

Aus dem Institut für experimentelle Endokrinologie
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

Spurenelemente und Selenoproteine bei Neugeborenen mit konnataler
Infektion

zur Erlangung des akademischen Grades
Doctor medicinae (Dr. med.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Lennart Wiehe

aus Lippstadt

Datum der Promotion: 22.09.2017

Inhaltsverzeichnis

1. Abstrakt Deutsch.....	3
2. Abstract Englisch	5
3. Eidesstattliche Versicherung.....	7
4. Ausführliche Anteilserklärung.....	8
5. Auszug aus der Journal Summary List (ICI Web of Knowledge).....	9
6. Ausgewählte Publikation	10
7. Lebenslauf.....	20
8. Publikationsliste.....	21
9. Danksagungen.....	22

Abstrakt

Einleitung

Selen (Se) ist ein essentielles Spurenelement und ein notwendiger Bestandteil für die Biosynthese von Selenoproteinen, deren Funktionen sich über Redox-Homöostase, Schilddrüsenhormonmetabolismus, Spermatogenese und viele weitere physiologische Funktionen erstrecken. Der größte Teil des im Blut zirkulierenden Se ist in Form von Selenocystein an Selenoprotein P (SePP) gebunden, ein Transport-Glykoprotein und wichtiger Biomarker für den Se-Status. Der Se-Status erwachsener Menschen wird negativ von infektiösen Erkrankungen beeinflusst, und ein niedriger Se-Spiegel ist mit erhöhter Mortalität assoziiert. Es ist nicht bekannt, ob Ähnliches auch für Neugeborene gilt, die aufgrund des unreifen Immunsystems ein erhöhtes Risiko für Infektionen haben. Wir haben die Hypothese aufgestellt, dass eine Infektion in den frühen Lebensstagen einen negativen Einfluss auf den unreifen Se-Haushalt hat.

Methodik

Wir führten eine observative Fall-Kontroll Studie durch (02/2013-04/2014). Eingeschlossen wurden Neugeborene zweier Säuglings-Intensivstationen der Charité-Universitätsmedizin-Berlin. Vierundvierzig Kinder erfüllten die Einschlusskriterien und wurden in eine Kontroll- (n=23) und eine Infektionsgruppe (n=21) eingeteilt. Die Konzentrationen von Se bzw. SePP wurden mit Totalreflexions-Röntgenfluoreszenz-Spektroskopie bzw. ELISA gemessen. Die Messungen erfolgten für beide Gruppen anhand von Restblutproben, die am Tag der Geburt (d1), und für die Infektionsgruppe zusätzlich 48 Stunden später (d3), für Routineuntersuchungen abgenommen wurden.

Ergebnisse

Die Analysen dieser Proben zeigen, dass eine signifikante Korrelation zwischen den Konzentrationen von Se und SePP ($b=0,025$, $r_p=0,78^{***}$) gegeben ist. Mit einer Blutkonzentration von unter $20\mu\text{g/l}$ konnten wir bei fünf Neugeborenen ein signifikantes Selendefizit feststellen (Infektionsgruppe:4, Kontrollgruppe:1). Auch zeigten drei Kinder der Infektionsgruppe einen starken SePP Mangel ($<0,5\text{mg/l}$). Die univariate Analyse zeigt eine signifikant erniedrigte SePP- und Se-Konzentration der Infektionsgruppe im Vergleich zur Kontrollgruppe (Se: $p=0,027$, $b=-8,584$, $95\%CI -16,143, -1,026$; SePP_{sqr}: $p=0,045$, $b=-0,125$, $95\%CI -0,247, -0,003$). Auch zeigte sich, dass die SePP-Spiegel der Infektionsgruppe, unter der antibiotischen Therapie, von d1 ($1,03\text{mg/l}$, $SD=0,10\text{mg/l}$) auf d3 ($1,34\text{mg/l}$, $SD=0,10\text{mg/l}$) signifikant ($p<0,001$) anstiegen, die Se-

Spiegel jedoch unverändert blieben. Die dazu korrespondierende Untersuchung der Antibiotikaspiegel zeigte eine negative Korrelation zwischen der Se- und der Gentamicin-Konzentration im Blut der Infektionsgruppe ($r_p=0,500^*$).

Schlussfolgerung

Die Kombination aus Se und SePP zeigt sich als guter Indikator für den Se-Status von Neugeborenen. Sowohl eine Infektion als auch die Therapie mit Aminoglykosiden haben einen negativen Einfluss auf den Se-Status. Wie auch schon in Vitro gezeigt wurde, deuten unsere Ergebnisse darauf hin, dass Aminoglykoside den Einbau von Se in SePP stören. Hieraus ergibt sich, dass unter Aminoglykosid-Antibiose die Bestimmung des Selenstatus schwierig ist, da selenarme SePP-Formen gebildet werden. Es bleibt zu bestimmen, ob eine adjuvante Selensupplementation diese Problematik aufheben kann und zu einer verbesserten Prognose führt.

Abstract

Introduction

Selenium (Se) is an essential trace element, important for the biosynthesis of selenoproteins, which are important for various function of the body including redox homeostasis, thyroid hormone metabolism, spermatogenesis and other essential physiological pathways. The major fraction of circulating Se is bound to the selenocystein-containing selenoprotein P (SePP), which acts as an important transport protein and biomarker of the Se-status. Infectious diseases impair the Se-status of adults and are associated with an increased risk for mortality. Whether the same applies to neonates, who are at an increased risk for infections due to an immature immune system, is unknown. We hypothesised that an infection during the early days of life negatively affects the Se-status of neonates.

Methods

We conducted an observational case-control study (02/2013-04/2014). We included neonates from two intensive care units of the Charité-Universitätsmedizin-Berlin. Forty-four neonates met the inclusion criteria and were assigned to the control- (n=23) and the infection-group (n=21), respectively. The concentrations of Se and SePP were measured by total-reflection-X-ray-fluorescence-analysis and ELISA, respectively. The measurements were conducted from residual blood samples from the routine analysis, collected at day of birth (d1), and a second sample was collected from the infection group 48 hours later (d3).

Results

We identified a significant correlation between Se and SePP concentrations ($b=0,025$, $r_p=0,78^{***}$). Five neonates showed a significant Se deficiency with a Se blood concentration below 20 $\mu\text{g/l}$ (infection group:4, control group:1), and three children from the infection-group had a SePP deficiency ($<0.5\text{mg/l}$). The univariate analysis indicated a significantly decreased concentration of SePP and Se in the infection-group as compared to the control group. Additionally, we observed a significant increase of SePP under antibiotic therapy from d1 (1.03mg/l, $\text{SD}=0.10\text{mg/l}$) to d3 (1.34mg/l, $\text{SD}=0.10\text{mg/l}$), however the Se concentration remained unchanged. This finding indicates the biosynthesis of Se-poor SePP variants. We also found a significant negative correlation between the concentration of Se and Gentamicin in the blood of the infected neonates ($r_p=0.500^*$), supporting this hypothesis.

Conclusion

The combination of both, Se and SePP concentrations, provides a good assessment of the Se-status of neonates. Both, an ongoing infection and the therapy with aminoglycosides negatively affect the Se-status. As it could be shown in vitro, our results indicate that aminoglycosides impair the incorporation of Se into SePP, giving rise to Se-poor SePP variants. It remains to be determined whether an adjuvant Se supplementation is suitable to overcome this disturbance of Se-status and SePP-dependent Se transport during infection.

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Lennart Wiehe, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Spurenelemente und Selenoproteine bei Neugeborenen mit konnataler Infektion“ selbständig und ohne nicht offengelegte Hilfe Dritter verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel genutzt habe.

Alle Stellen, die wörtlich oder dem Sinne nach auf Publikationen oder Vorträgen anderer Autoren beruhen, sind als solche in korrekter Zitierung (siehe „Uniform Requirements for Manuscripts (URM)“ des ICMJE -www.icmje.org) kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) entsprechen den URM (s.o.) und werden von mir verantwortet.

Mein Anteil an der ausgewählten Publikation entspricht dem, der in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer, angegeben ist.

Die Bedeutung dieser eidesstattlichen Versicherung und die strafrechtlichen Folgen einer unwahren eidesstattlichen Versicherung (§156,161 des Strafgesetzbuches) sind mir bekannt und bewusst.“

Datum 29.08.2016

Unterschrift

Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Publikation: Lennart Wiehe, Malte Cremer, Monika Wisniewska, Niels-Peter-Becker, Eddy Rijntjes, Janine Martitz, Sandra Hybsier, Kostja Renko, Christoph Bühner, Lutz Schomburg, Selenium status in neonates with connatal infection, British Journal of Nutrition, 2016

Beitrag im Einzelnen (bitte **ausführlich** ausführen):

Lennart Wiehe:

- Forschungsschwerpunkt: Selen und Selenoproteine
- Studiendesign
 - Erstellung der Studienbögen
 - Ausarbeitung der Ein- und Ausschlusskriterien
- Studienausführung
 - Patientenrekrutierung
 - Aufklärung der Eltern
 - Einholung der Einverständniserklärungen
 - Erfassung der klinischen Parameter
 - Beschaffung, Verarbeitung und Lagerung der Proben
 - Durchsichten der Patientenakten
 - Erstellung der Datenbank
- Laborchemische Analysen und Auswertungen
- Statistische Auswertung
- Literaturrecherche
- Erstellung von Tabellen und Graphen
 - Tab. 2
 - Fig. 1
 - Fig. 2
 - Fig. 3
 - Fig. 4
 - Fig. 5
- Selbstständige Verfassung der Publikationsschrift
 - Abstract
 - Introduction
 - Methods
 - Exklusive „Westernblot analysis“
 - Results
 - Discussion
 - Acknowledgements
 - References
- Begleitung des gesamten Review-Prozesses und Einarbeitung der Vorgeschlagenen Kritikpunkte und Korrekture

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift des Doktoranden

Auszug aus der Journal Summary List (ISI Web of Knowledge)

JCR-Web 4.5 Journal Summary List

http://admin-apps.webofknowledge.com/JCR/JCR?RQ=LJS...

ISI Web of KnowledgeSM
Journal Citation Reports[®]

2015 JCR Science Edition

Journal Summary List
 Journals from: **subject categories NUTRITION & DIETETICS** [VIEW CATEGORY SUMMARY LIST](#)
[Journal Title Changes](#)

Sorted by:


Journals 21 - 40 (of 78) Page 2 of 4

Ranking is based on your journal and sort selections.

Mark	Rank	Abbreviated Journal Title <small>(linked to journal information)</small>	ISSN	JCR Data						Eigenfactor [®] Metrics	
				Total Cites	Impact Factor	5-Year Impact Factor	Immediacy Index	Articles	Cited Half-life	Eigenfactor [®] Score	Article Influence [®] Score
<input type="checkbox"/>	21	MATERN CHILD NUTR	1740-8695	1333	3.505	3.632	0.209	110	4.2	0.00427	1.093
<input type="checkbox"/>	22	NUTR.METAB.CARDIOVAS	0939-4753	4214	3.390	3.451	0.710	145	4.7	0.01125	1.009
<input checked="" type="checkbox"/>	23	BRIT J NUTR	0007-1145	21599	3.311	3.710	0.528	430	7.1	0.03735	1.025
<input type="checkbox"/>	24	BENEF.MICROBES	1876-2883	572	3.301	2.611	0.705	95	2.5	0.00191	0.653
<input type="checkbox"/>	25	NUTR.METAB	1743-7075	2239	3.280	3.650	0.290	62	4.9	0.00628	1.013
<input type="checkbox"/>	26	NUTR.J	1475-2891	3048	3.265	3.530	0.409	127	4.2	0.00909	0.989
<input type="checkbox"/>	27	EUR.J.NUTR	1436-6207	3581	3.239	3.306	1.174	138	4.2	0.00787	0.877
<input type="checkbox"/>	28	FOOD.NUTR.RES	1654-6628	578	3.226	2.979	0.342	73	3.5	0.00211	0.969
<input type="checkbox"/>	29	J.NUTR.HEALTH.AGING	1279-7707	3531	3.199	3.000	0.493	142	5.1	0.00778	0.770
<input type="checkbox"/>	30	APPETITE	0195-6663	11201	3.125	3.658	0.628	390	6.4	0.01958	0.942
<input type="checkbox"/>	31	EUR.J.CLIN.NUTR	0954-3007	11530	2.935	3.164	0.592	218	9.3	0.01641	0.974
<input type="checkbox"/>	32	NUTRITION	0899-9007	8111	2.839	3.026	0.916	215	8.3	0.01098	0.753
<input type="checkbox"/>	33	NUTR.DIABETES	2044-4052	460	2.773	3.034	0.357	42	2.7	0.00227	1.027
<input type="checkbox"/>	34	NUTR.NEUROSCI	1028-415X	972	2.616	2.483	0.864	44	6.1	0.00160	0.592
<input type="checkbox"/>	35	J.HUM.NUTR.DIET	0952-3871	2131	2.583	2.740	0.488	82	5.6	0.00481	0.770
<input type="checkbox"/>	36	NUTR.RES	0271-5317	4217	2.523	2.983	0.432	125	6.8	0.00660	0.726
<input type="checkbox"/>	37	ANN.NUTR.METAB	0250-6807	2357	2.461	2.441	0.380	92	6.4	0.00417	0.640
<input type="checkbox"/>	38	PUBLIC.HEALTH.NUTR	1368-9800	9487	2.433	2.904	0.723	364	6.5	0.01871	0.902
<input type="checkbox"/>	39	J.PEDIATR.GASTR.NUTR	0277-2116	9309	2.400	2.724	0.741	266	7.0	0.01687	0.795
<input type="checkbox"/>	39	OBESITY.FACTS	1662-4025	936	2.400	2.218	0.278	36	4.3	0.00312	0.692

Journals 21 - 40 (of 78) Page 2 of 4

[Acceptable Use Policy](#)
Copyright © 2016 Thomson Reuters.

 **THOMSON REUTERS**
Published by Thomson Reuters

1 von 1

28.08.16, 16:26

Das *British Journal of Nutrition* ist mit Rang 23 von 78 (29,48%) unter den oberen 30% nach IF sortierten Journals und mit einem Eigenfaktor von 0,03735 liegt es über den geforderten 0,01.

Ausgewählte Publikation

<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114516002208>

<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114516002208>

<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114516002208>

<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114516002208>

<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114516002208>

<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114516002208>

<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114516002208>

<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114516002208>

<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114516002208>

<http://dx.doi.org/10.1017/S0007114516002208>

Lebenslauf

Mein Lebenslauf wird aus datenschutzrechtlichen Gründen in der elektronischen Version meiner Arbeit nicht veröffentlicht.

Publikationsliste

1. Lennart Wiehe, Malte Cremer, Monika Wisniewska, Niels-Peter-Becker, Eddy Rijntjes, Janine Martitz, Sandra Hybsier, Kostja Renko, Christoph Bühner, Lutz Schomburg, *Selenium status in neonates with connatal infection*, British Journal of Nutrition, 2016; 116: 504 - 513

Impact Factor: 3,311

Danksagungen

Besonderer Dank gilt meinem Doktorvater und Mentor Prof. Dr. Lutz Schomburg, der mir nicht nur gezeigt hat, dass Wissenschaft viel Freude bereiten kann, sondern auch, dass der Mensch im Mittelpunkt der Forschung stehen soll, nicht die Publikation. Neben seiner herausragenden Unterstützung verdanke ich Ihm auch viele anregende Diskussionen. Unvergessen bleiben die Abende in der Druckkammer auf 3000 Meter Höhe.

Auch bedanke ich mich bei Dr. rer. nat. Niels-Peter-Becker, der mir mit viel Geduld alles beibrachte, was ich für die Arbeit im Labor wissen musste.

Genauso danke ich Monika Wisniewska. Ihr akribisches Vorgehen hat mir immer wieder neue Blickpunkte ermöglicht.

Für die große Unterstützung danke ich auch den Mitarbeitern des Instituts für experimentelle Endokrinologie, namentlich: Dr. Eddy Rijntjes, Sandra Hybsier, Janine Martitz, Andrea Schütte, Kostja Renko und Dr. Peter Hofmann.

Auch bei Prof. Dr. Christoph Bühler bedanke ich mich. Er gab uns die Möglichkeit an so interessanten und besonderen Patienten, den Neugeborenen, zu forschen.

Zu guter Letzt danke ich meiner Lebensgefährtin Nele, die abseits der Arbeit mein Leben mit Freude erfüllt und auch in dunkelster Stunde mein Sonnenschein ist. So danke ich auch meiner Familie, in besonderer Weise meiner Mutter Barbara, die mir mein Selbstvertrauen und Durchhaltevermögen mit auf den Weg gegeben hat.