

KRYSTYNA NIESIOBĘDZKA, MARIAN CZAUDERNA

BADANIE BIODYSTRYBUCJI SELENU I RTĘCI U MYSZY METODĄ
INSTRUMENTALNEJ NEUTRONOWEJ ANALIZY AKTYWACYJNEJ

STUDIES ON THE SELENIUM AND MERCURY DISTRIBUTION IN MICE BY
INSTRUMENTAL NEUTRON ACTIVATION ANALYSIS

Wydział Inżynierii Środowiska Politechniki Warszawskiej
00-654 Warszawa, ul. Nowowiejska 20
Kierownik: prof. dr hab. Z. Szperliński

Oznaczono zawartość selenu oraz rtęci w wątrobie, nerkach i krwi myszy metodą instrumentalnej neutronowej analizy aktywacyjnej. Uzyskane wyniki świadczą, iż po jednoczesnym podaniu związku selenowego i chlorku rtęciowego następuje znaczny wzrost poziomu Se i Hg w wątrobie i krwi myszy w porównaniu z grupami kontrolnym.

WSTĘP

Wiele pierwiastków śladowych ma istotne znaczenie dla prawidłowego funkcjonowania żywych organizmów. Lista pierwiastków, które są niezbędne dla organizmów, nie została jeszcze zamknięta i w chwili obecnej należą do nich: żelazo (Fe), Kobalt (Co), Chrom (Cr), miedź (Cu), nikiel (Ni), krzem (Si), jod (I), fluor (F), cyna (Sn), wanad (V), mangan (Mn), molibden (Mo), selen (Se), arsen (As) cynk (Zn) [13, 20]. Z drugiej strony szereg pierwiastków wywiera działanie toksyczne na żywe organizmy, np.: srebro (Ag), ołów (Pb), rtęć (Hg), arsen (As) lub kadm (Cd) [1, 14, 20, 21, 22]. Znany jest fakt, że selen może redukować toksyczny efekt niektórych metali, takich jak na przykład: Cd, Hg, Pb lub As [3, 17, 22]. Poznanie roli pierwiastków śladowych i ich funkcji fizjologicznych, związku pomiędzy ich niedoborem lub nadmiarem a występującymi stanami patologicznymi, wymaga określenia ich stężenia w tkankach i płynach biologicznych. Zawartość pierwiastków w tkankach i płynach biologicznych jest zazwyczaj niska i jej określenie wymaga odpowiednio czułych metod analitycznych. Do tego celu wykorzystuje się neutronową analizę aktywacyjną. Szczególnie przydatna jest jej instrumentalna wersja (INAA) [2, 10], gdyż umożliwia oznaczenie wielu pierwiastków w jednej próbce, bez konieczności pracochłonnego ich wydzielania i rozdzielania. Zastosowanie tej wersji umożliwia zbadanie dużej liczby próbek, co ma istotne znaczenie m. in. w badaniach medycznych. Celowe jest opracowanie metodyki, która byłaby przydatna dla biochemików i fizjologów zamierzających prowadzić badania wzajemnego oddziaływania pomiędzy toksycznymi metalami (np. Hg) a różnymi związkami selenu w organizmach zwierząt.

W niniejszej pracy wykorzystano instrumentalną neutronową analizę aktywacyjną do oznaczenia selenu i rtęci w tkankach myszy. Wskaźniki analityczne wykorzystywane do oznaczania rtęci i selenu przedstawiono w tabeli I

Tabela I. Dane jądrowe izotopów promieniotwórczych oznaczanych pierwiastków (Se i Hg w napromienionych próbkach oznaczono po 8 tygodniach studzenia). Nuclear data for use of activation products (Se and Hg in the irradiated samples were determined after 8 weeks of cooling).

Pierwiastek	Wskaźnik analityczny	Przekrój czynny (barn)	Okres półrozpadu ($T_{1/2}$)	Pik analityczny (keV)
Rtęć	Hg-203	4,9	46,6 d	279,2
Selen	Se-75	3,0	120,4 d	264,4

d – doba

Okresy półrozpadu użytych wskaźników analitycznych są stosunkowo długie, dlatego też pomiary wzbudzonej aktywności można prowadzić po kilku tygodniach studzenia. Pozwala to na znaczny spadek makroaktywności pochodzącej od krótkożyjących radioizotopów (^{24}Na , ^{42}K , ^{32}P , ^{38}Cl lub ^{82}Br [5]) tworzących się w wyniku napromieniowania niektórych składników badanych tkanek. Dzięki użyciu ^{75}Se oraz ^{203}Hg możliwe jest oznaczenie tych pierwiastków w próbkach biologicznych instrumentalną metodą INAA. Zalety neutronowej analizy aktywacyjnej [2, 22] uzasadniały zadaptowanie tej metody do badania wzajemnego oddziaływania pomiędzy selenem i rtęcią w warunkach *in vivo*.

MATERIAŁ I METODYKA

Do sporządzenia roztworów podawanych myszom dootrzewnowo oraz roztworów wzorcowych oznaczanych pierwiastków stosowano następujące odczynniki chemiczne (cz.d.a.):

1) selen: – selenocystyna prod. f-my Sigma, selenometionina prod. f-my Sigma, SeO_2 prod. f-my POCh;

2) rtęć: – HgCl_2 prod. f-my POCh;

3) glutation (GSH) prod. f-my Reanal.

Selenodiglutation otrzymano w wyniku reakcji SeO_2 z GSH [12, 22]. Do badań użyto 90 myszy (samce SAS/4, wiek 3 miesiące, masa ciała 30 ± 3 g). Zwierzęta karmione były paszą (Murigram/Bacutil) zawierającą Se, Hg, Cu, Cr, Fe, Zn, Rb w następujących ilościach: 15 ppm, 1,4 ppm, 3,1 ppm, 1,0 ppm, 262 ppm, 97 ppm, 30 ppm. Myszy podzielono na 10 grup. Dootrzewnowo podawano im po 100 μl jednorazowo wodnych roztworów następujących związków: selenodiglutatation [$(\text{GS})_2\text{Se}$], selenocystyna $(\text{CySe})_2$, selenometionina (Se-Met), dwutlenek selenu (SeO_2) w (dawce 0,2 μg Se/mysz lub chlorek rtęciowy (HgCl_2) w (dawce 0,07 μg /mysz). Myszy dekapitowano po 3, 5, 24 oraz 72 godzinach od momentu jednoczesnego, dootrzewnowego podania odpowiednich związków selenu i chlorku rtęciowego:

Grupa	I	-	grupa kontrolna
Grupa	II	-	HgCl_2
Grupa	A	-	$(\text{GS})_2\text{Se}$
Grupa	B	-	$(\text{GS})_2\text{Se} + \text{HgCl}_2$
Grupa	IVA	-	$(\text{CySe})_2$

Grupa	IVB	-	(CySe) ₂ + HgCl ₂
Grupa	VA	-	Se-Met
Grupa	VB	-	Se-Met + HgCl ₂
Grupa	VIA	-	SeO ₂
Grupa	VIB	-	SeO ₂ + HgCl ₂

Wypreparowane tkanki (wątroba, nerki oraz krew) liofilizowano przez 50 godzin w temperaturze -10°C. Dla przygotowania jednej próbki łączono tkanki od trzech myszy. Tak przygotowany materiał biologiczny (100–250 mg) oraz standardy Se i Hg umieszczono w torebkach polietylenowych i aluminiowych. Następnie próbki aktywowano przez 104 godz. w reaktorze atomowym „Ewa” (Świerk) w strumieniu neutronów termicznych o gęstości $5 \times 10^{12} \text{ n} \times \text{cm}^{-2} \text{ s}^{-1}$. Napromienione próbki studzono przez 8 tygodni. Po tym czasie przepakowano próbki biologiczne w nieaktywne torebki aluminiowe. W celu jakościowej i ilościowej analizy oznaczanych pierwiastków rejestrowano widma *gamma* napromienionych próbek przez 200–500 sek. Użyto półprzewodnikowy detektor germanowy współpracujący z wielokanałowym analizatorem amplitudy (1024-NTA, 4K, Hungary). Wszystkie próbki biologiczne oraz standardy oddzielono od powierzchni detektora płytką szklaną o grubości ok. 1 mm. Wskaźniki analityczne oznaczanych pierwiastków oraz energie fotopików wykorzystywanych do oznaczania Se i Hg podano w tabeli I. We wszystkich oznaczeniach Hg w próbkach biologicznych uwzględniono udział fotopiku ⁷⁵Se o energii 279.5 keV. W celu jakościowej i ilościowej interpretacji otrzymanych widm wykorzystano program komputerowy. Przy jego użyciu oraz γ -widm źródeł wzorcowych ⁷⁵Se, ²⁰³Hg otrzymano kalibrację energetyczną układu γ -spektrometrycznego, dzięki której zidentyfikowano pierwiastki (*via* wskaźniki analityczne) pojawiające się w próbkach biologicznych. Wykorzystując zależność opracowaną przez Rogersa [19] wyznaczono granicę oznaczalności (LD) dla selenu i rtęci:

$$\text{Se (via 264,4 keV fotopik } ^{75}\text{Se)} \quad LD = 0,036 \mu\text{g Se}$$

$$\text{Hg (via 279,2 keV fotopik } ^{203}\text{Hg)} \quad LD = 0,035 \mu\text{g Hg}$$

Następnie przy użyciu komputerowego programu policzono pola netto analitycznych fotopików standardów selenu oraz rtęci, dzięki czemu wyznaczono metodą najmniejszych kwadratów równania ilościowo kalibrujące poziom pierwiastków w próbkach biologicznych. (W pracy ilościowe oznaczanie pierwiastków realizowano metodą „multistandardową”). Równania kalibracyjne miały następującą ogólną postać:

$$m = a \times s_n + b$$

gdzie:

m	-	masa pierwiastka w μg ,
s_n	-	powierzchnia netto analitycznego fotopiku,
a i b	-	współczynniki liczbowe.

Powierzchnię netto (S_n) wszystkich fotopików analitycznych obliczano metodą całkowitej powierzchni pików (metoda TPA) [2]. Do wyznaczenia średniego tła po lewej i prawej stronie fotopiku wykorzystano maksymalnie dużą liczbę kanałów tła. W tabeli II podano wartości błędów będących błędami zliczania [2] fotopików wskaźników analitycznych oznaczanych pierwiastków w próbkach.

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Po dootrzewnowej, jednorazowej iniekcji związków selenowych i chlorku rtęciowego nie stwierdzono u badanych myszy żadnych objawów szkodliwego wpływu podanych związków. Rezultaty eksperymentów dotyczących gromadzenia się Se i Hg w badanych tkankach zestawiono w tabeli IIa i IIb. Uzyskane wyniki świadczą, iż poziom Se i Hg we wszystkich próbkach był powyżej wyznaczonej granicy oznaczalności (LD) Se i Hg. Jak wynika z otrzymanych danych (tabela II a, b), po iniekcji następuje znaczny wzrost

Tabela IIa. Poziom Se oraz Hg (w μg na g suchej masy) po jednoczesnej i jednorazowej iniekcji odpowiednich związków.

Se and Hg concentrations per unit dry mass ($\mu\text{g/g}$) for organs of mice after i.p. single or simultaneous injections of appropriate compounds.

Tkanka/czas (godz.)		I	II	III A	III B
Wątroba					
3,5	Se		2,5±0,1	10,8±0,1	15,2±0,2
	Hg		2,0±0,02	1,1±0,02	17,2±0,2
24	Se	Se: 2,0±0,1	2,3±0,09	3,5±0,09	7,5±0,1
	Hg	Hg: 1,0±0,5	2,2±0,02	0,5±0,02	10,5±0,1
72	Se		1,9±0,09	3,1±0,09	13,4±0,2
	Hg		4,3±0,1	1,0±0,1	26,9±0,2
Nerki					
3,5	Se		5,1±0,1	7,1±0,1	8,2±0,3
	Hg		187,7±0,04	2,7±0,1	20,6±0,2
24	Se	Se: 4,2±0,1	5,1±0,1	4,1±0,1	5,6±0,1
	Hg	Hg: 2,9±0,02	104,6±0,06	0,8±0,03	12,1±0,1
72	Se		5,9±0,2	3,9±0,1	5,4±0,1
	Hg		140,2±0,03	2,2±0,06	19,1±0,2
Krew					
3,5	Se		2,0±0,2	3,6±0,09	6,8±0,2
	Hg		10,3±0,3	1,9±0,05	24,0±0,3
24	Se	Se: 1,1±0,06	1,4±0,07	1,9±0,06	3,6±0,1
	Hg	Hg: 2,3±0,08	4,0±0,1	1,3±0,04	11,8±0,2
72	Se		1,5±0,06	1,4±0,07	1,9±0,1
	Hg		4,4±0,08	2,0±0,08	7,1±0,2

I – grupa kontrolna

II – HgCl_2

III A – $(\text{GS})_2\text{Se}$

III B – $(\text{GS})_2\text{Se} + \text{HgCl}_2$

poziomu Se i Hg w wątrobie, nerkach i we krwi w porównaniu z odpowiednimi próbkami kontrolnymi. Szczególnie wysoki poziom Hg stwierdzono w nerkach po iniekcji chlorku rtęciowego (grupa II). Otrzymane wyniki są zgodne z rezultatami prezentowanymi w innych pracach [4, 6, 7, 8]; nerki są bowiem narządem, w którym rtęć po iniekcji chlorku rtęciowego łatwo kumuluje się. Z danych zamieszczonych w tabeli II można wnioskować, iż wydajność gromadzenia Se w sposób istotny zależy od formy chemicznej podanego selenozwiązku (grupy A – VIA). Otrzymane wyniki

Tabela IIb. Poziom Se i Hg (μg na 1 g suchej masy) po jednoczesnej i jednorazowej iniekcji odpowiednich związków.Se and Hg concentrations per unit dry mass ($\mu\text{g/g}$) for organs of mice after i.p. single or simultaneous injections of appropriate compounds.

Tkanka/czas (godz)		IV A	IV B	V A	V B	VI A	VI B
Wątroba							
3,5	Se	10,2±0,1	15,1±0,2	2,7±0,08	31,0±0,4	11,7±0,1	8,5±0,2
	Hg	0,9±0,01	17,4±0,2	0,5±0,02	35,3±0,3	1,2±0,02	12,8±0,2
24	Se	3,5±0,08	12,3±0,2	1,9±0,06	25,1±0,3	4,6±0,08	9,4±0,2
	Hg	1,2±0,04	24,8±0,8	1,0±0,04	46,3±0,3	0,8±0,02	21,2±0,3
72	Se	2,8±0,08	8,7±0,2	3,4±0,07	23,7±0,3	4,1±0,08	10,4±0,3
	Hg	4,5±0,02	16,8±0,2	0,5±0,02	43,1±0,3	1,0±0,03	22,9±0,3
Nerki							
3,5	Se	16,6±0,2	30,5±0,4	3,1±0,1	32,4±0,4	8,7±0,1	8,2±0,2
	Hg	0,6±0,01	39,8±0,3	2,6±0,07	32,3±0,3	0,9±0,02	12,6±0,2
24	Se	6,3±0,1	15,3±0,2	3,9±0,1	30,3±0,03	6,4±0,2	6,5±0,2
	Hg	1,8±0,04	45,1±0,3	1,4±0,04	44,3±0,4	1,0±0,04	37,3±0,3
72	Se	6,4±0,1	14,1±0,3	4,7±0,1	19,2±0,4	6,9±0,2	14,4±0,4
	Hg	2,1±0,05	65,7±0,5	2,4±0,07	32,7±0,5	4,6±0,1	54,9±0,05
Krew							
3,5	Se	2,9±0,08	12,1±0,1	1,4±0,06	15,1±0,4	7,8±0,1	10,6±0,2
	Hg	2,9±0,07	38,7±0,4	1,9±0,06	41,4±0,6	1,6±0,04	32,4±0,3
24	Se	1,2±0,06	4,6±0,2	1,1±0,06	9,6±0,3	6,2±0,2	5,5±0,2
	Hg	2,0±0,07	17,1±0,4	1,8±0,07	24,9±0,4	5,4±0,1	15,1±0,04
72	Se	1,6±0,05	3,2±0,1	1,7±0,07	3,6±0,3	6,9±0,1	7,6±0,2
	Hg	1,6±0,05	9,4±0,2	2,2±0,07	16,3±0,7	1,4±0,03	11,2±0,2

IV A – (CySe)₂IV B – (CySe)₂ + HgCl₂

V A – Se–Met

V B – Se–Met + HgCl₂VI A – SeO₂VI B – SeO₂ + HgCl₂

potwierdzają rezultaty wcześniejszych badań [6, 7, 8, 9]. Najwyższe gromadzenie się Se obserwuje się po iniekcji SeO₂, natomiast najniższe po podaniu Se–Met. Jednocześnie okazało się, iż w miarę upływu czasu, od momentu wstrzyknięcia, poziom Se szczegól-

nie wydatnie się w pełni uzasadniony, gdyż w postaci związku $(GS_2)Se$ selen usuwany jest z organizmu [12]. Wyniki zestawione w tabeli II wskazują, iż jednoczesna iniekcja związku selenu oraz rtęci w sposób zasadniczy zmienia dystrybucję obu pierwiastków w tkankach. Zarówno poziom Se jak i Hg w wątrobie oraz we krwi znacznie wzrasta, natomiast w nerkach jest znacznie niższy. Efekt ten świadczy o ochronnej roli selenozwiązków, dzięki którym w nerkach nie gromadzi się tak znaczna ilość Hg. Podane związki selenu przyczyniają się do bardziej równomiernego rozmieszczenia Hg w organizmie [4]. Otrzymane wyniki dowodzą, iż rtęć także obniża szybkość usuwania Se z badanych tkanek. Uzyskane dane sugerują, iż bezpośrednia, wzajemna interakcja pomiędzy jonami Hg^{2+} oraz grupami selenowymi produktów metabolizmu podanych związków selenu (selenobiałka) jest odpowiedzialna za tak znaczny wzrost retencji Hg oraz Se w tkankach. Jest to oczywiste, ponieważ grupy selenowe $(-SeH)$ w pH fizjologicznym są zdysocjowane $(-Se^-)$, wykazując przy tym o wiele silniejsze właściwości nukleofilowe niż grupy tiolowe. Grupy selenowe wiążą silnie również inne jony metali toksycznych (takich jak np.: Cd, Pb, Bi lub Sb), tworząc połączenia o niższej aktywności biologicznej, czyli mniej toksyczne. Analiza otrzymanych wyników (tabela II) pozwala stwierdzić, iż najsilniejsza interakcja zachodzi pomiędzy rtęcią a produktami metabolizmu selenometioniny – grupa VB (prawdopodobnie z udziałem selenohomocysteny). W porównaniu z Se-Met w mniejszym stopniu wzmagają retencję Hg produkty metabolizmu: $(GS)_2Se$, $(CySe)_2$ oraz SeO_2 . Porównując wyniki zestawione w tabeli II, wydaje się uzasadnione przypuszczenie, iż selenonadsiarczek $GSSeH$, przyściowy produkt metabolizmu SeO_2 (grupa VIB) [12], jest odpowiedzialny za wiązanie jonów Hg^{2+} . Dlatego też dopiero po pewnym czasie obserwuje się jednoczesny wzrost retencji Se i Hg w tkankach po podaniu $SDeO_2$ w porównaniu z innymi badanymi grupami (B – VB). Wydaje się nieludzki pogląd, iż interakcja zachodzi pomiędzy jonami Hg^{2+} i jonami HSe^- (jeden z końcowych produktów metabolizmu związków selenu [3, 12, 17, 22] z utworzeniem $HgSe$ [16, 17]. Selenki są bowiem bardzo nietrwałe i ulegają szybko rozkładowi. Natomiast bardziej trafny wydaje się pogląd, iż pomiędzy Hg oraz HSe^- (jeden z końcowych produktów metabolizmu podanych selenozwiązków) może mieć miejsce interakcja pośrednia:



W wyniku redukcji mostków dwusiarczkowych białek [15] przez HSe^- wiąże on pojawiające się jony metali ciężkich, np.: Hg^{2+} . Natomiast Se^0 jest stabilizowany przez niespecyficzne hydrofobowe oddziaływanie białek. Z uwagi jednak na jednoczesny wzrost poziomu Se oraz Hg w badanych tkankach należy sądzić, że tego typu pośrednia interakcja jest mało prawdopodobna bądź jej wydajność jest znikoma.

WNIOSKI

1. Potwierdzono przydatność instrumentalnej wersji neutronowej analizy aktywacyjnej (INNA) do badań interakcji pomiędzy Se i Hg w organizmach myszy. Do prowadzenia tego typu doświadczeń korzystne są zaproponowane wskaźniki analityczne (^{75}Se i ^{203}Hg), warunki napromieniania oraz długotrwałe czasy studzenia próbek. Przy użyciu bowiem ^{75}Se oraz ^{203}Hg analizować można jednocześnie dużą liczbę próbek.

2. Wykazano, że po jednoczesnym podaniu związku selenowego i chlorku rtęciowego zachodzi interakcja pomiędzy jonami Hg^{2+} oraz grupami selenowymi produktów metabolizmu badanych związków selenu.

K. Niesiobędzka, M. Czauderna

STUDIES ON THE SELENIUM AND MERCURY DISTRIBUTION IN MICE BY INSTRUMENTAL NEUTRON ACTIVATION ANALYSIS

Summary

An attempt was made to compare the Se and Hg abundance's in liver, kidneys and blood after simultaneous intraperitoneal injections of inorganic mercury (as $HgCl_2$) and SeO_2 or organic Se-compound (i.e. seleno-cystine, seleno-methionine or selenodiglutathione). Instrumental neutron activation analysis was applied as the analytical method due to the advantages of both its sensitivity and chemically non-destructive procedure. No neurological or other lesion symptoms of Hg and Se intoxication were found. Especially high concentrations of Hg and Se in liver and blood were found after simultaneous i.p. injections of $HgCl_2$ and Se-compounds. Moreover, significantly high abundance's of Se and Hg in liver and blood were found after simultaneous injections of seleno-methionine and $HgCl_2$. On the other hand, only for kidneys the Hg content after the single injections of $HgCl_2$ was considerably higher in comparison with the simultaneous injections of Hg and Se. We suggest that Se-compounds protects against renal lesions by decreasing the concentration of Hg in kidneys. Hg^{2+} ions are bounded by selenohydryl groups of the metabolites of injected Se-compounds. Moreover, the binding yield of Hg^{2+} ions with the metabolites of Se-compounds depends upon the chemical form of injected Se-compounds.

PIŚMIENNICTWO

1. *Adriano D.C.*: Biogeochemistry of trace metals, Lewis Publishers, Boca Raton, Ann Arbor, London, Tokyo, 1992. – 2. *Amiel S.*: Nondestructive activation analysis, Elsevier, Amsterdam-Oxford-New York, 1981. – 3. *Baldew G.S., Mol J.G.J., De Kanter F.J.J., Van Baar B., De Goeij J.J.M., Vermeulen N.P.E.*: The mechanism of interaction between cisplatin and selenite. *Biochem. Pharmacol.*, 1991, 41(10), 1429. – 4. *Cuvin-Aralar M.L.A., Furness R.W.*: Mercury and selenium interaction: A review. *Ecotoxicol. Environ. Safety*, 1991, 21, 348. – 5. *Czauderna M.*: Simultaneous determination of some trace elements in biological materials by neutron activation analysis. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, 1984, 35(7), 681. – 6. *Czauderna M., Rochalska M.*: Studies on the incorporation of Se Te in the presence of glutathione and cysteine and the distribution of Hg, Zn, Fe, Co and Rb in mice by INAA. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 1986, 97(1), 51. – 7. *Czauderna M., Rochalska M.*: Studies on the interaction between SeO_2 and sulfur compounds and distribution of Rb, Zn, Co, Fe and Hg in mice by INAA. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, 37(3), 211. – 8. *Czauderna M., Rochalska M.*: Studies on the differences in the effects of SeO_2 and organic Se compounds on the distribution of Hg, Co, Fe, Zn and Rb in mice by INAA. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 1986, 99(2), 265. – 9. *Czauderna M., Rochalska M.*: Interaction between Se and Cr and distribution of Zn, Rb, Co, and Fe in mice given chromate ions and selenium compounds. *J. Radioanal. Nucl. Chem.*, 1989, 134(2), 383. – 10. *Edmann W.D., Yates W.S.*: Nuclear and radiochemical analysis. *Anal. Chem.*, 1986, 58,49.

11. *Fox J.M.*: Selenium: nutritional implications and prospects for therapeutic medicine. *Meth. Find Exp. Clin. Pharmacol.*, 1992, 14(4), 275. – 12. *Ganther H.E.*: Reduction of the selenotrisulfide derivative of glutathione to a persulfide analog by glutathione reductase. *Biochemistry*, 1971, 10, 4089. – 13. *iilyengar G.V.*: Milestones in biological trace element research. *Sci. Total Environ.*, 1991, 100, 1. – 14. *Kabata-Pendias A., Pendias H.*: Biogeochemia pierwiastków ślad-

owych, PWN, Warszawa, 1993. – 15. *Kagi J.H.R., Kojima Y., Kissling M.M., Lerch K.*: Sulfur in biology, Edited by *K. Elliott and J. Whelan*. Excerpta Medica, Amsterdam, 1980, 222. – 16. *Magos L., Clarkson T.W., Hudson A.R.*: Differences in the effects of selenite and biological selenium on the chemical form and distribution of mercury after the simultaneous administration of $HgCl_2$ and selenium to rats. *J. Pharmacol. Experim. Therap.*, 1984, 228(2), 478. – 17. *Nuttall K.L., Allen F.*: Selenium detoxification of heavy metals: a possible mechanism for the blood plasma. *Inorg. Chim. Acta*, 1984, 92, 187. – 18. *Reddy C.C., Massaro E.J.*: Biochemistry of selenium: a brief overview. *Fundam. Appl. Toxicol.*, 1983, 3(4), 431. – 19. *Rogers V.S.*: Detection limites for gamma-ray spectral analysis. *Anal. Chem.*, 1970, 42, 455. – 20. *Sigel A.*: Metals ions in biological systems. Vol. 16, Marcel Dekker, Inc., New York, 1983, 25.

21. *Warren H.V.*: Geology, trace elements and health. *Soc. Sci. Med.*, 1989, 8, 923. – 22. *Zingaro R.A., Copper W.C.*: Selenium, Van Nostrand-Reinhold, New York, 1974.

Otrzymano: 1994.12.14