

## 6 Zusammenfassung

Elementanalytische Untersuchungen zeigten unterschiedliche Selenkonzentrationen in den Geweben der Ratte. Das Hirngewebe fiel dabei durch zwei Aspekte auf: es wies einen relativ geringen Selengehalt auf und es wurde bei ungenügender Selenaufnahme bevorzugt mit dem Element versorgt. Die Ergebnisse zahlreicher Untersuchungen weisen darauf hin, dass das Spurenelement Selen in Form von Selenoproteinen als Radikalfänger und Komponente des Redoxsystems für die physiologischen Prozesse des ZNS von essentieller Bedeutung ist. Die lokalen Wirkorte und Funktionen des Selens im Gehirn sind jedoch noch nicht genau bekannt.

In dieser Arbeit sollte daher die Verteilung von Selen und die Expression von Selenoproteinen auf regionaler und zellulärer Ebene untersucht werden. Die mit Hilfe der Neutronenaktivierungsanalyse erhaltenen Ergebnisse für die regionale Verteilung von Selen im Gehirn der Ratte zeigten nur geringe Unterschiede innerhalb des Hirngewebes. Der höchste Selengehalt im Kleinhirn unterschied sich von dem niedrigsten im Hirnstamm um den Faktor 1,6. Bei einer Unterversorgung des Organismus mit Selen wurde der Selengehalt in allen Regionen des Gehirns nur um 30 % reduziert, in der Niere und der Leber aber um eine bzw. zwei Größenordnungen. Analysen der Gewebe-Cytosole der Hirnregionen, Leber und Niere durch Atomabsorptionsspektrometrie gaben Hinweise auf eine stärkere Abnahme des nicht-cytosolischen Selens im Gehirn. Durch Literaturvergleiche konnten diese Messergebnisse auf den geringeren Gehalt des Gehirns an cytosolischen Glutathion-Peroxidasen zurückgeführt werden.

In Untersuchungen zur Zeitabhängigkeit der Selenaufnahme mit Hilfe des Radiotracers  $^{75}\text{Se}$  wurde im Vergleich mit Leber, Niere und Milz eine verzögerte Inkorporation des Selens in Selenoproteine des Gehirns gefunden. Nach metabolischer Markierung von Ratten mit  $^{75}\text{Se}$  und Proteintrennung durch SDS-PAGE und 2-dimensionaler Gelelektrophorese wurden in allen Regionen mit Ausnahme des Kleinhirns ähnliche Expressionsmuster der  $^{75}\text{Se}$ -haltigen Proteine gefunden. Im Cytosol des Kleinhirns wurde eine deutlich erhöhte Markierung des Proteinspots bei 15 kDa mit dem IP von 4.8 – 5.2 nachgewiesen.

Zur Untersuchung der Expressionsmuster der Selenoproteine in unterschiedlichen Zelltypen des Gehirns wurden mit Zellkulturen von immortalisierten Zellen der Neuronen, Astrocyten, Oligodendrocyten, Mikroglia und cerebralen Endothelzellen gearbeitet. Sie wurden mit  $^{75}\text{Se}$  markiert und proteinchemisch analysiert. Die Proteinmuster der Selenoproteine nach elektrophoretischer Trennung ergaben für die Mikroglia und die Endothelzellen Auffälligkeiten gegenüber den übrigen untersuchten Zelltypen. In den Mikroglia wurden erhöhte Expressionen der selenhaltigen Proteine bei den Massen 12, 6, 10 und 9 kDa gefunden. In den Endothelzellen konnten nach 2-dimensionalen Gelelektrophorese zwei zusätzliche Spots bei IP-Werten von 5.2 – 5.6 sowie 5.8 – 6.2 gefunden werden. Diese beiden endothelspezifischen Proteinspots konnten durch 2-dimensionale Gelelektrophorese auch im Hirngewebe nachgewiesen werden. Die publizierten Sequenzen von 25 humanen Selenoproteinen konnten bis auf wenige Ausnahmen den detektierten  $^{75}\text{Se}$ -markierten Proteinspots zugeordnet werden.

Im Rahmen dieser Arbeit wurde ein Modell der Blut-Hirnschranke aus primären Astrocyten und einer Zell-Linie von cerebralen Endothelzellen rBCEC4 etabliert. Darin wurden durch Markierung mit  $^{75}\text{Se}$  die Expressionsmuster der selenhaltigen Proteine untersucht. Es wurden stark erhöhte Expressionsraten von cytosolischen selenhaltigen Proteinen bei der Molekularmasse 15 kDa in den Endothelzellen gefunden, die erst durch die Co-Kultivierung induziert worden waren. Dieses Ergebnis wurde ebenfalls durch Kultivierung der Endothelzellen in konditioniertem Astrocyten-Medium gefunden und deutet auf lösliche Mediatoren hin, die eine Hochregulation spezifischer selenhaltiger Proteine bewirken.

Die Ergebnisse der hier durchgeführten Untersuchungen zeigten, dass die Verteilung von Selen und die Regulation der Selenaufnahme in den verschiedenen Hirnregionen und auch die Muster der Selenoproteinexpression in den Hirnregionen und Hirnzelltypen sehr ähnlich sind. Für einige Selenoproteine konnten jedoch aus Unterschieden in ihrer Verteilung Hinweise auf spezifische Wirkorte erhalten werden.