

Zusammenfassung

In dieser Arbeit wurden Gewebe des Atmungstraktes (Lunge und Trachea) von selendefizient und selenadäquat ernährten Ratten mit einer Kombination von elementanalytischen Methoden und biochemischen Verfahren untersucht. Mit differentieller Ultrazentrifugation wurden die subzellulären Fraktionen der Gewebe (Kerne, Mitochondrien, Mikrosomen, Zytosol) gewonnen. Die Instrumentelle Neutronaktivierungsanalyse (INAA) wurde eingesetzt, um die Konzentrationen der Spurenelemente Selen, Arsen, Eisen, Mangan, Zink, Kobalt, Rubidium und Chrom in den Geweben und den subzellulären Fraktionen von Lunge und Trachea zu bestimmen. Mit Hilfe der Atomabsorptionsspektrometrie (AAS) wurden die Konzentrationen von Kupfer und Nickel in den Mitochondrien und Zytosolen bestimmt.

Wie erwartet war die Konzentration von Selen in den Geweben und subzellulären Fraktionen der selendefizient ernährten Tiere geringer. Für alle anderen untersuchten Elemente wurden keine signifikanten Unterschiede zwischen den beiden Gruppen beobachtet.

In den subzellulären Fraktionen waren alle untersuchten Elemente inhomogen verteilt. Die meisten Elemente hatten die höchsten Konzentrationen in den Mitochondrien und den Mikrosomen. Die höchste Chromkonzentration wurde in den Kernen gefunden, Arsen und Rubidium waren in den Zytosolen angereichert.

In ersten Untersuchungen wurden metallhaltige Proteinfraktionen in den Zytosolen mit Hilfe der Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (HPLC) aufgetrennt und die Elemente mit der induktiv gekoppelten Plasma-Massenspektrometrie (ICP-MS) on-line detektiert.

Die chromatographischen Profile von Selen, Arsen, Nickel, Eisen, Kupfer, Mangan, Cadmium, Silber, Molybdän und Kobalt weisen darauf hin, dass alle untersuchten Elemente, außer Rubidium, an zytosolische Proteine gebunden sind.

Kupfer, Eisen, Mangan, Selen und Zink sind bekannt als essentielle Komponenten von vielen redox-aktiven Enzymen, aber es besteht die Möglichkeit, dass diese Elemente auch Bestandteil bisher noch nicht identifizierter Proteine sind.

Erstmals wurden für Arsen und Nickel Proteinbindungen in den Zytosolen von Lunge und Trachea nachgewiesen.

Es wurden die Elemente Se und As für detaillierte Untersuchungen ausgewählt, um weitere Informationen zu Metabolismus und Funktion zu erhalten.

Durch Markierung von Ratten *in vivo* mit ^{75}Se , Trennung der Gewebeproteine mit gelelektrophoretischen Methoden und autoradiographischen Nachweis der Tracerverteilung wurde gezeigt, dass in der Lunge und Trachea 24 selenhaltige Proteine mit molekularen Massen im Bereich von 10-30 kDa sowie 50-80 kDa und pI Werten von 3-10 existieren.

In weiteren Experimenten wurde der Einfluss der Selenversorgung auf die Expression selenhaltiger Proteine in der Lunge und Trachea bei selendefizient und selenadäquat ernährten Ratten untersucht.

Die Ergebnisse bestätigen die Hypothese, dass das Auftreten unterschiedlicher Selenbindender Proteine stark von dem Selen Status abhängig ist. Nach der Markierung selendefizienter Ratten wurde nur ein geringer Anteil der Aktivität im 25 kDa-Protein (Glutathionperoxidase) der Lunge und Trachea gefunden. Statt dessen wurden andere Selenoproteine vorzugsweise versorgt. In Lunge und Trachea von selenadäquat ernährten Tieren wurde der größte Anteil des Selens in den Proteinen mit den molekularen Massen 25 kDa, 23 kDa, 20 kDa und 15 kDa gefunden. Diese Ergebnisse zeigen, dass die Gabe kleiner Mengen von Selen bei selendefizient ernährten Tieren zuerst zur Expression bevorzugter selenhaltiger Komponenten führt.

Zur Untersuchung der biologischen Bedeutung und möglichen Funktionen von Arsen wurden selendefizient und selenadäquat ernährte Ratten *in vivo* mit ^{73}As markiert.

Die Elementverteilung in den Geweben und in den subzellulären Fraktionen zeigt, eine starke Abhängigkeit von dem Selen-Status der Tiere.

In den Geweben selendefizient ernährter Ratten verblieb viel mehr der ^{73}As -Aktivität als in den Geweben selenadäquat ernährter Tiere. Auch wurden in den verschiedenen Geweben variierende As-Gehalte beobachtet. Die Ergebnisse deuten darauf hin, dass Se-adäquat ernährte Tiere weniger As aufnehmen bzw. es besser wieder ausscheiden, Selen also vor As Belastung schützt.

Das radioaktive Arsen wurde auch in subzellulären Fraktionen verschiedener Organe gemessen. Am höchsten war die Arsenkonzentration in den Kernen, es wurde aber auch in den Zytosolen und Mitochondrien gefunden.

Die arsenhaltigen Proteine im Homogenat und in den subzellulären Fraktionen wurden durch gelelektrophoretische Trennung der Proteine und autoradiographische Nachweis der Tracerverteilung untersucht. Erstmals wurden in den Geweben arsenhaltige Proteine gefunden. Die molekularen Massen der Proteine sind: > 250 kDa, 75 kDa, 50 kDa, 37 kDa, 29 – 30 kDa, 25 kDa, 16 kDa, and 15 kDa.

Die Auswertung der Autoradiogramme zeigte Unterschiede in der Verteilung arsenbindender Proteine in den verschiedenen Geweben und den subzellulären Fraktionen. Diese Unterschiede weisen daraufhin, dass die arsenhaltigen Proteine in unterschiedliche intrazelluläre Prozesse involviert sind.