

Adipokine als metabolische Prädiktoren

Der Medizinischen Fakultät
der Universität Leipzig
eingereichte

HABILITATIONSSCHRIFT

zur Erlangung der Lehrbefugnis

Doctor medicinae habilitatus
(Dr. med. habil.)

vorgelegt

von Dr. med. Thomas Ebert

geboren am 28.07.1984 in Sondershausen

Leipzig, den 25.06.2018

Tag der Verleihung: 18.12.2018

Zusammenfassung

Autor: Dr. med. Ebert Thomas

Titel: Adipokine als metabolische Prädiktoren

Medizinische Fakultät der Universität Leipzig, Habilitation

Adipokine sind Proteine, die aus dem Fettgewebe freigesetzt werden. Viele dieser Fettzell-sezernierten Proteine sind bei Adipositas dysreguliert und beeinflussen das Risiko für kardiometabolische Folgeerkrankungen. Die vorliegende Arbeit untersucht daher im Speziellen die neuartigen Adipokine *Angiopoietin-like protein 8/Betatrophin*, *Irisin*, *Progranulin*, *Adipocyte fatty acid-binding protein (AFABP)* und *Fibroblast growth factor 21 (FGF21)* als potentiellen *Link* zwischen dem Fettgewebe sowie den kardiometabolischen Erkrankungen Niereninsuffizienz und Gestationsdiabetes (GDM).

Die Grundlage der vorliegenden Arbeit bilden humane Studien in Patienten mit chronischer und akuter Niereninsuffizienz sowie in Patientinnen mit GDM. Zudem wurden einzelne Ergebnisse der humanen Studien in einer großen Kohortenstudie mit >1000 Probanden verifiziert. Des Weiteren wurden einzelne Adipokine in tierexperimentellen Studien genauer untersucht, um kausale Assoziationen zu detektieren.

Hierdurch gelang es, bestimmte Regulationsmuster von Adipokinen in den kardiometabolischen Erkrankungen Niereninsuffizienz und GDM zu erkennen, um so mögliche pharmakologische *Targets* zu identifizieren.

Bei Frauen mit GDM könnte insbesondere *Angiopoietin-like protein 8/Betatrophin* in Zukunft als pharmakologisches *Target* in Betracht kommen. Andere Adipokine zeigen jedoch bei GDM unterschiedliche Regulationen im Vergleich zu Diabetes mellitus Typ 2. Hier müssen zunächst weitere Untersuchungen die exakten Pathomechanismen für diese divergierenden Ergebnisse identifizieren.

In den Studien zu chronischer und akuter Niereninsuffizienz konnte gezeigt werden, dass insbesondere die Adipokine *Progranulin*, *AFABP* und *FGF21* direkt mit der Nierenfunktion assoziiert sind. Andere Adipokine wie z.B. *Angiopoietin-like protein 8/Betatrophin* scheinen nicht renal eliminiert zu werden. Basierend auf diesen Ergebnissen muss nun untersucht werden, ob bestimmte Adipokine eine *kausale* Rolle in der Entwicklung und Progression einer Niereninsuffizienz spielen.

Zusammenfassend wurden somit verschiedene Adipokine in kardiometabolischen Risikoerkrankungen charakterisiert. Es konnten mögliche zukünftige pharmakologische *Targets* für die Behandlung von Niereninsuffizienz sowie für die bei GDM zugrundeliegende Insulinresistenz identifiziert werden.

Inhalt

1. Einleitung	5
1.1 Adipokine.....	5
1.2 Adipokine sind dysreguliert bei Adipositas	6
1.3 Adipokine bei kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes mellitus und chronischer Niereninsuffizienz	6
1.4 Definition der Krankheitsentitäten Niereninsuffizienz und Gestationsdiabetes als kardiometabolische Risikoerkrankungen.....	7
1.4.1 Chronische Niereninsuffizienz	7
1.4.2 Akute Niereninsuffizienz.....	8
1.4.3 Gestationsdiabetes	8
1.5 Hypothese.....	9
2. Methoden	10
2.1 Humane Studien	10
2.1.1 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz.....	10
2.1.2 Patienten mit akuter Niereninsuffizienz	10
2.1.3 Patientinnen mit Gestationsdiabetes	11
2.1.4 Humane Querschnittsstudien	12
2.2 Tierexperimentelle Studien.....	12
2.2.1 Tiere mit akuter Niereninsuffizienz: nephrektomierte Sprague Dawley-Ratten.....	12
2.2.2 Tiere mit chronischer Niereninsuffizienz: <i>eNOS</i> ^{-/-} C57BLKS <i>db/db</i> -Mäuse.....	14
2.3 Charakterisierung und Assays.....	15
2.4 Statistik.....	16
3. Resultate.....	17
3.1 Angptl8/Betatrophin	17
3.2 Irisin.....	19
3.3 Progranulin.....	21
3.4 AFABP.....	23
3.5 FGF21.....	24
4. Diskussion und Ausblick	26
5. Anlagen	32
5.1 Anlage 1: Erklärungen zur vorgelegten Habilitationsschrift.....	32
5.2 Anlage 2: Lebenslauf.....	33
5.3 Anlage 3: Publikationsverzeichnis	36
5.4 Anlage 4: Danksagung.....	42
5.5 Anlage 5: Referenzen.....	44

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Unterteilung des Fettgewebes in drei verschiedene Kompartimente	5
Abbildung 2: Nierenfunktionsparameter nach bilateraler Nephrektomie.....	14
Abbildung 3: Albumin-Kreatinin-ratio in Mäusen mit chronischer Niereninsuffizienz	15
Abbildung 4: Progranulin in Tiermodellen mit chronischer und akuter Niereninsuffizienz.....	22

1. Einleitung

1.1 Adipokine

Das humane Fettgewebe ist ein Bindegewebe, welches aus verschiedenen Kompartimenten besteht. Neben Lipid-gefüllten Zellen (Adipozyten) finden sich hier eine umgebende Matrix von Kollagenfasern und Blutgefäßen sowie nicht-adipozytäre Zellen wie Fibroblasten und Immunzellen [1]. Oftmals wird daher eine Unterteilung des Fettgewebes in drei verschiedene Kompartimente bzw. Fraktionen durchgeführt: 1) Adipozyten; 2) umgebende Matrix und 3) eine *stromal-vascular fraction* (SVF) [2] (Abbildung 1).

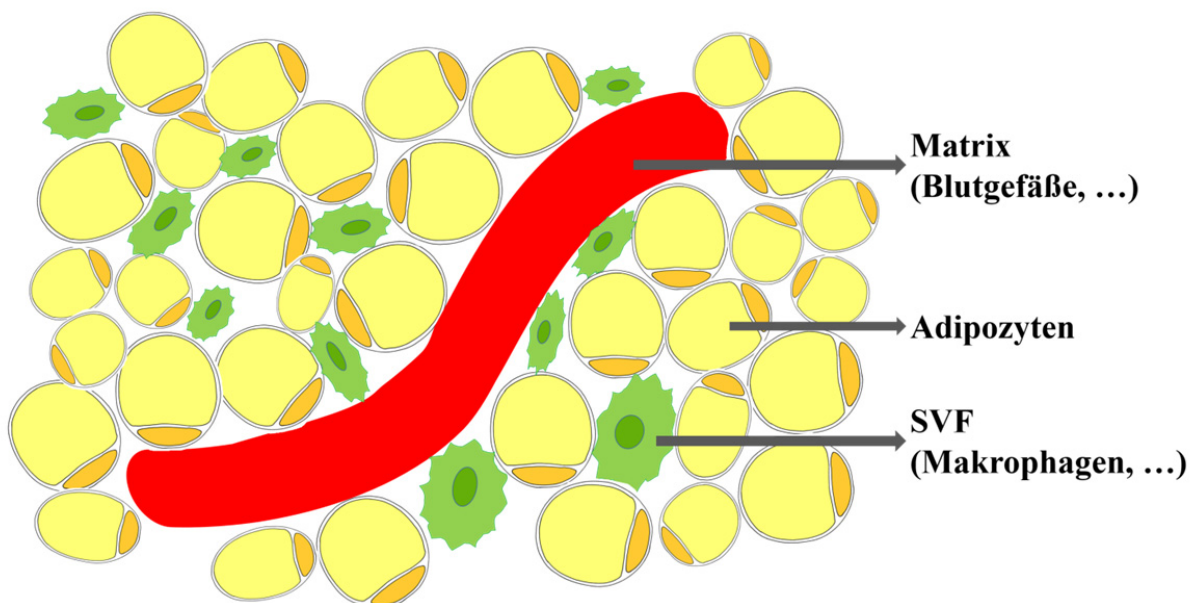


Abbildung 1: Unterteilung des Fettgewebes in drei verschiedene Kompartimente

1) Adipozyten; 2) umgebende Matrix; 3) die *stromal-vascular fraction* (SVF)

In den letzten Jahren konnte gezeigt werden, dass das Fettgewebe nicht nur als Energiespeicher, sondern auch als endokrin-aktives Organ fungiert und eine Reihe von verschiedenen Proteinen sezerniert. Fain und Mitarbeiter definierten daher den Begriff “Adipokin” bzw. “Adipozytokin” als jegliche “*substance released by adipose tissue*” [3]. Diese Adipokine werden entweder von nur einem einzelnen Kompartiment, häufiger jedoch von verschiedenen Kompartimenten des Fettgewebes gebildet. Nach den Erstbeschreibungen der Adipokine Leptin [4] und *Tumor*

necrosis factor α [5] konnte in den letzten Jahren eine Vielzahl weiterer neuartiger und metabolisch aktiver Adipokine identifiziert werden.

Leptin gilt hierbei oftmals als ein „Modell“-Adipokin. Mäuse mit einer Mutation im für Leptin kodierenden *LEP*-Gen haben eine ausgeprägte Adipositas [4]. Auch Menschen mit einer Leptin-Mutation fallen durch eine massive Adipositas auf [6]. Die fundamentale Bedeutung des Adipokins Leptin wurde nachfolgend in einem *Case report* bewiesen, indem eine rekombinante Leptintherapie in einem 9-jährigen Kind mit Leptinmangel das Körpergewicht, die Fettmasse und die Energieaufnahme senkte sowie den Energieverbrauch erhöhte [7].

1.2 Adipokine sind dysreguliert bei Adipositas

Neuartige und metabolisch aktive Adipokine werden zumeist in murinen und *in vitro*-Studien erstmals charakterisiert. Eine Vielzahl von Arbeiten beschreibt dann darauf basierend die Regulation dieser Fettzell-sezernierten Proteine bei Patienten mit Adipositas. So konnte beispielhaft gezeigt werden, dass die Plasmakonzentrationen von Leptin eng mit der Fettmasse korrelieren [8]. Daher wurde bei Adipositas, die nicht aufgrund einer genetischen Leptindefizienz entstanden ist, eine Leptinresistenz, ähnlich einer Insulinresistenz, beschrieben [9]. Die Expression des Adipokins *Tumor necrosis factor α* im Fettgewebe ist ebenfalls mit zunehmender Adipositas erhöht und trägt zur Insulinresistenz bei [10]. Analog zu diesen ersten beschriebenen Adipokinen konnte in der Folgezeit eine Vielzahl von Adipokinen bei Adipositas charakterisiert werden.

1.3 Adipokine bei kardiovaskulären Erkrankungen, Diabetes mellitus und chronischer Niereninsuffizienz

Kardiovaskuläre Erkrankungen, Diabetes mellitus und chronische Niereninsuffizienz gehören global zu den führenden Todesursachen und haben in den letzten 20 Jahren in der absoluten Häufigkeit stark zugenommen [11]. Zudem nahm auch die Anzahl verlorener Lebensjahre durch diese kardiometabolischen Risikoerkrankungen signifikant zu [11]. Interessanterweise sind kardiovaskuläre Erkrankungen, Diabetes mellitus und chronische Niereninsuffizienz nicht nur singuläre Risikofaktoren für eine erhöhte Mortalität, sondern bedingen sich darüber hinaus auch gegenseitig [12]. Weiterhin sind diese Erkrankungen häufig mit anderen Facetten des

metabolischen Syndroms wie der arteriellen Hypertonie, der Adipositas sowie der Dyslipidämie vergesellschaftet [13]. Das gemeinsame Auftreten dieser beschriebenen Erkrankungen beruht möglicherweise auf zirkulierenden Faktoren, die kausal an deren Entstehung und Progression beteiligt sein könnten. Die vorliegende Arbeit untersucht daher im Speziellen zirkulierende Adipokine als potentiellen *Link* zwischen den kardiometabolischen Erkrankungen Niereninsuffizienz und Gestationsdiabetes (GDM).

1.4 Definition der Krankheitsentitäten Niereninsuffizienz und Gestationsdiabetes als kardiometabolische Risikoerkrankungen

1.4.1 Chronische Niereninsuffizienz

Die chronische Niereninsuffizienz ist eine Gruppe von heterogenen Erkrankungen, die mit einer sowohl strukturellen als auch funktionellen Schädigung der Nieren einhergeht [14]. Die Inzidenz und Prävalenz der chronischen Niereninsuffizienz sind weltweit sehr variabel, weil es Unterschiede in den zugrundeliegenden Erkrankungen und in der Verfügbarkeit von medizinischen Therapien gibt [14]. Interessanterweise ist die chronische Niereninsuffizienz auch mit den verschiedenen Facetten des metabolischen Syndroms assoziiert, wie z.B. der Dyslipidämie [15], Hypertonie [16], Diabetes mellitus [17] und Adipositas [18]. Insgesamt haben Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz eine deutlich erhöhte Mortalität, die sowohl kardiovaskulär als auch nicht kardiovaskulär bedingt ist [19].

Daher ist es von entscheidender Bedeutung, kausale Faktoren in der Entstehung und Progression der chronischen Niereninsuffizienz zu identifizieren und mögliche pharmakologische *Targets* zu charakterisieren. Bereits frühzeitig haben verschiedene Arbeitsgruppen etablierte Adipokine und deren Auswirkungen auf die chronische Niereninsuffizienz untersucht und beschrieben (zusammengefasst in [20,21]). Darin wurden jedoch zumeist nur die bereits seit vielen Jahren beschriebenen Adipokine evaluiert. Es fehlen daher insbesondere Daten zur Regulation von neuartigen, metabolisch aktiven Adipokinen bei dieser kardiometabolischen Risikoerkrankung.

1.4.2 Akute Niereninsuffizienz

Die akute Niereninsuffizienz ist charakterisiert durch eine plötzliche Verschlechterung der Nierenfunktion, die mit einer gestörten metabolischen sowie Elektrolyt- und Flüssigkeitshomöostase einhergeht [22]. Insgesamt ist das Spektrum einer akuten Niereninsuffizienz sehr breit und reicht von nur geringen Veränderungen in den Retentionsparametern bis zu einem dialysepflichtigen Nierenversagen [22]. Interessanterweise haben sowohl die akute als auch die chronische Niereninsuffizienz ähnliche Risikofaktoren wie z.B. Alter, Hypertonie, Diabetes mellitus und das metabolische Syndrom (zusammengefasst in [23]). Zudem haben Patienten mit akuter Niereninsuffizienz genau wie Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz ein deutlich erhöhtes Risiko für kardiovaskuläre Folgeerkrankungen [24] und Mortalität [25]. Einige Autoren sind daher der Meinung, dass die akute und chronische Niereninsuffizienz nicht zwei verschiedene Krankheitsentitäten, sondern ein Krankheitskontinuum darstellen [23,26]. Aus diesem Grund ist es auch bei dieser kardiometabolischen Risikoerkrankung entscheidend, kausale Faktoren in der Entstehung und Progression der akuten Niereninsuffizienz zu identifizieren und mögliche pharmakologische *Targets* wie bei der chronischen Niereninsuffizienz zu charakterisieren. Auch bei akuter Niereninsuffizienz haben bereits verschiedene Arbeitsgruppen Adipokine, die seit längerer Zeit bekannt und etabliert sind, untersucht, z.B. Leptin [27], Adiponektin [28] und Resistin [29]. Es fehlen jedoch auch hier insbesondere Daten zur Regulation von neuartigen, metabolisch aktiven Adipokinen, die in den letzten Jahren erstmals beschrieben wurden.

1.4.3 Gestationsdiabetes

Der GDM ist nach den Definitionen der *American Diabetes Association* eine metabolische Erkrankung, die im zweiten oder dritten Trimester der Schwangerschaft auftritt und diagnostiziert wird [30]. Dabei ist der GDM von anderen Diabetes-Typen in der Schwangerschaft (insbesondere Diabetes mellitus Typ 2 [T2DM] oder Typ 1) abzugrenzen [30]. Sowohl die Mutter als auch das Kind haben bei Schwangerschaften mit GDM ein erhöhtes Akut- und Langzeitrisiko für verschiedene Komplikationen [31]. Akutkomplikationen für das ungeborene Kind sind insbesondere die Makrosomie, die weiterhin mit einer erhöhten Rate an Geburtstraumata wie z.B. der Schulterdystokie assoziiert ist, sowie metabolische Komplikationen wie z.B. der postpartalen Hypoglykämie [31]. Für die Mutter gibt es während der Schwangerschaft u.a. aufgrund der

Glukosurie ein erhöhtes Risiko für Harnwegsinfektionen [31]. Des Weiteren erkranken schwangere Frauen mit GDM häufiger als gesunde Schwangere an einer Präeklampsie oder Eklampsie [31]. Langzeitkomplikationen einer GDM-Schwangerschaft sind u.a. für das Kind die Entwicklung einer Adipositas, während Mütter mit vorherigem GDM ein sehr hohes Risiko für die Entwicklung eines T2DM aufweisen [31].

Sowohl der GDM als auch der T2DM haben ähnliche Risikofaktoren, sodass eine Verbindung dieser metabolischen Erkrankungen z.B. über Adipokine möglich ist. In beiden Erkrankungen kommt es pathophysiologisch zu einer vermehrten Insulinresistenz [32]. Daher konnte in den vergangenen Jahren gezeigt werden, dass eine Vielzahl von (Adipo-)Zytokinen bei GDM und T2DM dysreguliert ist und möglicherweise die Insulinresistenz bei diesen beiden Erkrankungen beeinflussen könnte, z.B. Adiponektin [33], Leptin [34], *Fibroblast growth factor 21* (FGF21) [35] und *Adipocyte fatty acid-binding protein* (AFABP) [36]. Für eine Vielzahl von neu beschriebenen und metabolisch aktiven Adipokinen ist die Regulation in Frauen mit GDM aktuell noch unklar. Die pathophysiologischen Mechanismen dieser neuartigen Adipokine müssen jedoch sowohl bei GDM als auch bei T2DM umfassend charakterisiert werden um zu prüfen, ob diese Fettzell-sezernierten Proteine zukünftige pharmakologische *Targets* darstellen können.

1.5 Hypothese

Basierend auf den beschriebenen Grundlagen lautet die Hypothese der vorliegenden Arbeit, dass verschiedene neuartige und metabolisch aktive Adipokine bei den kardiometabolischen Risikoerkrankungen chronische Niereninsuffizienz, akute Niereninsuffizienz und GDM dysreguliert sind und zur Krankheitsentstehung und –progression beitragen. Die vorliegende Arbeit beschränkt sich vom Umfang her auf die Adipokine *Angiopoietin-like protein* (Angptl) 8/Betatrophin, Irisin, Progranulin, AFABP sowie FGF21.

2. Methoden

2.1 Humane Studien

2.1.1 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz

Um Adipokine in Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz charakterisieren zu können, etablierte unsere Arbeitsgruppe eine Patientenkohorte mit verschiedenen Schweregraden einer chronischen Niereninsuffizienz. Diese cross-sektionale Population enthält zurzeit 581 Patienten (männlich: N = 338; weiblich: N = 243). In der Vergangenheit publizierte Manuskripte beinhalten 532 Patienten (männlich: N = 305; weiblich: N = 227) bzw. 120 Patienten (männlich: N = 62; weiblich: N = 58). Die Studienpatienten wurden durch die Klinik und Poliklinik für Endokrinologie und Nephrologie der Universität Leipzig sowie durch drei verschiedene ambulante nephrologische Zentren (KfH Kuratorium für Dialyse und Nierentransplantation e.V. KfH-Nierenzentrum am Klinikum St. Georg, 04129 Leipzig; Dialysepraxis Leipzig, 04178 Leipzig sowie 04107 Leipzig) rekrutiert. Alle Patienten wurden basierend auf den *Kidney Disease Improving Global Outcomes- (KDIGO)* [37] oder alternativ basierend auf den *National Kidney Foundation – Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (KDOQI)*-Leitlinien [38] in 5 Schweregrade der chronischen Niereninsuffizienz G1-G5 bzw. 1-5 eingeteilt. Die Schweregradeinteilung erfolgte anhand der Berechnung der geschätzten glomerulären Filtrationsrate (eGFR) entweder mittels der *CKD Epidemiology Collaboration*-Formel (CKD-EPI) [39] oder alternativ durch die *Modification of Diet in Renal Disease*-Formel [40].

Einschlusskriterien waren ein Alter > 18 Jahre und das schriftliche Einverständnis zur Teilnahme an der Studie. Ausschlusskriterien stellten fortgeschrittene Malignome, akute Infektionskrankheiten, Schwangerschaft sowie ein Drogenabusus dar.

In allen Patienten wurde nach einer mindestens 8-stündigen Fastenperiode eine Nüchternblutentnahme durchgeführt. In dialysepflichtigen Patienten erfolgte die Blutentnahme dabei direkt vor Dialysebeginn.

2.1.2 Patienten mit akuter Niereninsuffizienz

Um Adipokine in Patienten mit akuter Niereninsuffizienz quantifizieren zu können, etablierte unsere Arbeitsgruppe eine Patientenkohorte, bei denen eine elektive unilaterale Nephrektomie

durchgeführt wurde. Diese Patienten stellen ein Modell für eine akute Niereninsuffizienz dar [41,42]. Für diese longitudinale Studie wurden bislang 62 Patienten (männlich: N = 44; weiblich: N = 17) konsekutiv durch die Klinik für Urologie der Universität Leipzig rekrutiert. In der Vergangenheit publizierte Manuskripte enthalten 32 Patienten (männlich: N = 26; weiblich: N = 6) bzw. 15 Patienten (männlich: N = 11; weiblich: N = 4).

In allen Patienten wurde eine elektive partielle oder komplette unilaterale Nephrektomie durchgeführt. Die Indikation zur Nephrektomie wurde u.a. aufgrund von Nierenzellkarzinomen, Schrumpfnieren und Nierenzysten gestellt. Einschlusskriterien waren ein Alter zwischen 18 und 80 Jahren und das schriftliche Einverständnis zur Teilnahme an der Studie. Ausschlusskriterien stellten eine Dialysepflicht, hereditäre Zystennierenerkrankungen, Glomerulonephritiden sowie eine generalisierte Inflammation dar.

In allen Patienten wurde jeweils eine Nüchternblutentnahme direkt vor der Operation sowie innerhalb von 30h nach Nephrektomie durchgeführt.

2.1.3 Patientinnen mit Gestationsdiabetes

Um Adipokine in Patientinnen mit GDM charakterisieren zu können, etablierte unsere Arbeitsgruppe eine klinische Studienkohorte von Patientinnen mit GDM. Für diese erste cross-sektionale Population wurden zwischen 2006 und 2011 insgesamt 148 Frauen während der Schwangerschaft durch unsere Klinik und Poliklinik für Endokrinologie und Nephrologie rekrutiert. Alle Frauen erhielten einen oralen, zweistündigen Glukosetoleranztest (oGTT) mit 75g Glukose. Ein GDM wurde diagnostiziert, wenn ein oder mehrere Plasmaglukosewerte während des oGTTs erhöht waren entsprechend den Kriterien der *American Diabetes Association* [43]. Hier wurden entsprechend den Leitlinien folgende Grenzwerte während des oGTTs angewendet: Nüchtern-Blutzucker ≥ 5.1 mmol/l; 1h ≥ 10.0 mmol/l; 2h ≥ 8.5 mmol/l. Basierend auf diesen Grenzwerten wurde ein GDM in insgesamt 74 schwangeren Patientinnen diagnostiziert. 74 weitere Alters-, *Body mass index* (BMI)- und Schwangerschaftsalter-gematchte Frauen mit normaler Glukosetoleranz dienten als Kontrollen.

Nach dieser cross-sektionalen Analyse wurden im Jahr 2012 alle Frauen gebeten, an einer postpartalen *Follow-up*-Untersuchung teilzunehmen. Hier konnten insgesamt 85 Frauen (41 frühere Kontrollen, 44 frühere Patientinnen mit GDM) rekrutiert werden.

Ausschlusskriterien dieser Studien waren generalisierte und andere chronische Infektionen, immunsuppressive Therapien, ein vorbekannter Diabetes mellitus oder fortgeschrittene maligne Erkrankungen.

2.1.4 Humane Querschnittsstudien

Um die in den beschriebenen Kohorten erhaltenen Ergebnisse und Assoziationen zu validieren, untersuchten wir verschiedene Adipokine in einer großen und metabolisch sehr gut phänotypisierten Querschnittsstudie in der Isolatpopulation der Sorben. Hierfür wurden zwischen 2005 und 2007 rund 1050 sorbische Probanden rekrutiert und intensiv phänotypisiert, inklusive Fragebogen-Anamnese, anthropometrischen Parametern, einer *Body impedance analysis* sowie einem 75g oGTT. Diese Studie ermöglicht es, Adipokine neben den kardiometabolischen Risikopopulationen auch in einer verhältnismäßig gesunden Querschnittskohorte zu charakterisieren und gibt zusätzliche Informationen zur Regulation von neuartigen, metabolisch aktiven Adipokinen.

2.2 Tierexperimentelle Studien

2.2.1 Tiere mit akuter Niereninsuffizienz: nephrektomierte Sprague Dawley-Ratten

Um herauszufinden, ob Adipokine unabhängig von anderen *Confoundern* mit der Nierenfunktion assoziiert sind, ist es notwendig, diese Proteine in Tiermodellen mit akuter Niereninsuffizienz zu untersuchen. Hierfür wurde das Modell einer kompletten bilateralen Nephrektomie in Sprague Dawley-Ratten genutzt [44]. Als geeignete Kontrollen wurden Alters-, Geschlechts- und Körpergewichts-gematchte Tiere Schein-operiert, das heißt, bei identischem operativen Vorgehen erfolgte bei Kontrolltieren keine bilaterale Nephrektomie.

Präoperativ erhielten alle Tiere eine Blutentnahme. Zur Einleitung der Operation (OP) wurde den Ratten mittels eines Verneblers Isofluran (Isofluran Baxter, Baxter Deutschland, Unterschleißheim, Deutschland) mit 2-3 Vol% über eine Maske verabreicht. Nach Einleitung erfolgte zur Erhaltung der Narkose die weitere Verabreichung mit 0,25-1,5 Vol%. Zur Analgesie während der OP wurde Metamizol verwendet. Dafür wurde Metamizol (Novalgin, Sanofi-Aventis Deutschland, Frankfurt am Main, Deutschland) in einer Dosierung von 110 mg/kg Körpergewicht subkutan nach Narkoseeinleitung in den Rückenbereich verabreicht. Nach

veterinärmedizinischen Daten ist die analgetische Wirkung von Metamizol mit der von Opioiden vergleichbar und die Verträglichkeit ist als sehr gut zu bewerten [45]. Nach Erreichen einer stabilen Narkose erfolgte in Rückenlage auf einem Operationstisch mit einer Heizplatte (Self Regulating Heating Pad, Fine Science Tools, Heidelberg, Deutschland) zuerst eine Rasur und nachfolgend eine Desinfektion des Abdomens. Danach wurde mit einem Skalpell eine abdominale Mittellinieninzision von ca. 4-5 cm durchgeführt, die Rektusmuskulatur durchtrennt und das Peritoneum eingeschnitten. Der nun sichtbare Darm wurde aus dem Abdomen luxiert, nach kranial verlagert und die Nieren beidseits aufgesucht. Nach Entfernung der jeweiligen Nierenkapsel konnten die beiden renalen Pedikel freipräpariert und mit jeweils einem nichtresorbierbaren Faden (Prolene 4-0, Johnson & Johnson Medical, Norderstedt, Deutschland) unterbunden werden. Nach dem Festziehen sowie dem dreifachen Verknoten der Fäden um die renalen Pedikel wurden die Nieren distal der gelegten Fäden beidseits abgeschnitten und entfernt. In der Scheinbehandlungsgruppe erfolgten nur der Abdominalschnitt und ein Aufsuchen beider Nieren. Die Nieren verblieben hier orthotop und die Nierenkapsel wurde belassen. Nach beidseitiger Nephrektomie bzw. Kontroll-OP wurden die Bauchorgane wieder an ihre normale Position verlagert und der Muskelschnitt mittels nichtresorbierbarer Naht (Prolene 3-0, Johnson & Johnson Medical, Norderstedt, Deutschland) chirurgisch verschlossen. Zudem erfolgte eine Hautnaht mittels nichtresorbierbarer Naht (Prolene 3-0, Johnson & Johnson Medical, Norderstedt, Deutschland). Die Tiere wurden postoperativ in Einzelkäfigen gehalten und durch eine Rotlichtlampe vor Auskühlung geschützt. Nach OP-Ende wurden mehrere Blutentnahmen zu definierten Zeitpunkten durchgeführt. Vor einer abschließenden Blutentnahme wurden die Tiere im Medizinisch-Experimentellen Zentrum der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig mittels einer Kurzzeitnarkose mit Ether in einem luftdichten Glasgefäß unter Abzug anästhesiert. Unter Anästhesie erfolgte eine finale Blutentnahme mittels intrakardialer Punktion (BD Microlance Kanüle 20G, Becton Dickinson, Heidelberg, Deutschland). Zusätzlich wurde der Blutzucker mit einem konventionellen Blutzuckermessgerät (FreeStyle Mini, Abbott, Wiesbaden, Deutschland) in 1 µl Blut bestimmt.

Im Versuch konnte mit diesem Vorgehen eine robuste akute Niereninsuffizienz gemessen an signifikant ansteigenden Retentionsparametern (Cystatin C und Urea im Plasma) bei gutem Überleben festgestellt werden (Abbildung 2). Der Versuch endete für alle Tiere spätestens nach 48h mit einer finalen Blutentnahme und der Aufarbeitung der Tiere.

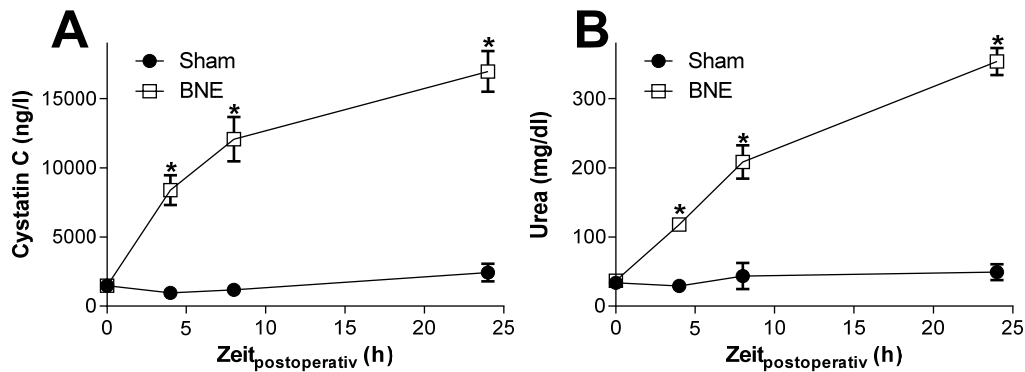


Abbildung 2: Nierenfunktionsparameter nach bilateraler Nephrektomie

Plasmakonzentrationen von (A) Cystatin C und (B) Urea in männlichen Sprague Dawley-Ratten vor (Zeitpunkt 0 min) und nach bilateraler Nephrektomie (BNE, N = 10) im Vergleich zu Scheinoperierten Tieren (*Sham*, N = 7) zu den verschiedenen Zeitpunkten. *zeigt $p < 0.05$ im Vergleich zu Scheinoperierten Tieren errechnet mit ungepaartem *Student's t test*. Abbildung adaptiert nach [46].

2.2.2 Tiere mit chronischer Niereninsuffizienz: *eNOS*^{-/-} C57BLKS *db/db*-Mäuse

Basierend auf den humanen Studien zu chronischer Niereninsuffizienz ist es notwendig, die Regulation von Adipokinen auch in einem Tiermodell einer chronischen Niereninsuffizienz detailliert zu untersuchen. In der vorliegenden Arbeit kam dafür das Modelltier der *eNOS*^{-/-} C57BLKS *db/db*-Maus zur Anwendung. Diese Tiere haben einen homozygoten Verlust des für die endotheliale Stickstoffmonoxid-Synthase (eNOS) kodierenden Gens *NOS3* sowie des für den Leptinrezeptor kodierenden *LEPR*-Gens (*db/db*). Die Tiere sind adipös und haben einen T2DM. Als Folge davon entwickeln die Mäuse eine progrediente Albuminurie, eine Basalmembranverdickung, eine Mesangium-Expansion, eine Glomerulosklerose sowie eine Reduktion der eGFR [47]. Somit dienen die Tiere als robustes Modell einer chronischen diabetischen Niereninsuffizienz.

Nach dem Kauf der Tiere und dem Einführen in unser Medizinisch-Experimentelles Zentrum der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig konnten die beschriebenen Facetten der Tiere [47] auch in unserem Labor bestätigt werden [48]. Insbesondere zeigte sich eine stabile Induktion einer Albuminurie (Abbildung 3).

Nach der Etablierung dieses Modelltieres werden in den $eNOS^{-/-}$ C57BLKS db/db -Mäusen aktuell verschiedene Tierversuchsvorhaben zu Adipokinen bei chronischer Niereninsuffizienz durchgeführt um einen direkten und *kausalen* Einfluss verschiedener Fettzell-sezernierter Proteine auf die Entstehung und Progression der Niereninsuffizienz nachweisen zu können.

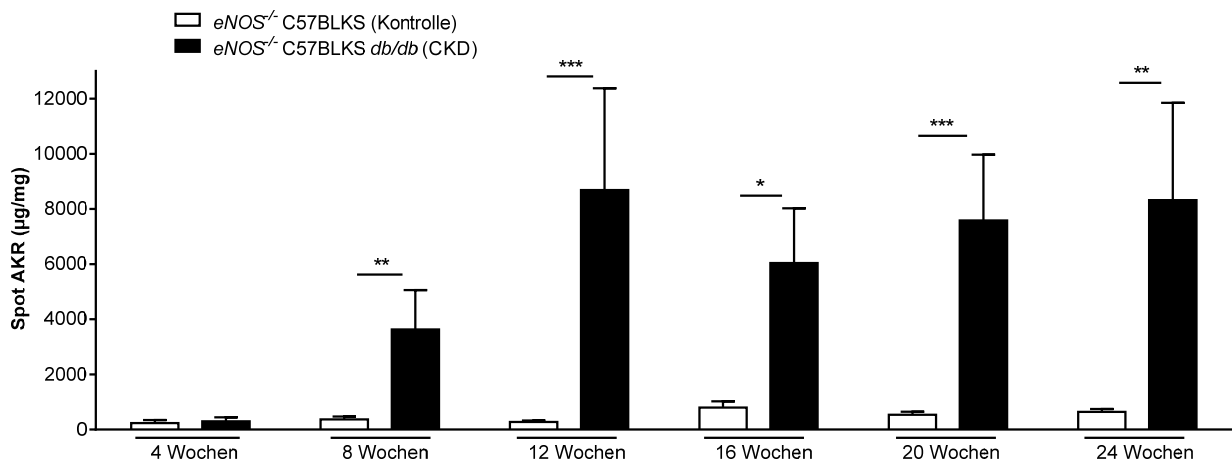


Abbildung 3: Albumin-Kreatinin-ratio in Mäusen mit chronischer Niereninsuffizienz

Albumin-Kreatinin-ratio (AKR) in Mäusen mit chronischer Niereninsuffizienz (CKD) ($eNOS^{-/-}$ C57BLKS db/db -Mäuse) im Vergleich zu nicht-diabetischen Kontrolltieren ($eNOS^{-/-}$ C57BLKS) im Spot-Urin. Angegeben sind Mittelwerte \pm *standard error of mean*. p-Werte wurden mit ungepaartem *Student's t test* und vorheriger logarithmischer Transformierung errechnet. $N \geq 5$ pro Gruppe. *zeigt $p < 0.01$, ** $p < 0.001$ und *** $p < 0.0001$. Abbildung adaptiert nach [48].

2.3 Charakterisierung und Assays

Alle humanen Studien wurden durch die Ethikkommission der Universität Leipzig genehmigt und alle Probanden gaben vor Studieneinschluss ein schriftliches Einverständnis zur Teilnahme ab.

In allen Probanden erfolgte eine körperliche Untersuchung mit Erhebung des BMI sowie der *waist-to-hip ratio* (WHR) und der *waist-to-height ratio* (WHtR). Als Marker der Insulinresistenz wurde der *Homeostasis model assessment of insulin resistance* (HOMA-IR)-Index berechnet [49].

Zirkulierende Serumkonzentrationen der Adipokine wurden mittels *enzyme linked immunosorbent assays* (ELISAs) bestimmt. Kreatinin, Nüchtern glukose, Nüchtern insulin, *high sensitivity C reactive protein* (hsCRP), Triglyzeride sowie *high-density lipoprotein* (HDL), *low-density lipoprotein* (LDL) und Gesamtcholesterol wurden im Serum in einem zertifizierten Labor mittels Standardmethoden bestimmt.

Alle tierexperimentellen Studien wurden durch die zuständigen Behörden (Landesdirektion Sachsen) ethisch geprüft und bewilligt. Die Plasma- und Urin-Konzentrationen von Adipokinen, Retentionsparametern und weiteren Nierenparametern (Albumin und Kreatinin im Urin) wurden mittels ELISA bestimmt.

2.4 Statistik

Alle humanen Studien wurden vorrangig mit nicht-parametrischen Testverfahren ausgewertet. Für Gruppenvergleiche in den cross-sektionalen Studien erfolgte die Bewertung von Gruppenunterschieden mit dem *Mann-Whitney U test* (GDM) bzw. dem *Kruskal-Wallis test* (chronische Niereninsuffizienz). Die longitudinalen Studien (GDM und GDM postpartal) bzw. vor und nach Nephrektomie wurden mit dem *Wilcoxon signed-rank test* ausgewertet. Korrelationsanalysen wurden immer mittels nicht-parametrischer *Spearman's rank correlation* durchgeführt. Unabhängige Zusammenhänge wurden nachfolgend mittels multivariater Regressionsanalyse detektiert. Da dies ein parametrisches Verfahren ist, erfolgte vor Einschluss der Variablen in das jeweilige Modell in allen Studien ein Test auf Normalverteilung durch den *Shapiro-Wilk test* und nicht normalverteilte Parameter wurden vor Regressionsanalyse logarithmisch transformiert.

Für die Tierexperimente kamen ausschließlich parametrische Testverfahren zur Anwendung (z.B. *Student's t test*).

3. Resultate

3.1 *Angptl8/Betatrophin*

Angptl8/Betatrophin wurde 2013 erstmals als ein potentiell Betazell-tropes Zytokin beschrieben, welches in verschiedenen Mausmodellen mit Insulinresistenz die Glukosetoleranz verbessert [50]. Dabei konnte gezeigt werden, dass eine systemische Gabe des Insulinrezeptor-Antagonisten S961 in Mäusen die Betazellproliferation erhöhte. S961 führte jedoch in Maus-Betazellen *in vitro* nicht direkt zu einer Betazellproliferation [50], sodass am ehesten indirekte Effekte dafür verantwortlich sind. In nachfolgenden *Microarray*-Analysen zeigte sich nach Behandlung mit S961 eine signifikant erhöhte Expression von Angptl8/Betatrophin in der Leber und im weißen Fettgewebe [50]. Zusätzlich führte eine Überexpression von Angptl8/Betatrophin in der Leber zu einer Betazellproliferation und zu einer verbesserten Glukosetoleranz in Mäusen. Zudem konnten die Autoren Angptl8/Betatrophin *in vitro* im Zellkulturüberstand nachweisen und zeigen, dass Angptl8/Betatrophin im Plasma von Mäusen zirkuliert [50].

Daher ist es von entscheidender Bedeutung, dieses Adipokin in humanen Studien detaillierter zu charakterisieren und zu untersuchen, ob die Niere relevant an der Eliminierung von Angptl8/Betatrophin beteiligt ist.

Wir konnten zeigen, dass Serumkonzentrationen des potentiell metabolisch günstigen Adipokins bei Patienten mit T2DM erhöht und mit Markern der Insulinresistenz assoziiert sind [51]. In *in vitro*-Experimenten wurde die mRNA Expression von *Angptl8/Betatrophin* durch Insulin induziert [51]. Analog zu diesen ersten humanen Ergebnissen in Patienten mit T2DM waren die Angptl8/Betatrophin-Konzentrationen auch bei Patientinnen mit GDM signifikant erhöht im Vergleich zu gesunden schwangeren Probandinnen. In multivariaten Analysen ergab sich ebenfalls eine unabhängige Assoziation von Angptl8/Betatrophin mit GDM [52]. Zusätzlich waren die Serumkonzentrationen dieses metabolisch günstigen Adipokins postpartal signifikant niedriger als während der Schwangerschaft [52].

In Patienten mit chronischer Dialysepflicht waren die Konzentrationen von Angptl8/Betatrophin hingegen nicht signifikant unterschiedlich im Vergleich zu nierengesunden Kontrollpatienten [51].

Publikation #1:

Ebert T, Kralisch S, Hoffmann A, Bachmann A, Lössner U, Kratzsch J, Blüher M, Stumvoll M, Tönjes A, Fasshauer M. Circulating angiopoietin-like protein 8 is independently associated with fasting plasma glucose and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Dec;99(12):E2510-7. doi: 10.1210/jc.2013-4349.

Publikation #2:

Ebert T, Kralisch S, Wurst, U, Lössner U, Kratzsch J, Blüher M, Stumvoll M, Tönjes A, Fasshauer M. Betatrophin levels are increased in women with gestational diabetes mellitus compared to healthy pregnant controls. *Eur J Endocrinol.* 2015 Jul;173(1):1-7. doi: 10.1530/EJE-14-0815. Epub 2015 Apr 7.

3.2 Irisin

Irisin wurde 2012 erstmals von einer Bostoner Arbeitsgruppe als ein Adipokin/Myokin beschrieben, welches in Mäusen die Glukosetoleranz und den Energieverbrauch günstig beeinflussen konnte [53]. In der initialen Arbeit untersuchte man die muskulären Effekte des *PPAR- γ co-activator-1 α* (PGC1- α). PGC1- α im Muskelgewebe wird durch Bewegung induziert und vermittelt u.a. über eine verbesserte mitochondriale Funktion und Angiogenese verschiedene günstige Effekte (zusammengefasst in [54]). Da PGC1- α -überexprimierende Mäuse auch metabolisch günstige Effekte aufweisen, konzentrierte sich die initiale Arbeit zu Irisin auf Muskelzell-sezernierte Zytokine. Hier konnte gezeigt werden, dass Mäuse mit einer Überexpression von PGC1- α im Muskelgewebe ein vermehrtes „*Browning*“ des weißen Fettgewebes aufwiesen, also eine Formation von multilokulären und *uncoupling protein 1* (UCP1)-positiven Fettzellen [53]. Interessanterweise zeigten Fettzellen nach Stimulation mit Medium von PGC1- α -überexprimierenden Muskelzellen *in vitro* eine erhöhte mRNA Expression von verschiedenen, für braunes Fett spezifischen Genen. Daher wurden hier mit unterschiedlichen Ansätzen verschiedene sezernierte Proteine untersucht, die an der Regulation beteiligt sein könnten. Schließlich wurde das Protein *Fibronectin type III domain-containing protein 5* (FNDC5) identifiziert, welches nach Abspaltung von C- und N-terminalen Peptiden als Irisin in der Zirkulation von Mäusen und Menschen detektierbar ist [53]. Mäuse mit einer Überexpression von FNDC5 wiesen eine erhöhte mRNA Expression von *UCP1* im subkutanen Fettgewebe auf und hatten eine signifikant verbesserte Glukosetoleranz [53]. Kurz nach Veröffentlichung der initialen Arbeit konnte gezeigt werden, dass Irisin nicht nur vom Muskelgewebe, sondern auch vom Fettgewebe produziert wird und daher auch als Adipokin gilt [55].

Daher muss auch dieses in tierexperimentellen Studien als benefiziell beschriebene Adipokin in humanen Kohorten charakterisiert werden. Zusätzlich muss vor einer eventuell denkbaren Evaluierung dieses Proteins als pharmakologisches *Target* beim Menschen die Eliminierung untersucht werden.

Unsere Arbeitsgruppe konnte hier nachweisen, dass das im Tiermodell günstige Adipokin in einer cross-sektionalen humanen Studie (N = 532) in Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz positiv mit Insulinresistenz assoziiert ist [56]. Zudem war das LDL Cholesterol positiv und unabhängig mit dem Adipokin assoziiert [56]. Passend zu diesen Daten zeigten Patientinnen mit GDM ebenfalls erhöhte Irisin-Konzentrationen im Serum im Vergleich

zu schwangeren, nicht-diabetischen Probandinnen. Weiterhin waren in den multivariaten Analysen Marker der Insulinresistenz positiv mit den Irisinkonzentrationen assoziiert [57]. Daher untersuchten wir dieses Adipokin in einer großen und gut phänotypisierten Querschnittsstudie ($N > 1000$). Hier zeigte sich das Adipokin mit einem metabolisch günstigen Phänotyp assoziiert und korrelierte negativ mit Fettmasse, Nüchternblutzucker und Dyslipidämie [58]. Interessanterweise waren die Serumkonzentrationen des Adipokins bei Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz erniedrigt im Vergleich zu nierengesunden Patienten [56].

Publikation #1:

Ebert T, Focke D, Petroff D, Wurst U, Richter J, Bachmann A, Lössner U, Kralisch S, Kratzsch J, Beige J, Bast I, Anders M, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of the myokine irisin in relation to metabolic and renal function. *Eur J Endocrinol*. 2014 Mar 8;170(4):501-6. doi: 10.1530/EJE-13-1053. Print 2014 Apr.

Publikation #2:

Ebert T, Stepan H, Schrey S, Kralisch S, Hindricks J, Hopf L, Lössner U, Jessnitzer B, Drewlo S, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of irisin in gestational diabetes mellitus during pregnancy and after delivery. *Cytokine*. 2014 Feb;65(2):153-8. doi: 10.1016/j.cyto.2013.11.009. Epub 2013 Dec 16

Publikation #3:

Ebert T, Kralisch S, Wurst U, Scholz M, Stumvoll M, Kovacs P, Fasshauer M, Tönjes A. Association of metabolic parameters and rs726344 in FNDC5 with serum irisin concentrations. *Int J Obes (Lond)*. 2016 Feb;40(2):260-5. doi: 10.1038/ijo.2015.157. Epub 2015 Aug 19.

3.3 Progranulin

Progranulin wurde initial 2012 als ein neues Adipokin beschrieben, welches direkt eine Insulinresistenz und Adipositas induzieren kann [59]. Matsubara und Mitarbeiter identifizierten Progranulin *in vitro* in einem 3T3-L1-Fettzellmodell als ein Adipokin, welches nach Behandlung mit Tumornekrosefaktor- α und Dexamethason vermehrt exprimiert wird [59]. Eine intraperitoneale Gabe von rekombinantem Progranulin in Mäusen führte zu einer erhöhten Insulinresistenz. Zudem zeigten die Autoren, dass Progranulin-defiziente Mäuse resistent gegen die Entwicklung einer Insulinresistenz und Adipositas waren [59]. Mechanistisch konnte nachgewiesen werden, dass Progranulin-defiziente Tiere eine signifikant reduzierte Expression von Interleukin 6 im Fettgewebe sowie reduzierte Serumkonzentrationen von Interleukin 6 hatten. Schließlich zeigten Matsubara und Mitarbeiter, dass eine Hemmung von Interleukin 6 die Progranulin-vermittelte Insulinresistenz in Mäusen signifikant verbesserte [59].

Daher ist auch hier eine genaue Charakterisierung dieses im Zell- und Tiermodell adversen Adipokins notwendig.

Wir konnten hier nachweisen, dass Progranulin in einer großen cross-sektionalen humanen Studie (N = 532) unabhängig und positiv mit Interleukin 6 assoziiert ist [60]. Serumkonzentrationen von Progranulin in Patienten mit T2DM waren in dieser Studie jedoch nicht verschieden im Vergleich zu Nichtdiabetikern [60]. Dies entspricht unseren Ergebnissen in Frauen mit GDM. Hier zeigte sich ebenfalls kein signifikanter Konzentrationsunterschied im Vergleich zu nicht-diabetischen, schwangeren Frauen [61]. Interessanterweise waren die zirkulierenden Progranulinspiegel jedoch signifikant mit der Nierenfunktion assoziiert und Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz hatten progressiv mit dem Schweregrad der chronischen Niereninsuffizienz ansteigende Serumkonzentrationen von Progranulin [60]. Da Progranulin ein potentiell pharmakologisches *Target* zur Behandlung von Inflammation und Insulinresistenz darstellen könnte, untersuchten wir die Eliminierung des Adipokins näher. Hier konnten wir zeigen, dass auch in Patienten mit akuter Niereninsuffizienz nach unilateraler Nephrektomie die Progranulinkonzentrationen signifikant ansteigen im Vergleich zu präoperativen Werten [62]. Cross-sektionale [60] und kleine longitudinale [62] Studien in Menschen können jedoch nicht endgültig beweisen, dass Nierenfunktion und Progranulin direkt miteinander assoziiert sind. Daher untersuchten wir dieses Adipokin im Detail in beidseits nephrektomierten Ratten als ein Modell der akuten Niereninsuffizienz und in Mäusen mit chronischer Niereninsuffizienz. Hier zeigte sich, dass zirkulierende Plasmakonzentrationen von Progranulin im Vergleich zu Kontrolltieren in beiden

Modellen mit akuter und chronischer Niereninsuffizienz erhöht sind [63]. Zusätzlich war die renale mRNA Expression von *mProgranulin* in chronisch niereninsuffizienten Mäusen reduziert im Vergleich zu Kontrolltieren (Abbildung 4) [63].

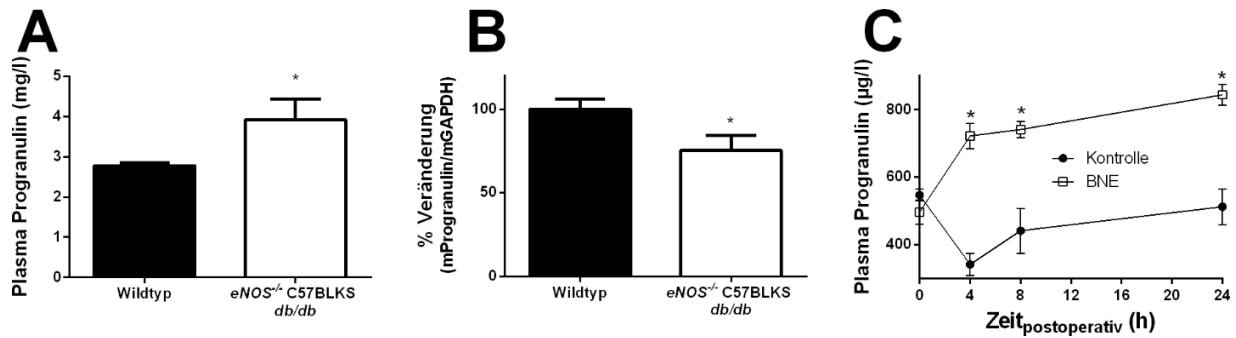


Abbildung 4: Progranulin in Tiermodellen mit chronischer und akuter Niereninsuffizienz

(**A, C**) Progranulin-Plasmakonzentrationen und (**B**) renale mRNA Expression von *mProgranulin* bezogen auf das Referenzgen Glycerinaldehyd-3-phosphat-Dehydrogenase (*mGAPDH*) in (**A, B**) 20 Wochen alten *eNOS*^{-/-} C57BLKS *db/db*-Mäusen (Modell für chronische Niereninsuffizienz, N ≥ 5 pro Gruppe) sowie in (**C**) männlichen Sprague–Dawley Ratten nach bilateraler Nephrektomie (BNE; Modell für akute Niereninsuffizienz, N ≥ 8 pro Gruppe). Abbildung modifiziert nach [63], Statistik siehe [63], *zeigt p < 0.05 im Vergleich zu (**A, B**) Wildtyp-Mäusen sowie (**C**) Schein-operierten Ratten zu den jeweiligen Zeitpunkten.

Publikation:

Ebert T, Kralisch S, Klötting N, Hoffmann A, Blüher M, Zhang MZ, Harris RC, Stumvoll M, Fasshauer M. Circulating progranulin but not renal progranulin expression is increased in renal dysfunction. *Kidney Int.* 2015 Nov;88(5):1197-1198. doi: 10.1038/ki.2015.266. (Letter to the Editor)

3.4 AFABP

AFABP ist ein metabolisch ungünstiges Adipokin, welches mit verschiedenen Facetten des metabolischen Syndroms assoziiert ist [64,65]. AFABP-defiziente Mäuse sind von Adipositas-assoziiierter Insulinresistenz und Diabetes mellitus geschützt [66,67]. Arbeiten aus der gleichen Gruppe konnten zudem zeigen, dass AFABP-defiziente Mäuse mit einem zusätzlichen Apolipoprotein E-*Knockout* signifikant weniger atherosklerotische Plaques in der Aorta hatten als Vergleichstiere [68]. Folgeexperimente der Arbeitsgruppe können nachweisen, dass der orale AFABP-Inhibitor BMS309403 Mäuse vor Atherosklerose und T2DM schützt [69]. AFABP ist daher mit mehreren Facetten des metabolischen Syndroms, jedoch auch mit der Entwicklung von kardiovaskulären Komplikationen, wie z.B. der Atherosklerose, direkt assoziiert.

Die Regulation und Eliminierung dieses metabolisch-adversen Adipokins müssen daher in Patienten mit Niereninsuffizienz untersucht werden, um herauszufinden, ob AFABP möglicherweise ein Link darstellt zwischen metabolischem Syndrom, Nierenfunktion und kardiovaskulärer Mortalität [70].

Hier konnten wir zeigen, dass Serumkonzentrationen des Adipokins AFABP mit steigender Niereninsuffizienz sowohl akut als auch chronisch ansteigen [46]. Da trotz Adjustierung in humanen Studien immer mögliche *Confounder* zu den Ergebnissen beitragen können, validierten wir die Daten in Tieren mit akuter Niereninsuffizienz im Vergleich zu Alters-, Geschlechts- und Körpergewichts-gematchten Tieren mit gleicher Intervention, jedoch orthotop verbliebenen Nieren (Schein-Operation). Hier konnten wir zeigen, dass Ratten nach bilateraler Nephrektomie im Vergleich zu Schein-operierten Tieren signifikant höhere Retentionsparameter (Cystatin C, Urea) aufwiesen [46]. Zirkulierende AFABP-Konzentrationen in beidseits nephrektomierten Tieren waren postoperativ nach 4h, 8h sowie nach 24h ebenfalls signifikant erhöht im Vergleich zu Schein-operierten Ratten [46].

Publikation:

Ebert T, Hopf LM, Bachmann A, Kralisch S, Lössner U, Kratzsch J, Stolzenburg JU, Dietel A, Beige J, Anders M, Bast I, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of the adipokine adipocyte fatty acid binding protein are increased in chronic and acute renal dysfunction. *Nutr Metab Cardiovasc Dis.* 2014 Sep;24(9):1027-34. doi: 10.1016/j.numecd.2014.03.006. Epub 2014 Apr 2.

3.5 FGF21

FGF21 ist ein Mitglied der FGF-Familie, die aktuell aus 23 verschiedenen Proteinen besteht. FGF21 wurde im Jahr 2000 erstmals als ein von der Leber freigesetztes Protein identifiziert [71]. Das Fettgewebe sowie die Muskulatur stellen weitere Organe mit signifikanter FGF21-Expression dar (zusammengefasst in [72]). In den folgenden Jahren konnte nachgewiesen werden, dass FGF21 im Tiermodell Insulin-mimetische sowie Lipid-senkende Wirkungen besitzt [73]. Interessanterweise gibt es analog zu AFABP auch für FGF21 Daten bezüglich der Atherosklerose-Entwicklung in Mäusen mit einem Apolipoprotein E-*Knockout*. Hier wiesen Mäuse, die zusätzlich FGF21-defizient waren, eine vermehrte Atherosklerose auf [74]. Eine rekombinante FGF21-Gabe konnte die Atherosklerose in FGF21-defizienten Tieren wieder reduzieren [74]. Im Gegensatz zu diesen Mausdaten zeigten sich im Menschen divergente Assoziationen von FGF21 mit kardiometabolischen Markern. So war FGF21 positiv assoziiert mit Insulinresistenz [75], Blutdruck [65] sowie Dyslipidämie [76] und zeigte sich erhöht in Patienten mit koronarer Herzerkrankung [76]. Interessanterweise ist FGF21 auch ein statistischer Prädiktor für die Entwicklung eines metabolischen Syndroms und T2DM in einer großen longitudinalen deutschen Studie [77]. Bereits in früheren Arbeiten konnte unsere Arbeitsgruppe zeigen, dass FGF21-Konzentrationen bei Patientinnen mit GDM nicht signifikant unterschiedlich sind im Vergleich zu schwangeren, nicht-diabetischen Probandinnen [35]. Trotz der unterschiedlichen Assoziationen in humanen und tierexperimentellen Untersuchungen wird das Prinzip einer FGF21-Therapie mittlerweile in Phase 2-Studien im Menschen getestet [78]. Für die weitere Etablierung von FGF21 als ein potentiell pharmakologisches *Target* ist es daher wichtig, die Regulation von FGF21 bei Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion zu untersuchen.

Hier konnten wir in Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz zeigen, dass die Serumkonzentrationen von FGF21 beim Abfall der Nierenfunktion graduell anstiegen [79]. In der multivariaten Regressionsanalyse war interessanterweise die Nierenfunktion der stärkste, negative statistische Prädiktor von zirkulierendem FGF21 in unserer Kohorte von 532 Patienten mit chronischer Niereninsuffizienz. Im Gegensatz dazu waren signifikante Assoziationen von metabolischen Markern mit der FGF21-Konzentration statistisch schwächer [79]. In der Kohorte von Patienten vor und nach einer elektiven unilateralen Nephrektomie stiegen die FGF21-Spiegel postoperativ ebenfalls signifikant an [79]. Da diese humanen Studien trotz multivariater Adjustierung *Confounder*-anfällig sind, bestimmten wir die FGF21-Konzentrationen in Ratten

nach bilateraler Nephrektomie im Vergleich zu Alters-, Geschlechts- und Körpergewichtsgematchten Kontrolltieren, die eine Schein-OP erhielten. Präoperativ wiesen beide Gruppen identische FGF21-Konzentrationen auf (*unpublished data*). Postoperativ hatten Tiere in der Nephrektomie-Gruppe 17-fach erhöhte FGF21-Spiegel im Vergleich zu Schein-operierten Tieren (*unpublished data*). Dies beweist eine kausale Beziehung von Nierenfunktion und zirkulierenden FGF21-Konzentrationen.

Publikation:

Hindricks J*, Ebert T* (**equally contributing**), Bachmann A, Kralisch S, Lössner U, Kratzsch J, Stolzenburg JU, Dietel A, Beige J, Anders M, Bast I, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of fibroblast growth factor-21 are increased in chronic and acute renal dysfunction. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014 Jun;80(6):918-24. doi: 10.1111/cen.12380. Epub 2014 Jan 12.

4. Diskussion und Ausblick

In den der Habilitationsschrift zugrundeliegenden Arbeiten konnten erstmals neuartige und metabolisch aktive Adipokine in den kardiometabolischen Risikoerkrankungen chronische Niereninsuffizienz, akute Niereninsuffizienz sowie GDM charakterisiert werden. Ausgewählte Adipokine wurden zudem in großen Kohortenstudien quantifiziert, um die Ergebnisse in gesunden Probanden replizieren zu können. Entscheidende Adipokine wurden weiterhin im Tiermodell *in vivo* untersucht mit dem Ziel, einen direkten Einfluss einer Niereninsuffizienz auf die Adipokinkonzentrationen zu verifizieren.

Insgesamt konnten wir durch unsere Arbeiten verschiedene Regulationsmuster von Adipokinen bei Patientinnen mit GDM erkennen. Bei Frauen mit GDM war das Leber- und Fettzell-sezernierte Protein Angptl8/Betatrophin erhöht im Vergleich zu gesunden schwangeren Frauen [52]. Wir konnten somit die bereits bei T2DM vorbeschriebene Regulation von Angptl8/Betatrophin [51] auch bei GDM nachweisen. Unsere Arbeiten bestätigten damit im Menschen den pathophysiologischen Zusammenhang zwischen erhöhten Angptl8/Betatrophin-Konzentrationen und zwei mit Insulinresistenz einhergehenden Erkrankungen, T2DM und GDM. Angptl8/Betatrophin wurde initial als ein Hepatokin beschrieben, welches zu einer β -Zell-Proliferation, einer erhöhten β -Zell-Masse und damit zu einer verbesserten Glukosetoleranz führt [50]. Im Jahr 2017 musste die initiale Publikation [50] durch die Autoren zurückgezogen werden, da man in folgenden Untersuchungen die tierexperimentellen Ergebnisse nicht reproduzieren konnte [80]. Zusätzlich zu unseren Untersuchungen [51,52] konnten auch andere Arbeitsgruppen unsere Ergebnisse bei Patienten mit T2DM [81,82] und GDM [83,84] bestätigen. Ursächlich für diese Ergebnisse könnte primär die Insulinresistenz sein. Der Insulinrezeptor-Antagonist S961 führte in Mäusen zu einer erhöhten mRNA Expression von *mAngptl8/Betatrophin* in der Leber [50]. Dieses nicht von der *Retraction Notice* betroffene Ergebnis könnte die Ursache für erhöhte zirkulierende Konzentrationen von Angptl8/Betatrophin sein, sodass Angptl8/Betatrophin bei Insulinresistenz vermehrt sezerniert wird. Weitere Studien müssen nun untersuchen, ob Angptl8/Betatrophin einen möglichen pathophysiologischen Effekt auf den Glukosestoffwechsel hat. Interessanterweise beeinflusst das Leber- und Fettzell-sezernierte Protein den Triglyzeridstoffwechsel (zusammengefasst in [85]) und es befinden sich hierfür monoklonale Angptl8/Betatrophin-Antikörper in Entwicklung [86].

Bei einer Reihe von anderen Adipokinen unterschied sich das Regulationsmuster bei GDM im Vergleich zu T2DM. So waren für die Serumkonzentrationen der Adipokine Progranulin [61], Pref-1 [87], Fractalkine [61] und Sclerostin [88] bei GDM keine signifikanten Unterschiede im Vergleich zu gesunden schwangeren Frauen nachweisbar. Bei Copeptin fanden sich signifikant erniedrigte Konzentrationen in GDM im Vergleich zu Kontrollprobandinnen [89]. Das Adipokin Irisin war bei Patientinnen mit GDM im Vergleich zu gesunden schwangeren Probandinnen erhöht [57].

In den initialen Studien zu diesen Adipokinen wurde jeweils eine Assoziation mit Insulinresistenzparametern gezeigt. Im Vergleich zum T2DM unterschied sich jedoch in unseren Studien in Patientinnen mit GDM die Regulation dieser Adipokine mit gegensätzlichen oder fehlenden Assoziationen. Basierend auf unseren Studien besteht hier daher kein universeller Zusammenhang des jeweiligen Adipokins mit der Insulinresistenz. Hier müssen zunächst weitere Studien die Gründe für die differentiellen Ergebnisse bei T2DM und GDM klären, bevor diese Proteine als potentielle pharmakologische *Targets* etabliert werden können.

Beispielhaft untersuchten wir daher das Adipokin Irisin in weiterführenden humanen Studien aufgrund der im Vergleich zu T2DM [90,91] gegensätzlichen Daten bei GDM [57]. Wir bestimmten Irisin in einer großen und metabolisch sehr gut charakterisierten Kohortenstudie in über 1000 Probanden [58]. Hier war das Adipokin mit einem metabolisch günstigen Profil assoziiert, sodass sich die Resultate in schwangeren Frauen mit GDM signifikant unterscheiden im Vergleich zu Patienten mit T2DM sowie in einer großen Querschnittskohorte. Ein Grund für diese unterschiedlichen Resultate in T2DM und GDM könnten plazentare Einflüsse auf die Serumspiegel der Zytokine sein. In einer Pilotstudie konnten wir mittels ELISA hierbei in Plazentagewebe von gesunden schwangeren Frauen eine Proteinexpression von Irisin nachweisen [57]. Interessanterweise ist bereits für eine Reihe von weiteren Adipokinen eine plazentare Expression und Sekretion beschrieben, u.a. für Leptin, Adiponektin und Resistin [92–94]. Zudem sind für einige Adipokine auch Gestationsalter-abhängige Konzentrationen während der Schwangerschaft beschrieben, die die Hypothese einer relevanten plazentaren Synthese der Adipokine unterstützen. Wir konnten dies beispielhaft für das Adipokin Pref-1 zeigen [87].

Allgemein ist es bei Adipokinen, die bei Frauen mit GDM erhöht sind [52,57], von entscheidender Bedeutung zu klären, ob ein kausaler Zusammenhang zwischen Adipokin und Glukosestoffwechsellage besteht. Dies ist aufgrund unseres Studiendesigns nicht möglich und

muss in zukünftigen Studien untersucht werden. Hier sollte insbesondere geklärt werden, ob erhöhte Konzentrationen von metabolisch günstigen Adipokinen bei GDM direkt der Insulinresistenz entgegenwirken, um diese zu limitieren wie möglicherweise bei Irisin [57]. Alternativ ist auch eine Resistenz gegenüber dem jeweiligen metabolisch günstigen Adipokin denkbar, vergleichbar mit einer Insulinresistenz. Interessanterweise wurden hierzu bereits für andere Adipokine eine Leptin- [95] und eine FGF21-Resistenz [96] in metabolischen Erkrankungen beschrieben.

In den cross-sektionalen Studien zu chronischer und akuter Niereninsuffizienz konnten wir ebenfalls verschiedene Regulationsmuster von Adipokinen feststellen.

Eine Reihe von Adipokinen ist bei Patienten mit chronischer und akuter Niereninsuffizienz erhöht, so z.B. Progranulin [60,62], AFABP [46] und FGF21 [79]. Basierend auf diesen Ergebnissen in Patienten mit einer eingeschränkten renalen Funktion erscheint eine renale Elimination dieser Adipokine möglich. Für diese Hypothese konnten wir aufgrund des Studiendesigns trotz verschiedener statistischer Auswertestrategien keine Kausalität nachweisen. Daher wurden für einzelne Adipokine weitere Untersuchungen im Tiermodell durchgeführt, um den Zusammenhang zwischen Nierenfunktion und Adipokinkonzentration zu verifizieren. Hier konnte der direkte Zusammenhang nachgewiesen und bestätigt werden für die Adipokine Progranulin [63], AFABP [46] und FGF21 (*unpublished data*), die alle bei Ratten mit einer akuten Niereninsuffizienz erhöht waren. Dies macht eine renale Eliminierung dieser Adipokine als einen möglichen Mechanismus der Regulation bei Niereninsuffizienz sehr wahrscheinlich.

Interessanterweise ist für verschiedene der untersuchten Adipokine eine Assoziation mit kardiovaskulären Folgeerkrankungen und Mortalität beschrieben, wie z.B. Progranulin [97,98], AFABP [99–101] und FGF21 (zusammengefasst in [102]). Daher könnten die erhöhten Konzentrationen dieser Fettzell-sezernierten Proteine bei reduzierter Nierenfunktion hypothetisch zu der gesteigerten Morbidität und Mortalität von Patienten mit akuter [24,25] und chronischer [19] Niereninsuffizienz beitragen. In diesem Fall wäre das jeweilige Adipokin ein potentielles pharmakologisches *Target*. Entscheidend vor einer weiteren Entwicklung ist jedoch die Frage, ob die erhöhten Konzentrationen durch eine reduzierte Elimination der Adipokine entstehen oder ob eine erhöhte Sekretion dieser Proteine der Grund für die vermehrten Serumkonzentrationen ist. Beispielhaft konnte für das metabolisch günstige Adipokin Adiponektin [103,104] gezeigt werden, dass Adiponektin-*Knockout*-Mäuse eine erhöhte Albuminurie hatten und eine

Adiponektin-Gabe *in vitro* die Podozytenpermeabilität und -dysfunktion senkte [105]. In Patienten mit einer chronischen Niereninsuffizienz liegen jedoch erhöhte Serumkonzentrationen vor [106,107]. Das in Mausstudien auch renal günstige Adiponektin ist jedoch nicht nur aufgrund einer möglichen reduzierten Ausscheidung bei chronischer Niereninsuffizienz erhöht. Martinez Cantarin und Mitarbeiter zeigten, dass die Adiponektin mRNA und Protein-Expression im Fettgewebe bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz im Vergleich zu gesunden Nierenspendern signifikant erhöht ist und somit ebenfalls zu den erhöhten Serumspiegeln beitragen kann [108]. Trotz dieser komplexen Regulation bei Niereninsuffizienz sind, basierend auf unseren Untersuchungen, insbesondere die Adipokine Progranulin [60], AFABP [46] und FGF21 [79] Kandidaten für weiterführende Studien, da diese Zytokine mit kardiovaskulären Erkrankungen assoziiert sind und von der Nierenfunktion abhängen. Interessanterweise gibt es für das metabolisch günstige Adipokin FGF21 erste Hinweise, dass in Mäusen eine therapeutische Gabe von FGF21 die Insulinresistenz [109] und den Blutdruck [110] verbessern und insgesamt die Albumin-Kreatinin-ratio im Urin und eine renale Fibrose reduzieren kann [109]. Dies könnte für FGF21 bedeuten, dass eine weitere Erhöhung der bereits vermehrten Konzentrationen bei Niereninsuffizienz [79] potentiell günstige renale Effekte aufweist. Hier muss in weiterführenden Studien jedoch der in Assoziationsstudien nachgewiesene positive Zusammenhang zwischen FGF21 und kardiovaskulären Erkrankungen [102] beachtet werden.

Die Serumkonzentrationen des Adipokins Irisin sinken in unserer Population mit steigender Schwere der Niereninsuffizienz [56]. Dies ist ebenfalls ein Hinweis auf einen Einfluss der Nierenfunktion auf die Adipokinkonzentration. Auch hier kann aufgrund des cross-sektionalen Designs keine Kausalität dieses Zusammenhangs nachgewiesen werden. Insbesondere ist unklar, ob dies ein direkter Zusammenhang ist. Hier ist ein indirekter Zusammenhang, z.B. über erhöhte Metabolite bei Niereninsuffizienz, eher wahrscheinlich. In Bezug auf Irisin führt *in vitro* das Urämietoxin Indoxylsulfat dosisabhängig zu einem verminderten Proteingehalt sowie zu einer reduzierten Irisinfreisetzung aus Muskelzellen [111]. Dies stellt somit aktuell den überzeugendsten Pathomechanismus für die reduzierten Irisinkonzentrationen bei chronischer Niereninsuffizienz dar.

Die Serumkonzentrationen von weiteren Adipokinen sind bei chronischer Niereninsuffizienz im Vergleich zur nierengesunden Probanden unverändert, wie z.B. für das Adipokin Angptl8/Betrotrophin [51]. Diese Adipokine, bei denen die Nierenfunktion keinen Einfluss auf deren Serumspiegel hat, werden möglicherweise über andere *Clearance*-Mechanismen eliminiert.

Diese Mechanismen müssen in der Zukunft und insbesondere vor näherer Charakterisierung des jeweiligen Adipokins als ein potentiell pharmakologisches *Target* weiter untersucht werden. Die Leber stellt dabei das wichtigste Organ für eine nicht-renale Eliminierung dar [112]. Es muss daher bei den von der Nierenfunktion unabhängigen Adipokinen geprüft werden, ob die Leberfunktion mit den zirkulierenden Serumkonzentrationen der Fettzell-sezernierten Proteine assoziiert ist und welche pathophysiologischen Mechanismen an der Eliminierung beteiligt sind.

Im Gegensatz zu unseren deskriptiven humanen und tierexperimentellen Studien zum Einfluss der Nierenfunktion auf die zirkulierenden Spiegel der Adipokine ist es aktuell jedoch unklar, ob diese Fettgewebs-sezernierten Proteine auch einen *kausalen* Einfluss auf die Pathogenese der chronischen Niereninsuffizienz haben. Diese Hypothese eines direkten Einflusses von Adipokinen auf die Entstehung und Progression einer Niereninsuffizienz ist jedoch entscheidend und könnte in Zukunft zu einer *kausalen* pharmakologischen Therapie von Nierenerkrankungen führen. Basierend auf den humanen cross-sektionalen Studien vermuten wir daher, dass Adipokine in einem Mausmodell der chronischen Niereninsuffizienz 1) erhöht sind und 2) die Nierenfunktion *kausal* beeinflussen. Um die *kausale* Rolle von Adipokinen nun bei chronischer Niereninsuffizienz näher zu untersuchen, werden daher aktuell in unserer Arbeitsgruppe verschiedene Tierversuchsvorhaben in *eNOS*^{-/-} C57BLKS *db/db*-Mäusen, einem etablierten Modell der chronischen Niereninsuffizienz [113,114], durchgeführt. Hier erwarten wir in den nächsten Monaten erste Daten zum Adipokin AFABP, für das wir bereits in humanen und tierexperimentellen Studien einen direkten Zusammenhang zwischen der Nierenfunktion und den AFABP-Serumkonzentrationen nachgewiesen haben [46]. Um den *kausalen* Einfluss von AFABP auf die Entstehung und Progression einer Niereninsuffizienz nachzuweisen, werden dafür *eNOS*^{-/-} C57BLKS *db/db*-Mäuse bis zu 24 Wochen klinisch beobachtet und es werden renale sowie metabolische Untersuchungen in Stoffwechselläufigen durchgeführt. Eine Gruppe der Tiere erhält dabei über einen Zeitraum von 8 Wochen den potenten und selektiven AFABP-Inhibitor BMS-309403 und wird verglichen mit Placebo-behandelten Tieren. In einem weiteren Versuchssatz erfolgt ein Vergleich von *eNOS*^{-/-} C57BLKS *db/db*-Mäusen und *eNOS*^{-/-} C57BLKS *db/db* *aP2*^{-/-}-Mäusen, die zusätzlich einen AFABP-*Knockout* besitzen. Darauf aufbauend werden diese *Triple-Knockout*-Mäuse (*eNOS*^{-/-} C57BLKS *db/db* *aP2*^{-/-}-Mäuse) selektiv mit rekombinantem AFABP im Vergleich zu Placebo behandelt. Diese Versuche werden dann

direkte Rückschlüsse der *kausalen* Rolle von AFABP auf die Entwicklung und Progression einer chronischen Niereninsuffizienz zulassen.

Durch die Etablierung dieses Modelltieres hoffen wir, auch in Zukunft neuartige und metabolisch aktive Adipokine bei Niereninsuffizienz charakterisieren zu können und den direkten und *kausalen* Einfluss dieser Fettzell-sezernierten Proteine auf die Entstehung und Progression der Niereninsuffizienz nachweisen zu können.

Zusammenfassend konnten in der Habilitationsschrift verschiedene Adipokine in kardiometabolischen Risikoerkrankungen charakterisiert werden. Basierend auf den Ergebnissen wurden verschiedene Fettzell-sezernierte Proteine identifiziert, die in zukünftigen Untersuchungen pharmakologische *Targets* für die Behandlung einer Insulinresistenz bei T2DM und GDM sowie für die Therapie einer Niereninsuffizienz darstellen können.

5. Anlagen

5.1 Anlage 1: Erklärungen zur vorgelegten Habilitationsschrift

Hiermit erkläre ich,

- (1) dass ich die vorliegende Habilitationsschrift selbstständig verfasst, keine anderen als die angegebenen Quellen und Hilfsmittel benutzt habe sowie die wörtlich oder inhaltlich übernommenen Stellen als solche gekennzeichnet wurden. Alles aus anderen Quellen und von anderen Personen übernommene Material, das in der Arbeit verwendet wurde oder auf das direkt Bezug genommen wird, wurde als solches kenntlich gemacht.
- (2) dass die Einhaltung der „Satzung der Universität Leipzig zur Sicherung guter wissenschaftlicher Praxis“ in der Erstfassung vom 17. April 2015 Grundlage meiner Forschungstätigkeit war;
- (3) dass die Habilitationsschrift in dieser oder ähnlicher Form an keiner anderen Stelle, weder im Inland noch im Ausland, zum Zweck einer Habilitation oder eines anderen Graduierungsverfahrens vorgelegt wurde (ggf. Abgabe einer Erklärung über frühere Habilitationsversuche unter Angabe von Ort, Zeit, Fakultät sowie Titel der Schrift);
- (4) dass ich die Habilitationsordnung der Medizinischen Fakultät der Universität Leipzig in der Fassung vom 23.06.2017 anerkenne.

Leipzig, den 25.06.2018

Dr. med. Thomas Ebert

5.2 Anlage 2: Lebenslauf

5.3 Anlage 3: Publikationsverzeichnis

Originalarbeiten in internationalen bzw. deutschsprachigen Zeitschriften (Peer-reviewed)

1. Auer MK*, **Ebert T***, Pietzner M, Defreyne J, Fuss J, Stalla GK, T'Sjoen G. Effects of Sex Hormone Treatment on the Metabolic Syndrome in Transgender Individuals: Focus on Metabolic Cytokines. *J Clin Endocrinol Metab.* 2018 Feb 1;103(2):790-802. doi: 10.1210/jc.2017-01559.
2. Miehle K, **Ebert T**, Kralisch S, Hoffmann A, Kratzsch J, Schlögl H, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum concentrations of fetuin B in lipodystrophic patients. *Cytokine.* 2018 Jun;106:165-168. doi: 10.1016/j.cyto.2017.10.028. Epub 2017 Nov 16.
3. **Ebert T#**, Linder N, Schaudinn A, Busse H, Berger J, Lichtinghagen R, Keim V, Wiegand J, Karlas T. Association of fetuin B with markers of liver fibrosis in nonalcoholic fatty liver disease. *Endocrine.* 2017 Nov;58(2):246-252. doi: 10.1007/s12020-017-1417-z. Epub 2017 Sep 15.
4. Kralisch S, Hoffmann A, Kratzsch J, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M*, **Ebert T#***. The brown fat-secreted adipokine neuregulin 4 is decreased in gestational diabetes mellitus. *Diabetes Metab.* 2018 Mar;44(2):150-154. doi: 10.1016/j.diabet.2017.06.001. Epub 2017 Jul 11.
5. Rasche FM, Stoebe S, **Ebert T**, Feige S, Hagendorff A, Rasche WG, Barinka F, Busch V, Sack U, Schneider JG, Schiekofer S. Modern peptide biomarkers and echocardiography in cardiac healthy haemodialysis patients. *BMC Nephrol.* 2017 May 30;18(1):175. doi: 10.1186/s12882-017-0589-3.
6. Rasche FM, Joel C, **Ebert T**, Frese T, Barinka F, Busch V, Rasche WG, Lindner TH, Schneider J, Schiekofer S. Dual RAAS Blockade with Aliskiren in Patients with Severely Impaired Chronic Kidney Disease. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 2018 Jan;126(1):39-52. doi: 10.1055/s-0043-106440. Epub 2017 Apr 27.
7. Miehle K, **Ebert T**, Kralisch S, Hoffmann A, Kratzsch J, Schlögl H, Stumvoll M, Fasshauer M. Adipocyte and Epidermal Fatty Acid-Binding Protein serum concentrations in patients with lipodystrophy. *Cytokine.* 2017 Jan 12;92:20-23. doi: 10.1016/j.cyto.2017.01.006.
8. Kralisch S, Hoffmann A, Klötting N, Bachmann A, Kratzsch J, Blüher M, Zhang MZ, Harris RC, Stumvoll M, Fasshauer M*, **Ebert T#***. The novel adipokine/ hepatokine fetuin B in severe human and murine diabetic kidney disease. *Diabetes Metab.* 2017 Oct;43(5):465-468. doi: 10.1016/j.diabet.2017.01.005. Epub 2017 Feb 14.
9. Kralisch S, Hoffmann A, Klötting N, Bachmann A, Kratzsch J, Stolzenburg JU, Dietel A, Beige J, Anders M, Bast I, Blüher M, Zhang MZ, Harris RC, Stumvoll M, Fasshauer M*, **Ebert T#***. FSTL3 is increased in renal dysfunction. *Nephrol Dial Transplant.* 2017 Oct 1;32(10):1637-1644. doi: 10.1093/ndt/gfw472.

10. Rasche FM, **Ebert T**, Beckmann J, Busch V, Barinka F, Rasche WG, Lindner TH, Schneider JG, Schiekofer S. Influence of Erythropoiesis-Stimulating Agents on HbA1c and Fructosamine in Patients with Haemodialysis. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2017 Jun;125(6):384-391. doi: 10.1055/s-0042-124577. Epub 2017 Apr 13.
11. Kralisch S, Hoffmann A, Lössner U, Kratzsch J, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M*, **Ebert T#***. Regulation of the novel adipokines/ hepatokines fetuin A and fetuin B in gestational diabetes mellitus. *Metabolism*. 2017 Mar;68:88-94. doi: 10.1016/j.metabol.2016.11.017.
12. Miehle K*, **Ebert T***, Kralisch S, Hoffmann A, Kratzsch J, Schlögl H, Stumvoll M, Fasshauer M. Progranulin is increased in human and murine lipodystrophy. *Diabetes Res Clin Pract*. 2016 Oct;120:1-7. doi: 10.1016/j.diabres.2016.07.017. Epub 2016 Jul 30.
13. Miehle K, **Ebert T**, Kralisch S, Hoffmann A, Kratzsch J, Schlögl H, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum concentrations of fibroblast growth factor 21 are elevated in patients with congenital or acquired lipodystrophy. *Cytokine*. 2016 Jul;83:239-44. doi: 10.1016/j.cyto.2016.04.015. Epub 2016 May 11.
14. Hoffmann A, Manjowk G-M, Wagner IV, Klötting N, **Ebert T**, Jessnitzer B, Lössner U, Stukenborg J-B, Stumvoll M, Söder O, Svechnikov K, Fasshauer M, Kralisch S. Leptin within the subphysiological to physiological range improves male reproductive function. *Endocrinology*. 2016 Jun;157(6):2461-8. doi: 10.1210/en.2015-1966. Epub 2016 Apr 22.
15. Miehle K, **Ebert T**, Kralisch S, Hoffmann A, Kratzsch J, Schlögl H, Stumvoll M, Fasshauer M. Circulating serum chemerin levels are elevated in lipodystrophy. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2016 Jun;84(6):932-8. doi: 10.1111/cen.12976. Epub 2015 Dec 15.
16. Hoffmann A, **Ebert T**, Klötting N, Jessnitzer B, Burkhardt R, Fasshauer M, Kralisch S. Leptin dose-dependently prevents atherosclerosis by suppression of hypercholesterolemia and induction of adiponectin. *Biochim Biophys Acta*. 2016 Jan;1862(1):113-20. doi: 10.1016/j.bbadis.2015.10.022. Epub 2015 Oct 28.
17. **Ebert T#***, Platz M*, Kralisch S, Lössner U, Jessnitzer B, Richter J, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of copeptin are decreased in gestational diabetes mellitus. *Exp Clin Endocrinol Diabetes*. 2016 Apr;124(4):257-60. doi: 10.1055/s-0035-1565172. Epub 2016 Jan 29.
18. **Ebert T#**, Kralisch S, Wurst U, Scholz M, Stumvoll M, Kovacs P, Fasshauer M, Tönjes A. Association of metabolic parameters and rs726344 in *FNDC5* with serum irisin concentrations. *Int J Obes (Lond)*. 2016 Feb;40(2):260-5. doi: 10.1038/ijo.2015.157. Epub 2015 Aug 19.
19. Schrey S, Wurst U, **Ebert T**, Kralisch S, Drewlo S, Stepan H, Lössner U, Platz M, Kratzsch J, Stumvoll M, Fasshauer M. The adipokine preadipocyte factor-1 is downregulated in preeclampsia and expressed in placenta. *Cytokine*. 2015 Oct;75(2):338-43. doi: 10.1016/j.cyto.2015.07.021. Epub 2015 Aug 1.

20. **Ebert T#***, Kralisch S*, Klötting N, Hoffmann A, Blüher M, Zhang MZ, Harris RC, Stumvoll M, Fasshauer M. Circulating progranulin but not renal progranulin expression is increased in renal dysfunction. *Kidney Int.* 2015 Nov;88(5):1197-1198. doi: 10.1038/ki.2015.266.
21. Wang SY*, **Ebert T***, Jaekel N, Schubert S, Niederwieser D, Al-Ali HK. Miliary tuberculosis after initiation of ibrutinib in chronic lymphocytic leukemia. *Ann Hematol.* 2015 Aug;94(8):1419-20. doi: 10.1007/s00277-015-2385-0. Epub 2015 Apr 24.
22. Kralisch S, Klötting N, **Ebert T**, Kern M, Hoffmann A, Krause K, Jessnitzer B, Lossner U, Sommerer I, Stumvoll M, Fasshauer M. Circulating adipocyte fatty acid-binding protein induces insulin resistance in mice in vivo. *Obesity (Silver Spring).* 2015 May;23(5):1007-13. doi: 10.1002/oby.21057. Epub 2015 Apr 10.
23. **Ebert T#***, Kralisch S*, Wurst, U, Lössner U, Kratzsch J, Blüher M, Stumvoll M, Tönjes A, Fasshauer M. Betatrophin levels are increased in women with gestational diabetes mellitus compared to healthy pregnant controls. *Eur J Endocrinol.* 2015 Jul;173(1):1-7. doi: 10.1530/EJE-14-0815. Epub 2015 Apr 7.
24. Platz M, Stepan H, Schrey S, Kralisch S, Wurst U, Lossner U, Jessnitzer B, Kratzsch J, Stumvoll M, Fasshauer M, **Ebert T#**. Serum levels of sclerostin in cardiometabolic disorders during pregnancy. *Cytokine.* 2015 Dec;76(2):591-3. doi: 10.1016/j.cyto.2015.02.017. Epub 2015 Mar 7.
25. Wurst U*, **Ebert T***, Kralisch S, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of the adipokine Pref-1 in gestational diabetes mellitus. *Cytokine.* 2015 Feb;71(2):161-4. doi: 10.1016/j.cyto.2014.10.015. Epub 2014 Nov 17.
26. **Ebert T#***, Kralisch S*, Hoffmann A, Bachmann A, Lössner U, Kratzsch J, Blüher M, Stumvoll M, Tönjes A, Fasshauer M. Circulating angiopoietin-like protein 8 is independently associated with fasting plasma glucose and type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab.* 2014 Dec;99(12):E2510-7. doi: 10.1210/jc.2013-4349.
27. Karger S, Wiesner T, Kersting A, Braun M, **Ebert T**, Wurst U, Kratzsch J, Stumvoll M, Fasshauer M. Increased chromogranin A and carcinoid syndrome-like symptoms in a patient treated with duloxetine. *Endocr Pract.* 2014 Nov 1;20(11):e215-8. doi: 10.4158/EP14162.CR.
28. **Ebert T#**, Kralisch S, Lössner U, Jessnitzer B, Stumvoll M, Fasshauer M, Tönjes A. Relationship Between Serum Levels of Angiopoietin-Related Growth Factor and Metabolic Risk Factors. *Horm Metab Res.* 2014 Sep;46(10):685-90. doi: 10.1055/s-0034-1382078. Epub 2014 Jul 10.
29. **Ebert T#***, Hindricks J*, Kralisch S, Lössner U, Jessnitzer B, Richter J, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of fractalkine are associated with markers of insulin resistance in gestational diabetes mellitus. *Diabet Med.* 2014 Aug;31(8):1014-7. doi: 10.1111/dme.12451. Epub 2014 Apr 16.

30. **Ebert T##**, Hopf LM*, Bachmann A, Kralisch S, Lössner U, Kratzsch J, Stolzenburg JU, Dietel A, Beige J, Anders M, Bast I, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of the adipokine adipocyte fatty acid binding protein are increased in chronic and acute renal dysfunction. *Nutr Metab Cardiovasc Dis*. 2014 Sep;24(9):1027-34. doi: 10.1016/j.numecd.2014.03.006. Epub 2014 Apr 2.
31. Hindricks J*, **Ebert T##**, Bachmann A, Kralisch S, Lössner U, Kratzsch J, Stolzenburg JU, Dietel A, Beige J, Anders M, Bast I, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of fibroblast growth factor-21 are increased in chronic and acute renal dysfunction. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2014 Jun;80(6):918-24. doi: 10.1111/cen.12380. Epub 2014 Jan 12.
32. **Ebert T#**, Stepan H, Schrey S, Kralisch S, Hindricks J, Hopf L, Lössner U, Jessnitzer B, Drewlo S, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of irisin in gestational diabetes mellitus during pregnancy and after delivery. *Cytokine*. 2014 Feb;65(2):153-8. doi: 10.1016/j.cyto.2013.11.009. Epub 2013 Dec 16
33. **Ebert T#**, Richter J, Bachmann A, Lössner U, Kralisch S, Kratzsch J, Beige J, Bast I, Anders M, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of the myokine irisin in relation to metabolic and renal function. *Eur J Endocrinol*. 2014 Mar 8;170(4):501-6. doi: 10.1530/EJE-13-1053. Print 2014 Apr.
34. **Ebert T##**, Roth I*, Richter J, Tönjes A, Kralisch S, Lössner U, Kratzsch J, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Different Associations of Adipokines in Lean and Healthy Adults. *Horm Metab Res*. 2014 Jan;46(1):41-7. doi: 10.1055/s-0033-1353198. Epub 2013 Sep 16.
35. Kralisch S, **Ebert T**, Lössner U, Jessnitzer B, Stumvoll M, Fasshauer M. Adipocyte fatty acid binding protein is released from adipocytes by a non-conventional mechanism. *Int J Obes (Lond)*. 2014 Sep;38(9):1251-4. doi: 10.1038/ijo.2013.232. Epub 2013 Dec 13.
36. Richter J*, **Ebert T***, Stolzenburg JU, Dietel A, Hopf L, Hindricks J, Kralisch S, Kratzsch J, Fasshauer M. Response Letter: Serum levels of the adipokine progranulin depend on renal function. *Diabetes Care*. 2013 Jun;36(6):e84. doi: 10.2337/dc12-2705.
37. Stepan H, Richter J, Kley K, Kralisch S, Jank A, Schaarschmidt W, **Ebert T**, Lössner U, Jessnitzer B, Kratzsch J, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of growth arrest specific protein 6 are increased in preeclampsia. *Regul Pept*. 2013 Mar 10;182:7-11. doi: 10.1016/j.regpep.2012.12.013. Epub 2013 Jan 11.
38. Kralisch S, Tönjes A, Krause K, Richter J, Lossner U, Kovacs P, **Ebert T**, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Fibroblast Growth Factor-21 serum concentrations are associated with metabolic and hepatic markers in humans. *J Endocrinol*. 2013 Jan 18;216(2):135-43. doi: 10.1530/JOE-12-0367. Print 2013 Feb.
39. Richter J, Focke D, **Ebert T**, Kovacs P, Bachmann A, Lössner U, Kralisch S, Kratzsch J, Beige J, Anders M, Bast I, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of the adipokine progranulin depend on renal function. *Diabetes Care*. 2013 Feb;36(2):410-4. doi: 10.2337/dc12-0220. Epub 2012 Oct 1.

40. Selig L, Reiche M, **Ebert T#**, Krehl D, Kralisch S, Lossner U, Stach B, Blüher M, Stumvoll M, Bödeker H, Keim V, Mössner J, Fasshauer M. Serum levels of adipocyte fatty acid-binding protein are decreased in chronic pancreatitis. *Pancreas*. 2012 Nov;41(8):1230-4. doi: 10.1097/MPA.0b013e31824e2d93.
41. **Ebert T**, Bachmann A, Lössner U, Kratzsch J, Blüher M, Stumvoll M, Fasshauer M. Serum levels of angiopoietin-related growth factor in diabetes mellitus and chronic hemodialysis. *Metabolism*. 2009 Apr;58(4):547-51.
42. Stepan H, **Ebert T**, Schrey S, Reisenbüchler C, Stein S, Lossner U, Blüher M, Stumvoll M, Kratzsch J, Faber R, Fasshauer M. Serum levels of angiopoietin-related growth factor are increased in preeclampsia. *Am J Hypertens*. 2009 Mar;22(3):314-8. Epub 2008 Dec 4. doi:10.1038/ajh.2008.340
43. Stepan H, **Ebert T**, Schrey S, Reisenbüchler C, Blüher M, Stumvoll M, Kratzsch J, Tönnessen P, Faber R, Fasshauer M. Preliminary report: Serum levels of retinol-binding protein 4 in preeclampsia. *Metabolism*. 2009 Mar;58(3):275-7.
44. Fasshauer M, Waldeyer T, Seeger J, Schrey S, **Ebert T**, Kratzsch J, Lössner U, Blüher M, Stumvoll M, Faber R, Stepan H. Circulating high-molecular-weight adiponectin is upregulated in preeclampsia and is related to insulin sensitivity and renal function. *Eur J Endocrinol*. 2008 Feb;158(2):197-201.
45. Fasshauer M, Seeger J, Waldeyer T, Schrey S, **Ebert T**, Kratzsch J, Lössner U, Blüher M, Stumvoll M, Faber R, Stepan H. Serum levels of the adipokine adipocyte fatty acid-binding protein are increased in preeclampsia. *Am J Hypertens*. 2008 May;21(5):582-6. Epub 2008 Mar 13.
46. Fasshauer M, Waldeyer T, Seeger J, Schrey S, **Ebert T**, Kratzsch J, Lossner U, Blüher M, Stumvoll M, Faber R, Stepan H. Serum levels of the adipokine visfatin are increased in pre-eclampsia. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2008 Jul;69(1):69-73. Epub 2008 Jul 1.
47. Fasshauer M, Seeger J, Waldeyer T, Schrey S, **Ebert T**, Lossner U, Blüher M, Stumvoll M, Faber R, Stepan H. Endogenous soluble receptor for advanced glycation endproducts is increased in preeclampsia. *J Hypertens*. 2008 Sep;26(9):1824-8.

* **gleichberechtigte Autorenschaft**

korrespondierender Autor

Editorials

1. **Ebert T#** and Kralisch S. Newly discovered myokines in chronic kidney disease. *Pol Arch Med Wewn*. 2016 Aug 9;126(7-8):457-8. doi: 10.20452/pamw.3473. Epub 2016 Aug 9.

2. **Ebert T**, Fasshauer M. Tumor necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand and cardio-vascular disease. *Atherosclerosis*. 2011 Apr;215(2):279-80. Epub 2011 Jan 21.
3. **Ebert T**, Fasshauer M. Adiponectin: sometimes good, sometimes bad? *Cardiology*. 2011;118(4):236-7. Epub 2011 Jun 29.
4. **Ebert T**, Fasshauer M. Does pioglitazone directly influence platelet aggregation? *Cardiology*. 2010;116(4):251-2. Epub 2010 Aug 26.

korrespondierender Autor

Eingeladene Artikel im Journal Club von "Der Diabetologe"

1. **Ebert T**. Einfluss von Empagliflozin auf die Albuminurie in der EMPA-REG OUTCOME-Studie. *Der Diabetologe*. 2017;13(7):517-518.
2. **Ebert T**. Diabetes mellitus-bedingte Mortalität in Ländern mit mittlerem Einkommen. *Der Diabetologe*. 2017;13(1):40-41.
3. **Ebert T**. Tetraspanin-7 – ein neues Autoantigen in Diabetes mellitus Typ 1. *Der Diabetologe*. 2016;12(5):360-361.
4. **Ebert T**. Einfluss von zirkadianem Rhythmus auf Glucosetoleranz. *Der Diabetologe*. 2015;11(4):320-321.
5. **Ebert T**. Mortalität von Patienten mit Diabetes mellitus Typ 1. *Der Diabetologe*. 2015;11(1):64-65.
6. **Ebert T**. Bionisches Pankreas. *Der Diabetologe*. 2014;10(6):492-493.
7. **Ebert T**. Keine neue Therapie der diabetischen Nephropathie. *Der Diabetologe*. 2014;10(2):144-146.

5.4 Anlage 4: Danksagung

5.5 Anlage 5: Referenzen

1. Ahima RS, Flier JS (2000) Adipose Tissue as an Endocrine Organ. *Trends Endocrinol. Metab.* 11:327–332
2. Peinado JR, Jimenez-Gomez Y, Pulido MR, et al. (2010) The stromal-vascular fraction of adipose tissue contributes to major differences between subcutaneous and visceral fat depots. *PROTEOMICS* 10:3356–3366
3. Fain JN, Madan AK, Hiler ML, Cheema P, Bahouth SW (2004) Comparison of the Release of Adipokines by Adipose Tissue, Adipose Tissue Matrix, and Adipocytes from Visceral and Subcutaneous Abdominal Adipose Tissues of Obese Humans. *Endocrinology* 145:2273–2282
4. Zhang Y, Proenca R, Maffei M, Barone M, Leopold L, Friedman JM (1994) Positional cloning of the mouse obese gene and its human homologue. *Nature* 372:425–432
5. Hotamisligil GS, Shargill NS, Spiegelman BM (1993) Adipose expression of tumor necrosis factor- α : direct role in obesity-linked insulin resistance. *Science* 259:87–91
6. Montague CT, Farooqi IS, Whitehead JP, et al. (1997) Congenital leptin deficiency is associated with severe early-onset obesity in humans. *Nature* 387:903–908
7. Farooqi IS, Jebb SA, Langmack G, et al. (1999) Effects of Recombinant Leptin Therapy in a Child with Congenital Leptin Deficiency. *N. Engl. J. Med.* 341:879–884
8. Maffei M, Halaas J, Ravussin E, et al. (1995) Leptin levels in human and rodent: measurement of plasma leptin and ob RNA in obese and weight-reduced subjects. *Nat. Med.* 1:1155–1161
9. Frederich RC, Hamann A, Anderson S, Löllmann B, Lowell BB, Flier JS (1995) Leptin levels reflect body lipid content in mice: evidence for diet-induced resistance to leptin action. *Nat. Med.* 1:1311–1314
10. Kern PA, Saghizadeh M, Ong JM, Bosch RJ, Deem R, Simsolo RB (1995) The expression of tumor necrosis factor in human adipose tissue. Regulation by obesity, weight loss, and relationship to lipoprotein lipase. *J. Clin. Invest.* 95:2111–2119
11. Lozano R, Naghavi M, Foreman K, et al. (2012) Global and regional mortality from 235 causes of death for 20 age groups in 1990 and 2010: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2010. *The Lancet* 380:2095–2128
12. Collaboration TGB of MRF for CD (2014) Cardiovascular disease, chronic kidney disease, and diabetes mortality burden of cardiometabolic risk factors from 1980 to 2010: a comparative risk assessment. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2:634–647
13. Fenske W, Athanasiou T, Harling L, Drechsler C, Darzi A, Ashrafian H (2013) Obesity-related cardiorenal disease: the benefits of bariatric surgery. *Nat. Rev. Nephrol.* 9:539–551

14. Levey AS, Coresh J (2012) Chronic kidney disease. *The Lancet* 379:165–180
15. Trevisan R, Dodesini AR, Lepore G (2006) Lipids and Renal Disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17:S145–S147
16. Schiffrin EL, Lipman ML, Mann JFE (2007) Chronic Kidney Disease. *Circulation* 116:85–97
17. Fox CS, Larson MG, Leip EP, Culleton B, Wilson PF, Levy D (2004) Predictors of new-onset kidney disease in a community-based population. *JAMA* 291:844–850
18. Stenvinkel P, Zoccali C, Ikizler TA (2013) Obesity in CKD—What Should Nephrologists Know? *J. Am. Soc. Nephrol.* 24:1727–1736
19. de Jager DJ, Vervloet MG, Dekker FW (2014) Noncardiovascular mortality in CKD: an epidemiological perspective. *Nat. Rev. Nephrol.* 10:208–214
20. Briffa JF, McAinch AJ, Poronnik P, Hryciw DH (2013) Adipokines as a link between obesity and chronic kidney disease. *Am. J. Physiol. - Ren. Physiol.* 305:F1629–F1636
21. Ruster C, Wolf G (2013) Adipokines promote chronic kidney disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* 28:iv8–iv14
22. Rewa O, Bagshaw SM (2014) Acute kidney injury—epidemiology, outcomes and economics. *Nat. Rev. Nephrol.* 10:193–207
23. Chawla LS, Eggers PW, Star RA, Kimmel PL (2014) Acute Kidney Injury and Chronic Kidney Disease as Interconnected Syndromes. *N. Engl. J. Med.* 371:58–66
24. James MT, Ghali WA, Knudtson ML, et al. (2011) Associations Between Acute Kidney Injury and Cardiovascular and Renal Outcomes After Coronary Angiography Clinical Perspective. *Circulation* 123:409–416
25. Uchino S, Kellum JA, Bellomo R, et al (2005) Acute renal failure in critically ill patients: A multinational, multicenter study. *JAMA* 294:813–818
26. Doyle JF, Forni LG (2015) Long-Term Follow-up of Acute Kidney Injury. *Crit. Care Clin.* 31:763–772
27. Wang W, Poole B, Mitra A, et al. (2004) Role of Leptin Deficiency in Early Acute Renal Failure during Endotoxemia in ob/ob Mice. *J. Am. Soc. Nephrol.* 15:645–649
28. Jin X, Chen J, Hu Z, Chan L, Wang Y (2013) Genetic deficiency of adiponectin protects against acute kidney injury. *Kidney Int.* 83:604–614
29. Koch A, Gressner OA, Sanson E, Tacke F, Trautwein C (2009) Serum resistin levels in critically ill patients are associated with inflammation, organ dysfunction and metabolism and may predict survival of non-septic patients. *Crit. Care* 13:R95

30. American Diabetes Association (2016) Classification and Diagnosis of Diabetes. *Diabetes Care* 39:S13–S22
31. Buchanan TA, Xiang AH, Page KA (2012) Gestational diabetes mellitus: risks and management during and after pregnancy. *Nat. Rev. Endocrinol.* 8:639–649
32. Catalano PM (2014) Trying to understand gestational diabetes. *Diabet. Med.* 31:273–281
33. Park S, Kim M-Y, Baik SH, et al. (2013) Gestational diabetes is associated with high energy and saturated fat intakes and with low plasma visfatin and adiponectin levels independent of prepregnancy BMI. *Eur. J. Clin. Nutr.* 67:196–201
34. Maple-Brown L, Ye C, Hanley AJ, et al. (2012) Maternal Pregravid Weight Is the Primary Determinant of Serum Leptin and Its Metabolic Associations in Pregnancy, Irrespective of Gestational Glucose Tolerance Status. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 97:4148–4155
35. Stein S, Stepan H, Kratzsch J, et al. (2010) Serum fibroblast growth factor 21 levels in gestational diabetes mellitus in relation to insulin resistance and dyslipidemia. *Metabolism* 59:33–37
36. Kralisch S, Stepan H, Kratzsch J, et al. (2009) Serum levels of adipocyte fatty acid binding protein are increased in gestational diabetes mellitus. *Eur. J. Endocrinol.* 160:33–38
37. KDIGO (2013) KDIGO 2012 Clinical Practice Guideline for the Evaluation and Management of Chronic Kidney Disease. *Kidney Int. Suppl.* 3:1–150
38. Levey AS, Coresh J, Balk E, et al. (2003) National Kidney Foundation Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Evaluation, Classification, and Stratification. *Ann. Intern. Med.* 139:137–147
39. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. (2009) A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Ann. Intern. Med.* 150:604–612
40. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D (1999) A More Accurate Method To Estimate Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine: A New Prediction Equation. *Ann. Intern. Med.* 130:461–470
41. Argiles A, Mourad G, Basset N, et al. (1987) Acute adaptative changes to unilateral nephrectomy in humans. *Kidney Int.* 32:714–720
42. Siebels M, Theodorakis J, Schmeller N, et al. (2003) Risks and complications in 160 living kidney donors who underwent nephroureterectomy. *Nephrol. Dial. Transplant.* 18:2648–2654
43. American Diabetes Association (2012) Diagnosis and Classification of Diabetes Mellitus. *Diabetes Care* 36:S67–S74
44. Cumin F, Baum HP, Levens N (1997) Mechanism of leptin removal from the circulation by the kidney. *J. Endocrinol.* 155:577–585

45. Tacke S, Henke J, Erhardt W (2008) Schmerztherapie mit Metamizol - Literaturübersicht und eigene klinische Erfahrungen. *Tierärztl Prax* :19–25
46. Ebert T, Hopf LM, Wurst U, et al. (2014) Circulating adipocyte fatty acid binding protein is increased in chronic and acute renal dysfunction. *Nutr. Metab. Cardiovasc. Dis.* 24:1027–1034
47. Zhao HJ, Wang S, Cheng H, et al. (2006) Endothelial Nitric Oxide Synthase Deficiency Produces Accelerated Nephropathy in Diabetic Mice. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17:2664–2669
48. Kralisch S, Hoffmann A, Klötting N, et al. (2017) FSTL3 is increased in renal dysfunction. *Nephrol. Dial. Transplant.* 32:1637–1644
49. Matthews DR, Hosker JP, Rudenski AS, Naylor BA, Treacher DF, Turner RC (1985) Homeostasis model assessment: insulin resistance and β -cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 28:412–419
50. Yi P, Park J-S, Melton DA (2013) Betatrophin: A Hormone that Controls Pancreatic β Cell Proliferation. *Cell* 153:747–758
51. Ebert T, Kralisch S, Hoffmann A, et al. (2014) Circulating Angiopoietin-like Protein 8 Is Independently Associated With Fasting Plasma Glucose and Type 2 Diabetes Mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 99:E2510–E2517
52. Ebert T, Kralisch S, Wurst U, et al. (2015) Betatrophin levels are increased in women with gestational diabetes mellitus compared to healthy pregnant controls. *Eur. J. Endocrinol. Eur. Fed. Endocr. Soc.* 173:1–7
53. Boström P, Wu J, Jedrychowski MP, et al. (2012) A PGC1- α -dependent myokine that drives brown-fat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature* 481:463–468
54. Handschin C, Spiegelman BM (2008) The role of exercise and PGC1 α in inflammation and chronic disease. *Nature* 454:463–469
55. Roca-Rivada A, Castela C, Senin LL, et al. (2013) FNDC5/Irisin Is Not Only a Myokine but Also an Adipokine. *PLoS ONE* 8:e60563
56. Ebert T, Focke D, Petroff D, et al. (2014) Serum levels of the myokine irisin in relation to metabolic and renal function. *Eur. J. Endocrinol.* 170:501–506
57. Ebert T, Stepan H, Schrey S, et al. (2014) Serum levels of irisin in gestational diabetes mellitus during pregnancy and after delivery. *Cytokine* 65:153–158
58. Ebert T, Kralisch S, Wurst U, et al. (2016) Association of metabolic parameters and rs726344 in FNDC5 with serum irisin concentrations. *Int. J. Obes.* 40:260–265
59. Matsubara T, Mita A, Minami K, et al. (2012) PGRN is a Key Adipokine Mediating High Fat Diet-Induced Insulin Resistance and Obesity through IL-6 in Adipose Tissue. *Cell Metab.* 15:38–50

60. Richter J, Focke D, Ebert T, et al. (2013) Serum Levels of the Adipokine Progranulin Depend on Renal Function. *Diabetes Care* 36:410–414
61. Ebert T, Hindricks J, Kralisch S, et al. (2014) Serum levels of fractalkine are associated with markers of insulin resistance in gestational diabetes. *Diabet. Med.* 31:1014–1017
62. Richter J, Ebert T, Stolzenburg J-U, et al. (2013) Response to Comment on: Richter et al. Serum Levels of the Adipokine Progranulin Depend on Renal Function. *Diabetes Care* 2013;36:410–414. *Diabetes Care* 36:e84–e84
63. Ebert T, Kralisch S, Klötting N, et al. (2015) Circulating progranulin but not renal progranulin expression is increased in renal dysfunction. *Kidney Int.* 88:1197–1198
64. Kralisch S, Fasshauer M (2013) Adipocyte fatty acid binding protein: a novel adipokine involved in the pathogenesis of metabolic and vascular disease? *Diabetologia* 56:10–21
65. Ebert T, Gebhardt C, Scholz M, et al. (2018) Relationship Between 12 Adipocytokines and Distinct Components of the Metabolic Syndrome. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 103:1015–1023
66. Hotamisligil GS, Johnson RS, Distel RJ, Ellis R, Papaioannou VE, Spiegelman BM (1996) Uncoupling of obesity from insulin resistance through a targeted mutation in aP2, the adipocyte fatty acid binding protein. *Science* 274:1377–1379
67. Maeda K, Cao H, Kono K, et al. (2005) Adipocyte/macrophage fatty acid binding proteins control integrated metabolic responses in obesity and diabetes. *Cell Metab.* 1:107–119
68. Makowski L, Boord JB, Maeda K, et al. (2001) Lack of macrophage fatty-acid-binding protein aP2 protects mice deficient in apolipoprotein E against atherosclerosis. *Nat. Med.* 7:699–705
69. Furuhashi M, Tuncman G, Görgün CZ, et al. (2007) Treatment of diabetes and atherosclerosis by inhibiting fatty-acid-binding protein aP2. *Nature* 447:959–965
70. Tonelli M, Wiebe N, Culleton B, et al. (2006) Chronic Kidney Disease and Mortality Risk: A Systematic Review. *J. Am. Soc. Nephrol.* 17:2034–2047
71. Nishimura T, Nakatake Y, Konishi M, Itoh N (2000) Identification of a novel FGF, FGF-21, preferentially expressed in the liver. *Biochim.Biophys.Acta* 1492:203–206
72. Babaknejad N, Nayeri H, Hemmati R, Bahrami S, Esmailzadeh A (2018) An Overview of FGF19 and FGF21: The Therapeutic Role in the Treatment of the Metabolic Disorders and Obesity. *Horm. Metab. Res.* 50:441–452
73. Kharitonov A, Shiyanova TL, Koester A, et al. (2005) FGF-21 as a novel metabolic regulator. *J. Clin. Invest.* 115:1627–1635

74. Lin Z, Pan X, Wu F, et al. (2015) Fibroblast Growth Factor 21 Prevents Atherosclerosis by Suppression of Hepatic Sterol Regulatory Element-Binding Protein-2 and Induction of Adiponectin in Mice. *Circulation* 131:1861–1871
75. Chavez AO, Molina-Carrion M, Abdul-Ghani MA, Folli F, DeFronzo RA, Tripathy D (2009) Circulating Fibroblast Growth Factor-21 Is Elevated in Impaired Glucose Tolerance and Type 2 Diabetes and Correlates With Muscle and Hepatic Insulin Resistance. *Diabetes Care* 32:1542–1546
76. Lin Z, Wu Z, Yin X, et al. (2010) Serum Levels of FGF-21 Are Increased in Coronary Heart Disease Patients and Are Independently Associated with Adverse Lipid Profile. *PLoS ONE* 5:e15534
77. Bobbert T, Schwarz F, Fischer-Rosinsky A, et al. (2013) Fibroblast Growth Factor 21 Predicts the Metabolic Syndrome and Type 2 Diabetes in Caucasians. *Diabetes Care* 36:145–149
78. Gaich G, Chien JY, Fu H, et al. (2013) The Effects of LY2405319, an FGF21 Analog, in Obese Human Subjects with Type 2 Diabetes. *Cell Metab.* 18:333–340
79. Hindricks J, Ebert T, Bachmann A, et al. (2014) Serum levels of fibroblast growth factor-21 are increased in chronic and acute renal dysfunction. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 80:918–924
80. Yi P, Park J-S, Melton DA (2017) Retraction Notice to: Betatrophin: A Hormone that Controls Pancreatic β Cell Proliferation. *Cell* 168:326
81. Chen X, Lu P, He W, et al. (2015) Circulating Betatrophin Levels Are Increased in Patients With Type 2 Diabetes and Associated With Insulin Resistance. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 100:E96–E100
82. Hu H, Sun W, Yu S, et al. (2014) Increased Circulating Levels of Betatrophin in Newly Diagnosed Type 2 Diabetic Patients. *Diabetes Care* 37:2718–2722
83. Trebotic LK, Klimek P, Thomas A, et al. (2015) Circulating Betatrophin Is Strongly Increased in Pregnancy and Gestational Diabetes Mellitus. *PLoS ONE* 10:e0136701
84. Wawrusiewicz-Kurylonek N, Telejko B, Kuzmicki M, et al. (2015) Increased Maternal and Cord Blood Betatrophin in Gestational Diabetes. *PLoS ONE* 10:e0131171
85. Zhang R (2016) The ANGPTL3-4-8 model, a molecular mechanism for triglyceride trafficking. *Open Biol.* 6:150272
86. Fu Z, Abou-Samra AB, Zhang R (2015) A lipasin/Angptl8 monoclonal antibody lowers mouse serum triglycerides involving increased postprandial activity of the cardiac lipoprotein lipase. *Sci. Rep.* 5:18502
87. Wurst U, Ebert T, Kralisch S, Stumvoll M, Fasshauer M (2015) Serum levels of the adipokine Pref-1 in gestational diabetes mellitus. *Cytokine* 71:161–164

88. Platz M, Stepan H, Schrey S, et al. (2015) Serum levels of sclerostin in cardiometabolic disorders during pregnancy. *Cytokine* 76:591–593
89. Ebert T, Platz M, Kralisch S, et al. (2016) Serum Levels of Copeptin are Decreased in Gestational Diabetes Mellitus. *Exp. Clin. Endocrinol. Diabetes* 124:257–260
90. Choi Y-K, Kim M-K, Bae KH, et al. (2013) Serum irisin levels in new-onset type 2 diabetes. *Diabetes Res. Clin. Pract.* 100:96–101
91. Liu J-J, Wong MDS, Toy WC, et al. (2013) Lower circulating irisin is associated with type 2 diabetes mellitus. *J. Diabetes Complications* 27:365–369
92. Haugen F, Ranheim T, Harsem NK, Lips E, Staff AC, Drevon CA (2006) Increased plasma levels of adipokines in preeclampsia: relationship to placenta and adipose tissue gene expression. *Am. J. Physiol. - Endocrinol. Metab.* 290:E326–E333
93. Chen J, Tan B, Karteris E, et al. (2006) Secretion of adiponectin by human placenta: differential modulation of adiponectin and its receptors by cytokines. *Diabetologia* 49:1292
94. Schrey S, Wurst U, Ebert T, et al. (2015) The adipokine preadipocyte factor-1 is downregulated in preeclampsia and expressed in placenta. *Cytokine* 75:338–343
95. Zhang Y, Scarpace PJ (2006) The role of leptin in leptin resistance and obesity. *Physiol. Behav.* 88:249–256
96. Fisher FM, Chui PC, Antonellis PJ, et al. (2010) Obesity Is a Fibroblast Growth Factor 21 (FGF21)-Resistant State. *Diabetes* 59:2781–2789
97. Kojima Y, Ono K, Inoue K, et al. (2009) Progranulin expression in advanced human atherosclerotic plaque. *Atherosclerosis* 206:102–108
98. Yoo HJ, Hwang SY, Hong HC, et al. (2013) Implication of Progranulin and C1q/TNF-Related Protein-3 (CTRP3) on Inflammation and Atherosclerosis in Subjects with or without Metabolic Syndrome. *PLoS ONE* 8:e55744
99. Eynatten M von, Breitling LP, Roos M, Baumann M, Rothenbacher D, Brenner H (2012) Circulating Adipocyte Fatty Acid-Binding Protein Levels and Cardiovascular Morbidity and Mortality in Patients With Coronary Heart Disease A 10-year Prospective Study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 32:2327–2335
100. Reiser H, Klingenberg R, Hof D, et al. (2015) Circulating FABP4 Is a Prognostic Biomarker in Patients With Acute Coronary Syndrome but Not in Asymptomatic Individuals. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 35:1872–1879
101. Huang C-L, Wu Y-W, Hsieh A-R, Hung Y-H, Chen W-J, Yang W-S (2013) Serum adipocyte fatty acid-binding protein levels in patients with critical illness are associated with insulin resistance and predict mortality. *Crit. Care* 17:R22

102. Lakhani I, Gong M, Wong WT, et al. (2018) Fibroblast growth factor 21 in cardio-metabolic disorders: a systematic review and meta-analysis. *Metabolism* 83:11–17
103. Fasshauer M, Paschke R, Stumvoll M (2004) Adiponectin, obesity, and cardiovascular disease. *Biochimie* 86:779–784
104. Spranger J, Kroke A, Möhlig M, et al. (2003) Adiponectin and protection against type 2 diabetes mellitus. *The Lancet* 361:226–228
105. Sharma K, RamachandraRao S, Qiu G, et al. (2008) Adiponectin regulates albuminuria and podocyte function in mice. *J. Clin. Invest.* 118:1645–1656
106. Ziegelmeier M, Bachmann A, Seeger J, et al. (2008) Adipokines influencing metabolic and cardiovascular disease are differentially regulated in maintenance hemodialysis. *Metabolism* 57:1414–1421
107. Iwashima Y, Horio T, Kumada M, et al. (2006) Adiponectin and Renal Function, and Implication as a Risk of Cardiovascular Disease. *Am. J. Cardiol.* 98:1603–1608
108. Martinez Cantarin MP, Waldman SA, Doria C, et al. (2013) The adipose tissue production of adiponectin is increased in end-stage renal disease. *Kidney Int.* 83:487–494
109. Kim HW, Lee JE, Cha JJ, et al. (2013) Fibroblast Growth Factor 21 Improves Insulin Resistance and Ameliorates Renal Injury in *db/db* Mice. *Endocrinology* 154:3366–3376
110. Pan X, Shao Y, Wu F, et al. (2018) FGF21 Prevents Angiotensin II-Induced Hypertension and Vascular Dysfunction by Activation of ACE2/Angiotensin-(1-7) Axis in Mice. *Cell Metab.* 27:1323-1337.e5
111. Wen M-S, Wang C-Y, Lin S-L, Hung K-C (2013) Decrease in Irisin in Patients with Chronic Kidney Disease. *PLoS ONE* 8:e64025
112. Khojasteh SC, Wong H, Hop CECA 2011 Drug Metabolism and Pharmacokinetics Quick Guide [Internet]. New York, NY: Springer New York; Available from: <http://link.springer.com/10.1007/978-1-4419-5629-3> [cited 2016 Jul 28]
113. Breyer MD, Böttinger E, Brosius FC, et al. (2005) Mouse Models of Diabetic Nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 16:27–45
114. Brosius FC, Alpers CE, Bottinger EP, et al. (2009) Mouse Models of Diabetic Nephropathy. *J. Am. Soc. Nephrol.* 20:2503–2512