

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

DISSERTATION

SELENBP1 als Biomarker für myokardialen Stress

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

vorgelegt der Medizinischen Fakultät
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von

Ellen Catherine Dorothy Kühn-Heid, geb. Heid

aus Berlin

Datum der Promotion: 03.12.2021

Inhaltsverzeichnis

Abkürzungen.....	3
Abstrakt.....	4
Abstract.....	5
1. Einleitung.....	6
2. Zielstellung.....	7
3. Material und Methoden.....	8
3.1. Patientinnen und Patienten.....	8
3.2. Probensammlung und Analyse.....	8
3.3. Statistische Analyse.....	8
4. Ergebnisse.....	10
4.1. Normalverteilung von SELENBP1.....	10
4.2. Intra- und postoperativer Verlauf der SELENBP1-Konzentration.....	11
4.3. SELENBP1 korreliert mit der Ischämiedauer.....	12
4.4. SELENBP1 als Marker für Myokardschaden.....	13
4.5. SELENBP1 als Prädiktor für ein schlechtes Outcome.....	14
5. Diskussion.....	16
Referenzen.....	19
Eidesstattliche Versicherung.....	21
Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation.....	22
Auszug aus der Journal Summary List.....	23
Ausgewählte Publikation.....	24
Lebenslauf.....	37
Publikationsliste.....	38
Danksagungen.....	39

Abkürzungen

ACS	acute coronary syndrome (Akutes Koronarsyndrom)
AE	adverse events (unerwünschte Ereignisse)
AUC	area under the curve (Fläche unter der Kurve)
CI	confidence interval (Konfidenzintervall)
CK-Mb	Creatinkinase myocardial band (MB-Isoform der Creatinkinase)
CPB	cardiopulmonary bypass (Herz-Lungen-Maschine)
CPU	chest pain unit (Abteilung für kardiale Brustschmerzen)
CV	coefficient of variation (Variationskoeffizient)
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
GPX	Glutathionperoxidase
HLM	Herz-Lungen-Maschine
ICU / ITS	Intensive Care Unit / Intensivstation
MACE	major adverse cardiac event (schwerwiegendes kardiales Ereignis)
MI	Myokardinfarkt
MTO	Methanethioloxidase
NPV	negative predicitive value (negativer Vorhersagewert)
OR	odds ratio
PPV	positive predictive value (positiver Vorhersagewert)
ROC	receiver operating characteristic (Operationscharakteristik eines Beobachters)
SD	Standardabweichung
Se	Selen
SELENBP1	selenium-binding protein 1 (Selen-bindendes Protein 1)
SELENOP	Selenoprotein P

Abstrakt

Übersetzung des Originals [1], Veröffentlichung unter Creative Commons (CC 4.0 BY).

Selen-bindendes Protein 1 (SELENBP1) ist ein intrazelluläres Protein, welches als Antwort auf einen Myokardinfarkt im Blutkreislauf nachgewiesen werden konnte.

Hypoxie und kardiochirurgische Eingriffe beeinflussen die Expression von Selenoproteinen und den Selenstatus. Aus diesem Grund entschieden wir uns dazu, die SELENBP1-Konzentration im Blutkreislauf von Patientinnen und Patienten (n=75) zu bestimmen, die im Rahmen eines kardiochirurgischen Eingriffs eine iatrogene Kardioplegie mit kardiopulmonalem Bypass (CPB) benötigten.

Es wurden zu sieben Zeitpunkten Serumproben gesammelt, die den gesamten Verlauf der Intervention umfassten. SELENBP1 wurde mit einem hochsensitiven, neu entwickelten immunologischen Assay quantitativ bestimmt.

Die Serumkonzentrationen von SELENBP1 stiegen während der Intervention deutlich an und zeigten eine positive Assoziation mit der Ischämiedauer ($\rho = 0,6$, $p < 0,0001$).

Erhöhte Serumkonzentrationen von SELENBP1 eine Stunde nach Ankunft auf der Intensivstation (postoperativ) waren prädiktiv, um Patientinnen und Patienten mit hohem Risiko für ein ungünstiges Outcome (Tod, Bradykardie oder zerebrale Ischämie, "Endpunkt 1"; OR 29,9, CI 3,3–268,8, $p = 0,00027$) zu identifizieren.

Zirkulierendes SELENBP1 während der Intervention (2 min nach Reperfusion oder 15 min nach Beendigung des CPB) korrelierte positiv mit einem etablierten Marker für Myokardinfarkt (CK-Mb), welcher nach der Intervention bestimmt wurde (jeweils mit $\rho = 0,5$, $p < 0,0001$).

Wir schlossen daraus, dass Serumkonzentrationen von SELENBP1 bereits frühzeitig während der Operation stark mit Herzstillstand und Dauer der myokardialen Ischämie assoziiert waren und SELENBP1 dadurch einen neuen und vielversprechenden quantitativen Marker für myokardiale Hypoxie darstellt mit hohem Potential, die Diagnostik und Prognose in Kombination mit etablierten klinischen Parametern zu verbessern.

Abstract

Abstract as published [1] under Creative Commons License (CC 4.0 BY).

Selenium-binding protein 1 (SELENBP1) is an intracellular protein that has been detected in the circulation in response to myocardial infarction. Hypoxia and cardiac surgery affect selenoprotein expression and selenium (Se) status. For this reason, we decided to analyze circulating SELENBP1 concentrations in patients (n = 75) necessitating cardioplegia and a cardiopulmonary bypass (CPB) during the course of the cardiac surgery. Serum samples were collected at seven time-points spanning the full surgical process. SELENBP1 was quantified by a highly sensitive newly developed immunological assay. Serum concentrations of SELENBP1 increased markedly during the intervention and showed a positive association with the duration of ischemia ($\rho = 0.6$, $p < 0.0001$). Elevated serum SELENBP1 concentrations at 1 h after arrival at the intensive care unit (post-surgery) were predictive to identify patients at risk of adverse outcome (death, bradycardia or cerebral ischemia, “endpoint 1”; OR 29.9, CI 3.3–268.8, $p = 0.00027$). Circulating SELENBP1 during intervention (2 min after reperfusion or 15 min after weaning from the CPB) correlated positively with an established marker of myocardial infarction (CK-Mb) measured after the intervention (each with $\rho = 0.5$, $p < 0.0001$). We concluded that serum concentrations of SELENBP1 were strongly associated with cardiac arrest and the duration of myocardial ischemia already early during surgery, thereby constituting a novel and promising quantitative marker for myocardial hypoxia, with a high potential to improve diagnostics and prediction in combination with the established clinical parameters.

1. Einleitung

Selen (Se) ist ein essentielles Spurenelement, dem eine wichtige Rolle im Redox-Haushalt zukommt [2]. Der Selenmetabolismus ist sehr komplex, hängt von vielen Faktoren ab, unter anderem Geschlecht, Alter und Selenzufuhr [3], und beeinflusst sowohl das Immunsystem [4] als auch das endokrine System [5].

Über verschiedene Interaktionen spielt Selen in der Entstehung einer Reihe von Erkrankungen, unter anderem Tumorerkrankungen und neurologischen Erkrankungen, eine wesentliche Rolle.

Es konnte gezeigt werden, dass die Selenkonzentration im Blut unter Hypoxie abnimmt [6]. Umgekehrt trägt ein chronischer Selenmangel z.B. zur Entwicklung der Keshan-Krankheit bei, einer progressiven Kardiomyopathie mit myokardialer Nekrose und Kalzifikationen [7].

Untersuchungen zu Selenmangel und kardiovaskulären Erkrankungen legen nahe, dass die fehlende Schutzfunktion von Selen als Kofaktor einer Reihe von Antioxidantien bei erhöhtem oxidativem Stress unter kardialer Ischämie zu ausgeprägteren Myokardschäden beiträgt [8]. So konnte unter anderem bei Patienten mit akutem Myokardinfarkt (MI) ein Zusammenhang zwischen Ausmaß des Myokardinfarkts, gemessen anhand der Troponin I-Konzentration im Serum, und dem Selen Spiegel gezeigt werden [9].

Auch konnte gezeigt werden, dass es im Rahmen von kardiochirurgischen Eingriffen unter Verwendung einer Herz-Lungen-Maschine (HLM) zu einer Abnahme der Selenkonzentration im Serum kommt. Ein niedriger Selenstatus nach dem Eingriff ging mit einem erhöhten Risiko für ein Multiorganversagen einher [10].

Neben anorganischem Selen gibt es zwei Gruppen von Proteinen, die im Selenhaushalt vorkommen. Zum einen die Selenoproteine, welche Selenocystein enthalten [11]. Wichtige Vertreter sind die Glutathionperoxidase 3 (GPX3), die einzige GPX, die extrazellulär vorkommt, und das Selentransportprotein Selenoprotein P (SELENOP) [11]. Zum anderen die Selen-bindenden Proteine, eine Gruppe, die bisher weniger gut charakterisiert ist [12].

Zu dieser Gruppe gehört auch das Selen-bindende Protein 1 (Selenium-binding Protein 1, SELENBP1), ein 56 kD großes Protein, welches als einziger bekannter humaner Vertreter der Selen-bindenden Proteine in den meisten Organen des menschlichen Körpers vorkommt [13].

2. Zielstellung

In einer vorangegangenen Studie konnten wir bereits erhöhte SELENBP1-Konzentrationen bei Patientinnen und Patienten mit akutem Koronarsyndrom (ACS) nachweisen [14]. Um SELENBP1 als Biomarker für myokardialen Stress besser charakterisieren zu können, untersuchten wir Patientinnen und Patienten, die im Rahmen eines kardiochirurgischen Eingriffs einen künstlichen Herzstillstand (iatrogene Kardioplegie) unter Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine (HLM) benötigten.

3. Material und Methoden

3.1. Patientinnen und Patienten

Vor Beginn der Studie wurde eine Genehmigung des Ethikkomitees der Rheinisch-Westfälischen Technischen Hochschule Aachen (RWTH Aachen) eingeholt. Das Studienprotokoll wurde bei ClinicalTrials.gov registriert.

Die Grundsätze und Empfehlungen der Deutschen Forschungsgemeinschaft zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis wurden eingehalten.

Prof. Stoppe und Kollegen rekrutierten an der RWTH Aachen nach Aufklärung und schriftlicher Einwilligung Patientinnen und Patienten, die sich einem elektiven kardiochirurgischen Eingriff mit iatrogener Kardioplegie und Einsatz einer HLM unterziehen ließen.

3.2. Probensammlung und Analyse

Serumproben wurden zu folgenden Zeitpunkten aus einem zentralvenösen Katheter entnommen: nach der Einleitung der Anästhesie (präoperativ), 45 min nach der Inbetriebnahme der Herz-Lungen-Maschine (myokardiale Ischämie), 2 min nach Öffnung der Klemme (myokardiale Reperfusion), 15 min nach Beendigung der HLM, sowie eine, sechs und 24 Stunden nach Ankunft auf der Intensivstation (ITS).

Die Serumproben wurden bis zur Analyse bei -80 °C aufbewahrt. Routineparameter wurden an der RWTH Aachen bestimmt, SELENBP1 wurde durch uns in einem zuvor etablierten neuartigen nicht-kompetitiven light-emitting immunosorbent Assay (LIA) mit vorbeschriebenem Protokoll [14] gemessen.

3.3. Statistische Analyse

Für die statistische Analyse wurde die frei verfügbare Statistiksoftware R (R 3.5.1, The R Foundation for Statistical Computing) verwendet.

Das Vorliegen einer Normalverteilung der Daten wurde anhand der Stichprobengröße bzw. visuell mit Hilfe eines QQ-Plots beurteilt.

Für diskrete Merkmale wurde bei Vorliegen einer Normalverteilung der Welch T-Test angewendet. Für nicht normalverteilte Daten wurde der Wilcoxon's Rank Sum-Test verwendet. Zum Vergleichen von Gruppen kategorialer Daten kam der Fisher's Exact Test zum Einsatz. Bei ausreichend großen Datenpunkten pro Feld wurde der Chi-Squared Test angewandt. Zur Prüfung der Korrelationen wurde der Spearman's Rangkorrelationskoeffizient berechnet. Bei der Betrachtung von Veränderungen zwischen den Zeitpunkten wurde Friedman's Test eingesetzt, da diese Daten nicht normalverteilt waren. In einer post-hoc Analyse verglichen wir mit Hilfe des Wilcoxon's Signed-Rank Tests alle Zeitpunkte zu den Ausgangswerten.

Konfidenzintervalle (CI) wurden für ein Intervall von 0,95 angegeben. Ergebnisse mit einem p-Wert von niedriger als 0,05 wurden als statistisch signifikant bezeichnet und wie folgt gekennzeichnet: *: $p < 0,05$, **: $p < 0,01$, ***: $p < 0,001$, und ****: $p < 0,0001$.

Mit Hilfe von Kreuztabellen und receiver operator characteristics curves (ROC-Kurven) wurden Grenzwerte für die SELENBP1-Konzentration ermittelt, über welchen das Risiko für ein schlechtes Outcome anstieg.

Für Grenzwerte, die potentiell diagnostische oder prognostische Relevanz hatten, wurden die Flächen unter den Kurven (area under the curve, AUC) und p-Werte berechnet und angegeben.

4. Ergebnisse

Die im Folgenden dargestellten Ergebnisse dieser Studie wurden bereits in der Publikation beschrieben [1].

4.1. Normalverteilung von SELENBP1

In dieser Studie wurden ausschließlich Patientinnen und Patienten betrachtet, die einen elektiven kardiochirurgischen Eingriff vor sich hatten, und nicht wie in unserer vorangegangenen Studie ein akutes kardiales Ereignis oder eine Notfallintervention erlebten [14]. Daher war es möglich, vor der Intervention Serumproben zu sammeln, die als Ausgangswerte angesehen werden können.

Wie vermutet war die SELENBP1-Konzentration normalverteilt (99. Perzentile bei 0,4 nM und der Mittelwert + 2,5 Standardabweichungen bei 0,3 nM) und unterschied sich nicht signifikant von den Werten einer gesunden Kontrollgruppe, die wir zuvor vermessen hatten (Abbildung 1, auch Figure 1 in [1]).

Ein Zusammenhang zwischen SELENBP1-Konzentration und präoperativ ermitteltem EURO-Score, zur Abschätzung der periinterventionellen Mortalität, konnte nicht festgestellt werden.

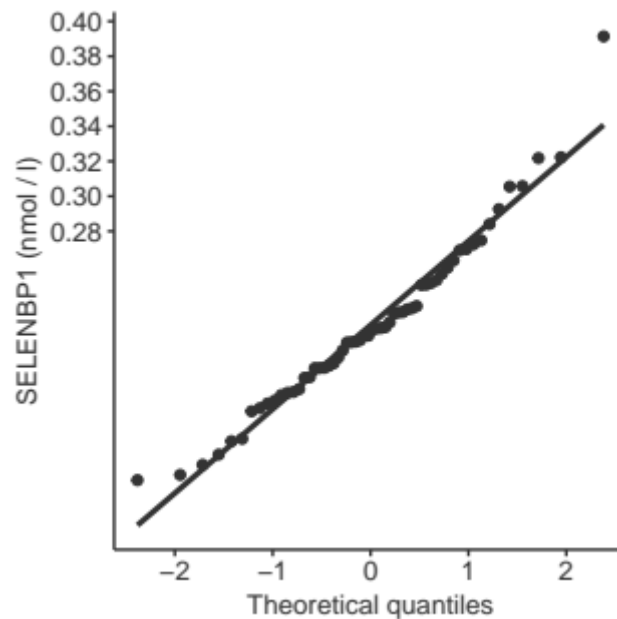


Abbildung 1: QQ-Plot von SELENBP1 unter Darstellung der präoperativen Serumkonzentrationen gegen die theoretischen Quantilen (Theoretical quantiles). Die Gerade zeigt eine Normalverteilung der SELENBP1-Konzentrationen an ($R^2=0,96$, $p < 0,0001$). Figure 1 in [1].

4.2. Intra- und postoperativer Verlauf der SELENBP1-Konzentration

Um die Kinetik von SELENBP1 im Verlauf der Intervention zu beurteilen, wurden die verschiedenen Zeitpunkte miteinander verglichen.

Die Serumkonzentration von SELENBP1 stieg bei 72 Patientinnen und Patienten (96%) während der Intervention im Vergleich zum Ausgangswert signifikant ($\geq 20\%$) an. Insgesamt konnte bei 74 Patientinnen und Patienten (99%) ein vorübergehender Anstieg der SELENBP1-Konzentration im Serum nach der Reperfusion beobachtet werden. 68 Patientinnen und Patienten (91%) erreichten Werte, die oberhalb des Grenzwertes von 0,46 nM lagen, welchen wir zuvor bei Patientinnen und Patienten mit Verdacht auf Myokardinfarkt für eine erhöhte Chance für ein unerwünschtes kardiales Ereignis (major adverse cardiac event, MACE) ermittelt hatten [14].

Die SELENBP1-Konzentration stieg früh an, bei 61 Patientinnen und Patienten (81%) bis zum Zeitpunkt 2 min nach der Reperfusion und bei 71 Patientinnen und Patienten (95%) bis 15 min nach Beendigung der HLM.

Bei 70 Patientinnen und Patienten (93%) kam es innerhalb der ersten 24 Stunden zu einem Abfall.

Dieser vorübergehende Anstieg lässt sich gut mit unserer Hypothese vereinbaren, dass wir hier eine kurzfristige Antwort auf die myokardiale Ischämie sehen, die nach Beendigung der Ischämie wieder rückläufig ist (Abbildung 2, auch Figure 2 in [1]).

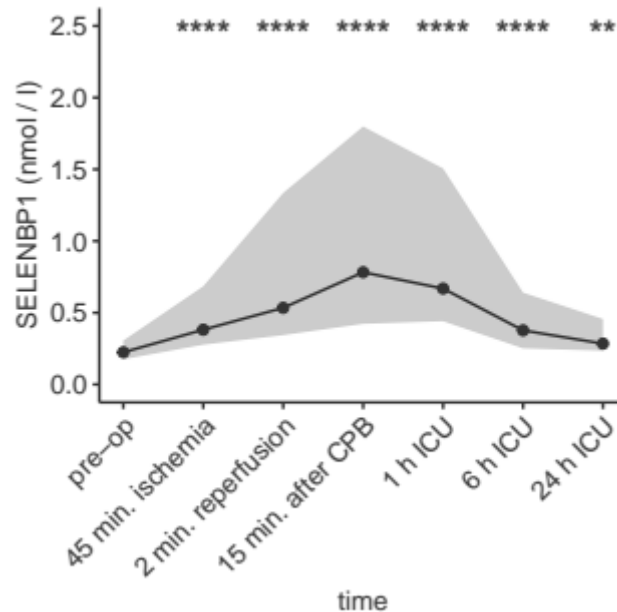


Abbildung 2: Kinetik von SELENBP1 vor, während und nach der kardiochirurgischen Intervention. Der Median sowie die Spanne von der 10. bis zur 90. Perzentile sind dargestellt. Die Serumkonzentrationen von SELENBP1 der unterschiedlichen Zeitpunkte wurden mittels Wilcoxon's Signed-Rank Test zum Ausgangswert (pre-op) verglichen und zeigten signifikant höhere Werte (45 min. nach Beginn der Ischämie [45 min. ischemia]: $p < 0,0001$, 2 min nach Reperfusion [2 min. reperfusion]: $p < 0,0001$, 15 min nach Beendigung der HLM [15 min. after CPB]: $p < 0,0001$, 1 Stunde nach Ankunft auf der ITS [1 h ICU]: $p < 0,0001$, 6 Stunden nach Ankunft auf der ITS [6 h ICU]: $p < 0,0001$, 24 Stunden nach Ankunft auf der ITS [24 h ICU]: $p < 0,0072$). Figure 2 in [1].

4.3. SELENBP1 korreliert mit der Ischämiedauer

Die SELENBP1-Konzentration korrelierte stark mit der Dauer der myokardialen Ischämie.

Diese Korrelation ließ sich bereits 2 min nach der Reperfusion ($\rho=0,5$, $p < 0,0001$) und 15 min nach Beendigung des CPB ($\rho=0,6$, $p < 0,0001$) feststellen (Abbildung 3, auch Figure 4 in [1]).

In einer Subgruppenbetrachtung fiel auf, dass der Anstieg bei Patientinnen etwas später zu beobachten war als bei den Patienten. Es gab keinen signifikanten Unterschied zwischen den Höchstwerten beider Geschlechter.

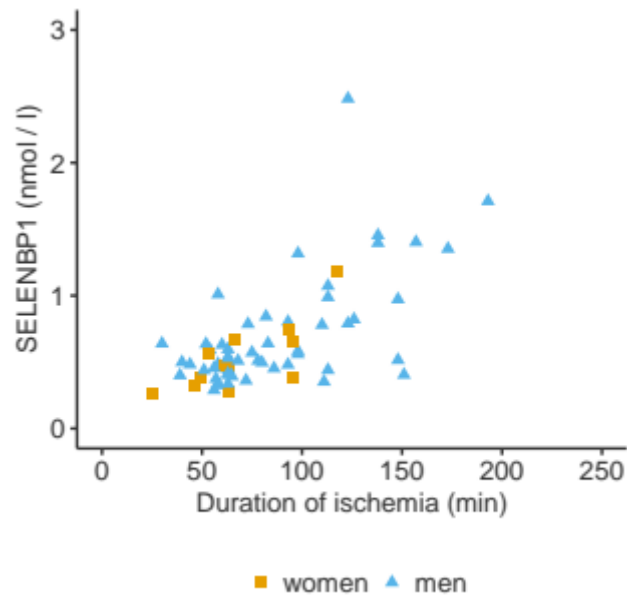


Abbildung 3: Korrelation der Serumkonzentration von SELENBP1 15 min nach Beendigung der HLM mit der Ischämiedauer (Duration of ischemia). Es zeigt sich eine positive Korrelation ($\rho = 0,6$, $p < 0,0001$). Figure 4 in [1].

4.4. SELENBP1 als Marker für Myokardschaden

In früheren Untersuchungen an Patientinnen und Patienten mit Verdacht auf Myokardinfarkt konnte kein Zusammenhang zwischen SELENBP1-Konzentration und anderen Routineparametern wie Troponin, herzspezifischer Kreatinkinase (CK-Mb) oder Transaminasen (ALAT, ASAT) festgestellt werden [14].

Die Blutentnahmen zu den unterschiedlichen Zeitpunkten, insbesondere während der Intervention, erlaubten uns in dieser Studie die Kinetik von SELENBP1 genauer zu betrachten und mit anderen etablierten Parametern zu vergleichen.

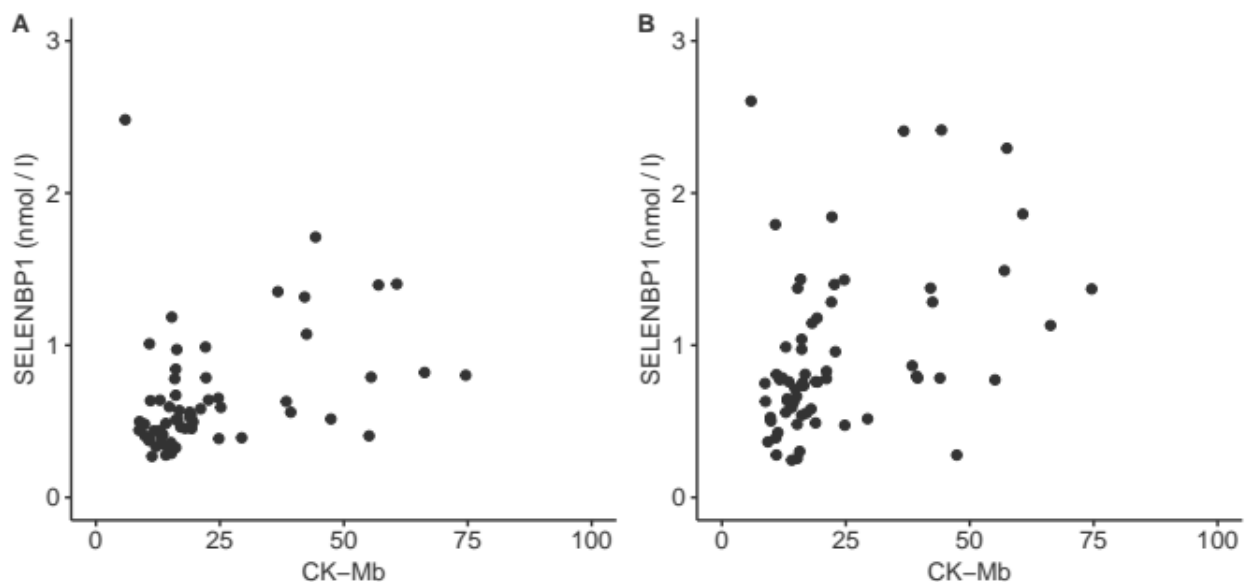


Abbildung 4: Korrelation der intraoperativen Serumkonzentration von SELENBP1 mit der postoperativ bestimmten herzspezifischen Kreatinkinase (CK-Mb). Es zeigt sich eine positive Korrelation mit der SELENBP1-Konzentration gemessen (A) 2 min nach der Reperfusion ($\rho = 0,5$, $p < 0,0001$) und (B) 15 min nach Beendigung der HLM ($\rho = 0,4$, $p = 0,0007$). Figure 5 in [1].

Die Serumkonzentration von SELENBP1 stieg bereits intraoperativ an (2 min nach Reperfusion und 15 min nach Beendigung der HLM) und korrelierte mit der postoperativ bestimmten Konzentration der CK-Mb (Abbildung 4, auch Figure 5 in [1]).

4.5. SELENBP1 als Prädiktor für ein schlechtes Outcome

Erhöhte SELENBP1-Werte korrelierten mit schlechtem Outcome und unerwünschten Ereignissen (adverse events, AE) wie Tod, Bradykardie, zerebraler Ischämie, Aufenthalt auf der ITS für mehr als 40 Tage, akuter Nierenschädigung und Pneumonie.

Bei Patientinnen und Patienten, die im Verlauf eine Bradykardie oder eine zerebrale Ischämie entwickelten bzw. verstarben (kombinierter Endpunkt 1), fanden sich im Vergleich zu den restlichen Patientinnen und Patienten signifikant höhere SELENBP1-Konzentrationen zu mehreren Zeitpunkten (45 min nach Beginn der Ischämie: $p = 0,033$, 2 min nach Reperfusion: $p = 0,0051$, 15 min nach Beendigung der HLM: $p = 0,0011$, und 1 h nach Ankunft auf der ITS: $p = 0,0017$).

Die ROC-Kurve für SELENBP1 eine Stunde nach Ankunft auf der ITS zeigt zur Vorhersage des kombinierten Endpunkts 1 eine gute Unterscheidungsfähigkeit (AUC: 0,84). Der vorgeschlagene Grenzwert von 0,96 nM hat dabei einen sehr guten NPV (0,98; siehe auch Tabelle 1).

Table 1: Assoziation von erhöhten Serumkonzentrationen von SELENBP1 mit schlechtem Outcome. Table 2 in [1].

Parameter	Grenzwert (nM)	OR	CI	p	PPV	NPV	AUC	n
15 min. nach HLM								
Kombinierter Endpunkt 1	0,988	22	3 - 194	0,00054	0,333	0,978	0,84	8
Kombinierter Endpunkt 2	0,820	18	2 - 152	0,0011	0,310	0,976	0,81	9
1 h ITS								
Tod	2,238	124	6 - 2777	0,0042	0,667	0,984	0,92	2
Akute Nierenschädigung	0,889	20	1 - 411	0,029	0,158	1,000	0,83	4
Kombinierter Endpunkt 1	0,956	30	3 - 269	0,00027	0,389	0,979	0,84	7
Kombinierter Endpunkt 2	0,889	33	4 - 296	< 0,0001	0,421	0,979	0,84	7
6 h ITS								
Tod	1,292	63	4 - 1018	0,0077	0,500	0,984	0,88	3
Maximale Werte								
Bradykardie	0,988	23	1 - 439	0,014	0,167	1,000	0,81	5
Zerebrale Ischämie	1,396	25	1 - 544	0,034	0,143	1,000	0,90	3
Kombinierter Endpunkt 1	0,988	25	3 - 215	0,00031	0,333	0,980	0,88	8
Kombinierter Endpunkt 2	0,968	24	3 - 199	0,00028	0,333	0,979	0,86	9
ITS-Aufenthalt > 40 Tage	0,870	4	1 - 10	0,013	0,484	0,795	0,70	14

Kombinierter Endpunkt 1: Bradykardie, zerebrale Ischämie, Tod; kombinierter Endpunkt 2: Bradykardie, zerebrale Ischämie, Tod, akute Nierenschädigung; OR: odds ratio; CI: confidence interval (Konfidenzintervall), PPV: positive predictive value (positiver Vorhersagewert), NPV: negative predictive value (negativer Vorhersagewert); ACU: area under the curve (Fläche unter der Kurve).

5. Diskussion

In dieser Studie konnten neue und wichtige Erkenntnisse bezüglich des Stellenwertes von SELENBP1 als Marker für Myokardschäden erreicht werden.

In die Studie wurden Patientinnen und Patienten eingeschlossen, bei denen ein elektiver kardiochirurgischer Eingriff mit iatrogenen Kardioplegie und dem Einsatz einer Herz-Lungen-Maschine, welche als klinisches Modell für Ischämie und Reperfusion angesehen werden kann, durchgeführt wurde.

Dies ermöglichte es uns, die SELENBP1-Konzentration vor, während und bis 24 Stunden nach der induzierten Myokardischämie zu gewählten und verlässlichen Zeitpunkten zu bestimmen.

Bei 74 von 75 Patientinnen und Patienten zeigte sich im Verlauf ein deutlicher Anstieg der SELENBP1-Konzentration im Serum. Die SELENBP1-Konzentration spiegelte schon während der Intervention den vorliegenden bzw. späteren Myokardschaden wider und korrelierte mit der CK-Mb-Konzentration postoperativ, einem bereits für Myokardinfarkt (MI) etablierten Biomarker. Wir schlossen, dass ein Anstieg der SELENBP1-Konzentration, zumindest in einem Teil der Fälle, einem Anstieg der CK-Mb-Konzentration vorausgeht.

In der vorangegangenen Studie konnte bei Patientinnen und Patienten mit Verdacht auf MI keine Korrelation zu Troponin, einem weiteren etablierten Marker für myokardiale Nekrose, nachgewiesen werden [14]. Möglicherweise ist der Grund dafür jedoch, dass heterogene Zeitpunkte, meist mit unklarem Zeitabstand zum Symptombeginn, betrachtet wurden.

Weiterhin hatten wir die Hypothese, dass die Freisetzung von SELENBP1 in den Blutkreislauf nicht durch den Untergang von Kardiomyozyten ausgelöst wird, sondern dass SELENBP1 von den Kardiomyozyten unter Stress sezerniert wird, bevor es zur Nekrose kommt.

Der schnelle Anstieg von SELENBP1 im Serum unter der Myokardischämie und die nahezu lineare Beziehung zwischen SELENBP1-Konzentration und Ischämiedauer untermauern diese Theorie und lassen vermuten, dass es sich bei SELENBP1 um einen verlässlichen neuen Biomarker für myokardialen Stress handelt.

Auch die Korrelation zwischen SELENBP1 während der Intervention und CK-Mb zu einem späteren Zeitpunkt unterstützt die These, da die Nekrose erst später als Folge der Hypoxie und Azidose während der Ischämie eintritt und so verzögert zum Anstieg von CK-Mb führt.

Die Tatsache, dass hohe SELENBP1-Konzentrationen, gemessen während und direkt nach der Intervention, mit einer erhöhten Mortalität und weiteren AE wie z.B. Bradykardie, zerebraler Ischämie und langer Aufenthaltsdauer auf der ITS assoziiert sind, unterstreicht den prognostischen Wert von SELENBP1.

Bereits in der vorangegangenen Studie konnten wir zeigen, dass hohe SELENBP1-Konzentrationen bei Patientinnen und Patienten mit Verdacht auf Myokardinfarkt mit einer erhöhten Mortalität und anderen MACE assoziiert waren [14].

Bei einem Kontrollkollektiv aus gesunden Probanden konnten geringere SELENBP1-Konzentrationen im Serum festgestellt werden, vermutlich aus dem Grund, dass SELENBP1 normalerweise intrazellulär lokalisiert ist [13, 15]. Die Ausgangswerte der eingeschlossenen Patientinnen und Patienten unterschieden sich nicht von den SELENBP1-Konzentrationen gesunder Menschen [14] und waren auch nicht mit der durch den EURO-Score [16] ermittelten perioperativen Mortalität assoziiert.

Auch im Verlauf ließ sich keine Verbindung zwischen anderen kardialen Risikofaktoren und erhöhten SELENBP1-Konzentrationen bzw. dem schnellen Anstieg ermitteln. Hohe SELENBP1-Konzentrationen scheinen daher primär ein akutes Geschehen anzuzeigen und nicht einen chronischen Prozess.

Die Frage, ob SELENBP1 auch bei chronischen Herzerkrankungen als prognostischer Biomarker infrage kommt, ist noch zu klären.

Ob die Menge von SELENBP1, die in den Blutkreislauf freigesetzt wird, vom Selenstatus bzw. von der Menge an GPX3, SELENOP und der Selenkonzentration im Serum abhängt, bleibt ebenso noch zu klären.

Extrazelluläres SELENBP1 findet sich auch im Urin und wurde als neuer sensitiver Biomarker für die frühen Stadien einer akuten Nierenschädigung beschrieben, der ansteigt, bevor ein irreversibler Schaden entstanden ist [17, 18].

Analog könnte SELENBP1 eine akute Schädigung der Kardiomyozyten zu einem frühen Zeitpunkt anzeigen, bevor es zur Nekrose kommen konnte, also zu einem Zeitpunkt, zu dem man durch therapeutische Maßnahmen den Zelluntergang noch vermeiden könnte, was eine zusätzliche Relevanz im Vergleich zu Troponin, welches erst nach irreversibler Schädigung auftritt, begründet.

Die Freisetzung von SELENBP1 ins Blut könnte zu einer Abnahme der intrazellulären Selenspeicher führen und so den Kardiomyozyten dieses für das antioxidative Abwehrsystem essentielle Spurenelement vorenthalten [19].

Zu dieser Theorie passen die Ergebnisse einer prospektiven, randomisierten doppelblinden Interventionsstudie an europäischen Senioren, die zeigten, dass eine Selensupplementation in Kombination mit Q10 die kardiovaskuläre Mortalität signifikant senken konnte [20].

Überraschenderweise konnten wir einen kleinen Unterschied zwischen den Geschlechtern, in Bezug auf die Geschwindigkeit des Anstiegs von SELENBP1, feststellen. Die Höchstwerte unterscheiden sich jedoch nicht signifikant zwischen Männern und Frauen.

Um zu untersuchen, ob es tatsächlich geschlechtsspezifische Unterschiede bei der SELENBP1-Sekretion gibt, werden weitere Studien mit einer größeren Fallzahl und einer repräsentativen Geschlechterverteilung benötigt. Dies ist besonders interessant, da sich das Geschlecht auch auf Krankheitsverlauf und Mortalität bei MI auswirkt, wobei die geschlechtsspezifischen Unterschiede mit zunehmendem Alter schwächer werden [21].

Zu den Schwächen der Studie gehört die relativ geringe Fallzahl, weshalb nur die wichtigsten Hypothesen untersucht werden konnten. Unterschiede zwischen Subgruppen und geschlechtsspezifische Unterschiede konnten nicht näher analysiert werden. Auch der molekulare Pathomechanismus, der zur SELENBP1-Freisetzung in den Blutstrom führt, wird in dieser Studie nicht aufgeklärt.

Die verlässliche, sensitive und reproduzierbare Messmethode der SELENBP1-Konzentration mittels des neu entwickelten luminometrischen Immunassays stellt eine wichtige Stärke unserer Studie dar.

Referenzen

1. Kühn-Heid ECD, Kühn EC, Ney J, Wendt S, Seelig J, Schwiebert C, Minich WB, Stoppe C and Schomburg L: Selenium-Binding Protein 1 Indicates Myocardial Stress and Risk for Adverse Outcome in Cardiac Surgery. *Nutrients*. 2019;11(9). DOI: 10.3390/nu11092005
2. Brigelius-Flohé R and Flohé L: Selenium and redox signaling. *Arch Biochem Biophys*. 2017;617:48-59. DOI: 10.1016/j.abb.2016.08.003
3. Schomburg L and Schweizer U: Hierarchical regulation of selenoprotein expression and sex-specific effects of selenium. *Biochim Biophys Acta*. 2009;1790(11):1453-1462. DOI: 10.1016/j.bbagen.2009.03.015
4. Huang Z, Rose AH and Hoffmann PR: The role of selenium in inflammation and immunity: from molecular mechanisms to therapeutic opportunities. *Antioxid Redox Signal*. 2012;16(7):705-743. DOI: 10.1089/ars.2011.4145
5. Köhrle J, Jakob F, Contempré B and Dumont JE: Selenium, the thyroid, and the endocrine system. *Endocr Rev*. 2005;26(7):944-984. DOI: 10.1210/er.2001-0034
6. Becker N-P, Martitz J, Renko K, Stoedter M, Hybsier S, Cramer T and Schomburg L: Hypoxia reduces and redirects selenoprotein biosynthesis. *Metallomics*. 2014;6(5):1079-1086. DOI: 10.1039/c4mt00004h
7. Chen J: An original discovery: selenium deficiency and Keshan disease (an endemic heart disease). *Asia Pac J Clin Nutr*. 2012;21(3):320-326.
8. Benstoem C, Goetzenich A, Kraemer S, Borosch S, Manzanares W, Hardy G and Stoppe C: Selenium and its supplementation in cardiovascular disease--what do we know?. *Nutrients*. 2015;7(5):3094-3118. DOI: 10.3390/nu7053094
9. Kutil B, Ostadal P, Vejvoda J, Kukacka J, Cepova J, Alan D, Krüger A and Vondrakova D: Alterations in serum selenium levels and their relation to troponin I in acute myocardial infarction. *Mol Cell Biochem*. 2010;345(1-2):23-27. DOI: 10.1007/s11010-010-0555-x
10. Stoppe C, Schälte G, Rossaint R, Coburn M, Graf B, Spillner J, Marx G and Rex S: The intraoperative decrease of selenium is associated with the postoperative development of multiorgan dysfunction in cardiac surgical patients. *Crit Care Med*. 2011;39(8):1879-1885. DOI: 10.1097/CCM.0b013e3182190d48
11. Labunskyy VM, Hatfield DL and Gladyshev VN: Selenoproteins: molecular pathways and physiological roles. *Physiol Rev*. 2014;94(3):739-777. DOI: 10.1152/physrev.00039.2013
12. Bansal MP, Oborn CJ, Danielson KG and Medina D: Evidence for two selenium-binding proteins distinct from glutathione peroxidase in mouse liver. *Carcinogenesis*. 1989;10(3):541-546.
13. Elhodaky M and Diamond AM: Selenium-Binding Protein 1 in Human Health and Disease. *Int J Mol Sci*. 2018;19(11). DOI: 10.3390/ijms19113437

14. Kühn EC, Slagman A, Kühn-Heid ECD, Seelig J, Schwiebert C, Minich WB, Stoppe C, Möckel M and Schomburg L: Circulating levels of selenium-binding protein 1 (SELENBP1) are associated with risk for major adverse cardiac events and death. *J Trace Elem Med Biol.* 2019;52:247-253. DOI: 10.1016/j.jtemb.2019.01.005
15. Fang W, Goldberg ML, Pohl NM, Bi X, Tong C, Xiong B, Koh TJ, Diamond AM and Yang W: Functional and physical interaction between the selenium-binding protein 1 (SBP1) and the glutathione peroxidase 1 selenoprotein. *Carcinogenesis.* 2010;31(8):1360-1366. DOI: 10.1093/carcin/bgq114
16. Nashef SA, Roques F, Michel P, Gauducheau E, Lemeshow S and Salamon R: European system for cardiac operative risk evaluation (EuroSCORE). *Eur J Cardiothorac Surg.* 1999;16(1):9-13.
17. Kim KS, Yang HY, Song H, Kang YR, Kwon J, An J, Son JY, Kwack SJ, Kim Y-M, Bae O-N, Ahn M-Y, Lee J, Yoon S, Lee BM and Kim HS: Identification of a sensitive urinary biomarker, selenium-binding protein 1, for early detection of acute kidney injury. *J Toxicol Environ Health A.* 2017;80(9):453-464. DOI: 10.1080/15287394.2017.1299655
18. Lee EK, Shin Y-J, Park EY, Kim ND, Moon A, Kwack SJ, Son JY, Kacew S, Lee BM, Bae O-N and Kim HS: Selenium-binding protein 1: a sensitive urinary biomarker to detect heavy metal-induced nephrotoxicity. *Arch Toxicol.* 2017;91(4):1635-1648. DOI: 10.1007/s00204-016-1832-6
19. Boucher FR, Jouan MG, Moro C, Rakotovo AN, Tanguy S and de Leiris J: Does selenium exert cardioprotective effects against oxidative stress in myocardial ischemia?. *Acta Physiol Hung.* 2008;95(2):187-194. DOI: 10.1556/APhysiol.95.2008.2.3
20. Alehagen U, Aaseth J and Johansson P: Reduced Cardiovascular Mortality 10 Years after Supplementation with Selenium and Coenzyme Q10 for Four Years: Follow-Up Results of a Prospective Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial in Elderly Citizens. *PLoS One.* 2015;10(12):e0141641. DOI: 10.1371/journal.pone.0141641
21. Canto JG, Rogers WJ, Goldberg RJ, Peterson ED, Wenger NK, Vaccarino V, Kiefe CI, Frederick PD, Sopko G, Zheng Z-J and Investigators NRMI: Association of age and sex with myocardial infarction symptom presentation and in-hospital mortality. *JAMA.* 2012;307(8):813-822. DOI: 10.1001/jama.2012.199

Eidesstattliche Versicherung

„Ich, Ellen Catherine Dorothy Kühn-Heid, geb. Heid, versichere an Eides statt durch meine eigenhändige Unterschrift, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: **SELENBP1 als Biomarker für myokardialen Stress** 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 kenntlich gemacht. Die Abschnitte zu Methodik (insbesondere praktische Arbeiten, Laborbestimmungen, statistische Aufarbeitung) und Resultaten (insbesondere Abbildungen, Graphiken und Tabellen) werden von mir verantwortet.

Meine Anteile an etwaigen Publikationen zu dieser Dissertation entsprechen denen, die in der untenstehenden gemeinsamen Erklärung mit dem Betreuer angegeben sind. Für sämtliche im Rahmen der Dissertation entstandenen Publikationen wurden die Richtlinien des ICMJE (International Committee of Medical Journal Editors; www.icmje.org) zur Autorenschaft eingehalten. Ich erkläre ferner, dass mir die Satzung der Charité – Universitätsmedizin Berlin zur Sicherung Guter Wissenschaftlicher Praxis bekannt ist und ich mich zur Einhaltung dieser Satzung verpflichte.

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

Datum

Unterschrift

Ausführliche Anteilserklärung an der erfolgten Publikation

Ellen Catherine Dorothy Kühn-Heid, geb. Heid, hatte folgenden Anteil an der folgenden Publikation:

Publikation 1: **Ellen C D Kühn-Heid**, Eike C Kühn, Julia Ney, Sebastian Wendt, Julian Seelig, Christian Schwiebert, Waldemar B Minich, Christian Stoppe, and Lutz Schomburg. Selenium-Binding Protein 1 Indicates Myocardial Stress and Risk for Adverse Outcome in Cardiac Surgery. *Nutrients*. 2019, 11(9). pii: E2005.

Beitrag im Einzelnen:

- Entwicklung der Arbeitshypothese
- Laborchemische Analysen und Auswertungen
 - Messung der SELENBP1-Konzentration in Zusammenarbeit mit Eike Kühn
- Statistische Auswertung
 - Exklusive: ROC
- Literaturrecherche
- Erstellung der Tabellen und Graphen
 - Exklusive: Fig. 3, 6, 7
- Selbstständige Verfassung der Publikationsschrift
 - Abstract
 - Introduction
 - Methods
 - Results
 - Discussion
 - Acknowledgements
 - References
- Begleitung des gesamten Review-Prozesses und Einarbeitung der Vorgesprochenen Kritikpunkte und Korrekturen

Unterschrift, Datum und Stempel des betreuenden Hochschullehrers

Unterschrift der Doktorandin

Auszug aus der Journal Summary List

Journal Data Filtered By: Selected JCR Year: 2018 Selected Editions: SCIE,SSCI
 Selected Categories: "NUTRITION and DIETETICS" Selected Category
 Scheme: WoS
 Gesamtanzahl: 86 Journale




Rank	Full Journal Title	Total Cites	Journal Impact Factor	Eigenfactor Score
1	PROGRESS IN LIPID RESEARCH	5,839	12.540	0.007160
2	Annual Review of Nutrition	5,565	8.422	0.004320
3	Advances in Nutrition	4,896	7.240	0.012150
4	CRITICAL REVIEWS IN FOOD SCIENCE AND NUTRITION	12,591	6.704	0.015020
5	AMERICAN JOURNAL OF CLINICAL NUTRITION	59,513	6.568	0.053470
6	CLINICAL NUTRITION	12,594	6.402	0.018240
7	International Journal of Behavioral Nutrition and Physical Activity	9,914	6.037	0.020780
8	NUTRITION REVIEWS	8,400	5.779	0.009290
9	NUTRITION RESEARCH REVIEWS	2,313	5.595	0.001920
10	FOOD CHEMISTRY	104,574	5.399	0.103870
11	PROCEEDINGS OF THE NUTRITION SOCIETY	5,722	5.017	0.005460
12	INTERNATIONAL JOURNAL OF OBESITY	22,929	4.514	0.030070
13	JOURNAL OF NUTRITIONAL BIOCHEMISTRY	10,544	4.490	0.012700
14	EUROPEAN JOURNAL OF NUTRITION	6,730	4.449	0.012210
15	JOURNAL OF NUTRITION	39,454	4.416	0.026850
16	Nutrients	19,332	4.171	0.047140

Nutrients ist mit Rang 16 von 86 (18,60%) unter den oberen 30% der nach Impact Factor sortierten Journals und liegt mit einem Eigenfactor Score von 0.047140 über den geforderten 0.01.

Ausgewählte Publikation

Article

Selenium-Binding Protein 1 Indicates Myocardial Stress and Risk for Adverse Outcome in Cardiac Surgery

Ellen C. D. Kühn-Heid ¹, Eike C. Kühn ¹, Julia Ney ², Sebastian Wendt ^{2,3}, Julian Seelig ¹, Christian Schwiebert ¹, Waldemar B. Minich ¹, Christian Stoppe ² and Lutz Schomburg ^{1,*}

¹ Institut für Experimentelle Endokrinologie, Charité – Universitätsmedizin Berlin, corporate member of Freie Universität Berlin, Humboldt-Universität zu Berlin, and Berlin Institute of Health, D-13353 Berlin, Germany

² Cardiovascular Critical Care & Anesthesia Research and Evaluation (3CARE), RWTH-Aachen University, D-52074 Aachen, Germany

³ Department of Anesthesiology, Uniklinik RWTH-Aachen, D-52074 Aachen, Germany

* Correspondence: lutz.schomburg@charite.de; Tel.: +49-30-450-524-289

Received: 31 July 2019; Accepted: 22 August 2019; Published: 25 August 2019



Abstract: Selenium-binding protein 1 (SELENBP1) is an intracellular protein that has been detected in the circulation in response to myocardial infarction. Hypoxia and cardiac surgery affect selenoprotein expression and selenium (Se) status. For this reason, we decided to analyze circulating SELENBP1 concentrations in patients ($n = 75$) necessitating cardioplegia and a cardiopulmonary bypass (CPB) during the course of the cardiac surgery. Serum samples were collected at seven time-points spanning the full surgical process. SELENBP1 was quantified by a highly sensitive newly developed immunological assay. Serum concentrations of SELENBP1 increased markedly during the intervention and showed a positive association with the duration of ischemia ($\rho = 0.6$, $p < 0.0001$). Elevated serum SELENBP1 concentrations at 1 h after arrival at the intensive care unit (post-surgery) were predictive to identify patients at risk of adverse outcome (death, bradycardia or cerebral ischemia, “endpoint 1”; OR 29.9, CI 3.3–268.8, $p = 0.00027$). Circulating SELENBP1 during intervention (2 min after reperfusion or 15 min after weaning from the CPB) correlated positively with an established marker of myocardial infarction (CK-MB) measured after the intervention (each with $\rho = 0.5$, $p < 0.0001$). We concluded that serum concentrations of SELENBP1 were strongly associated with cardiac arrest and the duration of myocardial ischemia already early during surgery, thereby constituting a novel and promising quantitative marker for myocardial hypoxia, with a high potential to improve diagnostics and prediction in combination with the established clinical parameters.

Keywords: trace element; biomarker; selenoprotein; metabolism; redox regulation; prediction

1. Introduction

Selenium (Se) is an essential trace element affecting the expression of selenoproteins and redox signaling [1,2]. The metabolism of Se and the control of selenoprotein expression is complex as there are disease-, genotype-, sex- and potentially age-specific differences in combination with a variety of nutritional Se sources [3–7]. There are two major types of proteins related to Se, i.e., the selenoproteins with one or more genetically encoded selenocysteine residues in their primary sequence [8] versus the group of less-well-defined Se-binding proteins [9]. Selenium-Binding Protein 1 (SELENBP1) constitutes the most-intensively characterized member of the latter group of proteins [10]. SELENBP1 is expressed in most human and rodent tissues and migrates as a 56 kD band in electrophoretic analyses [11]. Its expression levels have been associated with tumorigenesis and cancer growth [12], especially in relation to androgen concentrations and prostate cancer [13]. A physical interaction between SELENBP1 and

the major intracellular Se-dependent glutathione peroxidase (GPX1) has been described, functionally connecting both groups of Se-containing proteins [14]. Several analyses have quantified SELENBP1 in tumor tissues and report on reduced SELENBP1 expression levels in association with poor survival in gastric [15], breast [16] and renal cancer [17]. Collectively, these studies have highlighted the Se-dependent intracellular activities of SELENBP1 and a prognostic value of its expression levels in tumors as a biomarker of disease severity.

Alterations in Se blood levels and differences in the concentration of extracellular selenoproteins appear to be of similar relevance for health and disease. There are three major Se-containing circulating proteins, i.e., the plasma glutathione peroxidase (GPX3), the Se transport protein selenoprotein P (SELENOP) and selenomethionine-containing albumin. Under normal conditions, SELENOP constitutes the major fraction of extracellular Se [4], whereas the contribution of selenomethionine-containing albumin to total Se concentration in blood largely depends on the dietary intake of selenomethionine [18]. Circulating GPX3 is mainly derived from the kidneys and is regulated by hypoxia, oxidative stress and Se status [19]. Genetic inactivation of the murine *Gpx3* gene has not resulted in a major phenotype, except for effects on Se status [20]. The inactivation of *Selenop* in mice gave rise to a complex phenotype with male infertility, growth defects, oxidative stress and neurological impairment [21,22]. In patients, low SELENOP concentrations have been observed in sepsis [23], inflammatory bowel disease [24] or steatohepatitis [25] and shown to correlate to poor survival in renal cancer [26], sepsis [27] or after major trauma [28].

Information on the role and regulation of extracellular SELENBP1 is sparse. A recent report identified the protein in urine as a novel and early biomarker of acute kidney injury [29] and we described increased SELENBP1 concentrations in patients with acute coronary syndrome at high risk of major cardiac events [30]. Cardiac surgery negatively affects Se status and Se deficiency increases the risk of ischaemic heart disease [31] and promotes organ dysfunction after cardiac surgery [32]. To better characterize circulating SELENBP1 as a biomarker of myocardial stress, we monitored its concentration in patients undergoing surgery with cardioplegia-induced myocardial arrest and the use of a cardio-pulmonary bypass (CPB) and evaluated its potential diagnostic value with respect to convalescence and survival.

2. Materials and Methods

2.1. Patients

In this study, consecutive patients scheduled for elective cardiac surgery with a necessity for the use of a cardiopulmonary bypass (CPB) and cardioplegia-induced myocardial arrest were invited to participate in this analytical study. The protocol was approved by the local institutional review board (Ethics committee, RWTH Aachen University, Germany), registered at [ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov) ([ClinicalTrials.gov](https://clinicaltrials.gov) identifier: NCT0126772), and all participants provided informed written consent. Adult patients scheduled for elective cardiac surgery were included, and patients who were unable to give informed consent, patients with suspicious or proven pregnancy or malignancy, and patients with perioperative infections were excluded.

2.2. Clinical Examination, Sample Collection and Analysis

Relevant clinical data were recorded as part of the clinical routine. Serum samples were taken from the central venous line after the induction of anaesthesia (pre-operative) 45 min after the institution of CPB (myocardial ischemia), 2 min after opening of the cross-clamps (myocardial reperfusion), 15 min after weaning from the CPB, as well as 1 h, 6 h and 24 h after admission to the ICU. Samples were stored at -80°C until analysis. Several routine parameters were analyzed by the clinical laboratory at Uniklinik RWTH Aachen. SELENBP1 was measured as described earlier [30] at Institut für Experimentelle Endokriologie, Charité - Universitätsmedizin Berlin. Intra- and inter-assay coefficients of variation of SELENBP1 were below 10% each.

2.3. Statistical Analysis

All statistical analyses were performed using freely available statistical software (R 3.5.1, The R Foundation for Statistical Computing). Normal distribution of data was assessed by sample size or visual inspection of the Q-Q plot. Welch's t-test was applied for discrete data if normality could be assumed. Wilcoxon's rank-sum test was used if data was sparse or not normally distributed. When comparing groups of categorical data, Fisher's exact test was applied or Chi-squared test was used for sufficiently large fields of data. Spearman's rank correlation test was performed for testing for correlations. Friedman's test was used when testing for changes over time due to the data not being normally distributed. Error bars for medians could not be shown, as the test assumes normality. In a post-hoc analysis, all the time-points were compared to baseline using Wilcoxon's signed-rank test. Confidence intervals (CI) and significance were reported for an interval of 0.95 and accordingly an α of 0.05, if not stated differently. In the graphics and tables, the star symbols denote the level of significance: *: $p < 0.05$, **: $p < 0.01$, ***: $p < 0.001$, and ****: $p < 0.0001$. The following algorithm was used to determine quantiles: $m = (p + 1)/3$. $p[k] = (k-1/3)/(n + 1/3)$, resulting in $p[k] = \text{median}[F(x[k])]$. Cross-tables and empirical receiver-operator-curves (ROC) were used to establish threshold concentrations above which the risk for adverse outcomes increased. If a threshold was found to be of diagnostic or predictive value, the area under the curve (AUC) and p-value were calculated and reported.

3. Results

Baseline characteristics of the patients enrolled in the clinical study are provided below. The patients underwent either a single procedure or a procedure combining two or more interventions (Table 1).

Table 1. Clinical characteristics of patients in relation to serum selenium-binding protein (1SELENBP1) concentrations.

Parameter	Total (n = 66)	SELENBP1-Positive * (n = 18)	SELENBP1-Negative (n = 48)
Age (years)	65 (58–75)	65 (60–75)	66 (56–75)
Female sex (n)	23% (15)	8% (5)	15% (10)
Male sex (n)	77% (51)	20% (13)	58% (38)
BMI (kg/m ²)	27 (25–31)	27 (25–32)	28 (25–30)
EUROscore ¹	4 (2–6)	6 (5–8)	3 (1–6)
Duration of intervention (min)	271 (207–330)	282 (225–317)	265 (200–331)
Duration of CPB (min)	120 (85–149)	148 (126–176)	100 (83–134)
Duration of ischemia (min)	72 (58–107)	112 (93–134)	63 (58–84)
Stay in hospital (days)	9 (7–11)	11 (8–14)	9 (7–10)
Bradycardia (n)	6% (4)	5% (3)	2% (1)
Exitus letalis (n)	5% (3)	5% (3)	0% (0)
Pneumonia (n)	5% (3)	5% (3)	0% (0)
Acute kidney failure (n)	5% (3)	3% (2)	2% (1)
Wound infection (n)	2% (1)	2% (1)	0% (0)
Cerebral ischemia (n)	2% (1)	2% (1)	0% (0)

Data are expressed as % (n) or median (IQR); * SELENBP1 positive; serum SELENBP1 concentration > 0.96 nM at 1 h after arrival on the ICU; ¹ EURO score; system to assess early mortality after cardiac surgery, according to Nashed et al. [33].

3.1. Preoperative Status of SELENBP1 Follows a Normal Distribution

The patients analyzed in this study underwent elective cardiac surgery, as opposed to an acute emergency procedure. For this reason, it was assumed that baseline serum SELENBP1 concentrations would follow a normal distribution before the intervention. Indeed, SELENBP1 values were normally distributed with the 99th percentile at 0.4 nM and the mean + 2.5 standard deviations at 0.3 nM (Figure 1), similarly to the values reported from a healthy cohort [30]. Baseline SELENBP1 concentrations were

not related to perioperative risk as assessed with the EUROscore (Table 1). Two outliers were identified who started with markedly elevated baseline concentrations of circulating SELENBP1 ($z = 178.2$ and $z = 23.6$, respectively).

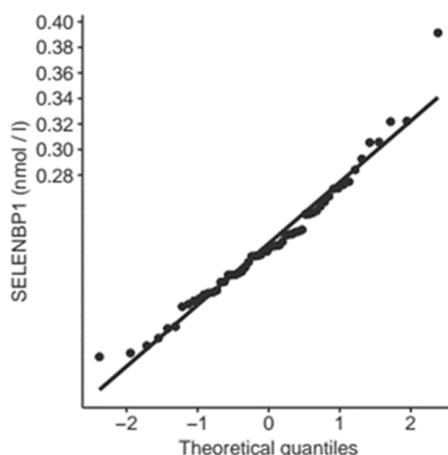


Figure 1. QQ-Plot of SELENBP1 in serum at baseline. The plot indicates the distribution of serum SELENBP1 concentrations at baseline before surgical intervention. The straight line indicates a normal distribution ($R^2 = 0.96$, $p < 0.0001$).

3.2. Intraoperative and Postoperative Kinetics of SELENBP1 Indicate a Transient Increase

The blood samples taken at different time points during and after the surgical procedure were analyzed in order to assess the kinetics of circulating SELENBP1. The serum concentrations significantly increased as compared to baseline over the full course of the treatment (Figure 2).

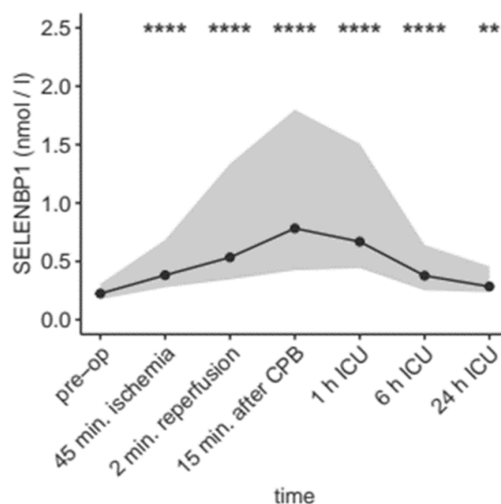


Figure 2. SELENBP1 before, during and after surgery. Median and 10th–90th percentile of serum SELENBP1 concentrations are provided. CPB: cardio-pulmonary bypass, ICU: intensive care unit. The values were compared to baseline by Wilcoxon's signed-rank test. **, $p = 0.0072$, ****, $p < 0.0001$.

During intervention, serum concentrations of SELENBP1 increased by $\geq 20\%$ in $n = 72$ of the cardiac patients (96%, Figure 3A), and 68 patients (91%, Figure 3B) surpassed the cut-off at 0.46 nM, determined earlier as the threshold for an increased risk of death or other major adverse cardiac event in patients with suspected myocardial infarction [30]. The SELENBP1 concentrations increased until 2 min after reperfusion in 61 patients (81%), and until 15 min after weaning from the CPB in 71 patients (95%). Notably, the increase was transient, highlighting an inducing stimulus of short duration. Declining serum concentrations of SELENBP1 were observed in 65 patients (87%) within

the first 6 h after admission to the ICU and in 70 patients (93%) within 24 h after admission to the ICU. In total, 74 patients (99%) showed a transient increase in serum SELENBP1 concentrations after reperfusion and qualified as responders in our hypothesis.

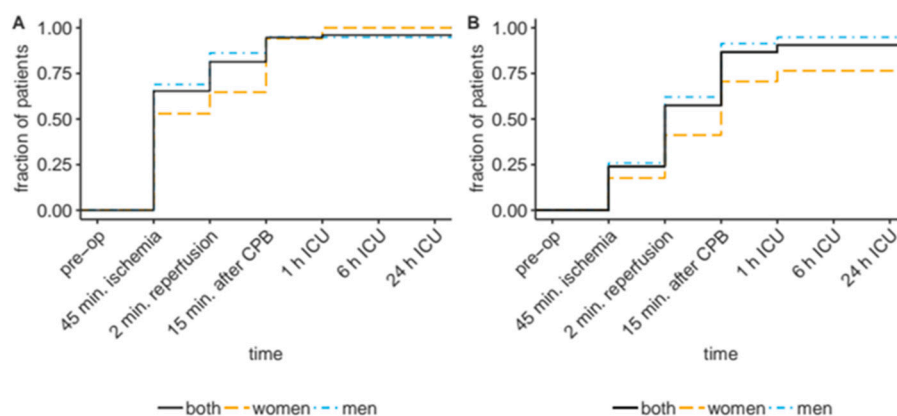


Figure 3. Transient SELENBP1 increased above thresholds. (A) Almost all the patients displayed elevated serum SELENBP1 concentrations during the intervention, as judged by an increase of at least 20% in comparison to pre-op levels, or (B) by surpassing a predefined cut-off value (0.455 nM), or an increase by $\geq 20\%$ if the pre-op level was already elevated and >0.455 nM (empirical cumulative distribution).

3.3. Serum SELENBP1 Concentrations Correlate to the Duration of Ischemia

Cardioplegia and the CPB exert a severe stress on the myocardium and the whole organism.

Both interventions are related to ischemia of the heart and may constitute the major stimulus for the release of SELENBP1 into the bloodstream. Accordingly, a strong association of serum SELENBP1 concentrations with the duration of ischemia was observed already at 2 min after reperfusion ($\rho = 0.5$, $p < 0.0001$), and at 15 min after weaning from the CPB ($\rho = 0.6$, $p < 0.0001$, Figure 4). Serum SELENBP1 was slightly lower in female than in male patients at 15 min after CPB (median for female sex: 0.6 nM vs. male sex: 0.8 nM, $p = 0.043$). Fewer female patients showed a rise in SELENBP1 concentrations until 2 min after reperfusion (0.6 of female patients vs. 0.9 of male patients, $p = 0.045$), indicating a slightly lower velocity. The peak values did not differ significantly between the sexes.

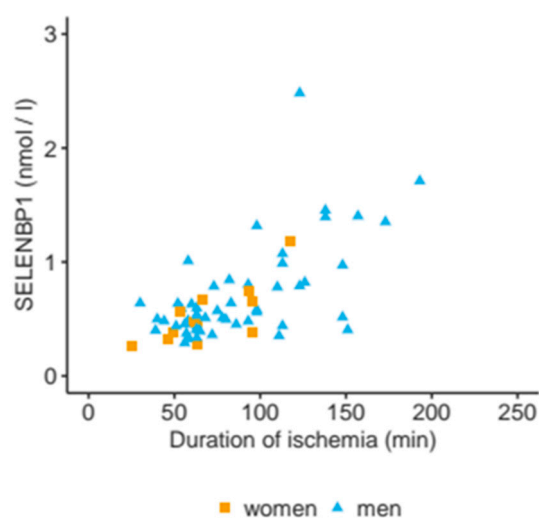


Figure 4. Correlation of serum SELENBP1 concentrations with duration of ischemia. Serum SELENBP1 concentrations were determined at 15 min after weaning from the CBP and are displayed in relation to duration of ischemia. A linear correlation is observed ($\rho = 0.6$, $p < 0.0001$).

3.4. Elevated Serum SELENBP1 Concentrations Predict Myocardial Damage

Circulating concentrations of SELENBP1 were unrelated to many routine laboratory markers in patients attending the emergency ward for chest pain, like troponin T, creatinine, the heart-specific isoform of creatine kinase (CK-MB), the liver enzymes ASAT or ALAT, white blood cell count (WBC), potassium or others [30]. In contrast to the former study, this analysis used samples where the time points for analysis were controlled tightly and were pre-defined, allowing a close monitoring and comparison of the kinetic behavior of cardiac biomarkers. Serum SELENBP1 concentrations increased already intraoperatively (2 min after reperfusion or 15 min after weaning from the CPB) and correlated positively to the CK-MB values measured after the intervention. This result indicates that a rise in serum SELENBP1 concentrations constituted an early event and preceded a rise in CK-MB concentrations as a marker for myocardial damage (Figure 5).

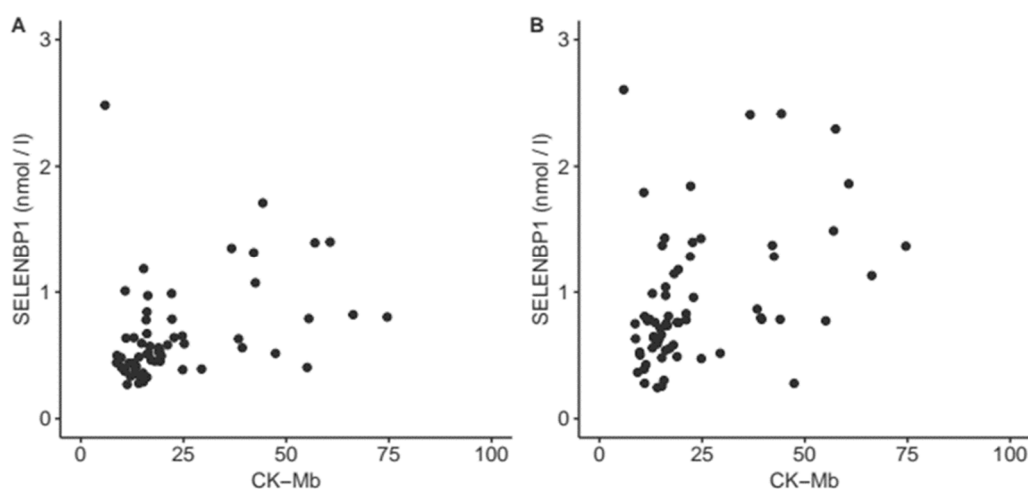


Figure 5. Correlation of intraoperative serum SELENBP1 concentrations with heart-specific creatinine kinase (CK-MB) after surgery. Serum SELENBP1 measured during intervention and heart-specific CK-MB concentrations measured after intervention display a positive correlation, both to the SELENBP1 concentrations measured at (A) 2 min after reperfusion ($\rho = 0.5$, $p < 0.0001$), and at (B) 15 min after weaning from the CBP ($\rho = 0.4$, $p = 0.0007$), respectively.

3.5. Elevated Serum SELENBP1 Concentrations Are Indicative of Adverse Outcomes

Next, the potential association of serum SELENBP1 with adverse outcomes was evaluated. The elevated serum concentrations of SELENBP1 were significantly associated with adverse outcomes, and predictive to discriminate patients at risk from those with negligible risk for death, bradycardia, cerebral ischemia, stay at the ICU for > 40 days, acute kidney injury or pneumonia (Table 2).

Patients suffering from bradycardia, death, or cerebral ischemia (combined endpoint 1) displayed markedly elevated serum concentrations of SELENBP1 at several points compared to those patients without any of these serious events ($p = 0.033$ at 45 min after induction of ischemia, $p = 0.0051$ at 2 min after reperfusion, $p = 0.0011$ at 15 min after weaning from the CPB, and $p = 0.0017$ at 1 h after arrival on the ICU) (Figure 6).

Table 2. Association of elevated serum SELENBP1 concentrations with adverse outcomes.

Parameter	Threshold [nM]	OR	CI	p	PPV	NPV	AUC	n
15 min after CPB								
combined endpoint 1 *	0.988	22	3–194	0.0005	0.333	0.978	0.84	8
combined endpoint 2 *	0.820	18	2–152	0.0011	0.310	0.976	0.81	9
1 h ICU								
death	2.238	124	6.2777	0.0042	0.667	0.984	0.92	2
acute kidney injury	0.889	20	1–411	0.029	0.158	1.000	0.83	4
combined endpoint 1 *	0.956	30	3–269	0.0003	0.389	0.979	0.84	7
combined endpoint 2 *	0.889	33	4–296	<0.0001	0.421	0.979	0.84	7
6 h ICU								
death	1.292	63	4–1018	0.0077	0.500	0.984	0.88	3
maximal levels								
bradycardia	0.988	23	1–439	0.014	0.167	1.000	0.81	5
cerebral ischemia	1.396	25	1–544	0.034	0.143	1.000	0.90	3
combined endpoint 1 *	0.988	25	3–215	0.0003	0.333	0.980	0.88	8
combined endpoint 2 *	0.968	24	3–199	0.0003	0.333	0.979	0.86	9
stay in ICU for >40 day	0.870	4	1–10	0.013	0.484	0.795	0.70	14

* Combined endpoints; combined endpoint 1 comprises bradycardia, death, and cerebral ischemia; combined endpoint 2 comprises bradycardia, death, cerebral ischemia, as well as acute kidney injury. OR; odds ratio; CI, confidence interval; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value, AUC, area under the curve.

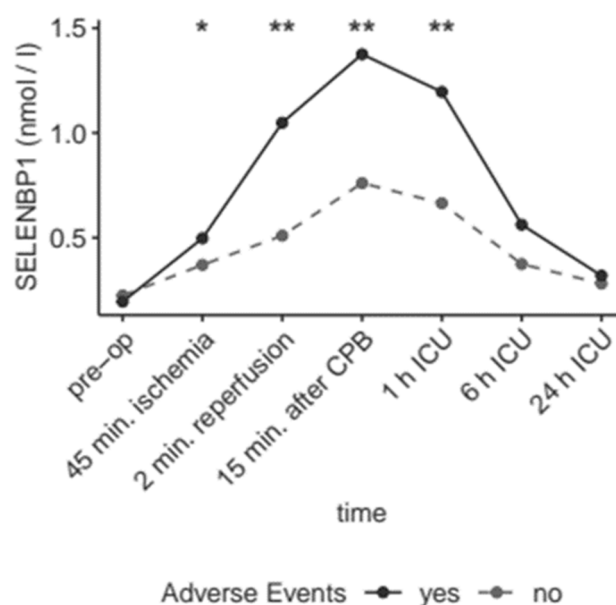


Figure 6. SELENBP1 before, during and after cardiac surgery in relation to outcome. Elevated serum SELENBP1 concentrations are associated with adverse events during the full course of surgery, especially directly after reperfusion, after weaning from the CPB, and shortly after arriving on the ICU. Adverse events comprise death, cerebral ischemia, bradycardia ($p = 0.033$ for 45 min after induction of ischemia, $p = 0.0051$ for 2 min after reperfusion, $p = 0.0011$ for 15 min after weaning from the CPB, and $p = 0.0017$ for 1 h after arrival on the ICU) (AUC; 0.8). **, $p < 0.01$, *, $p < 0.05$.

The clinical data along with the information on serum SELENBP1 were finally used to conduct a Receiver-Operator-Curve (ROC) analysis for predicting adverse events on the basis of elevated serum concentrations of SELENBP1 (Figure 7).

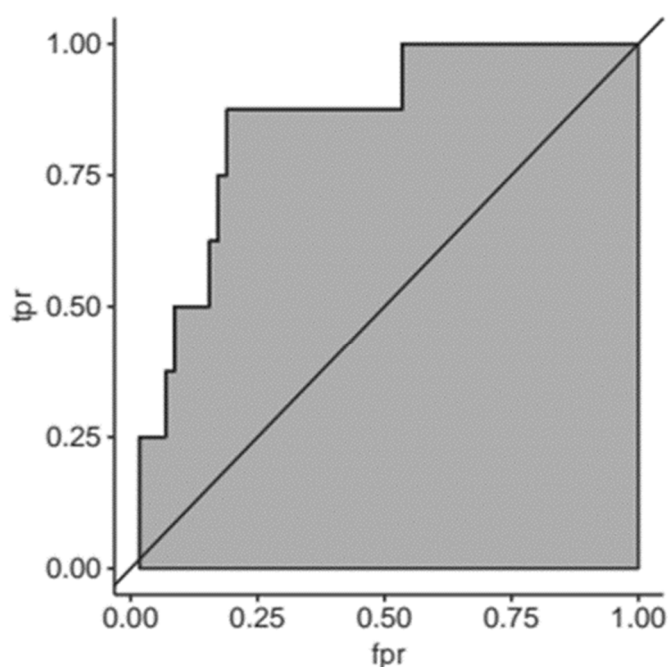


Figure 7. Receiver-Operator-Curve (ROC) analysis for SELENBP1 predicting adverse events. The receiver-operator-analysis for SELENBP1 concentrations and adverse events (death, cerebral ischemia, bradycardia) indicates a relatively meaningful predictive value (AUC; 0.8).

4. Discussion

In this study, circulating SELENBP1 concentrations were monitored in patients undergoing cardiac surgery along the time span from preparation for the intervention until 24 h after arriving at the ICU. The surgical intervention involved a CPB, and this procedure constitutes a clinical model for ischemia and reperfusion. Importantly, all time points could be reliably analyzed as the patients were not arriving at the hospital after an adverse incidence but underwent an elective and tightly scheduled procedure. To our surprise, a strong increase in serum SELENBP1 concentrations was detected in all but one patient. The SELENBP1 concentrations in serum reflected the myocardial damage already during surgery and nicely correlated with the levels of the heart-specific isoform of creatine kinase (CK-MB) measured after the intervention. The comparison of serum SELENBP1 concentrations with the duration of ischemia indicated an almost linear relationship, suggesting that serum SELENBP1 constituted a reliable novel marker of myocardial stress.

This notion is supported by the strong association of circulating SELENBP1 levels during and directly after the procedure, with a higher mortality risk and incidence rate of adverse events, including, e.g., length of stay at the ICU, bradycardia or cerebral ischemia. The thresholds with good positive and strong negative predictive power were in the same range as determined before in relation to chest pain and suspected myocardial infarction [30]. Collectively, serum concentrations of SELENBP1 seem to reliably indicate severe cardiac damage in patients, whereas no relevant amounts of serum SELENBP1 were detectable under control conditions in healthy subjects where SELENBP1 is located intracellularly [10,14,34]. Notably, the increased levels and fast kinetics of circulating SELENBP1 were not affected by traditional risk-factors and the baseline values did not reflect perioperative risk as assessed by the EURO-Score [33], supporting the notion that circulating SELENBP1 reflects acute events rather than indicating chronic risk-related factors. It remains to be studied whether the extent of SELENBP1 release is related to baseline Se status, as determined by the activity of circulating GPX3, SELENOP or total serum Se concentrations, and whether SELENBP1 is increased in chronic inflammatory heart disease as a potentially valuable prospective biomarker.

The previous study indicated that elevated serum concentrations of SELENBP1 in patients suspected of myocardial infarction were indicative of a higher mortality and other major adverse cardiac events [30]. There were no significant correlations with the commonly used clinical markers, such as troponin, as measured with a high-sensitivity assay, aspartate aminotransferase, creatinine, fibrinogen, prothrombin time or blood cell counts [30]. Consequently, we assumed that the stimulus for the release of SELENBP1 into the bloodstream should be different from necrosis of cardiomyocytes, which would be associated with increased circulating cardiac troponins. The fast appearance of SELENBP1 already during surgery and the linear relationship between circulating SELENBP1 and the duration of myocardial ischemia suggests that SELENBP1 may have been released by cardiomyocytes upon stress and before necrosis. This hypothesis is supported by the moderate linear correlation of serum SELENBP1 during surgery to CK-MB measured at later time-points and the biologically plausible time span needed for necrosis to occur in response to hypoxia and acidosis [35].

Heart tissue is not the only potential source of extracellular SELENBP1, as urinary SELENBP1 was described as a new biomarker of heavy metal-induced kidney injury, where the protein increased strongly in the renal cortex after mercury administration in a rodent model of nephrotoxicity [36]. The authors propose urinary SELENBP1 as a novel sensitive and specific biomarker for early stages of kidney injury before irreversible damage has taken place [29,36]. Accordingly, serum SELENBP1 may indicate severe and acute noxae to cardiomyocytes at an early time point before the onset of necrosis, i.e., at a time when protective measures may possibly reverse the path to cell death. In this context, it may be speculated that a secretion of SELENBP1 caused an associated decline of intracellular Se stores, thereby depriving the cardiomyocyte of the trace element with essential importance for antioxidative defense systems [37]. This notion is supported by clinical studies, where supplementation with Se along with coenzyme Q10 significantly reduced cardiovascular mortality in a prospective randomized double-blind controlled intervention study in European seniors [38].

There was an unexpected small difference between male and female patients concerning the velocity of the increase. However, peak values were similar and larger studies are needed in order to elucidate whether SELENBP1 secretion into the circulation constitutes another example of sex-specific differences in Se metabolism and selenoprotein expression [5]. The initial symptoms, disease development and mortality risk upon myocardial infarction show strong sex-specific differences that attenuate with age, highlighting sex as an important modifier of cardiovascular physiology and heart disease course [39]. It will therefore be important to conduct larger studies with both male and female patients in order to elucidate the importance of sex and age for the increase of circulating SELENBP1 concentrations, its dynamics and predictive value.

A limitation of this clinical study constitutes the relatively small sample size, limiting the results to testing the major hypothesis without providing the power for detailed and stratified analyses of subgroups of patients or sex-specific differences. A major strength of this study was the reliable, sensitive and highly reproducible analytical technique used, i.e., the novel luminometric immunoassay used for SELENBP1 quantification, which is based on specific monoclonal antibodies and is therefore available for verification analyses and additional clinical studies.

5. Conclusions

In this study, the kinetics and modifying factors of circulating SELENBP1 in response to myocardial injury were characterized. Increased concentrations reflected the duration of ischemia and myocardial damage, and reliably identified patients at risk of adverse outcomes. It is hoped that these insights will be useful for improving the care of cardiac surgery patients and help to identifying individuals with high risks for adverse events in order to raise increased attention and enable fast curative measures when first signs of worsening of the clinical condition become apparent.

Author Contributions: E.C.D.K.-H., E.C.K., C.S. (Christian Stoppe) and L.S. designed the study. E.C.D.K.-H. and E.C.K. did the statistical analyses. E.C.D.K.-H., E.C.K., C.S. (Christian Stoppe) and LS wrote the manuscript. E.C.D.K.-H., E.C.K., J.N., S.W., J.S., C.S. (Christian Schwiebert), W.B.M. and C.S. (Christian Stoppe) collected the

material and conducted the measurements, respectively. All authors critically reviewed the final manuscript and approved its submission.

Funding: Schomburg and Stoppe were supported by grants from Deutsche Forschungsgemeinschaft (DFG Research Unit 2558 TraceAge, Scho 849/6-1 to LS; and STO 1099/-2 to CS). In addition, we acknowledge support from the DFG and the Open Access Publication Fund of Charité – Universitätsmedizin Berlin.

Acknowledgments: We thank Vartitir Seher and Katja Schreiber for excellent technical support, and Andreas Goetzenich, RWTH Aachen, for helpful advice during the initiation of this study.

Conflicts of Interest: J.N., S.W., J.S., C.S. (Christian Schwiebert) and C.S. (Christian Stoppe) have nothing to declare in relation to this study. L.S. holds shares in selenOmed GmbH, a company involved in Se status assessment and supplementation. E.C.D.K.-H., E.C.K., W.B.M. and L.S. are named as inventors on a related patent application.

References

1. Hondal, R.J.; Marino, S.M.; Gladyshev, V.N. Selenocysteine in thiol/disulfide-like exchange reactions. *Antioxid. Redox Signal.* **2013**, *18*, 1675–1689. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Brigelius-Flohé, R.; Flohé, L. Selenium and redox signaling. *Arch. Biochem. Biophys.* **2017**, *617*, 48–59. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Méplán, C. Selenium and chronic diseases: A nutritional genomics perspective. *Nutrients* **2015**, *7*, 3621–3651. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
4. Burk, R.F.; Hill, K.E. Regulation of Selenium Metabolism and Transport. *Ann. Rev. Nutr.* **2015**, *35*, 109–134. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Schomburg, L.; Schweizer, U. Hierarchical regulation of selenoprotein expression and sex-specific effects of selenium. *Biochim. Biophys. Acta* **2009**, *1790*, 1453–1462. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Schomburg, L.; Riese, C.; Renko, K.; Schweizer, U. Effect of age on sexually dimorphic selenoprotein expression in mice. *Biol. Chem.* **2007**, *388*, 1035–1041. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
7. Rayman, M.P. Food-chain selenium and human health: Emphasis on intake. *Br. J. Nutr.* **2008**, *100*, 254–268. [[CrossRef](#)]
8. Labunskyy, V.M.; Hatfield, D.L.; Gladyshev, V.N. Selenoproteins: Molecular pathways and physiological roles. *Physiol. Rev.* **2014**, *94*, 739–777. [[CrossRef](#)]
9. Bansal, M.P.; Oborn, C.J.; Danielson, K.G.; Medina, D. Evidence for two selenium-binding proteins distinct from glutathione peroxidase in mouse liver. *Carcinogenesis* **1989**, *10*, 541–546. [[CrossRef](#)]
10. Elhodaky, M.; Diamond, A.M. Selenium-Binding Protein 1 in Human Health and Disease. *Int. J. Mol. Sci.* **2018**, *19*, 3437. [[CrossRef](#)]
11. Chang, P.W.; Tsui, S.K.; Liew, C.; Lee, C.C.; Waye, M.M.; Fung, K.P. Isolation, characterization, and chromosomal mapping of a novel cDNA clone encoding human selenium binding protein. *J. Cell Biochem.* **1997**, *64*, 217–224. [[CrossRef](#)]
12. Lanfear, J.; Fleming, J.; Walker, M.; Harrison, P. Different patterns of regulation of the genes encoding the closely related 56 kDa selenium- and acetaminophen-binding proteins in normal tissues and during carcinogenesis. *Carcinogenesis* **1993**, *14*, 335–340. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
13. Yang, M.; Sytkowski, A.J. Differential expression and androgen regulation of the human selenium-binding protein gene hSP56 in prostate cancer cells. *Cancer Res.* **1998**, *58*, 3150–3153. [[PubMed](#)]
14. Fang, W.; Goldberg, M.L.; Pohl, N.M.; Bi, X.; Tong, C.; Xiong, B.; Koh, T.J.; Diamond, A.M.; Yang, W. Functional and physical interaction between the selenium-binding protein 1 (SBP1) and the glutathione peroxidase 1 selenoprotein. *Carcinogenesis* **2010**, *31*, 1360–1366. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
15. Xia, Y.J.; Ma, Y.Y.; He, X.J.; Wang, H.J.; Ye, Z.Y.; Tao, H.Q. Suppression of selenium-binding protein 1 in gastric cancer is associated with poor survival. *Hum. Pathol.* **2011**, *42*, 1620–1628. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. Zhang, S.; Li, F.; Younes, M.; Liu, H.; Chen, C.; Yao, Q. Reduced selenium-binding protein 1 in breast cancer correlates with poor survival and resistance to the anti-proliferative effects of selenium. *PLoS ONE* **2013**, *8*, e63702. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
17. Ha, Y.S.; Lee, G.T.; Kim, Y.H.; Kwon, S.Y.; Choi, S.H.; Kim, T.H.; Kwon, T.G.; Yun, S.J.; Kim, I.Y.; Kim, W.J. Decreased selenium-binding protein 1 mRNA expression is associated with poor prognosis in renal cell carcinoma. *World J. Surg. Oncol.* **2014**, *12*, 288. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
18. Burk, R.F.; Hill, K.E.; Motley, A.K. Plasma selenium in specific and non-specific forms. *BioFactors* **2001**, *14*, 107–114. [[CrossRef](#)]

19. Bierl, C.; Voetsch, B.; Jin, R.C.; Handy, D.E.; Loscalzo, J. Determinants of human plasma glutathione peroxidase (GPx-3) expression. *J. Biol. Chem.* **2004**, *279*, 26839–26845. [[CrossRef](#)]
20. Burk, R.F.; Olson, G.E.; Winfrey, V.P.; Hill, K.E.; Yin, D. Glutathione peroxidase-3 produced by the kidney binds to a population of basement membranes in the gastrointestinal tract and in other tissues. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* **2011**, *301*, G32–G38. [[CrossRef](#)]
21. Schomburg, L.; Schweizer, U.; Holtmann, B.; Flohé, L.; Sendtner, M.; Köhrle, J. Gene disruption discloses role of selenoprotein P in selenium delivery to target tissues. *Biochem. J.* **2003**, *370*, 397–402. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
22. Hill, K.E.; Zhou, J.; McMahan, W.J.; Motley, A.K.; Atkins, J.F.; Gesteland, R.F.; Burk, R.F. Deletion of selenoprotein P alters distribution of selenium in the mouse. *J. Biol. Chem.* **2003**, *278*, 13640–13646. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Hollenbach, B.; Morgenthaler, N.G.; Struck, J.; Alonso, C.; Bergmann, A.; Köhrle, J.; Schomburg, L. New assay for the measurement of selenoprotein P as a sepsis biomarker from serum. *J. Trace Elem. Med. Biol. Organ Soc. Miner. Trace Elem. (GMS)* **2008**, *22*, 24–32. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Barrett, C.W.; Short, S.P.; Williams, C.S. Selenoproteins and oxidative stress-induced inflammatory tumorigenesis in the gut. *Cell. Mol. Life Sci. CMLS* **2017**, *74*, 607–616. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
25. Polyzos, S.A.; Kountouras, J.; Mavrouli, M.; Katsinelos, P.; Douberis, M.; Gavana, E.; Duntas, L. Selenoprotein P in Patients with Nonalcoholic Fatty Liver Disease. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes Off. J. Ger. Soc. Endocrinol. Ger. Diabetes Assoc.* **2019**. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Meyer, H.A.; Endermann, T.; Stephan, C.; Stoedter, M.; Behrends, T.; Wolff, I.; Jung, K.; Schomburg, L. Selenoprotein P status correlates to cancer-specific mortality in renal cancer patients. *PLoS ONE* **2012**, *7*, e46644. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
27. Forceville, X.; Mostert, V.; Pierantoni, A.; Vitoux, D.; Le Toumelin, P.; Plouvier, E.; Dehoux, M.; Thuillier, F.; Combes, A. Selenoprotein P, rather than glutathione peroxidase, as a potential marker of septic shock and related syndromes. *Eur. Surg. Res. Eur. Chir. Forsch. Rech. Chir. Eur.* **2009**, *43*, 338–347. [[CrossRef](#)]
28. Braunstein, M.; Kusmenkov, T.; Zuck, C.; Angstwurm, M.; Becker, N.P.; Bocker, W.; Schomburg, L.; Bogner-Flatz, V. Selenium and Selenoprotein P Deficiency Correlates with Complications and Adverse Outcome After Major Trauma. *Shock (AugustaGa)* **2019**. [[CrossRef](#)]
29. Kim, K.S.; Yang, H.Y.; Song, H.; Kang, Y.R.; Kwon, J.; An, J.; Son, J.Y.; Kwack, S.J.; Kim, Y.M.; Bae, O.N.; et al. Identification of a sensitive urinary biomarker, selenium-binding protein 1, for early detection of acute kidney injury. *J. Toxicol. Environ. Health Part A* **2017**, *80*, 453–464. [[CrossRef](#)]
30. Kühn, E.C.; Slagman, A.; Kühn-Heid, E.C.D.; Seelig, J.; Schwiebert, C.; Minich, W.B.; Stoppe, C.; Möckel, M.; Schomburg, L. Circulating levels of selenium-binding protein 1 (SELENBP1) are associated with risk for major adverse cardiac events and death. *J. Trace Elem. Med. Biol. Organ Soc. Miner. Trace Elem. (GMS)* **2019**, *52*, 247–253. [[CrossRef](#)]
31. Suadican, P.; Hein, H.O.; Gyntelberg, F. Serum selenium concentration and risk of ischaemic heart disease in a prospective cohort study of 3000 males. *Atherosclerosis* **1992**, *96*, 33–42. [[CrossRef](#)]
32. Wendt, S.; Schomburg, L.; Manzanares, W.; Stoppe, C. Selenium in Cardiac Surgery. *Nutr. Clin. Pract. Off. Publ. Am. Soc. Parenter. Enter. Nutr.* **2019**, *34*, 528–539. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
33. Nashef, S.A.; Roques, F.; Michel, P.; Gauducheau, E.; Lemeshow, S.; Salamon, R. European system for cardiac operative risk evaluation (EuroSCORE). *Eur. J. Cardio Thorac. Surg.* **1999**, *16*, 9–13. [[CrossRef](#)]
34. Ying, Q.; Ansong, E.; Diamond, A.M.; Yang, W. A Critical Role for Cysteine 57 in the Biological Functions of Selenium Binding Protein-1. *Int. J. Mol. Sci.* **2015**, *16*, 27599–27608. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
35. Graham, R.M.; Frazier, D.P.; Thompson, J.W.; Haliko, S.; Li, H.; Wasserlauf, B.J.; Spiga, M.G.; Bishopric, N.H.; Webster, K.A. A unique pathway of cardiac myocyte death caused by hypoxia-acidosis. *J. Exp. Biol.* **2004**, *207*, 3189–3200. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Lee, E.K.; Shin, Y.J.; Park, E.Y.; Kim, N.D.; Moon, A.; Kwack, S.J.; Son, J.Y.; Kacew, S.; Lee, B.M.; Bae, O.N.; et al. Selenium-binding protein 1: A sensitive urinary biomarker to detect heavy metal-induced nephrotoxicity. *Arch. Toxicol.* **2017**, *91*, 1635–1648. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
37. Boucher, F.R.; Jouan, M.G.; Moro, C.; Rakotova, A.N.; Tanguy, S.; de Leiris, J. Does selenium exert cardioprotective effects against oxidative stress in myocardial ischemia? *Acta Physiol. Hung.* **2008**, *95*, 187–194. [[CrossRef](#)]

38. Alehagen, U.; Aaseth, J.; Johansson, P. Reduced Cardiovascular Mortality 10 Years after Supplementation with Selenium and Coenzyme Q10 for Four Years: Follow-Up Results of a Prospective Randomized Double-Blind Placebo-Controlled Trial in Elderly Citizens. *PLoS ONE* **2015**, *10*, e0141641. [[CrossRef](#)]
39. Canto, J.G.; Rogers, W.J.; Goldberg, R.J.; Peterson, E.D.; Wenger, N.K.; Vaccarino, V.; Kiefe, C.I.; Frederick, P.D.; Sopko, G.; Zheng, Z.J.; et al. Association of age and sex with myocardial infarction symptom presentation and in-hospital mortality. *JAMA* **2012**, *307*, 813–822. [[CrossRef](#)]



© 2019 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

Lebenslauf

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

Publikationsliste

Pilli T, Cantara S, Schomburg L, Cenci V, Cardinale S, **Heid E C D**, Kühn E C, Cevenini G, Sestini F, Fioravanti C, D'Hauw G, Pacini F.

IFN γ -Inducible Chemokines Decrease upon Selenomethionine Supplementation in Women with Euthyroid Autoimmune Thyroiditis: Comparison between Two Doses of Selenomethionine (80 or 160 μ g) versus Placebo.

Eur Thyroid J. 2015;4(4): 226-233. doi:10.1159/000439589

2018 Journal Impact Factor: 3,025

Kühn E C, Slagman A, **Kühn-Heid E C D**, Seelig J, Schwiebert C, Minich W B, Stoppe C, Möckel M, Schomburg L.

Circulating levels of selenium-binding protein 1 (SELENBP1) are associated with risk for major adverse cardiac events and death.

J Trace Elem Med Biol. 2019; 52:247-253. doi:10.1016/j.jtemb.2019.01.005

2018 Journal Impact Factor: 3,755

Kühn-Heid E C D, Kühn E C, Ney J, Wendt S, Seelig J, Schwiebert C, Minich W B, Stoppe C, Schomburg L.

Selenium-Binding Protein 1 Indicates Myocardial Stress and Risk for Adverse Outcome in Cardiac Surgery.

Nutrients. 2019. doi:10.3390/nu11092005

2018 Journal Impact Factor: 4,171

Danksagungen

An dieser Stelle möchte ich mich bei allen Personen bedanken, die auf unterschiedliche Art und Weise zum Gelingen dieser Arbeit beigetragen haben.

Zunächst möchte ich mich ganz herzlich bei meinem Doktorvater Prof. Dr. Lutz Schomburg bedanken, der mir Wissenschaft und Forschung so viel näher brachte und mir damit den Blick auf ein für mich neues und spannendes Arbeitsfeld eröffnete.

Während der gesamten Zeit meiner wissenschaftlichen Arbeit, konnte ich mich immer darauf verlassen, bei Problemen oder Fragen im Gespräch mit ihm eine Lösung zu finden und sein Büro mit neuen Erkenntnissen und frischer Motivation zu verlassen.

Außerdem bedanke ich mich herzlich bei allen aktuellen und ehemaligen Mitarbeitern und Doktoranden des Instituts für Experimentelle Endokrinologie, namentlich: Waldemar Minich, Eddy Rijntjes, Sandra Hybsier, Janine Martitz, Andrea Schütte und Kostja Renko für die tatkräftige Unterstützung unter anderem bei der Anleitung im Umgang mit dem Laborequipment, für ihren wissenschaftlichen Rat und Gedankenanstöße und für die gute Gesellschaft, die die langen Stunden im Labor so viel kürzer gemacht haben.

Ein ganz besonderer Dank gilt meinem Mann, Eike Kühn, der mich nicht nur als wissenschaftlicher Partner die gesamte Zeit begleitete und immer für Diskussionen und Ideenaustausch bereit war, sondern mich auch in all meinen anderen Projekten ausnahmslos unterstützt und mich regelmäßig durch seine positive Art dazu inspiriert mein Bestes zu geben.

Danken möchte ich auch meinen Eltern Beate und Johannes, die stets am Voranschreiten meiner Arbeit interessiert waren und nicht zuletzt durch die regelmäßige Betreuung meines Sohnes tatkräftig dazu beigetragen haben, dass ich diese Arbeit fertig stellen konnte.