

Aus der Medizinischen Klinik für Endokrinologie und Nephrologie  
der Medizinischen Fakultät Charité – Universitätsmedizin Berlin

DISSERTATION

**Bedeutung der Nieren für die  
Retinol-Bindungsprotein 4 (RBP4)-  
Plasma-Homöostase**

zur Erlangung des akademischen Grades  
Doctor rerum medicarum (Dr. rer. medic.)

vorgelegt der Medizinischen Fakultät  
Charité – Universitätsmedizin Berlin

von  
Britta Nagl  
aus Berlin

Gutachter: 1. Prof. Dr. med. W. Zidek  
2. Prof. Dr. B. Hocher  
3. Prof. Dr. S. Vogel

Datum der Promotion: 09. September 2011

<b>Inhaltsverzeichnis</b> .....	<b>I</b>
<b>Abbildungsverzeichnis</b> .....	<b>II</b>
<b>Abkürzungsverzeichnis</b> .....	<b>III</b>

---

 Inhaltsverzeichnis
 

---

<b>1</b>	<b>Resümee der Dissertation</b> .....	<b>1</b>
1.1	Einleitung .....	3
1.2	Zielsetzung.....	4
1.3	Probanden.....	4
1.3.1	Studie 1: Patienten mit chronischer Nierenerkrankung   Patienten mit chronischer Lebererkrankung   Kontrollgruppe .....	4
1.3.2	Studie 2: Patienten, die mit einem Nierenersatzverfahren therapiert wurden (Hämodialyse bzw. Nierentransplantation)   Kontrollgruppe .....	5
1.3.3	Studie 3: Früh geborene Kinder   Termgeborene Kinder .....	5
1.4	Methoden.....	5
1.4.1	Statistische Auswertung .....	6
1.5	Ergebnisse.....	6
1.5.1	Studie 1: CKD-Patienten vs. CLD-Patienten vs. Kontrolle .....	6
1.5.2	Studie 2: NTX-Patienten vs. HD-Patienten vs. Kontrolle .....	7
1.5.3	Studie 3: VLBW-Kinder vs. termgeborene Kinder .....	8
1.6	Diskussion .....	8
<b>2</b>	<b>Literaturverzeichnis</b> .....	<b>14</b>
<b>3</b>	<b>Anteilerklärung</b> .....	<b>20</b>
<b>4</b>	<b>Komplette Publikationsliste</b> .....	<b>22</b>
4.1	Publikationen.....	22
4.2	Posterpräsentationen .....	22
<b>5</b>	<b>Druckexemplare der ausgewählten Publikationen</b> .....	<b>23</b>
<b>6</b>	<b>Curriculum Vitae   Britta Nagl</b> .....	<b>24</b>

---

**Abbildungsverzeichnis**

---

Abbildung 1.6-1 A-B: Exemplarisches MALDI-Spektrum des RBP4 nach Immunopräzipitation des Serums (A = Serum, gesunder Proband; B = Serum, HD-Patient) .....	11
--	----

---

## Abkürzungsverzeichnis

---

Apo-RBP4	Retinol-freies RBP4
ALP	Alkalische Phosphatase
ALT	Alanin-Aminotransferase
AST	Aspartat-Aminotransferase
BMI	Body Mass Index
CKD	Chronische Nierenerkrankung (engl.: chronic kidney disease)
CLD	Chronische Lebererkrankung (engl.: chronic liver disease)
CRP	C-reaktives Protein
Da	Dalton
ELISA	Enzymgekoppelter Immunsorptionsstest (engl.: Enzyme Linked Immunosorbent Assay)
GA	Gestationsalter (engl.: gestational age)
GGT	$\gamma$ -Glutamyltransferase
HCC	Leberzellkarzinom (engl. Hepatocellular carcinoma)
HD	Hämodialyse
Holo-RBP4	Retinol-gebundenes RBP4
Kt/V	Quotient aus Dialyseeffektivität und Dialyседosis
MALDI	Matrix-unterstützte Laser-Desorption/Ionisation (engl.: Matrix-assisted Laser Desorption/Ionization)
METAVIR	Histologisches System zur semiquantitativen Bewertung der Ausprägung der Leberfibrose und -entzündung (5 Stadien von Fo bis F4)
NAFLD	Nicht-alkoholische Steatosis (engl.: Non-alcoholic fatty liver disease)
NTX	Nierentransplantation
PEM	Protein-Energie-Mangelernährung
PTD	Dysfunktion der proximalen Tubuluszellen
RAR	Retinsäure-Rezeptor (engl.: retinoic acid receptor)
RXR	Retinoid-X-Rezeptor (engl.: retinoid X receptor)
RBP4	Retinol-Bindungsprotein 4 (engl.: retinol-binding protein 4)
RBP4-L	ein am C-Terminus um eine Aminosäure Leucin verkürztes RBP4
RBP4-LL	ein am C-Terminus um zwei Aminosäuren Leucin verkürztes RBP4
RDI	Empfohlene tägliche Aufnahmemenge (engl: Recommended daily intake)
ROH	Retinol
SSW	Schwangerschaftswoche
TTR	Transthyretin
VA	Vitamin A
VLBW	sehr geringes Geburtsgewicht <1.500g (engl.: very low birth weight)

## 1 Resümee der Dissertation

Vitamin A (VA) hat bei so unterschiedlichen Prozessen wie dem Sehvorgang und der Regulation der Genexpression eine herausragende Bedeutung für den Organismus. Um diese Prozesse aufrechtzuerhalten, muss Vitamin A kontinuierlich und in konstanter Konzentration an Zielzellen und Gewebe verteilt werden. Dies wird durch die Bindung von Retinol (Vitamin-A-Alkohol; ROH) im Komplex mit Retinol-Bindungsprotein 4 (RBP4) und Transthyretin (TTR) gewährleistet. Die Leber und die Nieren erfüllen in dem Zusammenhang mit dem VA-Metabolismus wichtige Aufgaben, wie die VA-Speicherung, die Synthese von RBP4 und TTR sowie die Rückresorption von RBP4 im proximalen Tubulus zur Regulierung der VA-Homöostase des Körpers.

Bisherige Studien konnten zeigen, dass neben dem Anstieg der Serum-RBP4-Konzentration bei Nierenerkrankungen infolge einer verminderten glomerulären Filtrationsrate auch eine verstärkte renale Exkretion von RBP4 und ROH durch die Abnahme der tubulären Reabsorptionsfähigkeit auftritt. Weiterhin wurde das vermehrte Auftreten von RBP4-Modifikationen, den so genannten RBP4-Isoformen<sup>1</sup>, im Serum beschrieben; die klinische Bedeutung der RBP4-Isoformen ist jedoch unklar. Hinreichende Patientendaten dazu fehlten bisher. Bei Lebererkrankungen ist dagegen eine Verminderung der RBP4-Serum-Konzentration aufgrund der eingeschränkten hepatischen Synthese und/oder Sekretion von RBP4 beobachtet worden. Es ist nicht geklärt, ob bzw. inwieweit die Leber dabei das Vorkommen von RBP4-Isoformen beeinflusst. Andererseits wird bei preterm geborenen Kindern mit sehr geringem Geburtsgewicht (VLBW) die natürliche Organreifung der Nieren im Uterus vorzeitig abgebrochen. Folglich wirkt die unzureichende renale Filter- und Absorptionsfähigkeit ebenfalls dysregulatorisch auf den VA-Metabolismus.

Das Ziel der vorliegenden kumulativen Dissertation war daher, den Effekt von chronischen Leber- und chronischen Nierenerkrankungen bei adulten Individuen sowie einer Nierenunreife bei früh geborenen Kindern auf den ROH-RBP4-TTR-Transportkomplex umfassend zu charakterisieren. Dazu wurden verschiedene Parameter des VA-Metabolismus im Serum und Urin auf funktioneller und molekularer Ebene untersucht und die Ergebnisse im Rahmen von drei Publikationen veröffentlicht.

In den ersten beiden Studien wurden die Serumkonzentrationen von RBP4, ROH und TTR sowie die relativen Anteile der RBP4-Isoformen (apo-RBP4, holo-RBP4, RBP4-L, RBP4-LL) von Patienten mit chronischer Nierenerkrankung (CKD), von Patienten mit chronischen Lebererkrankungen (CLD), von Hämodialyse-Patienten (HD) und von Patienten nach Nierentransplantation (NTX) sowie von gesunden Probanden als Kontrollgruppe analysiert.

Da die Leber und die Nieren eine zentrale Stellung im VA-Metabolismus einnehmen, erfolgte in der ersten Studie die vergleichende Auswertung von Serum-Proben sowohl von chronisch nierenkranken Patienten als auch von Patienten mit chronischen Lebererkrankungen. Dabei wurde insbesondere untersucht, inwiefern die Entstehung der RBP4-

---

<sup>1</sup> Die verkürzten Formen des Volllängen-RBP4, RBP4-LL und RBP4-L sowie apo-RBP4 (Retinol-freies RBP4) werden in dieser Arbeit unter dem Begriff RBP4-Isoformen zusammengefasst.

Isoformen spezifisch bei CKD auftritt und somit möglicherweise als nephrologischer Marker geeignet ist. In der zweiten Studie erfolgte die Auswertung von Serum-Proben niereninsuffizienter Patienten, die mit einem Nierenersatzverfahren (Hämodialyse, HD oder Nierentransplantation, NTX) therapiert wurden.

Die Ergebnisse dieser Studien zeigen sowohl eine quantitative Zunahme der RBP4-Konzentration als auch eine relative Zunahme von RBP4-Isoformen im Serum von CKD-, NTX- und HD-Patienten im Vergleich zu Kontrollseren von gesunden Probanden sowie von CLD-Patienten mit einer Lebererkrankung. Die durch spezifische C-terminale Verkürzung des RBP4 um ein (RBP4-L) bzw. zwei (RBP4-LL) Leucinmoleküle entstandenen Isoformen im Serum treten vermehrt bei CKD-Patienten auf. Ebenso nimmt der Anteil des apo-RBP (ROH-ungebundenes RBP4) im Serum zu. Weiterhin konnte gezeigt werden, dass nach einer Nierentransplantation die ROH- und RBP4-Serumkonzentrationen nicht absinken, sondern die Werte – im Vergleich zu hämodialysierten Patienten – höher sind. Patienten mit chronischen Lebererkrankungen wiesen dagegen im Vergleich zur Kontrolle eine quantitative Abnahme der Konzentration von Variablen des ROH-RBP4-Komplexes im Serum auf, bezüglich des Anteils von RBP4-Isoformen bestand jedoch kein Unterschied.

Diese Modifikationen des ROH-RBP4-Komplexes auf molekularer und struktureller Ebene führen zu veränderten Wechselwirkungen zwischen den Proteinen und können vielfältige Aspekte des Metabolismus wie beispielsweise Rezeptorbindung, Abbau und Ausscheidung beeinflussen. Die zugrunde liegenden Mechanismen der Bildung dieser – vermehrt bei Nierenerkrankungen auftretenden – Isoformen des RBP4 sowie deren pathophysiologische Bedeutung sind bislang noch nicht geklärt.

Die hier vorgestellten Studien liefern wichtige Erkenntnisse zum besseren Verständnis der Regulation des komplexen VA-Metabolismus. Eine Zunahme von RBP4-Isoformen im Serum ist assoziiert mit einer eingeschränkten Nierenfunktion nicht aber mit chronischen Lebererkrankungen und unterstreicht die wichtige physiologische Funktion der Nieren für den Katabolismus von ROH und RBP4.

Während die chronische Niereninsuffizienz einen über Monate oder Jahre voranschreitenden Verlust der Nierenfunktion darstellt, ist bei früh geborenen Kindern mit sehr geringem Geburtsgewicht die Entwicklung der Nieren beeinträchtigt. Die renale Minderfunktion könnte mit nephrologischen Markern wie ROH und RBP4 detektiert und beurteilt werden. Das Ziel der dritten Studie war es daher, die Konzentration von Variablen des ROH-RBP4-Transportkomplexes im Harn von früh geborenen Kindern mit sehr geringem Geburtsgewicht (VLBW) zu untersuchen und mit einer Gruppe gesunder termgeborener Kinder zu vergleichen.

Im Harn der früh geborenen Kinder konnte eine etwa fünffach höhere Retinolausscheidung sowie eine um das 16-fache bzw. 5-fache erhöhte RBP4- bzw. TTR-Exkretion im Vergleich zu termgeborenen Kindern nachgewiesen werden. Die Ergebnisse zeigen, dass die renale Ausscheidung von ROH, RBP4 und TTR in einem Zusammenhang mit der reduzierten tubulären Resorption steht. Da die Nierenreifung bei früh geborenen Kindern nicht abgeschlossen ist, kommt es zu erheblichen Verlusten von ROH und RBP4 über den Harn, die möglicherweise zu einem verstärkten VA-Defizit führen könnten.

---

## 1.1 Einleitung

---

Die Prävalenz von chronischen Nierenerkrankungen nimmt weltweit stetig zu, hauptsächlich als Folge einer Hypertonie oder eines Diabetes mellitus Typ 2 (T2DM) (Ruggenti, Schieppati, 2001). Eine Funktionseinschränkung der Nieren hat aufgrund der daraus folgenden Risiken weitreichende Konsequenzen für den Organismus. Angesichts der steigenden Prävalenzraten stellen chronische Nierenerkrankungen ein großes Gesundheitsproblem dar. Allein in Deutschland leiden vermutlich etwa 5-8 Millionen Menschen an einer Nierenerkrankung in einem frühen Stadium, ca. 88.500 Patienten benötigen im finalen Stadium einer CKD eine dauerhafte Nierenersatztherapie (Hämodialyse oder Nierentransplantation) (de Jong, van der Velde, 2008, Frei, 2008).

Bevor klinische Symptome einer Nierenerkrankung manifest werden, könnten bestimmte Serumproteine als wichtige Indikatoren einer Nierenfunktionsstörung fungieren. Mit ihrer Hilfe lassen sich Nierenschädigungen nicht nur frühzeitig diagnostizieren, sondern auch deren Schweregrad und Lokalisation bestimmen. Ein in diesem Zusammenhang diskutierter nephrologischer Marker ist das Retinol-Bindungsprotein 4 (RBP4), ein vorrangig in der Leber synthetisiertes Protein mit einer molaren Masse von 21 kDa (Bellovino, Apreda, 2003, Cabre, Lazaro, 2007), das als spezifischer Transporter von Retinol im Blut zu den Zielgeweben fungiert (Blomhoff, Green, 1992).

Das an den Blutkreislauf abgegebene holo-RBP4 (= Komplex aus ROH und RBP4) bindet an ein weiteres Protein, das Transthyretin (TTR, 55 kDa) (Blomhoff, 1994). Ein holo-RBP4-Molekül bindet dabei ein TTR-Tetramer (Monaco, 2000) und erlangt dadurch strukturelle Stabilität (Gaetani, Bellovino, 2002). Durch die Bildung dieser ternären Verbindung wird die renale Elimination des holo-RBP-Komplexes durch die glomeruläre Filtration weitestgehend verhindert. In den Zielzellen wird ROH in die hormonell aktive Retinsäure umgewandelt, die nun als Ligand mit den Transkriptionsfaktoren RAR und RXR im Nucleus interagiert (Blomhoff, Green, 1992). Nach Abgabe des ROH an periphere Zielzellen wird apo (ROH-freies)-RBP4 bzw. TTR-ungebundenes holo-RBP4 aufgrund seiner geringen Molmasse (21 kDa) im Glomerulus filtriert und aus dem Ultrafiltrat in die proximalen Epithelzellen per Megalin-vermittelter Endozytose vollständig rückresorbiert (Marino, Andrews, 2001, Raila, Willnow, 2005). Dieser Prozess unterstreicht die wichtige Funktion der Niere für die Regulierung der ROH- und RBP4-Homöostase des Körpers.

Darüber hinaus übt RBP4, neben seiner Rolle als Transportprotein für ROH, als negatives Akutphasenprotein bei Entzündungen sowie als biochemischer Marker eines VA-Mangels bzw. einer Protein-Energie-Mangelernährung (PEM) im humanen Organismus eine wichtige Funktion bei der Diagnosefindung von Erkrankungen aus. Sowohl physiologische Zustände (Ernährungsverhalten, Geschlecht, Schwangerschaft, Menopause) als auch pathophysiologische Vorgänge (chronische und akute Erkrankungen) beeinflussen den ROH-RBP4-TTR-Metabolismus (Baeten, Richardson, 2004, Makimura, Wei, 2009, Raila, Wirth, 2004, Schweigert, 2001, Smith and Goodman, 1971, Stephensen, Alvarez, 1994).

Insbesondere Dysfunktionen der Leber und der Nieren stören die Homöostase des ROH-RBP4-Komplexes: Lebererkrankungen führen zu einem Absinken der RBP4- und ROH-Konzentrationen im Serum (Bahr, Boeker, 2009, Cavanna, Giovine, 1985, Newsome, Beldon, 2000), während bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung die RBP4-Serum-Konzentrationen ansteigen. Auch strukturelle Modifikationen des RBP4, wie Ver-



kürzungen des Volllängen-RBP4 am C-terminalen Ende um ein Molekül Leucin bzw. zwei Moleküle Leucin, sind beschrieben worden (Jaconi, Rose, 1995, Smith and Goodman, 1971).

---

## 1.2 Zielsetzung

---

Ziel dieser Arbeit ist es, das Verständnis für die komplexe Regulation des ROH-RBP-TTR-Transportkomplexes zu erweitern und darüber hinaus das diagnostische Potenzial dieser Parameter als mögliche Marker einer verminderten Nierenfunktion zu zeigen. Der Fokus dieser Dissertation liegt dabei auf der umfassenden Charakterisierung des ROH-RBP4-TTR-Komplexes auf struktureller und molekularer Ebene. Hierzu soll in der ersten Studie insbesondere die These untersucht werden, ob Modifikationen des nativen Volllängen-RBP4 im Serum zugunsten der verkürzten RBP4-Formen spezifisch bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung im Vergleich zu Patienten mit chronischer Lebererkrankung auftreten. Basierend auf den Ergebnissen der ersten Studie war es in der zweiten Studie das Vorhaben, zu ermitteln, ob die vermehrte Bildung dieser RBP4-Isoformen im Serum ebenfalls im Stadium einer terminalen Niereninsuffizienz bei Patienten, die mit einem Nierenersatzverfahren therapiert wurden, auftritt.

Auch die abrupte Unterbrechung der Nephrogenese bei einem *Partus immaturus* vor der 34. SSW führt zu Nierenfunktionsstörungen, die folglich den ROH-RBP4-TTR-Metabolismus beeinflussen. Daher wurde in einer dritten Studie die Ausscheidung von ROH, RBP4 und TTR im Harn von früh geborenen Kindern untersucht und mit den Werten gesunder termgeborener Kinder verglichen.

---

## 1.3 Probanden

---

### 1.3.1 Studie 1: Patienten mit chronischer Nierenerkrankung | Patienten mit chronischer Lebererkrankung | Kontrollgruppe

Die Serumkonzentrationen von RBP4, apo-RBP4, holo-RBP4, RBP4-L, RBP4-LL, ROH und TTR von 45 chronisch nierenkranken Patienten (CKD) und von 63 Patienten mit Lebererkrankungen (CLD) sowie von 50 gesunden Kontrollen, die als Vergleichsgruppe diente, wurden untersucht. Die Proben der CKD-Patienten wurden von der Abteilung Medizin IV der Charité Berlin, Campus Benjamin Franklin bereitgestellt.

Nierenkranke Patienten mit moderater (eGFR: 30–60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>) und schwerer (eGFR: < 30 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>) Nierenfunktionseinschränkung wurden in die CKD-Gruppe eingeschlossen.

Die Serumproben von CLD-Patienten wurden von der Abteilung Hepatologie und Gastroenterologie der Charité Berlin, Campus Virchow bereitgestellt. Das METAVIR-System wurde als histologisches Verfahren zur Einstufung und zur Diagnose der Ausprägung der Leberfibrose und -entzündung bei Patienten verwendet. Demnach wiesen 10 dieser Patienten eine Fibrose im Stadium 0–1.5 (leichte Fibrose) auf, 12 Patienten im Stadium 2–2.5, 9 Patienten im Stadium 3 und 7 Patienten im Stadium 4 (Zirrhose). Die übrigen Patienten der CLD-Gruppe waren an hepatozellulärem Karzinom (HCC) bzw. nicht-alkoholischer Fettleber (NAFLD) erkrankt.

Die Proben der Kontrollgruppe wurden im Rahmen der klinischen Mesy-Bepo-Studie der Abteilung Endokrinologie, Diabetes und Ernährung der Charité Berlin, Campus Benjamin Franklin und der Abteilung Klinische Ernährung des Deutschen Instituts für Ernährungsforschung in Rehbrücke, gesammelt.

Des Weiteren wurden die Werte folgender klinischer Parameter im Serum mithilfe routinemäßiger Labormethoden bestimmt: CRP, AST, ALT, GGT, ALP, Gesamtprotein, Albumin, Kreatinin, Bilirubin und Glukose.

### **1.3.2 Studie 2: Patienten, die mit einem Nierenersatzverfahren therapiert wurden (Hämodialyse bzw. Nierentransplantation) | Kontrollgruppe**

Die Serumkonzentrationen von RBP4, apo-RBP4, holo-RBP4, RBP4-L, RBP4-LL, Retinol und Transthyretin (TTR) von 18 Hämodialyse-Patienten (HD), von 30 Patienten nach Nierentransplantation (NTX) und von 35 gesunden Kontrollen, die als Vergleichsgruppe diente, wurden untersucht. Die Proben wurden von der Abteilung Medizin IV der Charité Berlin, Campus Benjamin Franklin bereitgestellt. Die Proben der Kontrollgruppe wurden im Rahmen einer klinischen Studie der Abteilung Endokrinologie, Diabetes und Ernährung der Charité Berlin, Campus Benjamin Franklin und der Abteilung Klinische Ernährung des Deutschen Instituts für Ernährungsforschung in Rehbrücke, gewonnen.

Die NTX-Patienten wiesen eine eGFR-Rate von 60-11.5 ml/min/1.73m<sup>2</sup> auf. In die HD-Gruppe wurden chronisch nierenkranke Patienten mit einer eGFR-Rate von < 15 ml/min/1.73m<sup>2</sup> eingeschlossen, die sich einer Hämodialysebehandlung unterzogen. Die durchschnittliche Dialysedauer betrug 14 ± 7 Monate, die durchschnittliche Dialyse-dosis betrug 1.2±0.1 kt/v. 25 der 30 NTX-Patienten erhielten als Medikation Cyclosporin A, 15 Patienten Tacrolimus und 23 Patienten Mycophenolat Mofetil. Der durchschnittliche Zeitraum zwischen Nierentransplantation und Serum-Probennahme betrug 2.7 Jahre. Des Weiteren wurden die Werte folgender klinischer Parameter im Serum mithilfe routinemäßiger Labormethoden bestimmt: CRP-, Glukose- und Triglyzerid-Konzentration.

### **1.3.3 Studie 3: Früh geborene Kinder | Termgeborene Kinder**

Harnproben von 15 VLBW-Kindern sowie von 20 gesunden reif geborenen Kindern, die als Kontrollgruppe dienten, mit einem Gestationsalter (GA) von im Median 27+1 Schwangerschaftswochen (SSW) bzw. 39+4 SSW und einem Geburtsgewicht im Median von 914 g bzw. 3.338 g wurden nach der Geburt in der Klinik für Neonatologie der Charité Berlin, Campus Virchow gesammelt. Die Konzentration im Harn von RBP4, holo-RBP4, apo-RBP4, Retinol, Transthyretin (TTR) sowie die Konzentration von Kreatinin und von Gesamtprotein wurden analysiert.

---

## **1.4 Methoden**

---

Die Bestimmung des Retinols erfolgte mit der Hochdruckflüssigkeitschromatografie (HPLC) wie bisher beschrieben (Raila, Wirth, 2004).

Die RBP4- und TTR-Konzentrationen wurden mit Hilfe eines Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA) gemessen; dabei wurden polyklonale Antikörper verwendet, wie bisher beschrieben (Schweigert, Raila, 2004).

Die Bestimmung des relativen Anteils von apo- und holo-RBP4 im Urin erfolgte nach nativer Elektrophorese und anschließendem immunologischen Nachweis mit dem Westen-Blot-Verfahren. Für die nachfolgende Quantifizierung der immunoreaktiven Banden wurde die Banden-Intensität mit einem Imager (Bio-Rad, München, Deutschland) eingelesen und mit der Software Quantity One® (Bio-Rad) ausgewertet und erstmals in der Publikation zu Studie 3 beschrieben (Nagl, Loui, 2009).

Spezifische posttranslationale Modifikationen des RBP4 konnten nach Immunopräzipitation der Serumproben mit einem polyklonalen RBP4-Antikörper und mit der nachfolgend durchgeführten massenspektrometrischen Methode der Matrix-unterstützten Laser-Desorption/Ionisation (MALDI) detektiert werden, wie in der Publikation zu Studie 1 beschrieben (Frey, Nagl, 2008).

#### **1.4.1 Statistische Auswertung**

Zur Auswertung der Daten wurde das Programm SPSS Version 15.0 angewendet. Die Daten sind als Median dargestellt; zusätzlich ist die Interquartilsspanne (25.–75. Perzentile) angegeben. Es wurden nichtparametrische Tests angewendet, weil die Werte keiner Normalverteilung unterlagen. Für den Vergleich zwischen mehreren Gruppen wurde der Kruskal-Wallis-Test und für den Vergleich zwischen zwei Gruppen der Mann-Whitney-U-Rangsummen-Test für alle kontinuierlichen und kategorischen Variablen angewendet. Korrelationen wurden mit dem Spearman-Korrelations-Koeffiziententest ermittelt. Als statistisch signifikant galten Ergebnisse, die einen zweiseitigen p-Wert von kleiner 0,05 aufwiesen. Bei allen Variablen, die in Harnproben der VLBW-Kinder untersucht wurden, erfolgte die Berechnung zur Bezugsgröße Urin-Kreatinin-Konzentration, um individuelle Schwankungen der Harnausscheidung möglichst zu minimieren.

---

### **1.5 Ergebnisse**

---

#### **1.5.1 Studie 1: CKD-Patienten vs. CLD-Patienten vs. Kontrolle**

Zwischen den CKD-Patienten und CLD-Patienten sowie der Kontrolle gab es keine Unterschiede hinsichtlich des Alters und des Body-Mass-Index (BMI). Die Serum-CRP-Konzentration wies einen höheren Wert bei CLD- und CKD-Patienten im Vergleich zur Kontrolle auf ( $P < 0.001$ , beide). Serum-Kreatinin, als Marker der Nierenfunktion, war erhöht im Serum der CKD-Patienten im Vergleich zu den Serum-Werten der CLD-Patienten und der Kontrolle ( $P < 0.001$ , beide). Die Konzentrationen der Alanin-Aminotransferase (ALT), Gamma-Glutamyl-Transferase (GGT), Alkalin-Phosphatase (ALP) und Aspartat-Aminotransferase (AST) als Standardtests der Leberfunktion waren in der CLD-Gruppe erhöht im Vergleich zur Kontrollgruppe ( $P < 0.001$ ).

#### **Biochemische Variablen des ROH-RBP4-TTR-Komplexes**

Die CKD-Patienten wiesen signifikant höhere RBP4-Serum-Konzentrationen als die Kontrollgruppe auf ( $P < 0.001$ ); bei den CLD-Patienten war die RBP4-Serum-Konzentration erniedrigt im Vergleich zur Kontrolle ( $P < 0.001$ ), wobei die CLD-Patienten mit C2-Zirrhose die niedrigsten RBP4-Werte aufwiesen verglichen mit CLD-Patienten, die an Fibrose oder einem Leberkarzinom erkrankt waren.

Die ROH-Serumkonzentration war bei CKD-Patienten höher als bei CLD-Patienten ( $P < 0.001$ ) sowie in der Kontrolle höher im Vergleich zu den CLD-Patienten ( $P < 0.001$ ). Die höchsten TTR-Konzentrationen konnten im Serum der Kontrollen nachgewiesen werden verglichen mit den CKD- sowie CLD-Patienten ( $P < 0.001$ , beide).

Das molare Ratio von RBP4:ROH war signifikant reduziert sowohl bei CLD-Patienten im Vergleich zur Kontrollgruppe ( $P < 0.001$ ) als auch zur CKD-Gruppe ( $P < 0.001$ ). Die CKD-Patienten wiesen dagegen das signifikant höchste RBP4:ROH-Ratio auf.

#### **Relativer Anteil von apo- und holo-RBP4**

Der relative Anteil des holo-RBP4 war höher im Serum der Kontrollen und der CLD-Patienten im Vergleich zu CKD-Patienten ( $P < 0.001$ , beide).

#### **Relativer Anteil der RBP4-L und RBP4-LL-Formen (MALDI-TOF-MS)**

Die RBP4-Immunopräzipitation und die nachfolgende MALDI-TOF-MS-Analyse wurden genutzt, um die molekularen Massen von RBP4, RBP4-L und RBP4-LL in den untersuchten Gruppen zu bestimmen. Die Intensität des Volllängen-RBP4 wurde 100% gesetzt. RBP4-L und RBP4-LL wurden analysiert und in Prozent zu RBP4 gesetzt. Bei CKD-Patienten war sowohl der Anteil des RBP4-L als auch der Anteil des RBP4-LL (87% bzw. 18%) signifikant höher im Vergleich zu den CLD-Patienten und der Kontrolle ( $P < 0.001$ , beide).

#### **Korrelationen zwischen der RBP4-Konzentration und RBP-Isoformen und Parametern der Nierenfunktion**

Die Serum-Kreatinin-Konzentration korrelierte signifikant mit der RBP4-Konzentration ( $r=0.63$ ), mit apo-RBP4 ( $r=0.67$ ), RBP4-L ( $r=0.49$ ), RBP4-LL ( $r=0.44$ ) sowie mit ROH ( $r=0.40$ ) in der gesamten Studienpopulation.

### **1.5.2 Studie 2: NTX-Patienten vs. HD-Patienten vs. Kontrolle**

Sowohl der systolische Blutdruck als auch die Triglyzerid- sowie die CRP-Konzentration im Serum der beiden Patientengruppen zeigten signifikant höhere Werte als in der Kontrolle, wohingegen die Hämoglobin-Konzentration und der Hämatokritwert signifikant reduziert waren. Die eGFR der Kontrolle wies signifikant höhere Werte auf als in der NTX- sowie HD-Gruppe. Bei 3 Patienten (17%) der HD-Gruppe bzw. 5 Patienten (17%) der NTX-Gruppe wurde ein T2DM diagnostiziert.

Die HD- und NTX-Patienten wiesen signifikant höhere Serum-Konzentrationen von RBP4, apo-RBP4 und RBP4-LL – verglichen mit der Kontrollgruppe – auf. Bei nieren-transplantierten Patienten konnten signifikant höhere Serum-RBP4-L- und ROH-Konzentrationen im Vergleich zur Kontrollseren sowie signifikant höhere RBP4- und apo-RBP4-sowie ROH-Konzentrationen verglichen mit den Serum-Werten der hämodialysierten Patienten nachgewiesen werden.

#### **Relativer Anteil von apo- und holo-RBP4**

Der relative Anteil des holo-RBP4 war signifikant reduziert bei HD-Patienten im Vergleich zu Kontrollen und NTX-Patienten.

#### **Relativer Anteil von RBP4-L und RBP4-LL**

Es konnten signifikant höhere Anteile von RBP4-LL im Serum von HD-Patienten und NTX-Patienten im Vergleich zu den Kontrollen gezeigt werden. Des Weiteren war der Anteil des Serum-RBP4-L bei NTX-Patienten erhöht im Vergleich zur Kontrolle. Die Werte des RBP4-L und RBP4-LL unterschieden sich nicht zwischen der HD- und NTX-Gruppe.

### **Korrelationen zwischen Parametern des VA-Transportkomplexes und Parametern der Nierenfunktion, Entzündung und metabolischem Syndrom**

Für die gesamte Studienpopulation wurden folgende signifikante Korrelationen gefunden: Die RBP4- ( $r=-0.55$ ) und ROH- ( $r=-0.24$ ) Serum-Konzentration, apo-RBP4 ( $r=-0.59$ ) sowie die relativen Intensitäten von RBP4-L ( $r=-0.34$ ) und RBP4-LL ( $r=-0.47$ ) korrelierten invers mit der eGFR. Des Weiteren konnten noch folgende gruppenspezifische Korrelationen gezeigt werden: eine Korrelation zwischen RBP4-L und der eGFR ( $r=0.43$ ) der HD-Gruppe; bei den Variablen der NTX-Gruppe korrelierten apo-RBP4 ( $r=-0.52$ ), der Hämatokrit ( $r=0.63$ ) mit der eGFR. Zudem korrelierten die CRP-Werte mit RBP4 ( $r=0.55$ ), apo-RBP4 ( $r=0.28$ ) und RBP4-LL ( $r=0.31$ ) in der gesamten Studiengruppe. Darüber hinaus konnte eine Korrelation zwischen RBP4 und der Blutglukose-Konzentration ( $r=0.42$ ), dem systolischen Blutdruck ( $r=0.38$ ), der Triglyzerid- ( $r=0.45$ ) und der Cholesterol-Konzentration ( $r=0.64$ ) gezeigt werden.

#### **1.5.3 Studie 3: VLBW-Kinder vs. termgeborene Kinder**

14 von 15 der VLBW-Kinder schieden substantielle Mengen an ROH, an RBP4 und an TRR im Harn aus. In der Gruppe der termgeborenen Kinder konnte bei 17 von 20 Kindern eine Retinolausscheidung im Harn nachgewiesen werden, wobei die Konzentration bei etwa 20% der ROH-Exkretion der früh geborenen Kinder lag. Die Exkretion von RBP4 und TTR im Harn war in der Gruppe der VLBW-Kinder deutlich höher.

Zudem wurde der Marker der renalen Funktion, das Urin-Protein:Urin-Kreatin-Ratio (UP/UC-Ratio) untersucht und wies einen signifikant höheren Wert auf bei den VLBW-Kindern im Vergleich zur Kontrollgruppe. Des Weiteren wurde der Sättigungskoeffizient von Urin-ROH bestimmt, zum einen durch die Bildung des ROH:RBP4-Ratio und zum anderen durch die Bestimmung des prozentualen Verhältnisses von apo-RBP4 zu holo-RBP4. Das ROH-RBP4-Ratio war niedriger in der Gruppe der VLBW-Kinder im Vergleich zur Kontrolle. Apo-RBP4 war demnach die Hauptform des im Urin vorliegenden RBP4 sowohl bei VLBW-Kindern (37% holo-RBP4 zu 63% apo-RBP4) als auch bei termgeborenen Kindern (40% holo-RBP4 zu 60% apo-RBP4).

---

## **1.6 Diskussion**

Die Ergebnisse dieser Arbeit zeigen, dass die Nieren eine wichtige Rolle im RBP4-Metabolismus – insbesondere für die Aufrechterhaltung der ROH- und RBP4-Homöostase – ausüben.

In der ersten Studie wurden Serumproben von Patienten mit chronischer Nierenerkrankung (CKD) sowie chronischer Lebererkrankung (CLD) analysiert, um zu untersuchen, ob Konzentrationsunterschiede von ROH, RBP4 und TTR im Serum zwischen den beiden Patienten-Gruppen auftreten, des Weiteren, ob die vermehrte Bildung der RBP4-Isoformen ein spezifisches Ereignis bei CKD-Patienten darstellt. Es konnte gezeigt werden, dass chronische Nierenfunktionsstörungen zu erhöhten RBP4-Serumkonzentrationen führen. Bei CLD-Patienten konnten reduzierte RBP4-Werte im Serum nachgewiesen werden, was durch die verminderte hepatische RBP4-Synthese bei diesen

Patienten aufgrund einer verminderten Leberfunktion erklärt werden kann (Friedman, 1999, Newsome, Beldon, 2000). Die Ergebnisse früherer Studien, die zeigten, dass die Serum-RBP4-, ROH- und TTR-Konzentrationen bei verschiedenen Lebererkrankungen vermindert sind, insbesondere bei Patienten mit C2-Zirrhose oder hepatozellulärem Karzinom, konnte in unserer Studie bestätigt werden (Bahr, Boeker, 2009, Yuan, Gao, 2006). Der Verlust von funktionellem Lebergewebe führt zu einer Abnahme der Synthese von RBP4 und TTR und damit zu einer beeinträchtigten Freisetzung des VA-Transport-Komplexes in die Zirkulation (Newsome, Beldon, 2000).

Die Ergebnisse der ersten Studie zeigen des Weiteren eine relative Zunahme von RBP4-Isoformen im Serum von CKD-Patienten im Vergleich zu Kontrollseren von gesunden Probanden sowie von CLD-Patienten. Die durch spezifische C-terminale Verkürzung des RBP4 um ein bzw. zwei Leucinmoleküle entstandenen Isoformen im Serum treten vermehrt bei CKD-Patienten auf. Im Serum der CLD-Patienten – unabhängig von der Form der Lebererkrankung – traten diese Verkürzungen des Volllängen-RBP4 nicht im vermehrten Maße auf und waren adäquat zu den Serum-Werten der gesunden Probanden.

Die zugrunde liegenden Mechanismen der Bildung dieser verkürzten Formen des RBP4 sind bislang noch nicht geklärt. Da eine Zunahme der Retention von RBP4 im Blut von chronisch Nierenkranken eintritt und RBP4 daher über einen längeren Zeitraum im Blut zirkuliert (Vahlquist, Peterson, 1973) ist das Molekül möglicherweise verstärkt Modifikationen ausgesetzt. Bei Patienten mit eingeschränkter glomerulärer Filtration war die RBP4-LL/RBP4-Ratio zugunsten des RBP4-LL im Gegensatz zu Kontrollprobanden verschoben (Jaconi, Rose, 1995). Jaconi et al. postulierten in diesem Zusammenhang die Existenz einer spezifischen Carboxypeptidase im Blut, die die Abspaltung eines Leucin-Moleküls oder von zwei Leucin-Molekülen am C-Terminus des RBP4 bewirkt (Jaconi, Rose, 1995). Ob diese Aminosäuren eine Signalwirkung ausüben oder welche Bedeutung dieser Abspaltung zugrunde liegen könnte, ist bislang nicht erforscht. In diesem Zusammenhang ist es erwähnenswert, dass Leucin eine essenzielle, die Insulinausschüttung stimulierende Aminosäure ist und die Infusion von Aminosäuren wie Leucin und Tryptophan einen Anstieg des renalen Plasmaflusses sowie der glomerulären Filtrationsrate bei gesunden Probanden bewirkt (Castellino, Giordano, 1988, Nair and Short, 2005). Studien zeigten zudem, dass die Interaktion des C-Terminus von RBP4 mit TTR auf physiologischer Ebene bedeutsam für die RBP4-Clearance ist – Verkürzungen des C-Terminus um ein (RBP4-L) bzw. zwei Aminosäuren (RBP4-LL) führen zu einer verringerten Affinität des RBP4-Moleküls zu TTR und erhöhen somit die Wahrscheinlichkeit der glomerulären Filtration von RBP4 (Naylor and Newcomer, 1999, Zanotti and Berni, 2004).

Cohen et al. (Cohen, Horl, 2004) untersuchten die Wirkung des aus dem Ultrafiltrat isolierten RBP4-L und RBP4-LL von akut nierenkranken Patienten auf den Metabolismus, die Apoptose sowie die Chemotaxis der polymorphonukleären Leukozyten. Diese für die unspezifische Immunabwehr wichtigen Vorgänge wurden durch RBP4-L und RBP4-LL inhibiert.

Unter physiologischen Bedingungen korrelieren die Konzentrationen von ROH und RBP4 im Serum miteinander, da ca. 98% des RBP4 an ROH (holo-RBP4) gebunden vorliegt und etwa 2% als Retinol-freies RBP4 (apo-RBP4) zirkuliert (Bernard, Vyskocyl, 1988, Siegenthaler and Saurat, 1987). Bei gesunden Menschen ist das molare Verhältnis von RBP4 zu

Retinol daher nahezu 1 : 1 (Almekinder, Manda, 2000) und steigt bei CKD auf etwa 2:1 (Smith and Goodman, 1971). In unserer Studie war das RBP4:ROH-Ratio der CKD-Patienten im Vergleich zur Kontrolle und zu den leberkranken Patienten ebenfalls erhöht (1.9:1 (CKD) vs. 1.4:1 (Kontrolle) vs. 1.0 : 1 (CLD)) und verweist auf eine starke Zunahme des Anteils des Retinol-freien RBP (apo-RBP4) im Blut. Mit Hilfe des nativen Western Blot konnten diese Annahme verifiziert werden: Etwa 33% des RBP4 im Serum der CKD-Gruppe lag in Form von apo-RBP4 vor (zum Vergleich: 14% apo-RBP4-Anteil bei der Kontrolle und 15% apo-RBP4-Anteil bei CLD-Patienten). Als Ursache für den Anstieg der RBP4-Werte wird die eingeschränkte glomeruläre Filtration von apo-RBP4 und der reduzierte Katabolismus von holo-RBP4 im proximalen Tubulus postuliert. In einem Versuch mit Ratten, bei denen ein akutes Nierenversagen induziert wurde, wirkte der vermehrte Anteil des apo-RBP4 im Serum – experimentell durch eine Injektion von apo-RBP4 noch erhöht – als vermeintlicher Indikator des peripheren Bedarfs und damit als positives Feedbacksignal für die Leber, nun im verstärkten Maße holo-RBP4 auszuschleusen (Gerlach and Zile, 1990, Gerlach and Zile, 1991). Das hat einen Anstieg der RBP4-Serumkonzentration zur Folge (Gerlach and Zile, 1990, Jaconi, Saurat, 1996, Kelleher, Humphrey, 1983, Peterson and Berggard, 1971, Willnow, Hilpert, 1996). Die Korrelation der apo-RBP4-Werte mit der Konzentration des Serum-Kreatinin – als Marker einer eingeschränkten renalen Clearance (Stevens, Coresh, 2006) – zeigt, dass bei verminderter Nierenfunktion die regulatorische Leistung der Nieren in Bezug auf den ROH-RBP4-Metabolismus abnimmt.

Bei gesunden Adulten wird in der Literatur ein Wert von ca. 0.4 für das Ratio von RBP4:TTR im Serum angegeben (Zanotti and Berni, 2004). Erkrankungen der Nieren sind assoziiert mit erhöhten RBP4-Konzentrationen. Studien zeigen, dass das Ratio bei Nierenkranken auf ca. 1 ansteigt (Bernard, Vyskocyl, 1988, Cano, Di Costanzo-Dufetel, 1988, Cano, 2002). Die Ergebnisse unserer Studie bestätigen diesen Anstieg, wobei das RBP4:TTR-Ratio bei den CKD-Patienten um das 3-fache (0.96 vs.0.36) erhöht war im Vergleich zu Kontrollen.

Basierend auf den Ergebnissen der ersten Studie, die einen Anstieg von RBP4-Isoformen im Serum von CKD-Patienten gezeigt hatte, wurde in der zweiten Studie untersucht, ob dieser Effekt auch im Serum von Patienten im Stadium einer terminalen Niereninsuffizienz, die sich einer Nierenersatztherapie (Hämodialyse bzw. Nierentransplantation) unterzogen, auftritt.

Infolge der Nierentransplantation steigt die glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) im Vergleich zu den HD-Patienten im Median um etwa den Faktor 3 (25 vs. 9 mL/min/1.73 m<sup>2</sup>; Kontrolle: 83). Der Wert der Serum-RBP4-Konzentration bzw. der ROH-Konzentration ist jedoch nach Transplantation etwa 3-fach bzw. 1.5-fach höher als bei gesunden Probanden und um das 1,8-fache bzw. 1.4-fache erhöht im Vergleich zu hämodialysierten Patienten. Ein widersprüchliches Ergebnis, da durch die gesteigerte GFR der Nieren auch eine Tendenz zur Normalisierung der RBP4- sowie ROH-Konzentration im Serum zu erwarten gewesen wäre. Diese Beobachtung könnte ursächlich erklärt werden mit der noch immer reduzierten Filtrations- und Reabsorptionsleistung der Nieren, des Weiteren mit einer Dysfunktion der proximalen Tubuluszellen (PTD) bei stabiler Transplantatfunktion und einer daraus resultierenden Störung der homöostatischen Regulation des ROH-RBP4-Metabolismus (de Matos, Camara, 2009). Auch ein Medikationseffekt – verursacht durch

die therapeutische Gabe von Glucocorticoiden, die die hepatische RBP4-Synthese stimulieren – ist nicht auszuschließen (Borek, Smith, 1981, Georgieff, Radmer, 1991).

Wir konnten in dieser Studie zum ersten Mal zeigen, dass es – neben einem quantitativen Anstieg von Serum-RBP4 – auch zu einer Zunahme der RBP4-Isoformen im Serum von NTX- und HD-Patienten im Vergleich zu Kontrollseren von gesunden Probanden kommt: Die durch spezifische C-terminale Verkürzung des RBP4 um ein bzw. zwei Leucinmoleküle entstandenen Isoformen treten vermehrt im Serum auf (siehe Abbildung 1.6.1 A-B).

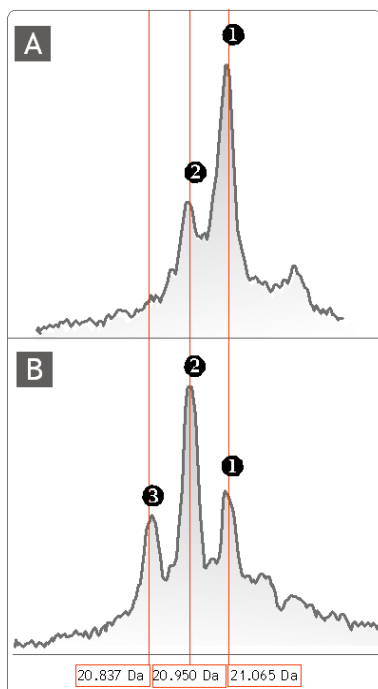


Abbildung 1.6-1 A-B: Exemplarisches MALDI-Spektrum des RBP4 nach Immunopräzipitation des Serums (A = Serum, gesunder Proband; B = Serum, HD-Patient)

Dargestellt ist die native RBP4-Form (Peak 1=21.065 Da) sowie Verkürzungen des C-terminalen Endes des RBP4 um ein Leucin (RBP4-L, Peak 2=20.950 Da) bzw. zwei Leucin (RBP4-LL, Peak 3=20.837 Da); Da=Dalton

Ebenso ist der Anteil des apo-RBP4 (Retinol-ungebundenes RBP4) im Serum der NTX- und HD-Patienten höher als bei gesunden Probanden, deren apo-RBP4-Anteil etwa 10% beträgt. Der Sättigungsgrad des RBP4 mit Retinol im Serum, d. h. der relative Anteil des holo-RBP, ist dabei höher bei den NTX-Patienten als bei den HD-Patienten (70% vs. 60% holo-RBP4).

Die TTR-Konzentration im Serum der NTX-Patienten ist vergleichbar mit der Kontrolle, HD-Patienten weisen dagegen reduzierte TTR-Konzentrationen im Vergleich zur Kontrolle und zu den NTX-Patienten auf. TTR fungiert als sensitives Markerprotein für den Ernährungs- und Entzündungsstatus: Es ist bekannt, dass die Leber mit einer Abnahme der TTR-Syntheseleistung auf akute und chronische Entzündungen sowie Proteinmangel reagiert (Ingenbleek and Young, 2002). Indices für das gehäufte Auftreten von Entzündungen und von einer Protein-Energie-Mangelernährung (PEM) bei HD-Patienten sind der erhöhte Wert des unspezifischen Entzündungsmarkers CRP sowie der niedrige BMI-Wert. Durch neuere Untersuchungen rückte RBP4 in den letzten Jahren aufgrund der besonderen Bedeutung für Adipositas-assoziierte kardiovaskuläre und metabolische Erkrankungen verstärkt in den Fokus klinischer Untersuchungen. Sie postulierten, dass RBP4 ein Risikomarker für Insulinresistenz und die Progression eines Diabetes mellitus Typ2 (T2DM) darstellt (Yang, Graham, 2005).



In diesem Zusammenhang ist es von Interesse, dass in der zweiten Studie die Werte der RBP4-Konzentration mit den Werten des systolischen Blutdruckes, der Blutglukose sowie der Triglyzeride korrelierten. Das metabolische Syndrom, eine Stoffwechselstörung, ist assoziiert mit einem Anstieg dieser letztgenannten drei Parameter (Alberti, Eckel, 2009). Graham et al. (Graham, Yang, 2006) wiesen nach, dass erhöhte RBP4-Spiegel mit dem Auftreten des metabolischen Syndroms assoziiert waren. Ein Kausalzusammenhang zwischen erhöhter RBP4-Konzentration und der Pathogenese des T2DM ist jedoch umstritten (Cabre, Lazaro, 2007, Raila, Henze, 2007). Viele Patienten mit Nierenfunktionsstörungen leiden an metabolischen Erkrankungen wie T2DM oder Insulinresistenz – neben Bluthochdruck ein weiterer bedeutender Risikofaktor für die Entstehung chronischer Nierenerkrankungen (Locatelli, Pozzoni, 2006, Middleton, Foley, 2006). So konnten Henze et al. (Henze, Frey, 2008) zeigen, dass vielmehr eine verminderte Nierenfunktion als ein möglicher ursächlicher Faktor für den Anstieg der RBP4-Serum-Konzentration in Betracht gezogen werden muss, wenn eine Assoziation zwischen RBP4, Adipositas und Insulinresistenz hergestellt werden soll.

Die vorgestellten Studien zeigen, dass chronische Nierenerkrankungen zu einem Anstieg der Serum-RBP4-Konzentration sowie einer Zunahme von RBP4-Isoformen führen. Weitere Untersuchungen sind notwendig, um Informationen darüber zu erhalten, inwieweit RBP4 vor dem Hintergrund einer verminderten renalen Funktion den Prozess der Pathogenese der Insulinresistenz bzw. des T2DM beeinflusst.

Die abrupte Unterbrechung der Nephrogenese bei einem *Partus immaturus* vor der 34. SSW führt zu Nierenfunktionsstörungen, die folglich den VA-Metabolismus beeinflussen. Das Ziel der dritten Studie war es daher, die Konzentration von Variablen des VA-Transportkomplexes im Harn von früh geborenen VLBW-Kindern zu untersuchen und mit einer Gruppe gesunder termgeborener Kinder zu vergleichen.

Ca. 10% aller Neugeborenen kommen zu früh zur Welt und etwa 1-2% werden vor der 32. Schwangerschaftswoche geboren (Bundesamt, 2007). Das sind in der Regel Babys, die ein Geburtsgewicht von weniger als 1.500 Gramm (VLBW) aufweisen.

Die Effizienz der Retinolverwertung in den peripheren Zellen hängt von der hepatischen und renalen Funktion ab. Bei preterm geborenen VLBW-Kindern ist die normale Nephrogenese in der Niere unterbrochen (Avner, 1992, Fouser and Avner, 1993). Dieser von der 6. Embryonalwoche an beginnende und bis zur 36. Fetalwoche reichende hochkomplexe Prozess der Genese der Nieren und des Harn ableitenden Systems ist gekennzeichnet vom koordinierten Wachstum und der Differenzierung endothelialer, mesenchymaler und epithelialer Zellen (Avner, 1992).

Deshalb sind früh geborene Kinder einem stärkeren Risiko für die Inzidenz einer renalen Erkrankung ausgesetzt (Hughson, Farris, 2003). In dieser Studie galt unser Interesse deshalb der Untersuchung, inwieweit die Reifung der Nieren assoziiert ist mit der Exkretion der Parameter ROH, RBP4 und TTR, die Rückschlüsse auf die glomeruläre und tubuläre Nierenfunktionalität ermöglichen.

In dieser Studie konnte zum ersten Mal gezeigt werden, dass VLBW-Kinder eine um das Fünffache erhöhte ROH- sowie eine um das 16-fache erhöhte RBP4-Ausscheidung im Vergleich zu termgeborenen Kindern aufweisen. Termgeborene Kinder scheiden ebenfalls geringe Mengen von ROH und RBP4 mit dem Harn aus, jedoch geschieht das im Rahmen

eines physiologischen Anpassungsprozess, der assoziiert ist mit einem Reifungsprozess der Tubuli. Früh geborene Kinder wiesen zudem in dieser Studie eine weitaus höhere ROH:Kreatinin-, RBP4:Kreatinin-Ratio und Protein:Kreatinin-Ratio auf als Termgeborene. Begründet wird das geringere Ratio der Termgeborenen mit einer Funktionszunahme des proximalen Tubulus im Verlauf der Reifung. Die hohen Werte der VLBW-Kinder suggerieren renale Unreife, insbesondere des proximalen Tubulus. Die RBP4:Kreatinin-Ratio und die ROH:Kreatinin-Ratio erweisen sich in diesem Zusammenhang als nützliche Marker, um renale Unreife bei Neugeborenen zu detektieren.

Der hohe Wert des molaren Ratio von RBP4:TTR (12.6 für VLBW-Kinder und 12.9 für termgeborene Kinder) im Urin zeigt, dass der holo-RBP4-TTR-Komplex aufgrund seiner molekularen Masse von 76 kDa nicht frei glomerulär filtriert wird, sondern vielmehr als TTR ungebundenes, freies holo-RBP4 und apo-RBP4 (21 kDa). Obwohl VLBW-Kinder wesentlich mehr ROH ausschieden, unterschied sich das Verhältnis des Anteils von holo-RBP und apo-RBP in beiden Gruppen nicht voneinander; 40% des RBP4 im Urin liegt als holo-RBP4 vor und etwa 60% als Retinol-freies RBP4.

Basierend auf dem Ergebnis der durchschnittlichen ROH-Exkretion verlieren VLBW-Kinder bis zu 97 µg ROH am Tag [äquivalent zu 35–65% der empfohlenen täglichen Aufnahmemenge (RDI) von VA (150–300 µg ROH Äquivalente) (American Academy of pediatrics, 1998)]. Durch diesen Vorgang könnte postnatal die Serum-Retinol-Konzentrationen beeinflusst werden. Das deckt sich mit der Beobachtung in Studien, dass trotz VA-Supplementierung 25% der VLBW-Kinder anhaltend niedrige ROH-Level aufwiesen

(< 200 µg/l) (Tyson, Wright, 1999). Ein klinisches Ziel ist es, langfristig ein nichtinvasives Monitorsystem zur Vitamin-A-Supplementierung bei früh geborenen Kindern zu entwickeln, um die Vitamin-A-Versorgung der sehr kleinen Frühgeborenen besser als heute überwachen und im Kontext mit der Nierenfunktion bewerten zu können.

Die Ergebnisse weisen darauf hin, dass die renale Ausscheidung von ROH, RBP4 und TTR in einem Zusammenhang mit der Proteinexkretion und der reduzierten tubulären Resorption steht. Da bei Frühgeborenen die Nierenreife nicht abgeschlossen ist, kommt es zu einem erheblichen Verlust von ROH und RBP4 über den Harn, die möglicherweise zu einem verstärkten VA-Defizit führen könnte.

Die Studie erhöht die Kenntnisse über den Vitamin-A-Stoffwechsel bei Frühgeborenen und liefert Hinweise auf die Entwicklung der proximalen und tubulären Nierenfunktion bei Frühgeborenen. Eine Frühgeburt und ein damit verbundenes niedriges Geburtsgewicht beeinträchtigt den Entwicklungsprozess der Nieren. Epidemiologische Studien zeigen, dass preterm geborene Kinder im Erwachsenenalter eine höhere Inzidenzrate von kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes, Bluthochdruck sowie chronischen Nierenerkrankungen aufweisen (Hovi, Andersson, 2007, Hughson, Farris, 2003, Rotteveel, van Weissenbruch, 2008). Daher ist ein sorgfältiges postnatales Monitoring der Nierenfunktion wichtig, um frühzeitig geeignete Interventionsstrategien zu finden. Durch das gezielte therapeutische Eingreifen kann möglicherweise das Risiko renaler Folgeschäden im Erwachsenenalter verringert werden.

## 2 Literaturverzeichnis

Alberti KG, Eckel RH, Grundy SM, et al. Harmonizing the metabolic syndrome: a joint interim statement of the International Diabetes Federation Task Force on Epidemiology and Prevention; National Heart, Lung, and Blood Institute; American Heart Association; World Heart Federation; International Atherosclerosis Society; and International Association for the Study of Obesity. *Circulation* 2009;120(16):1640-5.

Almekinder J, Manda W, Soko D, et al. Evaluation of plasma retinol-binding protein as a surrogate measure for plasma retinol concentrations. *Scand J Clin Lab Invest* 2000;60(3):199-203.

American Academy of pediatrics CoN. Nutritional needs of preterm infants. IL.: American Academy of Pediatrics, Elk Grove village; 1998.

Avner ED. Embryogenesis and anatomic development of the kidney. Philadelphia: AB Saunders; 1992.

Baeten JM, Richardson BA, Bankson DD, et al. Use of serum retinol-binding protein for prediction of vitamin A deficiency: effects of HIV-1 infection, protein malnutrition, and the acute phase response. *Am J Clin Nutr.* 2004;79(2):218-25.

Bahr MJ, Boeker KH, Manns MP, Tietge UJ. Decreased hepatic RBP4 secretion is correlated with reduced hepatic glucose production but is not associated with insulin resistance in patients with liver cirrhosis. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2009;70(1):60-5.

Bellovino D, Apreda M, Gagnoli S, Massimi M, Gaetani S. Vitamin A transport: in vitro models for the study of RBP secretion. *Mol Aspects Med.* 2003;24(6):411-20.

Bernard A, Vyskocyl A, Mahieu P, Lauwerys R. Effect of renal insufficiency on the concentration of free retinol-binding protein in urine and serum. *Clin Chim Acta.* 1988;171(1):85-93.

Blomhoff R. Transport and metabolism of vitamin A. *Nutr Rev* 1994;52(2 Pt 2):S13-23.

Blomhoff R, Green MH, Norum KR. Vitamin A: physiological and biochemical processing. *Annu Rev Nutr* 1992;12:37-57.

Borek C, Smith JE, Soprano DR, Goodman DS. Regulation of retinol-binding protein metabolism by glucocorticoid hormones in cultured H4II EC3 liver cells. *Endocrinology* 1981;109(2):386-91.

Bundesamt S, editor. Statistisches Jahrbuch 2007 für die Bundesrepublik Deutschland. Wiesbaden; 2007.

Cabre A, Lazaro I, Girona J, et al. Retinol-binding protein 4 as a plasma biomarker of renal dysfunction and cardiovascular disease in type 2 diabetes. *J Intern Med* 2007; 262(4):496-503.

Cano N, Di Costanzo-Dufetel J, Calaf R, et al. Prealbumin-retinol-binding-protein-retinol complex in hemodialysis patients. *Am J Clin Nutr* 1988;47(4):664-7.

Cano NJ. Metabolism and clinical interest of serum transthyretin (prealbumin) in dialysis patients. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40(12):1313-9.

Castellino P, Giordano C, Perna A, DeFronzo RA. Effects of plasma amino acid and hormone levels on renal hemodynamics in humans. *Am J Physiol* 1988;255(3 Pt 2):F444-9.

Cavanna A, Giovine G, Tappero R, et al. Diagnostic value of prealbumin and retinol-binding protein in acute and chronic liver diseases. *Ric Clin Lab.* 1985;15(1):71-7.

Cohen G, Horl WH, Kraemer KH, et al. Retinol binding protein isolated from acute renal failure patients inhibits polymorphonuclear leucocyte functions  
Effects of 8-methoxypsoralen and ultraviolet radiation on human lymphoid cells in vitro  
Reversal of postoperative immunosuppression in man by vitamin A. *Eur J Clin Invest.* 2004;34(11):774-81.

de Jong PE, van der Velde M, Gansevoort RT, Zoccali C. Screening for chronic kidney disease: where does Europe go? *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3(2):616-23.

de Matos AC, Camara NO, de Oliveira AF, et al. Functional and morphologic evaluation of kidney proximal tubuli and correlation with renal allograft prognosis. *Transpl Int* 2009.

Fouser L, Avner ED. Normal and abnormal nephrogenesis. *Am J Kidney Dis* 1993;21(1):64-70.

Frei US-H, H.-J. Nierenersatztherapie in Deutschland. QuaSi-Niere Jahresberichte 1995 bis 2005/2006. Berlin, Deutschland.; 2008.

Frey SK, Nagl B, Henze A, et al. Isoforms of retinol binding protein 4 (RBP4) are increased in chronic diseases of the kidney but not of the liver. *Lipids Health Dis* 2008;7:29.

Friedman SL. Cytokines and fibrogenesis. *Semin Liver Dis* 1999;19(2):129-40.

Gaetani S, Bellovino D, Apreda M, Devirgiliis C. Hepatic synthesis, maturation and complex formation between retinol-binding protein and transthyretin. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40(12):1211-20.

Georgieff MK, Radmer WJ, Sowell AL, et al. The effect of glucocorticosteroids on serum, liver, and lung vitamin A and retinyl ester concentrations. *J Pediatr Gastroenterol Nutr* 1991;13(4):376-82.

Gerlach TH, Zile MH. Upregulation of serum retinol in experimental acute renal failure. *Faseb J.* 1990;4(8):2511-7.

Gerlach TH, Zile MH. Effect of retinoic acid and apo-RBP on serum retinol concentration in acute renal failure. *Faseb J.* 1991;5(1):86-92.

Graham TE, Yang Q, Bluher M, et al. Retinol-binding protein 4 and insulin resistance in lean, obese, and diabetic subjects. *N Engl J Med.* 2006;354(24):2552-63.

Henze A, Frey SK, Raila J, et al. Evidence that kidney function but not type 2 diabetes determines retinol-binding protein 4 serum levels. *Diabetes* 2008;57(12):3323-6.

Hovi P, Andersson S, Eriksson JG, et al. Glucose regulation in young adults with very low birth weight. *N Engl J Med* 2007;356(20):2053-63.

Hughson M, Farris AB, 3rd, Douglas-Denton R, Hoy WE, Bertram JF. Glomerular number and size in autopsy kidneys: the relationship to birth weight. *Kidney Int* 2003;63(6):2113-22.

Ingenbleek Y, Young VR. Significance of transthyretin in protein metabolism. *Clin Chem Lab Med.* 2002;40(12):1281-91.

Jaconi S, Rose K, Hughes GJ, Saurat JH, Siegenthaler G. Characterization of two post-translationally processed forms of human serum retinol-binding protein: altered ratios in chronic renal failure. *J Lipid Res.* 1995;36(6):1247-53.

Jaconi S, Saurat JH, Siegenthaler G. Analysis of normal and truncated holo- and apo-retinol-binding protein (RBP) in human serum: altered ratios in chronic renal failure. *Eur J Endocrinol.* 1996;134(5):576-82.

Kelleher J, Humphrey CS, Homer D, et al. Vitamin A and its transport proteins in patients with chronic renal failure receiving maintenance haemodialysis and after renal transplantation. *Clin Sci (Lond).* 1983;65(6):619-26.

Locatelli F, Pozzoni P, Del Vecchio L. Renal manifestations in the metabolic syndrome. *J Am Soc Nephrol* 2006;17(4 Suppl 2):S81-5.

Makimura H, Wei J, Dolan-Looby SE, Ricchiuti V, Grinspoon S. Retinol-binding protein levels are increased in association with gonadotropin levels in healthy women. *Metabolism* 2009;58(4):479-87.

Marino M, Andrews D, Brown D, McCluskey RT. Transcytosis of retinol-binding protein across renal proximal tubule cells after megalin (gp 330)-mediated endocytosis. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(4):637-48.

Middleton RJ, Foley RN, Hegarty J, et al. The unrecognized prevalence of chronic kidney disease in diabetes. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21(1):88-92.

Monaco HL. The transthyretin-retinol-binding protein complex. *Biochim Biophys Acta*. 2000;1482(1-2):65-72.

Nagl B, Loui A, Raila J, et al. Urinary vitamin A excretion in very low birth weight infants. *Pediatr Nephrol* 2009;24(1):61-6.

Nair KS, Short KR. Hormonal and signaling role of branched-chain amino acids. *J Nutr* 2005;135(6 Suppl):1547S-52S.

Naylor HM, Newcomer ME. The structure of human retinol-binding protein (RBP) with its carrier protein transthyretin reveals an interaction with the carboxy terminus of RBP. *Biochemistry*. 1999;38(9):2647-53.

Newsome PN, Beldon I, Moussa Y, et al. Low serum retinol levels are associated with hepatocellular carcinoma in patients with chronic liver disease. *Aliment Pharmacol Ther* 2000;14(10):1295-301.

Peterson PA, Berggard I. Isolation and properties of a human retinol-transporting protein. *J Biol Chem* 1971;246(1):25-33.

Raila J, Henze A, Spranger J, et al. Microalbuminuria is a major determinant of elevated plasma retinol-binding protein 4 in type 2 diabetic patients. *Kidney Int* 2007;72(4):505-11.

Raila J, Willnow TE, Schweigert FJ. Megalin-mediated reuptake of retinol in the kidneys of mice is essential for vitamin A homeostasis. *J Nutr*. 2005;135(11):2512-6.

- Raila J, Wirth K, Chen F, et al. Excretion of vitamin A in urine of women during normal pregnancy and pregnancy complications. *Ann Nutr Metab* 2004;48(5):357-64. Epub 2004 Nov 09.
- Rotteveel J, van Weissenbruch MM, Twisk JW, Delemarre-Van de Waal HA. Infant and childhood growth patterns, insulin sensitivity, and blood pressure in prematurely born young adults. *Pediatrics* 2008;122(2):313-21.
- Ruggenti P, Schieppati A, Remuzzi G. Progression, remission, regression of chronic renal diseases. *Lancet* 2001;357(9268):1601-8.
- Schweigert FJ. Inflammation-induced changes in the nutritional biomarkers serum retinol and carotenoids. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2001;4(6):477-81.
- Schweigert FJ, Raila J, Sehouli J, Buscher U. Accumulation of selected carotenoids, alpha-tocopherol and retinol in human ovarian carcinoma ascitic fluid. *Ann Nutr Metab*. 2004;48(4):241-5.
- Siegenthaler G, Saurat JH. Retinol-binding protein in human serum: conformational changes induced by retinoic acid binding. *Biochem Biophys Res Commun*. 1987;143(2):418-23.
- Smith FR, Goodman DS. The effects of diseases of the liver, thyroid, and kidneys on the transport of vitamin A in human plasma. *J Clin Invest*. 1971;50(11):2426-36.
- Stephensen CB, Alvarez JO, Kohatsu J, et al. Vitamin A is excreted in the urine during acute infection. *Am J Clin Nutr* 1994;60(3):388-92.
- Stevens LA, Coresh J, Greene T, Levey AS. Assessing kidney function--measured and estimated glomerular filtration rate. *N Engl J Med* 2006;354(23):2473-83.
- Tyson JE, Wright LL, Oh W, et al. Vitamin A supplementation for extremely-low-birth-weight infants. National Institute of Child Health and Human Development Neonatal Research Network. *N Engl J Med*. 1999;340(25):1962-8.
- Vahlquist A, Peterson PA, Wibell L. Metabolism of the vitamin A transporting protein complex. I. Turnover studies in normal persons and in patients with chronic renal failure. *Eur J Clin Invest*. 1973;3(4):352-62.
- Willnow TE, Hilpert J, Armstrong SA, et al. Defective forebrain development in mice lacking gp330/megalin. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1996;93(16):8460-4.

Yang Q, Graham TE, Mody N, et al. Serum retinol binding protein 4 contributes to insulin resistance in obesity and type 2 diabetes. *Nature* 2005;436(7049):356-62.

Yuan JM, Gao YT, Ong CN, Ross RK, Yu MC. Prediagnostic level of serum retinol in relation to reduced risk of hepatocellular carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2006;98(7):482-90.

Zanotti G, Berni R. Plasma retinol-binding protein: structure and interactions with retinol, retinoids, and transthyretin. *Vitam Horm.* 2004;69:271-95.



---

### 3 Anteilserklärung

Frau Britta Nagl hat ihre kumulative Doktorarbeit mit dem Thema „Bedeutung der Nieren für die Retinol-Bindungsprotein 4 (RBP4)-Plasma-Homöostase“ angefertigt. Grundlage für die kumulative Promotion sind folgende drei Publikationen:

---

#### Publikation 1

---

Frey SK, Nagl B, Henze A, Raila J, Schlosser B, Berg T, Tepel M, Zidek W, Weickert MO, Pfeiffer AF, Schweigert FJ.

Isoforms of retinol binding protein 4 (RBP4) are increased in chronic diseases of the kidney but not of the liver.

Lipids Health Dis. 2008 Aug 27;7:29.

Der Anteil von Frau Nagl an dieser Arbeit ist mit mindestens 60% einzustufen.

Beitrag im Einzelnen:

Diese Arbeit beschreibt den Einfluss von chronischen Leber- und Nierenerkrankungen auf Serum-Parameter des Vitamin-A-Soffwechsels im humanen Organismus. Zum ersten Mal konnte dabei anhand größerer Probandengruppen gezeigt werden, dass chronische Nierenerkrankungen im Gegensatz zu chronischen Lebererkrankungen bzw. gesunden Adulten mit einer Zunahme von RBP4-Isoformen assoziiert sind. Frau Britta Nagl ist an der Versuchsplanung, den Laboranalysen der Serumproben sowie der statistischen Auswertung der Ergebnisse und dem Verfassen der Publikation dieser Studie beteiligt.

---

#### Publikation 2

---

Frey SK, Henze A, Nagl B, Raila J, Scholze A, Tepel M, Schweigert FJ, Zidek W.

Effect of renal replacement therapy on retinol-binding protein 4 isoforms.

Clin Chim Acta. 2009 Mar;401(1-2):46-50.

Der Anteil von Frau Nagl an dieser Arbeit ist mit mindestens 50% einzustufen.

Beitrag im Einzelnen: Die Publikation beschreibt zum ersten Mal das vermehrte Auftreten von RBP4-Isoformen im Serum von chronisch nierenkranken Patienten, die mit einer Nierenersatztherapie (Hämodialyse bzw. Nierentransplantation) behandelt wurden. Frau Britta Nagl hat in dieser Arbeit das Studiendesign mitgeplant, einen Teil der Serumproben untersucht und die Ergebnisse mithilfe der Statistiksoftware SPSS ausgewertet.

---

#### Publikation 3

---

Nagl B, Loui A, Raila J, Felderhoff-Mueser U, Obladen M, Schweigert FJ.

Urinary vitamin A excretion in very low birth weight infants.

Pediatr Nephrol. 2009 Jan;24(1):61-6.

Der Anteil von Frau Nagl an dieser Arbeit ist mit mindestens 90% einzustufen.

Beitrag im Einzelnen: Die Studie beschreibt zum ersten Mal die Ausscheidung von Vitamin A im Urin von frühgeborenen und termgeborenen Kindern. Die Arbeit von Frau Britta Nagl an dieser Publikation als Erstautorin umfasst sowohl die Versuchsplanung, die Durchführung von Vorstudien, die Probenanalyse der verschiedenen Parameter im Labor als auch die deskriptive und analytische statistische Datenauswertung sowie das Verfassen

der Publikation. Des Weiteren wurde danach eine weitere Studie geplant und durchgeführt, die den Einfluss einer VA-Supplementierung auf die Konzentration von Serumparametern und renal exkretierter Substanzen bei Frühgeborenen dokumentiert und darüber hinaus Hinweise liefert in Bezug auf die Entwicklung der proximalen und tubulären Nierenfunktion. Das Probenmaterial wurde im Rahmen einer Diplomarbeit analysiert, die Frau Britta Nagl mitbetreute.

---

## 4 Komplette Publikationsliste

---

### 4.1 Publikationen

---

- Isoforms of retinol binding protein 4 (RBP4) are increased in chronic diseases of the kidney but not of the liver. Frey SK, Nagl B, Henze A, Raila J, Schlosser B, Berg T, Tepel M, Zidek W, Weickert MO, Pfeiffer AF, Schweigert FJ. *Lipids Health Dis.* 2008 Aug 27;7:29.; Impact Factor: 1.88 (2007)
- Effect of renal replacement therapy on retinol-binding protein 4 isoforms. Frey SK, Henze A, Nagl B, Raila J, Scholze A, Tepel M, Schweigert FJ, Zidek W. *Clin Chim Acta.* 2009 Mar;401(1-2):46-50.; Impact Factor: 2.60 (2007)
- Urinary vitamin A excretion in very low birth weight infants. Nagl B, Loui A, Raila J, Felderhoff-Mueser U, Obladen M, Schweigert FJ. *Pediatr Nephrol.* 2009 Jan;24(1):61-6.; Impact Factor: 1.94 (2007)
- Alteration of Transthyretin Microheterogeneity in Serum of Multiple Trauma Patients. Gericke B, Raila J, Deja M, Rohn S, Donaubaueer B, Nagl B, Haebel S, Florian J. Schweigert FJ, Kaisers U.; *Biomarker Insights* 2007:2 299-306.

---

### 4.2 Posterpräsentationen

---

- „Urinary retinol and RBP excretion in multiple trauma patients and healthy individuals“ B. Nagl, J. Raila, B. Donaubaueer, U. Kaisers, M. Deja, and F.J. Schweigert, Konferenz der Europäischen Akademie für Ernährungswissenschaft (European Academy of Nutritional Sciences, E.A.N.S.) in Wien (06/2005)
- „Comparative urine peptide and protein profiles in healthy individuals and multiple trauma patients“ B. Nagl, J. Raila, B. Donaubaueer, U. Kaisers, M. Deja, and F.J. Schweigert, 1. Kongress der Deutschen Sepsis-Gesellschaft e. V. (DSG) in Weimar (09/2005)
- „Einfluss der Nierenfunktion sehr unreifer Frühgeborener auf die renale Ausscheidung von Vitamin A“ B. Nagl, J. Raila, A. Loui, U. Felderhoff-Müser, F. J. Schweigert, 44. Jahreskongress der DGE e.V. in Halle (03/2007)
- „Urinary excretion of retinol and retinol binding protein 4 in preterm neonates is related to kidney maturation“ B. Nagl, J. Raila, A. Loui, U. Felderhoff-Müser, F. J. Schweigert, Internationale Ernährungskonferenz europäischer Ernährungsgesellschaften (FENS) in Paris (07/2007)
- „Einfluss der Nierenfunktion sehr unreifer Frühgeborener auf die renale Ausscheidung von Vitamin A und RBP 4“ B. Nagl, J. Raila, A. Loui, U. Felderhoff-Müser, F. J. Schweigert, 39. Kongress der Gesellschaft für Nephrologie in Tübingen (09/2008)
- „Einfluss einer i.m. Vitamin-A-Supplementierung auf Parameter des Vitamin-A-Metabolismus im Serum und Urin frühgeborener Kinder mit einem Geburtsgewicht <1500 g“ B. Schmiedchen, A. Loui, A. C. Hoyer, J. Raila, B. Nagl, F. J. Schweigert, 24. Kongress der Perinatale Medizin in Berlin (05/2009)
- „Characterisation of the ROH-RBP4 transport complex in serum and urine of patients after kidney transplantation“ B. Nagl, S. K. Frey, A. Henze, J. Raila, M. Tepel, M. Weickert, F. J. Schweigert, 14. Europäisches Meeting für fettlösliche Vitamine in Potsdam (10/2009)

---

## 5 Druckexemplare der ausgewählten Publikationen

---

### Publikation 1

---

Frey SK, Nagl B, Henze A, Raila J, Schlosser B, Berg T, Tepel M, Zidek W, Weickert MO, Pfeiffer AF, Schweigert FJ.  
Isoforms of retinol binding protein 4 (RBP4) are increased in chronic diseases of the kidney but not of the liver. *Lipids Health Dis.* 2008 Aug 27;7:29.  
PMID: 18752671

---

### Publikation 2

---

Frey SK, Henze A, Nagl B, Raila J, Scholze A, Tepel M, Schweigert FJ, Zidek W.  
Effect of renal replacement therapy on retinol-binding protein 4 isoforms.  
*Clin Chim Acta.* 2009 Mar;401(1-2):46-50.  
PMID: 19046959

---

### Publikation 3

---

Nagl B, Loui A, Raila J, Felderhoff-Mueser U, Obladen M, Schweigert FJ.  
Urinary vitamin A excretion in very low birth weight infants.  
*Pediatr Nephrol.* 2009 Jan;24(1):61-6.  
PMID: 18751734

## **6 Curriculum Vitae | Britta Nagl**

Der Lebenslauf ist in der Online-Version aus Gründen des Datenschutzes nicht enthalten.

---

### Selbständigkeitserklärung

---

Ich, Britta Nagl, erkläre, dass ich die vorgelegte Dissertation mit dem Thema: „Bedeutung der Nieren für die Retinol-Bindungsprotein 4 (RBP4)-Plasma-Homöostase“ selbst verfasst und keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt, ohne die (unzulässige) Hilfe Dritter verfasst und auch in Teilen keine Kopien anderer Arbeiten dargestellt habe.

Berlin,

15.09.2010

---

Britta Nagl

---

## Danksagung

---

Die Arbeit an der vorliegenden Dissertation hat mich über einige Jahre meines Lebens beschäftigt. So möchte ich den Menschen, deren Wege sich mit meinem für kürzere oder längere Zeit kreuzten, an dieser Stelle danken.

Ihre Entstehung wäre nicht möglich gewesen ohne die Unterstützung einer Vielzahl von Personen, von denen hier einige nachfolgend erwähnt sein sollen: Vielen herzlichen Dank an Herrn Prof. Dr. Florian J. Schweigert, der die Durchführung dieser Dissertation in seiner Abteilung ermöglicht und unterstützt hat ebenso wie an Herrn PD Dr. Jens Raila, der mich immer wieder ermutigt und neue Wege aufgezeigt hat.

Mein Dank gilt Herrn Prof. Zidek für die Überlassung des Themas und die gute Betreuung. Darüber hinaus möchte ich mich ausdrücklich bedanken bei Herrn Prof. Tepel und Herrn Prof. Obladen für die konstruktive wissenschaftliche Zusammenarbeit.

Einige Personen haben maßgeblich zum Zustandekommen dieser Arbeit beigetragen, denen ich danken möchte: Meinen Eltern Sigrid und Walter Nagl, deren liebevolles Verständnis und grenzenloses Vertrauen und ihre nie enden wollende Geduld mir in jeder Situation den Rücken stärkten. Meiner Freundin Kerstin Tews – ihre Nähe, gemeinsame Träume, Freuden und ihr intellektuelles Feuer haben mich auf wunderbare Weise gehalten.

Des Weiteren bin ich sehr dankbar für alle Kommentare und Hilfe von Freunden, besonders von Luci Werner-Lintze.

Danke an alle Mitarbeiterinnen und Mitarbeiter der Abteilung Physiologie und Pathophysiologie der Ernährung für die überaus kollegiale Arbeitsatmosphäre. Mein besonderer Dank gilt Andrea Henze und Simone Frey, beiden wünsche ich von ganzem Herzen, dass ihnen ihre Lebens-Ideen und -Wünsche gelingen mögen!

Vielen Dank auch an dieser Stelle für die geduldige und kompetente Unterstützung bei der Durchführung der Laboranalysen an Lydia Häussler, an Elisabeth Pilz und an Andrea Hurtiemme!