDA değerlerinin, kontrol grubumuzdaki kişilere göre önemli düzeyde yüksek olduğu gözlenmiştir ($p < 0.005$). İş yeri ortamında kullanılan boya, boya yapan kişilerde ciddi ölçülerde lipid peroksidasyonuna sebep olduğu ve lipid peroksidasyonundaki bu artışa bağlı olarak ta MDA düzeyinin arttığı söylenebilir. Çalışma grubundan elde edilen veriler, eğer gerekli önlemler alınmazsa, çalışma ortamında atmosferik aerosol şeklinde bulunan mesleki kimyasalların inhalasyonu nedeniyle bu meslek grubunun ciddi toksik etkilere maruz kalabileceğini düşündürmektedir.

A ve C vitaminleri singlet oksijen temizleyici özellikleri nedeniyle diğer oksijen radikallerine karşı da koruyucu etki yapabilirler [22]. E vitamini eksikliği olan deneklerde metabolik aktivite sonucu oluşan hidroperoksiditler, aldehidler ve diğer oksidasyon ürünlerinin arttığı, buna karşın E vitamini verilen deneklerde ise lipid peroksidasyonuna sebep olan serbest radikal oluşumunun azaldığı gözlenmiştir [23].

C vitamini (Askorbik asit) güçlü indirgeyici aktiviteye sahip olduğundan aynı zamanda güçlü bir antioksidandır. Süperoksit ve hidroksil radikali ile kolayca reaksiyona girecek onların inaktive edilmesinde rol oynar [24,25]. Se, α -tokoferolün bozulmasını, önlemede etkilidir [26]. Aynı zamanda Se, serbest oksijen radikallerinin üretimini inhibisyonu yoluyla da hücreyi korur [27]. α -tokoferol serbest radikalleri yakalayarak lipid peroksidasyonu durdurur. Bu işlemlerde α -tokoferol, α -tokoferoksil radikaline dönüşür [28].

Boya yapan kişilerin serumlarındaki A ve E vitamini ile Se düzeylerinin, kontrol grubu değerlerine göre anlamlı derecede daha düşük ($p < 0.05$) olduğu gözlenmiştir. Oysa kontrol grubu ve boya yapan kişilerin serum C vitamini değerleri arasında istatistiksel bir fark olmadığı ($p > 0.05$) belirlenmiştir (Şekil 1).

Non-enzimatik antioksidan sistemi yansıtan bazı parametrelerin serum düzeylerinde düşüklük (vitamin A ve E, ve Se) saptanması, bu meslek grubunda endojen antioksidan savunmanın serbest radikal artışını karşılayamaması sonucu gelişen tüketim artışına mı, yoksa bir başka etkenin yol açtığı antioksidan vitamin ve Se yetersizliğine mi bağlı olduğunun belirlenmesine yönelik daha kapsamlı çalışmaların gerekliliğini düşündürmektedir. Güçlü antioksidan özellik gösteren C vitaminin değişmemiş olması ise boyacıların beslenme alışkanlıkları ile açıklanabilir. Çünkü C vitamini suda çözünen bir vitamin olup vücutta depolanamaz. Düzenli ve yeterli beslenme alışkanlığı olan kişilerde, diyet ile rahatça karşılanabildiğinden dolayı C vitamini eksikliği gözlenmeyebilir.

SONUÇ

Endüstriyel sentetik boyalar ile mobilya ve metal sanayinde boyama işlemi yaygın olarak, bu boya boyanacak yüzey sathına püskürtme şeklinde uygulanması ile gerçekleştirilmektedir. Bu işlem sırasında boya ve içeriğindeki organik çözücüler ve diğer kimyasal katkıların aerosol halde ortam havasında yüksek yoğunluklara ulaştığı bilinmektedir. Ayrıca, boya ürünleri içerisinde karışım halinde bulunan organik çözücüler de uçucu olduğundan boya yapan kişilerin bu çözücülerini tenneffüs etmesi kaçınılmazdır.

Sonuçlarımız, boya ürünlerinin mesleki olarak sıklıkla kullanıldığı iş kollarında ortam havasında bulunan uçucu kimyasal ve organik çözücülere inhalasyon yoluyla maruz kalınmasının, endojen serbest radikal oluşumunda ciddi bir artışa yol açabileceğini düşündürmektedir. Ayrıca bu meslek kolunda çalışanların serumlarında A, E vitamini ve Se düzeylerinde önemli derecede azalmalar olabileceği de belirlenmiştir.

Bu özellikteki işyerlerinde veya çalışma ortamlarında ortam havasındaki kirliliğin ve zararlı aerosollerin inhalasyonu sonucu, bu ortamlarda çalışan kişilerde organik ve moleküler düzeyde ciddi sistemik hasarların oluşabileceği endişesini taşımaktayız. Gerek işyeri sorumlularının gerekse işyerinde boyama işleminde aktif olarak çalışan kişile-

rin, işlemin zararları ve koruyucu önlemler konusunda yeterli bilgi ve duyarlılıktan yoksun oldukları izlenimi edinilmiştir. En azından çalışma grubumuzda, mesleki risk faktörlerinin yeterince önemsenmediği veya bu konuda çalışanların bilinçlendirilmediği ve gerekli kontrol mekanizmalarının yeterli olmadığı düşünülebilir. Boya ile uğraşan kişilerin kesinlikle standart ölçülere uygun, etkin koruyuculukta maske kullanmaları konusunda bilinçlendirilmesi, uyarılmaları ve hatta maske kullanımlarının zorunlu hale getirilmesi, ayrıca antioksidan vitaminler ve Se desteği almalarında yarar olabileceği düşüncesindeyiz.

KAYNAKLAR

- Spandorfer M, Curtiss D, Snyder JW. Health hazards in drawing and painting. *Occup Med* 2001; 16: 535-55.
- Mattia CJ, Ali SF, Bondy SC. Toluene-induced oxidative stress in several brain regions and other organs. *Mol Chem Neurobiol* 1993; 18: 313-28.
- Ulakoğlu EZ, Saygı A, Gümüştaş MK et al. Kronik tiner inhalasyonun sıçan akciğer karaciğer dokuları lipid peroksidasyonlarına etkisi. *Cerrahpaşa J Med* 1998; 29: 75-8.
- Mattia CJ, LeBel CP, Bondy SC. Effect of toluene and its metabolites on cerebral reactive oxygen species generation. *Biochem Pharmacol* 1991; 42: 879-82.
- Uzun N, Karaali Savrun F, Meral E. Kronik toluen ve n-heksan intoksikasyonunda periferik sinir sistemi hasarı: elektrofizyolojik inceleme. *Cerrahpaşa Tıp Dergisi* 2001; 32: 142-50.
- King MD, Day RE, Oliver JS et al. Solvent encephalopathy. *Br Med J* 1999; 31: 620-34.
- Bianchi G, Solaroli E, Zaccheroni V et al. Oxidative stress and anti-oxidant metabolites in patients with hyperthyroidism: effect of treatment. *Horm Metab Res* 1999; 31: 620-4.
- Diplock AT. Antioxidant nutrients and disease prevention: an overview. *Am J Chim Nutr* 1991; 53: 1895-935.
- Aslan, S. Modern Teşhis İlaç ve Tedavi. Beta Basım Yayın Dağıtım, İstanbul, I. Cilt 1985; 258-73.
- Jain SK, Levine SN. Elevated lipid peroxidation and vitamin E-quinone levels in heart ventricles of streptozotocin-treated diabetic rats. *Free Radic Biol Med* 1995; 18: 337-41.
- Catignani GL. Simultaneous determination of retinol and α -tocopherol in serum or plasma by liquid chromatography. *Clin Chem* 1983; 29: 708-12.
- Miller KW, Lorr NA, Yang CS. Simultaneous determination of plasma retinol α -tocopherol, lycopene, α -carotene, and β -carotene by high performance liquid chromatography. *Analytical Biochem* 1984; 138: 340-5.
- Cerhata D, Bauerova A, Ginter E. [Determination of ascorbic acid in blood serum using high-performance liquid chromatography and its correlation with spectrophotometric (colorimetric) determination] *Ceska-Slov-Farm* 1994; 43: 166-8.
- Tavazzi B, Lazzarino G, Di-Pierro D, Giardina B. Malondialdehyde production and ascorbate decrease are associated to the eperfusion of the isolated postischemic rat heart. *Free Radic Biol Med* 1992; 13: 75-8.
- Karatas F, Karatepe M, Baysar A. Determination of free malondialdehyde in human serum by high performance liquid chromatography. *Anal Biochem* 2002; 311: 76-9.
- Breyer PH, Gilbert BP. Determination of selenium (IV) differential pulse voltametry of the 3,3'-diaminobenzidine piarselenol. *Analytica Chimica Acta* 1987; 201: 23-32.
- Araın MA, Khuhawar MY, Bhangar MI. Liquid chromatographic determination of selenium in vegetables and tea leaves as 2,1,3-benzoselenadiazole. *J Chem Soc Pak* 1999; 21: 137-40.
- Halifeoğlu İ, Karataş F, Üstündağ B ve ark. Tiner ile çalışan kişilerde tiner solumanın antioksidan vitaminler üzerine etkisi. *Biyokimya Dergisi* 1999; 24: 29-32.
- Mattia CJ, Adams JD, Bondy SC. Free radical induction in the brain and liver by products of toluene catabolism. *Biochem Pharmacol* 1993; 46: 103-10.
- Suleiman SA. Petroleum hydrocarbon toxicity in vitro: Effect of n-alkanes, benzene and toluene on pulmonary alveolar macrophages and lysosomal enzymes of the lung. *Arch Toxicol* 1987; 59: 402-7.
- Cheesman KH, Slater TF. Introduction to free radical biochemistry. *Br Med Bull* 1993; 49: 481-93.
- Kılınç K. Oksijen radikalleri, üretilmeleri, fonksiyonları, toksik etkileri. *Biyokimya Dergisi* 1985; 10: 60-89.
- Chow CK. Vitamin E and oxidative stress. *Free Radic Biol Med* 1991; 11: 215-32.
- Akkuş İ. Serbest radikaller ve fizyopatolojik etkileri, Mimoza Yayınları, Konya 1995.
- Granado F, Olmedilla B, Gil-Martinez E et al. Carotenoids, retinol and tocopherols in patients with insulin-dependent diabetes mellitus and their immediate relatives. *Clin Sci (Colch)* 1998; 94: 189-95.
- Van Metre DC, Callan RJ. Selenium and vitamin E. *Vet Clin North Am Food Anim Pract* 2001; 17: 373-402.
- Morris R, Slater A. Vitamin E and lipid peroxidation. *Adv Lipid Res* 1983; 1: 182-6.
- Ognjanovic BJ, Pavlovic SZ, Maletic SD et al. Protective influence of vitamin E on antioxidant defense system in the blood of rats treated with cadmium. *Physiol Res* 2003; 52: 563-70.