

SELENYUM: DAĞILIŞI, METABOLİZMASI VE FİZYOLOGİSİ (Selenium : Distribution, Metabolism and Pathophysiology)

Dr. İdris AKKUŞ *, Vet. Hek. M. Ramazan ŞEKEROĞLU **,

Dr. Abdurrahman ÜNER ***, Dr. Mehmet AKÖZ ***, Dr. Emin KURT ****

* S.Ü. Biyokimya Anabilim Dalı, ** S.Ü. Sağlık Bilimleri Ens. Tıp Fak. Biyokimya ABD Doktora Öğrencisi,

*** Çocuk Sağlığı ve Hastalıkları Uzmanı, **** Biyokimya Uzmanı, ***** S.Ü.T.F. Göz Hastalıkları ABD

**** Biyokimya Uzmanı

GİRİŞ

Selenyum (Se) 1817 yılında İsveçli bilim adamları Jöns Jacop Berzelius ile J.G. Gahn tarafından keşfedildi. Eser elementler içinde en toksik olanıdır (1,2). İlk selenyum zehirlenmesi 1295 yılında Asya'da yaptığı seyahat esnasında Marko Polo tarafından farkedilmiş ancak o zaman bu zehirlenmenin Se'dan kaynaklandığı bilinmemiştir (1).

Selenyum esansiyel bir iz element olduğu ise ancak 1957'de anlaşılabilmiştir (1,2,3).

TOPRAK ve BİTKİLERDE SELENYUM

Se, dünyanın her yerinde bulunmakla beraber dağılışı bölgeler arasında büyük farklılıklar gösterir. En fazla bulunduğu bölgeler Birleşik Amerika, İrlanda, Çin'in bazı bölgeleri ve Türkistan'dır. Bu bölgelerde toksik seviyede selenyum biriktiren bitkiler yetişmektedir. Bunlara Se biriktiren bitkiler adı verilir. Bu bitkilerin kuru bakıyelerinde 20.000-30.000 ppm kadar Se bulunur. Halbuki diğer bitkilerde 50 ppm'den fazla Se toksik etki yapar. Dolayısıyla bu bitkiler bunları yiyen canlılar için tehlikelidir (1-4).

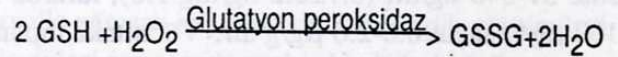
Bitkilerin Se miktarı yetiştikleri toprak durumuna ve bitkinin çeşidine göre büyük farklılıklar gösterir (4). Çayır bitkileri tahılların yaklaşık iki katı kadar Se ihtiva ederler. Turpgiler türünde Se miktarı çayır bitkileri ve tahılların yaklaşık 2-5 katıdır (1,4).

Toprağın Se tutmasında en önemli faktörler; pH, mikrobik aktivite ve toprağın fiksasyon kapasitesidir. Bitkiler Se'u kumlu topraklardan daha kolayca alabilirler. Tabii şartlarda ise killi topraklarda daha çok Se birikir. Bu yüzden killi topraklarda yetişen bitkilerdeki Se miktarı daha yüksektir (1,2). Selanat bileşikleri (SeO_4^{2-}) selenitlere (SeO_3^{2-}) göre daha çözünebilir olduklarından selanat bakımından zengin topraklarda yetişen bitkiler Se açısından daha zengindir (4).

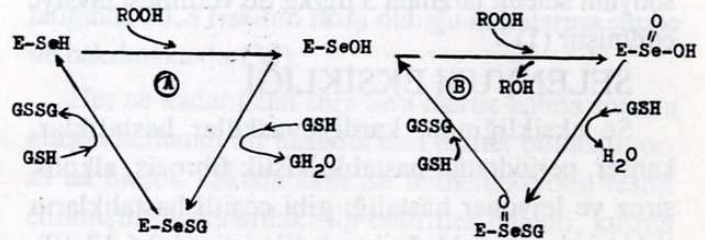
Toprağın pH'sı onun selenit fiksasyonunu etkiler. Alkali, nemsiz ve kuru topraklar toksik seviyede Se ihtiva ederler. Selanat bileşikleri bu topraklarda çözünür olduklarından bitkiler tarafından kolayca alınır (4).

METABOLİZMASI

Se, hemen bütün hayvanlar için esansiyel bir elementtir (2,3,5,6). Bakterilerde çok sayıda selenozim bulunur. Hayvanlarda ise önemli bir sitoplazma ve mitokondri enzimi olan Glutasyon peroksidaz (Glutasyon : H_2O_2 oksidoredüktaz EC: 1.11.1.9)'ın yapısında bulunur. Bu enzim iki dimerden oluşmuş bir tetramerdir ve yapısında dört tane Se atomu bulunur. Enzimin aktif bölgesindeki Se, selenosistein tarzındadır. Bu enzim özellikle eritrositler için hayati öneme sahip olup Hidrojen peroksidi (H_2O_2) detoksifiye eder. Bu arada redükte glutasyon da okside glutasyon haline dönüşür (3,5-9). Etki tarzı şu şekildedir:



Peroksidlerin indirgenmesinde enzimin yapısındaki Se, selenol-selenenik asit- seleninik asit siklusunu takip eder (Şekil 1) (1,9).



GSH : Redükte glutasyon

GSSG : Okside glutasyon

Şekil 1: GSII-P_x'in reaksiyon mekanizması

Çeşitli araştırmacılar iki tip glutatyon peroksidaz uyu göstermişlerdir. Bunlardan sadece bir tanesi seleno enzimdir. Bu enzim hem inorganik peroksitleri (H_2O_2) hem de organik peroksitleri metabolize ederken seleno enzim olmayan diğer peroksidaz sadece organik peroksitleri metabolize eder. Çeşitli canlı türlerinde Se eksikliğinde görülen karaciğer nekrozundaki farklılık buradan kaynaklanır. Dolayısıyla Se'a bağlı enzimin aktif olduğu canlılarda Se eksikliğinde ağır nekroz görülürken Se'suz enzimin aktif olduğu canlılarda Se eksikliğinde karaciğerde nekroz gelişmez (10,11).

Glutatyon peroksidazla E vitamini birbirlerini tamamlayıcı etki gösterirler. Enzim, teşekkül etmiş olan peroksitleri ortadan kaldırırken E vitamini peroksitlerin sentezini engeller (5).

Se, daha çok yiyeceklerle alınır. Ancak içme suyunda da bir miktar Se bulunur. ABD'de bu miktar $3.5 \mu\text{g/L}$ olarak tesbit edilmiştir. Yiyeceklerle alınan Se miktarı bölgelere göre büyük farklılıklar gösterir. %90'dan fazlası hububat, balık ve et ile alınır (12). Buğdayda Se miktarı $0.33 \mu\text{g/g}$ unda $0.063 \mu\text{g/g}$ olarak tesbit edilmiştir (13).

Yetişkin insanlarda tam kan Se seviyesi 57-340 ng/ml, serum veya plazmada 78-320 ng/ml, eritrositte 57-340 ng/ml ($0.7 \pm 0.2 \text{ ng/mg Hb}$), idrarda 5-100 $\mu\text{g/l}$, saçta $0.6-2.6 \mu\text{g/g}$ 'dir. Vücuttaki toplam miktarı 20 mg (250 μmol) kadardır. Çocuklarda $0.07-0.16 \mu\text{g/ml}$ 'dir (6,13,14,15).

Çin'de yapılan epidemiyolojik çalışmalara göre günlük Se ihtiyacı minimum 50-200 μg (minimum 30 μg) olarak kabul edilmektedir (6,16) (Tablo I).

Prematüre ve yeni doğan hasta bebeklere günlük sodyum selenit tarzında 3 $\mu\text{g/kg}$ Se verilmesi tavsiye edilmiştir (1).

SELENYUM EKSİKLİĞİ

Se eksikliğinde; kardiyovasküler hastalıklar, kanser, periodontal hastalık, kistik fibrozis, alkolik siroz ve lejyoner hastalığı gibi çeşitli hastalıkların risklerinde artış olduğu kaydedilmiştir (1,2,6,17-19). Hayvan deneylerinde Se'un kansere karşı kemoteropötik etkisinin olduğu görülmüştür. Asidik veya solid tümörlerin gelişmesini önlemede sodyum selenitin selenometyonin gibi diğer Se bileşiklerinden daha etkili olduğu bildirilmiştir (2,6).

İnsan sağlığı açısından Se eksikliğinin etkisi en ciddi şekilde Çin'in Keshan bölgesinde

görülmektedir. Bu bölgede birçok çocuk Keshan Hastalığı olarak bilinen ve Se eksikliğine bağlı bir hastalıktan ölmektedir (2,3,6).

Karsinomali hastalarda da Se seviyesi diğer hastalardan önemli oranda düşüktür (6). Ayrıca Se seviyesi ne kadar düşük olursa metastaz, kanser tekrarı ve eken ölüm riskinin o kadar fazla olduğu kaydedilmiştir. 27 ülkede yapılan ekolojik çalışmalarda kolon, rektum, göğüs, ovaryum, akciğer kanseri ve lösemiden ölüm oranı ile kan selenyum seviyesi ve günlük Se alınışı arasında ters bir ilişki bulunmuştur (20-23).

Kanda Se'u vitamin A ve vitamin E seviyeleri düşük olan kimselerde kanser riski yüksek bulunmuştur (52). Ancak bazı araştırmacılar kanser hastalarında düşük Se seviyesinin hastalığın sebebi olmaktan ziyade neticesi olabileceğini bildirmişlerdir (1,24). Yine de Se'un kanserin önlenmesinde önemli rol oynayabileceği düşünülmektedir (52). Nitekim, kısmi hepatektomiden sonra Se karaciğer hücrelerinin proliferasyonunu azaltmaktadır (20). Gebelerde ve protein malnütrisyonu olan kişilerde de serum Se seviyesi düşüktür (6).

Kan Se seviyesinin düşük olduğu durumlarda ($<45 \mu\text{g/dl}$) kardiyomiyopati görülür (1,13,25, 26,27). Bunun en yaygın şekli Keshan hastalığıdır (6,7,15,25). Keshan ve Kashin Beck's hastalıklarının önlenmesinde günlük en az 30 μg Se alınması gerektiği bildirilmiştir (1,2). Ayrıca serum Se seviyesi düşük ($0.035 \mu\text{mg/ml}$) olan iki yaşındaki bir kız çocuğunda kardiomegali konjestiv kalp yetmezliği tesbit edilmiş, Se ile tedaviden sonra (4 hafta süre ile sodyum selenit tarzında günde 2 mg)/ iyileştiği görülmüştür. Aynı hastada saç çinko seviyesi düşük, idrar çinko seviyesi ise yüksek bulunmuştur (13).

Düşük Se seviyesi ile bazı kas hastalıkları arasında da ilişki görülmüştür. Müsküler distrofi ile Se seviyesi arasında herhangi bir ilişki gösterilemediği halde miyotonik distrofide hastalık ilerledikçe kan Se seviyesinin düştüğü görülmüştür. Duchenne ve Becker tipi müsküler distrofilere sodyum selenit tarzında yüksek dozda Se ile beraber E vitamini verildiğinde pozitif bir klinik cevap gözlenmiştir. Mitotonik distrofili bir hasta iki yıl süre ile Se ve E vitamini ile tedavi edilmiş ve önemli oranda iyileşme sağlanmıştır. Norveç ve Finlandiya'nın Se'ca fakir bölgelerinde ise multiple sklerosis daha yaygındır. İnfantil ve Juvenil neuronal seroid lipofuccinosis'li

hastalarda yüksek dozda Se ve E vitamini verilerek fiziksel ve mental aktivitede geçici iyileşme sağlanmıştır. Se ve E vitamini ile B2 ve B6 vitaminlerinin de verildiği birkaç hastada ise herhangi bir gelişme sağlanamamıştır (1,28).

Ciddi Se eksikliği olan civcivlerde vitamin E ve yağların absorbe edilemediği ve pankreasın tamamen atrofiye olduğu görülmüştür (54). Böylece Se eksikliği sonucu ya lipaz enziminin veya herhangi bir prekürsörünün sentezlenemediğine inanılmaktadır. Buradan da Se'un protein sentezi basamaklarında rol oynadığı söylenmektedir (2).

Monoseleno ve diseleno dikarboksilik asitler ratlarda Se eksikliğine bağlı karaciğer nekrozunu düzeltirler (4).

Vajeteryanlarda Se alınışı yetersiz olduğu gibi ticari mamaları kullanan bebeklerde ve metabolizma bozukluklarının tedavi için aminoasit karışımlarını kullanan çocuklarda da Se eksikliği görülebilir. Fenilketonüri ve akçaağaç şurubu idar hastalığını tedavi diyeti alan çocuklarda alınan günlük Se miktarının 5 µg'dan az olduğu kaydedilmiştir (1,6).

Batı Avrupa hazır formülleriyle beslenen bebeklerde bir ay içinde günlük Se alınışı 3.5 µg, Amerika formülleriyle beslenenlerde 7.2 µg/gün, anne sütü ile beslenenlerde bu miktar günlük 13.3 µg olarak tesbit edilmiştir (1,6).

Birçok Se bileşikleri uçucu olduklarından inek sütünün işlenmesi esnasında önemli miktarda Se kaybolur. Mamalardaki Se miktarı anne sütünün üçte biri kadardır (1,5,29).

Hayvanlarda Se eksikliği belirtileri farklı şekillerde görülür. Geviş getirenlerde sıklıkla görülen miyopati diğer hayvanlarda görülmez. Miyopati semptomları çeşitli kas grupları veya lifler üzerindeki lezyonlarda tesbit edilir. En çok etkilenen kaslar şunlardır: a) lokomotor kas sistemi b) Respiratuvar kas sistemi c) Kalp kası (1,3,30).

Spermatogenez durumunda testisler tarafından fazla miktarda Se alınır. Se eksikliği koyunlarda fertilitiyi azaltır. Bazı araştırmacılara göre yeterli miktarda Se koyunlarda gebelik oranını artırır. Yeni doğan kuzuların ölüm oranını azaltır. Bazı vakalarda koyun başına kuzu sayısı da artar. Se, buzağı kayıplarını da azaltır (1).

Çeşitli hayvanlarda Se eksikliğine bağlı yetersiz gelişme katarakt ve pankreatik hasar görülebilir (2).

Bütün türlerde tolere edilebilir maksimum Se miktarı kuru ağırlık cinsinden 2 mg/kg olarak kabul edilir (1,2,6).

SELENYUM FAZLALIĞI

Çin'de fazla Se'lu bölgelerde yaşayan insanlarda Se fazlalığına bağlı en belirgin bulgunun saç ve tırnakların dökülmesi olduğu görülmüştür. Diğer bazı belirtiler ise deri ve sinir sistemi lezyonları ile muhtemelen kötü dişlerdir. Çocuklarda Se fazlalığı ile diş çürükleri arasında bir korelasyon olduğuna dair bazı epidemiyolojik çalışmalar mevcuttur. Ancak Se'un kariyojenik olduğuna dair herhangi bir bulgu elde edilememiştir (2,6).

Progressif, öldürücü ve otozomal resesif bir hastalık olup, merkezi sinir sistemini etkileyen nöronal seroid lipofusunosisli 8 çocuğa altı yıl süre ile günlük 0.075-0.1 mg/kg sodyum selenit verilmiş ve neticede diş çürümesi veya gingivitis insidansının artmadığı görülmüştür. Bu çocuklarda tedavi sırasında kan Se'u 74 ng/ml'den 309 ng/ml'ye yükselmiştir. Aynı grup hastalara ve beş sağlıklı kişiye fazla Se verilmiş ve neticede lenfosit kültürleri üzerinde yapılan çalışmalarda kromozomlarda herhangi bir değişiklik tesbit edilememiştir (1).

Sodyum selenit ihtiva eden mikrobiyolojik materyalle uğraşan beş gebe kadında düşük görülmüştür. Bir diğeri ise çarpık ayaklı bir bebek doğurmuştur. Öte yandan Venezüella'da yapılan çalışmalarda ise Se'un teratojenik etkilerinin olduğuna dair herhangi bir bulgu elde edilememiştir (1,2). Se'ca zengin bazı bölgelerde Amyotrophic lateral scleriosis (ALS) insidansının fazla olduğu gözlenmiştir. Ancak bu bulguların tam tersi bulgular da bulunduğu Se fazlalığında ALS riskinin fazla olduğu iddialarına şüphe ile bakılmaktadır (30).

Her ne kadar uzun süre Se'a maruz kalma sonucu oluşan herhangi bir hastalık tam olarak bilinmemiş olsa da birçok vakada akut Se intoksikasyonu tesbit edilmiştir. Vakalardaki ilk belirtiler bulantı, kusma ve diyaredir. Birkaç hafta sonra saç dökülmeye başlar ve tırnaklarda patolojik değişiklikler görülür. Hatta iki yaşındaki bir çocuğun dehidrasyon sonucu öldüğü görülmüştür (1,2,18,31).

Öte yandan 15 yaşındaki bir kız çocuğu kazaen 22.3 mg sodyum selenit yuttuğu halde herhangi bir sekel görülmemiştir. Ancak geçici elektrokardiogram değişikliği, karaciğer fonksiyon bozukluğu ve sarımsak kokulu solunum oluşmuştur. Bazı araştır-

macılara göre Se fazlalığının en önemli belirtisi solunum havasındaki dimetil selenitten kaynaklanan sarımsak kokusudur (1,2,27).

Retikülo endotelial neoplazia'da serum Se seviyesinin yüksek olduğu kaydedilmiştir (6). Se toksisitesini önlemede arsenik, fazla miktarda protein, fazla metionin, antioksidanlar ve brombenzen bileşiklerinin farklı derecelerde koruyucu etkileri vardır (4). Se toksisitesi, alınan bileşiklere göre farklılık gösterdiğinden, toksik doz için minimum bir alt sınır tesbit etmek zordur. Ancak diyetle 2 ppm den az Se miktarının emniyetli olacağına inanılmaktadır (1,2).

DOKU ve ORGANLARDA SELENYUM

Çeşitli dokuların Se miktarı birbirinden oldukça farklıdır. Hayvanlarda en fazla Se böbrek korteksinde birikir. Kalp kası dışındaki diğer kasların Se miktarı en düşük, karaciğerin ise orta derecededir. Ancak hepatic Se miktarı Se nütrisyonu açısından en iyi gösterge olarak kabul edilebilir (1,14).

SÜTTE SELENYUM

Süt Se miktarı hayvanın diyeti ile değişir. Ancak diyet Se'u belli bir miktarı (6 mg/gün) aştıktan sonra süt Se miktarı artmadan sabit kalır. bu yüzden sütte toksik seviyede Se bulunmaz (1).

SELENYUMUN AĞIR METAL ZEHİRLENMELERİNE KARŞI KORUYUCU ETKİSİ

Se, kadmiyum ve civa zehirlenmelerine karşı koruyucu etkiye sahiptir. Nitekim, kadmiyumun doku içi toksisitesini ve testisler üzerindeki toksik etkilerini önler (31). Bol miktarda civa ihtiva eden ton balığının zehirli etkisinin yine aynı balıkta yeterli miktarda bulunan Se tarafından engellendiği gösterilmiştir. Se, civa ile inert bir bileşik yaparak civanın toksisitesini azaltır (4).

SELENYUM TAYİN METODLARI

Se analiz metodu, çalışılan biyolojik sıvıdaki konsantrasyona göre seçilmelidir. Se tayini için en sık kullanılan metodlar ve yaklaşık hassasiyetleri tablo II de verilmiştir. Nötron aktivasyonu, fluoro-

Tablo 1: Tavsiye edilen günlük Se miktarı (1,6,32)

YAŞ	SELENYUM ALIMI (mg/gün)
0-1/2	10-40
1/2-1	20-60
1-3	20-80
4-6	30-120
7-11	50-200
Yetişkinler	50-200
Maksimum	500
Vejeteryan	200-250
Kanser kemoterapisi	250-300

Tablo 2: Selenyum tayininde kullanılan metodlar

METOD	YAKLAŞIK HASSASİYET (ng)
Nötron aktivasyon analizi (NAA)	10
Floresans spektroskopisi (FS)	2-5
Atomik absorpsiyon spektrometri	
Alevli	500
Alevisiz (grafit)	0.5
Hidrid = Alevli	2
Kuartz Cell	0.02
Gaz kromatografi (GC)	1
X-ışını floresans spektrometri (XRF)	2500

metri ve atomik absorpsiyon spektroskopisi metodları en çok kullanılan metodlardır (1,6) (Tablo II).

ATOMİK ABSORBSİYON

Se tayini için üç çeşit atomik absorpsiyon (AAS) kullanılır: 1) 0.5 ppm üzerindeki konsantrasyonlar için alevli AAS, 2) Eser seviyedeki Se konsantrasyonu için grafit fırınlı alevisiz AAS ve 3) Yine eser konsantrasyonlar için alev veya kuartz hücre analizi kullanılan hidrit jenerasyon tekniğidir (6).

FLORESANS SPEKTROSKOPİ

Se, 2,3-diaminonaftelen ile floresanlı Se bileşikleri oluşturur. Bundan faydalanarak Se tayini yapılır. Bu tip cihazlar diğer cihazlara göre daha ucuz olmalarıyla tercih edilirler. Metodun hassasiyeti de iyidir (1,6).

KAYNAKLAR

1. Gissel-Nielsen G, Gupta CU, Lamand M, Westermarck T. Selenium in soils and plants and its importance in livestock and human nutrition. *Advances in Agronomy* 1984; 37: 397-460.
2. Simmer K, Thompson RPH. Trace elements. In: Cohen RD, Lewis B, Alberti KGMM, Denman AM, eds. *The metabolic and Molecular Basis of acquired Disease*. London: WB Saunders, 1990: 675-677.
3. Schwart K. Essentiality and metabolic functions of selenium. *Symposium on Trace elements. Med Clin of N Am* 1976; 60(4): 745-758.
4. Allaway WH. Selenium in the food chain. *Cornell Vet* 1973; 63:153-170.
5. Mayes PA. Biological Oxidation. In: Murrup RK, Mayes PA, Granner DK, Rodwell VW. *Harper's Biochemistry*. Beirut: Librairie du Luban, 1990:105-111, 562-570.
6. Jacop RA. Trace elements. In: Tietz NW, ed. *Fundamentals of clinical chemistry*. Philadelphia: WB Saunders, 1987: 530-531.
7. Slater TF, Cheeseman KH, Davies MJ, Proudfoot K and Xin W. Free radical mechanisms in relation to tissue injury. *Pro Nutr Soc* 1987; 46:1-12.
8. Rotrock JT, Pope AL, Ganther HE, et al. Selenium: Biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science*, 1973: 179, 588-591.
9. Fortrom JW, Zakowski JJ, Tappel AL. Identification of the catalytic site of rat liver glutathione peroxidase as selenocysteine. *Biochemistry* 1978; 17(93): 2639-2644.
10. Lawrance RA, Burk RF. Glutathione peroxidase activity in selenium-deficient rat liver. *Biochem Biophys Res Commun* 1976; 71(4): 952-958.
11. Levander OA, Morris VC, Higgs DJ. Characterization of the selenium in rat liver mitochondria as glutathione peroxidase. *Biochem Biophys Res Commun* 1974; 58(4): 1047-1052.
12. Lo MT and Sandi EM. Selenium: Occurrence in food, and its toxicological significance: a review. *J Environ Pathol Toxicol* 1980; 4: 193-218.
13. Collips PJ, Chem SY. Cardiomyopathy and selenium deficiency in a two-year-old girl. *N.Engl J Med* May 21, 1981; 304 (21): 1304-5.
14. Dickson RC, Tomlinson RH. Selenium in blood and human tissues. *Clin Chim Acta* 1967; 16: 311-321.
15. King WK, Michel L, Wood WC, Malt RA. Reversal of selenium deficiency with oral selenium. *N Engl J Med* 1981; 304 (21): 1305.
16. Diplock AT. Trace elements in human health with special reference to selenium. *Am J Clin Nutr* 1987; 45: 1313-1322.
17. Frost DV. Selenium in biology and medicine. *Feedstuffs* 1981; 13: 26-30.
18. Lanza E, Mostow EN, Winick W. Diet and cancer. In: Cohen RD, Lewis B, Alberti KGMM, Denman AM, eds. *The metabolic and molecular basis of acquired disease*. London: WB Saunders, 1990: 675-677.
19. Kayander EO, Harvima RJ, Kauppinen L, et al. Effects of selenomethionine on cell growth and on S-adenosylmethionine metabolism in cultured malignant cells. *J Biochem* 1990; 264:767-777.
20. Tempero MA, Deschner EE and Zedeck MS. The effect of selenium on cell proliferation in liver and colon. *Biol Trace Elem Res* 1986; 10:145-152.
21. Kok FJ, de Bruijn AM, Vermeeren K, et al. Serum selenium, vitamin antioxidants, and cardiovascular mortality: a 9-year follow-up study in the Netherlands. *Am J Clin Nutr* 1981;45: 462-468.
22. Sky-Peck III. Trace metals and neoplasia. *Clin Physiol Biochem* 1986; 4: 99-111.
23. Das NP, Ma CW and Salmon VM. Serum selenium concentrations in ovarian cancer patients using a simplified fluorometric procedure. *Biol Trace Elem Res* 1986; 10: 215-222.
24. Helzlsouer KJ. Selenium and cancer prevention. *Semin Oncol* 1983; 10(3): 305-310.
25. Johnson, RA, Baker SS, Follon JT, et al. An occidental case of cardiomyopathy and selenium deficiency. *N Engl J Med* 1981; 204: 1210-2.
26. Opie LH, Commerford PJ. Cardiomyopathy. In: Cohen RD, Lewis B, Alberti KGMM, Denman AM, eds. *The metabolic and molecular basis of acquired disease*. London: WB Saunders, 1990: 1605-1616.
27. Tietz NW, Finley PL, Pruden EL. *Clinical guide to laboratory tests*. Philadelphia: WB Saunders Company, 1990:500-501.
28. Burri BJ, Chan SG, Berry AJ, Yamell SK. Blood levels of superoxide dismutase and glutathione peroxidase in Duchenne muscular dystrophy. *Clin Chim Acta* 1980; 105, 249-255.
29. Kumpulainen J, Letho J, Kiovistoinen I, Uusitupa M and Vuori E. Determination of chromium in human milk, serum and urine by electrothermal atomic absorptions spectrophotometry without preliminary washing. *Sci Tot Environ* 1983; 31:71-80.
30. Killness AW, Hochberg FH. Amyotrophic lateral sclerosis in a high selenium environment. *JAMA* 1977; 237 (26): 2843-44.
31. Jamall IS and Smith JC. The effect of dietary selenium on cadmium cardiotoxicity. *HB Exp Pharmacol* 1986; 80: 351-361.
32. Oldfield JE. Biological uses of selenium. *Feedstuffs*,1981; 53(28): 20-25.