

Aus der Klinik für Innere Medizin IV – Nieren- und Hochdruckkrankheiten

der Universitätsklinik des Saarlandes

Homburg/Saar

Direktor: Univ.-Professor Dr. med. Danilo Fliser

FGF-23 UND LINKSVENTRIKULÄRE DYSFUNKTION

DISSERTATION

ZUR ERLANGUNG DES GRADES EINES DOKTORS DER MEDIZIN

DER MEDIZINISCHEN FAKULTÄT

DER UNIVERSITÄT DES SAARLANDES

2011

vorgelegt von

Niko Michael Rebling

geboren am 14.09.1981 in Göttingen

Inhaltsverzeichnis

Inhaltsverzeichnis	I
1 Zusammenfassung	1
2 Abstract	3
3 Einleitung.....	5
3.1 FGF-23 als Regulator der Calcium-Phosphat Homöostase	5
3.2 FGF-23 bei CKD	7
3.3 FGF-23 bei Nierengesunden.....	7
3.4 Linksventrikuläre Hypertrophie, Dysfunktion und Herzinsuffizienz.....	8
3.5 FGF-23 und linksventrikuläre Hypertrophie	8
3.6 Zielsetzung dieser Arbeit und klinische Fragestellung.....	9
4 Material, Methoden und Probanden.....	10
4.1 Probanden	10
4.2 Probengewinnung und Archivierung.....	10
4.3 Koronarangiographie bei Studieneinschluss.....	11
4.4 Laborchemische Methoden.....	12
4.4.1 Bestimmung von FGF-23	12
4.4.2 Verwendete Materialien und Geräte	15
4.5 Patientenfragebögen.....	16
4.6 Statistische Auswertung.....	17
5 Ergebnisse.....	18
5.1 Patientencharakteristika	18
5.2 FGF-23 und kardiovaskuläres Risikoprofil	22
5.3 FGF-23 und linksventrikuläre Funktion	25
5.3.1 Pro-BNP und Ejektionsfraktion	25
5.3.2 Zusammenhang zwischen FGF-23 und pro-BNP	26
5.3.3 FGF-23 und Ejektionsfraktion	28
5.3.4 Multivariates Regressionsmodell.....	30
5.4 FGF-23 und prävalente KHK	32

6	Diskussion	33
6.1	Messung von FGF-23	33
6.2	Erhöhte FGF-23 Spiegel bei eingeschränkter Nierenfunktion	34
6.3	FGF-23 und Atherosklerose.....	35
6.4	Zusammenhang von FGF-23 und linksventrikulärer Funktion	37
6.5	Mögliche therapeutische Option	40
6.6	Schlussfolgerung und Ausblick	42
7	Literaturverzeichnis	43
8	Danksagung	54
9	Publikationen	55
10	Anhang.....	57
10.1	Abkürzungsverzeichnis.....	57
10.2	Abbildungsverzeichnis.....	59
10.3	Tabellenverzeichnis	59
10.4	Fragebogen.....	60
11	Lebenslauf	68

1 Zusammenfassung

Einleitung

Das Proteinhormon FGF-23 induziert eine Steigerung der renalen Phosphatexkretion und eine Hemmung der gastrointestinalen Aufnahme von Phosphat aus der Nahrung. Trotz der resultierenden, vermeintlich protektiven Senkung des Serum-Phosphates, konnte gezeigt werden, dass erhöhte FGF-23 Spiegel mit einem vermehrten Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen und einer erhöhten Mortalität, sowohl bei chronisch nierenkranken Patienten als auch bei nierengesunden Menschen, einhergehen. Während weitere Studien eine Assoziation zwischen FGF-23 und linksventrikulärer Hypertrophie aufzeigen, stehen Untersuchungen zum Zusammenhang zwischen FGF-23 und der linksventrikulären Funktion aus.

Patienten und Methoden

In Kooperation der Kliniken für Innere Medizin III und IV des Universitätsklinikums des Saarlandes wurden zwischen Mai 2007 und Januar 2010 1130 Patienten, die sich einer elektiven Koronarangiographie unterzogen, in eine Kohortenstudie eingeschlossen. Bei allen Patienten wurden klassische kardiovaskuläre Risikofaktoren und Komorbiditäten erfasst. Zur Beurteilung der linksventrikulären Funktion erfolgte eine Ventrikulographie und eine Bestimmung der pro-BNP Spiegel im Serum. Die FGF-23 Werte wurden mittels eines c-terminalen ELISA bestimmt.

Ergebnisse

Patienten mit einer Ejektionsfraktion (EF) <40% wiesen signifikant höhere FGF-23 Spiegel auf als Patienten mit einer EF >40% (EF <40%: 60,1 rU/ml [IQR: 35,9-125,7 rU/ml]; EF 40-60%: 39,7 rU/ml [IQR: 15,2-72,3 rU/ml]; EF >60%: 38,4 rU/ml [IQR: 16,1-67,7 rU/ml]; $p < 0,001$). Im Einklang korrelierten FGF-23 und pro-BNP signifikant ($r = 0,31$; $p < 0,001$). In einer multivariaten Regressionsanalyse persistierte die Assoziation zwischen FGF-23 und pro-BNP nach Korrektur für Nierenfunktion, Alter, Geschlecht und Phosphat-Spiegel. Patienten mit koronarer Herzerkrankung (KHK) und Patienten ohne KHK unterscheiden sich nicht hinsichtlich ihrer FGF-23 Spiegel.

Diskussion

Die durchgeführte Kohortenstudie zeigte eine Korrelation zwischen FGF-23 und der linksventrikulären Funktion. Aktuell ist noch unklar, ob erhöhte FGF-23 Spiegel als eigenständige Risikofaktoren über einen noch unbekanntem pathophysiologischen Mechanismus zu einer linksventrikulären Schädigung beitragen, oder lediglich als Risikomarker die negativen kardiovaskulären Effekte einer erhöhten Phosphatbelastung reflektieren.

Diese Ergebnisse sollten Anlass zu weiterführenden Untersuchungen sein, die eine pharmakologische Senkung von FGF-23 als neuen Therapieansatz in der Behandlung der linksventrikulären Dysfunktion erforschen.

2 Abstract

Introduction

The protein hormone FGF-23 induces an increase of renal phosphate excretion and inhibits gastrointestinal phosphate absorption. Despite the resulting, seemingly protective role in lowering serum phosphate levels, increased FGF-23 levels are predictors of cardiovascular events and mortality in patients suffering from chronic kidney disease (CKD) as well as in subjects without CKD. While recent studies point out an association between FGF-23 and left ventricular hypertrophy, investigations on the connection between FGF-23 and left ventricular function are still due.

Patients and Methods

Between May 2007 and January 2010, 1130 patients undergoing elective coronary angiography, were included in a cohort study which was cooperatively initiated by the Departments for Internal Medicine III and IV at Saarland University Hospital. Cardiovascular risk factors and comorbidities were recorded in all subjects. Left ventricular function was assessed by ventriculography, and by measurement of serum pro-BNP levels. FGF-23 levels were measured using a c-terminal ELISA.

Results

Patients with an ejection fraction (EF) below 40% had significantly higher FGF-23 levels than patients with an EF above 40% (EF <40%: 60.1 rU/ml [IQR: 35.9-125.7 rU/ml]; EF 40-60%: 39.7 rU/ml [IQR: 15.2-72.3 rU/ml]; EF >60%: 38.4 rU/ml [IQR: 16.1-67.7 rU/ml]; $p < 0.001$). In accordance, FGF-23 levels correlated with pro-BNP values ($r = 0.31$; $p < 0.001$). In multivariable regression analysis, the observed relationship between FGF-23 and pro-BNP remained significant after adjustment for renal function, age, gender and serum phosphate levels. FGF-23 levels did not differ in patients with and without prevalent coronary heart disease.

Discussion

Our cohort study observed a correlation between FGF-23 and left ventricular function. At present it is unknown whether elevated FGF-23 levels are - by an unknown pathophysiological mechanism - an independent risk factor for left ventricular damage, or whether they just represent risk markers which reflect negative cardiovascular effects of an elevated phosphate burden.

These results should stimulate further studies, examining pharmacological lowering of FGF-23 levels as a new therapeutic target in left heart failure.

3 Einleitung

3.1 FGF-23 als Regulator der Calcium-Phosphat Homöostase

Der Calcium-Phosphat Stoffwechsel unterliegt einer strengen Regulation durch verschiedene Hormone, wobei klassischerweise 1,25-(OH)₂ D₃ (aktives Vitamin D) und das Parathormon der Nebenschilddrüsen als zentrale Mediatoren gelten (Stubbs, J. R. et al. 2007).

In den Jahren 2002 und 2004 wurde bei Patienten mit hypophosphatämischer Rachitis (Yamazaki, Y. et al. 2002, Shimada, T. et al. 2002, Shimada, T. et al. 2004) mit dem Fibroblasten Wachstumsfaktor 23 (FGF-23) ein neues Protein identifiziert, welches neben Vitamin D und dem Parathormon maßgeblich an der Aufrechterhaltung der Calcium-Phosphat Homöostase im Körper beteiligt ist. FGF-23 wird vorwiegend von Osteoblasten und Osteozyten in den Knochen gebildet (Riminucci, M. et al. 2003) und dann in das Blut abgegeben, wo es seine systemische Wirkung entfalten kann.

Humane Fibroblasten Wachstumsfaktoren (FGF) umfassen Polypeptide mit einer gemeinsamen Core-Region von ca. 120 Aminosäureresten mit variablen angrenzenden N- und C-terminalen Residuen. Auf der Grundlage von phylogenetischen Analysen wurden bisher 7 FGF-Subfamilien identifiziert. FGF-23 gehört zur FGF-19 Subfamilie, die aus zwei weiteren FGF besteht, FGF-19 und FGF-21 (Yamashita, T. 2005). FGF-19 und FGF-21 sind an der Bildung von Gallensäure und der Regulation des Glukose- und Fettstoffwechsels beteiligt (Goetz, R. et al. 2007).

Die meisten FGF üben im Körper überwiegend parakrine Wirkungen aus. So sind einige FGF an der Proliferation und Differenzierung von Zellen und Gewebe beteiligt und sind wichtige Mediatoren und Effektorzellen der Angiogenese. FGF-23 hingegen hat im Gegensatz zu den meisten anderen Vertretern aus der Familie der FGF vor allem systemische Wirkungen, was auf eine Besonderheit in der Protein-Konformation der FGF-19 Subfamilie zurückzuführen ist. Diese

Konformationsänderungen in einigen Kernregionen der FGF-19 Subfamilie führen zu einer verminderten Bindungsfähigkeit von FGF-23 nach Synthese und Sekretion aus den produzierenden Zellen, mit einer daraus resultierenden verminderten parakrinen, aber verstärkten endokrinen Wirkung (Goetz, R. et al. 2007).

So wirkt FGF-23 an der Niere zusammen mit seinem Kofaktor Klotho, einem membranständigen Protein, phosphaturisch und ist somit maßgeblich an der Homöostase des Calcium-Phosphat Stoffwechsels beteiligt (Razzaque, M. S. and Lanske, B. 2007, Nabeshima, Y. 2008).

Hierzu bindet Klotho an den FGF-Rezeptor in der Zellmembran der Zielzelle (Schiavi, S. C. 2006), wodurch die Affinität des Rezeptors für FGF-23 stark erhöht ist (Urakawa, I. et al. 2006). Nach der Bindung von FGF-23 an seinen membranständigen Rezeptor kann es seine intrazelluläre Wirkung entfalten (Kurosu, H. et al. 2006).

Die phosphaturische Wirkung von FGF-23 an der Niere geschieht über die Inhibition der Expression von NaPi2a und NaPi2c Kotransportern in den Zellen des proximalen Tubulussystems (Baum, M. et al. 2005). Die verminderte Expression dieser Kotransporter führt zu einer geringeren renalen Phosphat-Rückresorption (Sitara, D. et al. 2008). Ergänzend kommt es durch eine verminderte gastrointestinale Aktivität des NaPi2b Kotransporters zu einer verminderten gastrointestinalen Phosphataufnahme (Miyamoto, K. et al. 2005). Des Weiteren wird die Aktivität der 1α -Hydroxylase in der Niere herunterreguliert, wodurch weniger aktives Vitamin D ($1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$) produziert wird (Stubbs, J. R. et al. 2007). Durch die Reduktion von zirkulierendem $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ wird die gastrointestinale Resorption von Calcium und Phosphat auch indirekt gesenkt (Emmett, M. 2008). Eine Erhöhung von $1,25\text{-(OH)}_2\text{D}_3$ hingegen führt zu einer Steigerung der FGF-23 Spiegel (Saito, H. et al. 2005, Collins, M. T. et al. 2005).

3.2 FGF-23 bei CKD

Patienten mit chronischer Nierenerkrankung („chronic kidney disease“; CKD) weisen signifikant höhere FGF-23 Werte auf als Nierengesunde (Larsson, T. et al. 2003, Gutierrez, O. M. et al. 2008). So konnte gezeigt werden, dass eine Abnahme der Nierenfunktion bereits früh mit erhöhten FGF-23 Werten assoziiert ist (Ix, J. H. et al. 2010).

Trotz der phosphaturischen und damit vermeintlich protektiven Wirkung von FGF-23 konnte bei Patienten mit CKD gezeigt werden, dass hohe FGF-23 Spiegel im Blut mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität verbunden sind (Gutierrez, O. M. et al. 2008, Jean, G. et al. 2009, Seiler, S. et al. 2010)

3.3 FGF-23 bei Nierengesunden

Roos et al untersuchten 2008 in ihrer Arbeit, ob bei Patienten mit erhaltener Nierenfunktion ein Zusammenhang zwischen FGF-23 und dem Ausmaß koronarer Kalzifikation besteht. Hier ließ sich kein Zusammenhang zwischen gemessenen FGF-23 Werten und der Schwere der koronaren Kalzifikation nachweisen (Roos, M. et al. 2008).

Studien von Mirza et al zeigten 2009 einen Zusammenhang zwischen FGF-23 und dem Ausmaß an Atherosklerose und der Steifheit der Arterien in zwei Subgruppenanalysen aus der PIVUS Studie (Mirza, M. A. et al. 2009a, Mirza, M. A. et al. 2009b).

Erste Studien zeigten, dass auch bei Nierengesunden eine Assoziation zwischen erhöhten FGF-23 Werten und einer erhöhten Mortalität vorliegt (Parker, B. D. et al. 2010).

3.4 Linksventrikuläre Hypertrophie, Dysfunktion und Herzinsuffizienz

Die linksventrikuläre (LV) Hypertrophie, welche Folge einer jahrelangen Druck- und Volumenbelastung des linken Ventrikels ist (Ho, K. K. et al. 1993), wurde als unabhängiger Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse und eine erhöhte Mortalität identifiziert (Koren, M. J. et al. 1991, Haider, A. W. et al. 1998). Die aus einer LV Hypertrophie langfristig entstehende Herzinsuffizienz (Levy, D. et al. 1996, Rame, J. E. et al. 2004) ist trotz evidenzbasierter Behandlungsmöglichkeiten, insbesondere durch Inhibitoren des Sympathikus (Betablocker) und des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems (ACE-Hemmer, AT-II-Antagonisten, Spironolacton), unverändert mit einer hohen Sterblichkeit vergesellschaftet (Ho, K. K. et al. 1993, Solomon, S. D. et al. 2007, Kalogeropoulos, A. et al. 2009).

3.5 FGF-23 und linksventrikuläre Hypertrophie

Interessanterweise zeigte sich in zwei Querschnittstudien ein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein einer LV Hypertrophie und erhöhten FGF-23 Spiegeln sowohl bei chronisch nierenkranken als auch nierengesunden Probanden (Gutierrez, O. M. et al. 2009, Mirza, M. A. et al. 2009c). Da beide Studien nur Probanden mit erhaltener systolischer LV Funktion einschlossen, sind Zusammenhänge zwischen der linksventrikulären Funktion und FGF-23 bislang nicht untersucht. Ebenfalls unklar bleibt die prognostische Bedeutung des beobachteten Zusammenhanges zwischen FGF-23 und einer linksventrikulären Hypertrophie.

3.6 Zielsetzung dieser Arbeit und klinische Fragestellung

Wir stellen die Hypothese auf, dass die ungünstige prognostische Bedeutung erhöhter FGF-23 Spiegel für das Langzeitüberleben nierengesunder und nierenkranker Menschen zumindest partiell auf einer Assoziation zwischen erhöhten FGF-23 Spiegeln und einer linksventrikulären Dysfunktion beruht. Dieser Hypothese liegt die Pathogenese der chronischen Myokardinsuffizienz zugrunde, die aus einer LV Hypertrophie resultieren kann.

Zur Überprüfung dieser Hypothese rekrutierten wir über einen Zeitraum von drei Jahren 1130 Patienten und untersuchten den Zusammenhang zwischen der linksventrikulären Funktion und FGF-23.

4 Material, Methoden und Probanden

4.1 Probanden

Im Rahmen einer Querschnittsstudie wurden 1130 Probanden untersucht, die zu einer elektiven Koronarangiographie in der Klinik für Innere Medizin III, Kardiologie, Angiologie und internistische Intensivmedizin, des Universitätsklinikums des Saarlandes in Homburg/Saar stationär aufgenommen wurden. Die Probandenrekrutierung erfolgte zwischen Mai 2007 und Januar 2010.

Bei stationärer Aufnahme erhielten die Probanden ein Informationsschreiben über den Studienablauf und die geplanten Untersuchungen. Bei Zustimmung zu den geplanten Untersuchungen erfolgte eine schriftliche Einverständniserklärung.

Einzige Ausschlusskriterien waren das Vorliegen einer dialysepflichtigen Nierenerkrankung, ein akutes Koronarsyndrom, und / oder eine fehlende schriftliche Einwilligung in die Studienteilnahme.

Am Tag der stationären Aufnahme wurde von den Probanden ein standardisierter Fragebogen zu kardiovaskulären Risikofaktoren und Komorbiditäten ausgefüllt (siehe Anhang).

4.2 Probengewinnung und Archivierung

Die Blutproben wurden am Morgen der stationären Aufnahme zur Koronarangiographie nüchtern unter standardisierten Bedingungen abgenommen und bis zur weiteren Verarbeitung für maximal vier Stunden gekühlt gelagert. Die Proben wurden dann im nephrologischen Labor bei 4000 Umdrehungen/min für fünf Minuten bei Raumtemperatur zentrifugiert. Anschließend wurde der Überstand abpipettiert und sowohl Plasma als auch Serum wurden bei -80°C für weitere Analysen tiefgefroren.

Im Zentrallabor des Universitätsklinikums des Saarlandes wurden Kreatinin, Kalzium und Phosphat, CRP, Gesamtcholesterin, Triglyzeride, LDL- und HDL-Cholesterin und pro-BNP im Plasma sowie ein Differentialblutbild aus EDTA-Blut nach Standardmethoden bestimmt. Die Errechnung der glomerulären Filtrationsrate (GFR) erfolgte anhand der MDRD-Formel 4 (K/DOQI 2002).

4.3 Koronarangiographie bei Studieneinschluss

Am Tag des Studieneinschlusses wurde bei den Probanden elektiv eine Koronarangiographie durchgeführt. Eine koronare Herzerkrankung wurde bei Vorliegen einer Stenose mindestens einer Koronararterie (LAD, RCX, RCA inklusive ihrer kaliberstarken Nebenäste) von mindestens 50%, und / oder bei bereits stattgehabter Koronarintervention diagnostiziert. Das Stadium der KHK wurde als koronare Ein-, Zwei- oder Dreifäßerkrankung definiert. Die linksventrikuläre Funktion wurde mittels Ventrikulographie ermittelt und als Ejektionsfraktion (EF) in Prozent angegeben. Wenn die Injektion des Kontrastmittels in den linken Ventrikel eine Extrasystole induzierte, so dass die EF postextrasystolisch falsch hoch bestimmt wurde, wurde der Wert gemäß der Formel:

$$EF_{\text{korrigiert}} = EF_{\text{gemessen}} \times 0,8$$

korrigiert, um eine Überschätzung der linksventrikulären Funktion zu vermeiden.

Falls am Tag des Studieneinschlusses im Rahmen der Koronarangiographie keine Ventrikulographie erfolgte - meist mit dem Ziel einer Reduktion der Kontrastmittel (KM)-belastung bei erhöhter Gefahr eine KM-Nephropathie -, so wurde die im Rahmen einer Voruntersuchung bestimmte Ejektionsfraktion für die Analyse verwendet.

4.4 Laborchemische Methoden

4.4.1 Bestimmung von FGF-23

Die FGF-23 Werte wurden aus den zuvor tiefgefrorenen Plasmaproben bestimmt. Dafür wurde ein humaner, c-terminaler ELISA benutzt (Immutopics, San Clemente, CA, USA; unterer Grenzwert 3 rU/ml, oberer Grenzwert 2000 rU/ml).

Der ELISA der Firma Immotopics basiert auf der Grundlage des Sandwich-ELISA. In den 96 Mulden der Mikrotiterplatte sind jeweils Antikörper gegen das c-terminale Ende des humanen FGF-23 fest gebunden. Nach Inkubation von jeweils 150 µl Probenmaterial (Kontrollseren / Standardreihen / Serumproben der Probanden) und 50 µl biotinyliertem Antikörper über 24 Stunden, wurden nach einem fünfmaligen Waschgang mit je 350 µl Waschpuffer (Waschpufferkonzentrat 1:20 mit destilliertem Wasser verdünnt) je 200 µl einer mit Avidin konjugierten Meerrettichperoxidase (HRP-Avidin) für 60 min inkubiert.

HRP-Avidin bindet nach dem Abwaschen an den biotinylierten Antikörper, welcher an das FGF-23 gebunden hat. Nach einem zweiten Waschgang nach dem gleichen Protokoll wurden je 200 µl des Substrates für die Meerrettichperoxidase (HRP-Avidin) in die Mulden pipettiert. Die Reaktion des Enzyms mit dem zugegebenen Reagenz wurde dann mittels Photometer anhand der Extinktion bestimmt. Die entstandenen Extinktionskurven wurden mit den Standardkurven verglichen und korrelieren mit der Konzentration von FGF-23 in der Probe. Ein Schema zum Ablauf des verwendeten ELISA ist in Abb. 1 zu sehen.

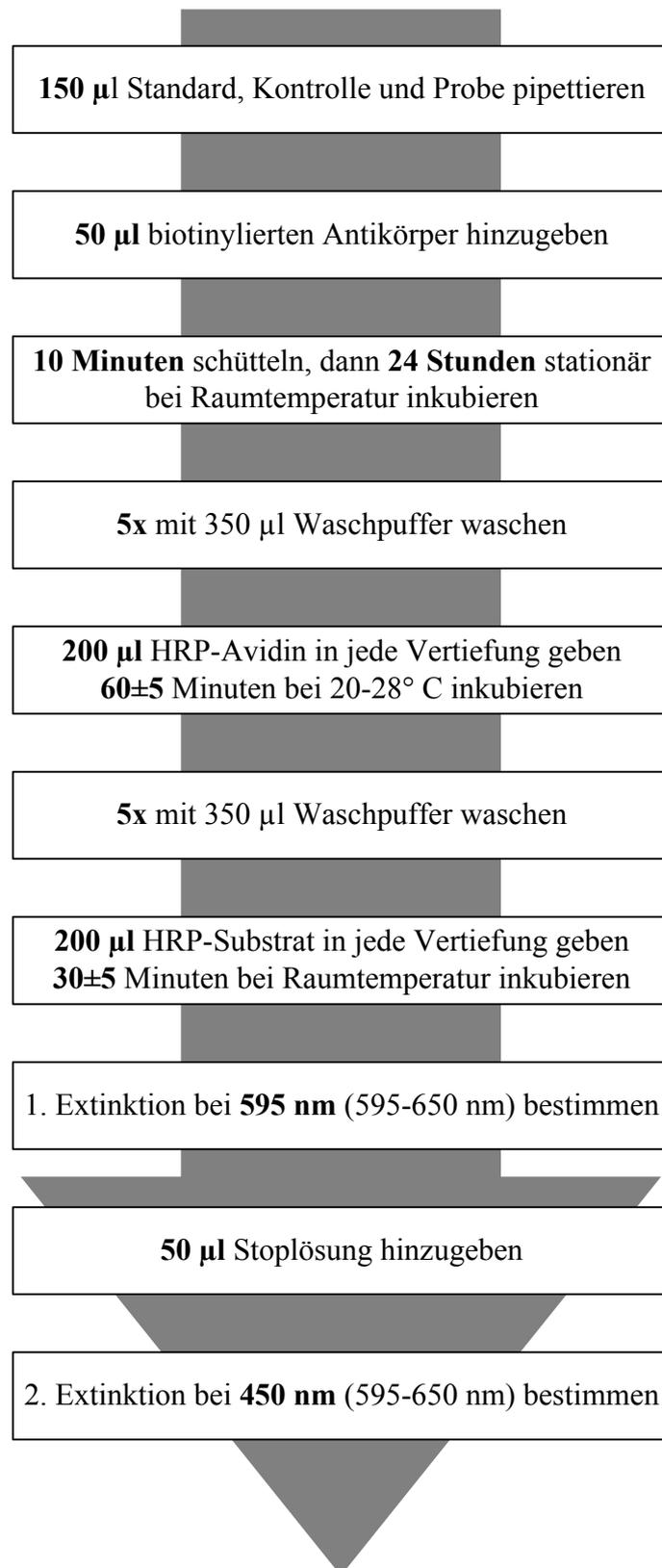


Abb. 1: Flussdiagramm zur Durchführung des FGF-23 ELISA

Grundsätzlich stehen zwei unterschiedliche ELISA zur Messung von FGF-23 zur Verfügung. Der hier verwendete ELISA der Firma Immutopics bestimmt sowohl das intakte FGF-23 Protein als auch c-terminale FGF-23 Fragmente. Es gibt auch ELISAs, welche spezifisch das intakte FGF-23 bestimmen.

Abb. 2 (a) bildet die Struktur von FGF-23 schematisch ab. Abb. 2 (b) skizziert, dass der ELISA für das intakte FGF-23 nur das intakte Gesamtprotein detektiert, wohingegen der ELISA für das c-terminale Ende sowohl das intakte Gesamtprotein als auch c-terminale Fragmente erfasst, deren biologische Aktivität noch unklar ist.

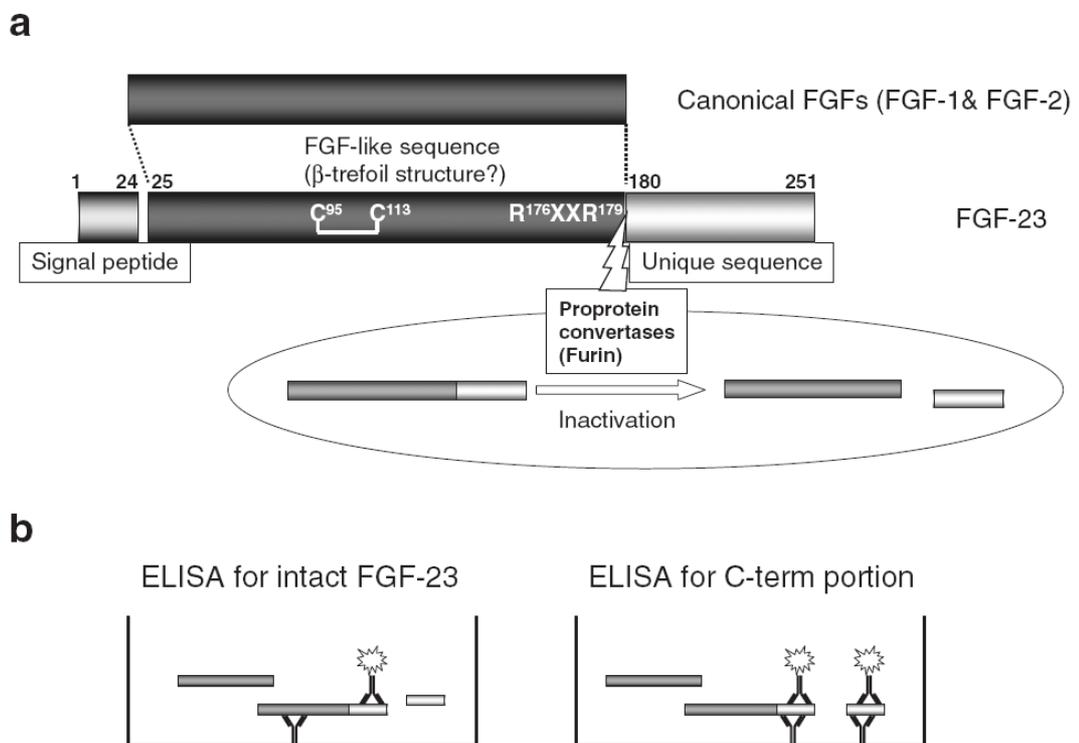


Abb. 2: Schematische Struktur von (a) FGF-23 und (b) der ELISA für das intakte FGF-23 und für das c-terminale FGF-23 (aus Yamashita et al. [67] mit freundlicher Genehmigung von John Wiley & Sons Ltd.)

4.4.2 Verwendete Materialien und Geräte

Die verwendeten Materialien und Reagenzien entstammten dem ELISA Kit der Firma Immutopics (Immutopics, San Clemente, CA, USA). Zum Waschen der Mikrotiterplatte wurde der TECAN Hydroflex Washer (Tecan, Männedorf, Schweiz) verwendet. Die Messung der Extinktionen wurde mit dem Photometer TECAN sunrise (Tecan) durchgeführt und anschließend mit der dazugehörigen Software Magellan 6 (Tecan) ausgewertet. Die verwendeten Geräte sind in Tab. 1 aufgeführt.

Tab. 1: Verwendete Geräte

Gerät	Firma
TECAN Hydroflex Washer	Tecan Trading AG, Männedorf, Schweiz
TECAN sunrise ELISA Reader	Tecan Trading AG, Männedorf, Schweiz
Heraeus Megafuge 1.0R	Heraeus Holding GmbH, Hanau, Deutschland
Eppendorf Centrifuge 5415C	Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland

4.5 Patientenfragebögen

Der verwendete Fragebogen basierte auf einer deutschen Übersetzung des Fragebogens der WHO zur Erkennung von belastungsabhängiger Angina pectoris (AP) und Symptomen einer peripheren arteriellen Verschlusskrankung (pAVK) (ROSE, G. A. 1962).

Die aktuelle Medikation am Tag des Studieneinschlusses, die Körpergröße und das Körpergewicht wurden von den Krankenpflegekräften der kardiologischen Ambulanz in die elektronische Patientenakte des Universitätsklinikum des Saarlandes aufgenommen.

Der Body Mass Index (kg/m^2) wurde aus der Körpergröße (m) und dem Gewicht (kg) berechnet. Übergewicht lag bei BMI Werten zwischen 25 und 30 kg/m^2 , Adipositas bei einem BMI $>30 \text{ kg}/\text{m}^2$ vor.

Als Diabetiker wurden Patienten definiert, bei denen (1) im Interview ein vordiagnostizierter Diabetes mellitus durch den Patienten berichtet wurde, (2) Plasma-Glukosewerte $>126 \text{ mg}/\text{dl}$ (bei nüchterner Blutentnahme) oder $> 200 \text{ mg}/\text{dl}$ (bei nicht-nüchterner Blutentnahme) vorlagen und / oder (3) eine Therapie mit oralen Antidiabetika oder Insulin bei Aufnahme etabliert war.

Patienten galten als Raucher, wenn sie bei Studieneinschluss aktive Raucher waren oder das Rauchen weniger als vier Wochen vor Studieneinschluss aufgegeben hatten.

Eine positive Familienanamnese lag vor, wenn Verwandte ersten Grades vor dem sechzigsten Lebensjahr ein kardiovaskuläres Ereignis (akuter Myokardinfarkt / Schlaganfall) erlitten.

4.6 Statistische Auswertung

Die Patientendaten wurden mittels MS Excel (Microsoft, Seattle, Washington, USA) erfasst und verwaltet. Die Datenverarbeitung sowie die statistischen Auswertungen erfolgten mit SSPS 17.0 (SSPS Inc., Chicago, Illinois, USA).

Kontinuierliche Variablen wurden als Mittelwerte \pm Standardabweichung (bei Abweichung von einer Normalverteilung als Median [Interquartilabstand]), kategoriale Variablen als prozentuale Anteile der jeweils betrachteten Gesamtpopulation dargestellt. Zusammenhänge zwischen kontinuierlichen Variablen wurden als Korrelationskoeffizienten nach Spearman berechnet. Der Vergleich der Verteilung kategorialer Variablen erfolgte mittels Fisher exact Test, der Vergleich kontinuierlicher Variablen mittels Mann-Whitney-Test (Vergleich von zwei unabhängigen Gruppen) oder mittels Kruskal-Wallis-Test (Vergleich von mehreren unabhängigen Gruppen).

In einem multiplen Regressionsmodell wurde die Assoziation zwischen FGF-23 als unabhängiger Variable und Ejektionsfraktion als abhängiger Variable nach Korrektur für Störvariablen untersucht.

Als signifikant in allen durchgeführten statistischen Auswertungen wurde eine Fehlerwahrscheinlichkeit von 5% definiert (p-Werte $\leq 0,05$).

5 Ergebnisse

5.1 Patientencharakteristika

Zwischen Mai 2007 und Januar 2010 wurden 1130 Probanden in die statistischen Analysen eingeschlossen. 570 Probanden hatten sich bereits einer früheren interventionellen oder operativen Myokardrevaskularisation unterzogen und wurden zur Kontrolle - meist aufgrund klinischer Symptome einer koronaren Herzerkrankung (KHK) - erneut koronarangiographiert. Bei den übrigen 560 Probanden erfolgte eine koronarangiographische Diagnostik zum Nachweis oder zum Ausschluss einer (KHK). Eine lävographische Bestimmung der Ejektionsfraktion (EF) war bei 1004 Patienten vorhanden.

852 Patienten wiesen eine erhaltene Nierenfunktion, definiert als geschätzte glomeruläre Filtrationsrate (eGFR) >60 ml/min/1,73 m², auf. Bei 278 Patienten lag eine eingeschränkte Nierenfunktion (eGFR ≤ 60 ml/min/1,73 m²) vor.

Die Charakteristika der Gesamtkohorte und der nach Nierenfunktion stratifizierten Subkohorten sind in Tab. 2 aufgeführt. Patienten mit eingeschränkter eGFR ≤ 60 ml/min/1,73 m² hatten eine erhöhte Prävalenz von Diabetes mellitus und KHK sowie einen höheren Frauenanteil. Außerdem zeigten Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion ein höheres Alter sowie höhere CRP, Kalzium, Phosphat, pro-BNP und FGF-23 Werte. Des Weiteren wiesen die Patienten der Subkohorte eine niedrigere EF sowie eine geringere Anzahl prävalenter Raucher auf.

Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion (eGFR ≤ 60 ml/min/1,73 m²) zeigten erwartungsgemäß eine höhere Prävalenz kardiovaskulärer Erkrankungen (Tab. 3).

Tab. 2: Charakteristika der Kohorte

	Gesamt- kohorte (n=1130)	eGFR ≤60 ml/min/1,73 m ² (n=278)	eGFR >60 ml/min/1,73 m ² (n=852)	p
Alter (Jahre)	65,1±10,2	70,8±7,7	63,3±10,2	<0,001
Frauen (%)	360 (31,9)	121 (43,5)	239 (28,1)	<0,001
Raucher (%)	155 (13,7)	23 (8,3)	132 (15,5)	0,002
Diabetes mellitus (%)	422 (37,3)	127 (45,7)	295 (34,6)	0,001
KHK (%)	801 (70,9)	218 (78,4)	583 (68,4)	0,003
1 Gefäßerkrankung	166 (14,7)	43 (15,5)	123 (14,4)	
2 Gefäßerkrankung	245 (21,7)	57 (20,5)	188 (22,1)	
3 Gefäßerkrankung	390 (34,5)	118 (42,4)	272 (31,9)	
EF (%)	60,5±13,7	57,5±15,6	61,4±13,0	0,003
CRP (mg/l)	2,0 (0,9-4,2)	2,7 (1,2-6,2)	1,8 (0,9-3,8)	<0,001
Gesamtcholesterin (mg/dl)	188,2±46,6	187,7±54,7	188,3±43,6	0,299
HDL Cholesterin (mg/dl)	49,7±14,9	49,3±15,4	49,9±14,8	0,482
LDL Cholesterin (mg/dl)	114,2±40,3	112,5±47,8	114,7±37,5	0,083
Body mass index (kg/m ²)	28,5±4,6	28,7±4,9	28,4±4,5	0,471
Plasmakalzium (mmol/l)	2,3±0,1	2,4±0,1	2,3±0,1	0,003
Plasmaphosphat (mg/dl)	3,3±0,6	3,4±0,6	3,3±0,5	0,001
eGFR (ml/min/1,73 m ²)	73,8±20,9	47,8±10,3	82,3±15,8	<0,001
pro-BNP (pg/ml)	238 (93-643)	604 (268-1633)	177 (75-472)	<0,001
FGF-23 (rU/ml)	41 (18-74)	67 (35-146)	34 (14-63)	<0,001

Angegeben sind Anzahl (Prozentanteil) resp. Mittelwerte ± Standardabweichung. FGF-23, pro-BNP und CRP Werte sind bei fehlender Normalverteilung als Median mit Interquartilabstand angegeben. Pro-BNP Werte wurden bei 652, die EF bei 1004 Probanden bestimmt. CRP: C-reaktives Protein; eGFR: geschätzte glomeruläre Filtrationsrate; EF: Ejektionsfraktion; FGF: Fibroblast growth factor; HDL: high density lipoprotein; KHK: Koronare Herzerkrankung; LDL: low density lipoprotein; pro-BNP: pro brain natriuretic peptide.

Tab. 3: Kardiovaskuläre Vorerkrankungen

	Gesamt- kohorte (n=1130)	eGFR ≤60 ml/min/1,73 m ² (n=278)	eGFR >60 ml/min/1,73 m ² (n=852)	p
AMI (%)	362 (32,0)	105 (37,8)	257 (30,2)	0,022
PTCA (%)	522 (46,2)	142 (51,1)	380 (44,6)	0,062
Aortokoronarer Bypass (%)	128 (11,3)	45 (16,2)	83 (9,7)	0,004
Carotis Stent (%)	16 (1,4)	7 (2,5)	9 (1,1)	0,083
Carotis TEA (%)	12 (1,1)	7 (2,5)	5 (0,6)	0,013
Apoplex (%)	91 (8,1)	27 (9,7)	64 (7,5)	0,254
Periphere PTA (%)	58 (5,1)	18 (6,5)	40 (4,7)	0,273
Peripherer Bypass/TEA (%)	27 (2,4)	12 (4,3)	15 (1,8)	0,022
Periphere Amputation (%)	4 (0,4)	3 (1,1)	1 (0,1)	0,048

Angegeben sind Anzahl (Prozentanteile). AMI: akuter Myokardinfarkt; eGFR: geschätzte glomeruläre Filtrationsrate; PTCA: Perkutane transluminale coronare Angioplastie; PTA: Perkutane transluminale Angioplastie; TEA: Thrombendarteriektomie

Tab. 4: Medikation bei Studieneinschluss

	Gesamt- kohorte (n=1130)	eGFR ≤60 ml/min/1,73 m ² (n=278)	eGFR >60 ml/min/1,73 m ² (n=852)	p
Betablocker (%)	835 (73,9)	222 (79,9)	613 (71,9)	0,007
ACE-Hemmer (%)	644 (57,0)	170 (61,2)	474 (55,6)	0,108
AT ₁ -Antagonisten (%)	228 (20,2)	78 (28,1)	150 (17,6)	<0,001
Statin (%)	656 (58,1)	181 (65,1)	475 (55,8)	0,005

Angegeben sind Anzahl (Prozentanteile). ACE: Angiotensin-Converting Enzym; AT₁: Angiotensin I; eGFR: geschätzte glomeruläre Filtrationsrate.

Wie in Tab. 4 zu sehen, erhielten Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion (eGFR ≤60 ml/min/1,73 m²) häufiger Statine, AT₁-Antagonisten und Betablocker als Patienten mit erhaltener Nierenfunktion (eGFR >60 ml/min/1,73 m²). Lediglich der Unterschied in der Einnahme von ACE-Hemmern war statistisch nicht signifikant.

5.2 FGF-23 und kardiovaskuläres Risikoprofil

Tab. 5: Spearman Korrelationskoeffizienten - Patientencharakteristika FGF-23

	Gesamtkohorte (n=1130)		eGFR ≤60 ml/min/1,73 m ² (n=278)		eGFR >60 ml/min/1,73 m ² (n=852)	
	r	p	r	p	r	p
Alter	0,13	<0,001	0,00	0,958	0,06	0,083
CRP	0,20	<0,001	0,27	<0,001	0,13	<0,001
Gesamtcholesterin	-0,08	0,005	-0,15	0,012	-0,07	0,057
HDL Cholesterin	-0,11	<0,001	-0,16	0,008	-0,10	0,004
LDL Cholesterin	-0,08	0,008	-0,16	0,006	-0,05	0,170
Body mass index	0,04	0,203	0,04	0,536	0,04	0,241
Plasmakalzium	0,10	0,002	0,10	0,099	0,06	0,067
Plasmaphosphat	0,17	<0,001	0,23	<0,001	0,12	<0,001
eGFR	-0,31	<0,001	-0,40	<0,001	-0,14	<0,001

CRP: C-reaktives Protein; eGFR: geschätzte glomeruläre Filtrationsrate; HDL: high density lipoprotein; LDL: low density lipoprotein.

FGF-23 Werte korrelierten in der Gesamtkohorte mit steigendem Alter, CRP, Plasmakalzium und Phosphat (Abb. 3) sowie mit abnehmender eGFR (Abb. 4) und den HDL-, LDL- und Gesamtcholesterin Spiegeln (Tab. 5). Nach Unterteilung der Patienten in die zwei Subkohorten mit erhaltener resp. eingeschränkter Nierenfunktion bleiben die Korrelationen von FGF-23 mit steigendem CRP und Plasmaphosphat sowie mit fallendem HDL-Cholesterin und verminderter eGFR bestehen, nicht jedoch die Korrelation von FGF-23 mit Alter und Plasmakalzium.

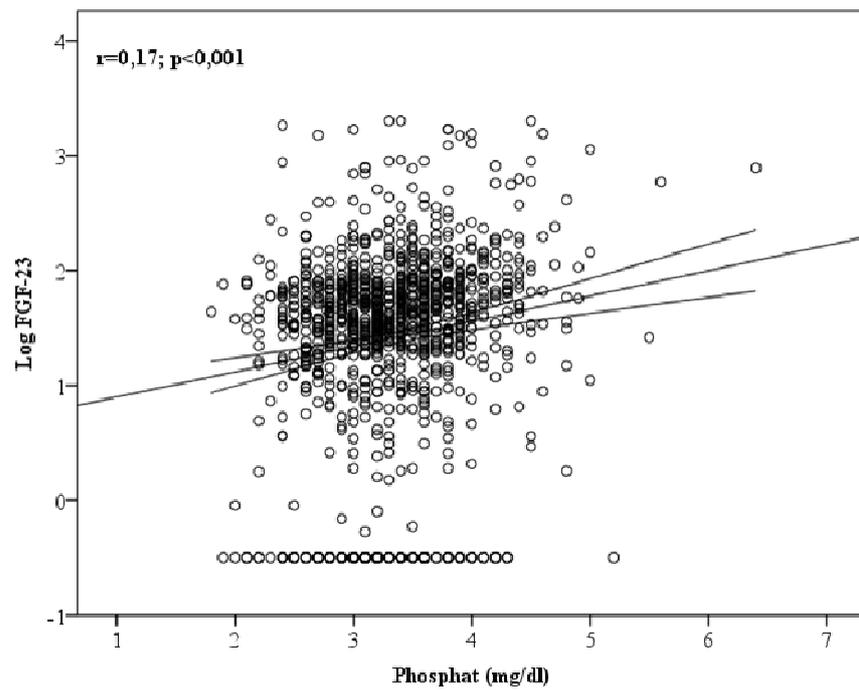


Abb. 3: Korrelation von Log FGF-23 und Phosphat im Plasma

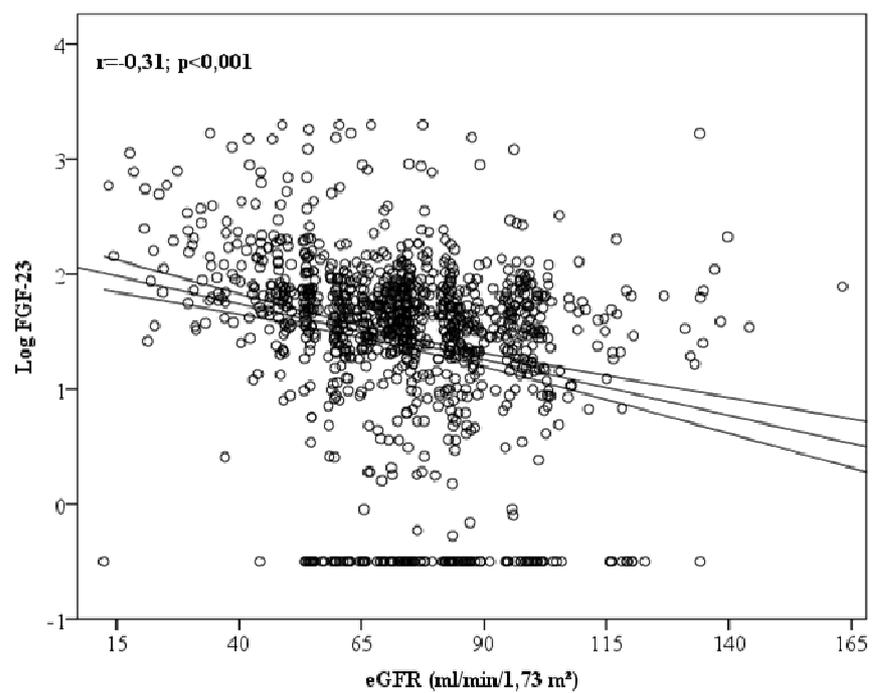


Abb. 4: Korrelation von Log FGF-23 und Nierenfunktion (eGFR)

Bei fehlender Normalverteilung wurde FGF-23 in Abb. 3 und Abb. 4 als log FGF-23 aufgetragen.

In der Gesamtkohorte bestand hinsichtlich der gemessenen FGF-23 Werte ein signifikanter Unterschied zwischen Männern und Frauen (Männer: 36,9 rU/ml [Interquartilabstand (IQR) 14,7-66,1 rU/ml] vs Frauen: 51,6 rU/ml [IQR 24,1-98,0 rU/ml]; $p < 0,001$) und zwischen Nichtdiabetikern und Diabetikern (Nichtdiabetiker: 37,6 rU/ml [IQR 14,7-66,0 rU/ml] vs Diabetiker: 49,5 rU/ml [IQR 21,2-90,0 rU/ml]; $p < 0,001$).

Die FGF-23 Werte zeigten keine Abhängigkeit von Nikotinkonsum (Nichtraucher: 39,3 rU/ml [IQR 16,5-72,0 rU/ml] vs Raucher: 49,3 rU/ml [IQR 23,9-80,1 rU/ml]; $p = 0,16$) und von einer positiven Familienanamnese vorzeitiger kardiovaskulärer Ereignisse (keine Familienanamnese: 39,2 rU/ml [IQR 16,6-71,1 rU/ml] vs Familienanamnese: 46,1 rU/ml [IQR 20,8-81,7 rU/ml]; $p = 0,30$).

Nach Stratifizierung der Probanden hinsichtlich kardioprotektiver Medikamente zeigte sich eine Assoziation zwischen der Einnahme von Betablockern, ACE-Hemmern und Statinen, nicht jedoch von AT_1 -Antagonisten mit den FGF-23 Spiegeln (kein Betablocker: 32,2 rU/ml [IQR 9,8-62,1 rU/ml] vs Betablocker: 43,6 rU/ml [IQR 20,8-77,8 rU/ml]; $p < 0,001$, keine ACE-Hemmer: 34,9 rU/ml [IQR 13,0-66,4 rU/ml] vs ACE-Hemmer: 45,2 rU/ml [IQR 20,8-78,8 rU/ml]; $p < 0,001$, kein Statin: 36,0 rU/ml [IQR 11,3-72,7 rU/ml] vs Statin: 43,0 rU/ml [IQR 21,3-75,3 rU/ml]; $p < 0,001$, kein AT_1 -Antagonist : 39,8 rU/ml [IQR 16,3-72,8 rU/ml] vs AT_1 -Antagonist: 43,5 rU/ml [IQR 21,4-75,8 rU/ml]; $p = 0,328$).

5.3 FGF-23 und linksventrikuläre Funktion

5.3.1 Pro-BNP und Ejektionsfraktion

Die beiden gewählten Marker der linksventrikulären Funktion korrelieren erwartungsgemäß gut miteinander ($r=-0,40$; $p<0,001$).

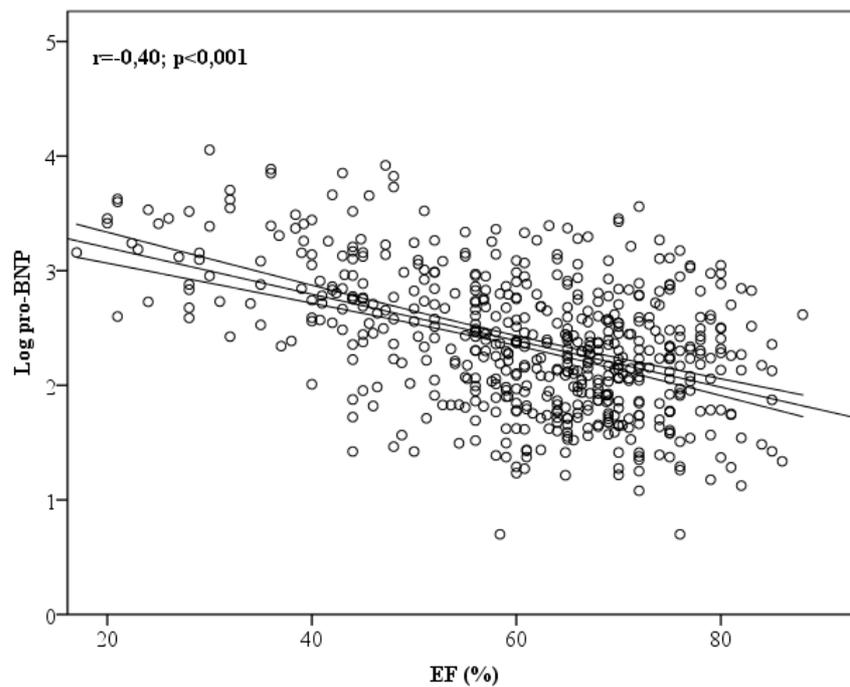


Abb. 5: Korrelation von Log pro-BNP und der Ejektionsfraktion (EF).

Bei fehlender Normalverteilung wurde pro-BNP in Abb. 5 als log pro-BNP aufgetragen.

5.3.2 Zusammenhang zwischen FGF-23 und pro-BNP

Höhere FGF-23 Werte korrelierten in der Gesamtkohorte signifikant mit hohen pro-BNP Werten ($r=0,31$; $p<0,001$). Gleiches galt in den beiden Subgruppen nach Einteilung nach Nierenfunktion ($r=0,20$; $p<0,001$ bei $GFR >60$ ml/min/1,73 m²; $r=0,35$; $p<0,001$ bei $eGFR \leq 60$ ml/min/1,73 m²).

Nach Kategorisierung der FGF-23 Werte in Quartile lagen in der Gesamtkohorte (Abb. 6) und nach Einteilung nach Nierenfunktion (Abb. 7 und Abb. 8) in der höchsten FGF-23 Quartile auch die höchsten Werte für pro-BNP vor.

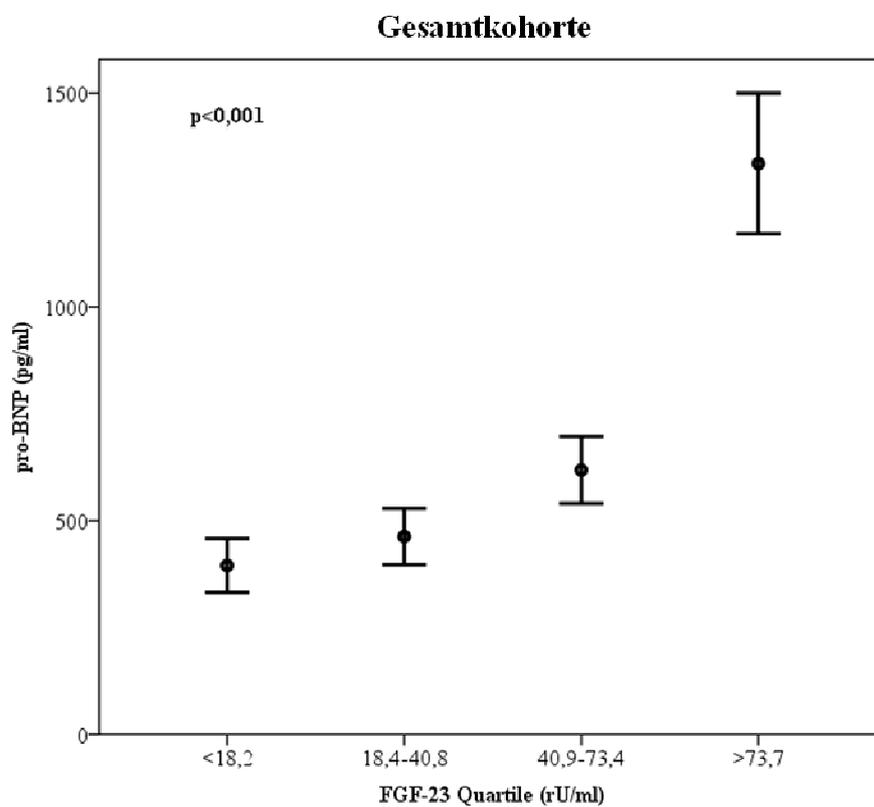


Abb. 6: Pro-BNP und FGF-23 in der Gesamtkohorte

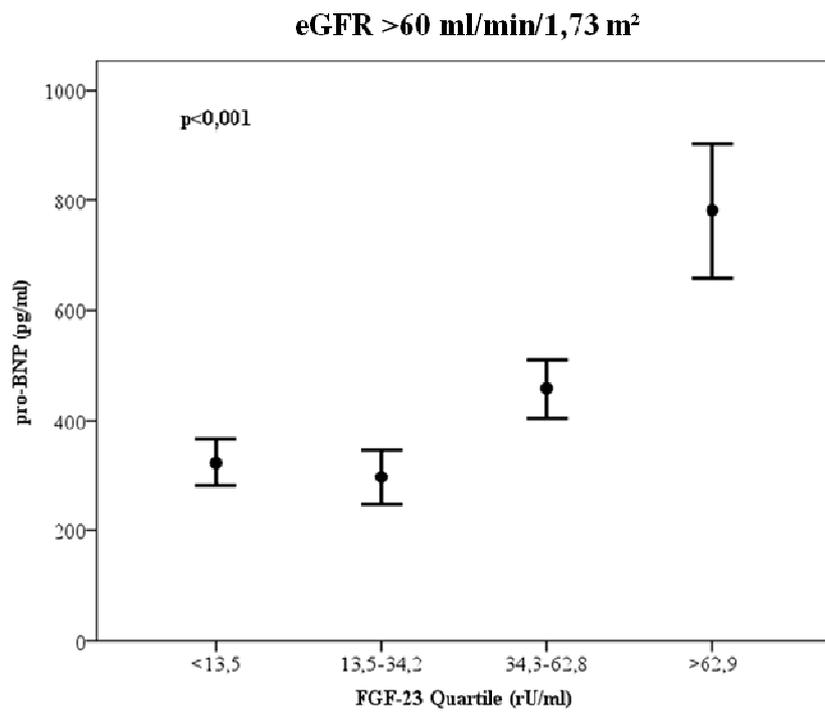


Abb. 7: Pro-BNP und FGF-23 bei erhaltener Nierenfunktion

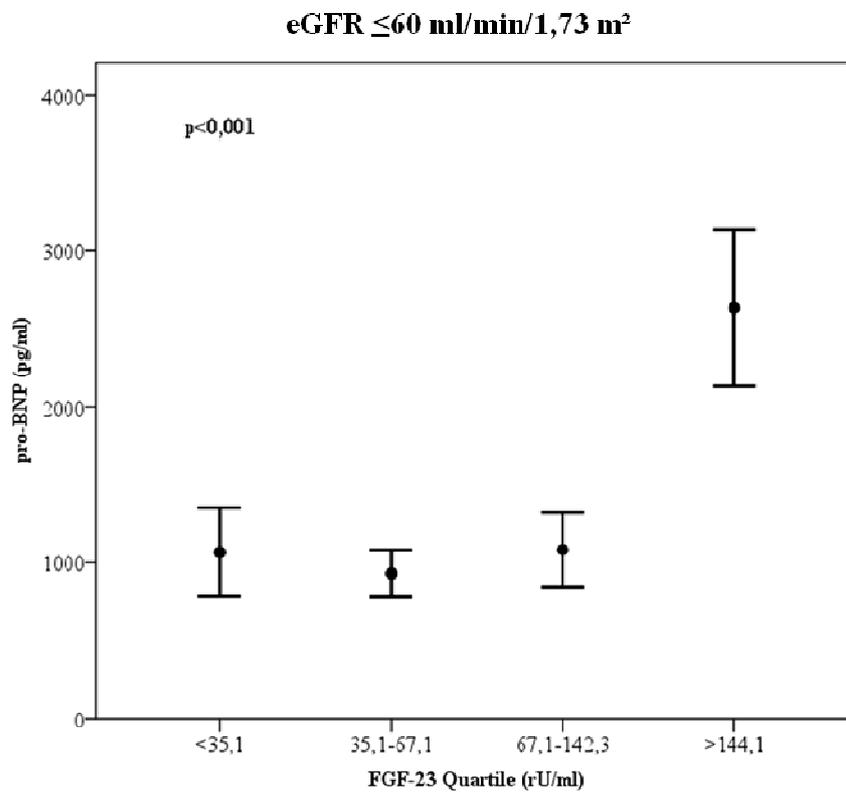


Abb. 8: Pro-BNP und FGF-23 bei eingeschränkter Nierenfunktion

5.3.3 FGF-23 und Ejektionsfraktion

In der Gesamtkohorte hatten Patienten, die eine eingeschränkte linksventrikuläre Funktion (EF <40%) aufwiesen, signifikant höhere FGF-23 Werte als Patienten mit einer EF von 40-60% und mit einer EF >60% ($p < 0,001$). Die Unterschiede waren sowohl in der Gesamtkohorte als auch in den Subgruppen nach Nierenfunktion signifikant (Abb. 9, Abb. 10 und Abb. 11).

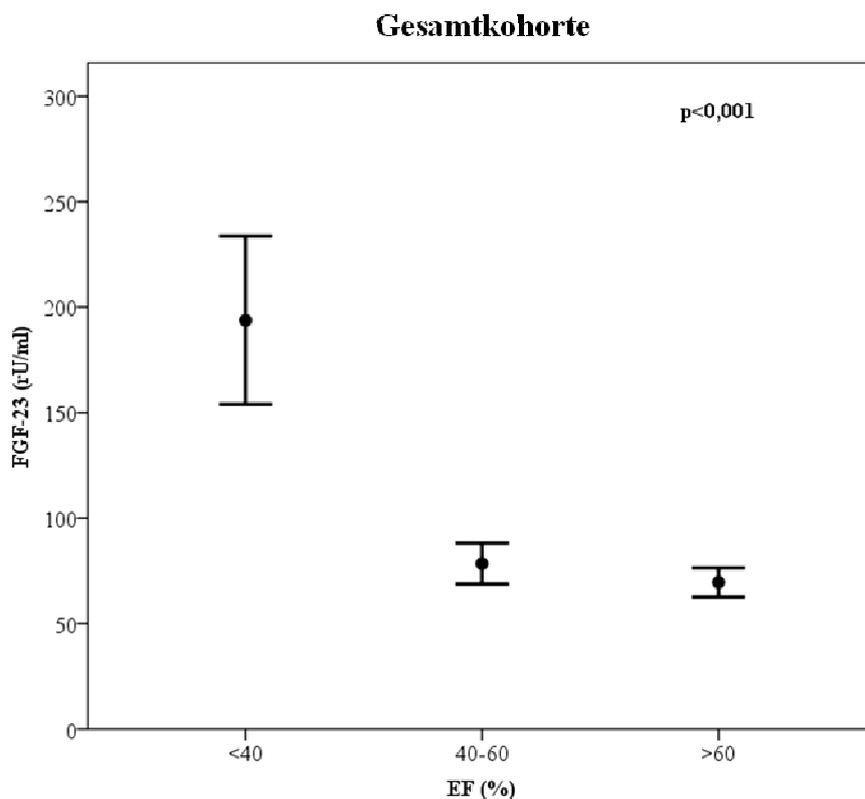


Abb. 9: Ejektionsfraktion (EF) und FGF-23 in der Gesamtkohorte

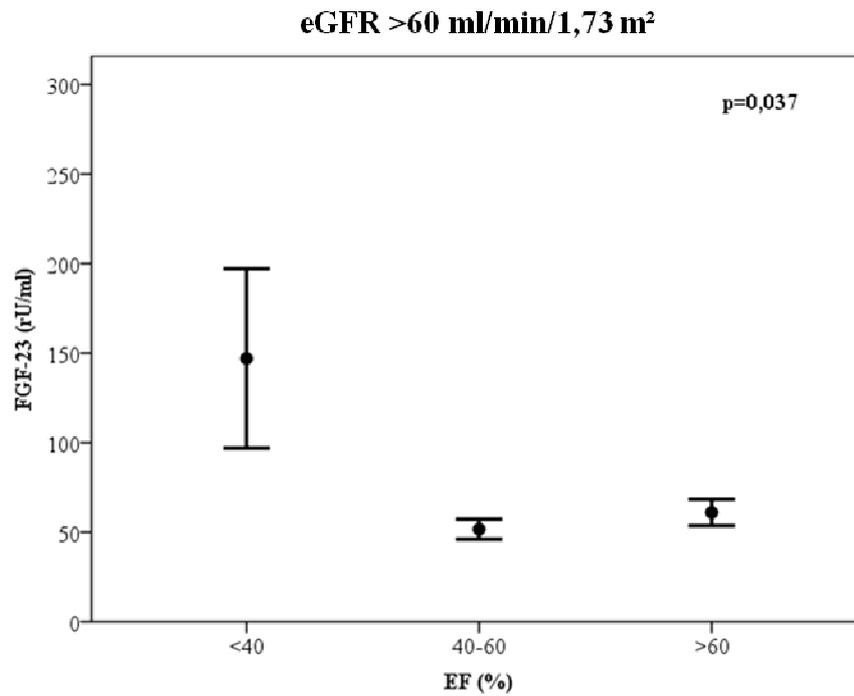


Abb. 10: Ejektionsfraktion (EF) und FGF-23 bei erhaltener Nierenfunktion

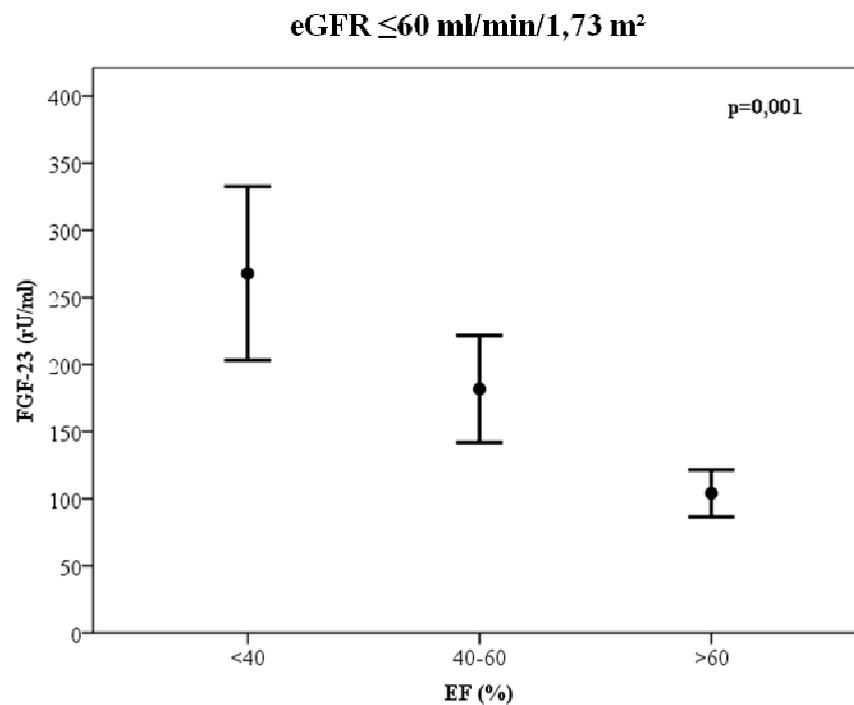


Abb. 11: Ejektionsfraktion (EF) und FGF-23 bei eingeschränkter Nierenfunktion

5.3.4 Multivariates Regressionsmodell

In einem multivariaten Regressionsmodell (Tab. 6) wurde nachfolgend die Assoziation zwischen FGF-23 als unabhängiger Variable und der Ejektionsfraktion als abhängige Variable nach Korrektur für Alter und Geschlecht (Model 1), zusätzlicher Korrektur für Plasmaphosphat und eGFR (Model 2), für Diabetes mellitus (DM) und CRP (Model 3) sowie für die Einnahme von Betablockern, ACE-Hemmern oder Statinen (Model 4) überprüft.

In allen Modellen blieb dabei FGF-23 unabhängiger Prädiktor der Ejektionsfraktion.

Tab. 6: Multivariates Regressionsmodell (abhängige Variable: Ejektionsfraktion)

	Model 1			Model 2			Model 3			Model 4		
	B	SEM	p									
Konstante	60,99	3,10	<0,001	58,88	5,62	<0,001	59,03	5,64	<0,001	60,92	5,63	<0,001
FGF-23 (log)	-2,82	0,57	<0,001	-2,24	0,57	0,001	-2,13	0,58	<0,001	-1,99	0,58	0,001
Alter	0,09	0,05	0,050	0,14	0,05	0,004	0,15	0,05	0,003	0,15	0,05	0,003
Geschlecht	4,99	1,01	<0,001	6,73	1,06	<0,001	6,72	1,06	<0,001	6,49	1,06	<0,001
Plasmaphosphat	-	-	-	-2,81	0,87	0,001	-2,71	0,87	0,002	-2,53	0,87	0,004
eGFR	-	-	-	0,09	0,03	0,001	0,09	0,03	0,001	0,08	0,03	0,001
DM	-	-	-	-	-	-	-1,10	0,97	0,261	-0,68	0,97	0,483
CRP (log)	-	-	-	-	-	-	-1,00	1,05	0,342	-0,97	1,05	0,356
Betablocker	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-1,73	1,13	0,124
ACE-Hemmer	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-3,10	0,98	0,002
Statin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	0,59	0,98	0,548

FGF-23 und CRP bei fehlender Normalverteilung als log angegeben. B: Regressionskoeffizient; CRP: C-reaktives Protein; DM: Diabetes mellitus; eGFR: geschätzte glomeruläre Filtrationsrate; FGF: Fibroblast growth factor; SEM: standard error of the mean (Standardfehler des Mittelwerts).

5.4 FGF-23 und prävalente KHK

Das Vorliegen einer koronaren Herzkrankheit (KHK, definiert als Stenose mindestens einer Koronararterie von mindestens 50%, und / oder stattgehabte Koronarintervention) hatte hingegen keinen Einfluss auf die FGF-23 Werte. Auch bei Unterteilung der Patienten nach Nierenfunktion wirkte sich das Vorliegen einer KHK nicht signifikant auf die gemessenen FGF-23 Werte aus.

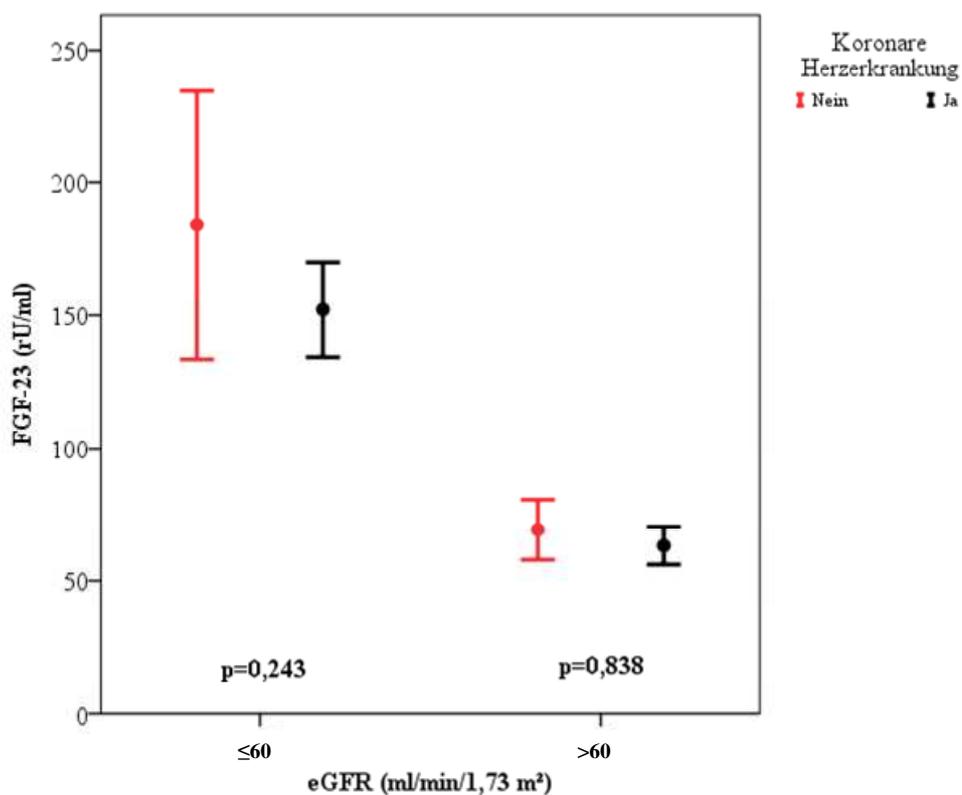


Abb. 12: Vorliegen einer KHK und FGF-23 (stratifiziert nach Nierenfunktion)

6 Diskussion

Im Rahmen dieser Dissertationsarbeit konnten wir zeigen, dass die Serumspiegel des phosphaturischen Hormons FGF-23 mit pro-BNP, einem etablierten Marker der linksventrikulären (LV) Funktion, korrelieren. Darüber hinaus konnten wir zeigen, dass die erhöhten Plasmaspiegel von FGF-23 mit einer verminderten Ejektionsfraktion (EF) als weiterem Marker der LV-Funktion assoziiert sind. Diese Korrelation bestand sowohl in der Subgruppe der Patienten mit erhaltener, als auch in der Subgruppe der Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion.

Das Vorliegen einer koronaren Herzerkrankung (KHK) hatte in keiner der beiden Subgruppen einen Einfluss auf die gemessenen FGF-23 Werte.

6.1 Messung von FGF-23

Zur Messung von FGF-23 existieren zwei Methoden, welche beide auf dem Prinzip des Sandwich-ELISA beruhen. Gemessen wird dabei entweder das intakte FGF-23 oder das c-terminale FGF-23 (Yamashita, T. 2005). ELISA zur Bestimmung von FGF-23 sind bislang allerdings nur für Forschungszwecke zugelassen (Fassbender, W. J. et al. 2009).

Die c-terminalen FGF-23 Werte liegen bei Gesunden zwischen 55 und 69 rU/ml. Bereits kurz nach Identifikation des FGF-23 wurden Veränderungen der Hormonkonzentration bei bestimmten Knochenstoffwechselerkrankungen beschrieben. So können Patienten mit hypophosphatämischer Rachitis, einer Erbkrankheit, die mit renalen Phosphatverlusten und damit verbundenen Knochenwachstumsstörungen einhergeht, FGF-23 Spiegel von bis zu 7000 rU/ml aufweisen (Jonsson, K. B. et al. 2003).

Bei Messungen des c-terminalen FGF-23 mittels ELISA werden sowohl die aktiven als auch die inaktiven Fragmente von FGF-23 bestimmt. Bei der Methode zur Bestimmung des intakten FGF-23 werden diese beim Abbau von FGF-23 entstehenden Fragmente nicht gemessen. So wurde bei Patienten mit chronischer

Nierenerkrankung zunächst postuliert, dass aufgrund der verminderten renalen Clearance der inaktiven Fragmente von FGF-23 bei diesen Patienten vorzugsweise eine FGF-23 Messung mit dem intakten ELISA erfolgen sollte. Die Arbeiten von Fliser et al. und Gutierrez et al. haben jedoch gezeigt, dass eine enge Korrelation zwischen dem c-terminalen und dem intakten FGF-23 besteht und bei beiden gemessenen Variablen eine gleichwertige prognostische Bedeutung besteht (Fliser, D. et al. 2007, Gutierrez, O. M. et al. 2008). Somit erscheint die Messung entweder des c-terminalen oder des intakten FGF-23 ausreichend.

Fassbender et al. kommen zu dem Ergebnis, dass bei tiefgefrorenen Proben und längerer Lagerung die Messung des c-terminalen FGF-23 im Vergleich zum intakten FGF-23 stabilere Messergebnisse erbringt. Ähnliche Ergebnisse fanden Heijboer et al., die eine bessere Inter-assay Variabilität und Linearität des c-terminalen ELISA im Vergleich zum intakten Assay berichteten. Beide Arbeitsgruppen fanden eine weitere Verbesserung der Stabilität bei der Verwendung von EDTA-Blut im Vergleich zu Serum. (Fassbender, W. J. et al. 2009, Heijboer, A. C. et al. 2009). Aufgrund dieser Resultate entschlossen wir uns einerseits zur Verwendung des c-terminalen FGF-23 ELISA, andererseits zur Durchführung der Messung in EDTA-Plasma.

6.2 Erhöhte FGF-23 Spiegel bei eingeschränkter Nierenfunktion

Mehrere epidemiologische Untersuchungen zeigten übereinstimmend auf, dass Patienten mit chronischer Nierenerkrankung (CKD) höhere FGF-23 Werte als Patienten mit erhaltener Nierenfunktion aufweisen (Larsson, T. et al. 2003, Ix, J. H. et al. 2010, Kirkpantur, A. et al. 2010).

Weiterhin zeigten sich erhöhte FGF-23 Spiegel als unabhängige Prädiktoren für das weitere Voranschreiten einer chronischen Nierenerkrankung sowohl bei Patienten ohne Diabetes mellitus (Fliser, D. et al. 2007) als auch bei Patienten mit Diabetes mellitus (Titan, S. M. et al. 2011).

Die Zunahme der gemessenen FGF-23 Werte korreliert dabei gut mit der Abnahme

der Nierenfunktion nach den K/DOQI Stadien (Gutierrez, O. et al. 2005).

Interessanterweise zeigten Ergebnisse von Gutierrez et al., dass die FGF-23 Spiegel im Serum früher ansteigen als die Serum-Phosphat Spiegel (Gutierrez, O. et al. 2005).

Vermutlich bewirkt der deutliche Anstieg der FGF-23 Spiegel im Verlauf des Voranschreitens einer chronischen Nierenerkrankung, dass bis zu einer Verminderung der glomerulären Filtrationsrate $<30 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ die Serum-Phosphatwerte bei den meisten CKD Patienten im Normbereich bleiben (Levin, A. et al. 2007).

Somit könnten FGF-23 Spiegel die Phosphatbelastung früher und besser anzeigen als sporadisch gemessene Serum-Phosphatwerte (Isakova, T. et al. 2009b).

Interessanterweise zeigten mehrere Longitudinalstudien, dass sowohl bei chronisch nierenkranken Menschen vor Einsetzen der Dialysepflichtigkeit (Seiler, S. et al. 2010) als auch bei Hämodialysepatienten (Gutierrez, O. M. et al. 2008, Jean, G. et al. 2009) erhöhte FGF-23 Spiegel Prädiktoren kardiovaskulärer Ereignisse resp. des Gesamtüberlebens sind. Dabei blieben erhöhte FGF-23 Werte selbst nach Korrektur für das Serum-Phosphat unabhängige Prädiktoren (Gutierrez, O. M. et al. 2008, Jean, G. et al. 2009, Seiler, S. et al. 2010).

6.3 FGF-23 und Atherosklerose

In unserer Kohorte, die vornehmlich aus nierengesunden Probanden bestand, zeigte sich kein Zusammenhang zwischen dem Vorhandensein einer koronaren Herzerkrankung und den bei Studieneinschluss gemessenen FGF-23 Spiegeln. Auch nach Unterteilung in die Subgruppen anhand der Nierenfunktion ($\text{GFR} \leq 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ vs $\text{GFR} > 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$) konnte kein Zusammenhang festgestellt werden.

Unsere Ergebnisse stehen in Einklang mit den Ergebnissen von Roos und Mitarbeitern. Sie konnten 2008 im Rahmen einer Querschnittsstudie an

nierengesunden Probanden keinen Zusammenhang zwischen dem Grad der atherosklerotisch bedingten koronaren Verkalkung, gemessen als Coronary Artery Calcification Score (CACS), und den gemessenen FGF-23 Werten aufzeigen (Roos, M. et al. 2008).

Eine aktuelle Studie von Nasrallah et al. konnte zeigen, dass bei terminal niereninsuffizienten Patienten, welche einer Dialysebehandlung bedürfen, erhöhte FGF-23 Werte mit einer verstärkten Kalzifikation der Aorta abdominals vergesellschaftet sind (Nasrallah, M. M. et al. 2010). Im Jahr 2006 zeigten Inaba et al. bei Hämodialysepatienten, dass hohe FGF-23 Spiegel sowohl bei Patienten mit einem Diabetes mellitus (DM) als auch bei nicht-diabetischen Patienten mit einer stärkeren Verkalkungen der Gefäße einhergehen (Inaba, M. et al. 2006). Weiterhin berichteten Gutierrez et al. über einen univariaten Zusammenhang zwischen gemessenen FGF-23 Spiegeln und koronarer Kalzifikation bei nicht-dialysepflichtigen chronisch Nierenkranken, welcher nach Korrektur für Störvariablen an Signifikanz verlor. Ähnlich verhielt es sich bei der Studie von Mirza und Mitarbeitern: In einer Kohorte von männlichen und weiblichen Schweden im Alter von 70 Jahren mit zum größten Teil intakter Nierenfunktion konnte ein Zusammenhang zwischen gemessenen FGF-23 Spiegeln und endothelialer Dysfunktion festgestellt werden (Mirza, M. A. et al. 2009c). In der in der gleichen Kohorte durchgeführten Magnet-Resonanz-Angiografie konnte jedoch kein signifikanter Zusammenhang zwischen FGF-23 Spiegeln und dem Vorhandensein von Stenosen in großen Arterien festgestellt werden (Mirza, M. A. et al. 2009a).

In Anschluss an diese widersprüchlichen Querschnittsanalysen berichteten Parker et al. 2010 erstmals über einen Zusammenhang zwischen FGF-23 und kardiovaskulären Ereignissen an einer großen prospektiven Kohortestudie von Patienten, deren Mehrzahl eine erhaltene Nierenfunktion aufwies (Parker, B. D. et al. 2010).

Allerdings ist bis heute vollkommen unklar, inwieweit FGF-23 direkte vaskulotoxische Effekte ausüben vermag, zumal Endothelzellen den FGF23 Co-Rezeptor Klotho nicht exprimieren. Experimentelle Untersuchungen suggerieren eine Klotho-unabhängige Bindung von FGF-23 an FGF-Rezeptoren im Falle pathologisch

erhöhter FGF-23 Spiegel, die ursächlich für eine Aktivierung von unselektiven pathophysiologischen Prozessen im Bereich der Gefäßwände verantwortlich sein könnte, ohne dass solche Prozesse bislang näher charakterisiert wurden (Gutierrez, O. M. et al. 2009, Wolf, M. 2010). Alternativ könnte die beobachtete Assoziation von erhöhten FGF-23 Werten mit kardiovaskulären Ereignissen lediglich Ausdruck einer Gefäßschädigung durch eine erhöhte Phosphatbelastung sein, welche nicht nur bei chronisch Nierenkranken, sondern auch bei nierengesunden Menschen mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko assoziiert ist (Foley, R. N. et al. 2009, Tonelli, M. et al. 2009).

In Zusammenschau mit den widersprüchlichen Ergebnissen aus klinischen Studien und der ungeklärten Pathophysiologie erscheint die Bedeutung von FGF-23 in der Atherosklerose noch nicht abschließend geklärt und bedarf weiterer Untersuchungen.

6.4 Zusammenhang von FGF-23 und linksventrikulärer Funktion

Mirza et al. und Gutierrez et al. haben in zwei großen Studien erstmals einen Zusammenhang zwischen der linksventrikulären Masse, der linksventrikulären Hypertrophie und den Serumwerten von FGF-23 beschrieben. Dies gilt sowohl für Probanden mit eingeschränkter also auch für die mit erhaltener Nierenfunktion (Gutierrez, O. M. et al. 2009, Mirza, M. A. et al. 2009c).

Allerdings wurden in beiden Studien Patienten mit eingeschränkter linksventrikulärer Funktion ausgeschlossen, sodass der Zusammenhang zwischen FGF-23 und der linksventrikulären Funktion bislang unklar war (Gutierrez, O. M. et al. 2009, Mirza, M. A. et al. 2009c). Daher wurde in der vorliegenden Arbeit in einem Kollektiv von Probanden mit zumeist erhaltener Nierenfunktion ($eGFR >60 \text{ ml/min/1,73m}^2$) untersucht, welcher Zusammenhang zwischen der linksventrikulären Funktion, gemessen an der Ejektionsfraktion (EF) sowie dem Surrogatmarker pro-BNP im Serum einerseits, und den FGF-23 Werten im Plasma andererseits, besteht. Patienten mit eingeschränkter Nierenfunktion ($eGFR \leq 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$) wurden ebenfalls untersucht, da auch hier bislang keine Daten zum Zusammenhang mit der linksventrikulären Funktion vorliegen.

Als Messparameter der LV Funktion wurden in der HOM SWEET HOME Studie die Serumpiegel des pro-BNP und die Ejektionsfraktion bestimmt.

Pro-BNP ist eine Vorstufe von BNP, welches bei einer kardialen Volumenbelastung vornehmlich im linken und rechten Ventrikel gebildet wird. Pro-BNP steigert die Natriurese und reduziert dadurch die Druck- und Volumenbelastung des Herzens (Kinnunen, P. et al. 1993). Gleichzeitig wirkt es hemmend auf das Renin-Angiotensin-Aldosteron System und reduziert die renale Sympathikusaktivität (Brunner-La Rocca, H. P. et al. 2001).

Pro-BNP konnte als Surrogatmarker für eine chronische Überlastung (Druck- und Volumenbelastung und konsekutiver Herzinsuffizienz) des Herzens etabliert werden (Davidson, N. C. and Struthers, A. D. 1994). Zwischen pro-BNP und linksventrikulärer Dysfunktion (systolisch wie auch diastolisch) besteht ein direkter Zusammenhang (Costello-Boerrigter, L. C. et al. 2006). So konnten Schou et al. 2007 zeigen, dass pro-BNP ein stabiler Marker der linksventrikulären Funktion ist und sich damit für die Einschätzung des Verlaufes einer Herzinsuffizienz eignet (Schou, M. et al. 2007).

Aber auch bei Patienten mit erhaltener linksventrikulärer Funktion konnte ein Zusammenhang zwischen pro-BNP und Ejektionsfraktion gezeigt werden (Kim, H. et al. 2008). Weiterhin konnte ein eigenständiger prädiktiver Wert von pro-BNP für das Auftreten zukünftiger kardiovaskulärer Ereignisse und Todesfälle in der Normalbevölkerung aufgezeigt werden (Linssen, G. C. et al. 2010).

In unserer HOM SWEET HOME Studie konnte nun erstmals in einem großen Kollektiv eine Assoziation zwischen der linksventrikulären Funktion und FGF-23 Plasmaspiegeln aufgezeigt werden.

Nachdem diese Korrelation zwischen FGF-23 und linksventrikulärer Funktion zunächst keinen Rückschluss auf Kausalitäten zulässt, könnte alternativ ein gestörter Calicum-Phosphat-Stoffwechsel als Ursache oder Folge der linksventrikulären Funktionsstörung postuliert werden.

Zwar konnten Liu et al. zeigen, dass physiologischerweise neben der Synthese im Knochen ebenfalls geringe Mengen von FGF-23 kardial gebildet und sezerniert werden (Liu, S. et al. 2003), allerdings gibt es momentan keinerlei Beleg dafür, dass im Rahmen kardialer Erkrankung ein klinisch relevanter Anstieg der kardialen FGF-23 Synthese und Sekretion auftritt.

Plausibler erscheint uns, dass eine erhöhte Phosphatbelastung mit einem Anstieg von FGF-23 langfristig in eine Herzinsuffizienz münden könnte.

Die Hyperphosphatämie stellt einen Risikofaktor für die Entwicklung einer linksventrikulären Hypertrophie dar (Foley, R. N. 2009, Isakova, T. et al. 2009b), welche konsekutiv in eine Herzinsuffizienz münden kann. Gleichzeitig begünstigt der durch erhöhte Phosphatbelastung auftretende Anstieg der FGF-23 Spiegel einen Mangel an aktivem Vitamin D, welcher wiederum eigenständig zur linksventrikulären Hypertrophie beiträgt (Isakova, T. et al. 2009b). Somit könnte die beobachtete Korrelation zwischen erhöhten FGF-23 Spiegeln und einer verminderten linksventrikulären Funktion lediglich einen entgleisten Calcium-Phosphat Stoffwechsel widerspiegeln.

Dennoch postulieren wir aufgrund der vorliegenden Ergebnisse dieser Promotionsarbeit, dass FGF-23 nicht nur einen bloßen Regulator der Calcium-Phosphat Homöostase darstellt. Vielmehr könnte FGF-23 bisher unbekannte, direkte Effekte auf das kardiovaskuläre System haben, nachdem in der untersuchten Kohorte die Assoziation zwischen FGF-23 und Ejektionsfraktion als Marker der linksventrikulären Funktion auch nach Korrektur für Phosphat und andere Störvariablen bestehen blieb. Einschränkend muss allerdings erwähnt werden, dass in der HOM SWEET HOME Studie keine Korrektur der Ergebnisse für die Spiegel an Vitamin D erfolgte.

Die pathophysiologischen Kaskaden, die einer kausalen Rolle von FGF-23 in der Entstehung einer linksventrikulären Dysfunktion zugrunde liegen könnten, sind allerdings momentan völlig ungeklärt und sollten Gegenstand zukünftiger Untersuchungen sein.

6.5 Mögliche therapeutische Option

Sofern weitere klinische und experimentelle Untersuchungen einen kausalen Zusammenhang zwischen FGF-23 und der Entstehung und Progredienz einer linksventrikulären Funktionsstörung aufzeigen, könnte eine Senkung von FGF-23 Ziel pharmakologischer Interventionsstudien zur Prävention und Therapie der chronischen Myokardinsuffizienz werden.

Erste Ergebnisse aus Tierversuchen (Kusano, K. et al. 2009, Finch, J. L. et al. 2010) und humanen Studien (Koiwa, F. et al. 2005, Pande, S. et al. 2006) zeigten eine FGF-23 Senkung durch Einnahme von oralen Phosphatbindern. Wetmore et al. kombinierten die Einnahme von oralen Phosphatbindern mit der Einnahme des Calcimimetikums Cinacalcet und erreichten ebenfalls eine signifikante Reduktion der FGF-23 Spiegel (Wetmore, J. B. et al. 2010).

Interessanterweise konnten Isakova et al. bei inzidenten Hämodialysepatienten im Rahmen der ArMORR-Kohorte einen Überlebensvorteil von Patienten, die Phosphatbinder rezeptiert bekommen haben, aufzeigen. Erstaunlicherweise zeigte sich dieser prognostische Nutzen der Phosphatbindereinnahme unabhängig von den gemessenen Serum-Phosphat-Spiegeln zu Studienbeginn und den Serum-Phosphat-Spiegeln unter der Phosphatbindereinnahme (Isakova, T. et al. 2009a).

Gleichzeitig konnten in derselben Kohorte erhöhte FGF-23 Spiegel als unabhängige Prädiktoren der Mortalität erkannt werden; hierbei erwiesen sich erhöhte FGF-23 Spiegel als wesentlich bessere Prädiktoren als erhöhte Serum-Phosphat-Spiegel (Gutierrez, O. M. et al. 2008). Leider erfolgte im Rahmen der ArMORR Kohorte bisher keine Analyse der Interaktion zwischen Phosphatbinder-Medikation und FGF-23 Spiegel hinsichtlich der Mortalität.

Aufgrund der nachgewiesenen Senkung von FGF-23 durch Phosphatbinder einerseits, und der Assoziation des ereignisfreien Überlebens von nierenkranken Menschen mit der Einnahme von Phosphatbindern und den FGF-23 Spiegel andererseits, erscheint eine Prognoseverbesserung von chronisch nierenkranken Menschen durch Senkung von FGF-23 mittels Einnahme von Phosphatbindern als

attraktive Hypothese, die in einer kontrollierten klinischen Studie überprüft werden sollte.

Obgleich bei Menschen mit nicht-renalen chronischen Erkrankungen - etwa Patienten mit chronischer Myokardinsuffizienz - die Verbindung zwischen Einnahme von Phosphatbindern, Serumspiegel von FGF-23 und ereignisfreiem Überleben nicht untersucht wurde, erscheint aufgrund der Assoziation erhöhter FGF-23 Spiegel mit der Gesamtmortalität (Parker, B. D. et al. 2010) auch hier eine Prognoseverbesserung durch eine Phosphatbinder-induzierte Senkung des FGF-23 denkbar.

Daher sollte in zukünftigen Studien untersucht werden, inwieweit ein frühzeitig entdeckter Anstieg von FGF-23 als Indikation für den Einsatz von Phosphatbindern vor Erreichen einer Hyperphosphatämie und eine Überwachung der Serumwerte für FGF-23 einen Therapieerfolg mit einer Prognoseverbesserung bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz unabhängig von einer chronischen Nierenerkrankung darstellen könnte.

Eine möglicherweise weitere therapeutische Option stellt der Einsatz von monoklonalen Antikörpern gegen FGF-23 dar, welcher erstmals von Hasegawa et al. (Hasegawa, H. et al. 2010) in einem CKD-Mausmodell untersucht wurde. Hier wurde trotz Induktion einer chronischen Nierenschädigung ein konsekutiver Mangel an Vitamin D und einen Anstieg des Parathormons verhindert. Andererseits liegen bisher keinerlei weiteren Studien zum Einsatz dieses Antikörpers und insbesondere keinerlei Daten zur Wirksamkeit und Verträglichkeit im Menschen vor, so dass sein Einsatz bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz allenfalls in ferner Zukunft liegt.

6.6 Schlussfolgerung und Ausblick

Zusammenfassend stellt die vorliegende Dissertationsschrift erstmals einen Zusammenhang zwischen erhöhten FGF-23 Spiegel und linksventrikulärer Funktion her.

Aufgrund ihres Studiendesigns kann die vorliegende Dissertationsschrift nur Assoziationen darstellen, jedoch keine Kausalitäten überprüfen. Daher kann nicht differenziert werden, ob erhöhte FGF-23 Spiegel Ursache oder Folge der linksventrikulären Dysfunktion sind. Daher erscheint es erforderlich, in experimentellen Arbeiten zu überprüfen, ob FGF-23 am Myokard pathophysiologische Kaskaden initiieren kann, welche in Hypertrophie und Insuffizienz des linken Ventrikels münden.

Parallel soll eine Nachbeobachtung aller in die HOM SWEET HOME Studie eingeschlossenen Patienten weitere Daten über die Bedeutung von FGF-23 als Prädiktor von kardiovaskulären Ereignissen bei Nierengesunden bringen.

Sofern die Ergebnisse dieser experimentellen und klinischen Studien ebenso eine Bedeutung von FGF-23 in der Entstehung der Myokardinsuffizienz suggerieren, sollten im nächsten Schritt prospektive Interventionsstudien den potentiellen prognostischen Nutzen einer medikamentösen FGF-23 Senkung auf eine bestehende Atherosklerose und / oder Herzinsuffizienz bei nierenkranken und nierengesunden Menschen weiter untersuchen.

7 Literaturverzeichnis

1. **Baum,M., Schiavi,S., Dwarakanath,V., and Quigley,R.** (2005) Effect of fibroblast growth factor-23 on phosphate transport in proximal tubules. *Kidney Int.* **68**:1148-1153.
2. **Brunner-La Rocca,H.P., Kaye,D.M., Woods,R.L., Hastings,J., and Esler,M.D.** (2001) Effects of intravenous brain natriuretic peptide on regional sympathetic activity in patients with chronic heart failure as compared with healthy control subjects. *J.Am.Coll.Cardiol.* **37**:1221-1227.
3. **Collins,M.T., Lindsay,J.R., Jain,A., Kelly,M.H., Cutler,C.M., Weinstein,L.S., Liu,J., Fedarko,N.S., and Winer,K.K.** (2005) Fibroblast growth factor-23 is regulated by 1alpha,25-dihydroxyvitamin D. *J.Bone Miner.Res.* **20**:1944-1950.
4. **Costello-Boerrigter,L.C., Boerrigter,G., Redfield,M.M., Rodeheffer,R.J., Urban,L.H., Mahoney,D.W., Jacobsen,S.J., Heublein,D.M., and Burnett,J.C., Jr.** (2006) Amino-terminal pro-B-type natriuretic peptide and B-type natriuretic peptide in the general community: determinants and detection of left ventricular dysfunction. *J.Am.Coll.Cardiol.* **47**:345-353.
5. **Davidson,N.C. and Struthers,A.D.** (1994) Brain natriuretic peptide. *J.Hypertens.* **12**:329-336.
6. **Emmett,M.** (2008) What does serum fibroblast growth factor 23 do in hemodialysis patients? *Kidney Int.* **73**:3-5.
7. **Fassbender,W.J., Brandenburg,V., Schmitz,S., Sandig,D., Simon,S.A., Windolf,J., and Stumpf,U.C.** (2009) Evaluation of human fibroblast growth factor 23 (FGF-23) C-terminal and intact enzyme-linked immunosorbent-assays in end-stage renal disease patients. *Clin.Lab* **55**:144-152.

8. **Finch,J.L., Tokumoto,M., Nakamura,H., Yao,W., Shahnazari,M., Lane,N., and Slatopolsky,E.** (2010) Effect of paricalcitol and cinacalcet on serum phosphate, FGF-23, and bone in rats with chronic kidney disease. *Am.J.Physiol Renal Physiol.* **298**:F1315-F1322.
9. **Fliser,D., Kollerits,B., Neyer,U., Ankerst,D.P., Lhotta,K., Lingenhel,A., Ritz,E., Kronenberg,F., Kuen,E., Konig,P., Kraatz,G., Mann,J.F., Muller,G.A., Kohler,H., and Riegler,P.** (2007) Fibroblast growth factor 23 (FGF23) predicts progression of chronic kidney disease: the Mild to Moderate Kidney Disease (MMKD) Study. *J.Am.Soc.Nephrol.* **18**:2600-2608.
10. **Foley,R.N.** (2009) Phosphate levels and cardiovascular disease in the general population. *Clin.J.Am.Soc.Nephrol.* **4**:1136-1139.
11. **Foley,R.N., Collins,A.J., Herzog,C.A., Ishani,A., and Kalra,P.A.** (2009) Serum phosphorus levels associate with coronary atherosclerosis in young adults. *J.Am.Soc.Nephrol.* **20**:397-404.
12. **Goetz,R., Beenken,A., Ibrahimi,O.A., Kalinina,J., Olsen,S.K., Eliseenkova,A.V., Xu,C., Neubert,T.A., Zhang,F., Linhardt,R.J., Yu,X., White,K.E., Inagaki,T., Kliwer,S.A., Yamamoto,M., Kurosu,H., Ogawa,Y., Kuro-o M, Lanske,B., Razzaque,M.S., and Mohammadi,M.** (2007) Molecular insights into the klotho-dependent, endocrine mode of action of fibroblast growth factor 19 subfamily members. *Mol.Cell Biol.* **27**:3417-3428.
13. **Gutierrez,O., Isakova,T., Rhee,E., Shah,A., Holmes,J., Collerone,G., Juppner,H., and Wolf,M.** (2005) Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease. *J.Am.Soc.Nephrol.* **16**:2205-2215.

14. **Gutierrez,O.M., Januzzi,J.L., Isakova,T., Laliberte,K., Smith,K., Collerone,G., Sarwar,A., Hoffmann,U., Coglianesi,E., Christenson,R., Wang,T.J., deFilippi,C., and Wolf,M.** (2009) Fibroblast growth factor 23 and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease. *Circulation* **119**:2545-2552.
15. **Gutierrez,O.M., Mannstadt,M., Isakova,T., Rauh-Hain,J.A., Tamez,H., Shah,A., Smith,K., Lee,H., Thadhani,R., Juppner,H., and Wolf,M.** (2008) Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N.Engl.J.Med.* **359**:584-592.
16. **Haider,A.W., Larson,M.G., Benjamin,E.J., and Levy,D.** (1998) Increased left ventricular mass and hypertrophy are associated with increased risk for sudden death. *J.Am.Coll.Cardiol.* **32**:1454-1459.
17. **Hasegawa,H., Nagano,N., Urakawa,I., Yamazaki,Y., Iijima,K., Fujita,T., Yamashita,T., Fukumoto,S., and Shimada,T.** (2010) Direct evidence for a causative role of FGF23 in the abnormal renal phosphate handling and vitamin D metabolism in rats with early-stage chronic kidney disease. *Kidney Int.* **78**:975-980.
18. **Heijboer,A.C., Levitus,M., Vervloet,M.G., Lips,P., ter Wee,P.M., Dijstelbloem,H.M., and Blankenstein,M.A.** (2009) Determination of fibroblast growth factor 23. *Ann.Clin.Biochem.* **46**:338-340.
19. **Ho,K.K., Pinsky,J.L., Kannel,W.B., and Levy,D.** (1993) The epidemiology of heart failure: the Framingham Study. *J.Am.Coll.Cardiol.* **22**:6A-13A.
20. **Inaba,M., Okuno,S., Imanishi,Y., Yamada,S., Shioi,A., Yamakawa,T., Ishimura,E., and Nishizawa,Y.** (2006) Role of fibroblast growth factor-23 in peripheral vascular calcification in non-diabetic and diabetic hemodialysis patients. *Osteoporos.Int.* **17**:1506-1513.

21. **Isakova,T., Gutierrez,O.M., Chang,Y., Shah,A., Tamez,H., Smith,K., Thadhani,R., and Wolf,M.** (2009a) Phosphorus binders and survival on hemodialysis. *J.Am.Soc.Nephrol.* **20**:388-396.
22. **Isakova,T., Gutierrez,O.M., and Wolf,M.** (2009b) A blueprint for randomized trials targeting phosphorus metabolism in chronic kidney disease. *Kidney Int.* **76**:705-716.
23. **Ix,J.H., Shlipak,M.G., Wassel,C.L., and Whooley,M.A.** (2010) Fibroblast growth factor-23 and early decrements in kidney function: the Heart and Soul Study. *Nephrol.Dial.Transplant.* **25**:993-997.
24. **Jean,G., Terrat,J.C., Vanel,T., Hurot,J.M., Lorriaux,C., Mayor,B., and Chazot,C.** (2009) High levels of serum fibroblast growth factors (FGF)-23 are associated with increased mortality in long haemodialysis patients. *Nephrol.Dial.Transplant.* **24**:2792-2796.
25. **Jonsson,K.B., Zahradnik,R., Larsson,T., White,K.E., Sugimoto,T., Imanishi,Y., Yamamoto,T., Hampson,G., Koshiyama,H., Ljunggren,O., Oba,K., Yang,I.M., Miyauchi,A., Econs,M.J., Lavigne,J., and Juppner,H.** (2003) Fibroblast growth factor 23 in oncogenic osteomalacia and X-linked hypophosphatemia. *N.Engl.J.Med.* **348**:1656-1663.
26. **K/DOQI** (2002) K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am.J.Kidney Dis.* **39**:S1-266.
27. **Kalogeropoulos,A., Georgiopoulou,V., Kritchevsky,S.B., Psaty,B.M., Smith,N.L., Newman,A.B., Rodondi,N., Satterfield,S., Bauer,D.C., Bibbins-Domingo,K., Smith,A.L., Wilson,P.W., Vasan,R.S., Harris,T.B., and Butler,J.** (2009) Epidemiology of incident heart failure in a contemporary elderly cohort: the health, aging, and body composition study.

- Arch.Intern.Med. **169**:708-715.
28. **Kim,H., Jun,D.W., Cho,Y.K., Nam,C.W., Han,S.W., Hur,S.H., Kim,Y.N., and Kim,K.B.** (2008) The correlation of left atrial volume index to the level of N-terminal pro-BNP in heart failure with a preserved ejection fraction. *Echocardiography*. **25**:961-967.
29. **Kinnunen,P., Vuolteenaho,O., and Ruskoaho,H.** (1993) Mechanisms of atrial and brain natriuretic peptide release from rat ventricular myocardium: effect of stretching. *Endocrinology* **132**:1961-1970.
30. **Kirkpantur,A., Balci,M., Gurbuz,O.A., Afsar,B., Canbakan,B., Akdemir,R., and Ayli,M.D.** (2010) Serum fibroblast growth factor-23 (FGF-23) levels are independently associated with left ventricular mass and myocardial performance index in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol.Dial.Transplant*. [**Epub ahead of print**].
31. **Koiwa,F., Onoda,N., Kato,H., Tokumoto,A., Okada,T., Fukagawa,M., and Shigematsu,T.** (2005) Prospective randomized multicenter trial of sevelamer hydrochloride and calcium carbonate for the treatment of hyperphosphatemia in hemodialysis patients in Japan. *Ther.Apher.Dial*. **9**:340-346.
32. **Koren,M.J., Devereux,R.B., Casale,P.N., Savage,D.D., and Laragh,J.H.** (1991) Relation of left ventricular mass and geometry to morbidity and mortality in uncomplicated essential hypertension. *Ann.Intern.Med.* **114**:345-352.
33. **Kurosu,H., Ogawa,Y., Miyoshi,M., Yamamoto,M., Nandi,A., Rosenblatt,K.P., Baum,M.G., Schiavi,S., Hu,M.C., Moe,O.W., and Kuro-o M** (2006) Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho. *J.Biol.Chem.* **281**:6120-6123.

34. **Kusano,K., Saito,H., Segawa,H., Fukushima,N., and Miyamoto,K.** (2009) Mutant FGF23 prevents the progression of chronic kidney disease but aggravates renal osteodystrophy in uremic rats. *J.Nutr.Sci.Vitaminol.(Tokyo)* **55**:99-105.
35. **Larsson,T., Nisbeth,U., Ljunggren,O., Juppner,H., and Jonsson,K.B.** (2003) Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. *Kidney Int.* **64**:2272-2279.
36. **Levin,A., Bakris,G.L., Molitch,M., Smulders,M., Tian,J., Williams,L.A., and Andress,D.L.** (2007) Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. *Kidney Int.* **71**:31-38.
37. **Levy,D., Larson,M.G., Vasan,R.S., Kannel,W.B., and Ho,K.K.** (1996) The progression from hypertension to congestive heart failure. *JAMA* **275**:1557-1562.
38. **Linssen,G.C., Bakker,S.J., Voors,A.A., Gansevoort,R.T., Hillege,H.L., de Jong,P.E., van Veldhuisen,D.J., Gans,R.O., and de Zeeuw,D.** (2010) N-terminal pro-B-type natriuretic peptide is an independent predictor of cardiovascular morbidity and mortality in the general population. *Eur.Heart J.* **31**:120-127.
39. **Liu,S., Guo,R., Simpson,L.G., Xiao,Z.S., Burnham,C.E., and Quarles,L.D.** (2003) Regulation of fibroblastic growth factor 23 expression but not degradation by PHEX. *J.Biol.Chem.* **278**:37419-37426.

40. **Mirza,M.A., Hansen,T., Johansson,L., Ahlstrom,H., Larsson,A., Lind,L., and Larsson,T.E.** (2009a) Relationship between circulating FGF23 and total body atherosclerosis in the community. *Nephrol.Dial.Transplant.* **24**:3125-3131.
41. **Mirza,M.A., Larsson,A., Lind,L., and Larsson,T.E.** (2009b) Circulating fibroblast growth factor-23 is associated with vascular dysfunction in the community. *Atherosclerosis* **205**:385-390.
42. **Mirza,M.A., Larsson,A., Melhus,H., Lind,L., and Larsson,T.E.** (2009c) Serum intact FGF23 associate with left ventricular mass, hypertrophy and geometry in an elderly population. *Atherosclerosis* **207**:546-551.
43. **Miyamoto,K., Ito,M., Kuwahata,M., Kato,S., and Segawa,H.** (2005) Inhibition of intestinal sodium-dependent inorganic phosphate transport by fibroblast growth factor 23. *Ther.Apher.Dial.* **9**:331-335.
44. **Nabeshima,Y.** (2008) The discovery of alpha-Klotho and FGF23 unveiled new insight into calcium and phosphate homeostasis. *Cell Mol.Life Sci.* **65**:3218-3230.
45. **Nasrallah,M.M., El Shehaby,A.R., Salem,M.M., Osman,N.A., El Sheikh,E., and Sharaf El Din,U.A.** (2010) Fibroblast growth factor-23 (FGF-23) is independently correlated to aortic calcification in haemodialysis patients. *Nephrol.Dial.Transplant.* **25**:2679-2685.
46. **Pande,S., Ritter,C.S., Rothstein,M., Wiesen,K., Vassiliadis,J., Kumar,R., Schiavi,S.C., Slatapolsky,E., and Brown,A.J.** (2006) FGF-23 and sFRP-4 in chronic kidney disease and post-renal transplantation. *Nephron Physiol* **104**:23-32.
47. **Parker,B.D., Schurgers,L.J., Brandenburg,V.M., Christenson,R.H., Vermeer,C., Ketteler,M., Shlipak,M.G., Whooley,M.A., and Ix,J.H.**

- (2010) The associations of fibroblast growth factor 23 and uncarboxylated matrix Gla protein with mortality in coronary artery disease: the Heart and Soul Study. *Ann.Intern.Med.* **152**:640-648.
48. **Rame,J.E., Ramilo,M., Spencer,N., Blewett,C., Mehta,S.K., Dries,D.L., and Drazner,M.H.** (2004) Development of a depressed left ventricular ejection fraction in patients with left ventricular hypertrophy and a normal ejection fraction. *Am.J.Cardiol.* **93**:234-237.
49. **Razzaque,M.S. and Lanske,B.** (2007) The emerging role of the fibroblast growth factor-23-klotho axis in renal regulation of phosphate homeostasis. *J.Endocrinol.* **194**:1-10.
50. **Riminucci,M., Collins,M.T., Fedarko,N.S., Cherman,N., Corsi,A., White,K.E., Waguespack,S., Gupta,A., Hannon,T., Econs,M.J., Bianco,P., and Gehron,R.P.** (2003) FGF-23 in fibrous dysplasia of bone and its relationship to renal phosphate wasting. *J.Clin.Invest* **112**:683-692.
51. **Roos,M., Lutz,J., Salmhofer,H., Lupp,P., Knauss,A., Braun,S., Martinof,S., Schomig,A., Heemann,U., Kastrati,A., and Hausleiter,J.** (2008) Relation between plasma fibroblast growth factor-23, serum fetuin-A levels and coronary artery calcification evaluated by multislice computed tomography in patients with normal kidney function. *Clin.Endocrinol.(Oxf)* **68**:660-665.
52. **ROSE,G.A.** (1962) The diagnosis of ischaemic heart pain and intermittent claudication in field surveys. *Bull.World Health Organ* **27**:645-658.
53. **Saito,H., Maeda,A., Ohtomo,S., Hirata,M., Kusano,K., Kato,S., Ogata,E., Segawa,H., Miyamoto,K., and Fukushima,N.** (2005) Circulating FGF-23 is regulated by 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 and phosphorus in vivo. *J.Biol.Chem.* **280**:2543-2549.

54. **Schiavi,S.C.** (2006) Fibroblast growth factor 23: the making of a hormone. *Kidney Int.* **69**:425-427.
55. **Schou,M., Gustafsson,F., Nielsen,P.H., Madsen,L.H., Kjaer,A., and Hildebrandt,P.R.** (2007) Unexplained week-to-week variation in BNP and NT-proBNP is low in chronic heart failure patients during steady state. *Eur.J.Heart Fail.* **9**:68-74.
56. **Seiler,S., Reichart,B., Roth,D., Seibert,E., Fliser,D., and Heine,G.H.** (2010) FGF-23 and future cardiovascular events in patients with chronic kidney disease before initiation of dialysis treatment. *Nephrol.Dial.Transplant.* **25**:3983-3989.
57. **Shimada,T., Muto,T., Urakawa,I., Yoneya,T., Yamazaki,Y., Okawa,K., Takeuchi,Y., Fujita,T., Fukumoto,S., and Yamashita,T.** (2002) Mutant FGF-23 responsible for autosomal dominant hypophosphatemic rickets is resistant to proteolytic cleavage and causes hypophosphatemia in vivo. *Endocrinology* **143**:3179-3182.
58. **Shimada,T., Urakawa,I., Yamazaki,Y., Hasegawa,H., Hino,R., Yoneya,T., Takeuchi,Y., Fujita,T., Fukumoto,S., and Yamashita,T.** (2004) FGF-23 transgenic mice demonstrate hypophosphatemic rickets with reduced expression of sodium phosphate cotransporter type IIa. *Biochem.Biophys.Res.Commun.* **314**:409-414.
59. **Sitara,D., Kim,S., Razzaque,M.S., Bergwitz,C., Taguchi,T., Schuler,C., Erben,R.G., and Lanske,B.** (2008) Genetic evidence of serum phosphate-independent functions of FGF-23 on bone. *PLoS.Genet.* **4**:e1000154.
60. **Solomon,S.D., Janardhanan,R., Verma,A., Bourgoun,M., Daley,W.L., Purkayastha,D., Lacourciere,Y., Hippler,S.E., Fields,H., Naqvi,T.Z., Mulvagh,S.L., Arnold,J.M., Thomas,J.D., Zile,M.R., and**

- Aurigemma,G.P.** (2007) Effect of angiotensin receptor blockade and antihypertensive drugs on diastolic function in patients with hypertension and diastolic dysfunction: a randomised trial. *Lancet* **369**:2079-2087.
61. **Stubbs,J.R., Liu,S., Tang,W., Zhou,J., Wang,Y., Yao,X., and Quarles,L.D.** (2007) Role of hyperphosphatemia and 1,25-dihydroxyvitamin D in vascular calcification and mortality in fibroblastic growth factor 23 null mice. *J.Am.Soc.Nephrol.* **18**:2116-2124.
62. **Titan,S.M., Zatz,R., Gracioli,F.G., Dos Reis,L.M., Barros,R.T., Jorgetti,V., and Moyses,R.M.** (2011) FGF-23 as a Predictor of Renal Outcome in Diabetic Nephropathy. *Clin.J.Am.Soc.Nephrol.* **6**:241-247.
63. **Tonelli,M., Curhan,G., Pfeffer,M., Sacks,F., Thadhani,R., Melamed,M.L., Wiebe,N., and Muntner,P.** (2009) Relation between alkaline phosphatase, serum phosphate, and all-cause or cardiovascular mortality. *Circulation* **120**:1784-1792.
64. **Urakawa,I., Yamazaki,Y., Shimada,T., Iijima,K., Hasegawa,H., Okawa,K., Fujita,T., Fukumoto,S., and Yamashita,T.** (2006) Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature* **444**:770-774.
65. **Wetmore,J.B., Liu,S., Krebill,R., Menard,R., and Quarles,L.D.** (2010) Effects of cinacalcet and concurrent low-dose vitamin D on FGF23 levels in ESRD. *Clin.J.Am.Soc.Nephrol.* **5**:110-116.
66. **Wolf,M.** (2010) Forging forward with 10 burning questions on FGF23 in kidney disease. *J.Am.Soc.Nephrol.* **21**:1427-1435.
67. **Yamashita,T.** (2005) Structural and biochemical properties of fibroblast growth factor 23. *Ther.Apher.Dial.* **9**:313-318.

68. **Yamazaki,Y., Okazaki,R., Shibata,M., Hasegawa,Y., Satoh,K., Tajima,T., Takeuchi,Y., Fujita,T., Nakahara,K., Yamashita,T., and Fukumoto,S.** (2002) Increased circulatory level of biologically active full-length FGF-23 in patients with hypophosphatemic rickets/osteomalacia. *J.Clin.Endocrinol.Metab.* **87**:4957-4960.

8 Danksagung

Mein ganz besonderer Dank gilt meinem Doktorvater Herrn PD Dr. med. Gunnar H. Heine. Seine unermüdliche und freundliche Art und seine kompromisslose Bereitschaft, in jeder Situation zu helfen, haben entscheidend zur Entstehung und Fertigstellung dieser Arbeit beigetragen.

Ich danke Herrn Prof. Dr. med. M. Böhm und Herrn Prof. Dr. med. D. Fliser für die Möglichkeit, in den Medizinischen Kliniken des Universitätsklinikums des Saarlandes promovieren zu dürfen.

Die Dissertationsarbeit wurde durch die enge und kollegiale Zusammenarbeit der Kliniken für Innere Medizin III und IV ermöglicht. Herrn Dr. Cremers danke ich für die dauerhafte Unterstützung über den gesamten Studienzeitraum. Zur erfolgreichen Durchführung dieser Arbeit trug die ständige Hilfsbereitschaft der ärztlichen und pflegerischen Mitarbeiter der Ambulanz und des Herzkatheterlabors der Klinik für Innere Medizin III unter Leitung von Herrn Prof. Dr. Scheller entscheidend bei.

Besonderer Dank gebührt Frau Dr. Sarah Seiler, die mir als Betreuerin stets mit einem offenen Ohr, neuen Ideen und viel Rat und Tat zur Seite stand.

Danken möchte ich auch unserer MTA Frau Martina Wagner, die mit ihrer Erfahrung und Routine im Labor immer gerne geholfen hat, die ELISA zu messen und auszuwerten.

Einen großen Beitrag zum Erfolg dieser Arbeit hatte auch die enge und kollegiale Zusammenarbeit in der Arbeitsgruppe 1, insbesondere mit meinen Mitdoktoranden Florian Hornhof, Charlotte Steimle, Jana Jeken und Sylvie Kersting.

Zu guter Letzt danke ich natürlich meinen Eltern, die immer für mich da waren und in jeder Lebenslage ein aufmunterndes Wort gefunden haben. Ohne euch wären mir viele Dinge im Leben sicherlich nicht in dieser Form möglich gewesen.

Danke Esther.

9 Publikationen

Die Studienergebnisse wurden zu einem Manuskript zusammengefasst, welches sich zum Zeitpunkt der Einreichung dieser Dissertationsschrift bei der Medizinischen Fakultät (März 2011) im zweiten Reviewverfahren beim European Heart Journal befindet.

1. Sarah Seiler, Bodo Cremers, Niko M Rebling, Florian Hornof, Jana Jeken, Sylvie Kersting, Charlotte Steimle, Philipp Ege, Michael Fehrenz, Kyrill S Rogacev, Bruno Scheller, Michael Böhm, Danilo Fliser und Gunnar H Heine – The phosphatonin FGF-23 links calcium-phosphate metabolism and left-ventricular function.

Teilergebnisse dieser Arbeit wurden im Rahmen von Posterpräsentationen vorgestellt und als Abstract veröffentlicht.

2. Sarah Seiler, Bodo Cremers, Niko M Rebling, Florian Hornof, Charlotte Steimle, Jana Jeken, Sylvie Kersting, Kyrill S Rogacev, Bruno Scheller, Michael Böhm, Danilo Fliser und Gunnar H Heine – The phosphatonin FGF-23 links calcium-phosphate metabolism and left-ventricular function.

XLVII ERA-EDTA Kongress, München 2010 (*Posterpräsentation; veröffentlichtes Abstract: NDT Plus, Volume 3, suppl 3, iii26-iii274 [Sa151] 2010*)

3. Niko M Rebling Sarah Seiler, Bodo Cremers, Florian Hornof, Charlotte Steimle, Jana Jeken, Sylvie Kersting, Kyrill S Rogacev, Bruno Scheller, Michael Böhm, Danilo Fliser und Gunnar H Heine – FGF 23 und linksventrikuläre Dysfunktion.

55. Jahreskongress der Saarländisch-Pfälzerischen Internisten Gesellschaft, Neustadt (Weinstraße) 2011 (*Posterpräsentation*)

4. Niko M Rebling, Sarah Seiler, Bodo Cremers, Florian Hornof, Charlotte Steimle, Jana Jeken, Sylvie Kersting, Kyrill S Rogacev, Bruno Scheller, Michael Böhm, Danilo Fliser und Gunnar H Heine – Erhöhte Werte des phosphaturischen Hormons FGF-23 bei Patienten mit linksventrikulärer Dysfunktion und erhaltener Nierenfunktion.

117. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin e.V., Wiesbaden 2011
(Posterpräsentation; veröffentlichtes Abstract)

10 Anhang

10.1 Abkürzungsverzeichnis

µl	Mikroliter
Abb.	Abbildung
AMI	Akuter Myokardinfarkt
AP	Angina Pectoris
BMI	Body mass index
CKD	Chronic Kidney Disease (Chronische Nierenerkrankung)
CRP	C-reaktives Protein
DM	Diabetes Melitus
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
EF	Ejektionsfraktion
eGFR	errechnete glomeruläre Filtrationsrate
ELISA	Enzyme Linked Immun Sorbent Assay
FGF	Fibroblast growth factor
HDL	High density lipoprotein
HF	Herzfrequenz
HRP	Horseshoe peroxidase (Meerrettichperoxidase)
IQR	Inter Quartile Range (Interquartilabstand)
KHK	koronare Herzkrankheit
LAD	Left Anterior Descending (linke Koronararterie)
LDL	Low density lipoprotein
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease

min	Minute
ml	Milliliter
mmHg	Millimeter Quecksilbersäule
n	Anzahl
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
pro-BNP	pro-brain natriuretic peptide
PTA	perkutane transluminale Angioplastie
PTCA	perkutane transluminale coronare Angioplastie
RCA	Rigth Coronary Artery (rechte Koronararterie)
RCX	Ramus Circumflexus (Teil der linken Koronararterie)
RR	Riva-Rocci Blutdruckmessung
SEM	Standard error of the mean (Standardfehler des Mittelwerts)
Tab.	Tabelle
TEA	Thrombendarteriektomie
vs	versus
WHO	World Health Organisation (Weltgesundheitsorganisation)

10.2 Abbildungsverzeichnis

Abb. 1: Flussdiagramm zur Durchführung des FGF-23 ELISA.....	13
Abb. 2: Schematische Struktur von (a) FGF-23 und (b) der ELISA für das intakte FGF-23 und für das c-terminale FGF-23 (aus Yamashita et al. [67] mit freundlicher Genehmigung von John Wiley & Sons Ltd.).....	14
Abb. 3: Korrelation von Log FGF-23 und Phosphat im Plasma	23
Abb. 4: Korrelation von Log FGF-23 und Nierenfunktion (eGFR)	23
Abb. 5: Korrelation von Log pro-BNP und der Ejektionsfraktion (EF).....	25
Abb. 6: Pro-BNP und FGF-23 in der Gesamtkohorte	26
Abb. 7: Pro-BNP und FGF-23 bei erhaltener Nierenfunktion.....	27
Abb. 8: Pro-BNP und FGF-23 bei eingeschränkter Nierenfunktion	27
Abb. 9: Ejektionsfraktion (EF) und FGF-23 in der Gesamtkohorte.....	28
Abb. 10: Ejektionsfraktion (EF) und FGF-23 bei erhaltener Nierenfunktion	29
Abb. 11: Ejektionsfraktion (EF) und FGF-23 bei eingeschränkter Nierenfunktion.....	29
Abb. 12: Vorliegen einer KHK und FGF-23 (stratifiziert nach Nierenfunktion).....	32

10.3 Tabellenverzeichnis

Tab. 1: Verwendete Geräte	15
Tab. 2: Charakteristika der Kohorte	19
Tab. 3: Kardiovaskuläre Vorerkrankungen	20
Tab. 4: Medikation bei Studieneinschluss	21
Tab. 5: Spearman Korrelationskoeffizienten - Patientencharakteristika FGF-23.....	22
Tab. 6: Multivariates Regressionsmodell (abhängige Variable: Ejektionsfraktion).....	31

5. Wenn Sie anhalten, was passiert mit diesem Schmerzen oder diesen Beschwerden?
- Es kommt zu einer Erleichterung
 - Es kommt zu keiner Erleichterung (weiter mit Frage 9)
6. Wie rasch?
- Innerhalb von 10 Minuten
 - Nicht innerhalb von 10 Minuten (weiter mit Frage 9)
7. Zeigen Sie mir bitte, wo die Schmerzen oder die Beschwerden lokalisiert sind.
- Sternum (oberes oder mittleres Drittel)
 - Sternum (unteres Drittel)
 - Linksseitige vordere Brustwand
 - Linker Arm
- (alle Angaben notieren)
8. Haben Sie diese Schmerzen oder Beschwerden sonstwo?
- Ja (Notieren wo _____)
 - Nein
9. Hatten Sie jemals einen schweren Schmerz über die Vorderseite Ihres Brustkorbes, der über dreißig Minuten oder länger anhielt?
- Ja
 - Nein
10. Bekommen Sie Schmerzen beim Gehen in einem oder beiden Bein?
- Ja
 - Nein (falls nein, weiter mit Frage 19)
11. Begann dieser Schmerz jemals beim Stehen in Ruhe oder beim Sitzen?
- Ja (falls ja, weiter mit Frage 19)
 - Nein

12. Wo im Bein empfinden Sie diesen Schmerz?
- Der Schmerz bezieht den oder die Unterschenkel ein.
 - Der Schmerz bezieht den oder die Unterschenkel nicht ein (weiter Frage 19).
13. Bekommen Sie diesen Schmerz beim Bergangehen oder raschen Gehen?
- Ja
 - Nein (falls nein, weiter mit Frage 19)
 - Ich gehe nicht bergan und gehe nicht rasch.
14. Bekommen Sie diesen Schmerz beim Gehen in normalem Tempo in der Ebene?
- Ja
 - Nein
15. Ist der Schmerz jemals während des Gehens verschwunden?
- Ja (falls ja, weiter mit Frage 19)
 - Nein
16. Was machen Sie, wenn Sie diese Schmerzen oder Beschwerden beim Gehen bekommen?
- Ich halte an oder laufe langsamer
 - Ich laufe weiter (weiter mit Frage 19)
17. Wenn Sie anhalten, was passiert mit diesem Schmerzen oder diesen Beschwerden?
- Es kommt zu einer Erleichterung
 - Es kommt zu keiner Erleichterung (weiter mit Frage 19)
18. Wie rasch?
- Innerhalb von 10 Minuten.
 - Nicht innerhalb von 10 Minuten

19. Hatten Sie jemals einen Herzinfarkt, eine Bypass-Operation oder eine Aufdehnung von Herzkranzgefäßen mittels Herzkatheter?
- Ja (Details notieren)
- Nein
20. Hatten Sie jemals einen Schlaganfall mit Beschwerden, die länger als 24 Stunden angehalten haben?
- Ja (Details notieren)
- Nein
21. Hatten Sie jemals einen Schlaganfall mit Beschwerden, die kürzer als 24 Stunden angehalten haben, oder plötzlichen Sehverlust über weniger als 24 Stunden?
- Ja (Details notieren)
- Nein
22. Sind Ihre Halsschlagadern operiert oder mittels Katheter aufgedehnt?
- Ja (Details notieren)
- Nein
23. Sind Ihre Becken- oder Beinschlagadern mittels Bypass operiert oder aufgedehnt?
- Ja (Details notieren)
- Nein
24. Ist bei Ihnen eine bösartige Tumorerkrankung oder eine chronische Entzündungserkrankung, etwa eine chronische Darmentzündung oder eine chronische Leberentzündung bekannt?
- Ja (Details notieren)
- Nein
25. a) Hatten Sie in den letzten fünf Tagen einen akuten Infekt?
- Ja (Details notieren)
- Nein

25. b) Hatten Sie in diesem Rahmen Fieber $>38,0^{\circ}\text{C}$?
- Ja
- Nein
26. Haben Sie jemals geraucht?
- Ja
- Nein (weiter mit Frage 31)
27. Rauchen Sie aktuell?
- Ja (weiter mit Frage 29)
- Nein
28. Wann haben Sie die letzte Zigarette geraucht?
- _____
29. Wie viele Jahre haben Sie insgesamt geraucht?
- _____
30. Wie viele Päckchen haben Sie durchschnittlich in diesen Jahren am Tag geraucht?
- _____
31. Hat Ihr Vater oder Ihre Mutter einen Herzinfarkt oder einen Schlaganfall vor der 60. Lebensjahr erlitten?
- Ja
- Nein
32. Hat eines oder mehrere Ihrer Geschwister einen Herzinfarkt oder einen Schlaganfall vor dem 60. Lebensjahr erlitten?
- Ja
- Nein
33. Ist bei Ihnen ein Diabetes mellitus bekannt?
- Ja
- Nein (weiter mit Frage 35)

34. Wie ist der Diabetes mellitus behandelt?

Insulin

blutzuckersenkende Tabletten

Diät

35. An wie vielen Tagen der Woche betätigen Sie sich mind. 30 min sportlich in einer Intensität, die Sie zum Schwitzen bringt?

(falls „0“, weiter Frage 37)

36. Welche Sportarten betrieben Sie hierbei mindestens einmal die Woche?

37. Waren Sie zum Zeitpunkt der Blutentnahme nüchtern?

Ja

Nein

38. Ist bei Ihnen eine Nierenerkrankung bekannt?

Ja

Nein (Weiter mit Frage 40).

39. Welche Nierenerkrankung ist bei Ihnen bekannt?

40. Welche Lebererkrankung ist bei Ihnen bekannt?

41. Wie viele Gläser Alkohol trinken Sie durchschnittlich pro Woche, also von Montag bis Sonntag?

Davon: _____ Gläser Bier (350 ml)

_____ Gläser Weißwein (150 ml)

_____ Gläser Rotwein (150 ml)

_____ Gläser Spirituosen (40 ml)

42. Nehmen Sie regelmäßig (seit mindestens 14 Tagen täglich) oder gelegentlich (mindestens einmal in den letzten 14 Tagen) Medikamente oder Hormonpräparate wie die Pille ein?

Ja

Nein

43. Wie heißen diese Medikamente oder Hormonpräparate?

44. Ist bei Ihnen ein Bluthochdruck, also ein Blutdruck von mehr als 140 mmHg systolisch oder 90 mmHg diastolisch, wenn keine blutdrucksenkenden Medikamente eingenommen werden, bekannt?

Ja

Nein (weiter mit Frage 45)

45. Seit wann ist dieser Bluthochdruck bekannt?

Länger als ein Jahr

Kürzer als ein Jahr

46. Leiden Sie unter Luftnot bei körperlicher Anstrengung?

Ja (weiter mit Frage 47)

Nein (weiter mit Frage 49)

47. Tritt diese Luftnot bei durchschnittlichem Gehtempo auf?

Ja, innerhalb der ersten 200m

Ja, aber erst nach den ersten 200m

Nein, nicht bei durchschnittlichem Gehtempo

48. Tritt diese Luftnot bereits in Ruhe auf?

Ja

Nein

48.a) Wie viele Stunden täglich schauen Sie werktags fern?

48 b) Wie viele Stunden täglich schauen Sie am Wochenende fern?

49. Dürfen wir in einem, drei und fünf Jahren mit Ihnen, Ihren Angehörigen und / oder Ihrem Hausarzt telefonisch Kontakt aufnehmen, um uns nach Ihrem Gesundheitszustand zu erkundigen?

Mit Patient: O Ja Telefonnummer:

O Nein

Mit Angehörigen: O Ja Name: _____

O Nein Telefonnummer: _____

Mit Hausarzt: O Ja Name: _____

O Nein Telefonnummer: _____

Nach 5 Minuten Ruhe gemessen:

RR: ___ / ___ rechts; ___ / ___ links

HF: ___ pro Minute

Hüftumfang: (im Stehen, Höhe Trochanter major) ___ cm

Bauchumfang : (im Stehen, Inspiration; Mitte zwischen unterster Rippe und Crista iliaca) ___ cm

Bauchumfang: (im Stehen, Exspiration) ___ cm

11 Lebenslauf

Persönliche Daten

Name: Niko Michael Rebling
Geburtsdatum: 14. September 1981
Geburtsort: Göttingen

Schulbildung

1988 bis 1992 Lindenhofgrundschule Gertenbach
1992 bis 1998 Gymnasialzweig an der Gesamtschule
Witzenhausen
1998 bis 2001 Oberstufe am Otto-Hahn Gymnasium
Göttingen mit dem Abschluss Allgemeinen
Hochschulreife im März 2001

Zivildienst

09/2001 bis 09/2002 In Rahmen des „Anderen Dienstes im
Ausland“ an der „Kaleo Secondary
Technical School“ in Kaleo, Ghana

Beruflicher Werdegang

09/2002 bis 04/2003 Diplomstudium der Physik an der Georg-
August Universität in Göttingen
01/2004 bis 09/2005 Ausbildung zum Rettungshelfer an der
DRK-Rettungsschule in Goslar und
Tätigkeit im Rettungsdienst beim DRK
Landesverband Hannover im Rahmen eines
Freiwilligen Sozialen Jahres (FSJ)

Hochschulstudium

Seit 09/2005 Studium der Humanmedizin an der
Universität des Saarlandes in Homburg
September 2007 1. Abschnitt der ärztlichen Prüfung in
Homburg
August 2010 Beginn des Praktischen Jahres am
Universitätsklinikum des Saarlandes in
Homburg