

Aus dem Institut für Allgemeine Hygiene und Umwelthygiene
der Universität Tübingen
Direktor: Professor Dr. I. B. Autenrieth

**Quantitative Bestimmung von Selen im Liquor und
Serum unter Selensubstitution bei Patienten nach
Subarachnoidalblutung**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung des Doktorgrades
der Medizin

der Medizinischen Fakultät
der Eberhard-Karls-Universität
zu Tübingen

vorgelegt von
Steffen Thomas Kunz
aus Sigmaringen
2007

Dekan

1. Berichterstatter

2. Berichterstatter

Professor Dr. I. B. Autenrieth

Professor Dr. F. Schweinsberg

Professor Dr. M. Tatagiba

Teile dieser Inaugural-Dissertation wurden in nachfolgenden Zeitschriften und Kongressen publiziert:

S. Kunz, F. Schweinsberg, U. Birkenhauer, J. Steiner (2003) Quantitative Bestimmung von Selen im Liquor und Serum unter Selensubstitution bei Patienten nach Subarachnoidalblutung. *Umweltmed Forsch Prax* 8 (4): 210-11

Vortrag erster Ergebnisse dieser Arbeit bei der gemeinsamen Konferenz der Gesellschaft für Hygiene und Umweltmedizin (GHU) und der International Society of Environmental Medicine (ISEM) 28.9. bis 1.10.2003 in Tübingen.

Abkürzungsverzeichnis

AAS	Atomabsorptionsspektrometrie
BHS	Blut-Hirn-Schranke
BRD	Bundesrepublik Deutschland
d	Tage
DAN	2,3-Diaminonaphthalin
et al.	und andere
EVD	externe Ventrikeldrainage
GPx	Glutathionperoxidase
H ₂ O ₂	Wasserstoffperoxid
Hb	Hämoglobin
HCL	Salzsäure
HPLC	High Performance Liquid Chromatography
Lp	Lumbalpunktion
MA	Metamphetamin
MDA	Malondialdehyd
MRT	Magnetresonanztomographie
n	Anzahl
NO	Stickstoffmonoxid
6-OHDA	Hydroxydopamin
p	Signifikanzniveau (probability)
SAB	Subarachnoidalblutung
Se	elementares Selen
StdAdd	Standardaddition
WR	Wiederfindungsrate
ZNS	Zentralnervensystem

Einheiten:

°C	Grad Celsius
l	Liter
g	Gramm
µg	Mikrogramm
µg/l	Mikrogramm pro Liter
µg/d	Mikrogramm pro Tag
µg/kg KG	Mikrogramm pro Kilogramm Körpergewicht
µl	Mikroliter
ml	Milliliter
Min	Minuten
M	Mol pro Liter
nm	Nanometer
U/l	Units pro Liter

	Seite
Inhaltsverzeichnis	1
1 Einleitung	1
1.1 Selen	
1.2 Die gesundheitliche Bewertung von Selen – ein geschichtlicher Abriss	1
1.3 „Klassische“ Erkrankungen durch Selen	2
1.3.1 Selenosis	2
1.3.2 Selenmangelerkrankungen	4
1.4 Selen als essentielles Spurenelement	6
1.4.1 Die Selenoproteine	6
1.5 Selen und das ZNS	9
1.5.1 Therapie von ZNS-Erkrankungen mit Selen	10
1.6 Ätiologie der SAB	11
1.7 Fragestellung der Arbeit	13
1.8 Kinetik von Selen im Körper	14
2 Material und Methoden	20
2.1 Beschreibung des Patientenkollektivs	20
2.2 Probengewinnung	21
2.3 Selenbestimmung in Liquor und Serum	21
2.3.1 Analyseprinzip	21
2.3.2 Probenaufbereitung	21
2.3.3 Messung	22
2.4 Qualitätssicherung	23
2.4.1 Vorgehen im Labor	23
2.4.2 Bestimmung der Wiederfindungsrate	24

2.4.3	Analytische Zuverlässigkeiten	25
2.4.3.1	Nachweisgrenze	26
2.4.4	Bestimmung mit Atomabsorption in der Arbeitsmedizin	26
2.4.5	Vergleich der Nachweisgrenzen	27
2.5	Reagenzien, Verbrauchsmaterialien und Geräte	27
2.5.1	Reagenzien	27
2.5.2	Verbrauchsmaterialien	27
2.5.3	Geräte	28
2.6	Statistische Auswertung	29
3	Ergebnisse	30
3.1	Allgemeines	30
3.2	Ergebnisse der Qualitätssicherungsmethoden	30
3.2.1	Wiederfindungsrate	30
3.3	Darstellung der Messergebnisse	31
3.3.1	Selen im Liquor	32
3.3.1.1	Nullwerte im Liquor	37
3.3.1.2	Selengehalt im Liquor nach Beobachtungsende	38
3.3.2	Selen im Serum	39
3.3.2.1	Nullwerte im Serum	43
3.3.2.2	Selengehalt im Serum nach Beobachtungsende	43
3.3.2.3	Höchstwert im Serum	43
3.3.3	Urin	44
3.4	Ergebnisse der statistischen Auswertung	45
3.4.1	Liquor	45
3.4.2	Serum	46
3.5	Zeitliche Darstellung der Selenwerte in Abhängigkeit zum Zeitpunkt der Substitution	46
3.5.1	Serum	47
3.5.2	Liquor	47

4	Diskussion	49
4.1	Kritische Betrachtung der Methodik	49
4.2	Diskussion der Ergebnisse	55
4.2.1	Liquor	55
4.2.2	Serum	58
4.2.3	Fallbeschreibung der untersuchten Patienten	59
4.2.4	Substitution mit Selenase [®] T bei SAB – Überlegungen zur klinischen Relevanz	67
4.2.5	Betrachtungen zum Stoffwechsel von Selen unter Supplementierung	69
4.3	Schlussfolgerung	70
4.4	Ausblick	71
5	Zusammenfassung	71
6	Literaturverzeichnis	73
7	Anhang	78
7.1	Tabellen	78
7.1.1	Wiederfindungsrate	78
7.1.2	Selen im Serum	78
7.1.3	Selen im Liquor	79
7.1.4	Serumselen aller Patienten im zeitlichen Verhältnis von Substitution und Abnahmezeitpunkt	81
7.1.5	Liquorselen aller Patienten im zeitlichen Verhältnis von Substitution und Abnahmezeitpunkt	81
7.2	Danksagung	82
7.3	Lebenslauf	83

Abstract

In der vorliegenden Studie wurden 11 Patienten nach subarachnoidaler Blutung auf der Neurochirurgischen Intensivstation der Universitätsklinik Tübingen beobachtet. Davon erhielten 9 Patienten während ihres Aufenthaltes (zwischen einem und 30 Tagen) eine wiederholte Selensubstitution (i.v. Bolusgaben von 1000 und 1500 µg oder 500 per os).

In den aus den routinemäßig gewonnenen Serum- und Liquorproben wurde Selen mit HPLC und Fluoreszenzdetektion nach Derivatisierung mit 2,3-Diaminonaphthalin quantitativ bestimmt. Auf Grund der niedrigen Selenkonzentrationen im Liquor war es notwendig zunächst die Analytik zu optimieren (Nachweisgrenze: 0,5 µg/l).

Bei den Patienten, mit *Serum*proben vor Substitution (n=5) wurden leicht erniedrigte Selenkonzentrationen gefunden (AM: 67 µg/l, Bereich: 43-89 µg/l). Nach Supplementierung stiegen die Selenkonzentrationen um das 2 bis 3fache. Der höchste gemessene Wert lag bei 255 µg/l und damit deutlich unter dem toxischen Bereich (ab 400 µg/l). Bei 2 Patienten mit Komplikationen (Fieber über 39 °C) wurde ein deutlicher Abfall der Selenwerte im Serum trotz Supplementierung beobachtet (56 µg/l, 70 µg/l).

Die nachgewiesenen Selenkonzentrationen im *Liquor* vor Substitution (n=9) lagen im Bereich von 0,5 µg/l bis 3,3 µg/l, AM: 1,9 µg/l. Dies steht im Einklang mit Ergebnissen von Walther et al. (1998), während andere Studien 10fach höhere Werte berichtet haben. Nach Supplementierung (n=9) stiegen die Werte im AM auf 3,9 µg/l, Bereich: 1,4 bis 9,4 µg/l. Der mittlere Anstieg liegt bei 2 µg/l. Schlussfolgerungen: Mit HPLC kann der Selengehalt im Liquor bestimmt werden. Patienten mit subarachnoidaler Blutung haben erniedrigte Selenkonzentrationen im Serum. Im Verlauf der Erkrankung kann es zu einer weiteren Reduktion der Selenwerte kommen. Selensupplementierung führt nicht zu toxischen Werten im Serum. Aufgrund der protektiven Eigenschaften des Selens ist eine Supplementierung indiziert. Dabei kommt es zu einem Anstieg von Selen im Liquor unter Substitution. Dies ist die Voraussetzung für die Wirkung von Selen. Der prognostische Wert der Selenbestimmung im Liquor ist im Augenblick noch unklar.

1 Einleitung

1.1 Selen

Selen wurde 1817 von Jons Jacob Berzelius entdeckt. Er isolierte es aus den Rückständen der Schwefelsäureproduktion und benannte es nach der Mondgöttin Selene.

Selen, ein Halbmetall, befindet sich in der 6. Hauptgruppe des Periodensystems der Elemente und steht direkt unter dem Schwefel mit dem es in der Natur häufig vergesellschaftet ist.

Die Verteilung des Selens auf der Erdoberfläche variiert sehr stark. Sehr hohe Selenkonzentrationen in den Böden finden sich beispielsweise in verschiedenen Gebieten der USA, Chinas und Russlands. Im Gegensatz dazu werden in Zentraleuropa, Skandinavien und Neuseeland sowie wiederum in anderen Gegenden der USA und Chinas sehr niedrige Werte beobachtet.

Industriell werden Selenverbindungen heutzutage auf vielerlei Art und Weise genutzt wie zum Beispiel in der Elektroindustrie zur Fertigung von Halbleitern und photoelektrischen Zellen oder als roter Farbstoff in der Glas- und Keramikindustrie. Außerdem findet es bei der Herstellung von rostfreiem Stahl sowie in der organisch chemischen Industrie Verwendung (Barceloux, 1999).

1.2 Die gesundheitliche Bewertung von Selen – ein geschichtlicher Abriss

Die Bedeutung von Selen für den menschlichen Organismus hat sich im Laufe der Zeit sehr gewandelt. Aus heutiger Sicht wurden die ersten giftigen Eigenschaften dieses Elements an Tieren beobachtet: bei seinen Reisen in den Bergen West-Chinas beschreibt Marco Polo bereits im 13. Jahrhundert, wie es bei seinen Pferden nach dem Abweiden bestimmter Pflanzen auf Böden mit hohem Selengehalt zu Brüchigkeit und Veränderungen der Form der Hufe kam. Dieses Phänomen bei Weidetieren wurde später „Alkali Disease“, eine chronische Selenintoxikation, genannt (Barceloux, 1999); (vgl. 1.3.1 Selenosis).

In den 40er Jahren berichteten Nelson et al. (1943) von der kanzerogenen Wirkung des Selens bei Ratten. Obwohl diese Ergebnisse entscheidende Mängel aufwiesen und in weiteren Arbeiten nicht bestätigt werden konnten, hielt sich weitgehend die Meinung von Selen als kanzerogenem Agens. 1957 gelang dann Schwarz und Foltz der Nachweis, dass Selen für Ratten ein essentielles Spurenelement ist (Schwarz und Foltz, 1957). Die Entdeckung, dass die Glutathionperoxidase (GPx), ein Schutzenzym vor oxidativem Stress, selenhaltig ist, lieferte 1972 den Beweis der Notwendigkeit einer Selenzufuhr für den Menschen (Rotruck et al., 1972; Flohé et al., 1973).

Seit 1975 gilt Selen nicht mehr als krebserzeugend. Die International Agency for Research on Cancer (IARC) kam damals zu dem Schluss, dass aufgrund der vorliegenden Daten keine Anhaltspunkte für Selen als kanzerogenes Agens vorliegen.

Der Wandel in der Bedeutung von Selen für den Menschen wurde von Vernie (1984) treffend illustriert.

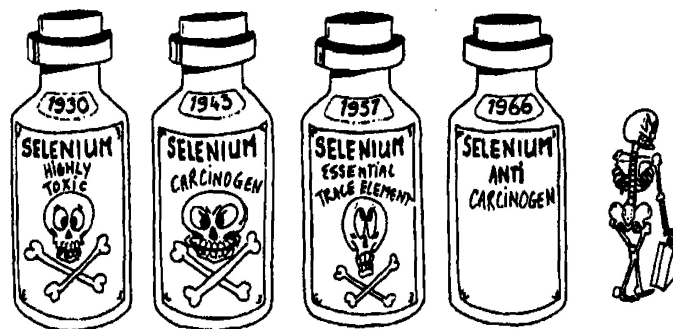


Abbildung 1: Selen im Wandel der Zeit. (Vernie, 1984).

1.3 „Klassische“ Erkrankungen durch Selen

1.3.1 Selenosis

Solange Selen noch nicht als essentielles Spurenelement bekannt war, wurde es allgemein für eine der giftigsten Substanzen überhaupt gehalten. Bei der bereits erwähnten Alkali-Disease sind Weidetiere betroffen, die nach dem Abweiden bestimmter Pflanzen auf sehr selenhaltigen Böden im Westen Chinas

und den „Great Plains“ in den USA brüchige Hufe bekamen (vgl. Marco Polo). Im fortgeschrittenen Stadium kam es zu Leberschäden und Herzmuskelatrophien (Letsche und Schweinsberg, 2000). Eine allgemeine Symptomatik von Selenintoxikation bei Menschen ist wegen der Vielfalt der Beschwerden schwierig. Zeichen einer Intoxikation sind im Folgenden aufgelistet:

- Foetor ex ore (Mundgeruch), verursacht durch Selenwasserstoff
- Haarausfall, Haarbrüchigkeit
- Weiche Nägel (Onycholysis)
- Gastrointestinale Beschwerden
- Kopfschmerzen
- Heiserkeit
- Ekzeme and der Haut
- Gingivitis
- Müdigkeit, Erschöpfung, Reizbarkeit
- Gewichtsverlust

(nach Heinzow und Oster, 2004)

Gut dokumentiert sind die Symptome der Selenintoxikation in Hubei, einer Provinz im Süden Chinas. Dort wurde extrem selenhaltige Kohle zur Düngung benutzt. Neben dem typischen Knoblauchgeruch des Atems wurden Haarbrüchigkeit mit gelegentlichem Haarausfall, Hautekzeme mit Ulzerationen, Funktionsstörungen des Nervensystems und Verlust der Finger- und Zehennägel dokumentiert (Letsche und Schweinsberg, 2000).

In ihrer Übersichtsarbeit über Metalle und Metalloide beschreiben Heinzow und Oster (2004) einige Fälle von akuter und chronischer Selenosis. Der Bericht über Intoxikationen durch Einnahme von Selenpräparaten, deren Konzentration falsch spezifiziert war, zeigt, dass bei dem zunehmenden Gebrauch von Selenpräparaten zur Selbstmedikation Vorsicht geboten ist. Während die akute Toxizität von anorganischem Selen (z.B. Selenit) deutlich höher ist, kann bei chronischer Zufuhr von gleicher Toxizität von organischem und anorganischem Selen (z.B. Selenomethionin) ausgegangen werden. Als chronische Selenosis

durch überhöhte Selenzufuhr wird eine tägliche Dosis von 15 µg/kg KG und Tag angesehen. Eine akute Selenosis wird nach Heinzow und Oster (2004) durch eine Dosis > 500 µg/kg Körpergewicht ausgelöst. Bei einem 80 kg schweren Erwachsenen würde eine Aufnahme von 40 mg Selen zu einer akuten Selenosis führen.

Aufgrund der toxischen Effekte durch erhöhte Selenzufuhr ist eine Festlegung von Referenzwerten sinnvoll. Yang et al. (1984) empfehlen, eine tägliche Selendosis von 700-800 µg nicht zu überschreiten. Als sichere Obergrenze gilt für sie eine Aufnahme von 400 µg pro Tag. Ab Serumwerten von 400 µg/l kann mit ersten toxischen Reaktionen gerechnet werden (Heinzow und Oster, 2004). Allerdings sind solche Werte für den Einzelnen nicht besonders hilfreich. Zuverlässige Aussagen über die Selenversorgung des Körpers lassen sich nur über das Human-Biomonitoring machen.

Da hohe Selenwerte nach dem heutigen Wissenstand nicht an der Entstehung anderer Erkrankungen beteiligt sind, wird einem Mangel an Selen wesentlich mehr Aufmerksamkeit geschenkt.

1.3.2 Selenmangelerkrankungen

Wissenschaftliches Interesse zog der Bericht einer chinesischen Forschergruppe 1979 auf sich, in dem beschrieben wurde, dass die Keshan-Krankheit in Gebieten Chinas mit selenarmen Böden auftritt (zitiert in Levander et al., 1997). Bei der Keshan-Krankheit beobachtet man eine endemisch vorkommende dilatative Kardiomyopathie vor allem bei Kindern und jungen Frauen. Der Verlauf der Erkrankung wird von Kardiomegalie, einer Hypertrophie der Herzmuskelzellen und einer zunehmenden Abnahme der Herzmuskelkontraktilität geprägt. Als Folge entsteht eine Herzinsuffizienz. Durch Supplementierung der Bevölkerung in selenarmen Gebieten mit Selenit konnte die Inzidenz dieser Krankheit deutlich reduziert werden, so dass Neuerkrankungen der Keshan-Krankheit kaum noch vorkommen. Mittlerweile ist man zu der Erkenntnis gelangt, dass die Ätiologie der Keshan-Krankheit nicht allein auf einen Selenmangel zurückzuführen ist, sondern mehrere Faktoren beinhaltet. Zusätzlich zu einem Selendefizit spielen auch ein Vitamin E-Mangel

und ein mutiertes Coxsackie-Virus B3 bei der Krankheitsentstehung eine Rolle (Beck et al., 2003; Levander et al., 1997).

Der Zusammenhang von Selenmangel und anderen Noxen mit der 1848 erstmals beschriebenen Kashin-Beck-Krankheit wurde erst viel später erkannt. Es handelt sich um eine schmerzhafteste Osteoarthrose mit Gelenkschwellungen und Zwergwuchs. Weitere Erkrankungen in Verbindung mit Selen sind der myxödematöse Kretinismus, eine weitgehend im Zentralafrika vorkommende Hypothyreose aufgrund von Selen- und Jodmangel und die Balkan-Nephropathie, deren Ätiologie noch ungeklärt ist. Die Symptome, die in extrem selenarmen Gegenden des Balkans bemerkt wurden, sind durch ein erhöhtes Blasenkrebsrisiko sowie eine Schrumpfniere gekennzeichnet. (Letsche und Schweinsberg, 2000; Maksimovic und Djujic, 1998).

Allgemeine Symptome eines Selenmangels wurden von Heinzow und Oster (2004) zusammengestellt.

- Weißfärbung der Fingernägel
- Müdigkeit, Leistungsschwäche
- Leberfunktionsstörungen
- Muskelschwäche
- Haarausfall
- Infertilität
- Arthritis

Im Zuge von Supplementierungsversuchen in der Keshan-Region Chinas wurde entdeckt, dass bereits 20 µg Selen am Tag das Auftreten der Keshan-Krankheit verhindern kann und dass bei 40 µg/d die Glutathionperoxidaseaktivität maximiert war. Berücksichtigt man das Körpergewicht in den heutigen Industrienationen so ergibt sich daraus eine tägliche Selenaufnahme von 55 µg für Erwachsene. Laut neueren Empfehlungen der Deutschen Gesellschaft für Ernährung ist eine Selenzufuhr von 30-70 µg/d für Jugendliche (ab 15) und Erwachsene optimal (Heinzow und Oster, 2004).

1.4 Selen als essentielles Spurenelement

1.4.1 Die Selenoproteine

Bis heute sind etwa 28 Proteine, mit Selenocystein (inzwischen als 21. Aminosäure etabliert) als aktives Zentrum bekannt. Diese Selenoproteine, deren Funktionen zum Teil noch ungeklärt sind, wurden unter anderem von Bräuer et al. (2004), Köhrle (2002) und Gladyshev et al. (1999) beschrieben und zusammengefasst (siehe Tabelle 1).

Die am besten beforschte Familie der Glutathionperoxidasen (GPx) besteht aus 4 verschiedenen Enzymen (GPx 1-4), die alle in Verbindung mit Glutathion als Co-Substrat den Abbau von Wasserstoffperoxid (H_2O_2) zu Wasser katalysieren. Aus dem H_2O_2 Metabolismus können auch hochreaktive Sauerstoffradikale, wie beispielsweise $O_2^{\cdot-}$, HO_2^{\cdot} und OH^{\cdot} entstehen, die Membranlipide, Transportproteine im Blut oder auch DNA peroxidieren und damit schädigen können. Als wichtiger Bestandteil des Lipidperoxidschutzes unseres Organismus ist die GPx in der Lage, bereits entstandene Hydroperoxide zum entsprechenden Alkohol zu reduzieren. Somit schützt die GPx die Zelle in zweierlei Hinsicht vor oxidativem Stress: einmal durch den Abbau von H_2O_2 , so dass schädliche Radikale erst gar nicht entstehen können und zum anderen, indem bereits vorhandene Radikale eliminiert werden.

Lipidperoxide spielen auch eine entscheidende Rolle bei Entstehung und Verlauf von cerebralen Vasospasmen bei subarachnoidalen Blutungen (SAB) und anderen zerebrovaskulären Erkrankungen (Treggiari-Venzi et al., 2001); (siehe auch 1.5 Selen und das ZNS).

Die weiteren Selenoproteine werden in Tabelle 1 kurz vorgestellt. Eine interessante Rolle kommt auch dem Selenoprotein P zu. Es gibt Anzeichen für eine zellprotektive Funktion als Antioxidanz. Als eine weitere Rolle wird der Selentransport von der Leber in andere Organe, vor allem in das Gehirn, angesehen (Burk und Hill, 1995). Auch eine Funktion als Selenspeicher wird diskutiert (Burk und Hill, 2003).

Aufgrund der Tatsache, dass Selen im Serum zu 50% an dieses Protein gebunden ist und zu etwa 40% in Verbindung mit der GPx vorkommt, ist es von

großem wissenschaftlichem Interesse, die (verschiedenen) Funktionen von Selenoprotein P endgültig zu klären.

Tabelle 1: Übersicht der Selenoproteine und deren Funktionen (Quellen: Bräuer et al., 2004; Köhrle, 2002; Gladyshev et al., 1999).

	Selenoprotein	Funktion	Vorkommen
1.	Glutathionperoxidase (1-4)	Eliminierung von Wasserstoffperoxid, Phospholipiden und Radikalen	ubiquitär
2.	Thyroid Dejodasen (D1-3)	Umwandlung von T3 in T4 sowie Deaktivierung von T3/T4	Schilddrüse, Leber, Niere, ZNS, Plazenta, Herz und Muskeln, Fettzellen, Haut
3.	Thioredoxin Reduktasen (1-3)	Reduktion von Thioredoxin	ubiquitär
4.	Selenophosphat Synthetase	Selenophosphat Synthese	ubiquitär
5.	Prostataepithel- spezifisches Selenoprotein (PES)	unklare Funktion	Prostataepithel: Zellkern
6.	15-kd Selenoprotein (Sel15)	Proteinfaltungsprozess	ubiquitär
7.	18-kd Selenoprotein (Sel18)	unklare Funktion	verschiedene Gewebe
8.	Selenoprotein I (SelI)	unklare Funktion	verschiedene Gewebe

9.	Selenoprotein H (SelH)	unklare Funktion	verschiedene Gewebe (auch Gehirn)
10.	Selenoprotein K (SelK)	unklare Funktion	verschiedene Gewebe (auch Gehirn)
11.	Selenoprotein M (SelM)	unklare Funktion	verschiedene Gewebe (auch Gehirn)
12.	Selenoprotein N (SelN)	unklare Funktion	Skelettmuskel, Leber, Gehirn
13.	Selenoprotein O (Sel O)	unklare Funktion	verschiedene Gewebe
14.	Selenoprotein P	Transport, Antioxidanz?, Speicher?	Plasma
15.	Selenoprotein R (SelR, MrsB, SelX)	unklare Funktion	verschiedene Gewebe
16.	Selenoprotein S (SelS)	unklare Funktion	verschiedene Gewebe
17.	Selenoprotein T (SelT)	unklare Funktion	verschiedene Gewebe
18.	Selenoprotein V (SelV)	unklare Funktion	nur Hoden
19.	Selenoprotein W (SelW)	Redoxfunktion?	ubiquitär
20.	Selenoprotein Y (SelY)	unklare Funktion	Herz, Gehirn
21.	Selenoprotein Z (SelZ, Trx2)	unklare Funktion	verschiedene Gewebe

In jüngerer Zeit werden die protektiven, antikanzerogenen Eigenschaften des Selen vermehrt untersucht. In mehreren Arbeiten wird Selen eine antikanzerogene Wirkung bei bösartigen Tumorerkrankungen zugesprochen (Whanger, 2004; Combs, 2004; Ferguson et al., 2004; Combs und Gray, 1998; Clark et al., 1998).

1.5 Selen und das ZNS

Die Verteilung von Selen im ZNS konzentriert sich beim Menschen auf Regionen mit viel grauer Substanz und in Hormondrüsen, wie z.B. der Hypophyse. Dieses Verteilungsmuster wurde auch bei Tieren beobachtet. Allgemein lässt sich sagen, dass der Gehalt von Selen im Gehirn relativ konstant bleibt. Unter Selenmangelbedingungen jedoch ändert sich die Selenaufnahme zu Gunsten des ZNS, wie Burk et al. 1972 bei Ratten zeigen konnten (Burk et al., 1972). Selbst unter chronischem Selenmangel über 6 Rattengenerationen hinweg, bei denen der Selengehalt anderer Organe (Leber, Skelettmuskel und Blut) auf 1% des Ursprungs zurückgegangen war, befanden sich in den Gehirnzellen noch 60% des Selengehalts der Kontrollen (Behne et al., 2000). Diese Beobachtung legt eine besondere Beziehung zwischen Selen und dem Hirnstoffwechsel nahe.

Über den genauen Selengehalt im Liquor existieren nur wenige uneinheitliche Werte. Diese wären jedoch zusammen mit anderen Bestandteilen, wie der GPx-Aktivität, und dem Malondialdehyd (MDA) von großem Interesse, um den Selenstatus im Gehirn und das Ausmaß der zellschädigenden oxidativen Vorgänge bei cerebralen Infektionen sowie anderen inflammatorischen Prozessen beurteilen zu können.

1.5.1 Therapie von ZNS-Erkrankungen mit Selen

Es ist kein Geheimnis mehr, dass Selen an einer normalen neuronalen Funktion beteiligt ist. In ihrer Arbeit von 1991 berichten Weber et al. von reduzierten

Glutathionperoxidaseaktivitäten und Blutselenwerten bei 4 Kindern mit Epilepsie (Weber et al., 1991). Wie Ramaekers et al. 1994 berichten, führte ein systemischer Selenmangel bei Kindern im ersten Lebensjahr zu erhöhten Leberwerten und schwer kontrollierbaren epileptischen Anfällen, die durch orale Selengabe reduziert werden konnten (Ramaekers et al., 1994). Ein durch epileptische Anfälle auftretender Defekt der Blut-Hirn-Schranke, kann ebenfalls durch Selen abgeschwächt werden, was die enge Beziehung von Selen zum Gehirn nochmals unterstreicht (Oztas et al., 2001).

Eine im Tierversuch durch Metamphetamin (MA) simulierte Parkinsonsymptomatik kann durch Selengabe verbessert werden, indem es die Wirksamkeit der schädigenden Substanz (Peroxinitrit, entstanden durch wiederholte MA-Gabe) auf das Striatum signifikant verringert (Kim et al., 1999; Kim et al., 2000). Präventiv verabreichte Dosen von Melatonin und Selen verhindern sogar völlig das Auftreten von Parkinsonsymptomen bei Mäusen verursacht durch MA (Imam et al. 2001 In: Chen und Berry, 2003). Die protektive Eigenschaft von Selen auf Parkinsonsymptome, hervorgerufen von MA, ist auf die effiziente Eliminierung der Peroxinitrite durch Selenoproteine zurückzuführen (Sies und Arteel, 2000).

Zafar und Kollegen kamen 2003 zu dem Ergebnis, dass präventiv verabreichtes Selen dosisabhängig eine Upregulation der Selenoproteine und eine Verminderung des dopaminergen Zellverlustes bei Parkinson, hervorgerufen durch 6-Hydroxydopamin (6-OHDA), bewirken kann (Zafar et al., 2003).

Vor dem Hintergrund solcher Erfahrungen könnte Selen eine Progression der Neurodegeneration bei Parkinson hinauszögern. Weitere Informationen zu Selen im ZNS finden sich in den Übersichtsarbeiten von Bräuer und Savaskan (2004) und Chen und Berry (2003), allerdings finden sich dort kaum Inhalte zu Selen im Liquor cerebrospinalis.

Aus einem anderen Bereich der Neurologie wird berichtet, dass eine Abwesenheit von GPx bei Knockoutmäusen ein vergrößertes Infarktareal und einen vermehrten Untergang von Gehirnzellen zur Folge hat (Crack et al., 2001).

Diese Erkenntnis lässt protektive Wirkungen des Selens vermuten und lässt eine Selengabe möglichst früh nach Verschluss cerebraler Arterien bzw. nach einer cerebralen Blutung sinnvoll erscheinen.

Ein anderes Krankheitsbild stellt die Subarachnoidalblutung (SAB) dar, bei der es infolge von Radikalbildung zu Gefäßspasmen der Gehirnarterien kommt (Treggiari-Venzi, 2001).

1.6 Ätiologie der SAB

Die subarachnoidale Blutung ist eine in der Regel ohne Vorzeichen plötzlich auftretende, lebensbedrohliche Erkrankung. In über 50% der Fälle ist die Ursache eine angeborene Aussackung der Arterienwand (Aneurysma), die eine Schwachstelle bildet und bei hohem intraarteriellen Druck rupturiert. Dadurch kommt es zu einem raschen, sehr bedrohlichen Druckanstieg innerhalb des Hirnschädels – somit liegt die primäre Letalität bei 25% aller Fälle. Übersteigt der Schädelinnendruck den arteriellen Mitteldruck oder wird die Blutungsstelle innerhalb von kürzester Zeit durch umliegendes Gewebe abgedichtet, kann es zum Blutungstillstand kommen und die initiale Blutung überlebt werden (Hopf et al., 1999). Kommt es im weiteren Verlauf zu einer erneuten Aneurysmaruptur, steigt die Letalität auf 45% (30-70%) an. Daher ist die Ausschaltung des rupturierten Aneurysmas aus der Gefäßzirkulation das vordringliche Behandlungsziel. Hierzu wird das Aneurysma operativ mit einem Metallclip verschlossen (Clipping). Beim endovaskulären Coiling wird versucht von der Gefäßseite aus, d. h. über einen Katheter, eine Spirale (Coil) in das Aneurysma einzubringen (Hopf et al., 1999).

Aufgrund des Zerfalls von durch die SAB in den Liquorraum gelangtem Blut, entstehen Radikale, von denen Hydroxylradikale (OH•) und O• diejenigen mit den schädlichsten Auswirkungen sind. Vor allem die Hydroxylradikale nehmen an Vorgängen zur Lipidperoxidation teil (Hodge und Boakye, 2001). Wegen ihres großen Anteils an mehrfach ungesättigten Fettsäuren und des hohen aeroben Stoffwechsels sind die Gehirnzellen besonders anfällig für die

Lipidperoxidation (Tayarani et al., 1989). Der Vorgang der Lipidperoxidation spielt eine Hauptrolle bei der progressiven sekundären neuronalen Degeneration durch mikrovaskuläre Schädigung (Hodge und Boakye, 2001; Angstwurm et al., 1999; Saito et al., 1998; Hall, 1997; Bochicchio et al., 1990). Des Weiteren kommt es bei Hypoperfusion bzw. Ischämie zu massivem Ca^{++} -Einstrom in die Zelle. Dieser Vorgang wird ausgelöst durch Glutamat, einem exzitatorischen Transmitter, der durch Ischämie und Trauma vermehrt freigesetzt wird. Der Ca^{++} -Überschuß in der Zelle führt zu Proteasen- und NO-Synthetasaktivierung. Die erhöhte Bildung von NO führt zum Zelltod. Darüber hinaus kommt es durch eine Ischämie und anschließender Reperfusion des geschädigten Gebietes zur Stimulierung von inflammatorischen Substanzen und Endothelin, einem hochpotenten Vasokonstriktor (Hodge und Boakye, 2001).

Die gefürchtete Komplikation der cerebralen Gefäßspasmen führt zu einer weiteren Schädigung von bereits zu Schaden gekommenen Hirnarealen oder Gefäßen. Das Vorliegen von Vasospasmen steigert die Mortalität um den Faktor 1,5 - 3 innerhalb der ersten zwei Wochen nach stattgehabter SAB (Treggiari-Venzi, 2001). Klinische Studien zeigen, dass Vasospasmen die Hauptursache für postoperative Morbidität und Mortalität darstellen (Allcock et al., 1965). Das Patientenalter hat keinen Einfluss auf die Schwere der Spasmen (angiographisch nachgewiesen) sowie die Inzidenz symptomatischer Spasmen (Inagawa, 1992).

Bei der Entstehung der Spasmen wird angenommen, dass zum einen Oxihämoglobin für die arterielle Wandkontraktion verantwortlich ist, indem es entweder über direktem Weg die glatte Muskulatur der Gefäßwand angreift oder indirekt durch Produktion freier Radikale, Lipidperoxide sowie vasoaktiver Substanzen (NO, Ca^{++} , Endothelin) die prolongierte Kontraktion der Gefäßwand verursacht. Als Spätfolge der verlängerten Gefäßkontraktionen kommt es zu morphologischen Veränderungen an der Gefäßwand, wie Intimahyperplasie und Fibrose, an denen sich Leukozyten und Trombozyten ablagern können (Treggiari-Venzi, 2001).

Unter den folgenden Vorstellungen ist eine Selensubstitution für die Therapie dieses lebensbedrohlichen Krankheitsbildes nützlich:

- Natriumselenit zerfällt im sauren Medium in Selenige Säure, welche Hydroxylradikale reduziert. Dadurch entstehen H_2O_2 , ROOH, ROOR.
- Die Aktivität der Glutathionperoxidase, ein selenabhängiges Antioxidanz, kann im Serum durch Selensubstitution gesteigert werden (Angstwurm, 1999).
- Antioxidantien, von denen die GPx eine der Wichtigsten ist, reduzieren Lipidperoxide bevor aus ihnen freie Radikale (z.B. $OH\bullet$) entstehen können und bewahrt die Zellen auf diese Weise vor oxidativem Stress (Hodge, 2001; Letsche, 2002).

Die positiven Effekte von Selen bei cerebralen und cerebrovaskulären Erkrankungen wurden bereits von mehreren Arbeiten diskutiert (Parnham und Sies, 2004; Bräuer und Savaskan, 2004; Angstwurm et al., 1999; Meseguer et al., 1999; Aguilar et al., 1998). Jedoch beziehen sich die meisten dieser Arbeiten auf Tierversuche, die den intrazellulären Selenstatus zu erfassen versuchten, oder auf chronische degenerative Erkrankungen, bei denen die Substitution von Selen keine Rolle spielte, wie Parkinson oder Alzheimer. Die klinischen Studien zu diesem Thema konzentrieren sich hauptsächlich auf die klinische Verbesserung der Erkrankung, ohne den Selenstatus im Liquor zu messen.

1.7 Fragestellung der Arbeit

Da der Radikalfängereffekt des Selens sekundäre Schäden durch Vasospasmen nach SAB reduzieren könnte, stellten sich in dieser Arbeit folgende Fragen:

- Gibt es eine verlässliche Methode um den Selengehalt im Liquor zu erfassen?

- Übertritt Selen unter Substitution die Blut-Hirn-Schranke (BHS)?
- Wie verhält sich der Selenspiegel unter Substitution beim Menschen, vor allem in der Situation einer plötzlichen, eventuell lebensbedrohlichen Erkrankung?

Die Entwicklung einer verlässlichen Methode zur Selenbestimmung im Liquor stand im Mittelpunkt dieser Arbeit.

1.8 Kinetik und Metabolismus von Selen im Körper

Selen wird in Deutschland hauptsächlich über die Nahrung aufgenommen. Atemluft und Trinkwasser sind in der Regel für die Selenzufuhr unbedeutend. Der Selengehalt in pflanzlicher und tierischer Nahrung weist große regionale Schwankungen auf. Der Selengehalt der Nahrungsmittel wird wesentlich von deren Herkunft beziehungsweise vom Selengehalt des Tierfutters beeinflusst. Beispielsweise weisen Brote aus dem „Selenland“ Kanada aufgrund der höheren Selenkonzentration der Böden bis zu 600 µg/kg Selen auf, wohingegen deutsche Brotsorten nur etwa 10-20 µg/kg Selen enthalten (Biesalski et al., 1997).

Gemessen an der täglichen nahrungsbedingten Selenaufnahme in der Europäischen Union sind Schottland (29-39 µg/d), Deutschland (28-47 µg/d), Dänemark (41-57 µg/d) und Schweden (24-35 µg/d) als „Selenmangelländer“ anzusehen. Finnland, früher auch selenarm, steht durch die 1984 begonnene Supplementierung von Kunstdünger mit einer täglichen Selenaufnahme von 100 µg (bei nicht vegetarischer Ernährung) an der Spitze Europas.

Diese Zahlen sind jedoch aufgrund der bereits genannten regionalen Schwankungen von limitierter Aussagekraft. Viel wesentlicher für die Beurteilung des Selens für den Gesundheitszustand ist die Berücksichtigung der individuellen Essgewohnheiten. Es stellt sich also die Frage, wie viel Selen wird mit welchen Lebensmitteln aufgenommen? Die nachstehende Tabelle vermittelt einen Eindruck vom Selengehalt verschiedener Nahrungsmittel. Die

Werte dienen nur zur groben Orientierung, da in Abhängigkeit von der Herkunft des Lebensmittels, der Selengehalt im Einzelfall stark von den hier genannten Werten abweichen kann.

Tabelle 2: Selengehalt in der Nahrung (nach Heinzow und Oster, 2004)

Nahrungsmittel	Selen in $\mu\text{g}/\text{kg KG}$
Tierische Nahrungsmittel:	
Rindfleisch	20-80
Hühnerfleisch	170
Schweinefleisch	90-150
Forelle	125
Hering	55
Rotbarsch	360
Leber, Niere	20-200
Hühnerei	100-200
Milch	1
Emmentaler	11
Pflanzliche Nahrungsmittel:	
Kartoffel	5
Rosenkohl	18
Paprika	4
Apfel, Birne, Pfirsich	1
Banane	4-160
Weizen- Roggenbrot	3-5
Weizenkleie	60
Haferflocken	10
Naturreis	11

Cornflakes	3
Sesam	800
Kokosnuss	810
Paranuss	100-1.000

Ein hoher Selengehalt findet sich in Fisch, Schweine- und Hühnerfleisch sowie im Hühnerei. Die hohen Werte sind vor allem das Ergebnis selensubstituierter Tierfutters. Obst und Backwaren enthalten wesentlich weniger Selen als Fleischwaren. Nüsse (Kokosnüsse, Walnüsse, brasilianische Paranuss) stellen eine geeignete Selenquelle dar.

Die Kinetik, also Resorption, Verteilung, Metabolisierung und Elimination des Selens hängt von der chemischen Form ab, in der Selen aufgenommen wird. Tabelle 3 gibt Aufschluss über die natürlich vorkommenden Selenverbindungen.

Tabelle 3: natürlich vorkommende Oxidationsstufen und Verbindungen des Selens (nach Heinzow und Oster, 2004)

Oxidationsstufe	Chemische Verbindung	Bezeichnung
Se ²⁻	H ₂ Se Na ₂ Se CH ₂ Se (CH ₃) ₃ Se ⁺ Selenomethionin Selenocystein Cu ²⁻ , Ag ²⁻ , Hg-Se	Selenide Trimethylselenium-Kation Organisches Selen Schwermetallselenide
Se ⁰	elementares Selen	Selen
Se ⁴⁺	SeO ₂ H ₂ SeO ₃ Na ₂ SeO ₃	Selenite Salze der selenigen Säure
Se ⁶⁺	H ₂ SeO ₄ Na ₂ SeO ₄	Selenate Salze der Selensäure

Da Selen in der Nahrung überwiegend im Proteinverbund (Selenocystein, Selenomethionin) vorhanden ist, sind eiweißreiche Nahrungsmittel (z.B. Fleisch, Vollkorngetreide) selenhaltiger, als eiweißärmere Nahrungsmittel.

Die organischen Selenverbindungen Selenomethionin und Selenocystein in der Nahrung werden im Darm zu 80-90% resorbiert (Oster, 1992). Sie zeigen eine hohe Bioverfügbarkeit im Vergleich zu Selenit, einer anorganischen Selenverbindung mit variabler Bioverfügbarkeit (~50%), aber guter Retentionsrate in den Nieren, verglichen mit Selenat. Während organisches Selen die bessere Speicherform darstellt, wird anorganisches Selen in die funktionellen Proteine (z.B. Glutathionperoxidase) eingebaut. Es kann die Selenoproteine so schneller sättigen, was auch an einem schnelleren Anstieg des Plasmaspiegels bis zu einem Plateau sichtbar wird. Eine daraus resultierende erhöhte Selenoenzymaktivität ist mit einem verbesserten antioxidativen und antiinflammatorischen Schutz verbunden (Angstwurm, 1999). Anorganisches Selenit stellt deshalb die geeignete Substitutionsform dar.

Steigt die orale Selenzufuhr, so sinkt die enterale Resorptionsrate. Bei geringer Selenaufnahme wird das in den Darm abgegebene Selen über die Gallenflüssigkeit wieder aufgenommen und erneut dem Körperkreislauf zugeführt (enterohepatische Reabsorption). Für Populationen mit geringer Selenaufnahme wie in der BRD und für Vegetarier ist dieser Mechanismus für einen ausgeglichenen Selengehalt wichtig (Oster, 1992).

Das Selendepot des Menschen beträgt 3-20 mg und besteht im Wesentlichen aus 2 Speicherpools. In Proteinen eingebautes organisches Selenomethionin wird durch natürliche katabole Prozesse frei und steht daher bedarfunabhängig über einen längeren Zeitraum hinweg zur Verfügung, auch bei schwankender Selenzufuhr. Dieser Speicher ist überwiegend im Skelettmuskel lokalisiert. Der größere der beiden Speicher ist jedoch die Leber (hepatische Glutathionperoxidase). Bei Selenmangel wird hier katabol Selenid zur Selenoproteinsynthese frei. Die Schilddrüse enthält ebenfalls besonders viel Selen. Nach oraler Gabe von Selenit oder Selenat weisen Niere und Leber die höchsten Konzentrationen auf. Selenit ist in der Lage, die Plazentaschranke zu überwinden und gelangt in die Muttermilch. Der Großteil des aufgenommenen

Selens wird als Trimethylselenium-Kation über die Niere eliminiert und über die Gallenflüssigkeit ausgeschieden. Die Verluste über Fäzes und Urin betragen pro Tag etwa 33 µg. Der Eliminationsweg ist jedoch von abhängig von der Art der aufgenommenen Selenverbindung. Selenit beispielsweise wird zu 40% über die Fäzes ausgeschieden. Die Ausscheidung über den Urin spielt hier eine untergeordnete Rolle (23%). Selenat dagegen wird zu etwa 87% renal eliminiert. Organisches Selenomethionin wird zu 20% renal ausgeschieden (Heinzow und Oster, 2004).

Bei der Zufuhr toxischer Dosen wird Selen als Dimethylselenid exhaliiert und fällt durch knoblauchartigen Mundgeruch auf.

Zur Ermittlung des individuellen Selenstatus wird Selen im Serum/Plasma, im Vollblut und in den Erythrozyten bestimmt. Ein weiterer Parameter ist die Aktivitätsbestimmung der Glutathionperoxidase (GPx) im Serum. Selenwerte im Serum/Plasma sind geeignete Parameter zur Beurteilung des aktuellen Selenstatus, da sie mit dem Selengehalt in den Weichteilorganen korrelieren und außerdem nicht vom Hämatokrit abhängig sind. Werte im Vollblut sind eher Langzeitparameter. Die GPx-Aktivitätsmessung stellt einen guten Parameter dar, bleibt jedoch wegen der aufwendigen Methodik und mangelnder Standardisierung wissenschaftlichen Fragestellungen vorbehalten und ist oft aufgrund des Zusammenhangs mit dem Serumselenspiegel nicht erforderlich.

Des Weiteren kann Selen im Urin, Haaren und Nägeln ermittelt werden. Da der Selengehalt im Urin ist stark von der Nierenfunktion abhängig ist, und Selenmessungen in den Haaren durch kosmetische Produkte (Shampoos) beeinflusst werden können, wurden diese Methoden in den Hintergrund gedrängt. Selenbestimmungen in Nägeln ermöglichen Einblicke in die langfristige Selenversorgung (Letsche, 2002).

Im Vergleich mit Referenzwerten lassen sich die ermittelten Selenwerte beurteilen. Ein Selengehalt von < 50 µg/l im Serum ist bei Erwachsenen als Selenmangel anzusehen. Für Kinder (bis 16) gelten altersspezifische Referenzwerte. Schwangere und Stillende haben in der Regel einen erhöhten Selenbedarf.

In Tabelle 4 sind Referenzwerte für Selen im Blut aufgelistet.

Tabelle 4: Referenzwerte zum Selenstatus (modifiziert nach Heinzow und Oster, 2004)

Selengehalt	Frauen	Männer
Serum/Plasma ($\mu\text{g/l}$)	50-110	50-110
Vollblut ($\mu\text{g/l}$)	60-120	80-130
Erythrozyt pro g Hämoglobin ($\mu\text{g Se/g}$ Hb)	0,2-0,6	0,2-0,6
GPx-Aktivität (U/l)	123-167	127-195

2 Material und Methoden

2.3 Beschreibung des Patientenkollektivs

In dieser Studie wurden bei 11 Patienten im Alter von 33 bis 66 Jahren nach subarachnoidaler Blutung zwischen April 2002 und Februar 2003 auf der Intensivstation der Neurochirurgischen Universitätsklinik Tübingen Serum- und Liquorproben gewonnen. Davon wurden 9 Patienten im Rahmen der intensivmedizinischen Betreuung täglich mit intravenösen Bolusgaben zwischen 500-1500 µg Selenase[®]T (Na-Selenit der Firma biosyn, Fellbach) versorgt. Die Beobachtung erstreckte sich über einen Zeitraum von 1 bis 30 Tagen. Die im Rahmen der Verlaufs- und Routinediagnostik entnommenen Liquor- und Blutentnahmen wurden auf ihren Selengehalt untersucht. Die Beobachtungsdauer endete jeweils nach der letzten routinemäßigen Liquorentnahme und ist bei jedem Patienten unterschiedlich lang.

In 2 Fällen konnte zusätzlich Urin gewonnen werden, um Aussagen über die renale Selenausscheidung machen zu können.

Die Diagnose einer Subarachnoidalblutung wurde aufgrund der klinischen Symptomatik der Patienten gestellt und mittels Computertomographie bzw. MRT gesichert. Während der Substitution wurde auf allgemeine Symptome einer akuten Selenintoxikation, wie stark knoblauchartiger Atemgeruch, gastrointestinale Beschwerden oder Hautekzeme geachtet. Bei keinem der substituierten Patienten konnten solche Veränderungen festgestellt werden. Des Weiteren dienten die Serumwerte zur Kontrolle einer möglichen Selenintoxikation durch die Substitution. Der höchste Selengehalt im Blut eines Patienten betrug 255 µg/l und lag damit deutlich unter der toxischen Grenze ab 400 µg/l Selen (Heinzow und Oster, 2004).

Aufgrund der Tatsache, dass das gewonnene Probenmaterial bereits vorlag und anderweitig verworfen worden wäre, sowie durch das enge Patientenmonitoring während der Studie, konnten die anfänglichen Bedenken der Ethikkommission ausgeräumt werden.

2.2 Probengewinnung

Die Liquorprobenentnahme geschah zum einen aus einem aus therapeutischen Gründen angelegten externen Liquordrainagesystem, zum anderen erfolgte sie durch eine Lumbalpunktion (Punktion des Duralsacks zwischen dem 4. und 5. Lendenwirbel). Alle Liquorproben wurden bis zur Analyse im Kühlschrank gelagert.

Die Serumproben wurden ebenfalls im Rahmen der routinemäßigen Blutentnahmen durch das medizinische Personal entnommen und bei 3000 Umdrehungen zentrifugiert. Der Serumüberstand wurde in ein Eppendorfcup abpipettiert und ebenfalls im Kühlschrank aufbewahrt.

2.3 Selenbestimmung in Liquor und Serum

2.3.1 Analyseprinzip

Die quantitative Bestimmung der Selenkonzentration im Liquor und Serum wurde nach der Methode von Vézina und Bleau (1986), durch Hochleistungsflüssigkeitschromatographie (high performance liquid chromatography (HPLC)) bestimmt. Das Prinzip dieser Methode beruht auf der Reaktion von Selen mit 2,3-Diaminonaphthalin (DAN), die zusammen Naphtho-2-seleno-1,3-diazol (4,5-Benzopiazselenol) bilden. Die entstandene Piazselenolverbindung lässt sich dann quantitativ bestimmen. Bei einer Anregungswelle von 360 nm wird Licht mit der Wellenlänge 520 nm ausgesandt und von einem Fluoreszenzdetektor erfasst.

2.3.2 Probenaufbereitung

Nach möglichst kurzer Lagerung (maximal nach 4 Wochen) wurden die Proben zur Analyse aufbereitet.

Vor der Messung werden die gekühlten Proben auf Zimmertemperatur gebracht und im Vortex Genie geschüttelt. Aufgrund der geringen Selenwerte im Liquor (0,5-10 µg/l), war zur Analyse ein Probenvolumen von 400 µl notwendig. Dieses wird zu Beginn der Analyse in einem Pyrexröhrchen mit 200 µl eines

Säuregemisches versetzt, welches zu gleichen Teilen aus Salpetersäure (65%) und Perchlorsäure (70%) besteht.

Danach werden die Pyrexröhrchen in einem vorgeheizten Heizblock nach folgendem Temperaturprogramm erhitzt: 60 Min bei 140 °C; 120 Min bei 180 °C; und schließlich 45 Min bei 200 °C.

Anschließend werden die Proben, nachdem sie auf Raumtemperatur abgekühlt sind, mit 50 µl einer 5 M HCl-Lösung versetzt und bei 140 °C für 3 Min im Heizblock erhitzt. Bei diesem Schritt wird Selenat zu Selenit reduziert.

Nach dem Abkühlen der Pyrexröhrchen im Wasserbad werden den Proben je 200 µl einer Bromkresolpurpur-Indikatorlösung dazugegeben und diese im Heizblock bei 120 °C bis zum Farbumschlag von violett nach gelb erhitzt (ca. 7 min). Danach werden sie wieder im Wasserbad auf Zimmertemperatur abgekühlt.

Alle weiteren Arbeitsschritte müssen aufgrund der Lichtempfindlichkeit des Piazselenols bei gedämpftem Licht durchgeführt werden. Zu dessen Bildung werden die abgekühlten Pyrexröhrchen mit 500 µl 0,1 M Salzsäure und 50 µl 2,3-Diaminonaphthalinhydrochloridlösung (DAN) versetzt. An der Wand der Probengefäße haftende Beläge werden mit Reinstwasser heruntergespült und die Pyrexröhrchen mit einem Schraubdeckel mit Tefloneinsatz verschlossen. Nun kommen die Gläschen für 30 Min in das auf 40 °C vorgewärmte Wasserbad. Nach Abkühlen wird jeder Probe 2 ml Cyclohexan zugesetzt und bei 1800/Min für 1 Min im Vibrax geschüttelt. Der organische Überstand wird schließlich in 1 ml Crimp-Injektionsfläschchen überführt.

2.3.3 Messung

Die quantitative Bestimmung des Piazselenols wurde mit HPLC und Fluoreszenzdetektion durchgeführt. Als Eluent diente ein Gemisch aus Cyclohexan und Ethylacetat in Verhältnis 9:1/v+v. Die Flussrate war 1,5 ml/Min und der Druck betrug 80 bar. Es wurde ein Volumen von 200 µl der Piazselenolösungen injiziert, an der LiChrosper Si 60- Säule (inklusive Vorsäule) chromatographiert, mit dem Shimadzu-Fluoreszenzdetektor RF-530

(Exzitationswellenlänge 360 nm, Emissionswellenlänge: 520 nm) detektiert und mit dem Integrator C-R3A erfasst.

2.4 Qualitätssicherung

2.4.1 Vorgehen im Labor

Alle für die Analyse verwendeten Reagenzien waren mit der Aufschrift „pro analysi“ gekennzeichnet. Bei jeder Messung wurde ein Leerwert bestimmt mit dem die Reinheit der verwendeten Reagenzien überprüft werden konnte. Der Selengehalt des Leerwerts lag während der Messungen stets unterhalb der Bestimmungsgrenze.

Die verwendeten Pyrex-Gläser, sowie Gefäße für wässrige Lösungen, wurden an jedem Messtag mehrmals mit Reinstwasser gespült und getrocknet.

Der Selengehalt jeder Liquor- sowie Serumprobe wurde mit Standardaddition bestimmt. Dazu wurden jeweils drei vorbestimmten Selenkonzentrationen einer Probe hinzugefügt (vgl. „Bestimmung der Wiederfindungsrate“). Die Liquorergebnisse der Standardaddition mussten jeweils durch 8 dividiert werden, da die durch die Standardaddition zugegebenen Selenvolumina auf 50 µl kalibriert waren und die Liquorvolumina 400 µl betragen. Zudem wurde jede Probe bei jeder Messung doppelt bestimmt und die Werte gemittelt. Bei zu starken Abweichungen der Werte wurde eine dritte Analyse durchgeführt und auf diese Weise Ausreißer eliminiert.

2.4.2 Bestimmung der Wiederfindungsrate

Das Aufbereiten der Proben bis zum messfertigen Zustand beinhaltet das Umsetzen mit mehreren Chemikalien in verschiedenen Gefäßen. Doch weder Chemikalien noch Gefäße sind absolut rein und können so den ursprünglichen Selengehalt der Probe durch den in ihnen vorhandenen Spurenanteil vergrößern. Auf entgegengesetzte Weise können sich Absorptionseffekte und Verflüchtigung auf den ursprünglichen Probengehalt auswirken. Um einen aus

diesen Mechanismen resultierenden systematischen Fehler zu eliminieren wurde die Wiederfindungsrate bestimmt.

Dazu werden einer Serum- bzw. Liquorprobe 4 gleiche Mengen in 4 verschiedene Pyrexgläser gegeben. Nach der Zugabe von 0, 25, 50 und 100 µg Selen aus der Standardlösung wird analysiert.

Bei einem Selenverlust oder Zuwachs weist die Gerade durch die Messergebnisse eine geringere bzw. größere Steigung auf als die der Kalibrierungsgerade. Diese Differenz lässt sich durch die Formel der Wiederfindungsrate (WR) ausdrücken:

$$WR = \frac{\text{Peakfläche}_{\text{Probe}} - \text{Peakfläche}_{\text{Probennullwert}}}{\text{Peakfläche}_{\text{wässriger Standard}} - \text{Peakfläche}_{\text{Leerwert}}}$$

Beispiel:

Peakfläche Probe mit 25 µg StdAdd.	:	2902
Peakfläche Probe mit 50 µg StdAdd.	:	4806
Peakfläche Probe mit 100 µg StdAdd.	:	8406
Peakfläche Probe ohne StdAdd.	:	1474
Peakfläche wässriger Std. 25 µg	:	1451
Peakfläche wässriger Std. 50 µg	:	3397
Peakfläche wässriger Std. 100 µg	:	7801
Peakfläche Leerwert	:	0

$$WR \text{ für } 25 \mu\text{g StdAdd.} : \frac{2902 - 1474}{1451 - 0} = 0.98$$

$$WR \text{ für } 50 \mu\text{g StdAdd.} : \frac{4806 - 1474}{3397 - 0} = 0.98$$

$$\text{WR für 100 } \mu\text{g StdAdd.: } \frac{8406 - 1474}{7801 - 0} = 0.89$$

$$\text{Mittelwert: } \frac{0.98 + 0.98 + 0.89}{3} = 0.95$$

In diesem Fall beträgt die Wiederfindungsrate 95%.

2.4.3 Analytische Zuverlässigkeiten

Die Qualität der Methode wird mit der Richtigkeit, Präzision und der Bestimmungsgrenze kontrolliert

Da für Selen im Liquor keine Referenzmaterialien vorhanden sind, kann keine Bestimmung der Richtigkeit bzw. der Präzision durchgeführt werden.

Was das Serum angeht, so haben wir uns aus Zeitgründen aufgrund der Auflösung des Labors auf frühere erfolgreiche Teilnahmen an den Ringversuchen der Universität Erlangen (zuletzt 1999) verlassen. Die nachstehende Tabelle zeigt die Versuchsergebnisse.

Tabelle 5: Teilnahme am 23. Ringversuch der Universität Erlangen im Frühjahr 1999 (Letsche 2002);

Alle Angaben in $\mu\text{g/l}$ Selen im Serum, + = richtig

Bestandteil	Ergebnis	Sollwert	Toleranzbereich	Bewertung
Selen im Serum (Probe A)	58,6	65,8	48,6-82,9	+
Selen im Serum (Probe B)	121	128,4	98,7-158,1	+

2.4.3.1 Nachweisgrenze

Unter dem Begriff Nachweisgrenze versteht man die kleinste Menge eines Analytanten, der noch quantitativ bestimmt werden kann. Sie wird angegeben als die Substanzmenge, die einem Peak des zweifachen Basislinienrauschens entspricht und lag im Liquor bei 0,5 µg/l. Das Injektionsvolumen betrug dabei 200 µl.

2.4.3.2 Bestimmung mit Atomabsorption in der Arbeitsmedizin

Mit freundlicher Unterstützung des Instituts für Arbeits- und Sozialmedizin der Universität Tübingen konnten Liquor- und Serumproben mit dem Analyseverfahren der Atomabsorption (AAS) in Graphitrohrtechnik und Standardaddition bestimmt werden. Am 7.5.03 wurden ein Serumwert und zwei Liquorwerte ermittelt. So können Vergleiche der beiden Analyseverfahren angestellt werden.

Die quantitative Analyse des Selens im Serum bereitete keine Probleme. Im Liquor befinden sich die mit AAS ermittelten Werte am Rande der Nachweisgrenze von ~ 4 µg/l. Dies wird durch die geringen Abweichungen zwischen Messwert und Blindwert in den Extinktionen deutlich (siehe Tabelle 5).

Tabelle 5: Bestimmung von Selen in Liquor und Serum mittels AAS (in Graphitrohrtechnik mit Standardaddition) und HPLC mit Standardaddition (für HPLC: Mittelwert aus n=2 Bestimmungen).

Bezeichnung	Atomabsorption ($\mu\text{g/l}$)	Extinktion (digits) Messwert/Blindwert	HPLC ($\mu\text{g/l}$)
Serum 1	128	0,0601 / 0,0016	118
Liquor 1	< 4	0,0041 / 0,0011	1,8
Liquor 2	5,5	0,0102 / 0,0017	7,7

2.4.5 Vergleich der Nachweisgrenzen

Die Nachweisgrenze für Liquor liegt bei Atomabsorption mit $\sim 4 \mu\text{g/l}$ deutlich über der Nachweisgrenze bei der HPLC mit Standardaddition, deren Grenze wegen des großen Probenvolumens ($400 \mu\text{l}$) bei $0,5 \mu\text{g/l}$ liegt.

2.5 Reagenzien, Verbrauchsmaterialien und Geräte

2.5.1 Reagenzien

Folgende Reagenzien fanden für diese Studie Verwendung:

- Salzsäure 32% pro analysi: Firma Merck, Darmstadt
- Salpetersäure 65% pro analysi: Firma Merck, Darmstadt
- Perchlorsäure 70% pro analysi: Firma Merck, Darmstadt
- Titriplex[®] II (EDTA): Firma Merck, Darmstadt
- Bromkresolpurpur: Firma Merck, Darmstadt
- Ammoniaklösung 25% pro analysi: Firma Merck, Darmstadt

- Cyclohexan pro analysi: Firma Merck, Darmstadt
- Ethylacetat suprasolv: Firma Merck, Darmstadt
- 2,3-Diaminonaphthalinhydrochlorid 99% Firma Aldrich, Steinheim
- Selenstandardlösung 1000 mg/l (SeO₂ in HNO₃, 0,5 mol/l)
Firma Merck, Darmstadt
- Selenase[®]T Firma biosyn, Fellbach

2.5.2 Verbrauchsmaterialien

- 1000 µl und 100 µl Pipettenspitzen Firma Eppendorf, Hamburg
- Safe-Lock 2,0 ml Firma Eppendorf, Hamburg
- 1 ml Injektionsfläschchen Firma Ziemer, Mannheim
- Bördelkappen N11 mit Dichtscheibe Firma Ziemer, Mannheim

2.5.3 Geräte

Folgende Geräte kamen während dieser Studie zum Einsatz:

- HPLC Autosampler Marathon RS 232 Firma Spark Holland, AJ Emmen; Niederlande
- HPLC Pumpe 110 A Firma Beckman, Fullerton, USA
- HPLC Fluoreszenzdetektor RF-530 Firma Shimadzu, Kyoto, Japan
- HPLC Integrator C-R3A Firma Shimadzu, Kyoto, Japan
- Säule: LiChrospher Si 60 (5 µm), 125 × 4 mm
Firma Merck, Darmstadt
- Vorsäule: LiChrospher Si 60 (5 µm) Firma Merck, Darmstadt

- Probenschleife 200 µl
Firma Rheodyne, Rohnert Park, USA
- Heizblock
Firma Liebisch, Bielefeld
- Wasserbad
Firma GFL, Burgwedel
- IKA- Vibrax-VXR
Firma Jahnke und Kunkel, Staufen
- Vortex Genie
Firma Scientific Industries, Bohemia, USA

2.6 Statistische Auswertung

Die statistische Auswertung dieser Arbeit wurde mit freundlicher Unterstützung von Herrn Prof. Dr. K. Dietz aus dem Institut für Medizinische Biometrie durchgeführt. Als statistisches Programm fand JMP für Windows Verwendung. Es wurde eine Bivariate Fit Analyse erstellt.

Die Ergebnisse der Statistik können dem Ergebnisteil entnommen werden. Es wurden nur Patienten in die Statistik einbezogen, die 4 oder mehr Beobachtungen aufwiesen. Das Signifikanzniveau wurde auf $p < 0.05$ festgelegt. Insgesamt existieren kleine Fallzahlen und sehr uneinheitliche Abnahmezeiten aufgrund derer jeder Patient einzeln auf eine Signifikanz der Liquor- bzw. Serumzuwachsrate geprüft wurde.

3 Ergebnisse

3.1 Allgemeines

Alle nachfolgenden Analyseergebnisse werden einheitlich in „µg Selen pro l Serum bzw. Liquor“ angegeben und als µg/l gekennzeichnet.

3.2 Ergebnisse der Qualitätssicherungsmethoden

3.2.1 Wiederfindungsrate

Die Ergebnisse der Wiederfindungsrate können der nachfolgenden Tabelle entnommen werden.

Tabelle 6: Wiederfindungsrate in Prozent (%) bei n=10 Messungen für Liquor und n=7 für Serum (n.b. = nicht bestimmt)

Patient Nr.	Liquor	Serum
1	114	102
2	108	96
3	91	n.b.
4	170	160
5	n.b.	n.b.
6	93	60
7	118	126
8	74	55
9	104	n.b.
10	95	n.b.
11	106	102

Der Mittelwert der Wiederfindungsraten für Liquor liegt bei 107%. Für das Serum ist der Mittelwert 100%. Für alle insgesamt n=17 Messungen beträgt der Mittelwert 104%.

Die Patienten wurden nach dem Zeitpunkt der jeweiligen Probenanalyse aufgelistet. Nr. 4 und 8 sind Ausreißer.

Trotz der befriedigenden Ergebnisse der Mittelwerte lassen sich zum Teil erhebliche Schwankungen beobachten, die auf zufällige Fehler zurückzuführen sind.

3.3 Darstellung der Messergebnisse

Die Tabellen beschreiben alle den Verlauf der Selenkonzentration im Liquor und Serum während der Zeit auf der Intensivstation.

Bei Patienten, deren Nullwert, also der Ausgangsgehalt an Selen in Liquor und Serum, nicht bestimmt werden konnte, bezieht sich der Punkt Null auf der Zeitachse (x-Achse) auf den ersten Tag nach Beginn der Selensubstitution. Im Folgenden sind die Diagramme der einzelnen Patienten aufgelistet.

Die Selensubstitution geschah nach folgendem Schema:

Tabelle 7: Substitutionsschema mit Selenase[®]T

Tage 1-3:	1500 µg Selenase [®] T i.v.
Tage 3-13:	1000 µg Selenase [®] T i.v.
Erhaltungsdosis bis Verlegung:	500 µg Selenase [®] T i.v. oder per os

Dieses Therapieschema wurde in Anlehnung an die Empfehlungen der Firma biosyn für Sepsispatienten konzipiert. Abweichungen kommen selten vor.

Um die zum Teil uneinheitlichen Abnahmezeiten graphisch besser darstellen zu können, wurden die Zeitabstände zwischen den einzelnen Probenentnahmen in Stunden umgerechnet. Jeden Probenwert einem Tag bzw. einer ganzen Zahl zuzuordnen, hätte den falschen Eindruck von regelmäßigen Abnahmezeiten gegeben. Um eine bessere Einschätzung über das Zeitfenster

zu haben, ist die Zeitangabe auf der x-Achse in Tagen. So entstehen zum Beispiel Werte von 0,8 Tagen.

Die stündlichen Abstände der einzelnen Selenasegaben wurden nicht berücksichtigt und deshalb nur pro Tag dargestellt. So kann fälschlicher Weise der Eindruck entstehen, es wäre zu viel Selen pro Tag substituiert worden.

Die Beobachtungsdauer endete jeweils mit der letzten routinemäßig durchgeführten Liquorentnahme und ist so für jeden Patienten unterschiedlich lang.

3.3.1 Selen im Liquor

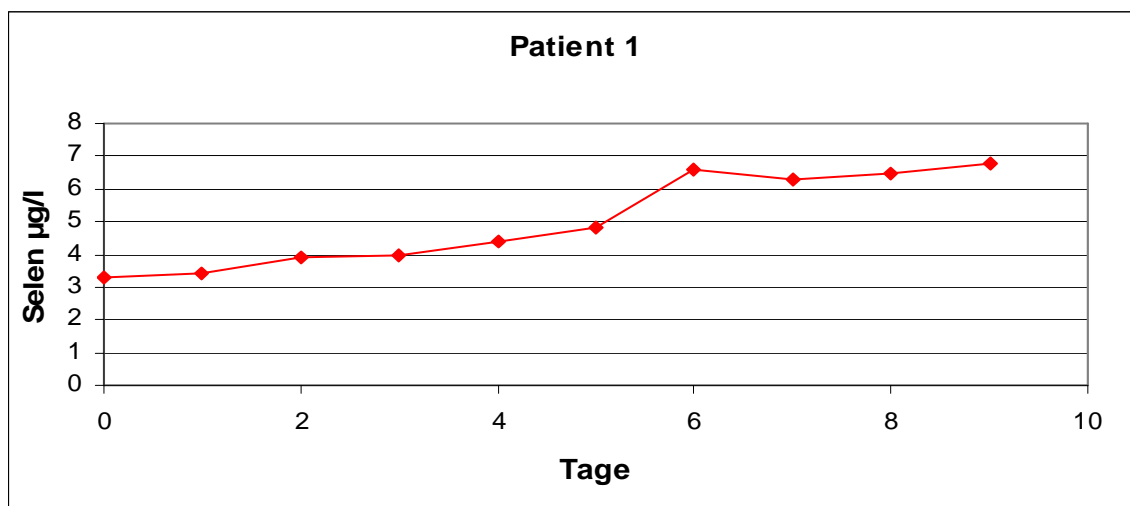


Abbildung 2: Verlauf der Selenkonzentration im Liquor ($\mu\text{g/l}$) während wiederholter Selensubstitution im Zeitraum von 10 Tagen bei Patient 1

Dieser Patient bekam während des Beobachtungszeitraums 4 x 1500 μg und 7 x 1000 μg Selenase[®]T zur Substitution.

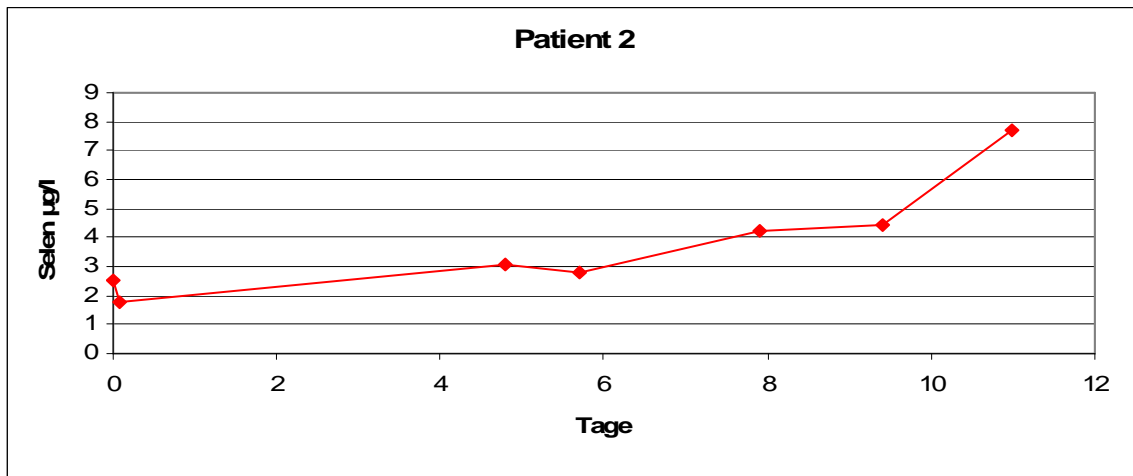


Abbildung 3: Verlauf der Selenkonzentration im Liquor ($\mu\text{g/l}$) während wiederholter Selen substitution im Zeitraum von 11 Tagen bei Patient 2

Dieser Patient wurde während des Beobachtungszeitraumes mit 3 x 1500 μg und 10 x 1000 μg Selenase supplementiert.

Patient 3

Dieser Patient wurde nicht substituiert. Es konnten zwei Nullwerte von Selen im Liquor gewonnen werden. Die Selenkonzentrationen betragen 0,5 $\mu\text{g/l}$ und 0,75 $\mu\text{g/l}$.

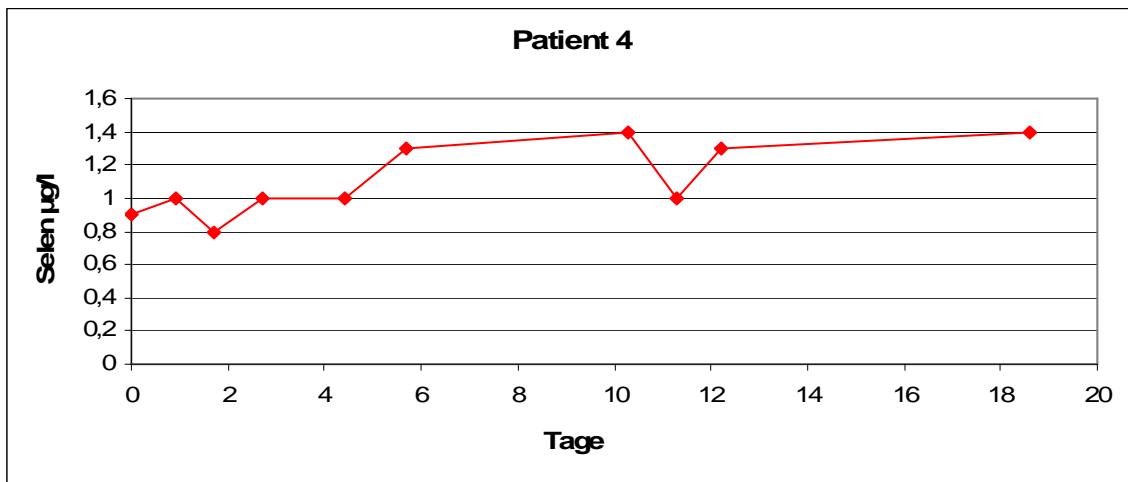


Abbildung 4: Verlauf der Selenkonzentration im Liquor ($\mu\text{g/l}$) während wiederholter Selensubstitution im Zeitraum von 18,6 Tagen bei Patient 2

Dieser Patient erhielt während des Beobachtungszeitraumes 4 x 1500 μg , 9 x 1000 μg sowie 6 x 500 μg (p.o.) Selenase[®]T.

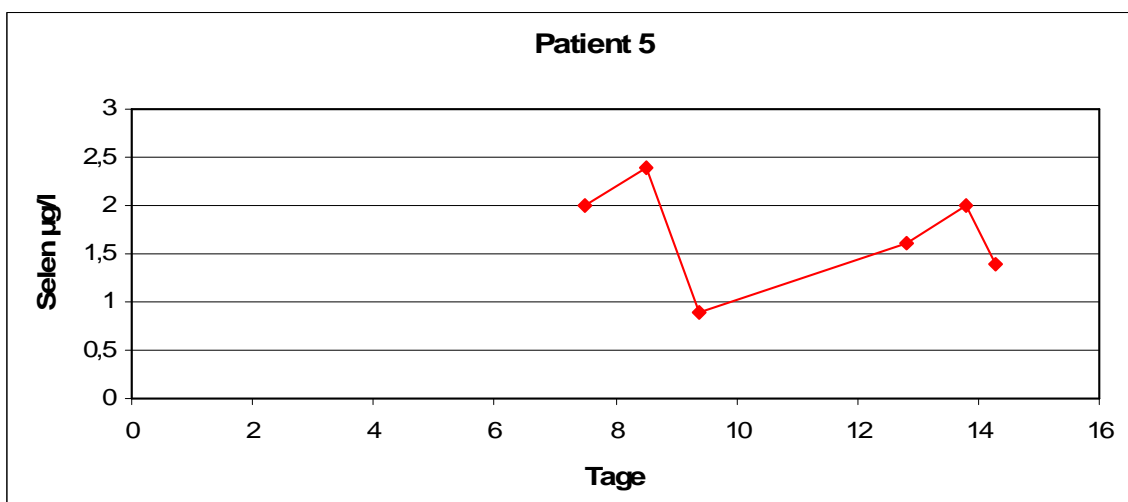


Abbildung 5: Verlauf der Selenkonzentration im Liquor ($\mu\text{g/l}$) während wiederholter Selensubstitution im Zeitraum von 14,3 Tagen bei Patient 5

Dieser Patient wurde eine Woche lang substituiert bevor Probenmaterial zur Selenbestimmung entnommen wurde. Während des Beobachtungszeitraumes erhielt er 3 x 1500 μg und 11 x 1000 μg . Probenmaterial für eine Nullwertbestimmung im Liquor lag nicht vor.

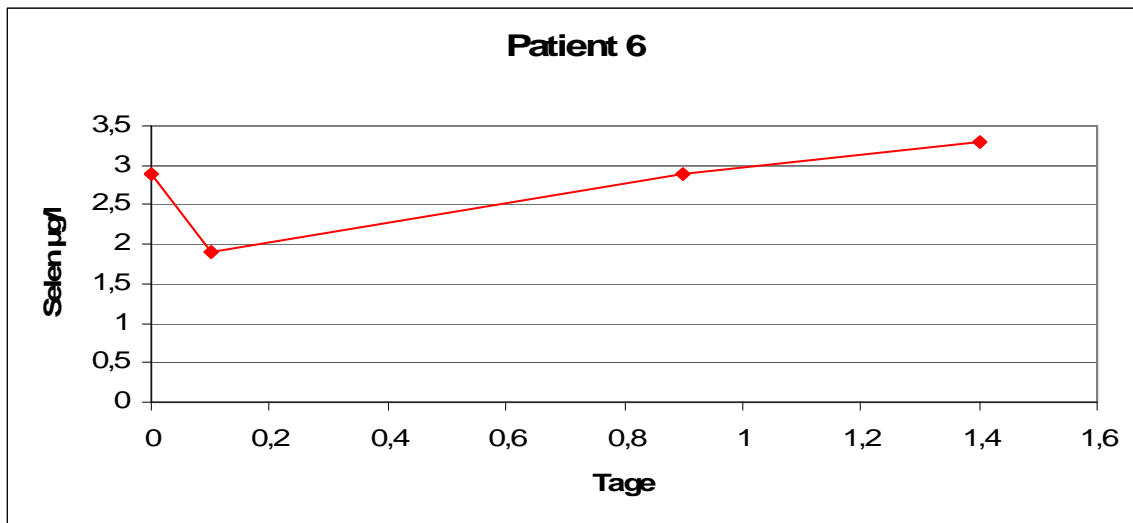


Abbildung 6: Verlauf der Selenkonzentration im Liquor ($\mu\text{g/l}$) während wiederholter Selen substitution im Zeitraum von 1,4 Tagen bei Patient 6

Während des Beobachtungszeitraumes wurden 2 x 1500 μg Selenase^{®T} verabreicht.

Patient 7

Es lag kein Probenmaterial zur Nullwertbestimmung vor. Der erste Wert bezieht sich auf die erste Liquorentnahme seit Beginn der Substitution und beträgt 1,3 $\mu\text{g/l}$. Die weiteren Liquorselenwerte liegen bei 2 $\mu\text{g/l}$ und 1,3 $\mu\text{g/l}$. Innerhalb von 4,4 Tagen wurden 5 x 1500 $\mu\text{g/l}$ Selenase^{®T} gegeben.

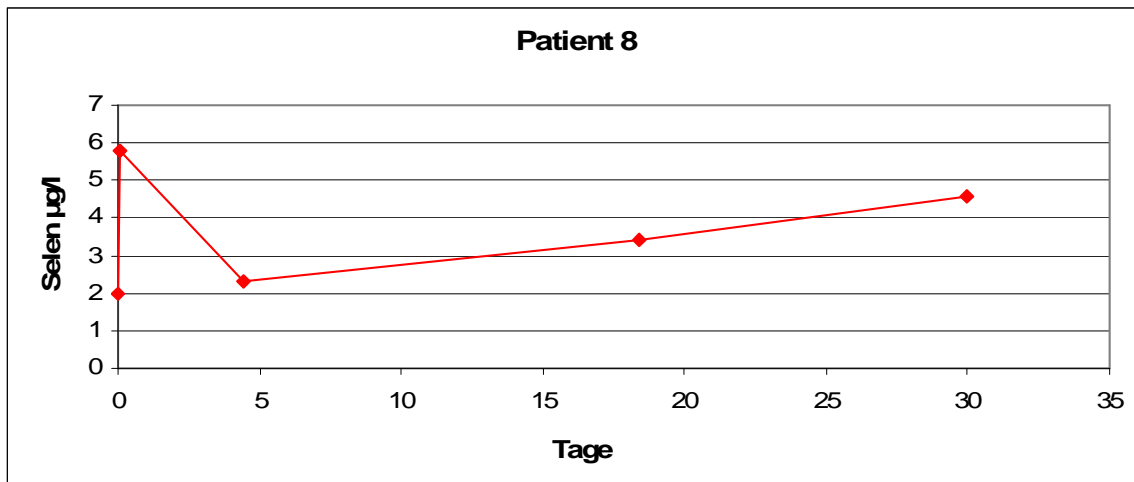


Abbildung 7: Verlauf der Selenkonzentration im Liquor ($\mu\text{g/l}$) während wiederholter Selen substitution im Zeitraum von 30 Tagen bei Patient 8

Dieser Patient wurde mit 1 x 1500 μg und 1 x 1000 μg Selenase[®]T substituiert. Danach wurde die Substitution abgebrochen da der Patient verlegt wurde. Trotz Aussetzen der Selensupplementierung stieg hier der Gehalt im Liquor über die nächsten 3 Wochen an.

Patient 9

In diesem Fall wurde der Patient nach erlittener SAB auf einer anderen Intensivstation notfallmäßig versorgt und dort nicht substituiert. Nach Verlegung wurde aus einer im Rahmen einer Routinekontrolle entnommenen Probe Liquor gewonnen und dessen Ausgangsgehalt an Selen von bestimmt.

Er beträgt 1,9 $\mu\text{g/l}$.

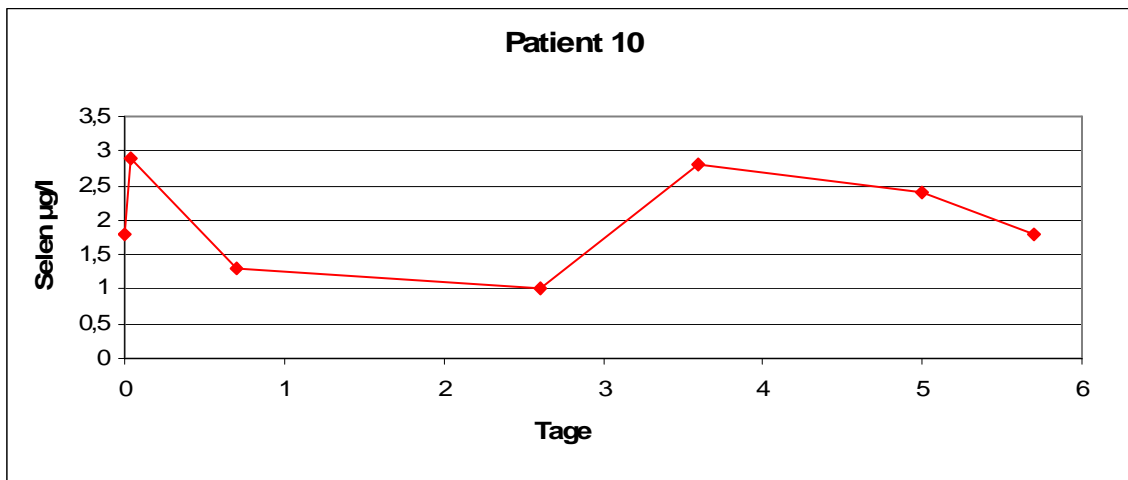


Abbildung 8: Verlauf der Selenkonzentration im Liquor ($\mu\text{g/l}$) während wiederholter Selensubstitution im Zeitraum von 5,7 Tagen bei Patient 10

Dieser Patient ist während der Substitution mit 2 x 1500 μg und 5 x 1000 μg Selenase[®]T versorgt worden. Die Werte schwanken während der Therapie stark. Nach Ende der Substitution lässt sich kein wesentlicher Anstieg des Liquorselengehalts beobachten.

Patient 11

Dieser Patient wurde mit 3 x 1500 μg und 8 x 1000 μg Selenase[®]T substituiert. Der Selenausgangswert im Liquor liegt bei 1 $\mu\text{g/l}$ im Laufe der Substitution steigt der Selengehalt an auf 3,6 $\mu\text{g/l}$. Die am Ende der Beobachtung (nach 12,1 Tagen) durchgeführte Lumbalpunktion ergab einen erheblichen Anstieg des Selengehalts im Liquor auf 9,4 $\mu\text{g/l}$.

3.3.1.1 Nullwerte im Liquor

Die Ausgangswerte aller Patienten liegen im Liquor zwischen 0,5 $\mu\text{g/l}$ und 3,3 $\mu\text{g/l}$ und der Mittelwert beträgt 1,9 $\mu\text{g/l}$ (n=9).

3.3.1.2 Selengehalt im Liquor nach Beobachtungsende

Nach unterschiedlichen Substitutionszeiten und somit auch unterschiedlichen Dosen ergaben sich nach Ende des beobachteten Zeitraumes deutlich höhere Selenwerte im Liquor zwischen 1,3 µg/l und 9,4 µg/l. Der Mittelwert liegt hier bei 3,9 µg/l (n=9). Die unterschiedlichen Selenwerte vor und nach Beendigung der Analyse, sowie die durchschnittliche Dauer des Beobachtungszeitraumes werden von der nachfolgenden Tabelle illustriert.

Tabelle 8: Vergleich der Mittelwerte von Selen im Liquor vor und direkt nach Ende der Beobachtung mit Darstellung des mittleren Beobachtungszeitraumes. Angaben in µg/l und Tagen (d)

Selen im Liquor vor Substitutionsbeginn (n=9)	Durchschnittlicher Beobachtungszeitraum in Tagen (n=9)	Selen im Liquor nach Beobachtungsende (n=9)
1,9 (0,5–3,3) µg/l	12 (1,4-30) d	3,9 (1,3-9,4) µg/l

3.3.2 Selen im Serum

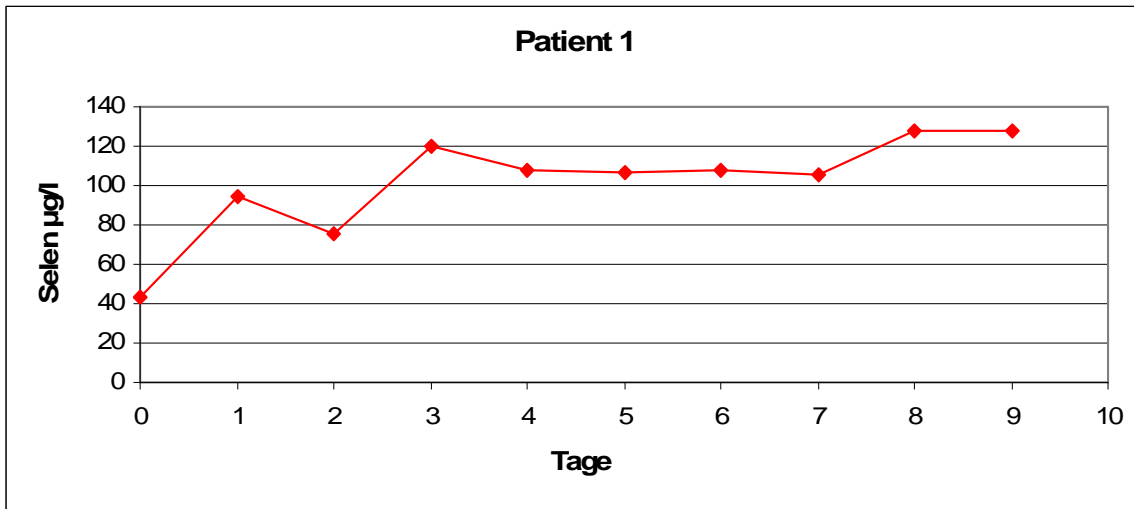


Abbildung 9: Verlauf der Selenkonzentration im Serum ($\mu\text{g/l}$) während wiederholter Selen substitution im Zeitraum von 10 Tagen bei Patient 1

Dieser Patient bekam während seiner Behandlung auf der Intensivstation 4 x 1500 μg und 7 x 1000 μg Selenase[®]T zur Substitution.

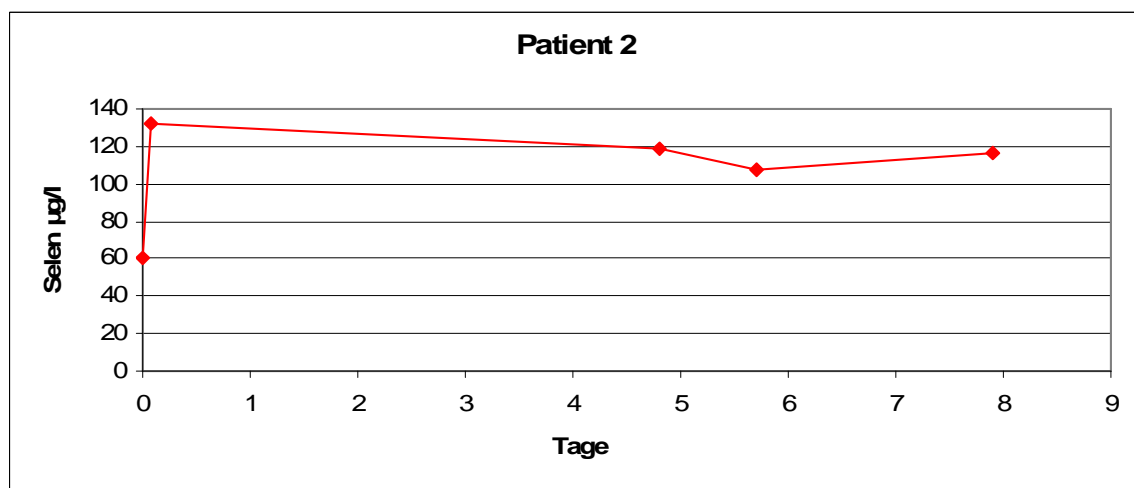


Abbildung 10: Verlauf der Selenkonzentration im Serum ($\mu\text{g/l}$) während wiederholter Selen substitution im Zeitraum von 7,9 Tagen bei Patient 2

Dieser Patient wurde während seiner Beobachtungsdauer mit 3 x 1500 µg und 6 x 1000 µg Selenase[®]T versorgt.

Patient 3

Dieser Patient besitzt keine Serumwerte zum Vergleich.

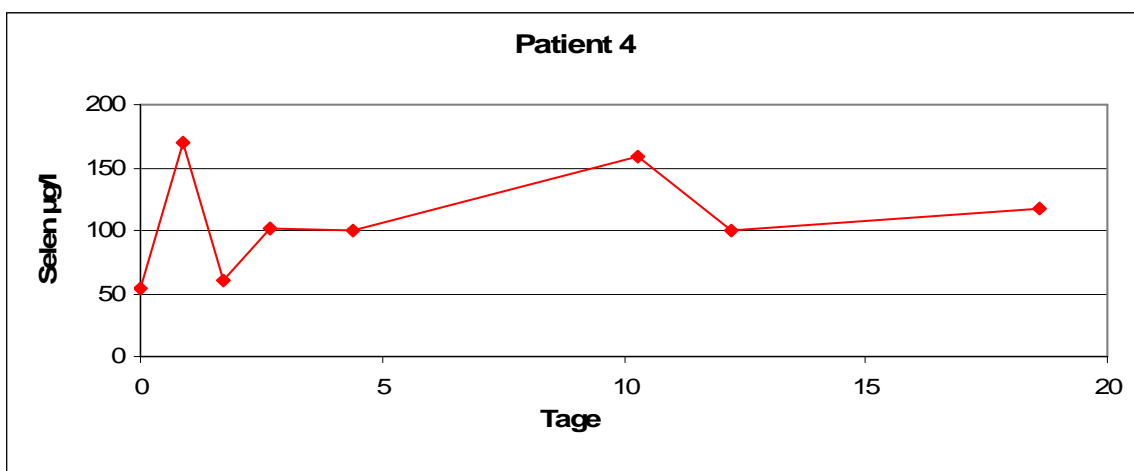


Abbildung 11: Verlauf der Selenkonzentration im Serum (µg/l) während wiederholter Selen substitution im Zeitraum von 18,6 Tagen bei Patient 4

Dieser Patient erhielt während des Beobachtungszeitraumes 4 x 1500 µg, 9 x 1000 µg sowie 6 x 500 µg (p.o.) Selenase[®]T.

Patient 5

Fall Nr. 5 erhielt eine Woche lang Selenase[®]T bevor Probenmaterial zur Selenbestimmung entnommen wurde. Während des Beobachtungszeitraumes von 13,8 erhielt er 3 x 1500 µg und 11 x 1000 µg. Es lag kein Material zur Nullwertbestimmung vor. Der erste Serumwert beträgt 195 µg/l. Im weiteren Verlauf fällt das Serumsele unter Substitution auf 128 µg/l und auf 115 µg/l.

Patient 6

Dieser Patient erhielt innerhalb 1,4 Tagen 2 x 1500 µg Selenase[®]T als Substitution. Der Nullwert im Serum liegt bei 87 µg/l. Im Laufe der Substitution steigt der Serumselengehalt auf 110 µg/l und weiter bis 118 µg/l.

Patient 7

Es lag kein Probenmaterial zur Nullwertbestimmung vor. Der erste Wert bezieht sich auf die erste Serumentnahme seit Beginn der Substitution und beträgt 137 µg/l. Die weiteren Serumselenwerte liegen bei 70 µg/l und 167 µg/l. Innerhalb von 4,4 Tagen wurden 5 x 1500 µg Selenase[®]T gegeben. Die Werte schwanken beträchtlich.

Patient 8

Dieser Patient wurde mit 1 x 1500 µg und 1 x 1000 µg Selenase[®]T substituiert. Von einem Ausgangswert von 89 µg/l stieg das Serumselen auf 205 µg/l an. Danach wurde die Substitution abgebrochen da der Patient verlegt wurde. Nach Aussetzen der Selensupplementierung sank der Serumselengehalt innerhalb von 16 Tagen auf 56 µg/l ab (Norm: 50-110 µg/l).

Patient 9

Es wurde bei diesem Patient kein Serum zur Untersuchung gewonnen, sondern ausschließlich Liquor.

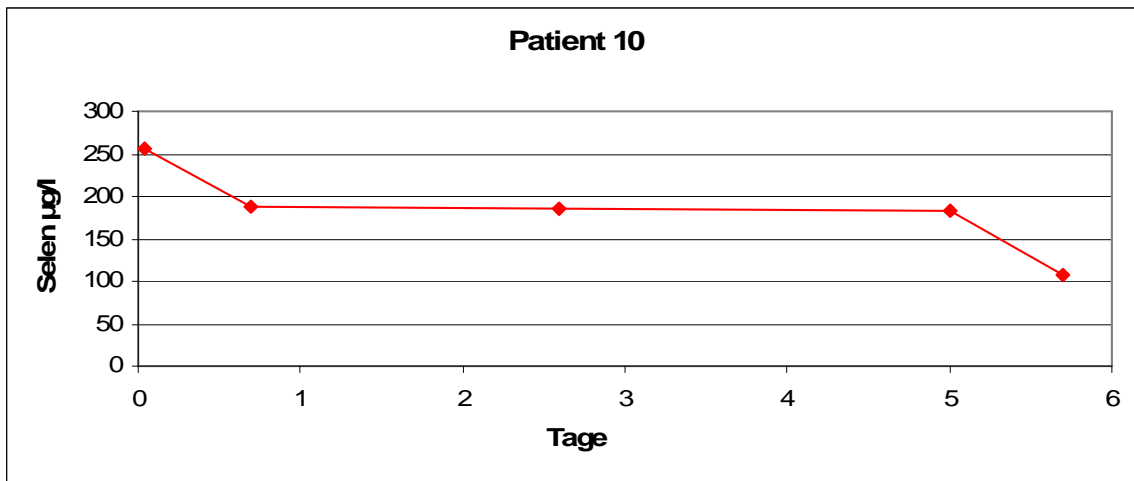


Abbildung 12: Verlauf der Selenkonzentration im Serum ($\mu\text{g/l}$) während wiederholter Selensubstitution im Zeitraum von 5,7 Tagen bei Patient 10

Der erste Serumwert wurde eine Stunde nach der ersten Dosis Selenase[®]T. gewonnen. Es existiert kein Serumnullwert.

Dieser Patient ist während der Substitution mit 2 x 1500 μg und 5 x 1000 μg Selenase[®]T versorgt worden.

Die erste Blutentnahme eine Stunde nach der ersten Selendosis zeigt einen starken Anstieg des Serumselengehalts und markiert mit 255 $\mu\text{g/l}$ den höchsten gemessenen Serumselenwert dieser Studie. Es zeigen sich unter der weiteren Therapie abfallende Spiegel, wobei die nachfolgenden Werte um die 190 $\mu\text{g/l}$ und der letzte, niedrigste Wert mit 108 $\mu\text{g/l}$ Selen über bzw. noch im oberen Bereich liegen.

Patient 11

Dieser Patient wurde mit 3 x 1500 μg und 8 x 1000 μg Selenase[®]T substituiert. Material für einen Selenausgangswert war nicht vorhanden. Der erste Serumwert liegt bei 99 $\mu\text{g/l}$. Trotz Substitution sinkt das Serumselen innerhalb von 12,1 Tagen auf 70 $\mu\text{g/l}$ ab.

3.3.2.1 Nullwerte im Serum

Der Ausgangsgehalt von Selen im Serum liegt zwischen 43 µg/l und 89 µg/l. Der Mittelwert beläuft sich auf 67 µg/l (n=5). Normbereich: 50-110 µg/l.

3.3.2.2 Selengehalt im Serum nach Beobachtungsende

Bei Patienten deren Proben kurz (innerhalb des ersten Tages) nach Selengabe gesammelt wurden, konnte ein deutlicher Anstieg der Serum Selenkonzentration beobachtet werden (Patienten 1,2,4 und 8). Nach individuell unterschiedlicher Substitutionsdauer und somit auch unterschiedlicher Selendosen ergeben sich Selenwerte zwischen 70 µg/l und 255 µg/l im Serum. Der Mittelwert liegt hier bei 146 µg/l (n=9). Und liegt somit über dem Normbereich im Serum (50-110 µg/l).

3.3.2.3 Höchstwert im Serum

Der höchste im Serum ermittelte Selenwert liegt bei 255 µg/l. Starke Schwankungen ergeben sich aus den uneinheitlichen Abnahmezeiten. Insgesamt liegen alle Serumwerte unterhalb der toxischen Grenze von 400 µg/l. Die nachfolgende Tabelle hebt die Unterschiede im Selengehalt im Serum vor und nach Ende der Substitution hervor.

Tabelle 9: Selen im Serum vor und nach Ende des Beobachtung sowie des mittleren Beobachtungszeitraumes. Angaben der Mittelwerte in $\mu\text{g/l}$ und Tagen (d)

Selen im Serum vor Substitutionsbeginn (n=5)	Durchschnittlicher Beobachtungszeitraum in Tagen (n=9)	Selen im Serum nach Beobachtungsende (n=9)
67 (43-89) $\mu\text{g/l}$	10 (0,9-18,6) d	146 (70-255) $\mu\text{g/l}$

3.3.3 Urin

Bei drei Patienten wurde der Selengehalt im 24 Stunden Sammelurin bestimmt. Der Urin wurde ausschließlich von Patienten gewonnen, die eine Substitution erhalten hatten.

Der Selengehalt im Urin ist in den folgenden Tabellen dargestellt.

Tabelle 10: Selen im 24h Sammelurin von Pat. Nr. 7 (Angaben in $\mu\text{g/d}$)

Abnahme Nr.	Selengehalt im 24h Urin ($\mu\text{g/d}$)
1	512
2	525

Tabelle 11: Selen im 24h Sammelurin von Pat. Nr. 10 (Angaben in $\mu\text{g/d}$)

Abnahme Nr.	Selengehalt im 24h Urin ($\mu\text{g/d}$)
1	900
2	332
3	528
4	670

3.4 Ergebnisse der statistischen Auswertung

Zur statistischen Analyse wurde für jeden Patienten mit 4 oder mehr Werten eine Bivariate Fit Analyse erstellt. Das Signifikanzniveau wurde bei $p < 0.05$ festgelegt.

3.4.1 Liquor

Die statistischen Kriterien für die Liquorproben erfüllten die Patienten 1, 2, 4, 6 und 10.

Tabelle 12: Ergebnisse der statistischen Analyse für Liquor. Signifikanzniveau bei $p < 0.05$.

Patient Nr.	Probenanzahl n	Steigung m	Std Error	t-Ratio	Signifikanzniveau p
1	10	0.44	0.05	9.41	<0.001
2	7	0.39	0.11	3.64	<0.015
4	10	0.03	0.01	3.37	<0.01
6	4	0.61	0.46	1.33	<0.32
10	7	0.02	0.14	0.15	<0.9

In drei der fünf analysierten Fälle steigt der Gehalt des Selen im Liquor mit der Zeit an. Die Signifikanz steigt mit der Anzahl der Proben.

3.4.2 Serum

Die Kriterien für die Serumwerte erfüllten die Patienten 1, 2 und 4.

Tabelle 13: Ergebnisse der statistischen Analyse für Serum. Signifikanzniveau bei $p < 0.05$.

Patient Nr.	Probenanzahl n	Steigung m	Std Error	t-Ratio	Signifikanzniveau p
1	10	6.76	1.84	3.68	<0.006
2	5	2.72	4.20	0.65	<0.6
4	8	1.76	2.43	0.72	<0.5

Bei einem von 3 Patienten steigt das Selen im Serum mit der Zeit an.

3.5 Zeitliche Darstellung der Selenwerte in Abhängigkeit zum Zeitpunkt der Substitution

In den Abbildungen soundso wurden alle Zeitintervalle von der Substitution von 1500 bzw. 1000 μg Selenase[®]T (i.v.) bis zur jeweiligen Probenahme festgehalten. Die Werte aller supplementierten Patienten sind in diesen Diagrammen repräsentiert.

3.5.1 Serum

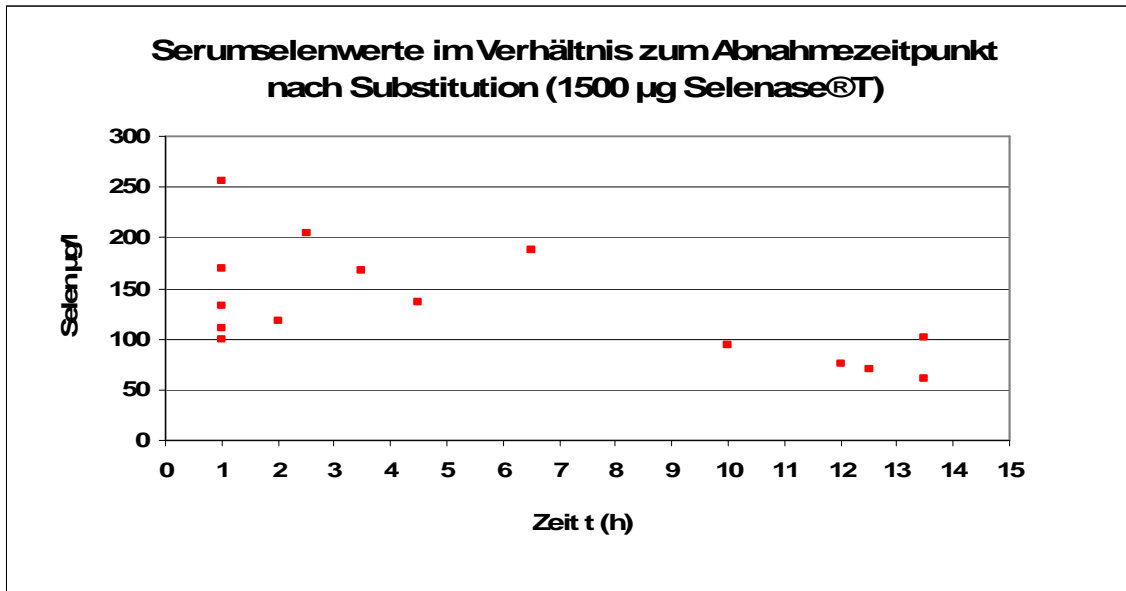


Abbildung 13: Serumselenwerte im Verhältnis zum Abnahmezeitpunkt nach Substitution (1500 bzw. 1000 µg Selenase®T)

Aus dem Diagramm wird deutlich, dass der Selengehalt im Serum nach Applikation von 1500 bzw. 1000 µg Selenase®T mit zunehmendem Zeitabstand sinkt.

3.5.2. Liquor

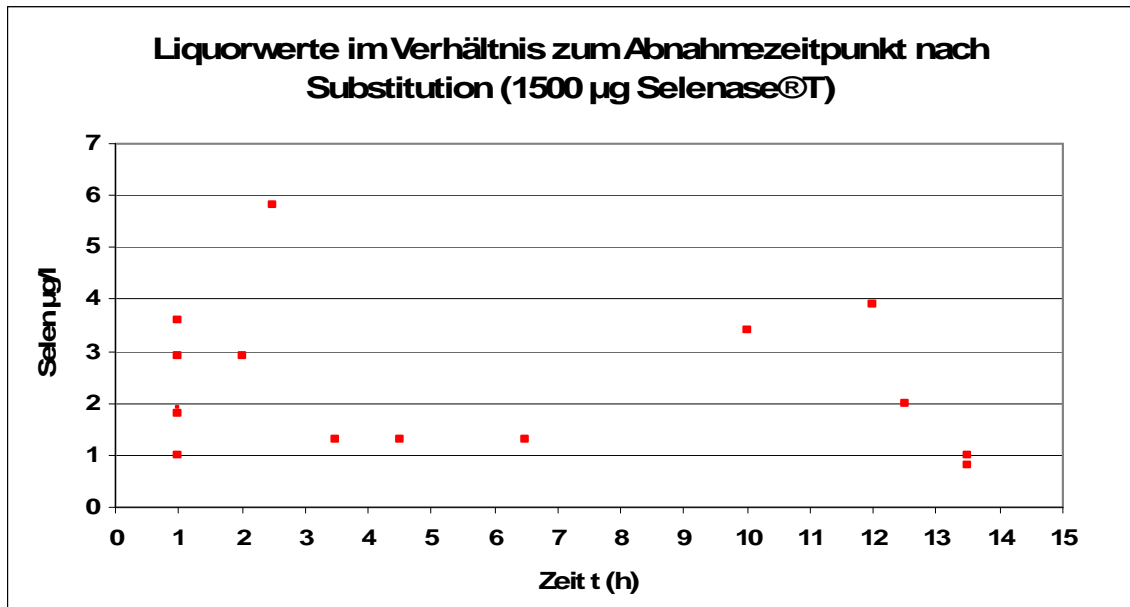


Abbildung 14: Liquorwerte im Verhältnis zum Abnahmezeitpunkt nach Substitution (1500 µg Selenase®T)

Der Selen Spiegel im Liquor weist eine heterogene Kinetik im Bezug auf das Zeitintervall zwischen Selenapplikation und Probeentnahme auf.

4. Diskussion

4.1 Kritische Betrachtung der Methodik

Eine Subarachnoidalblutung tritt plötzlich auf, sie ist lebensbedrohlich. Mit einer Inzidenz von 10-15/100.000/Jahr ist sie eine seltene Erkrankung (Gleixner et al., 2003). Daher ist bei eingeschränktem Zeitfenster die Erstellung eines größeren Patientenkollektivs schwierig.

Da es sich gezeigt hat, dass die meisten Intensivpatienten unabhängig von ihrer Erkrankung einen Selenmangel besitzen, besteht eine Indikation zur Selensubstitution (Hawker et al., 1990), die auch auf der Neurochirurgischen Intensivstation der Universitätsklinik Tübingen durchgeführt wird.

Aufgrund der oben genannten Gründe sowie des invasiven, risikoreichen und damit ethisch nicht einfach vertretbaren Verfahrens der Liquorgewinnung wurde auf eine Kontrollgruppe verzichtet. Für Referenzwerte im Liquor wurden Arbeiten aus den Literaturdatenbanken herangezogen.

Andere Faktoren, wie Gewicht, Alter, chronische (Begleit-)Erkrankungen oder Medikamenteneinnahme, die eventuell Einfluss auf die Selenkonzentration nehmen, blieben innerhalb dieser Studie unberücksichtigt.

Die Entnahme der Liquor- und Serumprobenentnahmen erfolgte durch das medizinische Personal der Intensivstation. Sie dienten in erster Linie der Routinediagnostik. Für die Studie wurden Probenentnahmen in regelmäßigen Zeitabständen angestrebt, was aber aufgrund des oft unvorhersehbaren Betriebs einer Intensivstation nicht immer zu realisieren war. Obwohl der Selengehalt im Serum keinen tageszeitlichen Schwankungen unterworfen ist (Oster, 1992), ergeben sich durch uneinheitliche Probenentnahme im Bezug auf die Substitutionszeitpunkte zum Teil erhebliche Schwankungen.

Lagerzeit und Lagertemperatur können den Spurenelementgehalt der Proben beeinflussen. Diese wurden deshalb sofort nach Entnahme zentrifugiert, das Serum abpipettiert und bei etwa 10 °C gelagert.

Die für die Probenentnahmen verwendeten Materialien können eine Kontaminationsquelle darstellen. Es fanden deshalb spurenelementfreie Einmalartikel Verwendung, die erst unmittelbar vor der Probenentnahme aus

ihrer Verpackung genommen wurden. Des Weiteren wurden die Proben auch erst direkt vor Analysenbeginn in die Pyrexröhrchen pipettiert und die verwendeten Reagenzien wurden verschlossen aufbewahrt.

Neben der Probenentnahme und der Lagerung nennen Elinder et al. (1988) noch weitere potentielle Fehlerquellen der Analytik von Metallen: Analysendurchführung, Methode, Qualitätssicherung, Laborroutine, Dokumentation.

Bei der *Analysendurchführung*, bei der stets die Gefahr der Kontamination gegeben ist, wurden nur Reagenzien mit der Aufschrift „pro analysi“ verwendet. Die Labormaterialien wurden nach jedem Gebrauch mehrfach mit Reinstwasser gespült und verwendete Einmalartikel nach Gebrauch verworfen. Es war nicht auszuschließen, dass während der einzelnen Analyseschritte Spuren von Selen verloren gingen. Um diesen Fehler zu entdecken wurde die Wiederfindungsrate bestimmt (siehe Ergebnisse 3.2.1). Für n=17 Messungen betrug der Mittelwert 104 %. Trotz dieses guten Ergebnisses fielen zum Teil Schwankungen auf, die auf zufällige Fehler aufgrund ungenügender Erfahrung im Umgang mit der Methode, vor allem aber auch auf Zeitdruck im Hinblick auf die Schließung des Labors zurückzuführen sind. Patienten 4 und 8 sind Ausreißer.

Die zur Analytik verwendete *Methode* soll hier ausführlicher betrachtet werden. Sowohl Serum als auch Liquor wurde quantitativ mit HPLC (high performance liquid chromatography) nach der Methode von Vézina und Bleau (1986) bestimmt. Für das Serum muss gesagt werden, dass die HPLC, neben unterschiedlichen Methoden der Atomabsorption (AAS), eine sehr gut geeignete Methode zur Selenbestimmung im Serum ist (Hawkes und Kutnink, 1996; MacPherson et al., 1988) und schon seit mehreren Jahren im Chemischen Labor des Hygiene-Institutes eingesetzt wird.

Die aufwendige Methode wird mit einer hohen Empfindlichkeit belohnt. Durch die Standardaddition wird der Matrixeffekt eliminiert und die Genauigkeit der Methode nochmals gesteigert. Da sie sich für die Analyse flüssiger biologischer Materialien (darunter auch Urin) eignet, wurde sie ebenfalls zur quantitativen Analyse des Selens im Liquor verwendet. Die Selenausgangswerte vor

Substitution im Liquor lagen mit HPLC zwischen 0,5 µg/l und 3,3 µg/l. Der höchste Liquorwert unter Substitution betrug 9,4 µg/l. In vielen Veröffentlichungen wird für die Liquoranalyse die Atomabsorption mit Graphitrohrtechnik verwendet. Am 7.5.03 wurden 3 Selenproben (eine Serumprobe und zwei Liquorproben) von dem Institut für Arbeitsmedizin der Universität Tübingen analysiert (siehe Material und Methoden 2.4.4, Tabelle 2). Im direkten Vergleich ergab die Serumanalyse keine Unterschiede. Die Nachweisgrenze der AAS für Liquor lag bei etwa 4 µg/l und wies somit nicht dieselbe Empfindlichkeit der HPLC auf. Die Nachweisgrenze der HPLC betrug ca. 0,5 µg/l (bei 400 µl Probenvolumen).

Wiederum eine gegensätzliche Aussage liefert eine Arbeit aus Jena mit dem Ziel, Referenzwerte von Spurenelementen und Elektrolyten im Liquor Cerebrospinalis zu erstellen (Walther et al., 1998). Als Methode wurde wieder die AAS mit Graphitrohrtechnik angewendet. Diese Arbeitsgruppe erreichte eine mit unserer Methode vergleichbare Bestimmungsgrenze für Selen im Liquor von 0,4 µg/l (Walther et al., 1998). Somit stellt die HPLC bei der Liquoranalyse eine mindestens gleichwertige Methode zur AAS dar. Jedoch ist die Wahl der geeigneten Methode nur eines von vielen Problemen der Liquoranalytik: Es existieren keine Referenzmaterialien für Selen im Liquor. Standardisierte Kriterien für eine Etablierung von Kontrollgruppen sind kaum vorhanden. Die bisher veröffentlichten Beiträge weisen erhebliche Differenzen auf, sowohl in den ermittelten Werten, als auch in der Anzahl der Probanden (siehe Tabelle 2).

Neben der Etablierung einer geeigneten Analysemethode (zur Selenbestimmung im Liquor) war ein weiteres Ziel dieser Studie die Betrachtung des Verlaufs des Liquorselengehalts unter Substitution mit der Fragestellung, ob intravenös appliziertes Selen den Selengehalt des Liquors beeinflusst bzw. die Blut-Hirn-Schranke überwinden kann.

Da der Selengehalt der Liquorproben vor Substitutionsbeginn in dieser Studie durch eine bereits stattgefundene Blutung wahrscheinlich beeinflusst worden war (siehe unten), wird zur Ermittlung eines (physiologischen) Selenwertes im Liquor auch auf Beiträge aus der Literatur Bezug genommen. Tabelle 2 gibt

einen Überblick über die Ergebnisse bisher erschienener Arbeiten zu diesem Themengebiet:

Tabelle 14: Zusammenstellung der aus der Literatur verfügbaren Daten der Selenkonzentration im Liquor ($\mu\text{g/l}$), n= Anzahl der Versuchspersonen der Kontrollgruppe

Selen im Liquor in $\mu\text{g/l}$	n	Autoren
19 \pm 13,4 (0,24 \pm 0,17 $\mu\text{mol/l}$)	10	El-Yazigi et al. (1984)
6,3 \pm 2,4 (0,08 \pm 0,03 $\mu\text{mol/l}$)	10	Ward et al. (1989)
1,6 \pm 1,6 (0,02 \pm 0,02 $\mu\text{mol/l}$)	8-14	Sabbioni et al. (1992)
1,1 \pm 0,48 (0,014 \pm 0,006 $\mu\text{mol/l}$)	74	Walther et al. (1998)
13,5 \pm 8,2 (13,5 \pm 8,2 ng/ml)	43	Aguilar et al. (1998)
13,3 \pm 7,0 (13,3 \pm 7,0 ng/ml)	34	Meseguer et al. (1999)

Mit einem mittleren Liquorselenwert vor Selengabe von 1,9 $\mu\text{g/l}$ (n=9) liegen die Ergebnisse dieser Studie im Bereich der von Walther et al. (1998) und Sabbioni et al. (1992) gemessenen Werte. Die von uns ermittelten Werte können allerdings nur eingeschränkt als „normal“ betrachtet werden, da vor der Probenentnahme eine intrazerebrale (subarachnoidale) Blutung stattgefunden hat, welche den Liquorselengehalt beeinflusst haben könnte. Die Hämolyse der in den Liquor gelangten Erythrozyten könnte die Ergebnisse im Sinne falsch hoher Werte beeinflusst haben. Andererseits besteht die Möglichkeit, dass die Selenkonzentration im Liquor in seiner Funktion als Antioxidanz zur

Eliminierung von aufgrund der Blutung entstandener Radikale und Peroxide zum Zeitpunkt der Probennahme bereits reduziert war.

Dennoch ist es wahrscheinlicher, dass der wahre (physiologische) Selenwert im Liquor eher bei den von Walther et al. (1998), Sabbioni et al. (1992) und Ward et al. (1988) ermittelten Werten liegt, zumindest für die deutsche Bevölkerung. Die beiden Arbeiten aus Spanien (Aguilar et al., 1999, Meseguer et al., 1998) weisen ca. 10-fach höhere Liquorwerte auf. Gleichzeitig ergaben sich bei den Kontrollgruppen der beiden Arbeitsgruppen sehr niedrige Serumselenswerte von $22,5 \pm 17,5 \mu\text{g/l}$. Nach Heinzow und Oster (2004) gilt ein Selenserumwert von $< 50 \mu\text{g/l}$ beim Erwachsenen als Selenmangel (siehe auch Einleitung, 1.7). Obwohl Probanden mit chronischen Malabsorptionsyndromen, speziellen Diätvorlieben (Vegetarier, Veganer) und Unterernährung von den beiden spanischen Studien im Vorfeld ausgeschlossen wurden, wiesen nicht nur die Werte der Kontrollgruppen, sondern auch die der zu untersuchenden Gruppen (Alzheimer- bzw. Parkinsonpatienten) mit $28,5 \pm 13,0 \mu\text{g/l}$ und $29,6 \pm 16,9 \mu\text{g/l}$ einen zu niedrigen Serumselensstatus auf (Heinzow und Oster 2004).

Wie lässt sich der überraschende Selenmangel im Serum der spanischen Studien erklären?

Bei mangelnder Selenzufuhr durch die Nahrung, steigt der intrazerebrale Selengehalt im Vergleich zum Serum an, wie Burk et al. 1972 an Ratten zeigen konnten (Burk et al. 1972). Bei längerer Selenmangelernährung fällt der Selengehalt im Hirngewebe von Ratten nur sehr langsam ab, während er in anderen Geweben z.B. im Blut drastisch absinkt (Prohaska und Ganther, 1976). Dies könnte auch für Liquor gelten. Somit besteht die Möglichkeit, dass bei einer Bevölkerung mit chronischem Selenmangel, durchaus höhere Liquorselenwerte relativ zum Serumselenspiegel (auch im Vergleich mit anderen Populationen) gefunden werden könnten.

Gegen diese Erklärung spricht jedoch, dass Spanien laut gängiger Literatur kein Selenmangelland ist, in dem niedrige Serumselenswerte, wie von Meseguer und Aguilar ermittelt, die Regel wären (Heinzow und Oster, 2004). In Spanien beträgt die mittlere Selenaufnahme $79 \mu\text{g}$ pro Tag (Heinzow und Oster, 2004). Andere Arbeiten aus Spanien ermittelten Plasmaselenwerte zwischen 60 und

90 µg/l (zitiert in Alegría et al. 1996). Eine inadäquate Selenaufnahme durch die Nahrung als Grund für die niedrigen Werte ist demnach ebenfalls unwahrscheinlich.

Verglichen mit Deutschland, das mit einer Selenaufnahme von 28-47 µg/d als Selenmangelland angesehen werden kann, wären im Serum gesunder spanischer Probanden zumindest Selenwerte im unterem Normbereich zu erwarten gewesen.

In der hier vorgestellten Arbeit ergaben sich mittlere Serumselenwerte (vor Substitution) von 67 µg/l bei n=5 Untersuchten. Wobei erwähnt werden muss, dass diese Personen akut erkrankt waren (SAB) und davon ausgegangen werden kann, dass dadurch das Serumselen bereits erniedrigt war (Hawker et al., 1990).

Ob und wie sich ein Selenmangel in der Nahrung auf den Liquorselengehalt auswirkt, kann nach dem bisherigen Stand der Forschung nur vermutet werden. Die Auswirkungen einer Selenmangelernährung auf den Selengehalt des Hirngewebes sind jedoch beschrieben (Behne et al., 2000; Prohaska und Ganther, 1976; Brown und Burk, 1972).

Die höchsten Liquorwerte in Tabelle 2 wurden 1984 in Saudi Arabien von El-Yazigi et al. ermittelt und liegen bei $19,1 \pm 13,3$ µg/l (El-Yazigi et al., 1984). Es gibt jedoch auch Hinweise, auf einen Selenmangel landwirtschaftlich genutzter Böden in Saudi Arabien (Al-Saleh et al., 1999). Die geographisch sehr heterogene Verteilung von Selen in den Böden, und die kulturellen und individuellen Ernährungsgewohnheiten der Bevölkerung, die ausschlaggebend für den Serumselengehalt sind, könnten möglicherweise auch beeinflussende Faktoren für Selen im Liquor und für die sehr unterschiedlichen Ergebnisse in Tabelle 2 sein.

Gerade wegen der individuell sehr stark schwankenden Selenwerte (in Serum und Liquor), ist die Untersuchung größerer Fallzahlen unerlässlich.

Ein internationaler Vergleich (mit unterschiedlicher Selenversorgung) könnte hier etwas Licht ins Dunkel bringen.

Die *Qualität* der Methode wird mit der Richtigkeit, Präzision und der Bestimmungsgrenze kontrolliert.

Da für Selen im Liquor keine Referenzmaterialien vorhanden sind, kann keine Bestimmung der Richtigkeit bzw. der Präzision durchgeführt werden.

Aus Zeitgründen aufgrund der Auflösung des Labors wurde auf frühere erfolgreiche Teilnahmen an den Ringversuchen der Universität Erlangen (zuletzt 1999) zur Selenbestimmung im Serum zurückgegriffen. Die Ergebnisse sind in Kapitel 2 (Material und Methoden) zusammengefasst.

Für die doch erheblichen Schwankungen in Serum und Liquor sind neben dem bereits erwähnten Zeitdruck und mangelnder Routine in der Spurenanalytik wahrscheinlich noch andere Faktoren, die bei den Patienten oder auf der Intensivstation zu suchen sind, verantwortlich. Hierauf wird später genauer eingegangen.

Bezüglich *Dokumentation* und *Laborroutine* wurde entsprechend den Angaben in Kapitel 2. vorgegangen. Diese Punkte sollten keine Fehlerquelle darstellen.

4.2 Diskussion der Ergebnisse

4.2.1 Liquor

Im Liquor ergab sich bei $n = 9$ Proben für Selen ein mittlerer Nullwert von 1,9 (0,5-3,3) $\mu\text{g/l}$. Dieser Wert sowie sein Bezug zu vergleichender Literatur wurde bereits diskutiert (siehe Diskussion der Methode). Nach durchschnittlich 12 Tagen Substitution kam es zu einem Anstieg um durchschnittlich 2 $\mu\text{g/l}$ auf 3,9 $\mu\text{g/l}$ (1,3-9,4 $\mu\text{g/l}$).

Die Kriterien für eine statistische Analyse erfüllten die Patienten 1, 2, 4, 6 und 10. Patient Nr. 1 weist einen signifikanten Anstieg des Liquorselengehalts unter Substitution auf ($p < 0,001$). Selen im Liquor steigt bei den Patienten 2 und 4 ebenfalls signifikant an ($p < 0,015$ und ($p < 0,01$). Bei zwei der fünf statistisch ausgewerteten Patienten konnte kein signifikanter Anstieg nachgewiesen werden (Pat.6: $p < 0,32$ und Pat. 10: $p < 0,9$).

Ein weiterer Faktor, der die Liquorselenwerte beeinflussen könnte, ist die Art und Weise, wie Liquor gewonnen wurde. Hier greift man in ein hochsensibles, sonst geschlossenes System ein. Dies geschah in dieser Studie auf zweierlei Art. Eine Form der Liquorabnahme ist die Lumbalpunktion (LP) durch Punktion des lumbalen Duralsacks. Der gewonnene Liquor entstammt einer geschlossenen, von außen unbeeinflussten Liquorzirkulation.

Die zweite Form der Liquorgewinnung stellt die Liquorentnahme aus einer externen Ventrikeldrainage (EVD) dar. Im Gegensatz zur LP wird bei dieser Methode der im Seitenventrikel gebildete Liquor kontinuierlich nach außen abgeleitet. Die EVD wird angelegt um einen erhöhten intrakraniellen Druck (Hydrocephalus malresorptivus, eine Komplikation der SAB) zu senken (Cold et al., 2002). Es muss diskutiert werden, ob sich Proben, entnommen durch LP, von den Werten, die mittels EVD ermittelt wurden, unterscheiden. Als Beispiel liegen die mittels externer Drainage entnommenen Ausgangswerte bei 0,5 µg/l und 0,75 µg/l (Patient 3), und im Vergleich dazu ist eine mit Lumbalpunktion gewonnene Probe mit 1,9 µg/l (Patient 9) deutlich höher. Durch eine konsequente Gegenüberstellung der beiden Methoden zu Liquorgewinnung könnte diese Frage geklärt werden.

Die Liquorsekretionsrate liegt bei 0,35 ml/Min oder 500 ml am Tag. Unter physiologischen Bedingungen wird so der gesamte Liquor innerhalb von etwa 5-7 Stunden ausgetauscht (Worofka et al., 1997). Kann durch permanente Drainage des Liquors die Liquorproduktion in den Seitenventrikeln ansteigen? Wenn ja, könnte das in den Liquor übergetretene Selen durch die höheren Sekretionsraten zu Teil wieder ausgewaschen werden. In der Literatur finden sich jedoch dafür bisher keine Hinweise. Die Liquorsekretionsrate bei SAB Patienten ist eher geringer als unter normalen Umständen (Kosteljanetz, 1988). Allerdings finden sich erhebliche Variationen sowohl während der Sekretion, als auch im interindividuellen Vergleich (Kosteljanetz, 1988). Auch der Hydrocephalus mit erhöhtem Hirndruck, welcher als Komplikation der SAB entsteht, kommt nach heutiger Lehrmeinung nicht durch vermehrte Liquorproduktion, sondern durch Störungen der Liquorresorptionsareale zustande (Massicotte und Bigio, 1999).

Ein weiterer interessanter Aspekt ist die Rolle der Blut-Hirn Schranke (BHS). Mehrere Arbeiten bestätigen, dass es im Zuge einer SAB zu einem Kontinuitätsverlust der entlang der Blutgefäße verlaufenden Blut-Hirn Schranke kommt (Sehba et al., 2004; Park et al., 2004; Germano et al., 2000; Doczi, 1985). Kann ein Schrankendefekt zusammen mit einem extrem erhöhten Selen-Angebot im Blut den Übertritt von Selen in den Liquor erleichtern? Die Ergebnisse dieser Studie zeigen in der überwiegenden Mehrzahl ein langsames schrittweises Ansteigen von Selen im Liquor, keine rapiden, sprunghaften Änderungen, wie es bei einer erleichterten Passage zu erwarten wäre. Nach einer täglichen Substitution von 500 p.o. bzw. 1000 oder 1500 µg Selen i.v. stiegen die Liquorselenwerte um durchschnittlich 2 µg/l an. Somit gelangte nur ein Bruchteil der substituierten Menge in den Liquor. Jedoch können eine SAB und der resultierende Schrankendefekt individuell unterschiedlich stark ausgeprägt sein, so dass hier nur schwer klare Aussagen über den Einfluss eines Schrankendefektes auf den Selentransport gemacht werden können.

Auch über die Verteilung von Selen im Liquor unter Substitutionsbedingungen ist sehr wenig bekannt. Die unter 3.5.2. im Ergebnisteil dargestellte Abbildung soll einen Einblick in die Kinetik des Selens im Liquor unter Substitution geben. Aufgrund der heterogenen Verteilung der Werte im Bezug zum Zeitintervall nach Substitution sind keine klaren Tendenzen über die kinetischen Gesetzmäßigkeiten von Selen im Liquor zu erkennen. Mit zunehmendem Zeitabstand nach Substitution nimmt hier der Liquorselenwert zu. Über die Kinetik und Verteilung des Selens im Liquor ist sehr wenig bekannt. Jedoch zeigt schon der Unterschied zum Verteilungsmuster des Selens im Serum, dass die Kinetik von Selen im Liquor anderen Gesetzen folgt, als in anderen Organen (vgl. 3.5.).

In ihren tierexperimentellen Untersuchungen legen Burk und Hill (2003) ebenfalls nahe, dass für das Gehirn und das zentrale Nervensystem (somit möglicherweise auch für Liquor) andere kinetische Gesetze herrschen als für die übrigen Körperkompartimente (Burk und Hill, 2003). Ihre Versuche mit Ratten zeigten, dass radioaktiv markiertes Selen ($^{75}\text{SeO}_3^{2-}$) nach i.v. Gabe sehr schnell von der Leber aufgenommen wird. Sinkende Serumselewerte

korrelieren mit erhöhten Selenwerten im Lebergewebe. Gehirnzellen ist die Selenaufnahme jedoch erst möglich, nachdem an Selenoprotein P gekoppeltes $^{75}\text{SeO}_3^{2-}$ im Serum nachweisbar ist. Dies ist erst nach etwa einer Stunde der Fall (Burk und Hill, 2003).

In diesem Bereich, sowie auch bei der Thematik des Selenübertritts über die BHS besteht vermehrt Forschungsbedarf.

4.2.2 Serum

Die im Serum ermittelten Ausgangswerte zeigten einen Selengehalt von 67 (43-89) $\mu\text{g/l}$ bei $n=5$. Diese Ergebnisse liegen im unteren Normbereich von Selen im Serum (Heinzow und Oster, 2004). Aufgrund der antioxidativen, antiinflammatorischen Funktion des Selens in Verbindung mit der Glutathionperoxidase sind bei Intensivpatienten und kritisch Kranken niedrigere Selenspiegel im Serum zu erwarten, was mit den Ergebnissen dieser Arbeit übereinstimmt (Angstwurm, 1999; Forceville, 1998; Hawker et al., 1990).

Nach durchschnittlich 10 Tagen Substitution mit täglich 1000-1500 μg i.v. als Bolus oder 500 μg oral waren Serumwerte im Bereich von 70-255 $\mu\text{g/l}$ messbar. Da zum Teil sehr wenige Werte über den Beobachtungszeitraum existierten und auch nicht jedem Patient ein Nullwert entnommen werden konnte, erfüllten nur 3 von 9 Patienten die Kriterien der statistischen Analyse. Bei Patient Nr.1 ergab sich ein signifikanter Anstieg von Selen im Serum ($p<0,006$). Patienten Nr. 2 und 4 befinden sich außerhalb des Signifikanzniveaus ($p<0,6$, $p<0,5$).

Aufgrund der schon beschriebenen kleinen Fallzahlen, den unregelmäßigen Abnahmezeiten (zum Teil eine Stunde nach Selengabe) und dadurch, dass es nicht möglich war, Vorerkrankungen oder Bedarfsmedikation (wie z.B. Diuretika) die den Serumselenspiegel beeinflussen können zu eliminieren, ist die Anwendung statistischer Methoden nur begrenzt sinnvoll.

Auch für die Serumselenwerte wurden Substitutions- und Abnahmezeitpunkte zueinander in Beziehung gesetzt (siehe 3.5.). Mit zunehmendem Zeitintervall nach Applikation zeigt sich eine klare Abnahme des Serumselengehaltes. Offenbar unterliegt das als i.v. Bolus verabreichte Selen einer steilen Kinetik mit schnellem Abfall des Spiegels. Möglicherweise wird aufgrund des großen

Konzentrationsgradienten durch die Applikation als Bolus das Selen schneller in die Zielorgane eingebaut bzw. eliminiert. Selenbestimmungen im Urin einiger Patienten dieser Studie zeigen eine vermehrte Selenausscheidung über den Urin (siehe auch 4.2.5 Betrachtungen zum Stoffwechsel von Selen unter Supplementierung).

4.2.3 Fallbeschreibungen der untersuchten Patienten

Die zeitlichen Verläufe von Selensubstitution und Selenkonzentrationen in Serum und Liquor werden im Folgenden für die untersuchten Patienten einzeln dargestellt.

Patient Nr.1

Patient Nr.1 wurde mit einem subnormalen Selenstatus im *Serum* (43 µg/l) eingeliefert. Als i.v. Substitution erhielt er innerhalb von 10 Tagen viermal 1500 µg und siebenmal 1000 µg Na-Selenit x 5 H₂O (Selenase[®]T). Am ersten Tag nach seiner Einlieferung erhielt der Patient eine doppelte Dosis (2 x 1500 µg). Die 24 Stunden nach der zweiten Selendosis entnommene Serumprobe ergab einen Anstieg Selenkonzentration auf 94 µg/l. Eine doppelte Dosis sehr früh im Krankheitsgeschehen kann sinnvoll sein, denn es gilt so schnell wie möglich eine durch Lipidperoxidation verursachte sekundäre neuronale Degeneration zusätzlich zur Blutung zu vermeiden (Hawker et al., 1990; Boicchio et al., 1990). Etwa ab dem vierten Tag pendelten sich die Serumwerte auf ca. 110 µg/l und stiegen dann nochmals am achten und neunten Tag auf 128 µg/l an. Nève (1995) beschreibt einen Anstieg von Selen im Serum bis zu einem Plateau, jedoch frühestens nach zweiwöchiger Substitution (Nève et al., 1995). Dieser Befund hätte nur mit einer längeren Beobachtungsdauer überprüft werden können, jedoch waren keine Serum- und Liquorproben mehr verfügbar.

Dieser Fall demonstriert, dass sich die Selenkonzentration im Serum nach i.v. Applikation von Selen ca. um den Faktor 3 signifikant erhöht hat.

Verglichen mit dem arithmetischen Mittelwert der Selenkonzentration im *Liquor* der untersuchten Patienten vor Substitution von 1,9 µg/l war der Wert dieses Patienten mit 3,3 µg/l bereits deutlich höher und stieg im Verlauf der Substitution signifikant ($p < 0,001$; bivariate fit) auf 6,8 µg/l an.

Für diesen Fall lässt sich ein signifikanter Anstieg der Selenkonzentration im *Liquor* nach i.v. Selenapplikation demonstrieren.

Patient Nr. 2

Der zweite Patient kam mit einem Basiswert von Selen im *Serum* von 61 µg/l im unteren Normbereich zur Behandlung. Er wurde mit dreimal 1500 µg und sechsmal 1000 µg Selenase[®]T über acht Tage versorgt. Wie dem Diagramm aus dem Ergebnisteil zu entnehmen ist, hatte eine Blutentnahme eine Stunde nach Gabe von 1500 µg Selenase einen Serumwert von 132 µg/l zur Folge. Dies unterstreicht die Tatsache, dass uneinheitliche Abnahmezeiten starke Schwankungen verursachen, welche eine statistische Auswertung erschweren und deshalb auch für das *Serum* kein signifikanter Anstieg zu verzeichnen war. Der weitere Verlauf pendelt sich zwischen 107-119 µg/l ein und stellt insgesamt eine Verdopplung der Serumselenkonzentration unter i.v. Substitution dar.

Im *Liquor* konnten Werte über einen längeren Zeitraum gewonnen werden. Der Beobachtungszeitraum betrug elf Tage und die Substitutionsdosis dreimal 1500 µg und zehnmal 1000 µg Selenase[®]T. Die *Liquor*werte Null (2,5 µg/l) und Tag eins (1,8 µg/l) wurden durch externe *Liquor*drainage gewonnen. Alle weiteren durch Lumbalpunktion. Ein anfangs etwas schwankender Verlauf wandelte sich mit der Zeit in einen kontinuierlichen Anstieg bis auf 7,7 µg/l Selen im *Liquor*. Der *Liquor*selenwert steigt unter Substitution in diesem Fall ebenfalls signifikant an ($p < 0,0015$).

Patient Nr. 3

Dieser Patient erhielt keine Selensubstitution, da er 16 Tage nach stattgehabter SAB von einer anderen Abteilung überwiesen wurde. *Serum*proben lagen keine vor. Die untersuchten zwei *Liquor*proben ohne

Substitution ergaben Selenkonzentrationen im *Liquor* von 0,5 µg/l und 0,75 µg/l und liegen unter dem Mittelwert der Studie. Es wäre sinnvoll zu prüfen, ob die Selenkonzentration im Verlauf einer SAB abfällt. Falls ja, so wäre eine Selensubstitution indiziert.

Klinisch ergaben sich während des Intensivaufenthalts laut Verlaufsbogen keine Komplikationen.

Patient Nr. 4

Patient Nr.4 wurde über 18,6 Tage hinweg mit fünfmal 1500 µg, neunmal 1000 µg und sechsmal 500 µg per os Selenase[®]T substituiert. Der Ausgangswert im *Serum* von 54 µg/l stieg eine Stunde nach Selenasegabe auf 170 µg/l an. Obwohl hier 7 Serumproben analysiert wurden und am Ende 118 µg /l im *Serum* gemessen wurden, war der Anstieg im *Serum* statistisch nicht signifikant. Die möglichen Gründe hierfür wurden bereits diskutiert. Eine Klärung der hier anstehenden Fragen kann nur in größeren, kontrollierten Studien erreicht werden.

Auch muss beachtet werden inwiefern, sich eine bestimmte Vorerkrankung, die den Serumselengehalt beeinflusst, auf den *Liquorselengehalt* auswirkt. Denn in diesem Beispiel bietet sich eine interessante Situation. Trotz der großen (nicht signifikanten) Variationen im *Serum*, deren Ursachen schwer zu erörtern sind, kam es zu einem signifikanten Anstieg von 0,9 auf 1,4 µg/l ($p < 0,01$; bivariate fit). Der letzte Wert wurde durch Lumbalpunktion gewonnen. Da zu diesem Zeitpunkt schon lange (etwa 19 Tage) substituiert worden war, kann nicht gesagt werden, ob durch Lumbalpunktion gewonnene Proben generell erhöht sind im Vergleich zur externen Liquordrainage. Ein anderes Studiendesign könnte in dieser Hinsicht Klarheit bringen.

Patient Nr. 5

Dieser Fall wurde eine Woche lang mit Selenase[®]T substituiert, bevor der erste Serumwert entnommen wurde. Dieser lag dann bei 195 µg/l. Die Werte 2 und 3 betragen 128 µg/l (9,4 Tage nach Substitutionsbeginn) und 115 µg/l (13,8 Tage nach Substitutionsbeginn). Die Ergebnisse dieses Patienten erfüllten ebenfalls nicht die statistischen Kriterien, jedoch ist davon auszugehen, dass nach bereits einer Woche Substitution ein Anstieg im Serum zu sehen ist. Die ermittelten Werte im Serum liegen über den Normalwerten von 50-110 µg/l (Heinzow und Oster, 2004).

Nach einer Woche Substitution wurde ein Liquorselenwert von 2 µg/l ermittelt. Im weiteren Verlauf ergab sich kein weiterer erkennbarer Anstieg.

Patient Nr. 6

Patient Nr.6 wurde nur kurze Zeit beobachtet und mit zweimal 1500 µg Selenase[®]T substituiert. Er wies mit 87 µg/l einen recht hohen Ausgangswert auf, der eine Stunde nach der ersten Na-Selenitgabe nur auf 110 µg/l anstieg. In diesem Fall ist kein starker Serumanstieg in kurzen Zeitabständen zu beobachten. Der dritte Serumwert lag bei 118 µg/l. Aufgrund des kurzen Beobachtungszeitraums erfüllte Patient Nr. 6 nicht die Kriterien für eine statistische Analyse der Werte.

Im Liquor wurden 4 Proben untersucht. Ausgehend von 2,9 µg/l schwankte der Liquorselengehalt und endete bei 3,3 µg/l. Dieses Muster gesellt sich zu den Serumwerten dieses Falls, in dem weder im Serum noch im Liquor ein überzeugender, statistisch auswertbarer Anstieg zu verzeichnen ist.

Der klinische Verlauf lässt keine Ereignisse erkennen, die eine Erklärung für den nicht vorhandenen Anstieg im Liquor bieten könnten.

Patient Nr. 7

In diesem Fall war ebenfalls kein ausreichend langer Beobachtungszeitraum gewährleistet (4,4 Tage). Eine Probe für einen Ausgangswert im *Serum* lag nicht vor. Sechs Tage nach der SAB wurde mit der Substitution von insgesamt fünfmal 1500 µg Selenase[®]T begonnen. Bei einem Verlauf von 137 µg/l, 70 µg/l und 167 µg/l konnte kein statistisch relevanter Anstieg im Serum beobachtet werden.

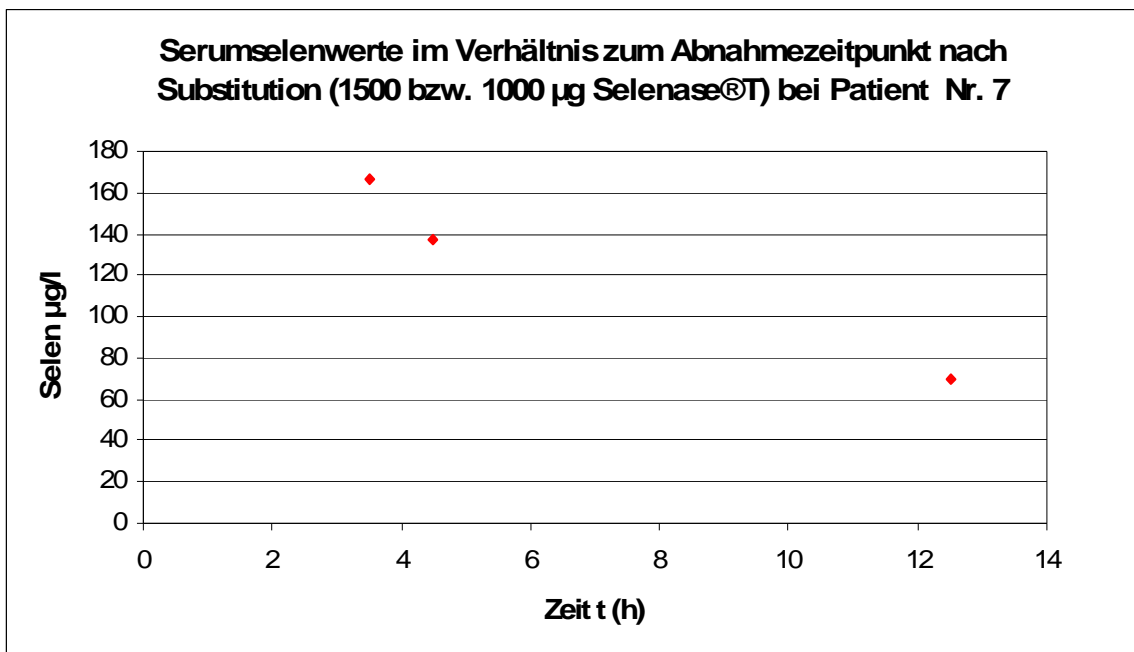


Abbildung 15: Serumselenwerte im Verhältnis zum Abnahmezeitpunkt nach Substitution (1500 bzw. 1000 µg Selenase[®]T) bei Patient Nr. 7

Berücksichtigt man das Zeitintervall zwischen Substitution und Probenentnahme so wird klar, dass die Serumselenwerte mit Zunahme der Zeit abnehmen (vgl. auch 3.5 Zeitliche Darstellung der Selenwerte in Abhängigkeit zum Zeitpunkt der Substitution). Die unterschiedlichen Zeitabstände von Selengabe und Blutabnahme erklären in diesem Fall die starken Schwankungen von Selen im Serum.

Im *Liquor* bietet sich die umgekehrte Situation. Dort wo hohe Serumwerte vorliegen, finden sich niedrige Liquorwerte (1,3 µg/l) und umgekehrt. Auch hier sind nicht genug Proben für eine statistische Analyse vorhanden.

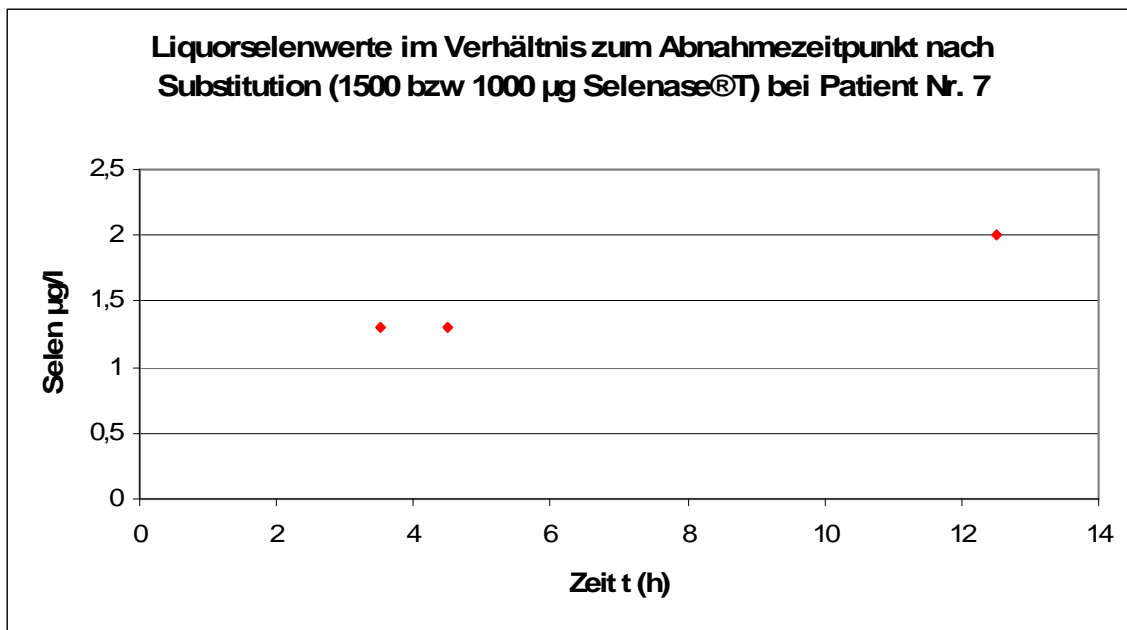


Abbildung 16: Liquorselenwerte im Verhältnis zum Abnahmezeitpunkt nach Substitution (1500 bzw. 1000 µg Selenase®T) bei Patient Nr. 7

Mit zunehmendem Zeitabstand nach Substitution nimmt hier der Liquorselenwert zu. Die Überlegungen zur Kinetik von Selen im Liquor wurden schon zu Beginn dieses Kapitels diskutiert und werden hier nicht noch einmal erwähnt.

Patient Nr.8

Im 8. Fall erhielt der Patient nach der Blutung einmal 1500 µg und einmal 1500 µg Selenase®T. Wegen einer Verlegung konnte er nicht mehr weitersubstituiert werden. Bei einer Zurückverlegung ca. 13 Tage später konnten noch einmal Proben entnommen werden.

Der Ausgangswert im *Serum* lag bei 89 µg/l. Der 2,5 Stunden nach der ersten Substitution gemessene Serumwert lag bei 205 µg/l. Etwa 18 Tage lang erhielt dieser Patient kein Selen. Dies macht sich im Serum mit 56 µg/l bemerkbar. Dies bestätigt die Literaturberichte von einem erhöhten Selenbedarf bei akut Kranken und Intensivpatienten und unterstreicht die Bedeutung der Selensupplementierung dieser Patienten (Angstwurm et al., 1999; Hawker et al., 1990).

Im *Liquor* ist ein Ausgangswert von 2 µg/l zu beobachten. Nach kurzem Zeitintervall zwischen Probenentnahme und Selengabe steigt der Liquorselengehalt auf 5,8 µg/l. Dieser schnelle Anstieg der Selenkonzentration im Liquor wurde auch bei Patient 10 beobachtet. Möglicherweise überwindet Selen in zu Beginn der akuten Krankheitsphase besonders schnell die Blut-Hirn-Schranke und wird aufgrund des hohen Antioxidantienbedarfs schnell wieder verbraucht.

Noch unter der Substitution fällt der Liquorwert wieder auf 2,3 µg/l und steigt 18 bzw. 30 Tage nach Ende der Selengabe auf 3,4 bzw. 4,6 µg/l an. Dieser Anstieg ohne Substitution ist überraschend.

Im klinischen Verlauf erlitt der Patient einen Mediateilinfarkt. Durch die dadurch verursachte Schädigung der Blut-Hirn-Schranke könnte vermehrt Selen in den Liquor gelangt sein. Eine weitere Funktionseinschränkung der BHS könnte durch Keime (Enterokokken) im Liquor entstanden sein, die zu dem Zeitraum der Probenentnahme mikrobiologisch nachgewiesen worden waren. Diese Mechanismen haben möglicherweise zu den erhöhten Liquorselenwerten beigetragen.

Fieber von über 39°C sowie erhöhte Entzündungsparameter im Serum sind wahrscheinlich Grund für den Selenabfall im Serum auf 56 µg/l. In einer solchen Situation wird Selen als Antioxidanz benötigt und verbraucht.

Diese Komplikationen machten etwa einen Monat nach dem Blutungsereignis die Anlage eines permanenten Liquordrainagesystems notwendig. Mit dem

VP-Shunt (Ventrikulo-Peritonealer-Shunt) wird der Liquor in den Bauchraum abgeleitet um einen erhöhten Hirndruck zu vermeiden.

Dieser Patient erhielt vergleichsweise wenig Selen und ist der einzige Fall dieser Studie bei dem aufgrund von Komplikationen eine Shuntanlage notwendig wurde.

Patient Nr. 9

Es lagen in diesem Fall keine *Serum*proben vor. Patient Nr. 9 wurde eine *Liquor*probe durch Lumbalpunktion entnommen. Die gemessene Selenkonzentration lag bei 1,9 µg/l. Damit ist sie höher als die über Drainage entnommenen Proben von Fall Nr. 3 (0,5 µg/l und 0,75 µg/l). Eventuelle Unterschiede der Selenkonzentration durch die beiden Entnahmemethoden wurden bereits diskutiert und können nicht sicher ausgeschlossen werden. Vergleiche mit anderen Fällen dieser Studie, deren Drainage im Laufe des Aufenthaltes gezogen wurde, oder die aus anderen Gründen während der Substitution lumbalpunktiert wurden, würden unbefriedigende Ergebnisse liefern, da nicht jeder Patient die gleiche Dosis Selen bekam.

Patient Nr. 10

Erhielt zweimal 1500 µg Selenase[®]T und fünfmal 1000 µg während seines 5,7 tägigen Beobachtungszeitraumes. Im *Serum* findet sich nur eine Stunde nach Substitutionsbeginn mit 255 µg/l der höchste Serumwert dieser Studie. Für fünf Tage blieben die Serumwerte hoch (188 und 183 µg/l). Am sechsten Tag fiel das Serumselen auf 108 µg/l ab.

Eine Stunde nach der 1. Selengabe ist auch im *Liquor* bereits ein Anstieg von 1,8 µg/l auf 2,9 µg/l zu erkennen. Dieser Trend setzte sich jedoch nicht fort. Der Anstieg ist nicht signifikant ($p < 0,9$).

Aufgrund therapieresistenter Kopfschmerzen und erhöhtem intracerebralem Druck wurde in diesem Fall eine EVD angelegt, durch die sich der Zustand der Patientin besserte.

Patient Nr. 11

Dieser Patient Nr. 11 besitzt keinen *Serum*nullwert. Nach Gabe von 1500 µg Selen fanden sich im Serum 99 µg/l. Etwa 12 Tage später nach insgesamt dreimal 1500 µg und achtmal 1000 µg Selenase[®]T ergab sich ein Serumwert von 70 µg/l. Der Abfall der Selenkonzentration im Serum während der Substitution lässt sich vermutlich mit der klinischen Situation erklären. Zu dem Zeitpunkt der 2. Serumselenprobenentnahme hatte die Patientin schon seit 2 Tagen über 39°C Fieber und zervikale Lymphknotenschwellungen sowie hohe Entzündungsparameter im Labor. Im weiteren Verlauf wurde ein großer Retropharyngealabszess diagnostiziert. In dieser Situation benötigt der Organismus dringend Selen, um die durch den Abszess hervorgerufene Entzündungsreaktion zurückzudrängen.

Der Nullwert im *Liquor* lag bei 1 µg/l. Nach der ersten Substitution stieg er auf 3,6 µg/l an. Die zweite Liquorselemessung nach etwa 12 Tagen war nochmals deutlich höher (9,4 µg/l). Aufgrund der wenigen Proben war keine statistische Auswertung möglich. Die Liquorproben wurden alle mit Lumbalpunktion gewonnen.

4.2.4 Substitution mit Selenase[®]T bei SAB – Überlegungen zur klinischen Relevanz

Die Klinische Besserung der Untersuchten dieser Studie darf hier nicht unerwähnt bleiben. Neben einer Rezidivblutung (25-50% der Fälle) sind Vasospasmen (15-60% der Fälle) sowie ein Hydrozephalus (25 % der Fälle) Komplikationen einer SAB (Hopf et al., 1999). Sie führen zu sekundären ischämischen neuronalen Schädigungen. Das Auftreten eines Hydrozephalus führt zu erhöhtem Hirndruck und kann die Anlage einer permanenten Liquordrainage erforderlich machen.

Beginn der Vasospasmen ist klassischerweise der 4. Tag nach dem Blutungsereignis. Sie nehmen dann bis zur 2. Woche zu und lassen nach Ende der 2. Woche wieder nach. Sie korrelieren mit einer 1,5 bis 3fach höheren

Mortalitätsrate in den ersten 2 Wochen nach SAB (Treggiari-Venzi et al., 2001). Das Patientenalter hat keinen Einfluss auf die angiographisch bestimmte Schwere der Spasmen sowie auf die Inzidenz symptomatischer Spasmen (Inagawa et al., 1992). Klinische Studien zeigen, dass Vasospasmen die Hauptursache für postoperative Morbidität und Mortalität darstellen (Alcock et al., 1965).

Durch eine stattgehabte SAB mit Vasospasmen kommt es zur Reduktion des cerebralen Blutflusses. Dies korreliert mit erheblichen neurologischen Schäden (Yamamoto et al., 1979; Fergusson et al., 1972). Die Studien von Jacobsen et al. (1990) bei Patienten mit fokalen Vasospasmen machen deutlich, dass sich der verminderte cerebrale Blutfluss keineswegs nur auf das spastische Gefäß bezieht, sondern ein globales Geschehen darstellt (Jacobsen et al., 1990a).

Die Entstehung der Vasospasmen wird auf mechanische und chemische Einwirkungen der Blutung zurückgeführt durch diese es zu einer Verengung der Hirnarterien kommt. Mechanische Faktoren sind die Verletzung an der rupturierten Arterienwand, der entstandene Hämatomdruck und die Reizung des periarteriellen Nervengewebes. Vasoaktive Substanzen aus den zerfallenen Erythrozyten und vor allem Oxihämoglobin werden als chemische Faktoren zur Entstehung der Vasospasmen angesehen (Treggiari-Venzi et al., 2001; Hopf et al., 1999).

Wie schon in der Einleitung dargelegt, könnten aufgrund dieser Überlegungen die Auswirkungen dieser Stoffe durch die Gabe von Selen positiv beeinflusst werden. Die hoch dosierte intravenöse Gabe antioxidativer Spurenelemente wie vor allem Selen ist sicher und könnte zu einer Reduktion der Mortalität bei Intensivpatienten führen (Heyland et al., 2004). Selen als ein wirkungsvoller und therapeutisch sicherer Radikalfänger könnte daher helfen, eine der gefährlichsten Komplikationen der SAB – die Vasospasmen und deren Folgen – zu bekämpfen.

Unter Selensubstitution kam es in der vorliegenden Studie zu keinem Fall von unkontrollierbaren Spasmen. In einem Fall wurde durch das Auftreten einer Meningitis als Komplikation die Anlage einer permanenten Liquordrainage notwendig (Patient Nr. 8).

Über die wirkungsvollste und gleichzeitig nebenwirkungsärmste Darreichungsform des Selen wird derzeit kontrovers diskutiert.

Ebselen, einer synthetischen organischen Selenverbindung, werden im Tierversuch glutathionperoxidase ähnliche sowie antiinflammatorische Fähigkeiten bei Schlaganfall und bei der Behandlung chronischer Vasospasmen zugeschrieben (Lapchack et al., 2003); Handa et al, 2000). Auch in klinischen Untersuchungen an Menschen mit SAB wird Ebselen eine Schutzfunktion gegen verspätete ischämische neurologische Defizite zugeschrieben. Ebselen ist nicht bioverfügbar, das bedeutet, es leistet keinen Beitrag zur Erhöhung des körpereigenen Selenpools. Die Tatsache, dass Ebselen nicht in den Selenkreislauf des Körpers eingreift, wird als Grund für die geringe Toxizität gesehen (Parnham et al., 2000). Andererseits ist Ebselen nicht in der Lage die Aktivität der körpereigenen GPx zu steigern oder einen niedrigen Serumselenspiegel auszugleichen. Ob sich diese Art der Selensupplementierung durchsetzen wird, ist offen.

4.2.5 Betrachtungen zum Stoffwechsel von Selen unter Supplementierung

Der Stoffwechsel von Selen ist gut untersucht.

Im Folgenden wird diskutiert, welche -kurzfristigen- Auswirkungen die Zufuhr hoher Dosierungen auf den Selen-Stoffwechsel haben könnte.

Eine einmalige Supplementierung mit 1500 µg Selen (Na-Selenit 5 H₂O) entspricht mehr als dem 20fachen des Tagesbedarfs eines Erwachsenen und mindestens 10% des Körperbestandes von 10 bis 15 mg.

Der Normbereich für Selen im Serum eines gesunden Erwachsenen liegt zwischen 50 und 110 µg/l. Bei einmaliger intravenöser Supplementierung von 1500 µg Selen und einem Blutvolumen von 5 l kommt es zu einem (errechneten) Anstieg der Selenkonzentration im Blut auf 300 µg/l. Zusammen mit dem bestehenden Selenspiegel wird dann gerade der Schwellenwert von 400 µg/l erreicht, ab dem Gesundheitsstörungen nicht mehr auszuschließen sind. Unter den hier vorgestellten Fällen wurde ein Maximalwert nach

wiederholter Supplementierung von 255 µg/l gemessen, d.h. deutlich unter dieser toxischen Grenze.

Die Eliminierung des Selen erfolgt überwiegend über Harn und Fäzes. In den Fäzes erscheint vor allem nicht resorbiertes oral aufgenommenes Selen, das in den hier vorliegenden Bedingungen ohne Bedeutung ist. Die bei Zufuhr toxischer Dosen von Selen beschriebene Abatmung von flüchtigem Dimethylselen – mit charakteristischem knoblauchartigem Geruch – wurde bei keinem der untersuchten Patienten festgestellt. Die Ausscheidung von Selen über Schweiß und Speichel sind nur von untergeordneter Bedeutung.

Es kann davon ausgegangen werden, dass unter der hier vorliegenden Situation die Eliminierung von Selen über den Harn den deutlich größten Anteil ausmacht. Bei normaler Selenzufuhr werden von einem Erwachsenen 10 bis 50 µg/l Urin ausgeschieden; das entspricht bei einem Urinvolumen von 2 l pro Tag 20 bis 100 µg. In der vorliegenden Studie wurde von 2 Patienten an mehreren Tagen der 24-h-Urin gesammelt und auf Selen untersucht. Die ausgeschiedene tägliche Menge schwankte zwischen 332 und 900 µg Selen. Damit kann abgeschätzt werden, dass der renal abgegebene Anteil der supplementierten Dosis im Bereich von 50% liegt. Über das Schicksal der 2. Hälfte der zugeführten Dosis lässt sich nur spekulieren. Es kann jedoch davon ausgegangen werden, dass neben der renal ausgeschiedenen Fraktion ein weiterer relevanter Anteil aus dem Blut rasch abtransportiert oder verbraucht wird. Dabei kann es auch zu einem Einbau in die Zielorgane Schilddrüse, Niere und Leber kommen.

Zwischen dem zeitlichen Verlauf der renalen Ausscheidung von Selen und der analytisch erfassten Selenkonzentration in Serum und Liquor konnten keine Zusammenhänge gefunden werden. Die festgestellten renalen Verluste der durchgeführten Selensupplementierung lassen es sinnvoll erscheinen auch andere Möglichkeiten einer Selensubstitution zu testen. Beispielsweise wäre zu überlegen, ob durch eine Selensubstitution über einen Perfusor (kontinuierliche i.v. Applikation von Selen) konstantere Selen Spiegel erreichbar sind.

4.3 Schlussfolgerung

Wichtige Schlussfolgerungen aus dieser Arbeit sind:

1. Patienten nach SAB haben erniedrigte Serumselewerte.
2. Aufgrund der in der Literatur erwähnten protektiven Eigenschaften des Selens, wäre eine Selensubstituierung nach SAB sinnvoll.
3. Mit der Methode der HPLC lässt sich der Liquorseleengehalt im Liquor bestimmen.
4. Selen im Liquor ist keine konstante Größe. Der Selengehalt im Liquor steigt unter i. v. Substitution mit Selenase[®]T an.

4.4 Ausblick

Über die Auswirkungen von Selen im ZNS ist noch wenig bekannt, vor allem über die Verhältnisse im Liquor. In der hier vorliegenden Arbeit konnte gezeigt werden, dass substituiertes Na-Selenit die Blut-Hirn-Schranke überwindet. Die Mechanismen und Überlegungen auf welche Weise Selen die Komplikationen und Folgen einer SAB eindämmen könnte, wurden bereits in der Einleitung dargelegt, sollten jedoch durch detailliertere Studien bestätigt werden.

Von großer Wichtigkeit ist die Etablierung verlässlicher Referenzwerte im Liquor um Veränderungen unter Substitution besser interpretieren zu können.

Bisher sind die Transportmechanismen (Stichwort: Selenoprotein P) des Selens über die Blut-Hirn-Schranke sind noch nicht verstanden und müssen dringend aufgeklärt werden um Selen evtl. effizienter verabreichen zu können. Auf der Grundlage dieser Ergebnisse und der HPLC müssen diese offenen Fragen geklärt werden um die Aussagekraft des Selens im Liquor genau einschätzen zu können.

5. Zusammenfassung

In der vorliegenden Studie wurden 11 Patienten nach subarachnoidaler Blutung auf der Neurochirurgischen Intensivstation der Universitätsklinik

Tübingen beobachtet. Davon erhielten 9 Patienten während ihres Aufenthaltes (zwischen 1 und 30 Tagen eine wiederholte Selensubstitution (i.v. Bolusgaben von 1000 und 1500 µg oder 500 per os).

In den aus den routinemäßig gewonnenen Serum- und Liquorproben wurde Selen mit HPLC und Fluoreszenzdetektion nach Derivatisierung mit 2,3-diaminonaphthalin quantitativ bestimmt. Auf Grund der niedrigen Selenkonzentrationen im Liquor war es notwendig zunächst die Analytik zu optimieren (Nachweisgrenze: 0,5 µg/l).

Bei den Patienten mit *Serum*proben vor Substitution (n=5) wurden leicht erniedrigte Selenkonzentrationen gefunden (AM: 67 µg/l, Bereich: 43-89 µg/l). Nach Supplementierung stiegen die Selenkonzentrationen um das 2 bis 3fache. Der höchste gemessene Wert lag bei 255 µg/l und damit deutlich unter dem toxischen Bereich (ab 400 µg/l). Bei 2 Patienten mit Komplikationen (Fieber über 39 °C) wurde ein deutlicher Abfall der Selenwerte im Serum trotz Supplementierung beobachtet (56 µg/l, 70 µg/l).

Fazit: Patienten nach stattgehabter subarachnoidaler Blutung haben erniedrigte Selenkonzentrationen im Serum. Im Verlauf der Erkrankung kann es zu einer weiteren Reduktion der Selenwerte kommen. Selensupplementierung führt nicht zu toxischen Werten im Serum. Die, in der Literatur beschriebenen, protektiven Eigenschaften des Selens lassen eine Supplementierung sinnvoll erscheinen.

Die nachgewiesenen Selenkonzentrationen im *Liquor* vor Substitution (n=9) lagen im Bereich von 0,5 µg/l bis 3,3 µg/l, AM: 1,9 µg/l. Dies steht im Einklang mit Ergebnissen von Walther et al. (1998) aus Jena, während andere Studien 10fach höhere Werte berichtet haben. Nach Supplementierung (n=9) stiegen die Werte im AM auf 3,9 µg/l, Bereich: 1,4 bis 9,4 µg/l. Die eigenen Werte nach Substitution wurden in Stichproben durch AAS und Graphitrohrtechnik bestätigt (Arbeitsmedizin, Universität Tübingen). Der mittlere Anstieg liegt damit bei 2 µg/l.

Fazit: Der Selengehalt im Liquor ist keine konstante Größe. Es kommt zu einem Anstieg von Selen im Liquor unter Substitution. Dies ist die Voraussetzung für die Wirkung von Selen. Der prognostische Wert der Selenbestimmung im Liquor ist im Augenblick noch unklar.

6. Literaturverzeichnis

1. Aguilar MV, Jiménez-Jiménez FJ, Molina JA, Meseguer I, Mateos-Vega CJ, González-Muñoz MJ, de Bustos F, Gómez-Escalonilla C, Ortí-Pareja M, Zurdo M, Matinéz-Para MC (1998) Cerebrospinal fluid selenium and chromium levels in patients with Parkinson's disease. *J Neural Transm* 105:1245-1251
2. Alegría A, Barberá R, Clemente C, Farré R, García MJ, Lagarda MJ (1996): Selenium and Glutathione Peroxidase Reference Values in Whole Blood and Plasma of a Reference Population Living in Valencia , Spain. *J. Trace Elements Med Biol* 10: 223-228
3. Allcock JM, Drake CG (1965) Ruptured intracranial aneurysms. The role of arterial spasm. *J Neurosurg* 22: 21-29
4. Al-Saleh I. A., Al-Jaloud A., Al-Doush I., El-Din G. (1999): The distribution of selenium in Saudi dairy farms: a preliminary report from Al-Khari. *J. Environ. Pathol Toxicol Oncol* 18(1): 37-46
5. Angstwurm MWA, Schottdorf J, Schopohl J, Gaertner R (1999) Selenium replacement in patients with severe systemic inflammatory response syndrome improves clinical outcome. *Crit Care Med* 27 (9): 1807-1813
6. Barceloux, DG (1999) Selenium. *Clin Toxicol* 37: 145-172
7. Beck MA, Levander OA, Handy J (2003) Selenium deficiency and viral infection *J Nutr* 133: 163-167
8. Biesalski KH, Berger MM, Brätter P, Brigelius-Flohé R, Fürst P, Köhrle J, Oster O, Shenkin A, Viell B, Wendel A (1997) Kenntnisstand Selen – Ergebnisse des Hohenheimer Konsensusmeetings. *Akt Ernähr-Med* 22: 224-231
9. Behne D, Pfeiffer H, Rothlein D, Kyriakopoulos A (2000) Cellular and subcellular distribution of selenium and selenium containing proteins in the rats, in *Trace Elements in Man and Animals* (Roussel AM, Favier AE, Anderson RA, eds) Kluwer/Plenum, New York Vol 10: 29-34
10. Bochicchio M, Latronico N, Zani DG, Mariotti M, Morandini L, Aquarolo AM, Candiani A (1990) Free radical-induced lipidperoxidation and severe head injury. *Intensive Care Med* 16: 444-447
11. Bräuer AU, Savaskan NE (2004) Molecular Actions of Selenium in the Brain: Neuroprotektive Mechanisms of an Essential Trace Element. *Reviews in the Neurosciences* 15: 19-32
12. Burk RF, Hill KE, Awad JA, Morrow JD, Kato D, Cockell KA, Lyons PR (1995b): Pathogenesis of diquat-induced liver necrosis in selenium deficient rats: Assessment of the roles of lipid peroxidation and selenoprotein P. *Hepatology* 21: 561-56
13. Burk RF, Brown DG, Seely RJ, Scaief CC III (1972) Influence of dietary and injected selenium on whole body retention, rout of excretion, and tissue retention of $^{75}\text{SeO}_3^{2-}$ in the rat. *J Nutr* 102: 1049-1056
14. Burk RF, Hill (2003): Selenoprotein metabolism and function: evidence for more than one function for selenoprotein P. *J Nutr* 133 (1): 1517
15. Chen J, Berry MJ (2003) Selenium and selenoproteins in the brain and brain diseases. *J Neurochem* 86: 1-12

16. Clark LC, Dalkin B, Krongard A, Combs GF Jr, Turnbull BW, Slate EH, Witherington R, Herlong JH, Janosko E, Carpenter D, Borosso C, Falk S, Rounder J (1998) Decreased incidence of prostate cancer with selenium supplementation: results of a double-blind cancer prevention trial. *Br J Urol* 81: 730-734
17. Cold ED und Dahl BL (eds.) (2002) *Topics in Neuroanaesthesia and Neurointensive Care. Experimental and Clinical Studies upon Cerebral Circulation, Metabolism and Intracranial Pressure.* Springer Verlag, Berlin Heidelberg, New York, ISBN: 3-540-41871-7
18. Combs GF Jr, Gray WP (1998) Chemopreventive Agents: Selenium. *Pharmacol Ther* 79 (3): 179-192
19. Combs GF Jr (2004) Status of selenium in prostate cancer prevention. *Br Cancer* 91: 195-199
20. Crack PJ, Taylor JM, Flentjar NJ, de Haan J, Hertzog P, Iannello RC, Kola I (2001) Increased infarct size and exacerbated apoptosis in the glutathione peroxidase-1 (Gpx-1) knockout mouse brain in response to ischemia/reperfusion injury. *J Neurochem* 78 (6): 1389-99
21. Doze T (1985) The pathogenesis and prognostic significance of blood-brain barrier damage during the acute stage of aneurysmal subarachnoid haemorrhage. *Clinical and experimental studies. Acta Neurochir (Wien)* 77:110-132
22. Elinder C, Gerhardsson L, Oberdoester G (1988) Biological monitoring of toxic metals – Overview. In: Clarkson TW, Friberg L, Nordberg G, Sager PR (eds.) *Biological monitoring of toxic metals.* Plenum Press New York pp 1-71
23. El-Yazigi A, Al-Saleh I, Al-Mefty O (1984) Concentrations of Ag, Al, Au, Cd, Cu, Pb, Sb, and Se in cerebrospinal fluid of patients with cerebral neoplasms. *Clin Chem* 30: 1358-1360
24. Fergusson GG, Harper AM, Fitch W, et al. (1972) Cerebral blood flow measurements after spontaneous subarachnoid haemorrhage. *Europ Neurol* 8: 15-22
25. Ferguson LR, Philpott M, Karunasinghe N (2004) Dietary cancer and prevention using antimutagens. *Toxicology* 198: 147-159
26. Flohé L; Günzler WH; Schock HH (1973) Glutathionperoxidase: a selenoenzyme. *FEBS Letters* 32: 132-134
27. Forceville X, Vitoux D, Gauzit R, Combes A, Lahilaire P, Chappuis P (1998) Selenium, systemic immune response syndrome, sepsis, and outcome in critically ill patients. *Crit Care Med* 26 (9): 1478-1479
28. Germano A, d'Avella D, Imperatore C, Caruso G, Tomasello F (2000) Time-course of blood-brain barrier permeability changes after experimental subarachnoid haemorrhage. *Acta Neurochir (Wien)* 142 (5): 575-81
29. Gladyshev VN, Hatfield DL (1999) Selenocysteine-Containing Proteins in Mammals. *J Biomed Sci* 6: 151-160
30. Gleixner C, Müller M, Wirth SB (Hrsg.) (2002/2003) *Neurologie und Psychiatrie in Studium und Praxis.* Medizinische Verlags- und Informationsdienste Breisach/Rh 3. Aufl.: 147-149
31. Hall ED (1997) Brain attack. Acute therapeutic interventions. Free radical scavengers and antioxidants. *Neurosurg Clin N Am* 8 (2): 195-206

32. Handa Y, Kaneko M, Takeuchi H, Tuschida A, Kobayashi H, Kubota T (2000) Effect of an antioxidant, ebselen, on development of chronic cerebral vasospasm after subarachnoid hemorrhage in primates. *Surg Neurol* 53 (4): 323-9
33. Hawker F. H., Steward P. M., Snitch P. J., (1990) Effects on acute illness on Selenium homeostasis; *Critical Care Medicine* 18(4): 442-446
34. Hawkes WC, Kutnink MA (1996) High-performance liquid chromatographic-flourescence determination of traces of selenium in biological materials. *Anal Biochem* 241: 206-211
35. Heinzow B, Oster O (2004) Selen. In: Beyer A, Eis D (Hrsg.) (2004) *Praktische Umweltmedizin Sektion 09.01, Teil: Metalle und Metalloide. Folgelieferung 1/2004.* Springer Verlag Berlin, Heidelberg, New York: 1-43
36. Heyland DK, Dhaliwal R, Suchner U, Berger MM (2004) Antioxidant nutrients: A systematic review of trace elements and vitamins in the critically ill patient. *Intensive Care Med* 31 (3): 327-37
37. Hodge CJ, Boakye M (2001) Biological Plasticity: The Future of Science in Neurosurgery. *Neurosurgery* 48(1): 2-1
38. Hopf HC, Deuschl G, Diener HC, Reichmann H (Hrsg.) (1999) *Neurologie in Praxis und Klinik.* Georg Thieme Verlag, Stuttgart, New York: 409-429
39. Imam SZ, El-Yazal J, Newport GD, Itzhak Y, Cadet JL, Slikker W Jr, Ali SF (2001) Methamphetamine-induced dopaminergic neurotoxicity: role of peroxynitrite and neuroprotective role of antioxidants and peroxynitrite decomposition catalysts. *Ann NY Acad Sci* 939: 366-380
40. Inagawa T (1992) Cerebral vasospasm in elderly patients treated by early operation for ruptured intracranial aneurysms. *Acta Neurochir* 115: 79-85
41. Jacobsen M, Overgaard J, Marcussen E, Enevoldsen EM (1990a) Relation between angiographic cerebral vasospasm and regional CBF in patients with SAH. *Acta Neurol Scand* 82: 109-115
42. Kim HC, Jhoo WK, Choi DY, Im DH, Shin EJ, Suh JH, Floyd RA, Bing G (1999) Protection of methamphetamine nigrostriatal toxicity by dietary selenium. *Brain Res* 851: 76-86
43. Kim HC, Jhoo WK, Shin E, Bing G (2000) Selenium deficiency potentates methamphetamine-induced nigral neuronal loss; comparison with MPTP model. *Brain Res* 862: 247-252
44. Köhrle J (2002) Selen. In: *Vitamine, Spurenelemente und Mineralstoffe.* Biesalski HK, Köhrle J, Schümann K (Hrsg.) Thieme Verlag: 161-172
45. Kosteljanec M (1988) Cerebrospinal fluid production in subarachnoid haemorrhage. *Br J Neurosurg* 2 (2):161-7
46. Lapchack PA, Zivin JA (2003) Ebselen, a seleno-organic antioxidant, is neuroprotective after embolic strokes in rabbits: synergism with low-dose tissue plasminogen activator. *Stroke* 34 (8): 2013-8
47. Letsche M (2002) Selenkonzentration im Serum von Patienten aus dem Raum Tübingen mit koronarer Herzkrankheit und dilatativer Kardiomyopathie. Dissertation, Universität Tübingen: 3-6
48. Letsche M, Schweinsberg F (2000) Selen in der Nahrung – krank durch zuviel, krank durch zu wenig? *Zeitschrift für Ernährungsökologie* 1: 47-53
49. Levander OA, Beck MA, (1997) Interacting Nutritional and Infectious Etiologies of Keshan Disease. *Biological Trace Element Research* 65: 5 -19

50. Maksimovic ZJ, Djunic (1998) Selenium research in Serbia, Yugoslavia. Review. *J Environ Pathol Toxicol Oncol* 17: 165-171
51. Massicotte EM, del Bigio MR (1999) Human arachnoid villi response to subarachnoid haemorrhage: Possible relationship to chronic hydrocephalus. *J Neurosurg* 91: 80-84
52. MacPherson A. K., Sampson B., Diplock A.T. (1988) Comparison of methods for the determination of selenium in biological fluids. *Analyst* 113, 281-283
53. Meseguer I, Molina JA, Jiménez-Jiménez FJ, Aguilar MV, Mateos-Vega CJ, González-Muñoz MJ, de Bustos F, Ortí-Pareja M, Zurdo M, Berbel A, Barrios E, Matinéz-Para MC (1999) Cerebrospinal fluid levels of selenium in patients with Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 106: 309-315
54. Nelson AA, Fitzbugh OG, Calvery HO (1943) Liver tumors following cirrhosis caused by selenium rats. *Cancer Res* 3: 230-236
55. Nève J (1995) Human Selenium Supplementation as Assessed by Changes in Blood Selenium Concentration and Glutathione Peroxidase Activity. *Trace Elements Med. Biol.* 9: 65-73
56. Oster O (1992) Zum Selenstatus in der Bundesrepublik Deutschland. Oster O (ed.) Jena: Universitätsverlag Jena GmbH: 320 pp
57. Oztas B, Kilic S, Dural E, Ispir T (2001) Influence of antioxidants on the blood-brain barrier permeability during epileptic seizures. *J Neurosci Res* 66: 674-678
58. Park S, Yamaguchi M, Zhou C, Calvert JW, Tang J, Zhang JH (2004) Neurovascular protection reduces early brain injury after subarachnoid hemorrhage. *Stroke* 35 (10): 2412-7
59. Parnham M, Sies H (2004) Ebselen: prospective therapy for cerebral ischaemia. *Exp Opin Invest Drugs* 9 (3): 607-619
60. Prohaska JR, Ganther HE (1976) Selenium and glutathione peroxidase in developing rat brain. *J Neurochem* 27: 1379-1387
61. Ramaekers VT, Calomme M, Vanden Beghe D, Makropoulos W (1994) Selenium deficiency triggering intractable seizures. *Neuropediatrics* 25 (4): 217-23
62. Rotruck JD, Pope AL; Ganther HE (1972) Selenium: biochemical role as a component of glutathione peroxidase. *Science* 179: 588-590
63. Sabbioni E, Minoia C, Pietra R, Fortaner S, Galorini M, Saltelli A (1992) Trace element reference values in tissues from inhabitants of the European Community. II. Examples on strategies adopted and trace element analysis of blood, lymph nodes and cerebrospinal fluid of Italian subjects. *Sci Total Environ* 120 (1-2): 39-61
64. Saito I, Asano T, Sano K, Takakura K, Abe H, Yoshimoto T, Kikuchi H, Ohta T, Ishibashi S (1998) Neuroprotective Effect of an Antioxidant, Ebselen, in Patients with Delayed Neurological Deficits after Aneurysmal Subarachnoid Hemorrhage. *Neurosurgery* 42 (2): 269-278
65. Schwarz K, Foltz CM, (1957) Selenium as an integral part of Factor 3 against dietary necrotic liver degeneration *J Am Chem Soc* 79, 3292-3293
66. Sehba FA, Mostafa G, Knopman J, Friedrich V Jr, Bederson JB (2004) Acute alterations in microvascular basal lamina after subarachnoid hemorrhage. *J Neurosurg* 101 (4): 633-40

67. Sies H, Arteel GE (2000) Interaction of peroxynitrite with selenoproteins and glutathione mimics. *Free Rad Biol Chem* 28:1451-1455
68. Tayarani I, Cloáz I, Clement M, Bourre J-M (1989) Antioxidant enzymes and related trace elements in aging brain capillaries and choroid plexus. *J Neurochem* 53: 817-823
69. Treggiari-Venzi M, Suter PM, Romand JA, (2001) Review of medical prevention of vasospasm after aneurysm. *Neurosurgery* 48 (2): 249-262
70. Vernie LN (1984) Selenium in carcinogenesis. *Biochem Biophys Acta* 738: 203-217
71. Walther LE, Streck S, Walther BW, Treff E, Winnefeld K, Beleites E (2000) Glutathione peroxidase, malondialdehyde and selenium in CSF and serum from patients with otoneurological disorders and determination of reference values. *Trace Elements and Electrolytes* 17 (2):87-91
72. Walther LE, Streck S, Winnefeld K, Walther BW, Kölmel HW, Beleites HE (1998) Reference values for electrolytes (Na, K, Ca, Mg) and trace elements (Fe, Cu, Zn, Se) in cerebrospinal fluid. *Trace Elements and Electrolytes* 15 (4): 177-180
73. Ward NI, Walker N, Ward A E (1989) Trace element status of cerebrospinal fluid of individuals with neurological diseases by ICP-MS. In: Brätter P, Schramel P (eds.) *Trace Element Analytical Chemistry in Medicine and Biology* 5. Walter de Gruyter, Berlin: 513-520
74. Weber GF, Maertens P, Meng XZ, Pippenger CE (1991) Glutathione deficiency and childhood seizures. *Lancet* 337: 1443-1444
75. Whanger PD (2004) Selenium and its relationship to cancer: an update *Br J Nutr* 91 (1): 11-28
76. Worofka B, Lassmann J, Bauer K, Kristoferitsch W (Hrsg.) (1997) *Praktische Liquorzell Diagnostik*. Springer Medizin. Springer Wien/New York: 1-1
77. Yamamoto M, Meyer J, Naritomi H, et al. (1979) Noninvasive measurement of cerebral vasospasm in patients with subarachnoid hemorrhage. *J Neurol Sci* 43: 301-311
78. Yang GQ, Chen JS, Wen ZM, Ge KY, Zhu LZ, Chen XC (1984) The role of selenium in Keshan disease. *Adv Nutr Res* 6: 203-231
79. Zafar RS, Siddiqui A, Sayed I, Ahmad M, Salim S, Islam F (2003) Dose-dependent protective effect of selenium in rat model of Parkinson's disease: neurobehavioral and neurochemical evidences. *J Neurochem* 84: 438-446

7. Anhang

7.1 Tabellen

7.1.1. Serum :

Patient Nr.	Tage	Selen ($\mu\text{g/l}$)
1	0	43
1	1	94
1	2	76
1	3	120
1	4	108
1	5	107
1	6	108
1	7	106
1	8	128
1	9	128
2	0	61
2	0,08	132
2	4,8	119
2	5,7	107
2	7,9	117
4	0	54
4	0,9	170
4	1,7	60
4	2,7	102
4	4,4	100
4	10,3	159
4	12,2	100
4	18,6	118
5	1	195
5	1,9	128
5	6,3	115
6	0	87
6	0,1	110
6	0,9	118
7	2,5	137
7	3,8	70
7	4,4	167
8	0	89
8	0,1	205
8	18,4	56
10	0,04	255

10	0,7	188
10	2,6	185
10	5	183
10	5,7	108
11	0,38	99
11	12,1	70

7.1.2 Liquor:

Patient Nr.	Tage	Selen ($\mu\text{g/l}$)
1	0	3,3
1	1	3,4
1	2	3,9
1	3	4
1	4	4,4
1	5	4,8
1	6	6,6
1	7	6,3
1	8	6,5
1	9	6,8
2	0	2,5
2	0,08	1,8
2	4,8	3,1
2	5,7	2,8
2	7,9	4,2
2	9,4	4,4
2	11	7,7
3	1	0,5
3	3	0,75
4	0	0,9
4	0,9	1
4	1,7	0,8
4	2,7	1
4	4,4	1
4	5,7	1,3
4	10,3	1,4
4	11,3	1
4	12,2	1,3
4	18,6	1,4
5	1	2
5	2	2,4
5	2,9	0,9
5	6,3	1,6
5	7,3	2
5	7,8	1,4
6	0	2,9

6	0,1	1,9
6	0,9	2,9
6	1,4	3,3
7	2,5	1,3
7	3,8	2
7	4,4	1,3
8	0	2
8	0,1	5,8
8	4,4	2,3
8	18,4	3,4
8	30	4,6
9	0	1,9
10	0	1,8
10	0,04	2,9
10	0,7	1,3
10	2,6	1
10	3,6	2,8
10	5	2,4
10	5,7	1,8
11	0	1
11	0,38	3,6
11	12,1	9,4

7.1.3 Serum selenium of all patients in the temporal relationship of substitution (1500 µg Selenase®T) and withdrawal point:

Zeit t (h)	Selen (µg/l)
1	132
1	170
1	110
1	255
1	99
2	118
2,5	205
3,5	167
4,5	137
6,5	188
12	76
12,5	70
10	94
13,5	60
13,5	102

7.1.4 Liquorselen aller Patienten im zeitlichen Verhältnis von Substitution (1500 µg Selenase®T) und Abnahmezeitpunkt:

Zeit t (h)	Selen (µg/l)
1	1,8
1	1
1	1,9
1	2,9
1	3,6
2	2,9
2,5	5,8
3,5	1,3
4,5	1,3
6,5	1,3
10	3,4
12	3,9
12,5	2
13,5	1
13,5	0,8

7.2 Danksagung

Ich danke insbesondere Herrn Prof. Dr. Fritz Schweinsberg. Durch seine stets geduldige, hilfsbereite und humoristische Art entstand ein angenehmes Arbeitsklima in dem immer genügend Raum für Fragen, Probleme und für manch anregende und kritische Diskussion war. Ebenso danke ich ihm für das mir entgegengebrachte Vertrauen und seine umfassende Unterstützung während dieser Arbeit.

Ebenfalls herzlichen Dank an Herrn Ernst Schweizer für die Einführung in die Laborarbeit und Analytik sowie für seine hervorragende Unterstützung bei allen technischen Fragen

Dank auch den Herren Dr. Ulrich Birkenhauer und Dr. Jochen Steiner für die Aquirierung des Probenmaterials sowie ihrer ständigen Diskussionsbereitschaft auch bei begrenztem Zeitrahmen. Allen klinischen Fragen meinerseits standen sie jederzeit mit ihrer Erfahrung zur Verfügung.

Herrn Prof. Dietz danke ich für die freundliche Unterstützung bei der statistischen Auswertung dieser Arbeit.

Schließlich gilt mein Dank auch meiner Familie und all den Ungenannten, die mir auf vielfältige Art und Weise bei der Fertigstellung dieser Arbeit zur Seite standen.

7.3 Lebenslauf

Steffen Thomas Kunz

- 26.04.1978 geboren in Sigmaringen
- 1985-1989 Geschwister-Scholl Grundschule Sigmaringen
- 1989-1998 Gymnasium Liebfrauenschule Sigmaringen
- 1998 Allgemeine Hochschulreife
- 1998-1999 Zivildienst Universitätsklinik für Neurochirurgie Freiburg im Brsg.
- 1999-2000 Vorsemester Medizin am Rheinischen Bildungszentrum Köln
- 2000-2006 Medizinstudium, Eberhard-Karls-Universität Tübingen
- 2002 Ärztliche Vorprüfung
- 2002-2006 Promotion am Institut für Hygiene und Umwelthygiene
Betreuer: Prof. Dr. Fritz Schweinsberg
Thema: Quantitative Bestimmung von Selen im Liquor und Serum
unter Selensubstitution bei Patienten nach
Subarachnoidalblutung
- 2003 1. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
- 2003-2004 Auslandsfamulaturen:
- Royal Brisbane Hospital, Australien
- Mount Sinai Hospital Chicago, USA
- 2005 2. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung
- 2005-2006 Praktisches Jahr:
1. Anästhesie, Marienhospital Stuttgart
2. Chirurgie, Marienhospital Stuttgart
3. a) Innere Medizin, Marienhospital Stuttgart
b) Innere Medizin, Bristol Royal Infirmary, GB
- 28.11.2006 3. Abschnitt der Ärztlichen Prüfung.