

## Nigella Sativa (Çörek Otu), Vitamin C, E ve Selenyumun, Nitrosoguanidin Uygulanan Tavşanların Tüylerindeki İz Element Seviyelerine Etkileri

Nihat Mert\*, Zahit T. Ağaoğlu\*\*, Handan Gündüz\*\*\*, Ali Ertekin\*\*\*\*, Semiha Dede\*\*\*\*

**ÖZET.** Bu çalışmada, *Nigella sativa*, vitamin C, E ve Se'un, bir karsinojenik madde olan *N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine* (MNNG) uygulanan tavşanların tüylerindeki iz element (Zn, Cu, Mn) konsantrasyonlarına etkileri araştırıldı. Her biri sekizer tavşandan oluşan üç deneme ve bir kontrol grubu oluşturuldu. *N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine* (MNNG) (20 mg/kg) intraperitoneal olarak, beş ay süreyle haftada bir kez uygulandı. Nitrosoguanidin uygulanmasıyla birlikte haftada iki kez, A grubuna öğütülmüş sulu *Nigella sativa* süspansiyonu, B grubuna Vit C ve Vit E+Se uygulandı. C grubuna ise sadece intraperitoneal olarak nitrosoguanidin (20 mg/kg) uygulandı. Kontrol grubu olan D grubuna ise herhangi bir işlem yapılmadı. Gruplardaki (A, B, C, D) tavşanların tüy örneklerinde yapılan analizler sonucunda sırasıyla, çinko konsantrasyonları (ppm);  $223.38 \pm 7.16$ ,  $261.39 \pm 9.13$ ,  $190.69 \pm 2.31$  ve  $440.11 \pm 33.94$ ; bakır konsantrasyonları  $30.48 \pm 3.94$ ,  $65.15 \pm 3.35$ ,  $8.89 \pm 1.93$  ve  $60.88 \pm 2.34$ ; ve manganez konsantrasyonları ise  $11.70 \pm 2.96$ ,  $13.60 \pm 1.63$ ,  $3.12 \pm 0.49$  ve  $21.13 \pm 4.60$  olarak saptandı. Gruplar arasında Duncan testine göre, istatistiki olarak anlamlı ilişkiler bulundu. Bu sonuçlara dayanarak, tüy numunelerinin, gruplar arasındaki farkları ortaya koymak açısından önemli bir materyal olduğu, *Nigella sativa* ve vitamin kombinasyonlarının uygulandığı deneme gruplarında, tüy iz element seviyelerinin daha yüksek bulunmasının, nitrosoguanidin neden olduğu zararlı etkilere karşı koruyucu olarak önemli olabileceğini düşündürmektedir.

**Anahtar Kelimeler** .*N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine* (MNNG) .Tavşan .Tüy .İz element .(*N.sativa*.Vit C.Vit E.Se.)

### The Effect of *Nigella Sativa*, Vitamin C, E and Se on the Levels of Trace Element in the Rabbit Fur Treated with *N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine* (MNNG)

**SUMMARY.** In this study, the effect of *Nigella sativa*, vitamin C, E and Se on the levels of trace element in the rabbit fur treated with *N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine* (MNNG) were investigated. The rabbit were divided into three experimental groups and one control group, each group contained eight rabbits. *N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine* (MNNG) (20mg/kg) were administrated intraperitoneally as a carcinogenic compounds. At the same time, it was given *Nigella sativa* suspension to group A, vit C and vit E +Se combination to group B as preventive material. Group C was only treated by nitrosoguanidin. Group D was control. The Zn, Cu and Mn concentrations of fur samples of groups A, B, C and D were found  $223.38 \pm 7.16$ ,  $261.39 \pm 9.13$ ,  $190.69 \pm 2.31$  and  $440.11 \pm 33.94$ ;  $30.48 \pm 3.94$ ,  $65.15 \pm 3.35$ ,  $18.89 \pm 1.93$  and  $60.88 \pm 2.34$ ; and  $11.70 \pm 2.96$ ,  $13.60 \pm 1.63$ ,  $3.12 \pm 0.49$  and  $21.13 \pm 4.60$  (ppm) respectively. Differences between average values were statistically important. These results suggested that, the levels of trace element of the fur samples are important to determine because of its easy application. As results, the fur trace element concentration of group treated by *Nigella sativa* and vitamin combination were higher than other groups and it may be useful to observe the positive effects of nitrosoguanidin caused some damage effects.

**Key Words** .*N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine* (MNNG) .Rabbit .Fur .Trace Element .*N.sativa*. Vit C. Vit E. Se.

\* Prof. Dr.; Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Van

\*\* Prof. Dr.; Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, İç Hastalıkları Anabilim Dalı, Van

\*\*\* Yrd. Doç. Dr.; Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Sağlık Yüksekokulu, Van

\*\*\*\* Yrd. Doç. Dr.; Yüzüncü Yıl Üniversitesi, Veteriner Fakültesi, Biyokimya Anabilim Dalı, Van



*Nigella sativa sativa* Ranunculacea familyasına ait bir bitkidir ve geleneksel tıbbi tedavilerde, pek çok hastalığın tedavisi için kullanılmaktadır<sup>1</sup>. *N. sativa* tohumlarının esas etken maddeleri, uçucu yağ asitlerinin temel aktif komponenti olan Thymoquinone (TQ) ve Dithymoquinone (DIM) içerdiklerinden dolayı antineoplastik aktivite<sup>2</sup>, antibakteriyel, antifungal, antihelmintik ve immün sistemi stimüle edici etkiler<sup>3</sup> gösterdikleri düşünülmektedir.

Selenyumun çeşitli kanser türlerindeki durumunu ortaya koymak amacıyla yapılan araştırmalarda genelde serum Se miktarlarının düşük olduğu bulunmuştur<sup>4,5</sup>. Ancak tedavi amacıyla Se verilen hasta bireylerde serum Se seviyelerinde bir değişiklik gözlenmemiştir<sup>6</sup>. Bununla birlikte, Se'un kanserin önlenmesinde, özellikle bazı karsinojenik maddelere karşı belirgin bir koruyucu etkinliği bildirilmektedir<sup>7</sup>. N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) nin neden olduğu rat glanduler mide-sinde prekanser lezyonlara karşı koruyucu etkisi bildirilmiştir<sup>8</sup>.

Vitamin E ve C'nin de MNNG nin neden olduğu kanserde koruyucu etkisi vardır<sup>9,10,11,12</sup>. Shetty ve ark.<sup>13</sup>, ve Takahashi ve ark.<sup>14</sup> antioksidan vitaminlerin glandular midedeki tümörlere karşı koruyucu etkilere sahip olduklarını bildirmişlerdir.

İz elementler, organizmada pek çok önemli olayda katalitik, enzimatik ve yapısal faaliyetlere katılan, besin ve su ile dışarıdan alınması gereken anorganik maddelerdir. Organizmaya giren iz elementler çeşitli kan proteinlerine bağlanarak bütün dokulara dağılırlar. İz element miktarları beslenme, yaş, hastalık, ekoloji gibi çeşitli faktörlerle yakından ilgilidir. Özellikle Zn, Cu ve Mn enfeksiyon hastalıklarında immünite faktörleri ve kansere karşı koruyucu olarak önem taşımaktadırlar<sup>15,16</sup>.

Saç ve tüylerdeki iz element konsantrasyonları klinikçiler tarafından bazen vücuttaki element profilini yansıttıkları için, besinsel noksanlık belirtilerini ortaya koymak amacıyla kullanılmaktadırlar. Çeşitli kanser türlerinde iz element konsantrasyonları diaagnoz açısından önemli bir kriterdir. Kanserli hastaların çeşitli dokularındaki iz element konsantrasyonlarının saptandığı pek çok araştırma yapılmıştır. Bu çalışmalarda, vücudun element durumunu tespit etmek için, numunenin elde edilmesi ve hazırlanmasının kolaylığı, diğer biopsi materyallerine göre bozulma komplikasyonlarının en alt seviyede olması gibi avantajlarından dolayı, saç ve tüyler tercih edilen materyallerdir. İz elementlerden özellikle Zn ve Cu kanser teşhisinde öne çıkmaktadır<sup>15,16,17,18,19,20</sup>.

Bu çalışma, bir karsinojenik ajan olan N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine uygulanan tavşanların tüylerindeki iz element konsantrasyonları üzerine, N. Sativa, Vitamin C+ vitamin E+Se etkilerini araştırmak amacıyla planlandı.

## Materyal ve Metod

Çalışmada materyal olarak, Yeni Zelanda ırkı sağlıklı, canlı ağırlıkları 2300-2600 gr arasında değişen tavşanlar kullanıldı. Deneme öncesinde 20 gün süreyle çevre ve yem adaptasyonuna tabi tutuldular. Yem olarak standart pelet tavşan yemi verildi. Deneme hayvanlarına, koksidiyozis enfeksiyonlarına karşı sülfanamid (Bactrim) uygulandı. Çalışma, sekizer hayvandan oluşan üç deneme ve bir kontrol grubu üzerinde gerçekleştirildi.

**A grubu:** Beş ay süreyle haftada bir kez olmak üzere 20 mg/kg nitrozoguanidin (1 gr/ 100 ml Fizyolojik tuzlu su), intraperitoneal (i.p.) olarak uygulandı. Haftada iki kez de 2.5 gr/kg öğütülmüş sulu *Nigella sativa* (çörek otu) süspansiyonu verildi.

**B grubu:** Aynen A grubunda olduğu gibi beş ay süreyle haftada bir kez olmak üzere 20 mg/kg nitrozoguanidin (i.p.) olarak uygulandı. Haftada iki kez de intra musküler (i.m.) vit C (100mg/kg) (Redoxan amp. Roche) ve subkutan (s.c.) olarak vit E + Se (Yeldif flk. DİF) (15 mg/kg) verildi.

**C grubu:** Sadece haftada bir kez 20 mg/kg olmak üzere nitrozoguanidin (i.p.) olarak beş ay süreyle uygulandı.

**D grubu:** Kontrol grubu olan bu grupta normal beslenme şartlarının dışında her hangi bir uygulama yapılmadı.

Deneme süresinin sonunda (150. gün) tavşanların vücudunun sırt bölgesinden 2-3 gr kadar tüy numuneleri alındı. Tüy örnekleri Szymkiewicz ve ark.<sup>18</sup> in bildirdikleri metoda uygun olarak analizler için hazırlandı. UNICAM marka atomik absorpsiyon spektrofotometresinde Zn, Cu ve Mn analizleri yapıldı. Çalışma sonucunda elde edilen veriler, Düzgüneş ve ark.<sup>19</sup> bildirdiği şekilde Duncan testi kullanılarak, istatistiksel olarak değerlendirildi.

## Bulgular ve Sonuçlar

N-methyl - N' - nitro - N - nitrosoguanidine (MNNG) [ $-N_2NHC(:NH)NH_2-(C_4H_4N_4O_2)$ ] injekte edilen tavşanların tüylerindeki iz element konsantrasyonları Tablo I'de gösterildi.

Çalışma sonucunda; Cu bakımından C grubu ile diğer gruplar arasında istatistik olarak önemli bir fark olduğu tespit edildi ( $p < 0.05$ ). B grubunun Cu miktarlarının diğer gruplardan yüksek olduğu görüldü. A ve B grupları ile C grubu arasında önemli fark olduğu halde ( $p < 0.05$ ), kontrol grubu ile arasındaki fark önemli değildi.

Zn konsantrasyonları bakımından, C ve B grubu ile kontrol grubu arasındaki fark anlamlı bulundu ( $p < 0.05$ ). Bununla birlikte her üç deneme grubunun da kontrol grubuna göre daha düşük Zn düzeyine sahip olduğu saptandı ( $p < 0.05$ ). C grubu, B grubuna göre daha düşüktü ( $p < 0.05$ ).



**Tablo I.** Deneme hayvanlarının tüylerindeki iz element konsantrasyonları (X±S.E.)

İz Elementler	Deneme Grupları			Kontrol Grubu
	A Grubu (X±sx)	B Grubu (X±sx)	C Grubu (X±sx)	D Grubu (X±sx)
Cu (ppm)	30.48±3.94 <sup>a</sup>	65.15±3.35 <sup>a</sup>	8.89±1.93	60.88±2.34 <sup>a</sup>
Zn (ppm)	223.38±7.16 <sup>b</sup>	261.39±9.13 <sup>b</sup>	190.69±2.31 <sup>c</sup>	440.11±33.94 <sup>b</sup>
Mn (ppm)	11.70±2.96 <sup>a*</sup>	13.60±1.63 <sup>d</sup>	3.12±0.49	21.13±4.60 <sup>d</sup>
n	8	8	8	8

A Grubu: Nigella sativa sativa + Nitrosoguanidin (MNNG) uygulanan grup.

B Grubu: Vitamin E+ Vitamin C+ Se +Nitrosoguanidin (MNNG) uygulanan grup.

C Grubu: Nitrosoguanidin (MNNG) uygulanan grup.

D Grubu: Sağlıklı ve herhangi bir uygulama yapılmayan kontrol grubu.

a- C grubuna göre p < 0.05 oranında yüksek

b- D grubuna göre p < 0.05 oranında düşük

c- B grubuna göre p < 0.05 oranında düşük

d- C grubuna göre p < 0.05 oranında yüksek

e- D grubuna göre p < 0.05 oranında düşük

Mn konsantrasyonlarında ise C grubu ile diğer gruplar arasındaki fark anlamlı bulunurken (p < 0.05), A grubunun kontrol grubuna göre anlamlı şekilde düşük (p < 0.05) konsantrasyonlara sahip olduğu gözlemlendi.

## Tartışma

Çeşitli kanser türlerinde iz element konsantrasyonları, diaznoz açısından önemli bir kriterdir. Kanserde görülen bu değişikliklerin, iz elementlerin sindirim sisteminde emilmesi ve depolanmasındaki muhtemel bozukluklara bağlı olabileceği bildirilmektedir. Bu çalışmalarda vücudun element durumunu ortaya koymak için, kan, serum, plazma, bazı iç organlar, saç ve tüy gibi biyolojik materyaller kullanılmaktadır. Numune hazırlanmasındaki avantajlarından dolayı saç ve tüyler analiz materyali olarak kullanılmaktadır<sup>15,17,18,23</sup>.

Sunulan çalışmada, karsinojenik bir madde olarak N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) ve koruyucu olarak N.sativa ve vit E+vit C+ Se uygulanan tavşanlarda tüylerdeki iz element konsantrasyonları araştırıldı. Elde edilen sonuçlara göre, tüylerdeki Zn ve Cu konsantrasyonları sadece nitrosoguanidin uygulanan C grubunda diğer gruplara oranla anlamlı ölçüde (p < 0.05) düşük bulundu. Bu sonuçlar literatür verileri ile uygunluk göstermektedir. Donma ve ark.<sup>24</sup>, kanserli çocuklarda yaptıkları çalışmada, sağlıklı ve hastalıklı grup arasındaki Zn, Cu konsantrasyonları bakımından farkın istatistiksel olarak çok anlamlı olduğunu (p < 0.01), saçtaki Zn, Cu ve Zn /Cu oranlarının vücut iz element konsantrasyonlarını yansıttığı için, kanserli çocukların teşhis ve tedavisinde yararlanılabilecek parametreler olduğunu belirtmişlerdir.

Piccini ve ark.<sup>25</sup>, akciğer kanserli, Yao ve ark.<sup>26</sup> ise osteomalı hastaların saçlarındaki Zn ve Cu miktarlarının sağlıklı bireylere göre daha düşük oranlarda olduğunu bulmuşlardır. Bununla birlikte meme kanserli olan hastaların saçlarından alınan örnek-

lerde Zn ve Cu konsantrasyonları arasında önemli bir farkın olmadığı da bildirilmektedirler<sup>25,27</sup>.

Bu çalışmada, tüy örneklerindeki Mn konsantrasyonları bakımından, deneme grupları arasında önemli bir fark gözlenmezken, kontrol grubunda daha yüksek bulunmuştur. Zhao ve ark.<sup>28</sup>, meme kanserinde, Yao ve ark.<sup>26</sup>, osteomalı hastalarda Mn konsantrasyonlarının kontrol grubuna göre daha yüksek olduğunu belirtmişlerdir. Wang ve ark.<sup>29</sup>, yüksek oranda kanser görülen bölgelerde, kanserin az görüldüğü bölgelere göre Mn seviyelerinin düşük olduğunu bildirmektedirler. Bu durumun kanserin korunmasında Mn'in yararlılığını göstermesi bakımından önemli olduğunu ileri sürmektedirler.

Antioksidan vitaminler gastrointestinal sistemde MNNG'nin neden olduğu tümörlerin insidensini önemli miktarda azaltır<sup>8,9,13,14</sup>. Bu çalışmada, Cu ve Zn seviyeleri deneme gruplarında, kontrol grubu olan sağlıklı bireylere göre daha düşük bulundu. Ancak aynı işleme tabi tutulduğu halde Nigella sativa ve Vit E+ Vit C+ Se uygulanan gruplarda daha yüksek iz element konsantrasyonları saptandı.

Benzer durum Leung ve Huang<sup>23</sup>'ün çalışmasında da ortaya konmuştur. Söz konusu çalışmada, nazofarengeal kanser teşhisi henüz konmuş olan, üç aydır tedavi olanlar ve altı aydır tedavi olanlar olmak üzere üç ayrı grup oluşturulmuştur. Tüm bu gruplar ve sağlıklı bireyler arasında saçtaki iz element konsantrasyonları bakımından önemli farklar bulunmuştur. Hastalık teşhisi konulmuş olan gruplarda iz element seviyeleri kontrol gruplarına göre düşük bulunmuştur. Ancak tedavi uygulanmasıyla birlikte bu seviyelerin yükselmeye başladığı görülmüştür. Bu sonuçlara dayanılarak, saçtaki element seviyelerinin bir bireydeki genel element durumunu yansıması bakımından önemli olduğu ve saçtaki element durumuna bakılarak bireyin sağlık durumunun ortaya konulabileceği ileri sürülmektedir.

Greenberg ve ark. (30), nitrosaminlerle birlikte vitamin C uygulanmasının, kanser oluşma riskini azaltacağını bildirmektedir.

Sonuç olarak N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine (MNNG) uygulanan tavşanların tüylerindeki Zn, Cu, Mn konsantrasyonları kontrollere oranla düşük bulundu. Tüylerin tüm organizmanın element profilini yansıttığı göz önüne alınacak olursa, bu seviyenin azalmış olması anlamlıdır. Bununla birlikte, nitrozoguanidin uygulanmasına rağmen Nigella sativa ve Vit C ve Vit E+ Se uygulanan A ve B gruplarında, tüylerdeki element seviyelerinin daha yüksek bulunmasının, bu uygulamaların kanserojen maddelerin zararlı etkilerine karşı koruyucu olarak, yararlı olabileceğini akla getirmektedir. Aynı zamanda, her üç element bakımından da vitamin ve Se uygulanan gruptaki seviyelerin, N. Sativa uygulanan daha yüksek bulunması dikkat çekici bir durumdur. Özellikle askorbik asit gibi bazı



organik maddelerin bakırın absorpsiyonu üzerinde etkili olması<sup>31</sup> nedenler arasında sayılabilir. Ayrıca, söz konusu vitaminlerin ve selenyumun, kansere neden olabilen serbest radikallerin etkisizleştirilmesinde görev alan antioksidan maddeler ve enzimlerin yapısına katılmalarından da kaynaklandığı düşünülmektedir.

Yrd. Doç. Dr. Semiha DEDE  
Yüzüncü Yıl Üniversitesi Veteriner Fakültesi  
Biyokimya ABD  
Tel: (0.432) 225 10 83 / 1526  
e-mail: ssdede@hotmail.com  
65080 / VAN

### Kaynaklar

- Nadkarni AK: Indian Materia Medica, Populalar Prakashan Pvt. Ltd., Indian, Bombay, 1976, pp 854-857.
- Dhar ML, Dhar MM, Dhawan BN, Mehrotra BN, Ray C: Screening of Indian plants for biological activity, part 1. Indian J Exp Biol. 6:232-247, 1968.
- Agarwall R, Kharya MO, Shriwasthava R: Antimicrobial and antihelmintic activities of essential oil of *Nigella sativa* linn. Ind J Pharm Sci. 44:8-10, 1982.
- Clarck LC, Hixon LJ, Combs GF Jr, Reid ME, Turnbull BW, Sampliner RE: Plasma selenium concentration predicts the prevalence of colorectal adenomatous polyps. Can Epi Biomark Prev. 2(1): 41-46, 1993.
- Von Nord PA, Maas MJ, Van Der Tucel, Collette C: Selenium and the risk of post menopausal breast cancer in the pom cohort. Breast Can Res. 25(1): 11-19, 1993.
- Hardell L, Danell M, Angquist CA, Marklund SL, Frederickson M, Zahari AL, Kjellgre A: Levels of Se in plasma and GSHpx in erythrocytes and the risk of breast cancer, a case control study. Biol Trace Elem Res. 36(2): 99-108, 1993.
- Whanger LE: Selenium in the treatment of heavy metal poisoning and chemical carcinogenesis. J Trace Elem Elect Health Dis. 6(4):209-221, 1992.
- Ming X, Yin H, Zhu Z: Effect of dietary selenium and germanium on the precancerous lesion in rat glandular stomach induced by N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. Chung Hua Wai Ko Tsa Chih. 34(4):221-223, 1996.
- Blakeslee JR Jr, Yamamoto N, Hinuma Y: Human T-cell leukemia virus I induction by 5-iodo-2'-deoxyuridine and N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine: inhibition by retinoids, L-ascorbic acid, and DL-alpha-tocopherol. Cancer Res 45(8): 3471-3476, 1985.
- Wang YM, Purewal M, Nixon B, Li DH, Soltysiak-Pawluczuk D: Vitamin E and Cancer Prevention in An Animal Model. ANY Ac Sci. 570: 383-390, 1989.
- Stahelin HB, Gey KF, Eichholzer M, Ludin E, Brubacher G: Cancer Mortality and Vitamin E Status. ANY Ac Sci. 570: 391-399, 1989.
- Pauling L: Effect of Ascorbic Acid on incidence of Spontaneous Mammary Tumors in Mice. Am J Clin Nutr. 54:1252s-1255s, 1991.
- Shetty TK, Francis AR, Bhattacharya RK: Modifying role of vitamins on the mutagenic action of N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine. Carcinogenesis 9(8):1513-1515, 1988.
- Takahashi M, Furukawa F, Toyoda K, Sato H, Hasegawa R, Hayashi Y: Effects of four antioxidants on N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine initiated gastric tumor development in rats. Cancer Lett., 30(2):161-168, 1986.
- Underwood EJ: Trace Elements in Human and Animal Nutrition. 4.th. Ed., Academic Press, New York, London, 1977.
- Williams RPJ: Zinc: what is its role in biology? Endeavour, New Series, 8(2): 65-70, 1984.
- Wasowicz W, Kantorski J, Perek D, Popadiuk S: Concentration of zinc and zinc-copper superoxide dismutase activity in red blood cells in normals and children with cancer. J Clin Chem Clin Biochem. 27: 413-418, 1989.
- Oyama T, Matsuno K, Kawamoto T, Mitsudomi T, Shirakusa T, Kodama Y: Efficiency of serum copper/zinc ratio for differential diagnosis of patients with and without lung cancer. Biol Trace Elem Res. 42:115-127, 1994.
- Lamand M, Favier A, Pineau A: Determination of trace elements in the hair: significance and limitations. Ann Biol Clin (Paris), 48(7):433-42, 1990.
- Garg AN, Weginwar RG, Sagdeo V: Minor and trace elemental contents of cancerous breast tissue measured by instrumental and radiochemical neutron activation analysis. Biol Trace Elem Res, 26-27: 485-496, 1990.
- Szymkiewicz MM, Niemiec J, Stepinska M: Determination of the relationship between the contents of Mg, Zn, Cu, Fe and Mn in blood and feathers of Rhode Island Red hens and the results of hatchability. Ann Warsaw Agricult Univ SGGW AR, Anim Sci, 25: 8-14, 1990.
- Düzgüneş O, Kesici T, Kavuncu O, Gürbüz F: Araştırma ve Deneme Metotları (İstatistik Metotları-1) A.Ü. Zir Fak Yay. No:1021, Ankara, 1987.
- Leung PL, Huang HM: Analysis of trace elements in the hair of volunteers suffering from naso-pharyngeal cancer. Biol. Trace Elem. Res. 57:19-25, 1997.
- Donma MM, Donma O, Tas MA: Hair zinc and copper concentrations and zinc: copper ratios in pediatric malignancies and healthy children from southeastern Turkey. Biol Trace Elem Res 36(1):51-63, 1993.
- Piccinini L, Borella P, Bargellini A, Medici CI, Zoboli A: A case-control study on selenium, zinc, and copper in plasma and hair of subjects affected by breast and lung cancer. Biol Trace Elem Res, 51(1):23-30, 1996.
- Yao HY, Zeng XZ, Lu CR, Wang XD, Che JM, Mu MY, Yang J, Wang ZX, Zhang HS, Yie YQ, Chung HC, Liu TC: Particle induced X-ray emission for trace element analysis of hairs from patients with cancer. Chung Hua Chung Liu Tsa Chih. 10(2):92-94 PMID: 3208661, UI: 89090866, 1988.
- Borella P, Bargellini A, Caselgrandi E, Piccinini L: Observations on the use of plasma, hair and tissue to evaluate trace element status in cancer. J. Trace Elem Med Biol 11(3):162-165, 1997.
- Zhao C, Yang J, Li X, Chen S, Chen J: Analysis of trace elements in scalp hair of healthy people, breast cancer and hyperplasia patients with XRF method. Hua Hsi I Ko Ta Hsueh Hsueh Pao 24(4):402-404. PMID: 8150442, UI: 94200767, 1993.
- Wang YX, Qin JF, Wu SM, Yan LB: Study on the relation of Se, Mn, Fe, Sr, Pb, Zn, Cu, and Ca to liver cancer mortality from analysis of scalp hair. Sci Total Environ 91:191-198, 1990.
- Greenberg ER, Baron JA, Tosteson TD et al: Clinical trial of antioxidant vitamins to prevent colorectal adenoma. Polyp Prevention Study Group. N Engl J Med. 331(3): 141-147, 1994.
- Hansard S.L.: Microelements for ruminant animals. Nutr Abs Rev. Ser B. Vol 53 (1):1-24, 1983.