

Aus der  
Klinik für Innere Medizin IV – Nieren- und Hochdruckkrankheiten  
Klinikdirektor: Prof. Dr. med. D. Fliser  
und der  
Klinik für Innere Medizin III  
Kardiologie, Angiologie und internistische Intensivmedizin  
Klinikdirektor: Prof. Dr. med. M. Böhm  
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg

**iFGF-23-ELISA versus cFGF-23-ELISA als kardiovaskuläre  
Prädiktoren bei chronischer Nierenerkrankung**

**Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin**  
der Medizinischen Fakultät  
der UNIVERSITÄT DES SAARLANDES  
2020

Johanna Sophie Schauerte  
Geboren am 20.12.1993 in Uelzen

Tag des Kolloquiums: 05.02.2021  
Dekan: Univ.-Prof. Dr. med. Michael D Menger  
1. Berichterstatter: Prof. Dr. med. Gunnar H Heine  
2. Berichterstatter: Univ.-Prof. Dr. med. Hans-Joachim Schäfers

Für meine Eltern.

# Inhaltsverzeichnis

<b>1. Abkürzungsverzeichnis.....</b>	<b>8</b>
<b>2. Abbildungsverzeichnis .....</b>	<b>10</b>
<b>3. Tabellenverzeichnis .....</b>	<b>11</b>
<b>4. Zusammenfassung.....</b>	<b>12</b>
<b>5. Summary .....</b>	<b>15</b>
<b>6. Einleitung .....</b>	<b>17</b>
6.1 Die chronische Nierenerkrankung.....	17
6.2 Kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität bei chronischer Nierenerkrankung .....	17
6.3 CKD - MBD .....	18
6.4 FGF-23 .....	19
6.4.1 <i>Entdeckung</i> .....	19
6.4.2 <i>Physiologie</i> .....	20
6.4.3 <i>Wirkung von FGF-23</i> .....	21
6.4.4 <i>FGF-23 als kardiovaskulärer Risikofaktor bei CKD</i> .....	22
6.4.5 <i>FGF-23 als Verursacher kardiovaskulärer Ereignisse</i> .....	22
6.5 Hypothesen.....	23
<b>7. Material und Methoden.....</b>	<b>25</b>
7.1 Die CARE FOR HOMe - Studie .....	25
7.2 Einschlusskriterien .....	26
7.3 Ausschlusskriterien .....	26
7.4 Definition kardiovaskulärer Risikofaktoren .....	27
7.5 Studienablauf.....	27
7.5.1 <i>Telefonat und Aufklärung</i> .....	27
7.5.2 <i>EKG und Fragebogeninterview</i> .....	27
7.5.3 <i>Blutdruckmessung</i> .....	28
7.5.4 <i>Urinprobe und Blutentnahme</i> .....	28

7.5.5 FGF-23-Messung.....	29
7.5.6 Follow-Up.....	34
7.5.7 Endpunktdefinition.....	34
7.5.8 Statistik .....	37
<b>8. Ergebnisse .....</b>	<b>39</b>
8.1 Baselinecharakteristika.....	39
8.1.1 Tabelle 4: Patientencharakteristika bei Studienbeginn, stratifiziert nach den KDIGO GFR Kategorien .....	40
8.2 Assoziation von FGF-23 mit etablierten renalen und kardiovaskulären Risikofaktoren	44
8.2.1 Abbildung 3: iFGF-23-Messungen stratifiziert nach eGFR-Kategorien (Abbildung 3 A) und cFGF-23-Messungen stratifiziert nach eGFR-Kategorien (Abbildung 3 B). Dargestellt sind Median, 25./75. Perzentile, Spannweite, Ausreißer und Extremwerte. .....	45
8.2.2 Abbildung 4: Korrelationen zwischen logarithmierter Albuminurie und logarithmierten iFGF-23-Messungen (Abbildung 4 A) sowie logarithmierter Albuminurie und logarithmierten cFGF-23-Messungen (Abbildung 4 B). .....	46
8.2.3 Abbildung 5: Korrelationen zwischen Phosphat und logarithmierten iFGF-23-Messungen (Abbildung 5 A) und Phosphat und logarithmierten cFGF-23-Messungen (Abbildung 5 B).....	47
8.2.4 Abbildung 6: Korrelation zwischen logarithmierten cFGF-23-Messungen und logarithmierten iFGF-23-Messungen.....	48
8.3 Korrelationen nach Pearson .....	49
8.3.1 Tabelle 5: Korrelationen nach Pearson .....	50
8.4 FGF-23 als Prädiktor renaler und atherosklerotischer kardiovaskulärer Ereignisse: univariate Kaplan-Meier-Analysen .....	51
8.4.1 Abbildung 7: Kaplan Meier-Überlebenskurve für den primären renalen Endpunkt nach Stratifizierung der Patienten entsprechend ihrer Tertile im iFGF-23- und cFGF-23-ELISA in Abhängigkeit von iFGF-23-Messungen in Tertilen (Abbildung 7 A) und cFGF-23-Messungen in Tertilen (Abbildung 7 B). .....	52
8.4.2 Abbildung 8: Kaplan-Meier-Überlebenskurve für den primären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt nach Stratifizierung der Patienten entsprechend ihrer Tertile der iFGF-23-Messungen und cFGF-23-Messungen in Abhängigkeit vom iFGF-23-ELISA in Tertilen (Abbildung 8 A) und cFGF-23-ELISA in Tertilen (Abbildung 8 B).....	53

8.4.3 Abbildung 9: Kaplan-Meier-Überlebenskurve für kardiale Dekompensation oder Tod jedweder Genese nach Stratifizierung der Patienten entsprechend ihrer Tertile der iFGF-23- und cFGF-23-Messungen in Abhängigkeit vom iFGF-23-ELISA in Tertilen (Abbildung 9 A) und cFGF-23-ELISA in Tertilen (Abbildung 9 B) .....	54
8.5 Multivariate Cox-Regressionsanalysen: FGF-23 als Prädiktor renaler und atherosklerotischer kardiovaskulärer Ereignisse .....	55
8.5.1 Renale Ereignisse .....	55
8.5.2 Atherosklerotische kardiovaskuläre Ereignisse.....	56
8.5.3 Kardiale Dekompensation .....	57
8.5.4 Tabelle 6: Cox-Regressionsanalyse für den primären renalen Endpunkt .....	58
8.5.5 Tabelle 7: Cox-Regressionsanalyse für den primären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt.....	60
8.5.6 Tabelle 8: Cox-Regressionsanalyse kombinierter Endpunkt: Kardiale Dekompensation mit Todesfällen.....	62
8.6 ROC – Analysen.....	64
8.6.1 Abbildung 10: ROC-Kurve für den primären renalen Endpunkt.....	65
8.6.2 Abbildung 11: ROC-Kurve für den primären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt .....	66
8.6.3 Abbildung 12: ROC-Analyse für kardiale Dekompensation mit Todesfällen.....	67
<b>9. Diskussion .....</b>	<b>68</b>
9.1 Die chronische Nierenerkrankung als kardiovaskulärer Risikofaktor .....	68
9.2 FGF-23 in CKD.....	71
9.3 cFGF-23-ELISA oder iFGF-23-ELISA? .....	74
9.4 FGF-23 als Prädiktor für Gesamtüberleben, kardiovaskuläre Ereignisse und kardiale Dekompensation .....	76
9.5 FGF-23 als Therapieansatz? .....	82
9.6 Ist FGF-23 potentiell kardiotoxisch?.....	85
9.7 Ist FGF-23 indirekt kardiotoxisch? .....	86
<b>10. Limitationen.....</b>	<b>89</b>
<b>11. Zusammenfassung und Ausblick .....</b>	<b>91</b>

<b>10. Anhang .....</b>	<b>93</b>
10.1 Kaplan-Meier-Analysen .....	93
10.2 Cox-Regressionsanalysen.....	96
10.3 <i>ROC</i> -Kurven.....	102
<b>11. Literaturverzeichnis.....</b>	<b>105</b>
<b>12. Vorträge / Publikationen .....</b>	<b>123</b>
<b>13. Lebenslauf .....</b>	<b>124</b>
<b>Danksagung.....</b>	<b>125</b>

# 1. Abkürzungsverzeichnis

95% KI	95% Konfidenzintervall
ABI	Knöchel-Arm-Index, Ankle Brachial Index
AG	Antigen
AK	Antikörper
ASCVD	Atherosklerotische kardiovaskuläre Ereignisse, Arterosclerotic cardiovascular diseases,
BD	Blutdruck nach Riva-Rocci
BMI	Körpermasseindex, Body Mass Index
cFGF-23-ELISA	c-terminaler FGF-23-ELISA
CKD	Chronische Nierenerkrankung, Chronic Kidney Disease
CKD-MBD	Calcium – Phosphat - Stoffwechsel, Chronic Kidney Disease - Mineral Bone Disorder
CRP	C-reaktives Protein
CS	Kardiogener Schock, cardiogenic shock
CVD	Kardiovaskuläre Ereignisse, cardiovascular disease
DM	Diabetes Mellitus
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure, ethylene diamine tetraacetic acid
EF	Ejektionsfraktion, Ejection Fraction
eGFR	Geschätzte Glomeruläre Filtrationsrate, estimated Glomerular Filtration Rate
EKG	Elektrokardiogramm
ELISA	Enzyme-linked Immunosorbent Assay
ESRD	Nierenerkrankung im Endstadium, End Stage Renal Disease
FGF-23	Fibroblasten-Wachstumsfaktor-23, Fibroblast-Growth-Factor-23
FGFR4	Fibroblastenwachstumsfaktor-Rezeptor 4, Fibroblast Growth Factor Receptor 4
GFR	Glomeruläre Filtrationsrate, Glomerular Filtration Rate
HB	Hämoglobin
HDL-Cholesterin	Lipoprotein hoher Dichte, High-density-lipoprotein-Cholesterol
HR	Hazard Ratio

HRP	Meerrettichperoxidase, horseradishperoxidase
iFGF-23-ELISA	Intakter FGF-23-ELISA
IVS-S / -ED	Interventrikuläre Septumsdicke systolisch / enddiastolisch
KDIGO	Kidney Disease Improving Global Outcomes
LA	Linker Vorhof, Left Atrium
LAVI	Linksatrialer Volumenindex
LDL-Cholesterin	Lipoprotein niedriger Dichte, Low-density-lipoprotein-Cholesterin
Log	Logarithmiert
LVD-S / -ED	Linksventrikulärer Diameter systolisch / enddiastolisch
LVH	Linksventrikuläre Hypertrophie, Left Ventricular Hypertrophy
LVMI	Linksventrikulärer Massenindex
LVPW-S / -ED	Linksventrikuläre Hinterwand systolisch / enddiastolisch, Left ventricular posterior wall systolic / enddiastolic
MDRD	Modification of Diet in Renal Disease
NaPi-Transporter	Natrium-Phosphat-Transporter
NCC	Natriumchlorid-Kontransporter, natrium-chlorid-cotransporter
NT-proBNP	N-terminales pro brain natriuretic peptide
P	Wahrscheinlichkeit
PCR	Polymerase-Kettenreaktion, Polymerase Chain Reaction
PTH	Parathormon, Parathyroid Hormone
RI	Widerstandsindizes, Resistance Indices
SVO2	Gemischte venöse Sauerstoffsättigung, mixed venous oxygen saturation
TAC	Transverse Aortic Constriction
TMB	Tetramethylbenzidin
$\alpha$	Referenztertil

## 2. Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1	Schematische Struktur von FGF-23
Abbildung 2	Unterschiedliche Nachweismethoden für FGF-23
Abbildung 3	Korrelationen und FGF-23 und eGFR
Abbildung 4	Korrelationen von FGF-23 und Albuminurie
Abbildung 5	Korrelationen von FGF-23 und Phosphat
Abbildung 6	Korrelation von iFGF-23- und cFGF-23-Messungen
Abbildung 7	Kaplan Meier Analyse primärer renaler Endpunkt
Abbildung 8	Kaplan Meier Analyse primärer atherosklerotischer kardiovaskulärer Endpunkt
Abbildung 9	Kaplan Meier Analyse kardiale Dekompensation mit Tod
Abbildung 10	ROC Kurve primärer renaler Endpunkt
Abbildung 11	ROC Kurve primärer atherosklerotischer kardiovaskulärer Endpunkt
Abbildung 12	ROC Kurve kardiale Dekompensation und Tod
<b>Anhang:</b>	
Abbildung 13	Kaplan Meier Analyse sekundärer renaler Endpunkt
Abbildung 14	Kaplan Meier Analyse sekundärer atherosklerotischer kardiovaskulärer Endpunkt
Abbildung 15	Kaplan Meier Analyse kardiale Dekompensation ohne Todesfälle
Abbildung 16	ROC Kurve sekundärer renaler Endpunkt
Abbildung 17	ROC Kurve sekundärer atherosklerotischer kardiovaskulärer Endpunkt
Abbildung 18	ROC Kurve kardiale Dekompensation ohne Todesfälle

### 3. Tabellenverzeichnis

Tabelle 1	Blutproben und daraus bestimmte Parameter
Tabelle 2	Urinprobe und daraus bestimmte Parameter
Tabelle 3	Endpunktdefinitionen
Tabelle 4	Baseline-Charakteristika
Tabelle 5	Korrelationen nach Pearson
Tabelle 6	COX Regressionsanalyse primärer renaler Endpunkt
Tabelle 7	COX Regressionsanalyse primärer atherosklerotischer kardiovaskulärer Endpunkt
Tabelle 8	COX Regressionsanalyse kardiale Dekompensation mit Todesfällen
Tabelle 9a	Nicht-nephrologische Studien zur renalen Progression, ASCVD, kardialer Dekompensation und Gesamt mortalität
Tabelle 9b	Studien zur renalen Progression, ASCVD, kardialer Dekompensation und Gesamt mortalität bei CKD
<b>Anhang</b>	
Tabelle 10	COX Regressionsanalyse sekundärer renaler Endpunkt
Tabelle 11	COX Regressionsanalyse sekundärer atherosklerotischer kardiovaskulärer Endpunkt
Tabelle 12	COX Regressionsanalyse kardiale Dekompensation ohne Todesfälle

## 4. Zusammenfassung

### Hintergrund und Hypothese

Patienten mit chronischer Nierenerkrankung (chronic kidney disease, CKD) haben gegenüber der nierengesunden Population ein substantiell erhöhtes kardiovaskuläres Risiko, welches sich nicht allein durch „traditionelle“ Risikofaktoren erklären lässt. Als „nicht-traditioneller“ Risikofaktor konnte im Rahmen des Kalzium - Phosphat - Stoffwechsels (CKD - MBD, „Chronic Kidney Disease - Mineral Bone Disorder“) der Fibroblasten-Wachstumsfaktor 23 (Fibroblast-Growth-Factor-23, FGF-23) als ein von der Nierenfunktion unabhängiger Prädiktor kardiovaskulärer, atherosklerotischer kardiovaskulärer Ereignisse (ASCVD) und kardialer Dekompensation identifiziert werden. Zur Messung von FGF-23 stehen zwei ELISAs zur Verfügung. Der erste ELISA („intact FGF-23“, iFGF-23) erfasst ausschließlich das aktive (intakte) Hormon, wohingegen der zweite Assay („c-terminal FGF-23“, cFGF-23) sowohl das intakte Hormon als auch inaktive, C-terminale Fragmente misst. Bis heute wird epidemiologisch bei der Messung von FGF-23 zumeist der cFGF-23-ELISA genutzt, während es kaum Daten zur prognostischen Bedeutung des iFGF-23-ELISA gibt.

Wir überprüfen in dieser Arbeit die Hypothesen, dass mit zunehmender Nierenfunktionsverschlechterung vor allem aktives FGF-23 akkumuliert, der iFGF-23-ELISA also stärker mit der glomerulären Filtrationsrate (GFR) korreliert als der cFGF-23-ELISA. Da in der Vergangenheit ein direkt toxischer Effekt von FGF-23 in Betracht gezogen wurde, müssten iFGF-23-Messungen stärker mit ASCVD und stationären Aufnahmen aufgrund kardialer Dekompensation korrelieren. Wir überprüfen also weiterhin die Hypothese, ob der iFGF-23-ELISA im Vergleich zum cFGF-23-ELISA ein besserer Prädiktor für unsere vordefinierten Endpunkte ist.

### Methoden

Zwischen 2008 und 2014 wurden 544 chronisch nierenkranke Patienten der „Kidney Disease: Improving Global Outcomes“ (KDIGO) GFR-Kategorie G2 - G4 in die fortlaufende CARE FOR HOMe-Studie eingeschlossen. Die geschätzte glomeruläre Filtrationsrate („estimated glomerular filtration rate“, eGFR) wurde mittels MDRD-Formel berechnet. Mit konventionellen Labormethoden wurden bei Studieneinschluss kardiovaskuläre Risikofaktoren sowie etablierte Parameter der Nierenfunktion und des Calcium-Phosphat-Metabolismus

(Chronic Kidney Disease - Mineral Bone Disorder, CKD-MBD) bestimmt. Die iFGF-23- und cFGF-23-Messungen erfolgten mittels ELISA der zweiten Generation (Fa Immunotopics, USA) aus zum Zeitpunkt des Studieneinschlusses asservierten Proben.

Der primäre renale Endpunkt ist in dieser Arbeit definiert als eine Reduktion der eGFR um mehr als 50 % im Vergleich zum Studieneinschluss, Beginn eines Nierenersatzverfahrens oder Tod jedweder Genese. Der sekundäre renale Endpunkt umfasst den Beginn eines Nierenersatzverfahrens oder eine dauerhafte Reduktion der eGFR um mehr als 50 %.

Der primäre atherosklerotische kardiovaskuläre Endpunkt wurde definiert als koronarerterielle Intervention (PTCA / Stent / Bypassoperation), Myokardinfarkt, peripher-arterielle Revaskularisation (PTA / Stent / Bypassoperation), zerebrovaskuläre Revaskularisation (Carotis-Thrombendarteriektomie / -Stent), Apoplex mit klinischen Symptomen, welche mindestens 24 Stunden persistierten, eine nichttraumatische Amputation proximal des Fußgrundgelenkes oder Todesfälle jedweder Genese. Der sekundäre atherosklerotische kardiovaskuläre Endpunkt ersetzte Todesfälle jedweder Genese durch kardiovaskuläre Todesfälle.

Weiterhin definieren wir zwei weitere kardiale Endpunkte: Zum einen den kombinierten Endpunkt stationäre Aufnahme aufgrund akuter kardialer Dekompensation oder Tod jedweder Genese; zum anderen stationäre Aufnahme aufgrund akuter kardialer Dekompensation ohne Todesfälle. Dabei lag eine akute kardiale Dekompensation vor, wenn diese aufgrund von Symptomen (progressive Dyspnoe) und klinischen (periphere Ödeme, pulmonale Rasselgeräusche) oder radiologischen (Kardiomegalie, pulmonales Ödem, Pleuraerguss) Zeichen einer akuten kardialen Dekompensation erfolgte.

## Ergebnisse

In unserer Arbeit korrelierten sowohl iFGF-23-Messungen ( $r = -0,536$ ) als auch cFGF-23-Messungen ( $r = -0,529$ ) signifikant mit der eGFR, mit Phosphat (iFGF-23  $r = 0,376$ ; cFGF-23  $r = 0,334$ ), der fraktionellen Phosphatexkretion im Urin (iFGF-23  $r = 0,467$ ; cFGF-23  $r = 0,408$ ), logarithmiertem NT-proBNP (iFGF-23  $r = 0,373$ ; cFGF-23  $r = 0,468$ ), PTH (iFGF-23  $r = 0,469$ ; cFGF-23  $r = 0,425$ ) und der logarithmierten Albuminurie (iFGF-23  $r = 0,287$ ; cFGF-23  $r = 0,302$ ). Alle oben aufgeführten Korrelationen waren mit  $p < 0,001$  statistisch signifikant. Visuell sind die cFGF-23-Messungen im Box-Plot jedoch stärker mit der GFR assoziiert als die iFGF-23-Messungen.

Während einer durchschnittlichen Nachbeobachtungszeit von  $5,07 \pm 2,15$  Jahren erreichten 147 Patienten den primären renalen Endpunkt, 159 Patienten den primären atherosklerotischen

kardiovaskulären Endpunkt und 131 Patienten den kombinierten Endpunkt einer stationären Aufnahme aufgrund akuter kardialer Dekompensation oder Todesfällen jedweder Genese. Patienten mit höheren FGF-23-Werten zeigten eine signifikant schlechtere Prognose bezüglich der renalen Progression, ASCVD und kardialer Dekompensation. FGF-23 war dabei stärker mit kardialer Dekompensation assoziiert als mit ASCVD. cFGF-23-Messungen, nicht jedoch iFGF-23-Messungen, blieben nach Korrektur für eGFR (und anschließend für Alter, Geschlecht, Diabetes Mellitus, iFGF-23-Messungen und Phosphat) ein unabhängiger Prädiktor für kardiale Dekompensation.

## **Diskussion**

Entgegen unserer Annahme waren cFGF-23-Messungen stärker mit dem primären renalen Endpunkt assoziiert als iFGF-23-Messungen. Außerdem waren cFGF-23-Messungen stärker mit dem primären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt und mit dem kombinierten Endpunkt von stationärer Aufnahme aufgrund akuter kardialer Dekompensation und Tod jedweder Genese assoziiert als iFGF-23-Messungen.

Da cFGF-23-Messungen weniger spezifisch das aktive Hormon reflektieren als iFGF-23-Messungen, sprechen unsere Daten insgesamt gegen einen direkt toxischen Effekt von aktivem FGF-23, sodass FGF-23-senkende Maßnahmen bei chronisch Nierenkranken als prognoseverbessernde Therapieoption überdacht werden sollten.

## 5. Summary

### Introduction

Patients suffering from chronic kidney disease (CKD) have a tremendously higher risk of cardiovascular events than individuals with intact renal function. Beyond classical cardiovascular risk factors, chronic kidney disease – mineral and bone disorder (CKD - MBD) may contribute to this high cardiovascular risk. CKD - MBD comprises an increased expression of the phosphaturic fibroblast growth factor 23 (FGF-23). In several cohort studies, plasma levels of FGF-23 were associated with markedly increased risk of cardiovascular events.

Of note, two different ELISAs for FGF-23 measurement are available: the cFGF-23-ELISA, which measures both biologically active full-length intact FGF-23 and its inactive c-terminal fragments, and the iFGF-23-ELISA, which only measures biologically active full-length FGF-23. Until now, most large cohort studies have used cFGF-23-ELISAs for measuring FGF-23 as outcome predictor, while data on iFGF-23-ELISA remain sparse.

The purpose of this study was firstly to analyze the degree to which iFGF-23-measurements accumulates across the spectrum of CKD. It has been claimed that elevated FGF-23-levels directly contribute to high rates of left ventricular hypertrophy (LVH) and mortality. We therefore analyzed whether iFGF-23-ELISA outperforms cFGF-23-ELISA as a predictor of cardiovascular events and heart failure.

### Methods

Among 544 patients of our ongoing CARE FOR HOMe-study, we measured cFGF-23-measurements and iFGF-23-measurements from plasma samples stored at study inclusion (between 2008 and 2014). The MDRD equation was applied for estimation of glomerular filtration rate (eGFR); all patients had CKD KDIGO GFR stages G2 - G4 at study inclusion.

We defined the following endpoints: firstly, the primary renal endpoint as the occurrence of sustained eGFR drop  $\geq 50\%$  of baseline, need for renal replacement therapy or death of any cause, the secondary renal endpoint as the occurrence of sustained eGFR drop  $\geq 50\%$  of baseline or need for renal replacement therapy.

Next, we defined the primary atherosclerotic cardiovascular endpoint as the occurrence of coronary revascularization (PTCA / stent / bypass), myocardial infarction, peripheral arterial revascularization (PTCA / stent / bypass), carotid revascularization (stent / thrombendarterectomy), stroke with symptoms that last at least 24 hours, non-traumatic

amputation proximal of the ankle joint or death of any cause. The secondary atherosclerotic cardiovascular endpoint substituted death of any cause for cardiovascular death instead.

Finally we assessed two additional cardiac endpoints: firstly the combined endpoint of acute cardiac decompensation (defined as admission for a clinical syndrome involving symptoms (progressive dyspnoea) in conjunction with clinical (peripheral oedema, pulmonary rales) or radiological (cardiomegaly, pulmonary oedema, pleural effusions) signs of heart failure) and death of any cause, and secondly the occurrence of acute cardiac decompensation alone.

## Results

In our studies we found strong correlations between iFGF-23-measurements and eGFR ( $r = -0.536$ ) and cFGF-23-measurements and eGFR ( $r = -0.529$ ) as well as significant correlations between FGF-23 and phosphate (iFGF-23  $r = 0.376$ ; cFGF-23  $r = 0.334$ ), fractional phosphate excretion in urine (iFGF-23  $r = 0.467$ ; cFGF-23  $r = 0.408$ ), log NT-proBNP (iFGF-23  $r = 0.373$ ; cFGF-23  $r = 0.468$ ), PTH (iFGF-23  $r = 0.469$ ; cFGF-23  $r = 0.425$ ) and log-transformed albuminuria (iFGF-23  $r = 0.287$ ; cFGF-23  $r = 0.302$ ). All these correlations were statistically significant ( $p < 0.001$ ). Visually cFGF-23-ELISA appears to be even stronger correlated with eGFR than iFGF-23-ELISA.

During a mean follow-up of  $5.07 \pm 2.15$  years 147 patients reached the primary renal endpoint, 159 patients reached the primary atherosclerotic cardiovascular endpoint and 131 patients suffered from cardiac decompensation or died. Patients with higher FGF-23 were more likely to reach the predefined endpoints. Moreover FGF-23 was stronger associated with cardiac decompensation than with ASCVD. cFGF-23-measurements, but not iFGF-23-measurements, remained an independent outcome predictor for heart failure after adjustment for eGFR (and subsequently for age, gender, diabetes mellitus, iFGF-23-ELISA and plasma phosphorus).

## Discussion

Against our hypothesis cFGF-23-measurements were more strongly correlated with eGFR than iFGF-23-measurements. Additionally, we found that cFGF-23-ELISA outperformed iFGF-23-ELISA as a predictor of not only renal events, but also atherosclerotic cardiovascular events and acute cardiac decompensation. As cFGF-23-measurements reflect FGF-23 activity less specifically than iFGF-23-measurements, our data suggest against a direct adverse myocardial effect of FGF-23 in patients with CKD. Conclusively, the prognostic benefit of FGF-23 lowering in CKD patients seems questionable.

## 6. Einleitung

### **6.1 Die chronische Nierenerkrankung**

Die chronische Nierenerkrankung, an der fast 10 % aller Erwachsenen in den westlichen Industrienationen leiden (Eckardt et al., 2013), entwickelt sich aufgrund ihrer Komorbiditäten und ihrer steigenden Prävalenz durch den demographischen Wandel und den Risikofaktoren, welche mit dem westlichen Lebensstil einhergehen, zu einer global wachsenden Herausforderung.

So zeigten National Health and Nutrition Examination Surveys (NHANES) mittels Daten von 28.721 US-Amerikanern, dass die Prävalenz der chronischen Nierenerkrankung der KDIGO („Kidney Disease: Improving Global Outcome“) Stadien G1 - G4 zwischen 1988 und 2004 von 10,0 % auf 13 % anstieg (Coresh et al., 2007).

Die „Studie zur Gesundheit Erwachsener in Deutschland“ (German Health Interview and Examination Survey for Adults, DEGS1 2008 - 2011) des Robert Koch - Instituts wies in Deutschland bei 7.115 Patienten im Alter von 18 - 79 eine Prävalenz von 2,3 % für eine geschätzte („estimated“) glomeruläre Filtrationsrate (eGFR)  $< 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  auf. Eine verminderte GFR oder eine Albuminurie zeigte sich bei 12,7 % der Teilnehmer (Girndt et al, 2016).

### **6.2 Kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität bei chronischer Nierenerkrankung**

Die Behandlung von chronisch nierenkranken Patienten fokussiert sich seit langem nicht mehr alleine auf die Verzögerung der Progression der Nierenerkrankung, sondern vor allem auch auf die Prävention kardiovaskulärer Ereignisse (Gansevoort et al., 2013).

So zeigten bereits Daten von Go et al aus den Jahren 1996 - 2000, dass bei 1.120.295 US-Amerikanern ein unabhängiger Zusammenhang zwischen einer niedrigen GFR bei Studieneinschluss und einem erhöhten Risiko für das Auftreten von kardiovaskulären Ereignissen, Krankenhausaufnahmen und Todesfällen bestand (Go et al., 2004). Dabei war das kardiovaskuläre Risiko chronisch Nierenkranker mit einer GFR zwischen 45 - 59  $\text{ml/min/1,73 m}^2$  um 43 % höher und mit einer GFR  $< 15 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  sogar um 343 % höher als im Vergleich zur nierengesunden Allgemeinbevölkerung. Früher hatte man

atherosklerotische Gefäßerkrankungen als führende pathologische Ursache von kardiovaskulären Ereignissen betrachtet (Lindner et al, 1974). Chronisch nierenkranken Patienten zeigten nicht nur eine gesteigerte Mortalitätsrate durch Myokardinfarkte (Collins et al., 2014), sondern erlitten auch häufiger zerebrale Insulte und peripher-arterielle Verschlusskrankheiten (Go et al., 2009; Herzog, 2005; Herzog et al, 2008; Lee et al., 2010). Heute geht man davon aus, dass vor allem myokardiale Erkrankungen für das Auftreten von ASCVD verantwortlich sind (Saran et al., 2019). So kann bei chronisch nierenkranken Patienten, sowohl in den weniger weit fortgeschrittenen als auch in den weiter fortgeschrittenen Stadien der chronischen Nierenerkrankung, eine linksventrikuläre Hypertrophie (LVH) beobachtet werden (Paoletti et al, 2005), was nicht nur die Gefahr für das Auftreten von ventrikulären Arrhythmien birgt (Levy et al., 1987), sondern langfristig mit einer Reduktion der linksventrikulären Ejektionsfraktion (EF) einhergehen und somit zur Herzinsuffizienz führen kann (Drazner et al., 2004).

Chronisch nierenkranken Patienten gehören folglich zur kardiovaskulären Hochrisikogruppe. Die oben genannten Zahlen unterstreichen die Bedeutung der Prävention von kardiovaskulären Ereignissen durch Berücksichtigung von traditionellen atherosklerotischen kardiovaskulären Risikofaktoren wie hohes Alter, Hypercholesterinämie, Bluthochdruck, Nikotinkonsum und Diabetes Mellitus (Parikh et al., 2006) und von nicht-traditionellen Risikofaktoren wie chronische Mikroinflammation, oxidativer Stress, renale Anämie, erhöhtes Homocystein, Malnutrition und ein gestörter Calcium-Phosphat-Stoffwechsel (Kendrick & Chonchol, 2008).

### **6.3 CKD - MBD**

Der dysregulierte Knochen- und Mineralmetabolismus (CKD - MBD: Chronic kidney disease - mineral bone disorder) steht seit einigen Jahren bei der Prävention und Behandlung von kardiovaskulären Ereignissen bei chronisch nierenkranken Patienten im Vordergrund. Die CKD - MBD ist definiert durch entweder eines oder die Kombination folgender Kriterien (Moe et al., 2006):

1. Störung des Calcium-, Phosphat-, Parathormon- oder Vitamin D-Stoffwechsels
2. Störung in Knochenumsatz, -mineralisierung, -volumenwachstum oder -stärke
3. Extraskelettale Kalzifikation

Das traditionelle Konzept der CKD - MBD fokussiert sich auf Hyperphosphatämie, Vitamin D-Mangel (im Folgenden auch als Calcitriol-Mangel oder Hypovitaminose D bezeichnet) und Hypokalzämie. Die aus der Hypokalzämie resultierende vermehrte Sekretion von Parathyroidhormon (PTH) definiert den sekundären Hyperparathyreoidismus. Prospektive Studien haben gezeigt, dass alle drei Störungen jeweils unabhängig voneinander mit einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität bei chronisch Nierenkranken assoziiert sind (Block et al, 1998; Pilz et al., 2011; Tentori et al., 2015). Enttäuschenderweise konnte die therapeutische Behandlung von klassischen Komponenten der CKD - MBD – wie die Therapie mit Kalzimimetika keine signifikante Risikoreduktion von kardiovaskulären Ereignissen oder der Gesamtmortalität bei CKD Patienten erzielen (Chertow et al., 2012). Auch Alfacalcidol, ein Vitamin D - Analogon, brachte bei Hämodialysepatienten ohne sekundären Hyperparathyreoidismus keine signifikante Risikoreduktion von kardiovaskulären Ereignissen (J-DAVID Investigators et al., 2018). Eine echokardiografische Verbesserung der LVH und der diastolischen Dysfunktion blieben bei der Therapie mit Vitamin D-Analoga ebenfalls aus (Thadhani et al., 2012).

Neben den klassischen Trias Hyperphosphatämie, Hypovitaminose D und sekundärem Hyperparathyreoidismus spielt der vor einigen Jahren entdeckte Fibroblasten-Wachstumsfaktor 23 (FGF-23) als regulatorische Komponente des Kalzium-Phosphat-Metabolismus eine zentrale Rolle bei chronisch nierenkranken Patienten.

## **6.4 FGF-23**

### **6.4.1 Entdeckung**

Der Fibroblasten -Wachstumsfaktor 23 (Fibroblast Growth Factor -23, FGF-23) wurde erstmals im Jahr 2000 von Yamashita et al. bei Mäusen im murinen ventrolateralen Thalamus entdeckt (Yamashita, Yoshioka, & Itoh, 2000). Etwa zeitgleich konnte das ADHR Consortium FGF-23 bei erblichen Phosphat-Stoffwechselerkrankungen wie der autosomal dominant vererbten hypophosphatämischen Rachitis und der X-chromosomal vererbten Hypophosphatämie nachweisen (White et al, 2000). Wenig später wurde FGF-23-c-DNA aus einem Osteomalazie induzierendem Tumor kloniert (Seufert et al., 2001).

## 6.4.2 Physiologie

FGF-23 ist ein Polypeptid aus der Gruppe aller 25 bisher gefundenen humanen Fibroblasten-Wachstumsfaktoren (Fibroblast growth factors, FGFs). Ihre Gemeinsamkeit besteht weniger in einer ähnlichen Aktivität, als in ihrer molekularen Struktur. Alle FGFs umfassen eine gemeinsame Core-Region aus 120 Aminosäureresten („FGF-like-Sequenz“), welche auf Chromosom 12 liegt. An die Core-Region grenzen C- und N-terminale Sequenzen, die je nach Fibroblasten-Subgruppe in Länge und Sequenz stark variieren. FGF-23 gehört zusammen mit FGF-19 und FGF-21 der „Hormone-like“ - Subgruppe an (Ornitz & Itoh, 2001). Während FGF-23 zur Aufrechterhaltung des Kalzium - Phosphat - Stoffwechsels beiträgt, sind FGF-19 und FGF-21 an der Bildung von Gallensäure und der Regulation des Glukose- und Fettstoffwechsels beteiligt (Goetz et al., 2007).

Das FGF-23-Protein umfasst 251 Aminosäuren, bestehend aus einer 24-Aminosäuren langen N-terminalen Sequenz, die für ein Signalpeptid kodiert, einer „FGF-like-Sequenz“ und einer FGF-23 spezifischen C-terminalen Region (Yamashita, 2005). Der Übergang zwischen der typischen Kernstruktur und dem FGF-23-spezifischen-C-terminalen-Ende (zwischen Arg179 und Ser180) ist die Stelle, an der das Protein gespalten und somit inaktiviert wird. Dies konnten Shimada et al. 2002 zeigen, indem sie nachwiesen, dass weder Zellen, denen das C-terminale Fragment fehlte, noch Zellen, die ausschließlich mit dem C-terminalen Fragment ausgestattet waren, eine Hypophosphatämie hervorriefen. Eine Minderung des Plasma-Phosphats konnte nur bei mutierten nicht-spaltbaren Wildtyp-Proteinen beobachtet werden (Shimada et al., 2002).

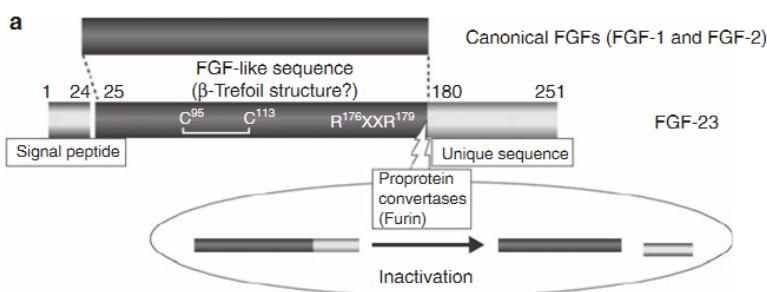


Abbildung 1: Schematische Struktur von FGF-23 (Yamashita, 2005).

### **6.4.3 Wirkung von FGF-23**

FGF-23 wird vorwiegend von Osteoblasten und Osteozyten im Knochen gebildet (Riminucci et al., 2003) sowie in deutlich geringeren Mengen in Thymus, Gehirn, Skelettmuskel, Milz, Haut, Lunge, Hoden, Niere und Leber (Martin, David, & Quarles, 2012). Von dort erfolgt die Sezernierung ins Blut und das Protein kann konsekutiv zusammen mit seinem Kofaktor Klotho seine phosphaturische Wirkung ausüben. Das membranständige Protein Klotho bindet an den FGF-23-Rezeptor der Zielzelle und erhöht dadurch die Affinität des Rezeptors für FGF-23 (Kurosu et al., 2009).

Mäuse, die entweder verändertes humanes, nicht-spaltbares FGF-23 (Mutation R176Q) exprimierten oder normales FGF-23 überexprimierten, zeigten Hypophosphatämien und Hypovitaminosen D (Bai et al., 2003), während Mäuse, die kein FGF-23 aufwiesen („FGF-23-Null-Mäuse“), Hyperphosphatämien und enorm hohe Calcitriol-Spiegel aufwiesen (Stubbs et al., 2007). Diese Phänomene lassen sich anhand verschiedener Wirkweisen des Wachstumsfaktors erklären:

Der phosphaturische Einfluss von FGF-23 wird hauptsächlich über die proximalen Tubuluszellen der Niere vermittelt. Diese exprimieren einen Natrium-Phosphat-Transporter (NaPi) Typ II an ihrer apikalen Membran, welcher die Phosphatausscheidung reguliert (Miyamoto et al., 2004). Es sind drei Subtypen dieses Transporters bekannt, wobei NaPi Typ IIA und Typ IIC die Phosphatrückresorption in den proximalen Tubuluszellen der Niere vermitteln und der NaPi Typ IIB-Transporter die gastrointestinale Phosphataufnahme reguliert (Custer et al., 1994; Hilfiker et al., 1998; Miyamoto et al., 2007; Segawa et al., 2002).

Für die Wirkweise von FGF-23 ist vor allem der Subtyp NaPi Typ IIA von Bedeutung, da FGF-23 für eine verminderte Expression dieses Transporters verantwortlich ist (Baum, Schiavi, Dwarakanath, & Quigley, 2005). Diese verminderte Expression von NaPi Typ IIA hat eine geringere Phosphatrückresorption und somit eine vermehrte renale Phosphatexkretion zur Folge. Abgesehen von FGF-23 fördert auch PTH die renale Phosphatausscheidung durch eine Reduktion des NaPi Typ IIA Transporters, was einen funktionellen Zusammenhang der beiden Hormone vermuten lässt. Tierstudien haben jedoch gezeigt, dass die phosphaturische Wirkung von FGF-23 auch nach Parathyreoidektomie bestehen blieb (Shimada et al., 2004). Die Hormone wirken also unabhängig voneinander.

Auch außerhalb der Niere übt FGF-23 einen großen Einfluss auf den Phosphathaushalt aus. So bewirkt eine FGF-23-vermittelte Reduktion des NaPi Typ IIB - Transporters eine verminderte gastrointestinale Resorption von Phosphat (Miyamoto et al., 2005). Des Weiteren haben Studien gezeigt, dass FGF-23 einerseits die Aktivität des Schlüsselenzyms der Calcitriol-Synthese, der

1-alpha-Hydroxylase, in der Niere herunterreguliert (Bai et al., 2003; Stubbs et al., 2007) und andererseits die Expression des Enzyms 24-Hydroxylase steigert, welches eine zentrale Funktion im Abbau von Calcitriol erfüllt (Shimada et al., 2004). Es wird weniger aktives Vitamin D (1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>) produziert, was wiederum zu einer verminderten gastrointestinalen Resorption von Calcium und Phosphat führt (Emmett, 2008).

#### **6.4.4 FGF-23 als kardiovaskulärer Risikofaktor bei CKD**

Hyperphosphatämie, Hyperparathyreoidismus und Calcitriol-Mangel sind unabhängig mit einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität bei chronisch Nierenkranken assoziiert (Kovesdy et al., 2008, Block et al., 1998, Wolf et al., 2007). Es ist daher verständlich, dass auch FGF-23 als ein regulatorisches Hormon aller drei – trotz seiner vermeintlich protektiven phosphaturischen Wirkung – einen renalen und kardiovaskulären Risikofaktor darstellt. So zeigte bereits 2009 eine Querschnittsstudie den Zusammenhang zwischen erhöhten FGF-23-Plasmawerten und linksventrikulärer Hypertrophie sowohl bei nierenkranken als auch bei nierengesunden Teilnehmern (Mirza et al., 2009; Wolf et al., 2007).

In der „Homocysteine in Kidney and End Stage Renal Disease Study“ (HOST-Studie) wurde postuliert, dass das erhöhte Mortalitätsrisiko, welches mit hohen FGF-23-Werten einhergeht, vor allem aus einer erhöhten kardiovaskulären Ereignisrate resultiert (Kendrick et al., 2011) und darauf aufbauend zeigten Scialla et al wenige Jahre später bei 3860 chronisch nierenkranken Patienten aus der „Chronic Renal Insufficiency Cohort Study“ (CRIC-Studie), dass FGF-23 stärker mit kardialen Dekompensationen assoziiert ist als mit atherosklerotischen Ereignissen (Scialla et al., 2014).

#### **6.4.5 FGF-23 als Verursacher kardiovaskulärer Ereignisse**

Patienten mit chronischer Nierenerkrankung weisen vielfach höhere FGF-23-Werte auf als Nierengesunde (Gutierrez et al., 2008; Larsson et al, 2003) und bis heute bleibt unklar, ob FGF-23 ausschließlich ein Prognosemarker für kardiovaskuläre Ereignisse ist oder ob das phosphaturische Hormon sogar mitverantwortlich für das erhöhte Mortalitätsrisiko sein könnte. Dieser Verdacht wird zum einen durch die Wirkung von FGF-23 auf den Vitamin D-Haushalt erhärtet. So führen hohe FGF-23-Spiegel indirekt über die Hemmung der 1-alpha-Hydroxylase zu einer Hypovitaminose D. Zum anderen konnte in verschiedenen Studien gezeigt werden, dass die nachteiligen Auswirkungen, mit denen FGF-23 assoziiert ist, unabhängig von Phosphat-, Calcium- und PTH-Spiegeln waren (Gutierrez et al., 2008; Mirza et al., 2009).

FGF-23 könnte folglich neben seinem physiologischen kompensatorischen Einfluss auf den Mineral- und Knochenstoffwechsel weitere toxische Wirkungen ausüben, die direkten Einfluss auf das erhöhte Mortalitätsrisiko bei chronisch Nierenkranken haben.

Experimentelle Untersuchungen suggerieren bei pathologisch erhöhten FGF-23 Spiegeln eine Klotho-unabhängige Bindung von FGF-23 an FGF-Rezeptoren, was für eine Aktivierung von pathophysiologischen Prozessen im Bereich der Gefäßwände verantwortlich sein könnte (Faul et al., 2011). Grabner et al. zeigten, dass FGF-23 Klotho-unabhängig den FGF-Rezeptor-4 (FGFR4) an den kardialen Myozyten aktiviert. Sie konnten nachweisen, dass die Inhibition des FGFR4 sowohl die Inzidenz einer LVH als auch die Progression einer bereits vorhandenen LVH vermindert (Grabner et al., 2015). FGFR4 war vor allem bei chronisch nierenkranken Ratten vermehrt nachweisbar. Auch in einer späteren Studie entwickelten weder Patienten, deren FGF-23-Werte aufgrund einer X-chromosomal vererbten Hypophosphatämie erhöht waren, noch Mäuse, bei denen aufgrund einer vermehrten Druckbelastung durch Aortenverengung hohe FGF-23-Werte induziert wurden, eine LVH (Richter & Faul, 2018).

Berücksichtigt man die verschiedenen Wirkungen von FGF-23 auf das kardiovaskuläre System, so scheint eine therapeutische Senkung der FGF-23-Spiegel bei chronisch Nierenkranken sinnvoll, um das Mortalitätsrisiko zu verringern. Wolf et al. publizierten 2012 eine Reihe von Strategien, um Plasma-FGF-23-Werte bei CKD Patienten zu senken und damit das Mortalitätsrisiko zu vermindern (Wolf, 2012). Darunter fanden sich Studien, welche die Reduktion von FGF-23-Werten durch phosphatarme Ernährung und durch Phosphatbinder bei Dialyse- und Prädialysepatienten zeigten (Ferrari, Bonjour, & Rizzoli, 2005; Koiwa et al., 2005; Oliveira et al., 2010). Auch das Kalzimetikum Cinacalcet konnte Plasma-FGF-23-Werte bei chronisch nierenkranken Patienten vermindern (Susantitaphong et al., 2019). Bis zu welchem Grad diese therapeutischen Strategien auf lange Sicht Einfluss auf die LVH und die kardiovaskuläre Mortalität haben, bleibt bis heute unklar (Susantitaphong et al., 2019).

## **6.5 Hypothesen**

Zur Messung des FGF-23 stehen zwei ELISAs der zweiten Generation zur Verfügung, wobei der erste ELISA ausschließlich die aktiven Fragmente des Hormons erfasst („intact FGF-23-ELISA“, iFGF-23-ELISA) und der zweite sowohl die aktiven als auch die inaktiven C-terminalen Fragmente misst („c-terminal FGF-23-ELISA“, cFGF-23-ELISA). Bis heute wird bei der Messung von FGF-23 im großen Maße der cFGF-23-ELISA genutzt und als

kardiovaskulärer Prädiktor getestet, während es kaum Daten zum eigentlich für die Hormonwirkung spezifischeren iFGF-23-ELISA gibt.

Wir analysierten in dieser Doktorarbeit, ob sowohl die gemessenen FGF-23-Werte mittels iFGF-23-ELISA als auch die Werte des cFGF-23-ELISA bei chronisch nierenkranken Patienten mit der GFR und miteinander korrelieren.

Shimada et al zeigten, dass das meiste FGF-23, welches in Dialysepatienten nachgewiesen wird, biologisch aktiv ist (Shimada et al., 2010). Daher formulieren wir die Hypothese, dass der iFGF-23-ELISA, welcher ausschließlich das aktive Hormon misst, bei CKD-Patienten stärker mit der GFR korreliert als der cFGF-23-ELISA.

Falls FGF-23 aktiv an dem schlechten Outcome durch kardiovaskuläre Mortalität bei chronisch nierenkranken Patienten beteiligt ist, sollten die Messungen mittels iFGF-23-ELISA bessere Prognosemarker für ASCVD sein als Messungen mittels cFGF-23-ELISA. Wir formulieren daher die zweite Hypothese, dass iFGF-23-Messungen bessere Prädiktoren für renale Progression und ASCVD sowie für kardiale Dekompensation sind als cFGF-23-Messungen.

## 7. Material und Methoden

Die Materialproben der vorgelegten Promotionsarbeit stammen von Teilnehmern aus der fortlaufenden CARE FOR HOMe - Studie, welche in der Klinik für Innere Medizin IV-, Klinik für Nieren- und Hochdruckkrankheiten, des Universitätsklinikums des Saarlandes bis 2018 fortgeführt wurde.

### **7.1 Die CARE FOR HOMe - Studie**

Im Rahmen dieser Doktorarbeit wurde aus der CARE FOR HOMe - Studie auf Proben von 544 Patienten mit chronischer Nierenerkrankung („chronic kidney disease“, CKD) der KDIGO GFR Stadien G2 - G4 im Zeitraum von 2008 bis 2014 zurückgegriffen. Die Teilnehmer stellten sich in den folgenden fünf Jahren zur elektiven Nachuntersuchung in der Ambulanz der Klinik für Innere Medizin IV vor. Der Patienteneinschluss sowie die jährlichen Nachuntersuchungen erfolgten in eigenständigen Promotionsarbeiten (Emrich, 2014; Flügge, 2011; Herath, 2012; Kircher, 2017; Lennartz, 2016; Ulbricht, 2016). Das zugrundeliegende Untersuchungsprotokoll wurde von der Ethikkommission der Ärztekammer geprüft und genehmigt und erfüllt die Kriterien nach der Deklaration von Helsinki aus dem Jahr 2000. Alle Patienten gaben zum Zeitpunkt des Einschlusses ihr schriftliches Einverständnis für folgende Prozeduren:

- Jährliche Verwendung von Blut- und Urinproben für die Studie
- Ausfüllen von standardisierten Fragebögen
- Jeweils eine Ultraschalluntersuchung zum Zeitpunkt des Einschlusses und im fünften Jahr der Nachuntersuchung, in welcher man die Nieren- und Milzdurchblutung, sowie die Funktion des Herzens und der Gefäßwände erfasste
- Kontaktaufnahme durch das Studienteam mit dem Hausarzt und anderen betreuenden Ärzten

Aufgrund des letztgenannten Punktes konnten – zusätzlich zu regelmäßig durchgeführten persönlichen Telefonaten mit den Teilnehmern selbst – jährlich aktuelle Arztbriefe und Laborwerte von Patienten verwertet werden, die aufgrund einer Komorbidität oder eines Wohnortwechsels nicht mehr in der Ambulanz der Klinik für Innere Medizin IV vorstellig werden konnten. Ebenso erfolgte regelmäßige telefonische Kontaktaufnahme mit den

Teilnehmern und dessen behandelnden Nephrologen, wenn die Teilnehmer nach Studieneinschluss dialysepflichtig geworden waren.

Um sicher zu gehen, dass die Teilnehmer zur Blutentnahme nüchtern erschienen und über den Untersuchungsablauf informiert waren, wurden die Teilnehmer jährlich am Tag vor der Untersuchung telefonisch kontaktiert.

## **7.2 Einschlusskriterien**

In die CARE FOR HOMe - Studie eingeschlossen wurden chronisch nierenkranke Patienten der KDIGO GFR Stadien G2 - G4.

Zur Definition einer CKD im Stadium G2 musste neben einer eGFR von 60 – 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> mindestens ein weiteres der folgenden Merkmale vorliegen: Eine Proteinurie größer als 300 mg / g, eine Albuminurie größer als 17 mg / g bei Männern und größer als 25 mg / g bei Frauen, eine persistierende glomeruläre Hämaturie, erhöhtes Plasma-Cystatin C größer als 1,05 mg / l, ein erhöhtes Plasma-Kreatinin größer als 1,2 mg / dl bei Männern und größer als 0,9 mg / dl bei Frauen oder eine bioptisch gesicherte Nierenerkrankung und / oder Tubulopathie.

Zur Abschätzung der glomerulären Filtrationsrate wurde die vereinfachte Formel der MDRD-Studie (Modification of Diet in Renal Disease-Study) verwendet (Levey et al., 1999). Die Berechnung der eGFR beruht dabei auf dem Serumkreatinin, dem Alter, dem Geschlecht sowie der Ethnizität.

### MDRD – Formel für eGFR:

$$175 \times \text{Krea (in mg/dl)}^{-1,154} \times \text{Alter (in Jahren)}^{-0,203} \times \\ 1,212 \text{ (wenn AA)} \times \\ 0,742 \text{ (wenn w)}$$

(Bei Bestimmung des Kreatinins ohne IDMS-Methode wird statt des Faktor 175 der Faktor 186 eingesetzt. AA: Afroamerikaner, Krea: Plasma-Kreatinin, w: weiblich)

## **7.3 Ausschlusskriterien**

Patienten wurden als Teilnehmer ausgeschlossen, wenn sie in die KDIGO GFR Stadien G1 (eGFR > 90 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) oder G5 (eGFR < 15 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>) klassifiziert wurden, ein akutes Nierenversagen (Kreatininanstieg ≤ 50 % innerhalb von 4 Wochen vor

Studieneinschluss) erlitten, systemisch immunsuppressive Medikation einnahmen, an einer aktiven hämatologischen Systemerkrankung, einer HIV-Infektion, einer klinisch apparenten fieberhaften und / oder antibiotikapflichtigen Infektion litten oder eine asymptomatische Erhöhung des CRP vorlag.

## **7.4 Definition kardiovaskulärer Risikofaktoren**

Als Diabetiker wurden Teilnehmer mit einem Nüchtern-Blutzucker von  $> 126$  mg / dl, einem Spontan-Blutzucker  $\leq 200$  mg / dl oder einem ärztlich vordiagnostizierten Diabetes mellitus mit oder ohne antidiabetische Medikation definiert.

Als Raucher wurden Patienten definiert, die in den letzten 28 Tagen mindestens eine Zigarette geraucht hatten.

Als Patienten mit einer positiven Familienanamnese wurden Patienten definiert, deren Verwandte 1. Grades (Eltern oder Geschwister) vor dem Erreichen des 65. Lebensjahres einen Myokardinfarkt oder einen ischämischen Apoplex erlitten.

## **7.5 Studienablauf**

### **7.5.1 Telefonat und Aufklärung**

Bei Terminabsprache wurden die Patienten ausführlich über den Untersuchungsablauf aufgeklärt. In der Woche vor dem vereinbarten Termin wurde telefonisch an die Untersuchung erinnert und erneut darauf hingewiesen, am Untersuchungstag nüchtern zu erscheinen.

### **7.5.2 EKG und Fragebogeninterview**

In der Ambulanz wurde ein 12-Kanal-Ruhe-Elektrokardiogramm (EKG) des Teilnehmers geschrieben und eine orientierende körperliche Untersuchung mit Messung des Hüft-Taillen-Quotienten (Waist-To-Hip-Ratio), Knöchel-Arm-Index (Ankle Brachial Index = ABI) und Berechnung des BMIs durchgeführt. Anschließend führte man eine etwa 15-minütige Befragung eines Fragebogens durch, mit welchem die aktuelle Medikation, kardiovaskuläre Risikofaktoren (Ernährung, sportliche Aktivität, Ruheaktivität, Alkohol- und Nikotinkonsum) und stattgehabte renale Ereignisse, atherosklerotische kardiovaskuläre Ereignisse („atherosclerotic cardiovascular disease“, ASCVD) und stationäre Aufnahmen aufgrund einer

akuten kardialen Dekompensation erfasst wurden. Zur Vervollständigung der Daten wurden mit dem Einverständnis der Patienten nach dem Gespräch externe Krankenakten, Laborwerte und Arztbriefe angefordert.

### **7.5.3 Blutdruckmessung**

Im Anschluss an das Fragebogeninterview, nach 15-minütigem Sitzen, wurde an beiden Armen jeweils eine einmalige Blutdruckmessung durchgeführt. Am Arm mit dem höheren Blutdruckwert erfolgte daraufhin eine automatische Blutdruckmessung in einminütigen Intervallen über insgesamt 8 Minuten. Der Patient wurde dafür im Untersuchungsraum allein gelassen. Aus den insgesamt acht Einzelmessungen wurde der Mittelwert gebildet, welcher bei der Datenverarbeitung berücksichtigt wurde.

### **7.5.4 Urinprobe und Blutentnahme**

Bei Erscheinen bat man die Patienten, eine Spontanurinprobe abzugeben. Nach Abfüllen in eine 10 ml -Urin-Monovette erfolgte daraus die Bestimmung von Albumin, Phosphat, Kalzium, Eiweiß und Kreatinin.

Nach fünfminütigem Sitzen wurde unter standardisierten Bedingungen eine Blutentnahme durchgeführt, welche neben der Bestimmung von Routineparametern (Vitamin D, Albumin, Phosphat, Kalzium, Cholesterin, CRP, Cystatin C, Kreatinin, HDL-Cholesterin, LDL-Cholesterin, Triglyceride) im Zentrallabor der Universität des Saarlandes, der Asservierung von Plasma- und Serumproben diente, um später daraus iFGF-23- und cFGF-23-Messungen und etwaige weitere Parameter zu bestimmen. Dafür wurden 20,7 ml Blut in ein 9 ml Serum-, ein 9 ml -EDTA-Plasma- und ein 2,7 ml -EDTA-Plasma-Entnahmeröhrchen entnommen.

Im Labor der Klinik für Innere Medizin IV wurden die beiden 9 ml -Röhrchen für 10 Minuten bei 4000 rpm zentrifugiert, sodass reines Plasma bzw. Serum als Überstand in 1,5 ml Mikroreaktionsgefäß abpipettiert werden konnte. Das Vollblut aus der 2,7 ml -EDTA-Monovette wurde nicht zentrifugiert. Alle Proben wurden dann zusammen mit dem Spontanurin auf -80 °C tiefgefroren, um die Proben bis zur gemeinsamen Messung zu asservieren.

Blutprobe	Bestimme Parameter
<b>EDTA – Blut</b> (2,7 ml EDTA-Monovette)	Differentialblutbild: neutrophile, eosinophile, basophile Granulozyten, Lymphozyten, Monozyten
<b>Plasma</b> (4,7 ml Lithium-Heparin-Monovette)	Natrium, Kalium, Kalzium, Phosphat, Kreatinin, Harnstoff, Glucose, ASAT, Lipoproteindiagnostik (Cholesterin, HDLCholesterin, LDL-Cholesterin, Triglyceride), Eiweiß, Albumin, Eisen, CRP, Ferritin, Troponin T
<b>Serum</b> (4,7 ml Serum-Monovette)	Apo A, Apo B, Insulin, Parathormon (intakt), NT-pro-BNP, 25-Hydroxy-Vitamin D3

Tabelle 1: Blutproben und daraus bestimmte Parameter (Kircher, 2017)

EDTA, Ethyldiamintetraessigsäure; ASAT, Aspartat-Aminotransferase; HDL, High Density Lipoprotein; LDL, Low Density Lipoprotein; CRP, C-reaktives Protein; Apo A, Apolipoprotein A1; Apo B, Apolipoprotein B; NT-pro-BNP, N-terminal prohormone of Brain Natriuretic Peptide

Probe	Bestimmte Parameter
<b>Urin</b> (Portion) (10 ml Urin-Monovette)	Status, Sediment, Natrium, Kalium, Chlorid, Kalzium, Phosphat, Albumin, Mikroglobulin, Eiweiß, Transferrin, Immunglobulin G, Kreatinin

Tabelle 2: Urinprobe und daraus bestimmte Parameter (Kircher, 2017)

## 7.5.5 FGF-23-Messung

### 7.5.5.1 ELISA-Prinzip

Der ELISA-Test („Enzyme linked immunosorbent assay“) ist eine Methode zur Bestimmung von Konzentrationen von Antigenen oder Antikörpern.

Im Folgenden wird der sogenannte „Sandwich-ELISA“ beschrieben, welcher die Menge eines Antigens zwischen zwei Lagen von Antikörpern misst.

Ablauf:

Der erste Antikörper, welcher an einem bestimmten Epitop der zu untersuchenden Substanz (hier FGF-23) bindet, ist an einer festen Phase (Mikrotiterplatte mit Vertiefungen, sogenannten „Wells“) fixiert. Die Probe mit dem zu quantifizierenden Antigen (hier FGF-23 in EDTA-Plasma) wird dann auf die feste Phase gegeben und eine Zeit lang inkubiert, sodass das gesuchte

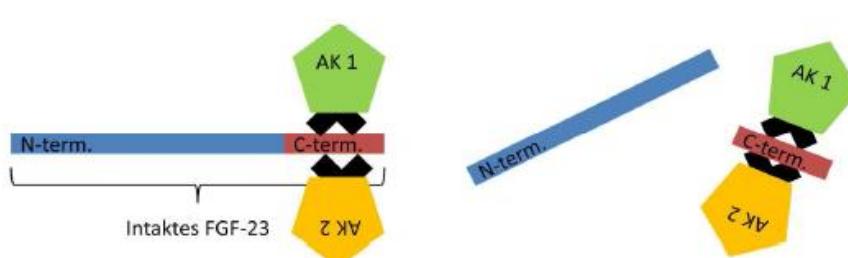
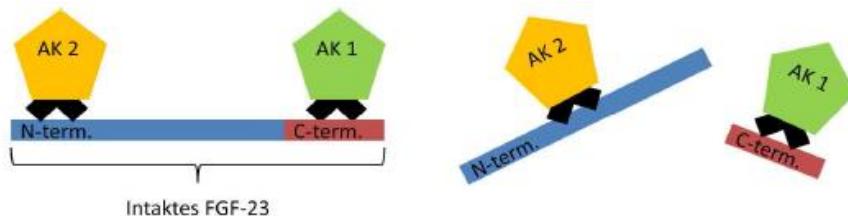
Antigen am fixierten Antikörper gebunden wird. Anschließend wird die Platte gewaschen, sodass alle Bestandteile, die nicht gebunden wurden, entfernt werden.

Im nächsten Schritt wird eine Lösung mit einem zweiten Antikörper hinzugegeben, welcher ein anderes Epitop am gesuchten Antigen bindet. Dadurch entsteht ein Antikörper-Antigen-Antikörper-Komplex („Sandwich“). Der zweite Antikörper ist wiederum zusätzlich an ein Enzym gebunden, welches es ermöglicht, durch die Zugabe eines Substrats (Chromogen) einen Farbumschlag hervorzurufen und somit die gesuchte Substanz im Photospektrometer nachzuweisen und zu quantifizieren.

Zur Messung des FGF-23 stehen zwei ELISAs der zweiten Generation zur Verfügung, wobei der erste ELISA ausschließlich die aktiven Fragmente des Hormons erfasst (iFGF-23-ELISA) und der zweite sowohl die aktiven als auch die inaktiven C-terminalen Fragmente misst (cFGF-23-ELISA).

1. iFGF-23-ELISA: Mittels Sandwich-ELISA wird das gesamte Molekül mit kompletter Aminosäuresequenz erfasst. Durch die simultane Bindung zweier monoklonaler Antikörper am C- und N-terminalen Ende kann spezifisch das intakte Protein nachgewiesen werden.
2. cFGF-23-ELISA: Bei diesem Verfahren binden die Antikörper ausschließlich an das C-terminale Ende. Es wird sowohl das intakte Protein als auch das C-terminale Fragment erfasst.

Abbildung 2: Unterschiedliche Nachweismethoden für FGF-23 (Bild: Dissertation Daniel Roth, UKS, 2011)



### 7.5.5.2 cFGF-23-ELISA

Für die Messungen mittels cFGF-23-ELISA wurden folgende Materialien verwendet:

1. Mikrotiterplatte mit 96 Wells benetzt mit Streptavidin (gelagert bei Temperaturen von 2 - 8 °C)
2. Biotinylierte FGF-23-Antikörper (kovalente Bindung zwischen Biotin und dem humanen FGF-23-Antikörper, gelagert bei Temperaturen von 2 - 8 °C)
3. Meerrettichperoxidase (Horseradishperoxidase, HRP) konjugiert mit FGF-23-Antikörpern (gelagert bei Temperaturen von 2 - 8 °C), welche an das NH<sub>2</sub>-terminale Ende des gesuchten FGF-23 binden
4. FGF-23-Standard-Ampullen
5. FGF-23-Kontroll-Ampullen
6. Waschkonzentrat
7. ELISA-HRP-Substrat: 16 ml TMB (Tetramethylbenzidin) mit Wasserstoffperoxid (gelagert bei Temperaturen von 2 - 8 °C)
8. Schwefelsäure als ELISA-Stop-Konzentration (gelagert bei 2 - 8 °C)
9. 50 µl-, 150 µl-, 200 µl-, 1 ml-Pipetten
10. Zentrifuge mit 280 - 220 rpm
11. Photospektrometer, Absorption bei 450 nm

Ablauf: Je 100 µl von der EDTA-Plasma-Probe, FGF-23-Standard-Probe und FGF-23-Kontrollprobe wurden in die mit Streptavidin benetzten Wells pipettiert. Dabei wurden mit der gleichen Probe immer zwei verschiedene Wells besetzt, um später einen Mittelwert aus den zwei Photospektrometermessungen zu berechnen. Zusammen mit 50 µl des biotinylierten FGF-23-Antikörpers und 50 µl des HRP-konjugierten FGF-23-Antikörpers wurde die Platte für drei Stunden inkubiert. Dabei sollte der biotinylierte AK das im Plasma enthaltene FGF-23 binden („capture-antibody“) und der HRP-konjugierte AK später im Photospektrometer nachgewiesen werden („detection-antibody“). Es bildet sich folglich ein Sandwich-Komplex:

<b>Well/Avidin – Biotin Anti-h-FGF-23 – Human FGF23 – HRP Anti h-FGF-23</b>
---

<b>(c-terminal)</b>
---------------------

<b>(NH<sub>2</sub>-terminal)</b>
----------------------------------

Im Anschluss an die Inkubation folgte das Waschen der Wells, um nicht-gebundene Antikörper und andere Plasma-Komponenten auszuwaschen. Um das gebundene HRP im Photospektrometer nachzuweisen, wurden 150 µl einer Lösung mit dem HRP-Enzymsubstrat (TMB mit Wasserstoffperoxid) hinzugegeben und bei Raumtemperatur mit 180 - 220 rpm in der Zentrifuge 30 Minuten inkubiert. Die Absorption der entstandenen blauen Farbe wurde im Photospektrometer bei 620 nm gemessen. Nach Abstoppen der Färbereaktion mit 50 µl Schwefelsäure wurde die gelbliche Verfärbung des TMB im Photospektrometer bei 450 nm Absorption gemessen werden.

#### 7.5.5.3 iFGF-23-ELISA

Für die Messungen mittels iFGF-23-ELISA wurden folgende Materialien verwendet:

1. Mikrotiterplatte mit 96 Wells, benetzt mit FGF-23-Antikörpern (gelagert bei Temperaturen von 2 - 8 °C), welche an das C-terminale Ende des gesuchten FGF-23 binden
2. Meerrettichperoxidase (HRP) konjugiert mit FGF-23-Antikörpern (gelagert bei Temperaturen von 2 - 8 °C), welche an das NH<sub>2</sub>-terminale Ende des gesuchten FGF-23 binden
3. Intakt-FGF-23-Standard-Proben
4. Intakt-FGF-23-Kontroll-Proben
5. Waschkonzentrat (gelagert bei Raumtemperatur)
6. ELISA-HRP-Substrat: 16 ml TMB (Tetramethylbenzidin) mit Wasserstoffperoxid (gelagert bei Temperaturen von 2 - 8 °C)
7. Schwefelsäure als ELISA-Stop-Konzentration (gelagert bei 2 - 8 °C)
8. 50 µl-, 150 µl-, 200 µl-, 1 ml - Pipetten
9. Zentrifuge mit 220 - 280 rpm
10. Photospektrometer, Absorption bei 450 nm

Sandwich-Komplex:

**Well/Anti-Human FGF - Human Intact FGF – HRP/Anti-Human FGF**

**(C-Terminal)**

**(NH<sub>2</sub>-terminal)**

**Ablauf:** Die Durchführung der Messungen mittels iFGF-23-ELISA entspricht weitgehend der des cFGF-23-ELISA:

- Pipettieren von 150 µl Standard-, Kontroll- und Plasma-Proben auf mit Antikörpern benetzte Mikrotiterplatte in Wells
- Hinzufügen von 50 µl HRP-Antikörper-Lösung in jede Vertiefung (Well)
- Inkubation für 3 Stunden in der Zentrifuge mit 180 - 220 rpm
- Fünfmaliges Auswaschen der Wells mit je 350 µl Waschkonzentrat
- Pipettieren von 200 µl der ELISA HRP Substrat-Lösung in die einzelnen Wells
- Inkubation für 30 Minuten in der Zentrifuge bei 180 - 220 rpm
- Ablesen der Absorption bei 620 nm
- Zufügen von 50 µl ELISA Stop-Konzentration in jede Vertiefung
- Ablesen der Proben bei 450 nm

#### **7.5.5.4 Auswertung**

Aus den jeweils doppelt besetzten Wells der Standard-Proben wurde mittels Photospektrometer die mittlere optische Extinktion ermittelt. Die Mittelwerte wurden verwendet, um eine Kalibrierungskurve abzuleiten. Anhand dieser Grundlage konnten die FGF-23-Konzentrationen der Patientenproben aus der Absorptionskurve ermittelt werden.

#### **7.5.5.5 Limitationen des ELISA Test-Kits**

Die verwendete Untersuchungsmethode ermöglicht für den cFGF-23-ELISA eine Messung der FGF-23-Spiegel in einer arbiträren, nicht absoluten, relativen Einheit RU/ml (Relative Unit pro Milliliter).

Die Nachweigrenze des Immunotopic Test-Kits liegt beim iFGF-23-ELISA zwischen 1,5 pg / ml und der höchsten Standard-Konzentrationen und beim cFGF-23-ELISA zwischen 1,5 RU / ml und der höchsten Standard-Konzentration.

Für die Sensitivität der Messung der Standardprobe, die kein FGF-23 enthält, wird mit einem 95 % - Konfidenzintervall 1,5 RU / ml bzw. 1,5 pg / ml angegeben.

Der Variationskoeffizient bei 20 gemittelten Messungen derselben Probe wird beim iFGF-23-ELISA bei einem mittleren Wert von 43 pg / ml mit 4,1 % und bei einem mittleren Wert 426 pg / ml mit 2,0 % angegeben. Der Variationskoeffizient bei 20 gemittelten Messungen

derselben Probe liegt beim cFGF-23-ELISA bei 2,4 % bei einem mittleren Wert von 33,7 RU / ml und bei 1,4 % bei einem mittleren Wert von 302 RU / ml.

Die Präzision bei Verwendung verschiedener Test-Kits wird beim iFGF-23-ELISA mit einem Variationskoeffizienten von 9,1 % bei einem mittleren Wert von 46 pg / ml und von 3,5 % bei einem mittleren Wert von 441 pg / ml angegeben. Für den cFGF-23-ELISA gelten die Variationskoeffizienten von 4,7 % bei einem mittleren Wert von 33,6 RU / ml und von 2,4 % bei einem mittleren Wert von 293 RU / ml.

### **7.5.6 Follow-Up**

In den fünf Jahren nach Studieneinschluss fand jährlich eine Nachuntersuchung statt. Dabei wurden erneut Parameter aus Spontanurinproben und Blutentnahmen gewonnen, welche zu gleichen standardisierten Bedingungen wie bei Einschluss der Teilnehmer stattfanden. Des Weiteren wurde abermals ein EKG geschrieben, eine 10-minütige Blutdruckmessung und eine körperliche Untersuchung durchgeführt und mittels Fragebogen über den aktuellen Gesundheitszustand informiert. Zur Vervollständigung der Daten wurden mit dem Einverständnis der Patienten nach dem Gespräch externe Krankenakten, Laborwerte und Arztbriefe angefordert.

Zur Nachuntersuchung im siebten Jahr nach Einschluss füllten die Teilnehmer ausschließlich einen Fragebogen aus, der renale Ereignisse, ASCVD und kardiale Dekompensation erfasste. Um sicher zu gehen, dass es sich bei den stationären Aufenthalten um definierte Endpunkte handelt, wurden alle Vorkommnisse von zwei Ärzten unabhängig voneinander beurteilt. Kam es zu einer Unstimmigkeit, wurde eine ärztliche Drittmeinung hinzugezogen.

Die Verfasserin dieser Promotionsschrift interviewte vom 01.10.2016 bis zum 30.09.2017 die bereits eingeschossenen Patienten und führte in diesem Zeitraum die Nachuntersuchungen durch.

### **7.5.7 Endpunktdefinition**

Die Teilnehmer wurden bezüglich des Auftretens von renalen und atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkten sowie Hospitalisierungen aufgrund akuter kardialer Dekompensation und Todesfällen jedweder Genese nachverfolgt. Die Definitionen der Endpunkte lauteten wie folgt:

Tabelle 3: Endpunktdefinitionen

Primärer renaler Endpunkt	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Beginn eines Nierenersatzverfahrens im Beobachtungszeitraum, welches über mindestens 4 Wochen fortgesetzt worden ist, oder</li> <li>➤ Reduktion der geschätzten („estimated“) glomerulären Filtrationsrate (eGFR) auf 50 % im Vergleich zum Studieneinschluss.</li> <li>➤ Tod jedweder Genese.</li> <li>➤ Eine passagere Reduktion der eGFR um mehr als 50 % mit konsekutiver Erholung wurde nicht als renaler Endpunkt gewertet.</li> </ul>
Sekundärer renaler Endpunkt	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Beginn eines Nierenersatzverfahrens im Beobachtungszeitraum, welches über mindestens 4 Wochen fortgesetzt worden ist, oder</li> <li>➤ Reduktion der geschätzten (estimated) glomerulären Filtrationsrate (eGFR) auf 50 % im Vergleich zum Studieneinschluss.</li> <li>➤ Eine passagere Reduktion der eGFR um mehr als 50 % mit konsekutiver Erholung wurde nicht als renaler Endpunkt gewertet.</li> </ul>
Primärer atherosklerotischer kardiovaskulärer Endpunkt	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Koronarerterielle Intervention (PTCA / Stent / Bypassoperation),</li> <li>➤ stattgehabter Myokardinfarkt,</li> <li>➤ peripher-arterielle Revaskularisation (PTCA / Stent / Bypassoperation),</li> <li>➤ zerebrovaskuläre Revaskularisation (Carotis-Thrombendarteriektomie / -Stent),</li> <li>➤ Apoplex mit klinischen Symptomen, welche mindestens 24 Stunden persistierten,</li> <li>➤ nichttraumatische Amputation proximal des Fußgrundgelenkes oder</li> <li>➤ Tod jedweder Genese.</li> </ul>

Sekundärer atherosklerotischer kardiovaskulärer Endpunkt	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ Koronarerterielle Intervention (PTCA / Stent / Bypassoperation),</li> <li>➤ Stattgehabter Myokardinfarkt,</li> <li>➤ Peripher-arterielle Revaskularisation (PTCA / Stent / Bypassoperation),</li> <li>➤ Zerebrovaskuläre Revaskularisation (Carotis-Thrombendarteriektomie / -Stent),</li> <li>➤ Apoplex mit klinischen Symptomen, welche mindestens 24 Stunden persistierten,</li> <li>➤ Nichttraumatische Amputation proximal des Fußgrundgelenkes oder</li> <li>➤ Tod kardiovaskulärer Genese.</li> </ul>
Kombinierter Endpunkt kardiale Dekompensation /Tod jedweder Genese	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ dekompensierte Herzinsuffizienz mit konsekutiver stationärer Aufnahme, wenn diese aufgrund von Symptomen (progressive Dyspnoe) und klinischen (periphere Ödeme, pulmonale Rasselgeräusche) oder radiologischen (Kardiomegalie, pulmonales Ödem, Pleuraerguss) Zeichen der Herzinsuffizienz erfolgte oder</li> <li>➤ Tod jedweder Genese.</li> </ul>
Kardiale Dekompensation	<ul style="list-style-type: none"> <li>➤ dekompensierte Herzinsuffizienz mit konsekutiver stationärer Aufnahme, wenn diese aufgrund von Symptomen (progressive Dyspnoe) und klinischen (periphere Ödeme, pulmonale Rasselgeräusche) oder radiologischen (Kardiomegalie, pulmonales Ödem, Pleuraerguss) Zeichen der Herzinsuffizienz erfolgte.</li> </ul>

## **7.5.8 Statistik**

Die Datenerfassung erfolgte mittels Microsoft Excel (Microsoft, Seattle, Washington, USA) und die konsekutive statistische Auswertung mittels der Statistik Software SPSS (Statistical Product and Service Solutions, PASW Statistics 18, Inc; Chicago, Illinois, USA).

Alle kontinuierlichen Variablen sind als Mittelwert  $\pm$  Standardabweichung aufgeführt; bei nicht-parametrischer Verteilung entsprechend als Median (25./75. Perzentile), und wurden mittels T-Test (zwei Stichproben) oder mittels ANOVA mit gewichtetem linearen Trend (mehr als zwei Stichproben) verglichen. Die kategorialen Merkmale wurden als Anzahl (Prozentwerte) wiedergegeben und mittels Fisher-Test (zwei unabhängige Stichproben) oder Chi-Quadrat (mehr als zwei unabhängige Stichproben) verglichen. Korrelationen zwischen zwei kontinuierlichen Variablen wurden als Korrelationskoeffizienten nach Pearson berechnet. Die Interpretation der Korrelationskoeffizienten erfolgt nach Cohen: Eine schwache Korrelation wurde definiert als Korrelationskoeffizient = 0,1 - 0,29, eine moderate Korrelation bestand bei einem Korrelationskoeffizient = 0,3 - 0,49 und eine starke Korrelation bei > 0,5. Aufgrund nicht-parametrischer Verteilung erfolgte für die Studienanalyse eine Logarithmierung von NT-proBNP, cFGF-23-Messungen, iFGF-23-Messungen und Albuminurie.

Zur Durchführung von Überlebenszeitanalysen wurden die Patienten in Tertile der entsprechenden cFGF-23- sowie iFGF-23-Messungen stratifiziert. Die univariaten Überlebenszeitanalysen wurden nach Kaplan-Meier durchgeführt und nachfolgend nach dem Log Rank Test untersucht. Zur multivariaten Untersuchung erfolgte die Analyse mittels Cox-Regressions-Analysen. FGF-23 wurde sowohl als kontinuierliche Variable (nach log-Transformation) als auch als kategoriale Variable (in Tertile) betrachtet. Hierbei beschreibt Model 1 die univariate Analyse, Model 2 die Korrektur nach eGFR und logarithmierter Albuminurie, Model 3 die zusätzliche Korrektur nach Alter, Geschlecht, BMI, systolischem Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, Diabetes Mellitus (DM) und stattgehabten atherosklerotische kardiovaskuläre Ereignisse (ASCVD) vor Studienbeginn, Model 4 die zusätzliche Korrektur nach Phosphat, PTH und fraktioneller Phosphatausscheidung im Urin und Model 5 die zusätzliche Korrektur nach dem jeweils anderen logarithmierten FGF-23 (bei cFGF-23 als Ausgangsvariable Korrektur für iFGF-23, bei iFGF-23 als Ausgangsvariable Korrektur für cFGF-23).

Schließlich verglichen wir die diagnostische Präzision von cFGF-23-Messungen, iFGF-23-Messungen und der eGFR als Prädiktoren für deren vordefinierte Endpunkte mittels „Receiver-Operating-Characteristics-Curve“- (ROC-) Analysen und nachfolgender Bestimmung der

„Area Under the Curves“ (AUC). Hierbei wurden nur Ereignisse berücksichtigt, die innerhalb von vier Jahren nach Studieneinschluss auftraten. Trat kein Ereignis auf, wurden die Patienten nur berücksichtigt, wenn sie mindestens vier Jahre nachbeobachtet wurden.

Als statistisch signifikant gelten p-Werte  $< 0,05$ .

## 8. Ergebnisse

### 8.1 Baselinecharakteristika

Das mittlere Alter der Patienten beträgt  $65 \pm 13$  Jahre und der Frauenanteil liegt insgesamt bei 41 %.

10,5 % der teilnehmenden Patienten rauchen, 38 % leiden an Diabetes Mellitus und 31,4 % hatten ein prävalentes ASCVD. Der mittlere BMI liegt bei  $30,4 \pm 5,4 \text{ kg/m}^2$ . Weitere Baselinecharakteristika der 544 teilnehmenden Patienten sind in Tabelle 4 zusammengefasst. Stratifiziert man die Patienten nach ihrer chronischen Nierenerkrankung in die GFR-Kategorien nach KDIGO, so lassen sich 114 Patienten in die GFR-Kategorie G2, 187 Patienten in der GFR-Kategorie G3a, 146 Patienten in die GFR-Kategorie G3b und 97 Patienten in die GFR-Kategorie G4 klassifizieren.

Patienten mit weiter fortgeschrittener Nierenerkrankung sind signifikant älter, weisen niedrigere diastolische Blutdruckwerte auf und haben ein niedrigeres Hämoglobin. Weiterhin haben Patienten mit weiter fortgeschrittener Nierenerkrankung ein höheres Plasma-Phosphat, Parathormon und eine fortgeschrittenere Albuminurie.

Der Anteil der Patienten mit prävalenten atherosklerotischen kardiovaskulären, koronararteriellen und zerebrovaskulären Erkrankungen ist in den fortgeschrittenen GFR-Kategorien höher.

Die Medikation umfasste bei 35 % der Patienten ACE-Hemmer und bei 51 % AT1-Antagonisten. Eine Behandlung mit nativem Vitamin D bestand bei 44 % der teilnehmenden Patienten und eine Behandlung mit aktivem Vitamin D bei 7 % der Patienten.

**8.1.1 Tabelle 4: Patientencharakteristika bei Studienbeginn, stratifiziert nach den KDIGO GFR Kategorien**

	<b>Gesamt N = 544</b>	<b>CKD G2 N = 114</b>	<b>CKD G3a N = 187</b>	<b>CKD G3b N = 146</b>	<b>CKD G4 N = 97</b>	<b>p</b>
<b>Alter (Jahre)</b>	65 ± 13	58 ± 12	65 ± 12	68 ± 11	68 ± 11	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Geschlecht (weiblich)</b>	223 (41,0 %)	38 (33,3 %)	84 (44,9 %)	62 (42,5 %)	39 (40,2 %)	0,250
<b>Gewicht (kg)</b>	86,6 ± 17,9	90,0 ± 17,2	87,5 ± 17,7	86,1 ± 19,4	81,8 ± 15,8	<b>0,001</b>
<b>Größe (cm)</b>	169 ± 10	172 ± 11	169 ± 9	167 ± 9	166 ± 9	<b>&lt; 0,001</b>
<b>BMI (kg/m<sup>2</sup>)</b>	30,4 ± 5,4	30,4 ± 5,4	30,8 ± 5,5	30,6 ± 6,0	29,4 ± 4,6	0,210
<b>ASCVD (ja)</b>	171 (31,4 %)	18 (15,8 %)	59 (31,6 %)	63 (43,2 %)	31 (32,0 %)	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Koronarerterielles Ereignis (ja)</b>	120 (22,1 %)	12 (10,5 %)	39 (20,9 %)	45 (30,8 %)	24 (24,7 %)	<b>0,001</b>

	Gesamt N = 544	CKD G2 N = 114	CKD G3a N = 187	CKD G3b N = 146	CKD G4 N = 97	p
<b>Zerebrovaskuläres Ereignis (ja)</b>	53 (9,7 %)	5 (4,4 %)	15 (8,0 %)	23 (15,8 %)	10 (10,3 %)	<b>0,016</b>
<b>Peripherarterielles Ereignis (ja)</b>	36 (6,6 %)	4 (3,5 %)	13 (7,0 %)	13 (8,9 %)	6 (6,2 %)	0,379
<b>Raucher (ja)</b>	57 (10,5 %)	20 (17,5 %)	16 (8,5 %)	13 (8,9 %)	8 (8,2 %)	0,053
<b>DM (ja)</b>	207 (38 %)	40 (35 %)	72 (39 %)	55 (38 %)	40 (41 %)	0,833
<b>RR systolisch (mmHg)</b>	152 ± 24	148 ± 20	155 ± 24	150 ± 24	154 ± 27	0,527
<b>RR diastolisch (mmHg)</b>	85 ± 13	88 ± 13	88 ± 12	82 ± 13	84 ± 12	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Hb (g/dl)</b>	13,5 ± 1,5	14,2 ± 1,4	13,8 ± 1,4	13,3 ± 1,6	12,4 ± 1,6	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Phosphat (mg/dl)</b>	3,4 ± 0,7	3,0 ± 0,5	3,3 ± 0,5	3,4 ± 0,8	3,9 ± 0,7	<b>&lt; 0,001</b>

	<b>Gesamt</b> <b>N = 544</b>	<b>CKD G2</b> <b>N = 114</b>	<b>CKD G3a</b> <b>N = 187</b>	<b>CKD G3b</b> <b>N = 146</b>	<b>CKD G4</b> <b>N = 97</b>	<b>p</b>
<b>Cholesterin (mg/dl)</b>	192 ± 43	195 ± 39	192 ± 43	189 ± 44	191 ± 46	0,328
<b>Triglyzeride (mg/dl)</b>	164 ± 116	157 ± 123	161 ± 117	166 ± 103	175 ± 124	0,231
<b>LDL-Cholesterin (mg/dl)</b>	115 ± 37	119 ± 35	114 ± 37	112 ± 36	115 ± 39	0,349
<b>HDL-Cholesterin (mg/dl)</b>	52 ± 17	53 ± 17	53 ± 18	51 ± 17	50 ± 17	0,082
<b>CRP (mg/l)</b>	2,70 (1,10; 5,10)	2,35 (1,28; 4,30)	2,45 (1,00; 4,90)	2,90 (1,20; 6,68)	3,50 (1,10; 6,15)	0,118
<b>Parathormon (ng/l)</b>	53 (37; 82,5)	41 (33; 54,5)	44 (32; 58)	65 (41,5; 97)	110 (66; 162,5)	<b>&lt; 0,001</b>
<b>Albuminurie (g/mg Kreatinin)</b>	0,03 (0,01; 0,20)	0,02 (0,01; 0,11)	0,02 (0,01; 0,08)	0,04 (0,01; 0,17)	0,13 (0,04; 0,67)	<b>&lt; 0,001</b>
<b>ACE-Inhibitoren (ja)</b>	192 (35 %)	33 (29 %)	74 (40 %)	47 (32 %)	38 (39 %)	0,190

	<b>Gesamt N = 544</b>	<b>CKD G2 N = 114</b>	<b>CKD G3a N = 187</b>	<b>CKD G3b N = 146</b>	<b>CKD G4 N = 97</b>	<b>p</b>
<b>AT1-Antagonisten (ja)</b>	276 (51 %)	67 (59 %)	92 (49 %)	75 (51 %)	42 (43 %)	0,152
<b>Natives Vitamin D (ja)</b>	242 (44 %)	55 (48 %)	70 (37 %)	63 (43 %)	54 (56 %)	<b>0,024</b>
<b>Aktives Vitamin D (ja)</b>	36 (7 %)	2 (2 %)	2 (1 %)	14 (10 %)	18 (19 %)	<b>&lt; 0,001</b>

Tabelle 4: CKD (Chronische Nierenerkrankung: „chronic kidney disease“) Kategorie G1/2:  $\geq 60$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; CKD G3a: 59,9 – 45,0 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; CKD G3b: 44,9 – 30,0 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; CKD G4: 29,9 – 15,1 ml/min/1,73 m<sup>2</sup>; CKD G5:  $\leq 15,0$  ml/min/1,73 m<sup>2</sup>

BMI: body mass index; DM: Diabetes Mellitus; BD systolisch: systolischer Blutdruck; BD diastolisch: diastolischer Blutdruck; Hb: Hämoglobin; LDL-Cholesterin: low-density-lipoprotein-Cholesterin; HDL-Cholesterin: high-density-lipoprotein-Cholesterin; CRP: C-reaktives Protein.

Dargestellt sind Mittelwert + Standardabweichung bei normal verteilten kontinuierlichen Parametern, Median und Interquartilabstand (25./75.) bei nicht normal verteilten kontinuierlichen Parametern und bei kategorialen Parametern Anzahl (Prozent).

## **8.2 Assoziation von FGF-23 mit etablierten renalen und kardiovaskulären**

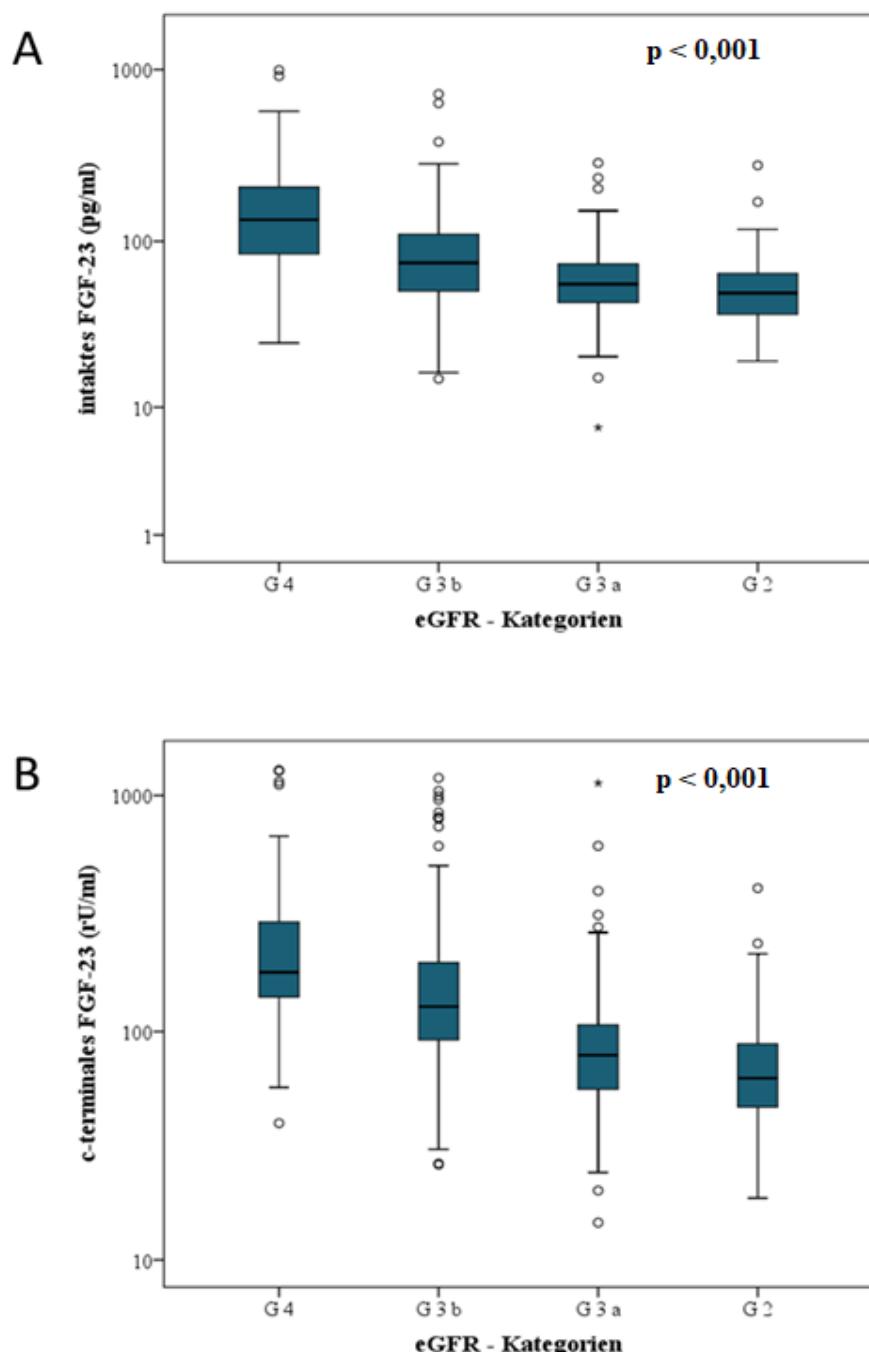
### **Risikofaktoren**

Abbildung 3 zeigt den Vergleich von iFGF-23-Messungen mit GFR-Kategorien und cFGF-23-Messungen mit GFR-Kategorien in Box-Plots. Patienten mit weiter fortgeschrittenen Einschränkung der glomerulären Filtrationsrate haben sowohl signifikant höhere cFGF-23-Messungen ( $p < 0,001$ ) als auch signifikante höhere iFGF-23-Messungen ( $p < 0,001$ ).

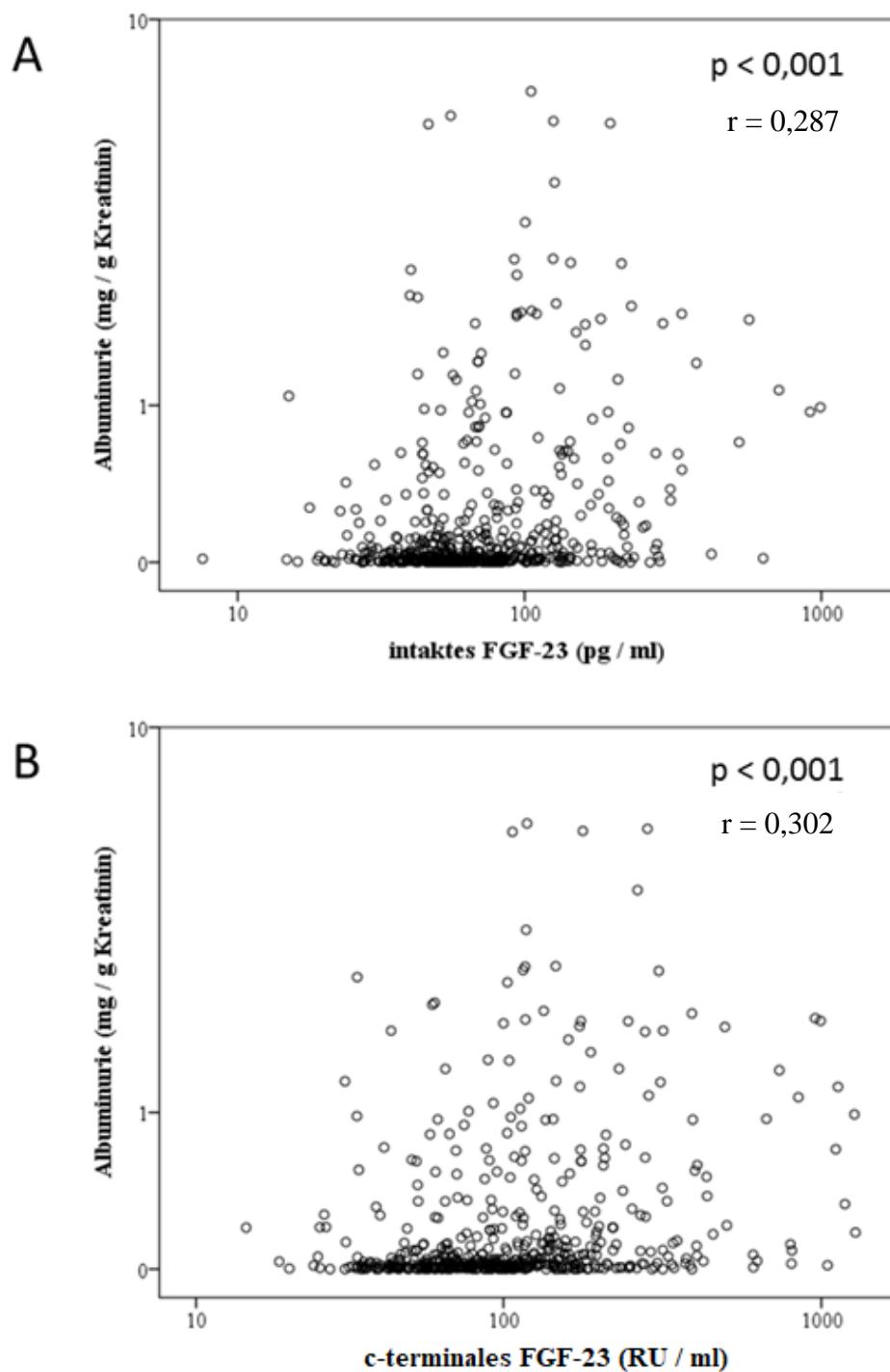
Eine signifikante Korrelation besteht zwischen der logarithmierten Albuminurie und logarithmierten iFGF-23-Messungen ( $r = 0,287$ ;  $p < 0,001$ ) und der logarithmierten Albuminurie und logarithmierten cFGF-23-Messungen ( $r = 0,302$ ;  $p < 0,001$ ) (Abbildung 4).

Abbildung 5 zeigt die signifikante Korrelation zwischen Phosphat und logarithmierten iFGF-23-Messungen ( $r = 0,376$ ;  $p < 0,001$ ) und zwischen Phosphat und logarithmierten cFGF-23-Messungen ( $r = 0,334$ ;  $p < 0,001$ ). Auch logarithmierte cFGF-23-Messungen und logarithmierte iFGF-23-Messungen zeigen in unserem Studienkollektiv eine signifikante Korrelation ( $r = 0,608$ ;  $p < 0,001$ ) (Abbildung 6).

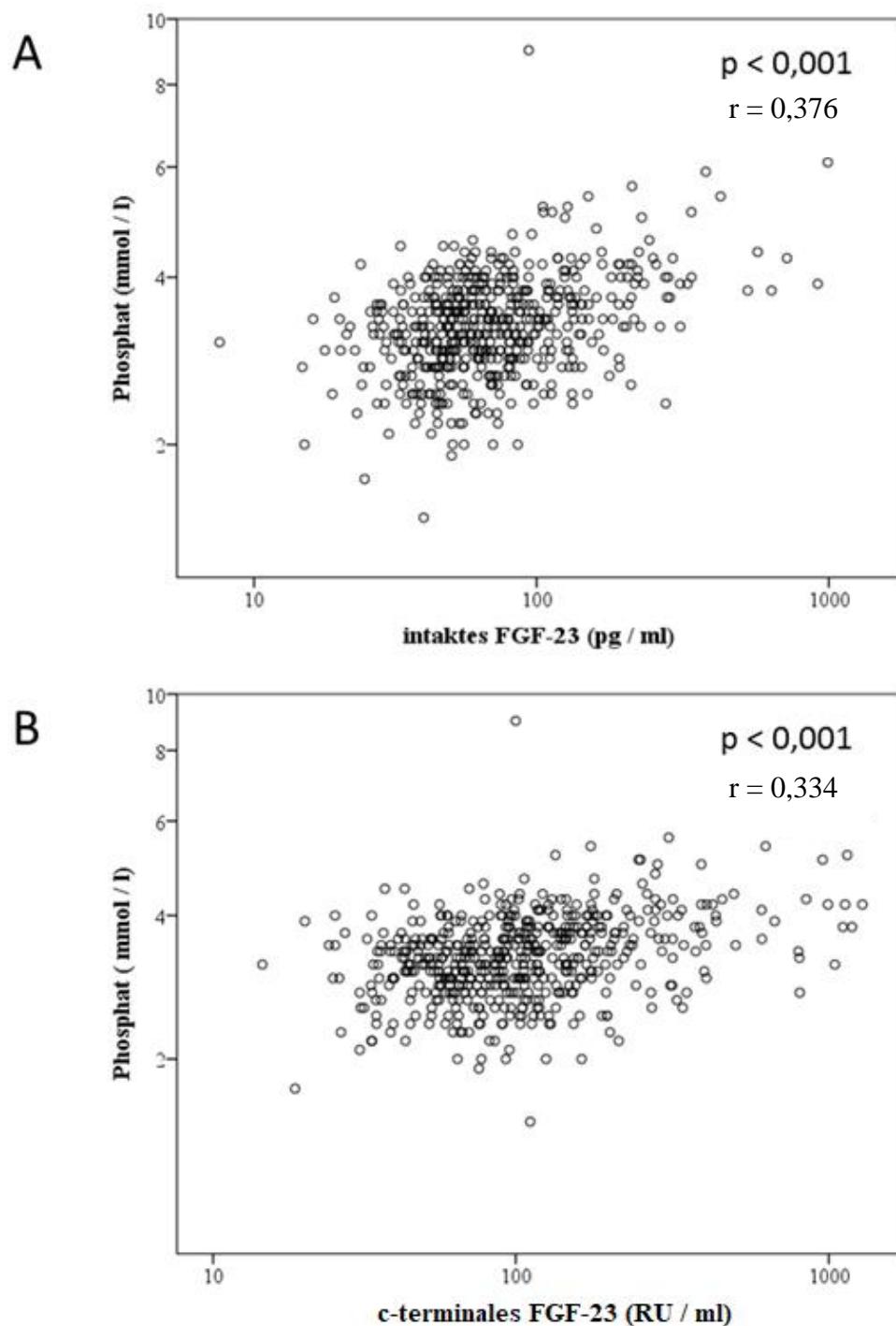
**8.2.1 Abbildung 3:** iFGF-23-Messungen stratifiziert nach eGFR-Kategorien (Abbildung 3 A) und cFGF-23-Messungen stratifiziert nach eGFR-Kategorien (Abbildung 3 B). Dargestellt sind Median, 25./75. Perzentile, Spannweite, Ausreißer und Extremwerte.



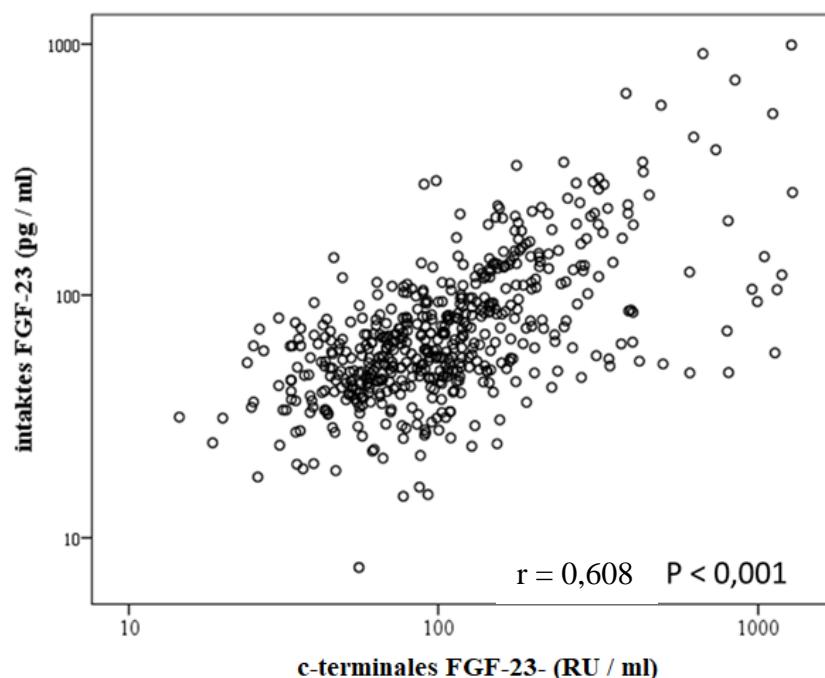
**8.2.2 Abbildung 4:** Korrelationen zwischen logarithmierter Albuminurie und logarithmierten iFGF-23-Messungen (Abbildung 4 A) sowie logarithmierter Albuminurie und logarithmierten cFGF-23-Messungen (Abbildung 4 B).



**8.2.3 Abbildung 5:** Korrelationen zwischen Phosphat und logarithmierten iFGF-23-Messungen (Abbildung 5 A) und Phosphat und logarithmierten cFGF-23-Messungen (Abbildung 5 B).



**8.2.4 Abbildung 6:** Korrelation zwischen logarithmierten cFGF-23-Messungen und logarithmierten iFGF-23-Messungen.



### **8.3 Korrelationen nach Pearson**

Tabelle 5 zeigt Korrelationskoeffizienten nach Pearson. Aufgrund nicht-normaler Verteilung erfolgte eine Logarithmierung von NT-proBNP, cFGF-23-Messungen, iFGF-23-Messungen und Albuminurie.

Es besteht eine moderate Korrelation zwischen cFGF-23-Messungen und fraktioneller Phosphatexkretion ( $r = 0,408$ ,  $p < 0,001$ ), logarithmiertem NT-proBNP ( $r = 0,468$ ,  $p < 0,001$ ) und Parathormon ( $r = 0,425$ ,  $p < 0,001$ ).

Analog besteht eine Korrelation von iFGF-23-Messungen und denselben Parametern. Dabei ist die Korrelation mit log NT-proBNP ( $r = 0,373$ ,  $p < 0,001$ ) schwach-moderat und die Korrelation mit fraktioneller Phosphatausscheidung ( $r = 0,467$ ,  $p < 0,001$ ) und Parathormon ( $r = 0,469$ ,  $p < 0,001$ ) moderat-stark.

Eine starke negative Korrelation besteht zwischen cFGF-23- / iFGF-23-Messungen und der eGFR (cFGF-23:  $r = -0,529$ ,  $p < 0,001$ ; iFGF-23:  $r = -0,536$ ,  $p < 0,001$ ).

Nach Adjustierung für eGFR besteht weiterhin eine schwache Korrelation von cFGF-23-Messungen und Phosphat ( $r = 0,165$ ,  $p < 0,001$ ), log NT-proBNP ( $r = 0,264$ ,  $p < 0,001$ ), Parathormon ( $r = 0,206$ ,  $p < 0,001$ ), logarithmierter Albuminurie ( $r = 0,223$ ,  $p < 0,001$ ) und fraktioneller Phosphatausscheidung ( $r = 0,121$ ,  $p = 0,006$ ) im Urin. Auch beim iFGF-23-ELISA besteht nach Adjustierung für eGFR eine schwach positive Korrelation mit Phosphat ( $r = 0,216$ ,  $p < 0,001$ ), fraktioneller Phosphatausscheidung im Urin ( $r = 0,204$ ,  $p < 0,001$ ), Parathormon ( $r = 0,236$ ,  $p < 0,001$ ), logarithmierter Albuminurie ( $r = 0,207$ ,  $p < 0,001$ ) und NT-proBNP ( $r = 0,129$ ,  $p = 0,003$ ).

### 8.3.1 Tabelle 5: Korrelationen nach Pearson

	log cFGF-23-Messungen (univariat)	Log iFGF-23-Messungen (univariat)	log cFGF-23-Messungen (adjustiert für eGFR)	log iFGF-23-Messungen (adjustiert für eGFR)
<b>eGFR</b>	r = -0,529 (p < <b>0,001</b> )	r = -0,536 (p < <b>0,001</b> )	*	*
<b>Phosphat</b>	r = 0,334 (p < <b>0,001</b> )	r = 0,376 (p < <b>0,001</b> )	r = 0,165 (p < <b>0,001</b> )	r = 0,216 (p < <b>0,001</b> )
<b>Fraktionelle Phosphatexkretion im Urin</b>	r = 0,408 (p < <b>0,001</b> )	r = 0,467 (p < <b>0,001</b> )	r = 0,121 (p = <b>0,006</b> )	r = 0,204 (p < <b>0,001</b> )
<b>log NT-proBNP</b>	r = 0,468 (p < <b>0,001</b> )	r = 0,373 (p < <b>0,001</b> )	r = 0,264 (p < <b>0,001</b> )	r = 0,129 (p = <b>0,003</b> )
<b>Parathormon</b>	r = 0,425 (p < <b>0,001</b> )	r = 0,469 (p < <b>0,001</b> )	r = 0,206 (p < <b>0,001</b> )	r = 0,263 (p < <b>0,001</b> )
<b>log Albuminurie</b>	r = 0,302 (p < <b>0,001</b> )	r = 0,287 (p < <b>0,001</b> )	r = 0,223 (p < <b>0,001</b> )	r = 0,207 (p < <b>0,001</b> )

Tabelle 5: FGF-23: Fibroblasten-Wachstumsfaktor 23 („Fibroblast growth factor“); eGFR: geschätzte glomeruläre Filtrationsrate („estimated glomerular filtration rate“); log NT-proBNP: logarithmiertes B-natriuretisches Peptid („brain natriuretic peptide“)

## **8.4 FGF-23 als Prädiktor renaler und atherosklerotischer kardiovaskulärer Ereignisse: univariate Kaplan-Meier-Analysen**

Die durchschnittliche Nachbeobachtungszeit betrug  $5,07 \pm 2,15$  Jahre. Insgesamt wurden für die vorliegende Doktorarbeit 544 Patienten eingeschlossen. Während des Follow-Up-Zeitraumes verstarben 98 Patienten, für 3 Patienten lagen zum Abschluss der Nachuntersuchungen keine kompletten Informationen vor.

Insgesamt erreichten 147 Patienten den primären renalen Endpunkt, 80 Patienten den sekundären renalen Endpunkt, 159 Patienten den primären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt und 125 den sekundären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt. Den kombinierten Endpunkt kardiale Dekompensation oder Todesfälle jedweder Genese erreichten 131 Patienten, während 63 Teilnehmer den Endpunkt kardiale Dekompensation erreichten.

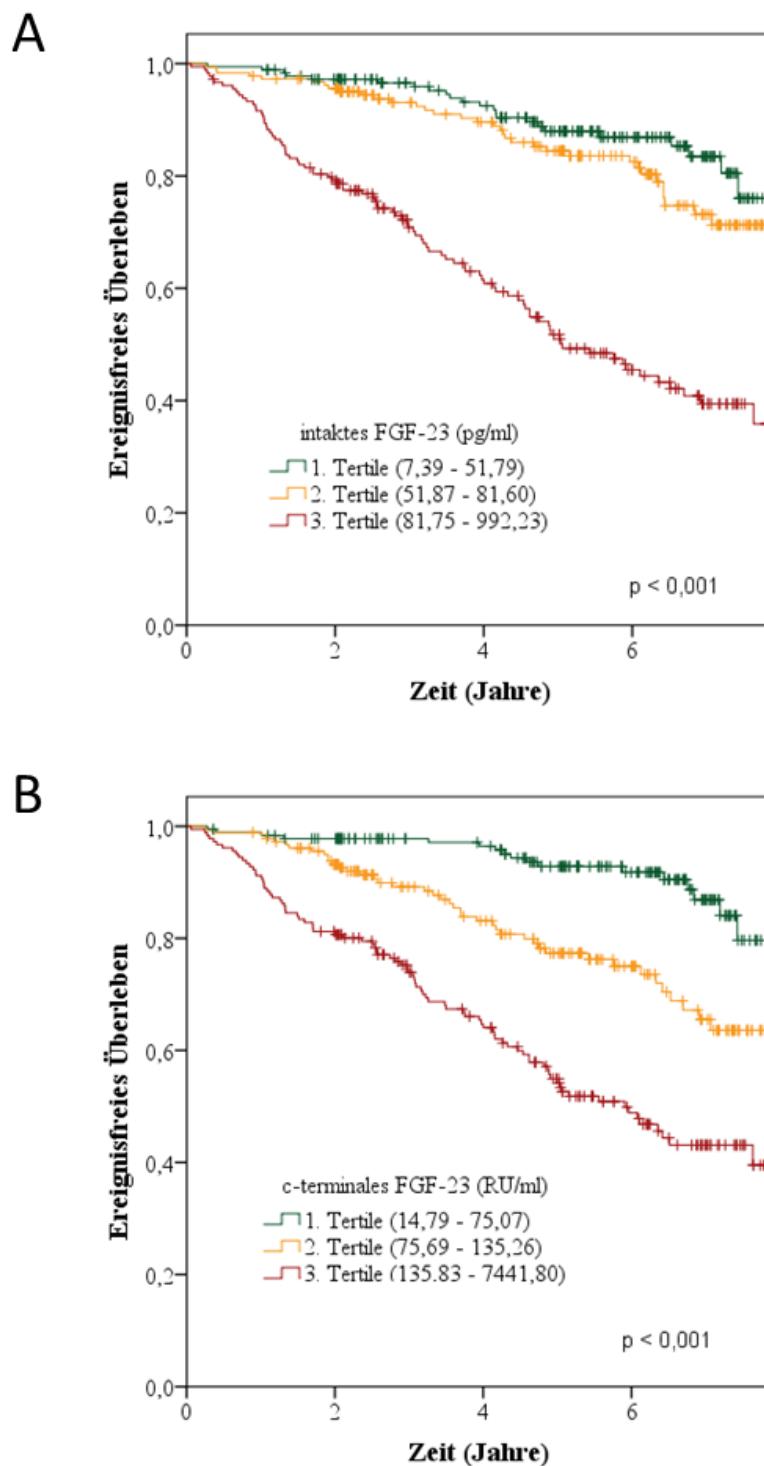
Nach Stratifizierung der Patienten in ihre entsprechenden FGF-23-Tertile zeigten die zunächst durchgeföhrten Kaplan-Meier-Analysen, dass eine Klassifikation in die höchste Tertile sowohl beim iFGF-23-ELISA als auch beim cFGF-23-ELISA signifikant mit dem Auftreten des primären renalen Endpunkts assoziiert ist ( $p < 0,001$ ) (Abbildung 7).

Ähnlich signifikant waren in der höchsten Tertile Assoziationen zwischen cFGF-23-/ iFGF-23-Messungen und dem Auftreten des sekundären renalen Endpunktes (jeweils  $p < 0,001$ ) (Abbildung 13 im Anhang).

Analog zum renalen Endpunkt zeigten Patienten klassifiziert in die höchste Tertile beim cFGF-23- und iFGF-23-ELISA ein signifikant erhöhtes Risiko, den primären (cFGF-23:  $p < 0,001$ , iFGF-23:  $p = 0,002$ ; Abbildung 8) und sekundären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt zu erreichen (jeweils  $p < 0,001$ ; Abbildung 14 im Anhang) zu erreichen.

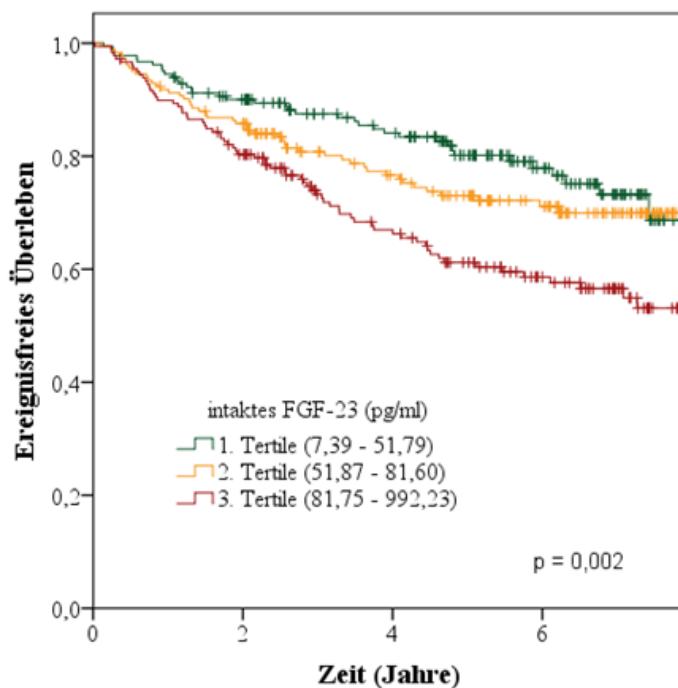
Für den kombinierten Endpunkt kardiale Dekompensation oder Todesfälle jedweder Genese ergab sich bei Unterteilung der Patienten in FGF-23-Tertile im Log-Rank-Test für hohe Werte sowohl bei cFGF-23-Messungen als auch bei iFGF-23-Messungen ein höheres Risiko ( $p < 0,001$ ; Abbildung 9). Abbildungen zum Endpunkt kardiale Dekompensation ohne Todesfälle, welche ebenfalls ein signifikant erhöhtes Risiko zeigen ( $p < 0,001$ ) finden sich im Anhang (Abbildung 15 im Anhang).

**8.4.1 Abbildung 7:** Kaplan Meier-Überlebenskurve für den primären renalen Endpunkt nach Stratifizierung der Patienten entsprechend ihrer Tertile im iFGF-23- und cFGF-23-ELISA in Abhängigkeit von iFGF-23-Messungen in Tertilen (Abbildung 7 A) und cFGF-23-Messungen in Tertilen (Abbildung 7 B).

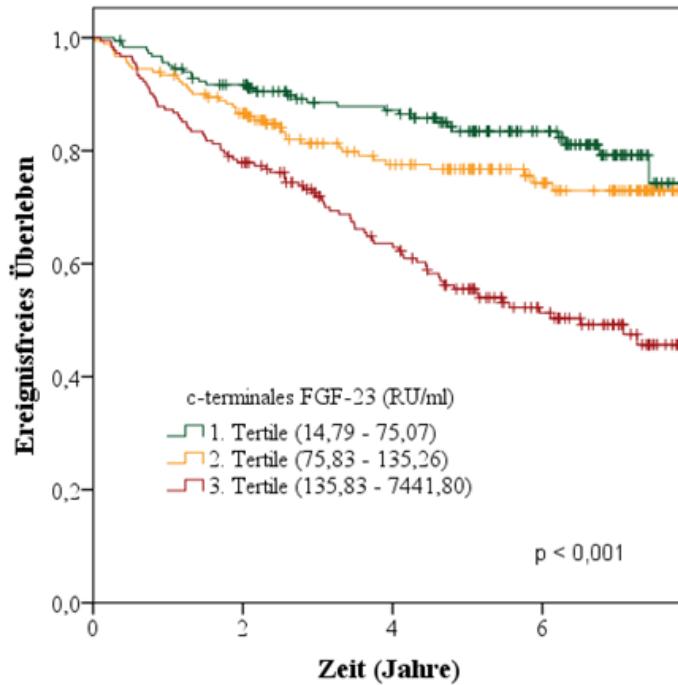


**8.4.2 Abbildung 8:** Kaplan-Meier-Überlebenskurve für den primären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt nach Stratifizierung der Patienten entsprechend ihrer Tertile der iFGF-23-Messungen und cFGF-23-Messungen in Abhängigkeit vom iFGF-23-ELISA in Tertilen (Abbildung 8 A) und cFGF-23-ELISA in Tertilen (Abbildung 8 B).

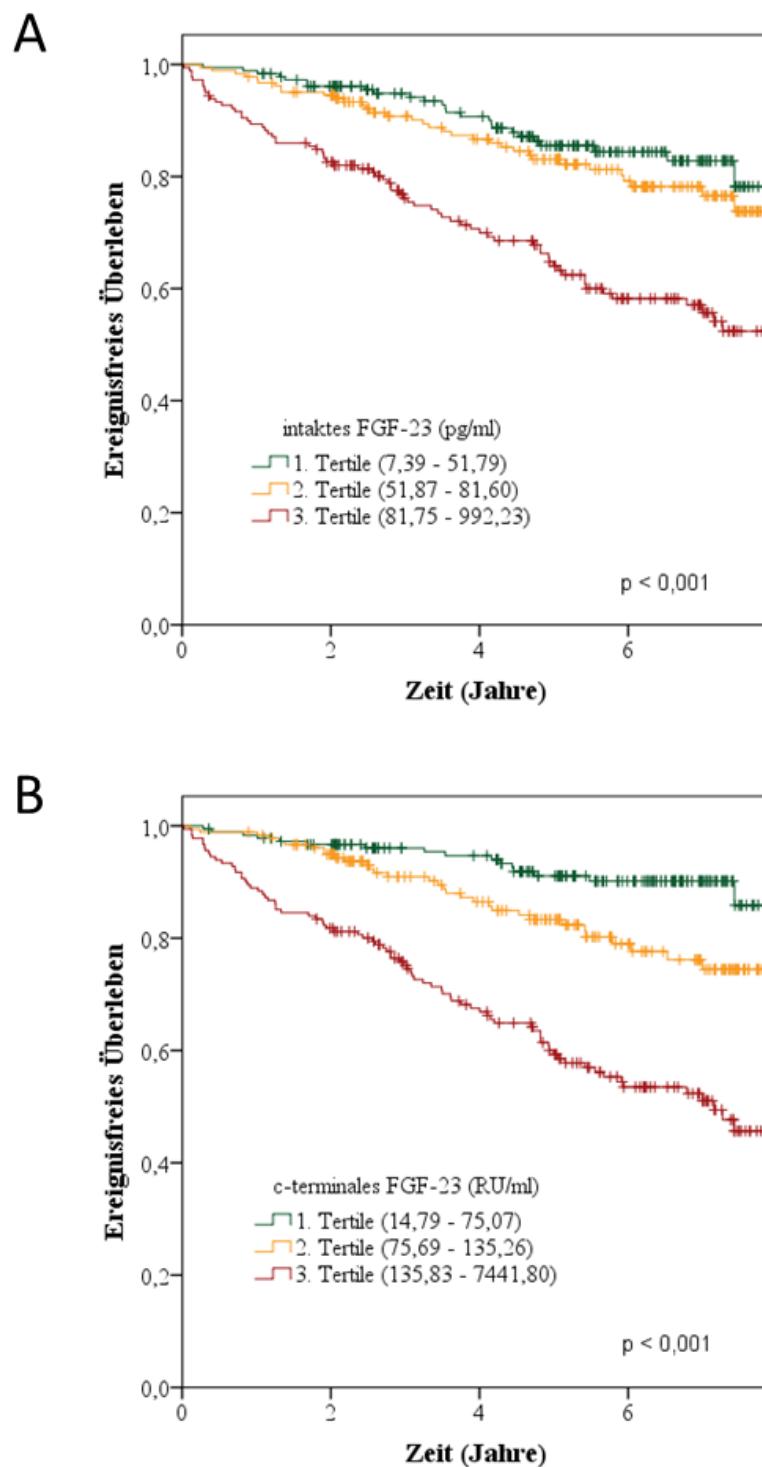
A



B



**8.4.3 Abbildung 9:** Kaplan-Meier-Überlebenskurve für kardiale Dekompensation oder Tod jedweder Genese nach Stratifizierung der Patienten entsprechend ihrer Tertile der iFGF-23- und cFGF-23-Messungen in Abhängigkeit vom iFGF-23-ELISA in Tertilen (Abbildung 9 A) und cFGF-23-ELISA in Tertilen (Abbildung 9 B).



## **8.5 Multivariate Cox-Regressionsanalysen: FGF-23 als Prädiktor renaler und atherosklerotischer kardiovaskulärer Ereignisse**

### **8.5.1 Renale Ereignisse**

Betrachtet man die Cox-Regressionsanalyse für den primären renalen Endpunkt in Tabelle 6, zeigt sich analog zu den Kaplan Meier Analysen, dass sowohl logarithmierte (im Folgenden auch als kontinuierliche Messungen bezeichnet) cFGF-23-Messungen (HR: 4,48; KI: 3,30 – 6,07;  $p < 0,001$ ) und logarithmierte iFGF-23-Messungen (HR: 14,41; KI: 8,71 – 23,84;  $p = 0,001$ ) als auch kategoriale cFGF-23-Messungen (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 7,03; KI: 4,11 – 12,02;  $p < 0,001$ ) und kategoriale iFGF-23-Messungen (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 5,75; KI: 3,49 – 9,46;  $p < 0,001$ ) in univariaten Analysen signifikant mit dem primären Endpunkt assoziiert sind. Nach Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM, CVD, Phosphat, PTH und fraktioneller Phosphatausscheidung im Urin (Model 4) bleiben logarithmierte cFGF-23-Messungen (HR: 1,73; KI: 1,09 – 2,73;  $p = 0,019$ ), logarithmierte iFGF-23-Messungen (HR: 2,25; KI: 1,06 – 4,76;  $p = 0,034$ ) und kategoriale cFGF-23-Messungen (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 2,24; KI: 1,17 – 4,29;  $p = 0,015$ ) signifikant mit dem vordefinierten Endpunkt assoziiert, während kategoriale iFGF-23-Messungen in Model 4 nicht mehr signifikant mit dem primären renalen Endpunkt assoziiert sind (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 1,74; KI: 0,93 – 3,25;  $p = 0,082$ ). Logarithmierte cFGF-23-Messungen (HR: 1,50; KI: 0,89 – 2,54;  $p = 0,128$ ), logarithmierte iFGF-23-Messungen (HR: 1,67; KI: 0,72 – 3,89;  $p = 0,232$ ), kategoriale cFGF-23-Messungen (HR 3.Tertile vs. 1. Tertile: 1,89; KI: 0,95 – 3,79;  $p = 0,072$ ) und kategoriale iFGF-23-Messungen (HR 3.Tertile vs. 1. Tertile: 1,48; KI: 0,77 – 2,84;  $p = 0,239$ ) bleiben nach weiterer Korrektur für die alternative FGF-23-Messung (Model 5) nicht weiter signifikant mit dem primären renalen Endpunkt assoziiert.

Die Cox-Regressionsanalyse in Tabelle 10 im Anhang zeigt, dass logarithmierte iFGF-23-Messungen nach Korrektur für Nierenfunktion, kardiovaskulären Risikofaktoren und CKD-MBD-Parametern unabhängiger Prädiktor für den **sekundären renalen Endpunkt** bleiben (HR: 3,34; KI: 1,25 – 8,93;  $p = 0,016$ ). Nach weiterer Korrektur für logarithmierte cFGF-23-Messungen bleiben kontinuierliche iFGF-23-Messungen nicht weiter signifikant (HR: 2,95; KI: 0,93 – 9,35;  $p = 0,066$ ) mit dem sekundären renalen Endpunkt assoziiert.

Logarithmierte cFGF-23-Messungen sind nach Korrektur für Nierenfunktion und kardiovaskulären Risikofaktoren noch signifikant mit dem sekundären renalen Endpunkt

assoziiert (HR: 2,04; KI: 1,05 – 3,96;  $p = 0,035$ ), nach weiterer Korrektur für CKD-MBD-Parametern und logarithmierte iFGF-23-Messungen verliert sich jedoch die signifikante Assoziation (HR: 1,19; KI: 0,50 – 2,82;  $p = 0,690$ ). Kategoriale cFGF-23-Messungen sind einzige in univariaten Analysen signifikant (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 11,39; KI: 4,85 – 26,41;  $p < 0,001$ ). Nach Korrektur für Nierenfunktion bleiben kategoriale cFGF-23-Messungen kein signifikanter Prädiktor des sekundären renalen Endpunktes (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 1,74; KI: 0,66 – 4,58;  $p = 0,263$ ). Kategoriale iFGF-23-Messungen bleiben lediglich nach Korrektur für Nierenfunktion signifikant (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 3,35; KI: 1,09 – 10,26;  $p = 0,035$ ) mit dem sekundären renalen Endpunkt assoziiert.

### **8.5.2 Atherosklerotische kardiovaskuläre Ereignisse**

In Tabelle 7 ist der **primäre atherosklerotische kardiovaskuläre Endpunkt** aufgeführt. Einzig logarithmierte cFGF-23-Messungen bleiben nach Korrektur für Nierenfunktion signifikanter Prädiktor für ASCVD (HR 1,68; KI: 1,06 – 2,68;  $p = 0,028$ ). Logarithmierte iFGF-23-Messungen (HR: 2,94; KI: 1,80 – 4,80;  $p < 0,001$ ), kategoriale cFGF-23-Messungen (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 2,93; KI: 1,94 – 4,44;  $p < 0,001$ ) und kategoriale iFGF-23-Messungen (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 2,17; KI: 1,43 – 3,30;  $p < 0,001$ ) sind allein in der univariaten Analyse signifikant mit dem primären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt assoziiert.

Bereits nach Korrektur in Model 3 sind weder logarithmierte cFGF-23-Messungen (HR: 1,36; KI: 0,88 – 2,11;  $p = 0,171$ ), logarithmierte iFGF-23-Messungen (HR: 0,94; KI: 0,46 – 1,94;  $p = 0,876$ ), kategoriale cFGF-23-Messungen (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 1,42; KI: 0,84 – 2,40;  $p = 0,192$ ) noch kategoriale iFGF-23-Messungen (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 1,02; KI: 0,60 – 1,72;  $p = 0,947$ ) mit dem primären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt assoziiert.

Tabelle 11 im Anhang zeigt den **sekundären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt**. Logarithmierte cFGF-23-Messungen (HR: 3,18; KI: 2,17 – 4,68;  $p < 0,001$ ), logarithmierte iFGF-23-Messungen (HR: 3,57; KI: 2,08 – 6,13;  $p < 0,001$ ), kategoriale cFGF-23-Messungen (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 3,26; KI: 2,03 – 5,24;  $p < 0,001$ ) und kategoriale iFGF-23-Messungen (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 2,74; KI: 1,67 – 4,48;  $p < 0,001$ ) sind einzige in der univariaten Analyse signifikanter Prädiktor. Nach weiterer Korrektur für die Nierenfunktion verbleiben weder logarithmierte cFGF-23-Messungen (HR: 1,56; KI: 0,93 – 2,62;  $p = 0,092$ ) noch logarithmierte iFGF-23-Messungen (HR: 0,98; KI: 0,40 – 2,02;  $p = 0,946$ ), kategoriale cFGF-23-Messungen (HR: 1,46; KI: 0,81 – 2,63);

$p = 0,213$ ) oder kategoriale iFGF-23-Messungen (HR: 1,10; KI: 0,61 – 1,98;  $p = 0,758$ ) signifikant mit dem sekundären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt assoziiert.

### **8.5.3 Kardiale Dekompensation**

Tabelle 8 zeigt die Cox-Regressionsanalyse des **kombinierten Endpunktes kardiale Dekompensation und Todesfälle jedweder Genese**. Dabei bleiben logarithmierte cFGF-23-Messungen nach Korrektur für Nierenfunktion, kardiovaskulären Risikofaktoren, CKD-MBD-Parametern und iFGF-23-Messungen (Model 5) signifikanter Prädiktor für kardiale Dekompensation und Tod jedweder Genese (HR: 3,59; KI: 2,17 – 5,95;  $p < 0,001$ ), während logarithmierte iFGF-23-Messungen nach Korrektur im Model 5 nicht weiter signifikant mit dem kombinierten Endpunkt (HR: 0,52; KI: 0,21 – 1,32;  $p = 0,170$ ) assoziiert sind. Kategoriale cFGF-23-Messungen (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 4,31; KI: 2,14 – 8,70;  $p < 0,001$ ) bleiben – wie logarithmierte cFGF-23-Messungen – nach Korrektur im Model 5 signifikanter Prädiktor für den kombinierten Endpunkt kardiale Dekompensation und Tod jedweder Genese, während die Assoziation zwischen kategorialen iFGF-23-Messungen und dem kombinierten Endpunkt nach Korrektur im Model 5 nicht weiter signifikant bleibt (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 1,50; KI: 0,78 – 2,86;  $p = 0,223$ ).

In der Cox-Regressionsanalyse **mit kardialer Dekompensation ohne Todesfälle** als Endpunkt in Tabelle 12 im Anhang zeigen ähnliche Ergebnisse wie für den kombinierten Endpunkt kardiale Dekompensation und Tod jedweder Genese. So verbleiben logarithmierte cFGF-23-Messungen (HR: 5,04; KI: 2,59 – 9,80;  $p < 0,001$ ) nach Korrektur für Nierenfunktion, kardiovaskulären Risikofaktoren, CKD-MBD-Parametern und das jeweils andere FGF-23 (Model 5) signifikant mit dem Endpunkt kardiale Dekompensation assoziiert, während logarithmierte iFGF-23-Werte (HR: 0,66; KI: 0,19 – 2,35;  $p = 0,520$ ) nach Korrektur im Model 5 nicht weiter signifikant mit diesem assoziiert sind. Nach Korrektur für die oben genannten Parameter im Model 5 bleiben kategoriale cFGF-23-Messungen (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 5,39; KI: 1,82 – 15,93;  $p = 0,002$ ) signifikanter Prädiktor für kardiale Dekompensation, während kategoriale iFGF-23-Messungen (HR 3. Tertile vs. 1. Tertile: 2,68; KI: 0,92 – 7,83;  $p = 0,072$ ) nach Korrektur im Model 5 nicht länger mit kardialen Dekompensationen assoziiert sind.

### **8.5.4 Tabelle 6: Cox-Regressionsanalyse für den primären renalen Endpunkt**

Primärer renaler Endpunkt	Model 1			Model 2			Model 3			Model 4			Model 5		
	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P
Log cFGF-23	4,48	3,30 – 6,07	< 0,001	1,85	1,20 – 2,85	<b>0,005</b>	1,94	1,25 – 3,01	<b>0,003</b>	1,73	1,09 – 2,73	<b>0,019</b>	1,50	0,89 – 2,54	0,128
Log iFGF-23	14,41	8,71 – 23,84	<b>0,001</b>	2,68	1,36 – 5,37	<b>0,006</b>	2,75	1,34 – 5,66	<b>0,006</b>	2,25	1,06 – 4,76	<b>0,034</b>	1,67	0,72 – 3,89	0,232
cFGF-23-Messungen															
2. Tertile $\alpha$	2,91	1,62- 5,24	< 0,001	1,72	0,93 – 3,17	0,082	1,89	1,02 – 3,48	<b>0,042</b>	1,88	1,02 – 3,48	<b>0,044</b>	1,83	0,99 – 3,39	0,053
3. Tertile $\alpha$	7,03	4,11- 12,02	< 0,001	1,97	1,05 – 3,70	<b>0,036</b>	2,27	1,18 – 4,36	<b>0,014</b>	2,24	1,17 – 4,29	<b>0,015</b>	1,89	0,95 – 3,79	0,072
iFGF-23-Messungen															
2. Tertile $\alpha$	1,68	0,96- 2,96	0,072	1,28	0,72- 2,27	0,403	1,45	0,80 – 2,62	0,112	1,45	0,80 – 2,62	0,224	1,35	0,74 – 2,45	0,323
3. Tertile $\alpha$	5,75	3,49- 9,46	< 0,001	1,76	0,97- 3,16	0,061	1,90	1,03 – 3,50	<b>0,039</b>	1,74	0,93 – 3,25	0,082	1,48	0,77 – 2,84	0,239

Tab. 6: HR: Hazard Ratio, 95 % KI: 95 % Konfidenzintervall; P: Wahrscheinlichkeit; Model 1: Univariate Analyse; Model 2: Korrektur für eGFR und Albuminurie; Model 3: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD; Model 4: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD, Phosphat, PTH und fraktionelle Phosphatexkretion im Urin; Model 5: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD, Phosphat, PTH, fraktionelle Phosphatexkretion im Urin und das jeweils andere FGF-23;  $\alpha$  = Referenztertile 1

### 8.5.5 Tabelle 7: Cox-Regressionsanalyse für den primären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt

Primärer atherosklerotischer kardiovaskulärer Endpunkt	Model 1			Model 2			Model 3			Model 4			Model 5		
	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P
Log cFGF-23	3,07	2,16 – 4,36	<b>&lt; 0,001</b>	1,68	1,06 – 2,68	<b>0,028</b>	1,36	0,88 – 2,11	0,171	1,33	0,84 – 2,11	0,218	1,46	0,89 – 2,39	0,134
Log iFGF-23	2,94	1,80 – 4,80	<b>&lt; 0,001</b>	0,91	0,47 – 1,75	0,769	0,94	0,46 – 1,94	0,876	0,90	0,41 – 1,98	0,793	0,69	0,29 – 1,63	0,400
cFGF-23-Messungen															
2. Tertile $\alpha$	1,35	0,84- 2,17	0,224	1,01	0,61- 1,66	0,965	1,15	0,70 – 1,87	0,588	1,15	0,70 – 1,87	0,588	1,17	0,72 – 1,92	0,529
3. Tertile $\alpha$	2,93	1,94- 4,44	<b>&lt; 0,001</b>	1,50	0,89- 2,50	0,127	1,42	0,84 – 2,40	0,192	1,41	0,83 – 2,40	0,202	1,55	0,88 – 2,72	0,131
iFGF-23-Messungen															
2. Tertile $\alpha$	1,46	0,94- 2,28	0,093	1,17	0,74- 1,84	0,501	1,40	0,88 – 2,22	0,156	1,43	0,90 – 2,28	0,130	1,38	0,87 – 2,21	0,175

3. Tertile $\alpha$	2,17	1,43- 3,30	<b>&lt; 0,001</b>	0,95	0,57- 1,57	0,824	1,02	0,60 – 1,72	0,947	0,98	0,57 – 1,69	0,953	0,89	0,51 – 1,56	0,673
---------------------	------	---------------	-------------------	------	---------------	-------	------	----------------	-------	------	----------------	-------	------	----------------	-------

Tab. 7: HR: Hazard Ratio, 95 % KI: 95 % Konfidenzintervall; P: Wahrscheinlichkeit; Model 1: Univariate Analyse; Model 2: Korrektur für eGFR und Albuminurie; Model 3: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD; Model 4: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD, Phosphat, PTH und fraktionelle Phosphatexkretion im Urin; Model 5: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD, Phosphat, PTH, fraktionelle Phosphatexkretion im Urin und das jeweils andere FGF-23;  $\alpha$  = Referenztertile 1.

### 8.5.6 Tabelle 8: Cox-Regressionsanalyse kombinierter Endpunkt: Kardiale Dekompensation mit Todesfällen

Kombinierter Endpunkt kardiale Dekompensation und Tod jedweder Genese	Model 1			Model 2			Model 3			Model 4			Model 5		
	HR	95% KI	P												
Log cFGF-23	5,69	3,92 – 8,26	<b>&lt; 0,001</b>	3,57	2,20 – 5,79	<b>&lt; 0,001</b>	3,48	2,18 – 5,56	<b>&lt; 0,001</b>	3,17	1,95 – 5,17	<b>&lt; 0,001</b>	3,59	2,17 – 5,95	<b>&lt; 0,001</b>
Log iFGF-23	4,03	2,42 – 6,70	<b>&lt; 0,001</b>	1,14	0,56 – 2,32	0,715	1,62	0,73 – 3,58	0,237	1,14	0,48 – 2,73	0,767	0,52	0,21 – 1,32	0,170
cFGF-23-Messungen															
2. Tertile $\alpha$	2,36	1,25- 4,47	<b>0,008</b>	1,88	0,97- 3,62	0,061	2,16	1,12 – 4,16	<b>0,022</b>	2,18	1,13 – 4,21	<b>0,021</b>	2,21	1,14 – 4,28	<b>0,019</b>
3. Tertile $\alpha$	6,52	3,69- 11,52	<b>&lt; 0,001</b>	3,82	1,96- 7,44	<b>&lt; 0,001</b>	4,05	2,07 – 7,95	<b>&lt; 0,001</b>	3,89	1,97 – 7,65	<b>&lt; 0,001</b>	4,31	2,14 – 8,70	<b>&lt; 0,001</b>
iFGF-23-Messungen															
2. Tertile $\alpha$	1,54	0,89- 2,70	0,126	1,28	0,72- 2,24	0,401	1,89	1,05 – 3,40	<b>0,033</b>	1,87	1,04 – 3,37	<b>0,037</b>	1,70	0,95 – 3,06	0,075

3. Tertile $\alpha$	3,67	2,23- 6,05	<b>&lt; 0,001</b>	1,72	0,94- 3,14	0,076	2,21	1,19 – 4,08	<b>0,012</b>	1,98	1,05 – 3,75	<b>0,035</b>	1,50	0,78 – 2,86	0,223
---------------------	------	---------------	-------------------	------	---------------	-------	------	----------------	--------------	------	----------------	--------------	------	----------------	-------

Tab. 8: HR: Hazard Ratio, 95 % KI: 95 % Konfidenzintervall; P: Wahrscheinlichkeit; Model 1: Univariate Analyse; Model 2: Korrektur für eGFR und Albuminurie; Model 3: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD; Model 4: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD, Phosphat, PTH und fraktionelle Phosphatexkretion im Urin; Model 5: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD, Phosphat, PTH, fraktionelle Phosphatexkretion im Urin und das jeweils andere FGF-23;  $\alpha$  = Referenztertile 1.

## **8.6 ROC – Analysen**

Die „Receiver-Operating-Characteristics-Curve“- (ROC-) Analyse zeigte, dass die „Area Under the Curve“ (AUC) für den primären renalen Endpunkt innerhalb der ersten vier Jahre nach Studieneinschluss für cFGF-23-Messungen numerisch am höchsten ist. Die AUC für cFGF-23-Messungen war 0,785, für die eGFR 0,782 und für iFGF-23-Messungen 0,764 (Abbildung 10).

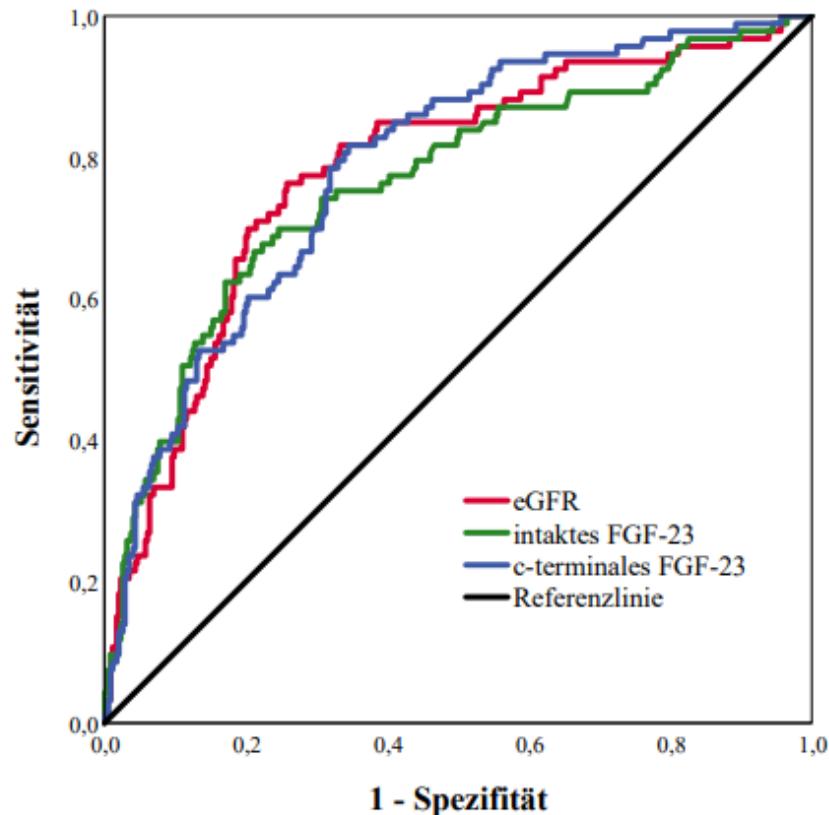
Bei dem sekundären renalen Endpunkt zeigte sich innerhalb der ersten vier Jahre nach Studieneinschluss eine AUC von 0,847 für iFGF-23-Messungen, von 0,828 für cFGF-23-Messungen und von 0,867 für die eGFR (Abbildung 16 im Anhang).

Die weitere Analyse für den primären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt innerhalb der ersten vier Jahre nach Studieneinschluss zeigte die numerisch höchste AUC von 0,670 für cFGF-23-Messungen. Die AUC für iFGF-23-Messungen betrug 0,625 und für die eGFR 0,662 (Abbildung 11).

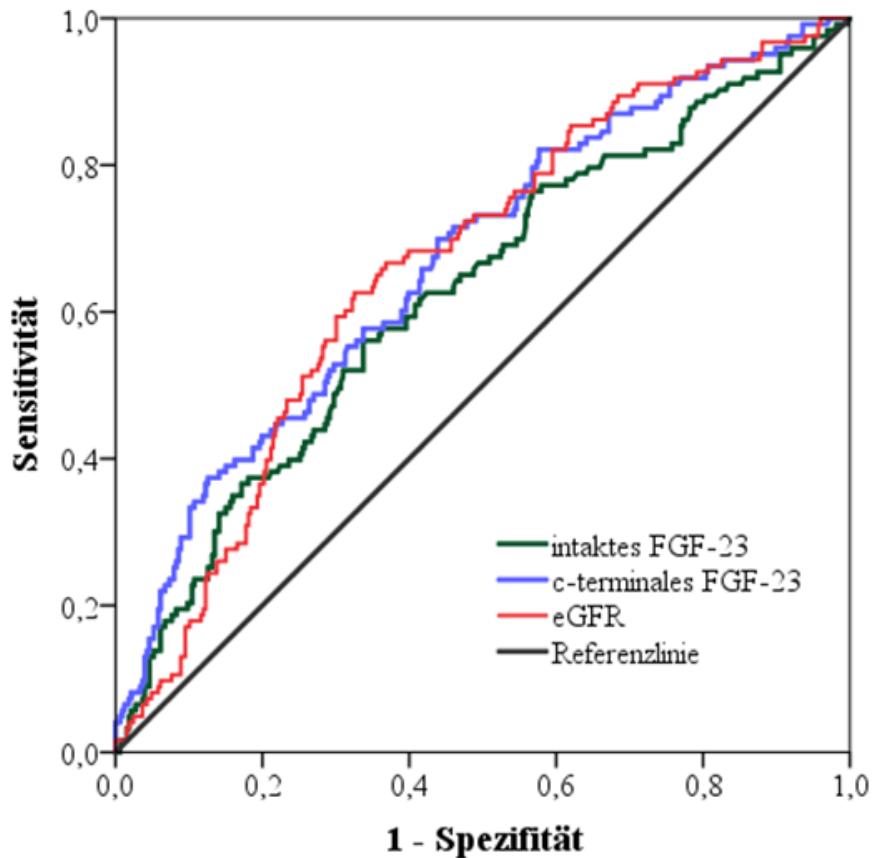
Auch für den sekundären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt ist innerhalb der ersten vier Jahre nach Studieneinschluss die AUC für cFGF-23-Messungen (0,679) numerisch höher als die für iFGF-23-Messungen (0,651). Am höchsten ist jedoch die AUC für die eGFR (0,691) (Abbildung 17 im Anhang).

In Abbildung 12 ist die ROC-Kurve für den Endpunkt kardiale Dekompensation oder Todesfälle abgebildet. Die AUC innerhalb der ersten vier Jahre nach Studieneinschluss liegt für iFGF-23-Messungen bei 0,676, für cFGF-23-Messungen bei 0,753 und für eGFR bei 0,694. Die AUC liegt für den alleinigen Endpunkt kardiale Dekompensation – ebenso wie für den primären renalen und primären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt - innerhalb der ersten vier Jahre nach Studieneinschluss für cFGF-23-Messungen (0,786) numerisch höher als für iFGF-23-Messungen (0,734) und für die eGFR (0,739) (Abbildung 18 im Anhang).

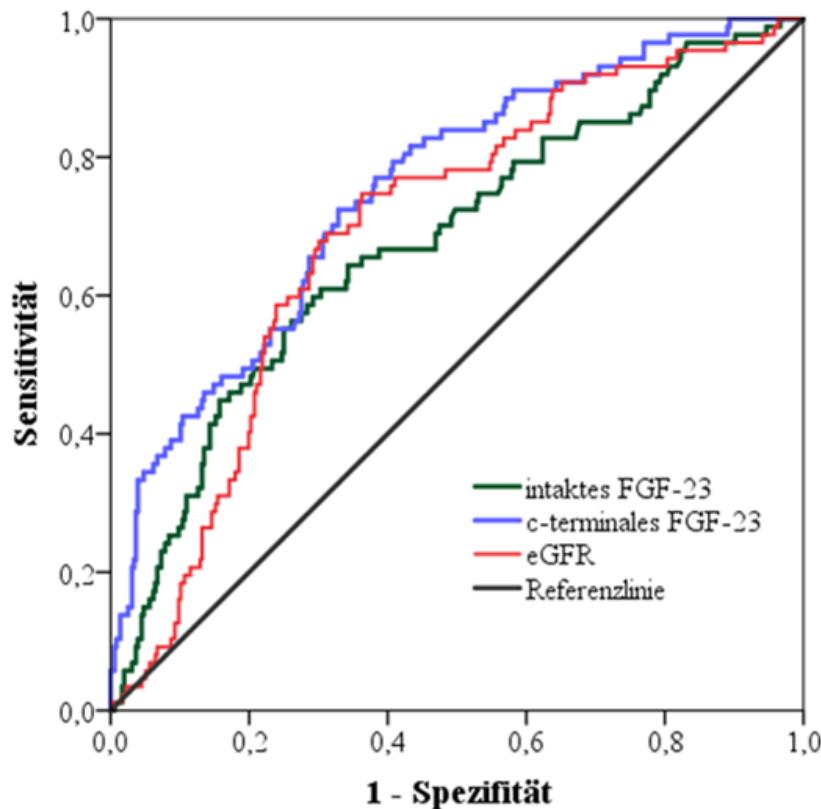
Da die ROC-Analysen nur als additive, explorative Analysen untersucht worden waren, haben wir auf einen statistischen Vergleich der AUC bewusst verzichtet.

**8.6.1 Abbildung 10: ROC-Kurve für den primären renalen Endpunkt**

Variable	AUC
iFGF-23-ELISA	0,764
cFGF-23-ELISA	0,785
GFR	0,782

**8.6.2 Abbildung 11: ROC-Kurve für den primären atherosklerotischen kardiovaskulären****Endpunkt**

Variable	AUC
iFGF-23-ELISA	0,625
cFGF-23-ELISA	0,670
GFR	0,662

**8.6.3 Abbildung 12: ROC-Analyse für kardiale Dekompensation mit Todesfällen**

Variable	AUC
iFGF-23-ELISA	0,676
cFGF-23-ELISA	0,753
GFR	0,694

## 9. Diskussion

### **9.1 Die chronische Nierenerkrankung als kardiovaskulärer Risikofaktor**

Laut aktueller Rechnungen führender nationaler und internationaler nephrologischer Fachgesellschaften (American Society of Nephrology (ASN), International Society of Nephrology (ISN) und European Renal Association European Dialysis and Transplant Association (ERA-EDTA)) vom November 2019 leiden über 850 Millionen Menschen an einer chronischen Nierenerkrankung (Jager et al., 2019). Das sind weltweit 10,4 % aller Frauen und 11,8 % aller Männer (ERA EDTA, 2018). Daten aus Deutschland zeigen höhere Prävalenzen der nicht-dialysepflichtigen Nierenfunktion: So wiesen von den insgesamt 7.115 Probanden der repräsentativen Querschnittsstudie im Alter von 18 - 79 Jahren etwa 12,3 % der Menschen eine eGFR von < 60 ml / min / 1,73 m<sup>2</sup> oder eine Albuminurie auf (Girndt, 2016). Mit zunehmendem Alter stieg die Prävalenz. Eine aktuelle Querschnittsstudie aus China zeigt eine CKD-Prävalenz von 16,4 % bei 23.869 erwachsenen Teilnehmern, welche aus vier verschiedenen Gegenden aus der chinesischen Provinz Henan stammten und sich an einem Fragebogen, einer klinischen Untersuchung und einer Blutentnahme beteiligten (Duan et al., 2019). Und eine Querschnittsstudie von dem National Health and Nutrition Survey (NHANES) aus den USA zeigte, dass die CKD-Prävalenz für die KDIGO-Stadien G2 - G5 zwischen 1988 - 1994 (15.488 Teilnehmer) und 1999 - 2004 (13.233 Teilnehmer) bei Männern von 8,2 % auf 11,1 % und bei Frauen von 12,1 % auf 15,0 % anstieg (Castro & Coresh, 2009).

Die chronische Nierenerkrankung birgt für Patienten nicht nur die Gefahr einer terminalen Niereninsuffizienz mit Dialysepflichtigkeit, sondern erhöht ebenfalls das Risiko von kardiovaskulären Ereignissen (Go et al, 2004). So zeigte eine epidemiologische Studie bei 1.268 Teilnehmern in den KDIGO-Stadien G2 - G4, dass das Risiko, an einem kardiovaskulären Ereignis zu versterben, 6-fach höher ist als jenes, eine terminale Niereninsuffizienz zu entwickeln (Dalrymple et al., 2011). Diese kardiovaskulären Erkrankungen umfassen vordergründig atherosklerotische kardiovaskuläre Erkrankungen („atherosclerotic cardiovascular disease“, ASCVD). Da deren traditionelle Risikofaktoren – hohes Alter, Nikotinkonsum, Dyscholesterinämie, Bluthochdruck und Diabetes Mellitus (Parikh et al., 2006) – mit möglicher Ausnahme des Nikotinkonsums bei CKD-Patienten deutlich häufiger auftreten als in der nierengesunden Bevölkerung (Longenecker et al., 2002), scheint es daher sinnvoll, dass die Optimierung dieser genannten traditionellen Risikofaktoren,

insbesondere eine Statin-Therapie zur Senkung des LDL-Cholesterins, bei der Behandlung von chronisch nierenkranken Patienten zum Therapiestandard gehört. Obwohl jedoch die Behandlung mit Statinen das kardiovaskuläre Risiko bei nierengesunden Menschen in nahezu allen Interventionsstudien reduziert hat (Cholesterol Treatment Trialists et al., 2012), zeigte sich bei Hämodialyse-Patienten keine eindeutige Risikoreduktion. So hatte weder die Therapie mit 20 mg Atorvastatin in der 4D-Studie (Wanner et al., 2005) noch die Therapie mit 10 mg Rosuvastatin in der „Assessment of Survival and Cardiovascular Events“ (AURORA)-Studie (Fellström et al., 2009) eine signifikante Risikoreduktion des primären kardiovaskulären Endpunktes zur Folge. In der „Study of Heart and Renal Protection“ (SHARP-Studie) konnte hingegen bei CKD-Patienten der KDIGO-Stadien G2 - G5 eine Senkung von ASCVD durch die kombinierte Cholesterinsenkung mittels Statin und Cholesterinabsorptionshemmer erzielt werden (Baigent et al., 2011).

Ein Grund für die mangelnde Ansprache auf die Monotherapie mit Statinen bei Patienten mit sehr weit fortgeschritten CKD könnte sein, dass innerhalb des Spektrums kardiovaskulärer Erkrankungen insbesondere myokardiale Erkrankungen – mehr als atherosklerotische kardiovaskuläre Erkrankungen – bei chronisch nierenkranken Menschen von Bedeutung sind (Herzog et al., 2011). Daten aus Querschnittsstudien suggerieren, dass bereits vor dem Einsetzen der Dialysepflichtigkeit mindestens jeder dritte CKD-Patient Zeichen einer chronischen Herzinsuffizienz aufweist (Herzog, 2005). Myokardiale Erkrankungen werden nicht alleine von den traditionellen ASCVD-Risikofaktoren verursacht, es treten vielmehr nicht-traditionelle kardiovaskuläre Risikofaktoren hinzu. Hierunter versteht man bei CKD-Patienten vor allem eine niedrige GFR und eine erhöhte Albuminurie. Beide sind unabhängig von den wichtigsten traditionellen Risikofaktoren mit einem schlechteren kardiovaskulären Outcome bei chronisch nierenkranken Patienten assoziiert (Mahmoodi et al., 2012). Weitere nicht-traditionelle Risikofaktoren bei CKD Patienten umfassen Mikroinflammation, oxidativen Stress, renale Anämie, erhöhtes Homocystein, Malnutrition (Yeun & Kaysen, 2000) und insbesondere einen gestörten Calcium-Phosphat-Stoffwechsel (Kendrick & Chonchol, 2008), welcher bei CKD-Patienten als Komponente einer „Chronic Kidney Disease - Mineral Bone Disorder“ (CKD-MBD) definiert wird.

Mehrere Studien haben konventionelle Komponenten des CKD-MBD wie Hyperphosphatämie, niedriges Calcitriol (im Folgenden auch als Hypovitaminose D bezeichnet), Hypokalzämie und sekundären Hyperparathyreoidismus als Risikofaktoren für ein erhöhtes kardiovaskuläres Mortalitätsrisiko bei Predialyse- und Dialysepatienten identifiziert. So zeigte sich eine Hyperphosphatämie sowohl bei 1.203 CKD-Patienten der KDIGO-Stadien G3 - G4 (Eddington

et al., 2010) als auch bei 12.833 Dialysepatienten (Santhi et al., 2001) mit einer erhöhten kardiovaskulären Mortalität assoziiert. Block et al berichteten ebenfalls bei 40.538 Hämodialysepatienten über ein erhöhtes kardiovaskuläres Mortalitätsrisiko bei erhöhtem Plasma-Phosphat. Sie zeigten darüber hinaus, dass auch erhöhtes Serum-Kalzium und sekundärer Hyperparathyreoidismus signifikant mit einem schlechteren kardiovaskulären Outcome assoziiert waren (Block et al., 1998; Block et al., 2004). Der starke Zusammenhang zwischen ausgeprägtem sekundärem Hyperparathyreoidismus und erhöhtem Risiko für kardiovaskuläre Mortalität wird auch in der Arbeit von Tentori et al deutlich (Tentori et al., 2015), welche auf Daten von 35.655 Teilnehmern aus der internationalen „Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study“ (DOPPS-Studie) basiert.

Niedriges Calcitriol war bei 444 Patienten mit einer GFR < 60 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> signifikant mit der kardiovaskulären Mortalität assoziiert (Pilz et al., 2011).

Um das kardiovaskuläre Risiko zu vermindern, standen daher zunächst Behandlungen der Hyperphosphatämie, der Hypovitaminose D und des sekundären Hyperparathyreoidismus bei chronisch Nierenkranken im Vordergrund. Die Studienlage dazu ist jedoch enttäuschend. So wurde in der „Evaluation of Cinacalcet Hydrochloride Therapy to Lower Cardiovascular Events“ (EVOLVE)-Studie durch Behandlung eines sekundären Hyperparathyreoidismus mit Cinacalcet bei 3.883 Hämodialysepatienten (Chertow et al., 2012) eine signifikante Senkung der kardiovaskulären Ereignisrate verfehlt. Die Behandlung von 148 Patienten mit einer eGFR von 20 - 45 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> mit verschiedenen Phosphatbindern (Kalziumazetat, Lanthancarbonat und Sevelamercarbonat) führte nach 19 Monaten nicht zu der erhofften verminderten, sondern zu einer verstärkten koronararteriellen und aortalen Kalzifikation (Block et al., 2012), sodass der Einsatz von Phosphatsenkern bei CKD-Patienten zumindest in den KDIGO-Stadien G3 - G4 trotz Phosphat- und PTH-senkender Wirkung fraglich bleibt. Studien zum prognostischen Benefit bei CKD-Patienten im KDIGO-Stadium G5 wurden 2019 initiiert: Ergebnisse stehen noch aus (Wolf & Andersen, Clinical Trials, NCT04095039).

Auch der Einsatz von Vitamin-D-Analoga erbrachte in randomisierten Studien bei CKD-Patienten bislang keinen eindeutigen Benefit: In der „Prediction of Muscular Risk in Observational Conditions“ (PRIMO)-Studie, in welcher echokardiografisch Veränderungen der linksventrikulären Masse und der linksventrikulären diastolischen Funktion ermittelt wurden, konnte durch die 48-wöchige Behandlung mit Vitamin-D-Analoga bei 227 CKD-Patienten der KDIGO-Stadien G3 - G4 keine Verbesserung der linksventrikulären Masse bzw. diastolischen Funktion erreicht werden (Thadhani et al., 2012). Auch in der OPERA-Studie, welche 60 nichtdialysepflichtige CKD-Patienten der KDIGO-Stadien G3 - G5 einschloss, zeigten sich bei

den Teilnehmern nach 52 Wochen Behandlung mit Paricalcitol ( $1 \mu\text{g}/\text{d}$ ) keine signifikanten echokardiografischen Veränderungen bezüglich der linksventrikulären Masse oder der linksventrikulären Ejektionsfraktion (Wang et al., 2014). In einer randomisierten Doppelblindstudie konnte bei 976 Hämodialyse-Patienten nach 48-monatiger Behandlung mit  $0,5 \mu\text{g}$  Alfacalcidol ebenfalls keine signifikante Senkung von kardiovaskulären Ereignissen beobachtet werden (J-DAVID Investigators et al., 2018).

Schlussendlich empfiehlt auch das KDIGO CKD-MBD-Leitlinien-Update aufgrund der schwachen Evidenz bezüglich eines optimalen PTH-Wertes bei CKD-Patienten in den KDIGO GFR-Stadien G3a - G5, keinen routinemäßigen Einsatz von Phosphatbindern, Calcitriol und Vitamin D-Analoga, sondern einen individuellen Therapieplan, startend mit der kleinsten Dosierung bei schwerem und progressivem Hyperparathyreoidismus (Kettler et al., 2017).

Aufgrund der unzureichenden Datenlage für konventionelle CKD-MBD Komponenten rückte in den letzten Jahren vermehrt der Fibroblastenwachstumsfaktor-23 (FGF-23) als Risikofaktor und potentielles neues Therapieziel zur Verbesserung der kardiovaskulären Prognose bei chronisch nierenkranken Patienten in den Fokus.

## **9.2 FGF-23 in CKD**

Mit abnehmender Nierenfunktion steigt Plasma FGF-23, welches bei Patienten mit CKD der KDIGO GFR-Stadien G4 - G5 mehr als 1000-fach erhöht sein kann (Larsson et al., 2003), supralinear an (O. Gutierrez et al., 2005). Offensichtlicher Grund ist zunächst die Kompensation des Verlustes von funktionsfähigen Nephronen. Obwohl die Verminderung der GFR und der renalen Phosphat-Clearance einen Anstieg von Phosphat-Plasmawerten erwarten ließe, erlaubt ein Anstieg von Plasma FGF-23, auch bei fortgeschritten CKD, über einen langen Zeitraum Plasmaphosphat im Normbereich zu halten (Seiler, Heine, & Fliser, 2009). Ein Anstieg von Phosphat kann zumeist erst bei einer  $\text{GFR} \leq 30 \text{ ml}/\text{min}/1,73 \text{ m}^2$  beobachtet werden (O. Gutierrez et al., 2005).

Erhöhtes Plasma FGF-23 trägt auch zum – bei chronischer Nierenerkrankung früh nachweisbaren – Mangel an aktivem Vitamin D und dem daraus resultierenden sekundären Hyperparathyreoidismus bei. Diese Hypovitaminose D wurde früher vor allem auf die Verminderung funktioneller Nephrone und die dadurch verminderte Syntheseleistung von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D zurückgeführt, da in den Zellen des proximalen Tubulus der Niere das in der Leber gebildete 25-Hydroxycholecalciferol durch die  $1\alpha$ -Hydroxylase zum Calcitriol aktiviert wird (Dusso, Brown, & Slatopolsky, 2005; O. Gutierrez et al., 2005; Slatopolsky &

Delmez, 1994). Diese Theorie erklärte jedoch nicht, warum es bereits in den KDIGO GFR-Stadien G2 und G3 zur signifikanten Abnahme der renalen Expression der 1-alpha-Hydroxylase kommt, wenn eigentlich noch genug Zellen im proximalen Tubulus der Niere zur Aktivierung von Vitamin D vorhanden sind und auch andere endokrine Funktionen der Niere wie die Bildung von Erythropoetin noch nicht zum Erliegen kommen (O. Gutierrez et al., 2005). Heute wird angenommen, dass weniger der Verlust von Tubuluszellen als die Zunahme von FGF-23, welches die Synthese von 1,25-Dihydroxy-Vitamin D inhibiert (Shimada et al., 2004), früh im Verlauf der chronischen Nierenerkrankung zur verminderten Aktivierung von Vitamin D beiträgt. Aufgrund des Mangels an aktivem Vitamin D kommt es nicht nur direkt zu einer vermehrten Sekretion von PTH aus den Nebenschilddrüsen, sondern über eine verminderte gastrointestinale Kalzium-Resorption auch zu einer Hypokalzämie, die ebenfalls eine vermehrte PTH-Bildung zur Folge hat (Bell, Demay, & Burnett-Bowie, 2010). Es können bei chronisch nierenkranken Patienten in leicht bis mittelgradigen KDIGO GFR-Kategorien folglich nicht nur das lang erhaltene normwertige Phosphat, sondern auch die Hypovitaminose D, die Hypokalzämie und der sekundäre Hyperparathyreoidismus zumindest partiell auf erhöhtes FGF-23 zurückgeführt werden.

Dies hilft zu erklären, warum hohe FGF-23-Plasmaspiegel trotz der vermeintlich protektiven Wirkung von FGF-23 auf das Plasma-Phosphat mit einem ungünstigen Outcome bei CKD-Patienten assoziiert sind: So zeigte sich in der „Mild to Moderate Kidney Disease“ (MMKD)-Studie bei 227 nicht-diabetischen CKD-Patienten der KDIGO GFR-Stadien G1 - G5 nach einer mittleren Follow-Up-Dauer von 4,4 Jahren eine unabhängige Korrelation von hohen FGF-23-Werten und renaler Progression (Fliser et al., 2007). Auch in der „Homocysteine in Kidney and End Stage Renal Disease“ (HOST)-Studie konnten Kendrick et al bei 1.099 nicht-dialysepflichtigen Teilnehmern der KDIGO GFR-Stadien G4 - G5 zeigen, dass erhöhte FGF-23-Werte nach einer mittleren Follow-Up-Dauer von 2,9 Jahren signifikant mit dem Eintreten von terminaler Niereninsuffizienz („End Stage Renal Disease“, ESRD) assoziiert sind (Kendrick et al., 2011). Etwa zeitgleich wurden Daten aus der „Chronic Renal Insufficiency Cohort“ (CRIC)-Studie von Isakova et al veröffentlicht, welche zeigten dass hohes FGF-23 bei 3.879 CKD-Patienten der KDIGO GFR-Stadien G2 - G5 in univariater Analyse nach einer mittleren Follow-Up-Dauer von 3,5 Jahren als signifikanter Risikofaktor für ESRD fungiert (Isakova et al, 2011). Interessanterweise war FGF-23 in diesen Daten nach multivariater Analyse bei CKD-Patienten mit einer eGFR < 30 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> nicht weiter signifikant mit dem Eintreten eines ESRD assoziiert, während FGF-23 bei CKD-Patienten mit einer GFR von > 30 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> weiterhin signifikanter Prädiktor blieb. In der Langzeitbeobachtung von

Edmonston et al wurden 3.879 Patienten der CRIC-Studie in einem Zeitraum von 8 Jahren beobachtet (Edmonston et al., 2019). In diesem Langzeit-Follow-Up blieb FGF-23 nach multivariater Analyse kein signifikanter Prädiktor für ESRD.

Auch eine Arbeit von Lundberg et al, in welcher die Assoziation von FGF-23 und renaler Progression bei 180 CKD-Patienten der KDIGO-Stadien G2 - G4 mit einer IgA-Nephropathie errechnet wurde, blieb diese nach multivariater Korrektur für u.a. eGFR und Albuminurie nicht weiter signifikant (Lundberg et al., 2012). Daten der „Joslin Kidney“ (JK)-Studie bestätigten bei 1.032 Teilnehmern mit gesunder Nierenfunktion ( $eGFR > 60 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ , GFR-Median 98  $\text{ml/min/1,73 m}^2$ ), dass FGF-23 nach multivariater Analyse kein signifikanter Prädiktor für renale Progression blieb (Nowak et al., 2018).

In unserer CARE FOR HOMe-Studie zeigt sich ebenfalls eine starke Assoziation zwischen FGF-23 und renaler Progression, obwohl die Assoziation im voll korrigierten Modell im Einklang mit oben genannten Arbeiten nicht mehr signifikant war. Unsere Arbeit unterscheidet sich in mehreren Punkten von der MMKD-Studie (Fliser et al., 2007): So war die Teilnehmerzahl in der MMKD-Studie geringer, die CKD-Patienten waren deutlich jünger, die Teilnehmer hatten ein breiteres Spektrum an GFR-Stadien (KDIGO G1 - G5) und Diabetes Mellitus galt als Ausschlusskriterium. Die mittlere Follow-Up-Dauer betrug in der MMKD-Studie 53 Monate und in der CARE FOR HOMe-Studie 60 Monate. Des Weiteren wurde in den Cox-Regressionsanalysen in der CARE FOR HOMe-Studie, nicht jedoch in der MMKD-Studie, die Albuminurie aufgrund ihrer bekannten Nicht-Normalverteilung, erst nach Logarithmierung eingerechnet. Der primäre renale Endpunkt war in der MMKD-Studie als Verdopplung des Serum-Kreatinins oder dialysepflichtigkeit definiert und wurde von 65 von insgesamt 277 Teilnehmern erreicht (in unserer Arbeit erreichten 147 von 544 Patienten den primären renalen Endpunkt). Dabei war auffällig, dass > 70 % der MMKD-Teilnehmer mit cFGF-23-Messungen  $> 104 \text{ RU/ml}$  nach 5 Jahren ein renales Ereignis hatten. Des Weiteren wurden die Kaplan-Meier-Analysen mit optimiertem cFGF-23-Grenzwert aus zuvoriger ROC-Analyse innerhalb derselben Kohorte (104 RU/ml) berechnet. Methodisch besser erscheint es, in einer (Sub-) Kohorte Grenzwerte – etwa in ROC-Analysen – zu definieren und diese dann nachfolgend in einer zweiten Kohorte zu validieren.

In der ROC-Analyse der MMKD war die AUC für cFGF- und iFGF-23-Werte jedenfalls – wie in der CARE FOR HOMe-Studie – kleiner als die AUC der eGFR.

### **9.3 cFGF-23-ELISA oder iFGF-23-ELISA?**

Zurzeit existieren zwei verschiedene Nachweismethoden für FGF-23. Der iFGF-23-ELISA weist ausschließlich intaktes FGF-23 nach, indem jeweils ein Antikörper am N-terminalen und ein Antikörper am C-terminalen Ende des Moleküls bindet. Der andere ELISA – cFGF-23-ELISA – weist sowohl intaktes FGF-23 als auch inaktivierte C-terminale FGF-23-Fragmente nach, da lediglich Antikörper verwendet werden, welche am C-terminalen Ende binden. In den meisten Studien wird allein mittels cFGF-23-ELISA gemessen, da sich in mehreren epidemiologischen Arbeiten eine enge Korrelation zwischen dem cFGF-23-ELISA und iFGF-23-ELISA zeigte: So korrelieren in der MMKD Studie bei 227 CKD-Patienten (G1 - G5) sowohl cFGF-23-Messungen ( $r = -0,61$ ) als auch iFGF-23-Messungen ( $r = -0,40$ ) signifikant (jeweils  $p < 0,001$ ) mit der GFR (Fliser et al., 2007). Die Korrelation zwischen cFGF-23-Messungen und iFGF-23-Messungen wird leider nicht beschrieben. Eine sehr enge Korrelation zwischen dem cFGF-23-ELISA und dem iFGF-23-ELISA mit einem Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,804$  ( $p < 0,001$ ) konnten Torres et al bei 99 Hämodialyse Patienten nachweisen (Torres, 2007). Gutierrez et al zeigten ergänzend einen Korrelationskoeffizienten von  $r = 0,74$  ( $p < 0,001$ ) bei 400 Hämodialyse Patienten (Gutierrez et al., 2008). Auch in unseren Daten ergab sich zwischen den logarithmierten iFGF-23- und den logarithmierten cFGF-23-Messungen ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0,608$  ( $p < 0,001$ ).

Eine andere Arbeit zeigt hingegen weniger signifikante Korrelationen zwischen den beiden FGF-23-ELISAS. So ergab sich in der Arbeit von Burnett et al bei 66 nierengesunden Teilnehmern, welche sich einer fünf-tägigen Phosphatarmen bzw. -reichen Diät unterzogen, lediglich ein Korrelationskoeffizient von  $r = 0,26$  ( $p < 0,01$ ) zwischen dem iFGF-23-ELISA und dem cFGF-23-ELISA (Burnett et al., 2006). Mittels iFGF-23-ELISA konnten nicht nur größere FGF-23-Wertveränderungen in beiden Diätgruppen nachgewiesen werden, der iFGF-23-ELISA zeigte weiterhin stärkere Korrelationen mit Serumphosphat, Phosphatausscheidung im Urin und 1,25-dihydroxyvitamin D als der cFGF-23-ELISA. Ob diese Arbeit aufgrund der relativ kleinen Größe des Patientenkollektivs und der Untersuchung von nierengesunden Teilnehmern mit den Studien von Fliser und Gutierrez vergleichbar ist, bleibt fraglich.

Allerdings erbringt auch der Vergleich von Messergebnissen mit verschiedenen ELISA-Kits für iFGF-23-Messungen keine zufriedenstellende Übereinstimmung: Smith et al zeigten eine schwache Übereinstimmung zwischen den iFGF-23-ELISA-Kits der Hersteller Millipore, Immutopics – welche in dieser Arbeit verwendet wurden – und Kainos (Smith, 2013). Die fehlende Übereinstimmung war in der Arbeit von Smith et al bei physiologischen FGF-23-

Werten stärker als bei Hämodialyse-Patienten. Einen weiteren Hinweis auf die geringe Übereinstimmung zwischen verschiedenen iFGF-23-ELISA-Kits zeigten Durham et al, die Plasma-FGF-23 bei Studienteilnehmern mit niedrigem oder hohem Ferritin verglichen. Während bei Teilnehmern mit niedrigem Ferritin signifikant höhere FGF-23-Werte bei der Verwendung des iFGF-23-ELISA-Kits von Immutopics gemessen wurden (bei denen erwartungsgemäß ebenso auch cFGF-23-Messungen erhöht waren), zeigten sich FGF-23-Werte bei niedrigem Ferritin bei Verwendung des iFGF-23-ELISA von Kainos nur tendenziell erhöht, der Unterschied zu normalwertigem Ferritin war jedoch nicht signifikant (Durham et al, 2007).

Shimada et al zeigten, dass das meiste FGF-23, welches in Dialysepatienten nachgewiesen wird, biologisch aktiv ist (Shimada et al., 2010), indem sie bei 21 erwachsenen und 13 pädiatrischen ESRD-Patienten die biologische Aktivität von FGF-23 mittels Zell-basiertem Egr1-Reporter-Assay quantifizierten und die Ergebnisse mit der immunreaktiven Konzentration von FGF-23, gemessen mittels iFGF-23-ELISA von Kainos und cFGF-23-ELISA von Immutopics, verglichen. Die Untersuchungen zeigten, dass die Werte des biologisch aktiven FGF-23 stark mit den immunreaktiven FGF-23-Konzentrationen korrelierten. Zusätzlich bestimmten Shimada et al die Präsenz von intaktem FGF-23 und C-terminalen FGF-23-Fragmenten mittels Western-Blot-Analyse, in der ausschließlich FGF-23 mit der Größe des intakten Hormons nachgewiesen werden konnten.

Diese Ergebnisse konnten wir in unserer Arbeit nicht bestätigen. Zwar korrelierten beide ELISAs signifikant mit der GFR, visuell imponieren cFGF-23-Messungen im Box-Plot jedoch stärker mit der GFR assoziiert als iFGF-23-Messungen. Ähnliche Ergebnisse zeigten bereits Chudek et al 2014, in welchen cFGF-23-Messungen in allen KDIGO GFR-Stadien stärker mit der GFR assoziiert waren als iFGF-23-Messungen (Chudek et al., 2014).

In der Vergangenheit waren hohe FGF-23-Plasmawerte signifikant mit hohen Werten von Entzündungsmarkern (IL-6, CRP, TNF- $\alpha$  und Fibrinogen) bei chronisch nierenkranken Patienten assoziiert (Mendoza et al., 2012). Auch in einer späteren Studie von David et al zeigten sich bei CKD-Mäusen mit Entzündung gesteigerte FGF-23-Werte (David et al., 2016). Interessanterweise waren bei akuter Entzündung allein Messungen im cFGF-23-ELISA deutlich erhöht, iFGF-23-Messungen jedoch im Normalbereich. Bei chronischer Entzündung hingegen waren auch iFGF-23-Messungen erhöht, cFGF-23-Messungen aber weiterhin wesentlich stärker als iFGF-23-Messungen (David et al., 2016). Es wäre möglich, dass bei chronisch nierenkranken Patienten, welche zumeist einen mikroinflammatorischen Zustand aufweisen, nicht nur die FGF-23-Produktion erhöht wird, sondern intaktes FGF-23 auch

vermehrt in C-terminale FGF-23-Fragmente gespalten wird (Bozentowicz-Wikarek et al., 2016; Hanudel et al., 2016). Dies würde erklären, warum in unserer Arbeit cFGF-23-Messungen im Box-Plot optisch stärker mit der eGFR assoziiert sind als iFGF-23-Messungen.

## **9.4 FGF-23 als Prädiktor für Gesamtüberleben, kardiovaskuläre Ereignisse und kardiale Dekompensation**

Das phosphaturische Hormon FGF-23 ist in unserer CARE FOR HOMe-Studie signifikant mit kardiovaskulären Ereignissen assoziiert, was in Einklang zu zahlreichen anderen epidemiologischen Studien steht (Tabelle 9b). Weitere Analysen aus CARE FOR HOMe, die nicht Teil dieser Promotionsarbeit sind, zeigen auch eine Assoziation mit der Gesamtmortalität (Manuskript noch in Bearbeitung). Die Assoziation von FGF-23 mit der Gesamtmortalität wurde erstmals in der „Accelerated Mortality on Renal Replacement“-Studie (ArMORR-Studie) bei 400 Hämodialyse-Patienten beobachtet (Gutierrez et al., 2008). Auch nach multivariater Analyse blieb diese Assoziation signifikant. Nachfolgend konnten Isakova et al bei 3.879 nicht dialysepflichtigen CKD-Patienten der KDIGO GFR-Stadien G2 - G4 aus der CRIC-Studie nachweisen, dass FGF-23 sowohl in univariater als auch in multivariater Analyse mit dem Gesamtüberleben assoziiert ist (Isakova et al., 2011). In einer späteren Analyse einer Subkohorte von 1.135 CKD-Patienten aus der CRIC-Studie zeigte sich über eine mittlere Follow-Up-Dauer von 4 Jahren ebenfalls eine signifikante Assoziation zwischen der Gesamtmortalität und FGF-23-Werten (Isakova et al., 2018).

Die Assoziation von FGF-23 und Mortalität zeigte sich nachfolgend erstaunlicherweise sogar über diese Kohorten von nierenkranken Patienten hinaus auch in nicht-nephrologischen Kohorten (siehe Tabelle 9a). Die „Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health“ (LURIC)-Studie, in welcher 2.974 Patienten, die sich einer Koronarangiografie unterzogen, für eine mittlere Follow-Up-Dauer von 9,9 Jahren beobachtet wurden, bestand eine signifikante Assoziation von FGF-23 und Mortalität, auch nach multivariater Analyse (Brandenburg et al., 2014).

Es besteht weitgehender Konsensus, dass der Assoziation zwischen FGF-23 und Mortalität vor allem eine erhöhte kardiovaskuläre Ereignisrate bei Probanden mit erhöhtem FGF-23 zugrunde liegt. FGF-23 erweist sich in nahezu allen bisher publizierten Kohortenstudien nicht nur als Prädiktor von Gesamtüberleben, sondern auch als Prädiktor von kardiovaskulären Ereignissen: So war FGF-23 nach einer mittleren Follow-Up-Dauer von 5 Jahren bei 149 CKD-Patienten der KDIGO GFR-Stadien G2 - G4 in einer eigenständigen Vorläuferstudie der CARE FOR

HOMe-Studie signifikant mit kardiovaskulären Ereignissen assoziiert (Seiler et al., 2010). Bei 1.099 Teilnehmern in der HOST-Studie zeigte sich, dass nicht dialysepflichtige Teilnehmer mit einer  $\text{GFR} < 30 \text{ ml/min}/1,73 \text{ m}^2$  mit hohen FGF-23-Werten ein signifikant höheres Risiko hatten, kardiovaskuläre Ereignisse zu entwickeln, als Teilnehmer mit niedrigerem FGF-23 (Kendrick et al., 2011). Scialla et al zeigten ergänzend bei 3.860 CKD-Patienten der KDIGO GFR-Stadien G2 - G4 aus der CRIC-Studie eine signifikante Assoziation zwischen FGF-23 und kardiovaskulären Ereignissen – auch nach multivariater Analyse (Scialla et al., 2014). Außerhalb des Spektrums von nephrologischen Studien konnte der Zusammenhang zwischen FGF-23 und kardiovaskulären Ereignissen bei 833 Teilnehmern mit stabiler KHK aus der „Heart and Soul“-Studie während einer mittleren Follow-Up-Dauer von 5,2 Jahren in univariater und multivariater Analyse nachgewiesen werden (Parker et al., 2010).

Innerhalb des Spektrums kardiovaskulärer Ereignisse haben wir in unserer CARE FOR HOMe-Studie bewusst zwischen atherosklerotischen kardiovaskulären Ereignissen (ASCVD) und nicht-atherosklerotischen Ereignissen – wie stationäre Aufnahmen wegen kardialer Dekompensation – unterschieden.

Wir konnten nachweisen, dass sich zwar univariat eine Assoziation zwischen FGF-23 und ASCVD ergibt, diese Assoziation nach Korrektur für Störvariablen aber deutlich abgeschwächt erscheint. Diese Beobachtung steht im Einklang mit vielen vorherigen nephrologischen (Tabelle 9 b) und nicht-nephrologischen Studien (Tabelle 9 a). So zeigten Ix et al bei 3.107 Teilnehmern aus der Allgemeinbevölkerung, welche  $\geq 65$  Jahre alt waren, dass FGF-23 in univariater Analyse zwar signifikant mit ASCVD assoziiert ist, dass sich jedoch diese Assoziation nach multivariater Korrektur als nicht weiter signifikant darstellte (Ix et al., 2012). Innerhalb des Spektrums kardiovaskulärer Erkrankungen konnten wir statt einer starken Assoziation von FGF-23 mit ASCVD in der CARE FOR HOMe-Studie vielmehr einen starken Zusammenhang zwischen sowohl cFGF-23- als auch iFGF-23-Messungen mit akuter kardialer Dekompensation feststellen. Auch dieses steht im Einklang mit epidemiologischer Evidenz aus anderen Studien. So zeigten Scialla et al bei 3860 Patienten der KDIGO GFR-Stadien G2 - G4 aus der CRIC-Studie nach einer mittleren Follow-Up-Dauer von 3,7 Jahren, dass hohe FGF-23-Werte stärker mit kardialen Dekompensationen assoziiert waren als mit atherosklerotischen Ereignissen (Scialla et al., 2014). Im Rahmen der „Cardiovascular-Health-Study“ (CHS) fand man heraus, dass FGF-23-Werte sowohl bei nierengesunden ( $n = 1.979$ ) als auch bei chronisch nierenkranken Patienten ( $n = 1.228$ ), definiert als CKD-Patienten mit einer  $\text{eGFR} < 60 \text{ ml/min}/1,73 \text{ m}^2$ , nach Korrektur im multivariaten Modell für traditionelle Risikofaktoren nach einer mittleren Follow-Up-Dauer von 10,5 Jahren eine stärkere

Assoziation mit der Gesamtmortalität und kardialer Dekompensation zeigten als mit ASCVD (Ix et al., 2012).

Prädisposition für eine Herzinsuffizienz und nachfolgend für kardiale Dekompensationen bei chronisch Nierenkranken ist die linksventrikuläre Hypertrophie (LVH) (Di Lullo et al., 2015), welche bei chronisch nierenkranken Menschen sehr prävalent ist. Foley et al beschrieben bereits im Jahre 1995, dass 74 % der insgesamt 433 teilnehmenden Dialysepatienten echokardiographisch eine LVH aufwiesen (Foley et al., 1995). Da eine linksventrikuläre Hypertrophie kausaler Faktor für verminderte Ejektionsfraktion und somit kardiale Dekompensation und Mortalität bei chronischen Nierenkranken ist, verwundert nicht, dass die mögliche Bedeutung von FGF-23 für die Entstehung einer LVH in den letzten Jahren intensiv untersucht wurde (Stöhr et al, 2018). Gutiérrez et al zeigten beispielsweise eine signifikante Assoziation zwischen FGF-23 und linksventrikulärer Hypertrophie (LVH) (Gutiérrez et al., 2010): So waren hohe FGF-23-Werte bei 162 Patienten der KDIGO GFR-Stadien G2 - G4 auch nach multivariater Analyse signifikant mit echokardiografisch beurteilter LVH assoziiert. Auch in Daten aus der CRIC-Studie, in welcher 3.070 Teilnehmern mit einer eGFR von 20 - 70 ml/min/1,73 m<sup>2</sup> eingeschlossen wurden, zeigte sich die unabhängige Assoziation zwischen erhöhtem FGF-23 und linksventrikulärem Massenindex und exzentrischer und konzentrischer LVH. Diese bestand auch nach multivariater Analyse (Faul et al., 2011). Außerdem zeigten sich hohe FGF-23-Werte bei 411 Teilnehmern, dessen linksventrikuläre Masse bei Studieneinschluss normwertig waren, nach einer mittleren Follow-Up-Dauer von 2,9 Jahren mit einer neuauftretenden LVH signifikant assoziiert (Faul et al., 2011). Eine Korrektur für Störvariablen erfolgte allerdings nicht.

2009 wurde darüber hinaus bereits erstmals beschrieben, dass nicht nur bei chronisch nierenkranken Patienten, sondern auch bei einer repräsentativen Kohorte aus der Allgemeinbevölkerung von 967 Teilnehmern der PIVUS-Studie hohe FGF-23-Werte unabhängig mit echokardiographisch diagnostizierten LVH assoziiert waren (Mirza et al., 2009). Die Assoziation zwischen FGF-23 mit LVH in Querschnittsanalysen und zwischen FGF-23 und kardialer Dekompensation in Längsschnittanalysen – auch nach Korrektur für Nierenfunktion und die traditionellen Risikofaktoren (Faul et al., 2011) – werfen die Frage auf, ob FGF-23 womöglich direkt kardiotoxisch wirkt (Scialla et al., 2014).

*Tabelle 9a:* Nicht-nephrologische Studien zu kardiovaskulären Ereignissen, kardialer Dekompensation und Gesamt mortalität (zitiert nach Heine, Nangaku, & Fliser, 2013).

Studie	Studienart	Teilnehmer	Follow-Up	Endpunkte	Prädiktive Bedeutung von FGF-23
CHS	Prospektive Kohortenstudie	3.107 Teilnehmer $\geq$ 65 Jahre aus der Allgemeinbevölkerung	10,5 Jahre	Gesamt mortalität, kardiale Dekompensation, kardiovaskuläre Ereignisse	++ ++ +/-
Heart and Soul	Prospektive Kohortenstudie	833 Teilnehmer mit stabiler KHK	6 Jahre	Gesamt mortalität, kardiovaskuläre Ereignisse, Myokardinfarkt kardiale Dekompensation, Schlaganfall	++ ++ -- ++ ++
HOM SWEET HOMe	Prospektive Kohortenstudie	1.309 Teilnehmer, die sich einer Koronarangiografie unterzogen	3 Jahre	Linksventrikuläre Funktion, Vorhofflimmern	++ ++
PEACE	Fall-Kontroll-Studie	1.100 Teilnehmer mit stabiler KHK	5 Jahre	Kardiovaskuläre Mortalität, kardiale Dekompensation Myokardinfarkt, Schlaganfall	++ ++ - -

HPFS	Fall-Kontroll-Studie	1.259 Teilnehmer ohne prävalente kardiovaskuläre Ereignisse	10 Jahre	Nicht-letal Myokardinfarkt, letale kardiovaskuläre Ereignisse	-- --
WHAS	Prospektive Kohortenstudie	701 physisch beeinträchtigte Frauen	18 Monate	Kardiovaskuläre Ereignisse, Gesamt mortalität	++ --

Tabelle 9a: CHS: Cardiovascular Health Study, PEACE: Preventing of Events with Angiotensin-Converting-Enzyme, HPFS: Health Professionals Follow-Up Study, WHAS: Women's Health and Aging Study, + Prädiktor in univariater Analyse, - kein Prädiktor in univariater Analyse, ++ Prädiktor in multivariater Analyse, -- kein Prädiktor in multivariater Analyse

Tabelle 9b: Studien zur renalen Progression, ASCVD, kardialer Dekompensation und Gesamtüberleben bei CKD-Patienten

Autor (Jahr)	Studie	Teilnehmer	FGF-23	Follow-Up	Endpunkte	Ergebnisse
(Larsson, 2003)	-	83 (G1 - G5)	cFGF-23	-	Renale Progression	Unabhängiger Prädiktor
(Gutierrez, 2005)	-	80 (G1 - G5)	cFGF-23	-	Renale Progression	Unabhängiger Prädiktor
(Fliser, 2007)	MMKD	227 (G1 - G5)	cFGF-23 & iFGF-23	4,5 Jahre	Renale Progression	Unabhängige Prädiktoren
(Gutierrez, 2008)	ArMORR	10.044 (G5)	cFGF-23 & iFGF-23	1 Jahr	Gesamt mortalität	Unabhängige Prädiktoren
(Jean, 2009)	-	219 (G5)	cFGF-23	2 Jahre	Gesamt mortalität	Unabhängiger Prädiktor
(Isakova, 2011)	CRIC	3.612 (G2 - G4)	cFGF-23	3,5 Jahre	Renale Progression, Gesamt mortalität	Unabhängiger Prädiktor

(Ix, 2012)	CHS	3.107 (Allgemeinbevölkerung)	cFGF-23	10,5 Jahre	Gesamtmortalität, kardiale Dekompensation, ASCVD	Unabhängiger Prädiktor (stärkere Assoziation mit kardialer Dekompensation als mit ASCVD)
(Shibata, 2013)	-	100 (G1 – G5)	iFGF-23	1 Jahr	ASCVD	Unabhängiger Prädiktor
(Scialla, 2014)	CRIC	3.860 (G2 - G4)	cFGF-23	3,6 Jahre	Kardiale Dekompensation, ASCVD	Unabhängiger Prädiktor (stärkere Assoziation mit kardialer Dekompensation als mit ASCVD)
(Seiler, 2014)	CARE FOR HOMe	444 (G2 - G4)	cFGF-23	4 Jahre	Kardiale Dekompensation, ASCVD	Unabhängiger Prädiktor für kardiale Dekompensation, Keine signifikante Assoziation mit ASCVD
(Chonchol, 2016)	HEMO	1.846 (G5)	iFGF-23	4 Jahre	Gesamtmortalität	Unabhängiger Prädiktor
(Isakova, 2018)	CRIC	1.135 (G2 - G4)	cFGF-23	4 Jahre	Gesamtmortalität	Unabhängiger Prädiktor
Aktuelle Arbeit	CARE for HOMe	544 (G2 - G4)	cFGF-23 & iFGF-23	5 Jahre	Gesamtmortalität, ASCVD, kardiale Dekompensation	Unabhängige Prädiktoren für kardiale Dekompensation, Keine signifikante Assoziation mit ASCVD

Tabelle 9b: MMKD: "Mild to Moderate Kidney Disease"; ArMORR: Accelerated Mortality on Renal Replacement; CRIC: Chronic Renal Insufficiency Cohort; CHS: Cardiovascular Health Study; HEMO: Hemodialysis; ASCVD: atherosklerotische kardiovaskuläre Ereignisse.

## **9.5 FGF-23 als Therapieansatz?**

Berücksichtigt man die direkte Verbindung zwischen FGF-23 und einem erhöhten Mortalitätsrisiko in epidemiologischen Studien (Gutierrez et al., 2008; Isakova et al., 2011) und die in experimentellen Studien diskutierte Kardiotoxizität durch FGF-23 (Faul et al., 2011) könnten therapeutische Maßnahmen, welche Plasma-FGF-23 senken oder die Wirkung von FGF-23 inhibieren, auch das Mortalitätsrisiko vermindern (Wolf, 2012). So diskutierten Wolf et al 2012 eine Reihe von Strategien, um FGF-23 bei CKD-Patienten zu senken und damit möglicherweise das kardiovaskuläre Risiko zu vermindern (Wolf, 2012). Diese Strategien waren: phosphatarme Diät, Behandlung mit Phosphatbindern, Kalzimimetika, Vitamin D und die Inhibition der FGF-23-Wirkung durch FGF-Rezeptor-Inhibition.

In einer Studie, welche 29 nierengesunde Männer einschloss, konnte eine fünftägige phosphatarme Ernährung eine signifikante Senkung von FGF-23-Spiegeln bewirken (Ferrari et al., 2005). Darüber hinaus verglichen Moe et al in einer Cross-Over-Studie bei neun CKD-Patienten den Einfluss einer siebentägigen vegetarischen Diät mit einer siebentägigen Fleisch-Diät auf FGF-23 (Moe et al., 2011). Ferraris Ergebnisse ergänzend konnten sie auch für chronisch nierenkranke Patienten einen senkenden Effekt auf FGF-23 durch phosphatarme Ernährung nachweisen. Ähnliche Ergebnisse konnten auch bei chronisch nierenkranken Ratten beobachtet werden: Eine phosphatarme Diät über 15 Tage führte auch bei den Tieren zu einer signifikanten Senkung des Plasma-FGF-23 (Rodriguez-Ortiz et al., 2020).

Im Gegensatz dazu steht einer ältere Studie, welche 21 nierengesunde und 13 chronisch nierenkranke Patienten der KDIGO GFR-Stadien G2 - G4 einschloss: Dort zeigte sich im Gruppenvergleich nach einem Frühstück mit 500 mg Phosphat und einem Frühstück mit 250 mg Phosphat kein signifikanter postprandialer Anstieg von Plasma-FGF-23 (Isakova et al., 2008). In einer neueren Studie von Emrich et al wurde der Effekt einer phosphatarmen Ernährung auf Plasma-iFGF-23- und -cFGF-23-Messungen bei nierengesunden Probanden überprüft, die sich einer Höhenexposition unterzogen (Emrich et al., 2019). Interessanterweise konnte weder in der Gruppe, welche eine strikte phosphatarme Diät (700 - 800 mg/d) einhielt, noch in der Kontrollgruppe mit weniger restriktiver Phosphatzufuhr (1300 - 1400 mg/d) gegenüber den Ausgangswerten vor Diätmodifikation eine Senkung von Plasma-iFGF-23- oder -c-FGF-23-Messungen beobachtet werden. Der FGF-23-senkende Effekt einer phosphatarmen Ernährung bleibt also fraglich.

Auch die Datenlage zur Verminderung von FGF-23 durch Phosphatbinder bleibt unklar. Ein senkender Effekt auf Plasma-FGF-23 durch Phosphatbinder konnten in vergangenen Studien größtenteils nachgewiesen werden: So führte sowohl die Behandlung mit Sevelamer als auch mit Calciumacetat (G. Block et al., 2012; Oliveira et al., 2010) bei chronisch nierenkranken Patienten der KDIGO GFR-Stadien G3a - G4 zu einer Verminderung von Plasma-FGF-23. Die vierwöchige Behandlung mit Lanthancarbonat konnte Plasma-FGF-23 bei chronisch nierenkranken Patienten der KDIGO GFR-Stadien G3a - G3b ebenfalls signifikant senken (Gonzales-Parra et al., 2011), während eine zweiwöchige Behandlung für diesen Effekt noch nicht ausreichte (Isakova et al., 2011). Isakova et al fanden weiterhin, dass bei CKD-Patienten in den Stadien G3 - G4 vor allem die Kombination aus Phosphatbinder mit phosphatärmer Ernährung zu einer Senkung von FGF-23 führte (Isakova et al., 2013). Auch bei ESRD-Patienten konnte nach 40-wöchiger Behandlung mit Sevelamer und Lanthancarbonat eine signifikante Senkung von Plasma-FGF-23 beobachtet werden (Rodelo-Haad et al., 2018). Auf den potentiellen prognoseverbessernden Effekt von Phosphatbindern auf die Gesamtmortalität bei Hämodialyse-Patienten – unabhängig von einem eventuellen Effekt auf FGF-23 – deutet die nicht-randomisierte ArMORR-Studie von Isakova et al hin (Isakova et al., 2009). Diese Ergebnisse müssen jedoch in weiteren Studien bestätigt werden und der Beitrag der postulierten FGF-23-Senkung zum etwaigen Benefit von Phosphatbindereinnahme spezifisch erfasst werden. Zudem sind auch hier die Ergebnisse widersprüchlich: So hat eine weitere Studie, welche den Effekt von Sevelamer auf FGF-23-Werte überprüfte, nach 3-monatiger Einnahme keine signifikante Veränderung der FGF-23-Werte festgestellt (Spatz et al, 2013). Auch eine 12-monatige Kombination aus Lanthanumcarbonat und Niktoinamid führte bei CKD-Patienten der KDIGO GFR-Stadien G3 - G4 zu keiner signifikante Senkung von Plasma-FGF-23 (Ix et al., 2019).

Ähnlich uneindeutige Ergebnisse zeigen Studien, welche die Folgen einer Behandlung mit Kalzimimetika auf FGF-23-Werte überprüften: Die EVOLVE-Studie konnte bei 2.985 Hämodialyse-Patienten eine signifikante Verminderung von Plasma-FGF-23 durch die 100-wöchige Behandlung mit Cinacalcet zeigen (Moe et al., 2015). Im Gegensatz dazu zeigten in einer Arbeit von Finch et al nierengesunde und nierenkranke Mäuse, welche 6-Wochen lang eine tägliche Injektion mit Cinacalcet (15 mg/kg KG) erhielten, sehr unterschiedliche Effekte auf das Plasma-FGF-23 (Finch et al., 2010). Es ergab sich beispielsweise für die iFGF-23-Werte eine Bandbreite von 1.097 - 13.691 pg/ml. Auch aus dieser Arbeit kann somit keine eindeutige Schlussfolgerung über den Effekt von Cinacalcet auf FGF-23 gezogen werden.

Es ist bekannt, dass Vitamin D FGF-23 erhöht (Saito et al., 2005). Da sich eine Vitamin D-Therapie zumindest in epidemiologischen Studien positiv auf das Überleben bei sowohl dialysepflichtigen (Teng et al., 2003) als auch nicht-dialysepflichtigen CKD-Patienten (Shoben et al, 2008) auswirkt, hohes Plasma-FGF-23 jedoch einen Risikofaktor für die Gesamtmortalität darstellt (Gutierrez et al., 2008; Isakova et al., 2011), bleibt fraglich, ob eine therapeutische Senkung von Vitamin D, die unabhängig von der theoretischen Überlegung praktisch schwer umsetzbar ist, durch die daraus folgende Plasma-FGF-23-Minderung einen Benefit auf das Gesamtüberleben hätte. Umgekehrt könnte die FGF-23-Erhöhung durch Vitamin D erklären, warum randomisierte Studien zur Vitamin D-Therapie keinen Benefit brachten. So hatte die Behandlung mit Paricalcitol von 227 CKD-Patienten der KDIGO GFR-Stadien G2 - G4 über 48 Wochen in der PRIMO-Studie keinen Einfluss auf die kardiovaskuläre Mortalität bei chronisch nierenkranken Patienten (Thadhani et al., 2012). Eine signifikante Risikominderung von kardiovaskulären Ereignissen konnte bei einer täglichen Behandlung mit 0,5 µg Alfacalcidol über eine mittlere Follow-Up-Dauer von 4 Jahren bei 495 Hämodialyse-Patienten ebenfalls nicht festgestellt werden (J-DAVID Investigators et al., 2018). Und auch in der prospektiven, doppelblind randomisierten OPERA-Studie blieb ein Effekt auf die linksventrikuläre Hypertrophie bei 60 chronisch nierenkranken Patienten der KDIGO GFR-Stadien G3 - G5 nach 52-wöchiger Behandlung aus (Wang et al., 2014). Bei CKD-Mäusen wiederum konnte ein protektiver Effekt von Calcitriol nachgewiesen werden: Es zeigte sich, dass die 10-wöchige Behandlung das Risiko einer LVH verminderte. Eine ergänzende in vitro Untersuchung an Kardiomyozyten bestätigte diese Ergebnisse (Leifheit-Nestler et al., 2017). Studien, welche den Effekt einer Calcitriol-Behandlung auf Plasma-FGF-23-Werte zeigen, unterscheiden sich ebenfalls enorm: So zeigte sich nach einer einwöchigen Behandlung mit 0,25 µg Calcitriol pro Tag bei 12 CKD-Patienten der KDIGO GFR-Stadien G2 - G4 bei manchen Teilnehmern eine Verdopplung und bei anderen Teilnehmern keine Veränderung der Plasma-FGF-23-Werte (Isakova et al., 2012). In einer anderen Arbeit wurde eine signifikante Erhöhung von Plasma-FGF-23 bei 60 pädiatrischen Peritonealdialyse-Patienten nach achtmonatiger oraler Therapie mit Calcitriol oder Doxercalciferol gemessen (Wesseling-Perry et al., 2011). Es besteht die Möglichkeit, dass ebendie CKD-Patienten, die von einer Vitamin D-Therapie profitieren, jene sind, bei denen Vitamin D kein Einfluss auf das Plasma-FGF-23 hat (Wolf, 2012). Insgesamt bedarf es aber weiterer und vor allem größerer Studien, um die prognostische Relevanz der Interaktionen zwischen Vitamin D und FGF-23 zu verdeutlichen.

Wolf et al diskutierten bereits 2012 einen weiteren Ansatz für die FGF-23-Inhibition mittels anti-FGF-23-Antikörper im Falle einer direkttoxischen Wirkung des phosphaturischen Hormons (Wolf, 2012). Zu dieser Zeit fehlte jedoch noch das Verständnis, wie genau FGF-23 eine LVH herbeiführen könnte. Inzwischen gibt es einige Theorien, welche im Folgenden diskutiert werden.

## **9.6 Ist FGF-23 potentiell kardiotoxisch?**

Mirza et al und Gutiérrez et al konnten zwar eine signifikante Korrelation zwischen hohen FGF-23-Werten und einer LVH aufzeigen (Mirza et al., 2009; Gutiérrez et al., 2010), ob FGF-23 jedoch eine direkte Wirkung an den Kardiomyozyten erfüllt oder lediglich ein Marker für die LVH ist, konnten epidemiologische Studien naturgemäß nicht beantworten.

Es wurde in der Vergangenheit postuliert, dass besonders hohe FGF-23-Konzentrationen, wie sie bei Dialyse-Patienten vorkommen, zu einer Klotho-unabhängigen Aktivierung von FGF-Rezeptoren führen können (Razzaque et al, 2009). Dieser Theorie gingen Faul et al im Jahre 2011 nach, indem sie intaktes FGF-23 *in vitro* in isolierte Mäuse-Myozyten injizierten, welche nachfolgend eine myokardiale Hypertrophie entwickelten. Da Klotho einen wichtigen Korezeptor für FGF-23 in der Niere darstellt (Urakawa et al., 2006), überprüften Faul et al mittels Polymerase-Kettenreaktion („Polymerase Chain Reaction“, PRC), ob Klotho in den Herzmuskelzellen nachweisbar ist. Interessanterweise konnte jedoch in den Kardiomyozyten kein Klotho nachgewiesen werden. Darüber hinaus fand die Arbeitsgruppe heraus, dass der Effekt der myokardialen Hypertrophie nach FGF-23-Injektion bei unspezifischer Fibroblastenwachstumsfaktor-Rezeptor (FGFR) -Hemmung *in vitro* bei Mäuse-Myozyten verloren ging. Diese Untersuchungen lassen den Schluss einer Klotho-unabhängigen FGF-Rezeptoraktivierung von FGF-23 an den Kardiomyozyten und somit einer direkten toxischen Endorganschädigung durch FGF-23 zu (Faul et al., 2011). Auch eine *in vivo* Injektion von rekombinantem FGF-23 führte bei Mäusen nach 14 Tagen zu einer signifikant höheren linksventrikulären Masse (Faul et al., 2011).

Nachfolgende Arbeiten postulierten, dass eine Wirkung von FGF-23 an Kardiomyozyten über den FGF-Rezeptor-4 (FGFR4) stattfindet: Grabner et al. zeigten *in vitro*, dass FGF-23 über eine Klotho-unabhängige Bindung am FGFR4 eine Hypertrophie von Kardiomyozyten bewirkt. Weitere *in vivo* Untersuchungen an CKD-Mäusen, in denen FGFR4 inhibiert wurde, zeigten, dass diese keine LVH entwickelten oder die Progression einer bestehenden LVH abgeschwächt wurde (Grabner et al., 2015). Berücksichtigt man den Effekt von FGF-23 auf die

Kardiomyozyten über FGFR4, so könnte eine Inhibition dieses Rezeptors zur Risikoreduktion sinnvoll sein. Grabner et al. konnten jedoch zeigen, dass eine FGFR4-Blockade zwar das Auftreten einer LVH vermindert, jedoch keinen Effekt auf die Entwicklung einer Myokardfibrose hat, welche ihrerseits eine kardiale Dekompensation begünstigt (Grabner et al., 2017). Die begrenzt die klinische Relevanz dieser therapeutischen Option.

Gegen die Annahme von Faul et al, dass FGF-23 eine Klotho-unabhängige kardiotoxische Wirkung ausübt (Faul et al., 2011), sprechen mehrere Studien: Im Jahr 2015 verglichen Xie et al die Reaktionen auf Stress – ausgelöst durch tägliche Injektion von Isoproterenol, einem Noradrenalin-Derivat, über 10 Tage – zwischen Klotho-Mangel-Mäusen, und Wildtyp-Mäusen (Xie et al, 2015). Dabei zeigte sich zwar eine klotho-protective Wirkung, jedoch keine klotho-unabhängige, kardiotoxische Wirkung von FGF-23: So wiesen Klotho-Mangel-Mäuse zwar eine deutlich gravierendere LVH auf als Wildtyp-Mäuse, eine LVH entwickelte sich jedoch ausschließlich als Folge auf Stress und auch unabhängig von Phosphat- und FGF-23-Werten (Xie, 2015). In einer weiteren Arbeit, die nicht nur gegen eine toxische Wirkung von FGF-23 sondern auch gegen einen protektiven Effekt von Klotho spricht, wurde bei Mäusen eine LVH durch Aortenkonstriktion induziert. Dabei entwickelte sich die LVH bei Mäusen, die genetisch modifiziert kein FGF-23 und Klotho besaßen (FGF-23/Klotho-Null-Mäuse) und in Wildtyp-Mäusen in gleicher Weise (Slavic et al., 2017).

Unsere klinischen Daten suggerieren ebenfalls, dass der direkte kardiotoxische Effekt von FGF-23 begrenzt erscheint. Im Fall von schädigenden FGF-23-Effekten sollte mittels iFGF-23-ELISA bestimmtes Plasma-FGF-23 stärker mit dem Auftreten von kardialen Dekompensationen korrelieren als mittels cFGF-23-ELISA bestimmtes Plasma-FGF-23, da der iFGF-23-ELISA spezifischer das aktive Hormon reflektiert. Dies konnten wir in unserer Arbeit jedoch nicht feststellen. Allein cFGF-23-Messungen stellten sich in unseren Ergebnissen nach multivariater Analyse als signifikanter Prädiktor für kardiale Dekompensationen dar. Unsere Ergebnisse sprechen dafür, dass FGF-23 allenfalls ein Marker und kein auslösender Faktor für kardiale Dekompensationen ist.

## **9.7 Ist FGF-23 indirekt kardiotoxisch?**

Neben einer möglichen direkten Wirkung von FGF-23 am Herzen berichteten Andrukhova et al ein Jahr zuvor über eine mögliche indirekte Wirkung von FGF-23 auf die Kardiomyozyten: Im distalen Tubulus reguliert FGF-23 den Natrium-Einstrom und die Expression eines Natriumchlorid-Kotransporters (natrium-chlorid-cotransporter, NCC) (Andrukhova et al.,

2014). Die Studie zeigte, dass die renale Natrium-Rückresorption und die distal-tubuläre Expression von NCC bei Mäusen ohne FGF-23 und Klotho reduziert waren. Mäuse, die vermehrt FGF-23 exprimierten oder denen man mutiertes, nicht-spaltbares FGF-23 injizierte, wiesen vermehrte Natrium-Rückresorption und Expression von NCC auf, was wiederum zu zunehmendem Plasmavolumen und somit zur Hypertension führte. Hypertension ist ein Risikofaktor für LVH (Frohlich et al., 1992), sodass über diesen Mechanismus auch eine indirekte myokardiale Schädigung durch FGF-23 in Betracht gezogen werden muss.

Neben myokardialen und renalen Wirkungen von FGF-23 könnte auch die engen Verknüpfungen zwischen FGF-23 und Inflammationskaskaden einerseits, Eisenmetabolismus andererseits, zur Assoziation zwischen erhöhtem FGF-23 und kardiovaskulären Erkrankungen beitragen: Da inflammatorische Signalkaskaden zur Atherosklerose und vaskulärer Kalzifikation beitragen (Moe & Chen, 2005) könnten proinflammatorische FGF-23-Effekte zur kardiovaskulären Morbidität beitragen (David et al., 2016). Es zeigten sich bei Mäusen mit akuter und chronischer Entzündung gesteigerte FGF-23-Werte (David et al., 2016), umgekehrt führt die Stimulation von FGFR4 in Hepatozyten *in vitro* zu vermehrter Sekretion von inflammatorischen Zytokinen (Singh et al., 2016). In einer Arbeit von Agoro et al konnte gezeigt werden, dass eine FGF-23-Inhibition zu einer Abschwächung der körpereigenen Entzündungsreaktion führt, was wiederum eine Steigerung der Eisenbestände zur Folge hatte (Agoro et al., 2018). Da die Eisenmangelanämie nicht nur an sich eine häufige Komplikation bei chronisch nierenkranken Patienten darstellt (Cases et al., 2018), sondern darüber hinaus zumindest in epidemiologischen Studien ein Risikofaktor für ASCVD (Rajapurkar et al., 2012; Sullivan, 1981) und kardiale Dekompensation (Klip et al., 2013) ist, könnte eine therapeutische FGF-23-Inhibition auch durch eine Abmilderung des Eisenmangels protektiv sein (Agoro et al., 2018).

Allerdings könnte eine FGF-23-Inhibition auch unvorteilhafte kardiovaskuläre Folgen haben. So beobachteten Shalhoub et al, dass eine FGF-23-Neutralisation durch Antikörper in CKD-Ratten zwar einen sekundären Hyperparathyreoidismus und eine Hypovitaminose D günstig beeinflussten, die Entwicklung und Fortschreitung einer LVH jedoch nicht beeinflusste und stattdessen das Aortenverkalkungs- und Mortalitätsrisiko sogar erhöhte (Shalhoub et al., 2012). Dieses wurde durch einen Anstieg von Plasma-Phosphat aufgrund der inhibierten FGF-23-Wirkung erklärt. Zu ähnlichen Ergebnissen gelangten Yanochko et al., indem sie Mäusen FGF-23-Inhibitoren injizierten. Die Tiere wiesen erhöhte Phosphatwerte auf, was nach einiger Zeit zu Arterienverkalkungen führte und somit das Mortalitätsrisiko erhöhte (Yanochko et al., 2013). Der protektive Effekt von FGF-23 auf die Senkung der Plasma-Phosphatwerte und

dadurch auf den Gefäßstatus sollte daher trotz aller diskutierten direkten oder indirekten toxischen Effekte von FGF-23 nicht unbeachtet bleiben.

Zum momentanen Zeitpunkt bleibt die Möglichkeit einer Prävention von kardialer Dekompensation, ASCVD oder der Gesamtmortalität durch die therapeutische Senkung von FGF-23 fraglich und bedarf weiterer Studien (Law et al., 2020).

## 10. Limitationen

Als wichtige Limitation unserer Arbeit muss genannt werden, dass sowohl cFGF-23-Messungen als auch iFGF-23- Messungen in der CARE FOR HOMe-Studie nur zu einem einzigen Zeitpunkt bestimmt wurden. Isakova et al publizierten 2018 in der CRIC-Studie, dass FGF-23-Werte bei den meisten chronisch nierenkranken Patienten zwar stabil sind, ein geringer Anteil der Teilnehmer jedoch über Jahre steigende FGF-23-Werte aufwiesen (Isakova et al., 2018). Dabei hatten Teilnehmer mit langsam steigenden Werten ein 4,49-fach höheres Mortalitätsrisiko und Teilnehmer mit rasant steigenden FGF-23-Werten sogar ein 15,23-fach erhöhtes Mortalitätsrisiko als Patienten mit stabilen Werten. Diese Veränderungen werden in unserer Studie, in der lediglich eine einmalige Messung vorgenommen wurde, nicht berücksichtigt, sodass bei chronisch nierenkranken Menschen iFGF-23-Messungen zu mehreren Zeitpunkten eine verbesserte Prognose renaler Progression, ASCVD, kardialer Dekompensation und Gesamtmortalität erlauben könnten.

Smith et al wiesen sogar intra-individuelle zirkadiane Schwankungen von intakten FGF-23-Werten auf (Smith et al., 2012). Da die Blutentnahme im Rahmen der CARE FOR HOMe – Studie strikt am Morgen stattfand, sind hierdurch in unserer Studie keine Limitationen zu erwarten.

Hinzu kommen die oben diskutierten messtechnischen Limitationen des verwendeten Test-Kits (Durham et al., 2007; Smith et al., 2012).

Eine weitere Limitation unserer Arbeit ist die begrenzte Größe des Patientenkollektivs unserer CARE FOR HOMe-Studie und der dadurch entstandenen statistischen Ungenauigkeiten. Um die hier aufgezeigten Daten zu festigen, sollten in Zukunft größere prospektive Studien Messungen mit sowohl dem cFGF-23-ELISA als auch dem iFGF-23-ELISA bei chronisch nierenkranken Patienten initiieren oder mittels Biobankanalysen bereits abgeschlossener Studien cFGF-23-Messungen und iFGF-23-Messungen bestimmen.

Überdies basieren unsere Daten auf einer geschätzten GFR (eGFR, „estimated“ GFR), anstatt auf der genaueren, tatsächlich gemessenen GFR (mGFR, „measured“ GFR). Mehrere Studien wiesen eine Diskrepanz zwischen eGFR und mGFR nach, wobei die geschätzte GFR die mittels externer Filtrationsmarker gemessenen GFR teilweise überschätzte (Marsik, 2008) und teilweise unterschätzte (Xie et al., 2008). In einer Querschnittsanalyse von Inker et al konnte bei 5352 Teilnehmern aus allen KDIGO-GFR-Stadien (G1 - G5) gezeigt werden, dass eine

kombinierte Kreatinin-Cystatin C-Formel die eGFR präziser schätzte als Formeln, die entweder nur Kreatinin oder nur Cystatin C berücksichtigten, wie etwa die MDRD-Gleichung (Inker et al., 2012). Zu Beginn der CARE FOR HOMe-Studie war die kombinierte CKD-EPI-Formel jedoch noch nicht publiziert (Levey et al., 2009), weshalb wir die eGFR mit der MDRD-Formel schätzten. Aufgrund der Praktikabilität der GFR-Schätzung für unsere epidemiologische Fragestellung wurde bewusst auf eine Messung der GFR verzichtet. Dieser Aspekt limitiert die Interpretation unserer Ergebnisse. Andererseits zeigen auch mehrere Studien zu Verfahren der mGFR Unstimmigkeiten: Der Vergleich von eGFR, mGFR mittels Iohexol und mGFR mittels EDTA zeigte keine kontinuierlich signifikanten Korrelationen. So stimmte die eGFR bei Werten  $< 80 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  und  $\geq 80 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  besser mit der mGFR (Iohexol) überein als mit der mGFR (EDTA). Sowohl eGFR als auch mGFR (Iohexol) waren jedoch bei Werten  $< 80 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  enger mit der mGFR (EDTA) korreliert als bei Werten  $\geq 80 \text{ ml/min/1,73 m}^2$  (Peters, 2009). Soveri et al hingegen zeigten, dass die mittels  $^{51}\text{Cr}$ -Iohexol und -Iothalamat gemessene GFR eine ausreichende Genauigkeit im Vergleich zum Goldstandard der mittels Inulin-Clearance gemessenen GFR aufwies (Soveri et al., 2014). Schließlich muss als weitere Limitation bedacht werden, dass aus den Ergebnissen epidemiologischer Untersuchungen wie der CARE FOR HOMe-Studie niemals direkt auf pathophysiologische Wirkungsmechanismen von FGF-23 geschlossen werden kann, sondern nur Assoziationen erkannt werden, sodass weitere experimentelle Untersuchungen zur Überprüfung unserer Daten nötig sind.

## 11. Zusammenfassung und Ausblick

Die vorliegende Arbeit vergleicht erstmals in einer größeren Kohorte Plasma-cFGF-23-Messungen und Plasma-iFGF-23-Messungen als Prädiktoren von renaler Progression, atherosklerotischen kardiovaskulären Ereignissen (ASCVD) und kardialer Dekompensation. Insgesamt korrelieren cFGF-23-Messungen, welche sowohl die inaktiven als auch die aktiven Fragmente des FGF-23 einschließen, stärker mit der eGFR als iFGF-23-Messungen, welche ausschließlich die aktiven Fragmente von FGF-23 erfassen. Somit akkumulieren bei weiter fortgeschrittener chronischer Nierenerkrankung offenbar inaktive Fragmente stärker als das aktive Hormon und unsere erste Hypothese, dass die Ergebnisse des iFGF-23-ELISA stärker mit der GFR korrelieren als die Ergebnisse des cFGF-23-ELISA, müssen wir verwerfen.

Unsere Ergebnisse zeigen weiterhin, dass cFGF-23-Messungen gegenüber iFGF-23-Messungen als Prädiktoren fast aller vordefinierten renalen und kardiovaskulären Endpunkten überlegen sind, was insbesondere für stationäre Aufnahmen aufgrund kardialer Dekompensationen gilt. Dies lässt FGF-23 eher als Indikator kardialer Erkrankungen denn als ein direktes kardiotoxisches Agens erscheinen, da offenbar die spezifischere Messung des aktiven Hormons durch den iFGF-23-ELISA weniger prognostisch relevant ist als die unspezifische Messung von aktivem Hormon und inaktiven Fragmenten durch den cFGF-23-ELISA. Auch unsere zweite Hypothese, dass Plasma-iFGF-23-Messungen stärker mit renaler Progression, ASCVD und kardialer Dekompensation assoziiert sind als Plasma-cFGF-23-Messungen, wird durch die hier aufgezeigten Daten somit verworfen.

Unsere epidemiologischen Daten suggerieren, dass Maßnahmen zur Verminderung des Plasma-FGF-23 nicht zur direkten Reduktion von ASCVD und kardialer Dekompensation beitragen könnten. Tierexperimentelle Daten weisen teilweise auf indirekte Risikoreduktion für kardiovaskuläre Ereignisse durch FGF-23-Hemmung hin (Agoro et al., 2018), sodass der Nutzen FGF-23-senkender Maßnahmen durch diese Arbeit nicht vollständig geklärt werden kann.

Auch wenn eine Verminderung von Plasma-FGF-23/ verminderte Wirkung von FGF-23 somit aktuell in der klinischen Medizin noch nicht als kardiovaskuloprotektiv betrachtet werden kann, könnte die routinemäßige FGF-23-Bestimmung im Klinikalltag bei chronisch nierenkranken Patienten zur Risikoeinschätzung sinnvoll sein. Diese Arbeit zeigt, dass FGF-23 ein prädiktiver Marker für kardiale Dekompensation ist. Somit reiht sich FGF-23 in eine Reihe myokardialer Prognosemarker ein, deren prominentester Vertreter proBNP ist (Berger et al., 2002; Latini et al., 2002). Hier wurde in der Vergangenheit postuliert, dass proBNP-Messungen zur

Optimierung der Therapie von herzkranken Patienten beitragen können. Im Gegensatz zu früheren Studien, in welchen durch eine BNP- oder NT-proBNP-gesteuerte Therapie eine signifikante Risikoreduktion für stationäre Aufenthalte und Tod aufgrund von kardialer Dekompensation erzielt werden konnte (Joudain et al., 2007; Troughton et al., 2000), konnte eine neuere randomisierte Studie dies nicht bestätigen: So verglich die „Guiding Evidence Based Therapy Using Biomarker Intensified Treatment in Heart Failure“ (GUIDE-IT) -Studie Patienten mit einer Herzinsuffizienz mit einer reduzierten linksventrikulären Ejektionsfraktion („Heart failure with reduced ejection fraction“, HFrEF)  $\leq 40\%$ . Dabei wurden 446 Patienten NT-proBNP-gesteuert und 448 Patienten kardioprotektiv/ nicht-proBNP-gesteuert über 3 Jahre beobachtet. Es konnte keine signifikante Risikoreduktion für stationäre Aufenthalte aufgrund von kardialer Dekompensation oder für kardiovaskuläre Mortalität und Gesamtmortalität nachgewiesen werden (Felker et al., 2017).

Fraglich bleibt, ob ein Biomarker-adaptiertes Therapieschema mittels anderer kardialer Marker – wie FGF-23 – erfolgreicher kardiale Dekompenationen verhindern könnte.

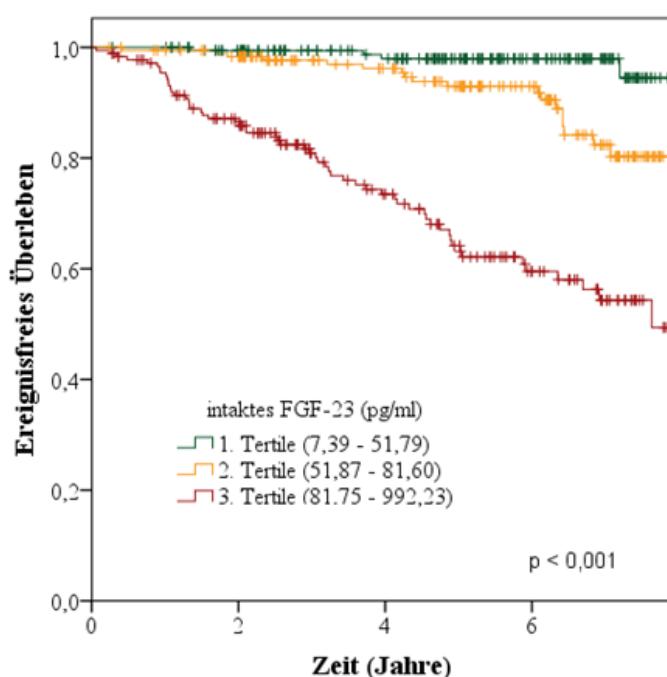
Vor einem routinemäßigen Einsatz von FGF-23 als Risikomarker in der Nephrologie sollten daher zunächst klinische Studien überprüfen, ob eine frühzeitige Einleitung präventiver Maßnahmen bei chronisch nierenkranken Patienten mit hohen FGF-23-Werten prognostisch sinnvoll ist und ob CKD-Patienten mit hohen FGF-23-Werten mehr von diesen Interventionen profitieren als CKD-Patienten mit niedrigen FGF-23-Werten.

## 10. Anhang

### 10.1 Kaplan-Meier-Analysen

Abbildung 13: Kaplan-Meier-Überlebenskurve für den sekundären renalen Endpunkt nach Stratifizierung der Patienten entsprechend ihrer iFGF-23- und cFGF-23- Tertile in Abhängigkeit von iFGF-23-Messungen in Tertilen (Abbildung 13 A) und cFGF-23-Messungen in Tertilen (Abbildung 13 B).

A



B

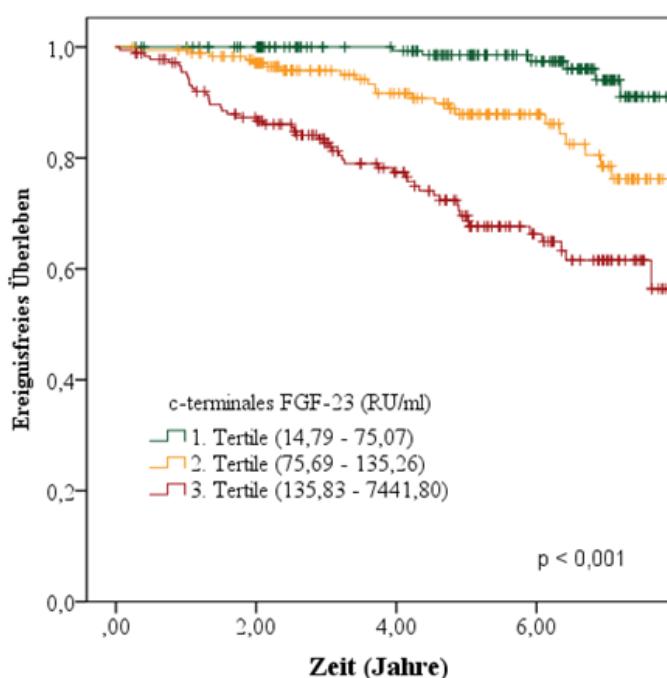
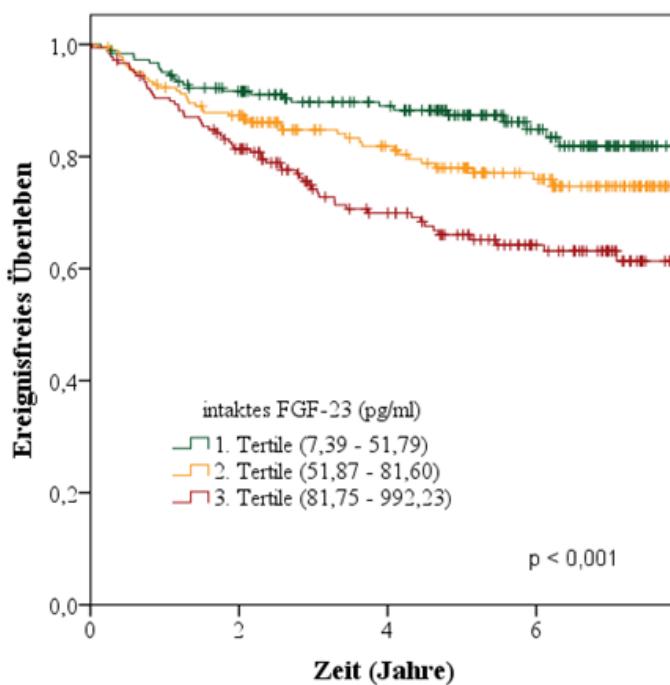


Abbildung 14: Kaplan-Meier-Überlebenskurve für den sekundären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt nach Stratifizierung der Patienten entsprechend ihrer iFGF-23- und cFGF-23- Tertile in Abhängigkeit von iFGF-23-Messungen in Tertilen (Abbildung 14 A) und cFGF-23-Messungen in Tertilen (Abbildung 14 B).

A



B

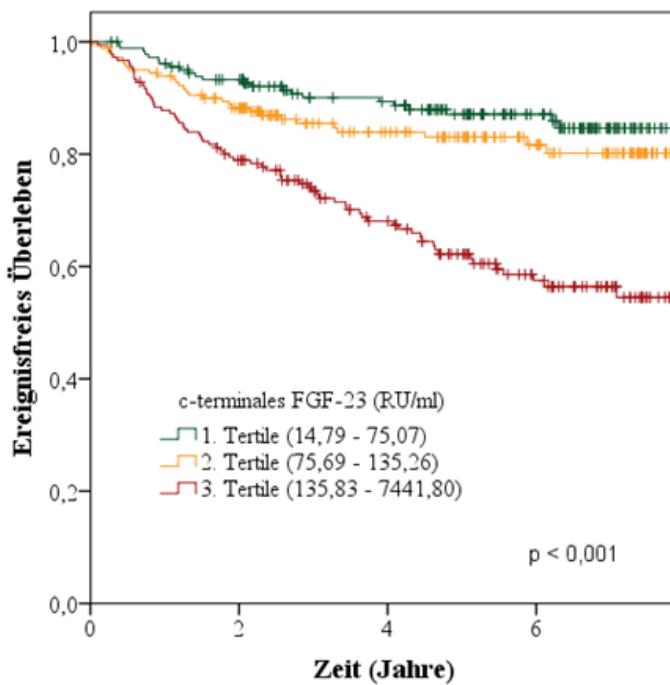
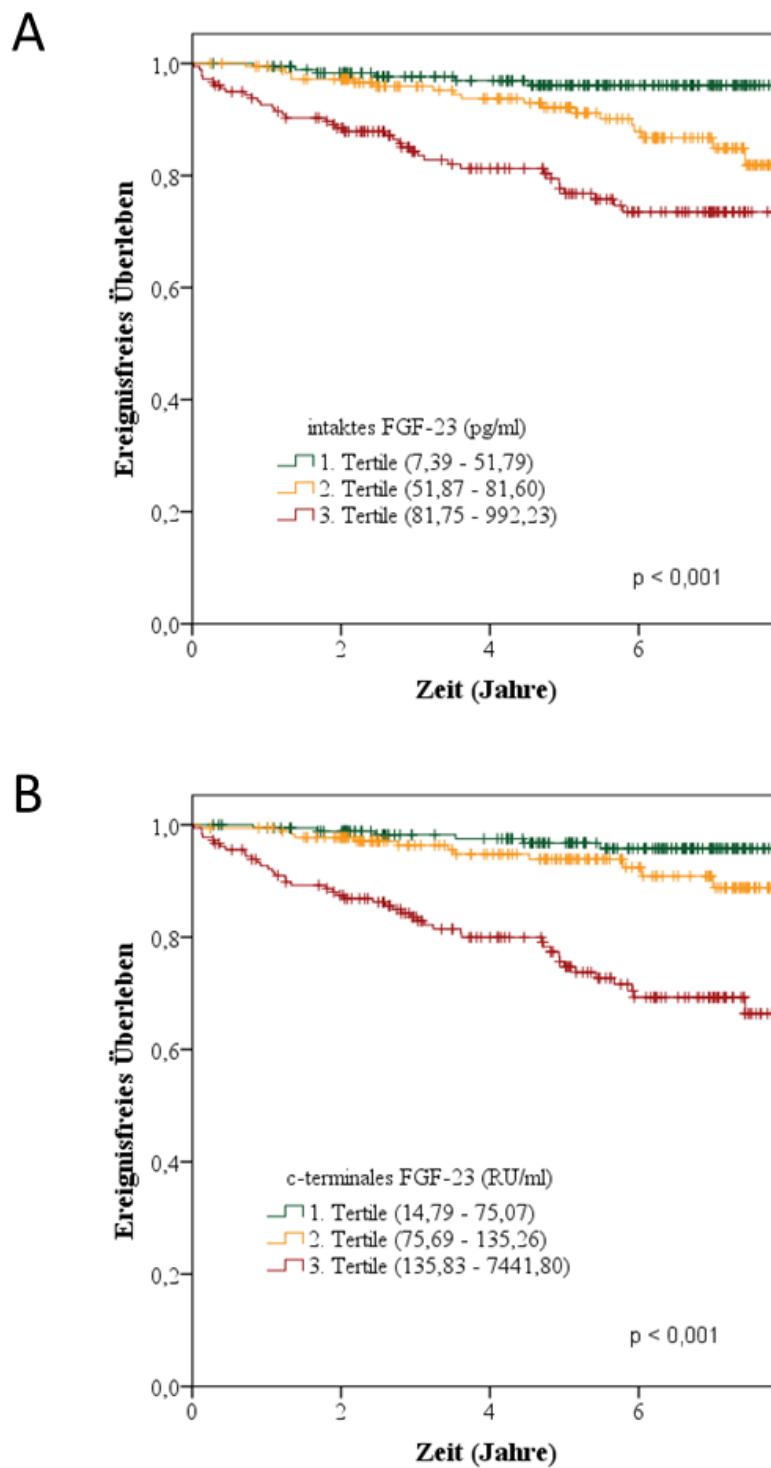


Abbildung 15: Kaplan-Meier-Überlebenskurve für kardiale Dekompensation ohne Todesfälle nach Stratifizierung der Patienten entsprechend ihrer iFGF-23- und cFGF-23-Tertile in Abhängigkeit von iFGF-23-Messungen in Tertilen (Abbildung 15 A) und cFGF-23-Messungen in Tertilen (Abbildung 15 B).



## 10.2 Cox-Regressionsanalysen

Tabelle 10: Cox-Regressionsanalyse für den sekundären renalen Endpunkt

Sekundärer renaler Endpunkt	Model 1			Model 2			Model 3			Model 4			Model 5		
	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P	HR	95% KI	p
Log cFGF-23	4,96	3,35 – 7,35	<b>&lt; 0,001</b>	1,57	0,85 – 2,90	0,146	2,04	1,05 – 3,96	<b>0,035</b>	1,72	0,86 – 3,46	0,127	1,19	0,50 – 2,82	0,690
Log iFGF-23	30,12	15,88 – 57,11	<b>&lt; 0,001</b>	3,80	1,53 – 9,43	<b>0,004</b>	4,07	1,55 – 10,66	<b>0,004</b>	3,34	1,25 – 8,93	<b>0,016</b>	2,95	0,93 – 9,35	0,066
cFGF-23-Messungen															
2. Tertile $\alpha$	3,91	1,57- 9,80	<b>0,004</b>	1,75	0,68 – 4,53	0,247	1,70	0,66 – 4,41	0,275	1,63	0,62 – 4,30	0,325	1,56	0,59 – 4,12	0,367
3. Tertile $\alpha$	11,39	4,85- 26,41	<b>&lt; 0,001</b>	1,74	0,66 – 4,58	0,263	2,06	0,77 – 5,55	0,152	2,12	0,79 – 5,70	0,138	1,55	0,54 – 4,45	0,412
iFGF-23-Messungen															
2. Tertile $\alpha$	4,09	1,38- 12,16	<b>0,011</b>	2,61	0,86- 7,90	0,090	2,32	0,76 – 7,12	0,141	2,26	0,73 – 7,00	2,26	2,11	0,68 – 6,56	0,197

3. Tertile $\alpha$	17,66	6,39- 48,75	<b>&lt; 0,001</b>	3,35	1,09- 10,26	<b>0,035</b>	3,09	0,98 – 9,77	0,054	2,80	0,87 – 9,00	2,80	2,38	0,71 – 7,98	0,162
---------------------	-------	----------------	-------------------	------	----------------	--------------	------	----------------	-------	------	----------------	------	------	----------------	-------

Tab. 10: HR: Hazard Ratio, 95 % KI: 95 % Konfidenzintervall; P: Wahrscheinlichkeit; Model 1: Univariate Analyse; Model 2: Korrektur für eGFR und Albuminurie; Model 3: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD; Model 4: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD, Phosphat, PTH und fraktionelle Phosphatexkretion im Urin; Model 5: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD, Phosphat, PTH, fraktionelle Phosphatexkretion im Urin und das jeweils andere FGF-23;  $\alpha$  = Referenztertile 1.

Tabelle 11: Cox-Regressionsanalyse für den sekundären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt

Sekundärer atherosklerotischer kardiovaskulärer Endpunkt	Model 1			Model 2			Model 3			Model 4			Model 5		
	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P	HR	95% KI	P	HR	95% KI	p
Log cFGF-23	3,18	2,17 – 4,68	<b>&lt; 0,001</b>	1,56	0,93 – 2,62	0,092	1,28	0,78 – 2,10	0,322	1,27	0,76 – 2,12	0,367	1,32	0,75 – 2,32	0,331
Log iFGF-23	3,57	2,08 – 6,13	<b>&lt; 0,001</b>	0,98	0,40 – 2,02	0,946	1,04	0,47 – 2,33	0,923	1,03	0,43 – 2,48	0,949	0,84	0,32 – 2,22	0,843
cFGF-23-Messungen															
2. Tertile $\alpha$	1,37	0,79- 2,37	0,271	0,97	0,54- 1,72	0,911	1,08	0,61 – 1,91	0,797	1,08	0,61 – 1,90	0,800	1,09	0,62 – 1,93	0,768
3. Tertile $\alpha$	3,26	2,03- 5,24	<b>&lt; 0,001</b>	1,46	0,81- 2,63	0,213	1,37	0,75 – 2,49	0,303	1,37	0,75 – 2,49	0,307	1,44	0,76 – 2,74	0,267
iFGF-23-Messungen															
2. Tertile $\alpha$	1,77	1,05- 2,98	<b>0,032</b>	1,38	0,81- 2,35	0,239	1,54	0,90 – 2,64	0,119	1,56	0,91 – 2,69	0,107	1,52	0,88 – 2,63	0,132
3. Tertile $\alpha$	2,74	1,67- 4,48	<b>&lt; 0,001</b>	1,10	0,61- 1,98	0,758	1,14	0,62 – 2,09	0,665	1,12	0,60 – 2,09	0,726	1,03	0,54 – 1,97	0,930

Tab. 11: HR: Hazard Ratio, 95 % KI: 95 % Konfidenzintervall; P: Wahrscheinlichkeit; Model 1: Univariate Analyse; Model 2: Korrektur für eGFR und Albuminurie; Model 3: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD; Model 4: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD, Phosphat, PTH und fraktionelle Phosphatexkretion im Urin; Model 5: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD, Phosphat, PTH, fraktionelle Phosphatexkretion im Urin und das jeweils andere FGF-23;  $\alpha$  = Referenztertile 1.

Tabelle 12: Cox-Regressionsanalyse, Endpunkt: kardiale Dekompensation ohne Todesfälle

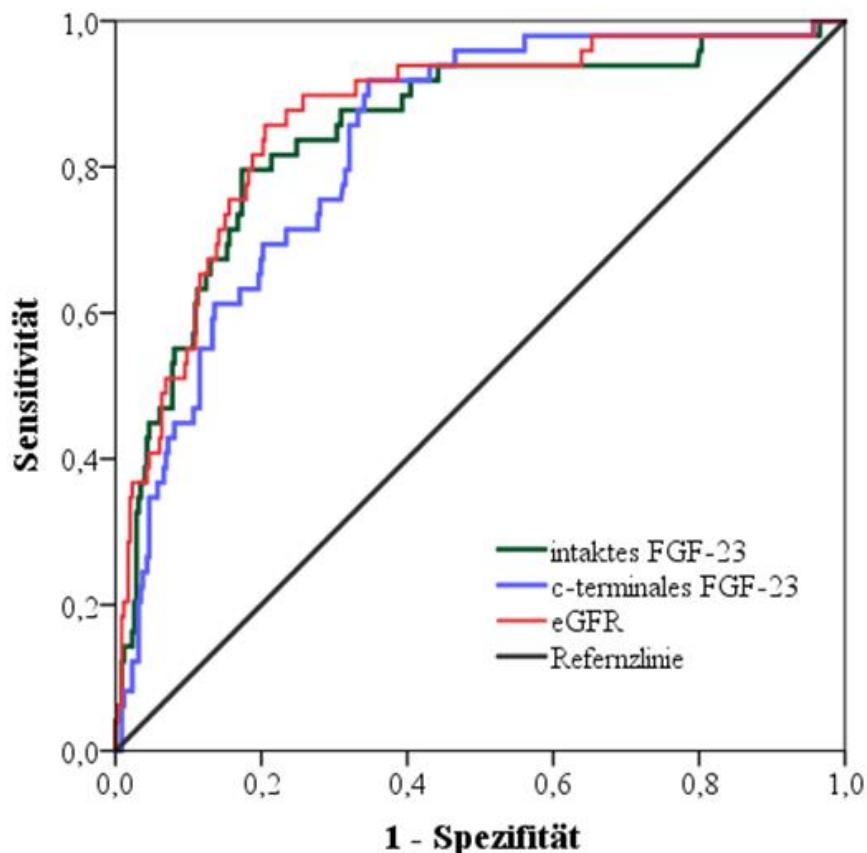
Endpunkt kardiale Dekompensation	Model 1			Model 2			Model 3			Model 4			Model 5		
	HR	95% KI	P												
Log cFGF-23	7,73	4,08 – 12,45	< 0,001	5,31	2,92 – 9,68	< 0,001	5,33	2,85 – 9,95	< 0,001	4,71	2,47 – 8,99	< 0,001	5,04	2,59 – 9,80	< 0,001
Log iFGF-23	5,74	2,86 - 11,51	< 0,001	1,63	0,61 – 4,38	0,329	2,76	0,92 – 8,29	0,071	1,72	0,52 – 5,69	0,38	0,66	0,19 – 2,35	0,520
cFGF-23-Messungen															
2. Tertile $\alpha$	2,50	0,87- 7,18	0,090	1,94	0,66- 5,72	0,232	2,08	0,70 – 6,14	0,185	2,05	0,69 – 6,08	0,197	2,05	0,69 – 6,11	0,195
3. Tertile $\alpha$	10,21	4,05- 25,75	< 0,001	5,80	2,03 – 16,55	0,001	5,50	1,93 – 15,71	0,001	5,13	1,79 – 14,72	0,002	5,39	1,82 – 15,93	0,002
iFGF-23-Messungen															
2. Tertile $\alpha$	3,38	1,26- 9,12	0,016	2,71	1,00 – 7,38	0,051	3,95	1,42 – 10,99	0,009	3,77	1,35 – 10,50	0,011	3,61	1,30 – 10,04	0,014
3. Tertile $\alpha$	8,03	3,15- 20,42	< 0,001	3,73	1,32- 10,54	0,013	4,33	1,52 – 12,33	0,006	3,63	1,24 – 10,60	0,019	2,68	0,92 – 7,83	0,072

Tab. 12: HR: Hazard Ratio, 95 % KI: 95 % Konfidenzintervall; P: Wahrscheinlichkeit; Model 1: Univariate Analyse; Model 2: Korrektur für eGFR und Albuminurie; Model 3: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD; Model 4: Korrektur für eGFR, Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD, Phosphat, PTH und fraktionelle Phosphatexkretion im Urin; Model 5: Korrektur für eGFR,

Albuminurie, Alter, Geschlecht, BMI, systolischer Blutdruck, Rauchen, Cholesterin, DM und CVD, Phosphat, PTH, fraktionelle Phosphatexkretion im Urin und das jeweils andere FGF-23;  $\alpha$  = Referenztertile 1.

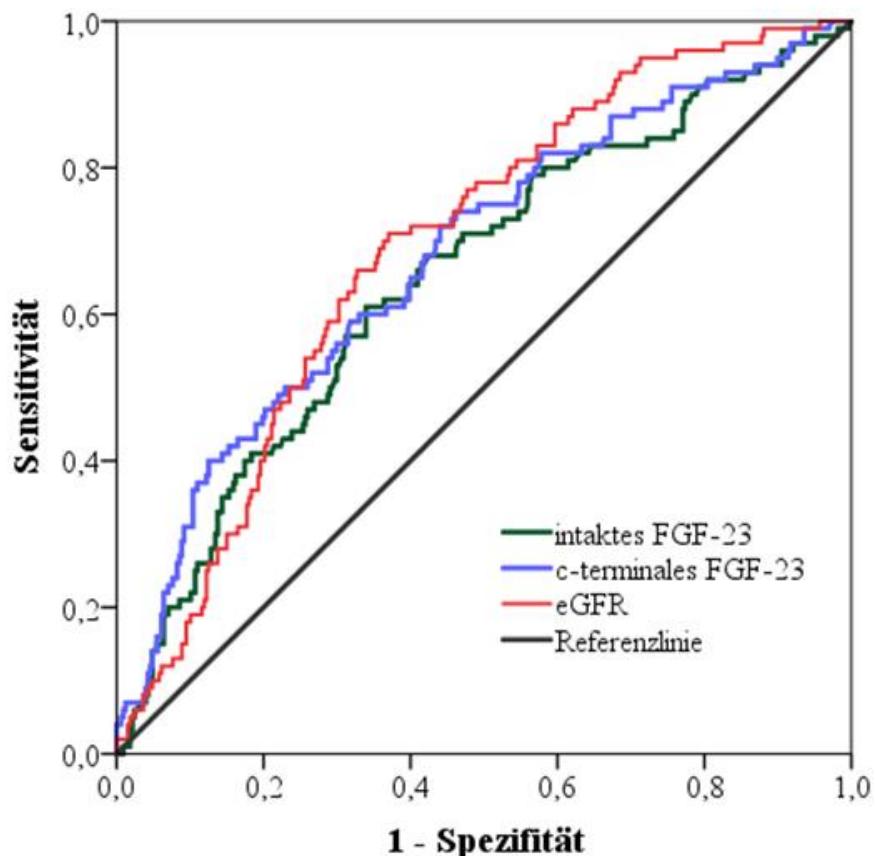
### **10.3 ROC-Kurven**

*Abbildung 16:* ROC-Kurve für den sekundären renalen Endpunkt



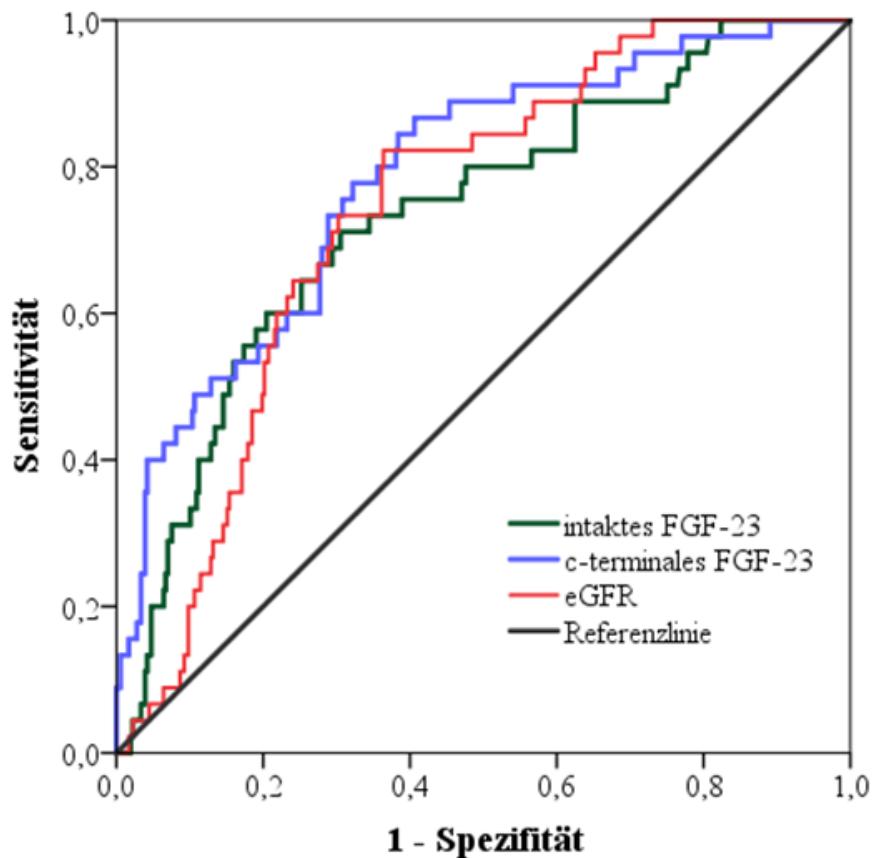
Variable	AUC
iFGF-23-ELISA	0,847
cFGF-23-ELISA	0,828
GFR	0,867

Abbildung 17: ROC-Kurve für den sekundären atherosklerotischen kardiovaskulären Endpunkt



Variable	AUC
iFGF-23-ELISA	0,651
cFGF-23-ELISA	0,679
GFR	0,691

Abbildung 18: ROC-Kurve für den Endpunkt kardiale Dekompensation



Variable	AUC
iFGF-23-ELISA	0,734
cFGF-23-ELISA	0,786
GFR	0,739

## 11. Literaturverzeichnis

- Agoro, R., Montagna, A., Goetz, R., Aligbe, O., Singh, G., Coe, L. M., ... Sitara, D. (2018). Inhibition of fibroblast growth factor 23 (FGF23) signaling rescues renal anemia. *FASEB J.*, 32(7), 3752–3764. <https://doi.org/10.1096/fj.201700667R>
- Andrukhova, O., Slavic, S., Smorodchenko, A., Zeitz, U., Shalhoub, V., Pohl, E. E., & Erben, R. G. (2014). FGF 23 regulates renal sodium handling and blood pressure. *EMBO Mol Med*, 6(6), 744–759.
- Bai, X., Miao, D., Goltzman, D., & Karaplis, A. C. (2003). The Autosomal Dominant Hypophosphatemic Rickets R176Q Mutation in Fibroblast Growth Factor 23 Resists Proteolytic Cleavage and Enhances in Vivo Biological Potency \*. *J Biol Chem*, 278(11), 9843–9849. <https://doi.org/10.1074/jbc.M210490200>
- Baigent, C., Landray, M., Reith, C., Emberson, J., Wheeler, D., Tomson, C., ... Holdaas, H. (2011). The effects of lowering LDL cholesterol with simvastatin plus ezetimibe in patients with chronic kidney disease (Study of Heart and Renal Protection): a randomised placebo-controlled trial. *Lancet*, 377(9784), 2181–2192. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(11\)60739-3](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(11)60739-3)
- Baum, M., Schiavi, S., Dwarakanath, V., & Quigley, R. (2005). Effect of fibroblast growth factor-23 on phosphate transport in proximal tubules. *Kidney Int*, 68(3), 1148–1153. <https://doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.00506.x>
- Bell, T., Demay, M., & Burnett-Bowie, S. (2010). The Biology and Pathology of Vitamin D Control in Bone. *Journal of Cellular Biochemistry*, 111(1), 7–13. <https://doi.org/10.1002/jcb.22661>
- Berger, R., Hulelsmann, M., Strecker, K., Bojic, A., Moser, P., Stanek, B., & Pacher, R. (2002). B-type natriuretic peptide predicts sudden death in patients with chronic heart failure. *Circulation*, 105(20), 2392–2397.
- Block, G. A., Hulbert-Shearon, T. E., Levin, N. W., & Port, F. K. (1998). Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *American Journal of Kidney Dis*, 31(4), 607–617.
- Block, G., Wheeler, D., Persky, M., Kerstenbaum, B., Ketteler, M., Spiegel, D., ... Thadhani, R. (2012). Effects of phosphate binders in moderate CKD. *J Am Soc Nephrol*, 23(8), 1407–1415. <https://doi.org/10.1681/ASN.2012030223>
- Block, Geoffrey A, Klassen, P. S., Lazarus, J. M., Ofsthun, N., Lowrie, E. G., & Chertow, G. M. (2004). Mineral Metabolism , Mortality , and Morbidity in Maintenance Hemodialysis.

- J Am Heart Assoc, 15(8), 2208–2218.  
<https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000133041.27682.A2>
- Bozentowicz-Wikarek, M., Owczarek, A., Kocelak, P., Olszanecka-Gliniaowicz, M., Wiecek, A., & Chudek, J. (2016). C-Terminal to Intact Fibroblast Growth Factor 23 Ratio in Relation to Estimated Glomerular Filtration Rate in Elderly Population. *Kidney Blood Press Res*, 41(5), 519–526.
- Brandenburg, V., Kleber, M., Vervloet, M., Tomaschitz, A., Pilz, S., Stojakovic, T., ... Scharnagl, H. (2014). Fibroblast growth factor 23 (FGF23) and mortality: the Ludwigshafen Risk and Cardiovascular Health Study. *Atherosclerosis*, 237(1), 53–59. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2014.08.037>
- Burnett, S., Gunawardene, S., Bringhurst, F., Jüppner, H., Lee, H., & Finkelstein, J. (2006). Regulation of C-terminal and intact FGF-23 by dietary phosphate in men and women. *J Bone Miner Res*, 21(8), 1187–1196.
- Cases, A., Egocheaga, M. I., Tranche, S., Pallarés, V., Ojeda, R., Górriz, J. L., & Portolés, J. M. (2018). Anemia of chronic kidney disease: Protocol of study, management and referral to Nephrology. *Nefrologia*, 38(1), 1–108.
- Castro, A., & Coresh, J. (2009). CKD Surveillance Using Laboratory Data from the Population-Based National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES). *Am J Kidney Dis*, 53(3 Suppl 3), S46–S55. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2008.07.054>
- Chertow, G. M., Block, G. A., Correa-Rotter, R., Druke, T. B., Floege, J., & Goodman, W. G. (2012). Effect of Cinacalcet on Cardiovascular Disease in Patients Undergoing Dialysis. *N Eng J Med*, 367(26), 2482–2494. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1205624>
- Cholesterol Treatment Trialists, C., Mihaylova, B., Emberson, J., Blackwell, L., Keech, A., Simes, J., ... Baigent, C. (2012). The effects of lowering LDL cholesterol with statin therapy in people at low risk of vascular disease: meta-analysis of individual data from 27 randomised trials. *Lancet*, 380(9841), 581–590. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)60367-5](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)60367-5)
- Chonchol, M., Greene, T., Zhang, Y., Hoofnagle, A., & Cheung, A. (2016). Low Vitamin D and High Fibroblast Growth Factor 23 Serum Levels Associate with Infectious and Cardiac Deaths in the HEMO Study. *J Am Soc Nephrol*, 27(1), 227–237. <https://doi.org/10.1681/ASN.2014101009>
- Chudek, J., Kocelak, P., Owczarek, A., Bozentowicz-Wikarek, M., Mossakowska, M., Olszanecka-Gliniaowicz, M., & Wiecek, A. (2014). Fibroblast growth factor 23 (FGF23) and early chronic kidney disease in the elderly. *Nephrol Dial Transplant*, 29(9), 1757–

1763. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfu063>
- Collins, A. J., N., F. R., Chavers, B., Gilbertson, D., Herzog, C., Ishani, A., ... Solid, C. (2014). US Renal Data System 2013 Annual Data Report. *American Journal of Kidney Dis*, 63(1 Suppl), A7. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2013.11.001>
- Coresh, J., Selvin, E., Stevens, L. A., Manzi, J., Eggers, P., Lente, F. Van, & Levey, A. S. (2007). Prevalence of Chronic Kidney Disease in the United States. *Jama*, 298(17).
- Custer, M., Lötscher, M., Biber, J., H, M., & Kaissling, B. (1994). Expression of Na-P(i) cotransport in rat kidney: localization by RT-PCR and immunohistochemistry. *Am J Physiol*, 266(5 Pt 2), F767-74.
- Dalrymple, L. S., Katz, R., Kestenbaum, B., Shlipak, M. G., Sarnak, M. J., Stehman-Breen, C., ... Fried, L. (2011). Chronic kidney disease and the risk of end-stage renal disease versus death. *Journal of General Internal Medicine*, 26(4), 379–385. <https://doi.org/10.1007/s11606-010-1511-x>
- David, V., Martin, A., Isakova, T., Spaulding, C., Qi, L., Ramirez, V., ... Wolf, M. (2016). Inflammation and functional iron deficiency regulate fibroblast growth factor 23 production. *Kidney International*, 89(1), 135–146. <https://doi.org/10.1038/ki.2015.290>
- Di Lullo, L., House, A., Gorini, A., Santoboni, A., Russo, D., & Ronco, C. (2015). Chronic kidney disease and cardiovascular complications. *Heart Fail Rev*, 20(3), 259–272. <https://doi.org/10.1007/s10741-014-9460-9>
- Drazner, M. H., Rame, J. E., Marino, E. K., Gottdiener, J. S., Kitzman, D. W., Gardin, J. M., ... Siscovick, D. S. (2004). Increased Left Ventricular Mass Is a Risk Factor for the Development of a Depressed Left Ventricular Ejection Fraction Within Five Years The Cardiovascular Health Study. *Journal of the American College of Cardiology*, 43(12), 2207–2215. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2003.11.064>
- Duan, J., Wang, C., Liu, D., Qiao, Y., Pan, S., Jiang, D., ... Liu, Z. (2019). Prevalence and risk factors of chronic kidney disease and diabetic kidney disease in Chinese rural residents: a cross-sectional survey. *Scientific Reports*.
- Durham, B., Joseph, F., Bailey, L., & Fraser, W. (2007). The association of circulating ferritin with serum concentrations of fibroblast growth factor-23 measured by three commercial assays. *Ann Clin Biochem*, 44(5), 463–466.
- Dusso, A., Brown, A., & Slatopolsky, E. (2005). Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol*, 289(1), F8-28.
- Eckardt, K.-U., Coresh, J., Devuyst, O., Johnson, R. J., Köttgen, A., Levey, A. S., & Levin, A. (2013). Evolving importance of kidney disease: from subspecialty to global health

- burden. *Lancet*, 382(9887), 158–169.
- Eddington, H., Hoefield, R., Sinha, S., Chrysochou, C., Lane, B., Foley, R. N., ... Kalra, P. A. (2010). Serum Phosphate and Mortality in Patients with Chronic Kidney Disease. *CJASN*, 5(12), 2251–2257. <https://doi.org/10.2215/CJN.00810110>
- Edmonston, D., Wojdyla, D., Mehta, R., Cai, X., Lora, C., Cohen, D., ... Pencina, M. (2019). Single Measurements of Carboxy-Terminal Fibroblast Growth Factor 23 and Clinical Risk Prediction of Adverse Outcomes in CKD. *Am J Kidney Dis*, 74(6), 771–781. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2019.05.026>
- Emmett, M. (2008). What does serum fibroblast growth factor 23 do in hemodialysis patients ? *Kidney International*, 73(1), 3–5. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002651>
- Emrich, I., Dederer, J., Kircher, A., Klemis, V., Lennartz, C., Untersteller, K., ... Fliser, D. (2019). Does a rise in plasma erythropoietin after high-altitude exposure affect FGF23 in healthy volunteers on a normal or low-phosphorus diet? *Nutrition, Metabolism and Cardiovascular Diseases*, 29(12), 1361–1367. <https://doi.org/10.1016/j.numecd.2019.09.002>
- Emrich, IE. (2014). S-Adenosylhomocysteine (SAH)- Ein neuer nicht-traditioneller kardiovaskulärer Risikofaktor bei chronischer Nierenerkrankung? *Dissertation, Homburg Saar*.
- ERA EDTA, P. R. (2018). The hidden epidemic: Worldwide, over 850 million people suffer from kidney diseases. *ASN*.
- Faul, C., Amaral, A. P., Oskouei, B., Hu, M., Sloan, A., Isakova, T., ... Wolf, M. (2011). FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest*, 121(11), 4393–4408. <https://doi.org/10.1172/JCI46122.ease>
- Felker, G. M., Anstrom, K. J., Adams, K. F., Ezekowitz, J. A., Fiuzat, M., Houston-miller, N., ... Connor, C. M. O. (2017). Effect of Natriuretic Peptide–Guided Therapy on Hospitalization or Cardiovascular Mortality in High-Risk Patients With Heart Failure and Reduced Ejection Fraction A Randomized Clinical Trial. *JAMA*, 318(8), 713–720. <https://doi.org/10.1001/jama.2017.10565>
- Fellström, B., Jardine, A., Schmieder, R., Holdaas, H., Bannister, K., Beutler, J., ... Remuzzi, G. (2009). Rosuvastatin and Cardiovascular Events in Patients Undergoing Hemodialysis. *N Eng J Med*, 360(14), 1395–1407. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0810177>
- Ferrari, S. L., Bonjour, J., & Rizzoli, R. (2005). Fibroblast Growth Factor-23 Relationship to Dietary Phosphate and Renal Phosphate handling in Healthy Young Men. *J Clin Endocrinol Metab*, 90(3), 1519–1524. <https://doi.org/10.1210/jc.2004-1039>

- Finch, J., Tokumoto, M., Nakamura, H., Yao, W., Shahnazari, M., Lane, N., & 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(6), F1315-22. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.00552.2009>
- Fliser, D., Kollerits, B., Neyer, U., Ankerst, D. P., Lhotta, K., Lingenhel, A., ... Kronenberg, F. (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(9), 2601–2608. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006080936>
- Flügge, F. (2011). Adiponektin-Subfraktionen und kardiovaskuläre Morbidität bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung. *Dissertation, Homburg Saar*.
- Foley, R. N., Parfrey, P. S., Harneyf, J. D., Kent, G. M., Martin, C. J., Murray, D. C., & Barre, P. E. (1995). Clinical and echocardiographic disease in patients starting end-stage renal disease therapy. *Kidney Int*, 47(1), 186–192. <https://doi.org/10.1038/ki.1995.22>
- Frohlich, E., Apstein, C., Chobanian, A., Devereux, R., Dustan, H., Dzau, V., ... Re, R. (1992). The Heart in Hypertension. *New England Journal of Medicine*, 327, 998–1008. <https://doi.org/10.1056/NEJM199210013271406>
- Gansevoort, R. T., Correa-Rotter, R., Hemmelgarn, B. R., Jafar, T. H., Heerspink, H. J., Mann, J. F., & Wen, C. P. (2013). Chronic kidney disease and cardiovascular risk: epidemiology, mechanisms, and prevention. *Lancet*, 382(9889), 339–352. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(13\)60595-4](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(13)60595-4)
- Girndt, M., Trocchi, P., Scheidt-nave, C., Markau, S., & Stang, A. (2016). The Prevalence of Renal Failure. *Dtsch Ärztebl Int*, 113(6), 85–91. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2016.0085>
- Girndt, M., Trocchi, P., Scheidt-Nave, C., Markau, S., & Stang, A. (2016). The prevalence of renal failure—Results from the German Health Interview and Examination Survey for Adults, 2008–2011 (DEGS1). *Dtsch Arztebl Int*, 113, 85–91. <https://doi.org/10.3238/arztebl.2016.0085>
- Go, A. S., Fang, M. C., Udaltssova, N., Chang, Y., Pomernacki, N. K., Borowsky, L., & Singer, D. E. (2009). Impact of proteinuria and glomerular filtration rate on risk of thromboembolism in atrial fibrillation: the anticoagulation and risk factors in atrial fibrillation (ATRIA) study. *Circulation*, 119(10), 1363–1369. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.816082.Impact>
- Go, A S, Chertow, G. M., Fan, D., McCulloch, C. E., & Hsu, C. Y. (2004). Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization.[Erratum appears in N Engl J Med. 2008;18(4):4]. *New England Journal of Medicine*.

- Go, Alan S., Chertow, G. M., Fan, D., Mcculloch, C. E., Ph, D., & Hsu, C. (2004). Chronic Kidney Disease and the Risks of Death, Cardiovascular Events, and Hospitalization. *N Eng J Med*, 351(13), 1296–1305. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa041031>
- Goetz, R., Beenken, A., Ibrahimi, O. A., Kalinina, J., Olsen, S. K., Eliseenkova, A. V., & Mohammadi, M. (2007). Molecular insights into the klotho-dependent, endocrine mode of action of fibroblast growth factor 19 subfamily members. *Mol Cell Biol*, 27(9), 3417–3428. <https://doi.org/10.1128/mcb.02249-06>
- Gonzales-Parra, E., Gonzales-Casaus, M., Galán, A., Martinez-Calero, A., Navas, V., Rodriguez, M., & Ortiz, A. (2011). Lanthanum carbonate reduces FGF23 in chronic kidney disease Stage 3 patients. *Nephrol Dial Transplant*, 26(8), 2567–2571. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfr144>
- Grabner, A., Amaral, A., Schramm, K., Singh, S., Sloan, A., Yanucil, C., ... Reuter, S. (2015). Activation of Cardiac Fibroblast Growth Factor Receptor 4 Causes Left Ventricular Hypertrophy. *Cell Metab*, 22(6), 1020–1032.
- Grabner, A., Schramm, K., Silswal, N., Hendrix, M., Yanucil, C., Czaya, B., ... Faul, C. (2017). FGF23/FGFR4-mediated left ventricular hypertrophy is reversible. *Sci Rep*, 7(1), 1993. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-02068-6>
- Gutierrez, O., Isakova, T., Rhee, E., Shah, A., Holmes, J., Collerone, G., ... Wolf, M. (2005). Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but Accentuates Calcitriol Deficiency in Chronic Kidney Disease. *J A*, 16(7), 2205–2215. <https://doi.org/10.1681/ASN.2005010052>
- Gutiérrez, O. M., Januzzi, J. L., Isakova, T., Smith, K., Collerone, G., Sarwar, A., ... Wolf, M. (2010). Fibroblast growth factor 23 and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease. *Circulation*, 119(19), 2545–2552. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.108.844506>
- Gutierrez, O. M., Mannstadt, M., Isakova, T., Rauh-hain, J. A., Tamez, H., Shah, A., ... Sc, M. M. (2008). Fibroblast Growth Factor 23 and Mortality among Patients Undergoing Hemodialysis. *N Eng J Med*, 359(6), 584–592. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa0706130>
- Hanudel, M., Wesseling-Perry, K., Gales, B., Ramos, G., Campbell, V., Ethridge, K., ... Salusky, I. (2016). Effects of Acute Kidney Injury and Chronic Hypoxemia on Fibroblast Growth Factor 23 Levels in Pediatric Cardiac Surgery Patients. *Pediatr Nephrol*, 31(4), 661–669. <https://doi.org/10.1007/s00467-015-3257-5>
- Heine, G. H., Nangaku, M., & Fliser, D. (2013). Clinical update Calcium and phosphate impact cardiovascular risk. *European Heart Journal*, 34, 1112–1121.

- <https://doi.org/10.1093/eurheartj/ehs353>
- Herath, E. (2012). Ermöglicht die gleichzeitige Bestimmung renaler und lienalner Widerstandsindices eine selektive Beurteilung der chronischen Nierenschädigung? *Dissertation, Homburg Saar.*
- Herzog, C. A. (2005). Sudden cardiac death and acute myocardial infarction in dialysis patients: perspectives of a cardiologist. *Semin Nephrol*, 25(6), 363–366. <https://doi.org/10.1016/j.semnephrol.2005.05.003>
- Herzog, C., Asinger, R., Berger, A., Charytan, D., Diez, J., Hart, R., ... Ritz, E. (2011). Cardiovascular disease in chronic kidney disease. A clinical update from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int*, 80(6), 572–586. <https://doi.org/10.1038/ki.2011.223>
- Herzog, Charles A, Mangrum, J. M., & Passman, R. (2008). Sudden Cardiac Death and Dialysis Patients. *Semin Nephrol*, 21(4), 300–307. <https://doi.org/10.1111/j.1525-139X.2008.00455.x>
- Hilfiker, H., Hattenhauer, O., Traebert, M., Forster, I. C., Health, M., Murer, H., & Biber, J. (1998). Characterization of a Murine Type II Sodium-Phosphate Cotransporter Expressed in Mammalian Small Intestine Characterization of a murine type II sodium-phosphate cotransporter expressed in mammalian small intestine. *Proc Natl Acad Sci USA*, 95(24), 14564–14569. <https://doi.org/10.1073/pnas.95.24.14564>
- Inker, L. A., Schmid, C. H., Tighiouart, H., Eckfeldt, J. H., Feldman, H. I., Greene, T., ... Levey, A. S. (2012). Estimating Glomerular Filtration Rate from Serum Creatinine and Cystatin C. *N Eng J Med*, 367(1), 20–29. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1114248>
- Isakova, T., Barchi-Chung, A., Enfield, G., Smith, K., Vargas, G., Houston, J., ... Wolf, M. (2013). Effects of dietary phosphate restriction and phosphate binders on FGF23 levels in CKD. *Clin J Am Soc Nephrol*, 8(6), 1009–1018. <https://doi.org/10.2215/CJN.09250912>
- Isakova, T., Gutierrez, O. M., Smith, K., Epstein, M., Keating, L., Jüppner, H., & Wolf, M. (2011). Pilot study of dietary phosphorus restriction and phosphorus binders to target fibroblast growth factor 23 in patients with chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*, 26(2), 584–591. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfq419>
- Isakova, T., Huiliang, X., Barchie-Chung, A., Smith, K., Sowden, N., Epstein, M., ... Wolf, M. (2012). Daily Variability in Mineral Metabolites in CKD and Effects of Dietary Calcium and Calcitriol. *Clin J Am Soc Nephrol*, 7(5), 820–828. <https://doi.org/10.2215/CJN.11721111>
- Isakova, Tamara, Cai, X., Lee, J., Xie, D., Wang, X., Mehta, R., ... Kusek, J. W. (2018).

- Longitudinal FGF23 Trajectories and Mortality in Patients with CKD. *J Am Soc Nephrol*, 29(2), 579–590. <https://doi.org/10.1681/ASN.2017070772>
- Isakova, Tamara, Gutiérrez, O. M., Chang, Y., Sha, A., Tamez, H., Kelsey, S., ... Wolf, M. (2009). Phosphorus Binders and Survival on Hemodialysis. *J Am Soc Nephrol*, 20(2), 388–396. <https://doi.org/10.1681/ASN.2008060609>
- Isakova, Tamara, Gutierrez, O., Shah, A., Castaldo, L., Holmes, J., Lee, H., & Wolf, M. (2008). Postprandial Mineral Metabolism and Secondary Hyperparathyroidism in Early CKD. *JASN*, 19(3), 615–623. <https://doi.org/10.1681/ASN.2007060673>
- Isakova, Tamara, Xie, H., Yang, W., & Xie, D. (2011). Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease. *Jama*, 305(23), 2432–2439. <https://doi.org/10.1001/jama.2011.826>
- Ix, J., Isakova, T., Larive, B., Raphael, K., Raj, D., Cheung, A., ... Wolf, M. (2019). Effects of Nicotinamide and Lanthanum Carbonate on Serum Phosphate and Fibroblast Growth Factor-23 in CKD: The COMBINE Trial. *JASN*, 30(6), 1096–1108. <https://doi.org/10.1681/ASN.2018101058>
- Ix, J., Katz, R., Kestenbaum, B., de Boer, I., Chonchol, M., Mukamal, K., ... Shlipak, M. (2012). Fibroblast growth factor-23 and death, heart failure, and cardiovascular events in community-living individuals: CHS (Cardiovascular Health Study). *J Am Coll Cardiol*, 60(3), 200–207. <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2012.03.040>
- J-DAVID Investigators, Shoji, T., Inaba, M., Fukagawa, M., Ando, R., Emoto, M., ... Kawanishi, H. (2018). Effect of Oral Alfacalcidol on Clinical Outcomes in Patients Without Secondary Hyperparathyroidism Receiving Maintenance Hemodialysis: The J-DAVID Randomized Clinical Trial. *JAMA2*, 320(22), 2325–2334. <https://doi.org/10.1001/jama.2018.17749>
- Jager, K., Kovesdy, C. P., Langham, R., Rosenberg, M., Vivekanand, J., & Zoccali, C. (2019). A single number for advocacy and communication—worldwide more than 850 million individuals have kidney diseases. *ISN*, 96(5), 1048–1050.
- Jean, G., Terrat, J., Vanel, T., Hurot, J., Lorriaux, C., Mayor, B., & Chazot, C. (2009). High levels of serum fibroblast growth factor ( FGF ) -23 are associated with increased mortality in long haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 25(4), 2792–2796. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfp191>
- Jourdain, P., Jondeau, G., Funck, F., Gueffet, P., Helloco, A. Le, Donal, E., ... Juilliére, Y. (2007). Plasma Brain Natriuretic Peptide-Guided Therapy to Improve Outcome in Heart Failure. *Journal of the American College of Cardiology*, 49(16).

- <https://doi.org/10.1016/j.jacc.2006.10.081>
- Kendrick, J., & Chonchol, M. B. (2008). Nontraditional risk factors for cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *Nat Clin Pract Nephrol*, 4(12), 672–681. <https://doi.org/10.1038/ncpneph0954>
- Kendrick, Jessica, Cheung, A. K., Kaufman, J. S., Greene, T., Roberts, W. L., Smits, G., ... Investigators, H. (2011). FGF-23 Associates with Death , Cardiovascular Events , and Initiation of Chronic Dialysis. *J Am Soc Nephrol*, 22(10), 1913–1922. <https://doi.org/10.1681/ASN.2010121224>
- Kendrick, Jessica, & Chonchol, M. (2008). Nontraditional risk factors for cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *Nat Clin Pract Nephrol*, 4(12), 672–681. <https://doi.org/10.1038/ncpneph0954>
- Kettler, M., Block, G., Evenepoel, P., Fukagawa, M., Herzog, C., McCann, L., ... Leonard, M. (2017). Executive summary of the 2017 KDIGO Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) Guideline Update: what's changed and why it matters. *Kidney Int*, 92(1), 26–36. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.04.006>
- Kircher, A. (2017). Adiponektin und Insulinresistenz als Langzeitprognosemarker für kardiale und renale Ereignisse bei Patienten mit chronischer Nierenerkrankung. *Dissertation, Homburg Saar*.
- Klip, I., Comin-Colet, J., Voors, A., Ponikowski, P., Enjuanes, C., Banasjak, W., ... Jankowska, E. (2013). Iron deficiency in chronic heart failure: an international pooled analysis. *Am Heart J*, 165(4), 575–582. <https://doi.org/10.1016/j.ahj.2013.01.017>
- Koiba, F., Kazama, J., Tokumoto, A., Onoda, N., Kato, H., Odaka, T., ... Shigematsu, T. (2005). Sevelamer hydrochloride and calcium bicarbonate reduce serum fibroblast growth factor 23 levels in dialysis patients. *Ther Apher Dial*, 9(4), 336–339.
- Kovesdy, C. P., Ahmadzadeh, S., Anderson, J. E., & Kalantar-Zadeh, K. (2008). Secondary hyperparathyroidism is associated with higher mortality in men with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int*, 73(11), 1296–1302. <https://doi.org/10.1038/ki.2008.64>
- Kurosu, H., Ogawa, Y., Miyoshi, M., Yamamoto, M., Nandi, A., Rosenblatt, K. P., ... Kuro-o, M. (2009). Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho. *J Biol Chem*, 281(10), 6120–6123. <https://doi.org/10.1074/jbc.C500457200.Regulation>
- Larsson, T., Nisbeth, U., Ljunggren, O., Juppner, H., & 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(6), 2272–2279. <https://doi.org/10.1046/j.1523->

- 1755.2003.00328.x
- Latini, R., Masson, S., de Angelis, N., & Anand, I. (2002). Role of brain natriuretic peptide in the diagnosis and management of heart failure: current concepts. *J Card Fail*, 8(5), 288–299.
- Law, J. P., Price, A. M., Pickup, L., Radhakrishnan, A., Weston, C., Jones, A. M., ... Pavlovic, D. (2020). Clinical Potential of Targeting Fibroblast Growth Factor-12 and Klotho in the Treatment of Uremic Cardiomyopathy. *Journal of the American Heart Association*, 9(7), 1–15. <https://doi.org/10.1161/JAHA.120.016041>
- Lee, M., Saver, J. L., Chang, K., Liao, H., Chang, S., & Ovbiagele, B. (2010). Low glomerular filtration rate and risk of stroke: meta-analysis. *Bmj*, 341, c4249. <https://doi.org/10.1136/bmj.c4249>
- Leifheit-Nestler, M., Grabner, A., Hermann, L., Richter, B., Schmitz, K., Fischer, D., ... Haffner, D. (2017). Vitamin D treatment attenuates cardiac FGF23 / FGFR4 signaling and hypertrophy in uremic rats. *Nephrol*, 32(9), 1493–1503. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfw454>
- Lennartz, C. (2016). Renale und kardiovaskuläre Prognosemarker bei Patienten mit nicht-dialysepflichtiger chronischer Nierenerkrankung. *Dissertation, Homburg Saar*.
- Levey, A., Bosch, J., Lewis, J., Greene, T., Rogers, N., & Roth, D. (1999). A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: a new prediction equation. Modification of Diet in Renal Disease Study Group. *Ann Intern Med*, 130(6), 461–470.
- Levey, A. S., Stevens, L. A., Frcp, C., Schmid, C. H., Zhang, Y. L., Iii, A. F. C., ... Greene, T. (2009). A new equation to estimate glomerular filtration rate. *Ann Intern Med*, 150(9), 604–612.
- Levy, D., Anderson, K. M., Savage, D. D., Balkus, S. A., Kannel, W. B., & Castelli, W. P. (1987). Risk of ventricular arrhythmias in left ventricular hypertrophy: The Framingham Heart Study. *Am J Cardiol*, 560–565.
- Lindner, A., Charra, B., Sherrad, D. J., & Scribner, B. H. (1974). Accelerated Atherosclerosis in Prolonged Maintenance Hemodialysis. *Lancet*, 380(9854), 1649–1661. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(12\)61272-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(12)61272-0)
- Longenecker, J. C., Coresh, J., Powe, N. R., Levey, A. S., Fink, N. E., Martin, A., & Klag, M. J. (2002). Traditional cardiovascular disease risk factors in dialysis patients compared with the general population: The CHOICE study. *Journal of the American Society of Nephrology*, 13(7), 1918–1927. <https://doi.org/10.1097/01.ASN.0000019641.41496.1E>

- Lundberg, A., Qureshi, A., Olivecrona, S., Gunnarsson, I., Jacobson, S., & Larsson, T. (2012). FGF23, albuminuria, and disease progression in patients with chronic IgA nephropathy. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 7(5), 727–734. <https://doi.org/10.2215/CJN.10331011>
- Mahmoodi, B. K., Matsushita, K., Woodward, M., Blankestijn, J., Cirillo, M., Ohkubo, T., ... Tonelli, A. M. (2012). Associations of kidney disease measures with mortality and end-stage renal disease in individuals with and without hypertension: a meta-analysis. *Lancet*, 380(9854), 1649–1661. [https://doi.org/10.1016/S0140-6736\(12\)61272-0](https://doi.org/10.1016/S0140-6736(12)61272-0). Associations
- Marsik, C., Endler, G., Gulessarian, T., Wagner, O., & Sunder-Plassmann, G. (2008). Classification of chronic kidney disease by estimated glomerular filtration rate. *European Journal of Clinical Investigation*, 38(4), 253–259. <https://doi.org/10.1111/j.1365-2362.2008.01934.x>
- Martin, A., David, V., & Quarles, L. D. (2012). Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways. *Physiol Rev*, 92(1), 131–155. <https://doi.org/10.1152/physrev.00002.2011>.REGULATION
- Mirza, M. A., Larsson, A., Lind, L., & Larsson, T. E. (2009). Circulating fibroblast growth factor-23 is associated with vascular dysfunction in the community. *Atherosclerosis*, 205(2), 385–390. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2009.01.001>
- Mirza, M. A., Larsson, A., Melhus, H., Lind, L., & Larsson, T. E. (2009). Serum intact FGF23 associate with left ventricular mass, hypertrophy and geometry in an elderly population. *Atherosclerosis*, 207(2), 546–551. <https://doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2009.05.013>
- Miyamoto, K., Ito, M., Kuwahata, M., Kato, S., & Segawa, H. (2005). Inhibition of intestinal sodium-dependent inorganic phosphate transport by fibroblast growth factor 23. *Ther Apher Dial*, 9(4), 331–335. <https://doi.org/10.1111/j.1744-9987.2005.00292.x>
- Miyamoto, K., Ito, M., Tatsumi, S., Kuwahata, M., & Segawa, H. (2007). New aspect of renal phosphate reabsorption: the type IIc sodium-dependent phosphate transporter. *Am J Nephrol*, 27(5), 503–515. <https://doi.org/10.1159/000107069>
- Miyamoto, K., Segawa, H., Ito, M., & Kuwahata, M. (2004). Physiological Regulation of Renal Sodium-Dependent Phosphate Cotransporters. *Jpn J Physiol*, 54(2), 93–102.
- Moe, S. M., Zidehsarai, M. P., Chambers, M. A., Jackman, L. A., Radcliffe, J. S., Trevino, L. L., ... Asplin, J. R. (2011). Vegetarian Compared with Meat Dietary Protein Source and Phosphorus Homeostasis in Chronic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol*, 6(2), 257–264. <https://doi.org/10.2215/CJN.05040610>
- Moe, S., Drueke, T., Cunningham, J., Goodman, W., Martin, K., Olgaard, K., ... Dru, T. (2006).

- Definition , evaluation , and classification of renal osteodystrophy : A position statement from Kidney Disease : Improving Global Outcomes ( KDIGO ). *Kidney Int*, 69(11), 1945–1953. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5000414>
- Moe, SM, & Chen, N. (2005). Inflammation and vascular calcification. *Blood Purif*, 23(1), 64–71.
- Moe, SM, Chertow, G., Parfrey, P., Kubo, Y., Block, G., Correa-Rotter, R., ... Floege, J. (2015). Cinacalcet, Fibroblast Growth Factor-23, and Cardiovascular Disease in Hemodialysis: The Evaluation of Cinacalcet HCl Therapy to Lower Cardiovascular Events (EVOLVE) Trial. *Circulation*, 132(1), 27–39. <https://doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.114.013876>
- Munoz Mendoza, J., Isakova, T., Ricardo, A., Xie, H., Navaneethan, S., Anderson, A., ... Raj, D. (2012). Fibroblast growth factor 23 and Inflammation in CKD. *Clin J Am Soc Nephrol*, 7(7), 1155–1162. <https://doi.org/10.2215/CJN.13281211>
- Nowak, N., Skupien, J., Smiles, A., Yamanouchi, M., Niewczas, M., Galecki, A., ... Krolewski, A. (2018). Markers of early progressive renal decline in type 2 diabetes suggest different implications for etiological studies and prognostic tests development. *Kidney Int*, 93(5), 1198–1206. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2017.11.024>.Markers
- Oliveira, R., Cancela, A., Graciolli, F., Dos Reis, L., Draibe, S., Cappari, L., ... Moyses, R. (2010). Early control of PTH and FGF23 in normophosphatemic CKD patients: a new target in CKD-MBD therapy? *J Am Soc Nephrol*, 5(2), 286–291. <https://doi.org/10.2215/CJN.05420709>
- Ornitz, D. M., & Itoh, N. (2001). Fibroblast Growth Factors. *Genome Biol*, 2(3), Reviews 3005.
- Paoletti, E., Bellino, D., Cassottana, P., Rolla, D., & Cannella, G. (2005). Left Ventricular Hypertrophy in Nondiabetic Predialysis CKD. *American Journal of Kidney Dis*, 46(2), 320–327. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2005.04.031>
- Parikh, N. I., Hwang, S. J., Larson, M. G., Meigs, J. B., Levy, D., & Fox, C. S. (2006). Cardiovascular disease risk factors in chronic kidney disease: overall burden and rates of treatment and control. *Arch Intern Med*, 166(17), 1884–1891. <https://doi.org/10.1001/archinte.166.17.1884>
- Parker, B. D., Schurgers, L. J., Brandenburg, V. M., Robert, H., Vermeer, C., Ketteler, M., & Shlipak, M. G. (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(10), 640–648. <https://doi.org/10.1059/0003-4819-152-10-201005180-00004>.The

- Peters, A., Bird, N., Halsall, I., Peters, C., & Michell, A. (2009). Evaluation of the Modification of Diet in Renal Disease equation (eGFR) against simultaneous, dual-marker multi-sample measurements of glomerular filtration rate. *Ann Clin Biochem*, 46(1), 58–64. <https://doi.org/10.1258/acb.2008.008078>
- Pilz, S., Tomaschitz, A., Friedl, C., Amrein, K., Drechsler, C., Ritz, E., ... Ma, W. (2011). Vitamin D status and mortality in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*, 26(11), 3603–3609. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfr076>
- Rajapurkar, M., Shah, S., Lele, S., Hegde, U., Lensing, S., Gohel, K., ... Eigenbrodt, M. (2012). Association of catalytic iron with cardiovascular disease. *Am J Cardiol*, 109(3), 438–442. <https://doi.org/10.1016/j.amjcard.2011.09.032>
- Razzaque, M. S., & Fgf, F. (2009). Does FGF23 toxicity influence the outcome of chronic kidney disease? *Nephrol Dial Transplant*, 24(1), 4–7. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfn620>
- Richter, B., & Faul, C. (2018). FGF23 Actions on Target Tissues — with and without Klotho. *Front Endocrinol*, 9, 189. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00189>
- Riminucci, M., Collins, M. T., Fedarko, N. S., Cherman, N., Corsi, A., White, K. E., ... Robey, P. G. (2003). FGF-23 in fibrous dysplasia of bone and its relationship to renal. *J Clin Invest*, 112(5), 683–692. <https://doi.org/10.1172/JCI200318399>
- Rodelo-Haad, C., Rodriguez-Ortiz, M. E., Martin-Malo, A., Pendon-Ruiz de Mier, M., Aguera, M., Munoz-Castaneda, J., ... Rodriguez, M. (2018). Phosphate control in reducing FGF23 levels in hemodialysis patients. *PLoS One*, 13(8). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0201537>
- Rodriguez-Ortiz, M., Diaz-Tocados, J., Munos-Castaneda, J., Herencia, C., Pineda, C., Martinez-Moreno, J., ... Almaden, Y. (2020). Inflammation both increases and causes resistance to FGF23 in normal and uremic rats. *Clin Sci (Lond)*, 134(1), 15–32. <https://doi.org/10.1042/CS20190779>
- Saito, H., Maeda, A., Ohtomo, S., Hirata, M., Kusano, K., Kato, S., ... Fukushima, N. (2005). Circulating FGF-23 Is Regulated by 1, 25-Dihydroxyvitamin D 3 and Phosphorus in Vivo \*. *J Biol*, 280(4), 2543–2549. <https://doi.org/10.1074/jbc.M408903200>
- Santhi, K., Ganesh, S. K., Stack, A. G., Levin, N. W., Hulbert-shearon, T., & Port, F. K. (2001). Association of Elevated Serum PO<sub>4</sub>, Ca × PO<sub>4</sub> Product, and Parathyroid Hormone with Cardiac Mortality Risk in Chronic Hemodialysis Patients. *JASN*, 12(10), 2131–2138.
- Saran, R., Li, Y., Robinson, B., Ayanian, J., Balkrishnan, R., Bragg-gresham, J., ... Abbott, K. C. (2019). HHS Public Access. *American Journal of Kidney Dis*, 66(1 Suppl 1), S1-305. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2015.05.001.US>

- Scialla, J. J., Xie, H., Rahman, M., Anderson, A. H., Isakova, T., Ojo, A., ... Insuf, R. (2014). Fibroblast Growth Factor-23 and Cardiovascular Events in CKD. *J A*, 25(2), 349–360. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013050465>
- Segawa, H., Kaneko, I., Takahashi, A., Kuwahata, M., Ito, M., Ohkido, I., ... Miyamoto, K. (2002). Growth-related Renal Type II Na / P i Cotransporter \*. *J Biol Chem*, 277(22), 19665–19672. <https://doi.org/10.1074/jbc.M200943200>
- Seiler, S., Reichart, B., Roth, D., Seibert, E., Fliser, D., & Heine, G. (2010). FGF-23 and future cardiovascular events in patients with chronic kidney disease before initiation of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant*, 25(12), 3983–3989. <https://doi.org/10.1093/ndt/gfq309>
- Seiler, Sarah, Heine, G. H., & Fliser, D. (2009). Clinical relevance of FGF-23 in chronic kidney disease. *Kidney International*, 76(114), S34–S42. <https://doi.org/10.1038/ki.2009.405>
- Seiler, Sarah, Rogacev, K. S., Roth, H. J., & Shafein, P. (2014). Associations of klotho and fgf23 with cardiovascular outcomes among patients with CKD G2-4. *Clinical Journal of the American Society of Nephrology*, 9(6). <https://doi.org/10.2215/CJN.07870713>
- Seufert, J., Ebert, K., Müller, J., Eulert, J., Hendrich, C., Werner, E., & Jakob, F. (2001). Octreotide Therapy for Tumor-Induced Osteomalacia. *N Eng J Med*, 345(26), 1883–1888. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa010839>
- Shalhoub, V., Shatzen, E. M., Ward, S. C., Davis, J., Stevens, J., Bi, V., ... Richards, W. G. (2012). FGF23 neutralization improves chronic kidney disease – associated hyperparathyroidism yet increases mortality. *J Clin Invest*, 122(7), 2543–2553. <https://doi.org/10.1172/JCI61405>.which
- Shibata, K., Fujita, S., Morita, H., Okamoto, Y., Sohmiya, K., & Hoshiga, M. (2013). Association between Circulating Fibroblast Growth Factor 23 , a -Klotho , and the Left Ventricular Ejection Fraction and Left Ventricular Mass in Cardiology Inpatients. *PLoS One*, 8(9), 1–11. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0073184>
- Shimada, T., Muto, T., Urakawa, I., Yoneya, T., Yamazaki, Y., Okawa, K., ... Yamashita, T. (2002). Mutant FGF-23 responsible for autosomal dominant hypophosphatemic rickets is resistant to proteolytic cleavage and causes hypophosphatemia in vivo. *Endocrinology*, 143(8), 3179–3182. <https://doi.org/10.1210/endo.143.8.8795>
- Shimada, Takashi, Hasegawa, H., Yamazaki, Y., Muto, T., Hino, R., Takeuchi, Y., ... Yamashita, T. (2004). FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res*, 19(3), 429–435. <https://doi.org/10.1359/JBMR.0301264>

- Shimada, Takashi, Urakawa, I., Isakova, T., Yamazaki, Y., Epstein, M., Wesseling-perry, K., ... Ju, H. (2010). Circulating Fibroblast Growth Factor 23 in Patients with End-Stage Renal Disease Treated by Peritoneal Dialysis Is Intact and Biologically Active. *J Clin Endocrinol Metab*, 95(2), 578–585. <https://doi.org/10.1210/jc.2009-1603>
- Shoben, A., Rudser, K., Boer, I., Young, B., & Kerstenbaum, B. (2008). Association of Oral Calcitriol with Improved Survival in Nondialyzed CKD. *J Am Soc Nephrol*, 19(8), 1613–1619. <https://doi.org/10.1681/ASN.2007111164>
- Singh, S., Grabner, A., Yanucil, C., Schramm, K., Czaya, B., Krick, S., ... Faul, C. (2016). Fibroblast growth factor 23 directly targets hepatocytes to promote inflammation in chronic kidney disease. *Kidney Int*, 90(5), 985–996. <https://doi.org/10.1016/j.kint.2016.05.019>
- Slatopolsky, E., & Delmez, J. (1994). Pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *American Journal of Kidney Dis*, 23(2), 229–236.
- Slavic, S., Ford, K., Modert, M., Becirovic, A., Handschuh, S., Baierl, A., ... Andrukhova, O. (2017). Genetic Ablation of Fgf23 or Klotho Does not Modulate Experimental Heart Hypertrophy Induced by Pressure Overload. *Sci Rep*, 7(1), 11298. <https://doi.org/10.1038/s41598-017-10140-4>
- Smith, E., McMahon, L., & Holt, S. (2013). Method-specific differences in plasma fibroblast growth factor 23 measurement using four commercial ELISAs. *Clin Chem Lab Med*, 51(10), 1971–1981. <https://doi.org/10.1515/cclm-2013-0208>
- Smith, E. R., Cai, M. M., McMahon, L. P., & Holt, S. G. (2012). Biological Variability of Plasma Intact and C-Terminal FGF23 Measurements. *The Journal of Clinical Endocrinology and Metabolism*, 97(9), 3357–3365.
- Soveri, I., Berg, U., Björk, J., Elinder, C., Grubb, A., Mejare, I., ... Bäck, S. (2014). Measuring GFR: a systematic review. *Am J Kidney Dis*, 64(3), 411–424. <https://doi.org/10.1053/j.ajkd.2014.04.010>
- Spatz, C., Roe, K., Lehman, E., & Verma, N. (2013). Effect of a Non-Calcium-Based Phosphate Binder on Fibroblast Growth Factor 23 in Chronic Kidney Disease. *Nephron Clin Pract*, 123(1–2), 61–66. <https://doi.org/10.1159/000351811>
- Stöhr, R., Schuh, A., Heine, G. H., & Brandenburg, V. (2018). FGF23 in Cardiovascular Disease: Innocent Bystander or Active Mediator? *Front Endocrinol*, 9(6), 351. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00351>
- Stubbs, J. R., Liu, S., Tang, W., Zhou, J., Wang, Y., Yao, X., & 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(7), 2116–2124. <https://doi.org/10.1681/ASN.2006121385>
- Sullivan, J. (1981). Iron and the sex difference in heart disease risk. *Lancet*, 1(8233), 1293–1294.
- Susantitaphong, P., Vadcharavivad, S., Susomboon, T., & Singhan, W. (2019). The effectiveness of cinacalcet: a randomized, open label study in chronic hemodialysis patients with severe secondary hyperparathyroidism. *Renal Failure*, 41(1), 326–333. <https://doi.org/10.1080/0886022X.2018.1562356>
- Teng, M., Wolf, M., Lowrie, E., Ofsthun, N., Lazarus, J. M., & Thadhani, R. (2003). Survival of Patients Undergoing Hemodialysis with Paricalcitol or Calcitriol Therapy. *N Eng J Med*, 349(5), 446–456.
- Tentori, F., Wang, M., Bieber, B. A., Karaboyas, A., Li, Y., Jacobson, S. H., ... Robinson, B. M. (2015). Article Recent Changes in Therapeutic Approaches and Association with Outcomes among Patients with Secondary Hyperparathyroidism on Chronic Hemodialysis: The DOPPS Study. *CJASN*, 10(1), 98–109. <https://doi.org/10.2215/CJN.12941213>
- Thadhani, R., Appelbaum, E., Pritchett, Y., Chang, Y., Wenger, J., Tamez, H., ... Solomon, S. (2012). Vitamin D therapy and cardiac structure and function in patients with chronic kidney disease: the PRIMO randomized controlled trial. *Jama*, 307(7), 674–684. <https://doi.org/10.1001/jama.2012.120>
- Torres, P., Friedlander, G., de Vernejoul, M., Silve, C., & Prié, D. (2007). Bone mass does not correlate with the serum fibroblast growth factor 23 in hemodialysis patients. *Kidney International*, 73(1), 102–107. <https://doi.org/https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002622>
- Troughton, R., Frampton, C., Yandle, T., Espiner, E., Nicholls, M., & Richards, A. (2000). Treatment of heart failure guided by plasma aminoterminal brain natriuretic peptide (N-BNP) concentrations. *Lancet*, 355(9210), 1126–1130.
- Ulbricht, U. (2016). Charakterisierung des phosphaturischen Hormons Fibroblast Growth Factor 23 als Prädiktor kardiovaskulärer Ereignisse. *Dissertation, Homburg Saar*.
- Urakawa, I., Yamazaki, Y., Shimada, T., Iijima, K., Hasegawa, H., Okawa, K., ... Yamashita, T. (2006). Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature*, 444(7120), 770–774.
- Wang, AY, Fang, F., Chan, J., Wen, Y., Qing, S., Chan, I., ... Yu, C. (2014). Effect of paricalcitol on left ventricular mass and function in CKD--the OPERA trial. *J Am Soc Nephrol*, 25(1), 175–186. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013010103>

- Wang, AYM, Fang, F., Chan, J., Wen, Y., Qing, S., Chan, I., ... Yu, C. (2014). Effect of Paricalcitol on Left Ventricular Mass and Function in CKD—The OPERA Trial. *J Am Soc Nephrol*, 25(1), 175–186. <https://doi.org/10.1681/ASN.2013010103>
- Wanner, C., Krane, V., März, W., Olschewski, M., Mann, J. F., Ruf, G., ... Investiagtion, G. D. and D. S. (2005). Atorvastatin in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus Undergoing Hemodialysis. *N Eng J Med*, 353(3), 238–248.
- Wesseling-Perry, K., Pereira, R., Sahney, S., Gales, B., Wang, H., Elashoff, R., ... Salusky, I. (2011). Calcitriol and doxercalciferol are equivalent in controlling bone turnover, suppressing parathyroid hormone, and increasing fibroblast growth factor-23 in secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int*, 79(1), 112–119. <https://doi.org/10.1038/ki.2010.352>
- White, K. E., Evans, W. E., O’Riordan, J. L. H., Speer, Marcy, C., & Econis, M. J. (2000). Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet*, 26(3), 345–348. <https://doi.org/10.1038/81664>
- Wolf, M., & Andersen, D. (n.d.). HiLo: Pragmatic Trial of Higher vs Lower Serum Phosphate Targets in Patients Undergoing Hemodialysis. *Cinical Trials.Gov*; *NCT04095039*. Retrieved from <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT04095039#contacts>
- Wolf, M., Shah, A., Gutierrez, O., Ankers, E., Monroy, M., Tamez, H., ... Thadhani, R. (2007). Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney International*, 72(8), 1004–1013. <https://doi.org/10.1038/sj.ki.5002451>
- Wolf, Myles. (2012). Update on fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease. *Kidney Int*, 82(7), 737–747. <https://doi.org/10.1038/ki.2012.176.UPDATE>
- Xie, D., Joffe, M. M., Brunelli, S. M., Beck, G., Chertow, G. M., Fink, J. C., ... Feldman, H. I. (2008). A Comparison of Change in Measured and Estimated Glomerular Filtration Rate in Patients with Nondiabetic. *Clin J Am Soc Nephrol*, 3(5), 1332–1338. <https://doi.org/10.2215/CJN.05631207>
- Xie, J., Yoon, J., An, S., Kuro-o, M., & Huang, C. (2015). Soluble Klotho Protects against Uremic Cardiomyopathy Independently of Fibroblast Growth Factor 23 and Phosphate. *J Am Soc Nephrol*, 26(5), 1150–1160. <https://doi.org/10.1681/ASN.2014040325>
- Yamashita, T. (2005). Structural and biochemical properties of fibroblast growth factor 23. *Ther Apher Dial*, 9(4), 313–318. <https://doi.org/10.1111/j.1744-9987.2005.00288.x>
- Yamashita, T., Yoshioka, M., & Itoh, N. (2000). Identification of a novel fibroblast growth factor, FGF-23, preferentially expressed in the ventrolateral thalamic nucleus of the brain. *Biochem Biophys Res Commun*, 277(2), 494–498. <https://doi.org/10.1006/bbrc.2000.3696>
- Yanochko, G. M., Vitsky, A., Heyen, J. R., Hirakawa, B., Lam, J. L., May, J., ... Blasi, E.

- (2013). Pan-FGFR Inhibition Leads to Blockade of FGF23 Signaling , Soft Tissue Mineralization , and Cardiovascular Dysfunction. *Toxicol Sci*, 135(2), 451–464. <https://doi.org/10.1093/toxsci/kft161>
- Yeun, J., & Kaysen, G. (2000). C-reactive protein, oxidative stress, homocysteine, and troponin as inflammatory and metabolic predictors of atherosclerosis in ESRD. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 9(6), 621–630.

## 12. Vorträge / Publikationen

### Präsentation von Teilergebnissen der Promotionsarbeit durch die Verfasserin der Dissertationsschrift

1. DGIM Mannheim 29.04.-02.05.2017 (Posterpräsentation)
2. ERA-EDTA Madrid 03.-06-06.2017 (Vortrag)

### Publikation von Teilergebnissen der Promotionsarbeit

Emrich IE, Brandenburg V, Sellier AB, Schauerte J, Wiedenroth J, Untersteller K, Lennartz S, Seiler-Mussler S, Wagenpfeil S, Fliser D, Heine GH. Strength of Fibroblast Growth Factor 23 as a Cardiovascular Risk Predictor in Chronic Kidney Disease Weaken by ProBNP Adjustment. American Journal of Nephrology. 2019; 49, 203-211

## 13. Lebenslauf

Aus datenschutzrechtlichen Gründen wird der Lebenslauf in der elektronischen Fassung der Dissertation nicht veröffentlicht.

# Danksagung

An dieser Stelle möchte ich jenen Menschen meinen Dank aussprechen, die mich bei der Anfertigung meiner Dissertation unterstützt haben.

Zuerst möchte ich Herrn Prof. Dr. med. Danilo Fliser danken, der mir die Möglichkeit gegeben hat, an der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes in der Klinik für Innere Medizin IV zu promovieren.

Des Weiteren danke ich Herrn Prof. Dr. med. Michael Böhm für die Zusammenarbeit mit der Klinik für Innere Medizin III der Medizinischen Fakultät der Universität des Saarlandes.

Ein besonders großes Dankeschön möchte ich meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. med. Gunnar Heine aussprechen, welcher mir diese Dissertation ermöglicht und mir fortwährend mit Rat und Tat zur Seite gestanden hat. Vor allem aber möchte ich danke sagen, für die kollegiale und professionelle Art, mit der er mir immer begegnet ist. Danke für die Motivation, das Vertrauen und die vielen Gespräche. Ich möchte mich von ganzem Herzen bedanken für die schöne Zeit in der Nephrologie und die Geduld, die mir jederzeit entgegengebracht wurden. Die wissenschaftliche Arbeit und insbesondere die freundliche Zusammenarbeit hat mich auf meinem Weg als Ärztin und als Mensch sehr viel weitergebracht.

Weiterhin danke ich meiner Betreuerin Frau Dr. med. Insa Emrich für die kontinuierliche Verfügbarkeit, geduldige Beantwortung meiner Fragen und für die unzähligen konstruktiven Korrekturen. Die entspannte Atmosphäre, die sie mit ihrer freundlichen und kollegialen Art geschaffen hat, haben mich fortwährend motiviert, gute Arbeit zu leisten.

Ich danke den Krankenschwestern der nephrologischen Ambulanz Renate Schindler, Sigrun Bick und Andrea Freyler, die mich mit offenen Armen empfangen haben und ohne deren Mithilfe die CARE FOR HOME-Studie nicht realisierbar gewesen wäre. Ich danke weiterhin dem Laborteam der Klinik für Innere Medizin IV, insbesondere Frau Martina Wagner, für die Hilfe zur Laboranalyse.

Ich möchte darüber hinaus Marie Blinn für die hervorragende Einarbeitung, gerade zu Anfang der klinischen Arbeit, danken. Sie hatte während der gesamten Zeit immer ein offenes Ohr für mich und hat mich mit ihrer liebevollen und wertschätzenden Art fortwährend unterstützt.

Ich danke außerdem allen Teilnehmern der CARE FOR HOMe-Studie, ohne deren Bereitschaft diese Arbeit nicht möglich gewesen wäre.

Einen großen Beitrag zur Vervollständigung dieser Dissertation gebührt meinem Mann Stefan, der mich bis heute unermüdlich motiviert und unterstützt. Zur Fertigstellung dieser Arbeit hat er seine eigene Zeit geopfert, um mir während der Fertigstellung dieser Dissertation den Rücken freizuhalten.

Zum Schluss danke ich meinen Eltern, denen diese Dissertation gewidmet ist, und meinen Geschwistern Ida, Max und Toni. Ihr habt mich zu der Person gemacht, die ich heute bin. Euch verdanke ich alles.