

Klinik für Innere Medizin IV - Nieren- und Hochdruckkrankheiten
Universitätsklinikum des Saarlandes, Homburg/Saar
Direktor: Prof. Dr. med. Danilo Fliser

**Effekt eines physiologischen Stressmodells
auf den Calcium-Phosphat-Haushalt und
den Fibroblast Growth Factor 23
bei nierengesunden Probanden**

Dissertation zur Erlangung des Grades eines Doktors der Medizin
der Medizinischen Fakultät
der Universität des Saarlandes
2017

vorgelegt von:
Marc-Sebastian Baier
geb. am 30.12.1992 in Würzburg

Diese Dissertationsarbeit ist in der Forschungsarbeitsgruppe 1 „Kardiovaskuläre Komplikationen bei chronischer Niereninsuffizienz“ unter Leitung und Betreuung von Herrn Prof. Dr. med. Gunnar Heine an der Klinik für Innere Medizin IV - Nieren- und Hochdruckkrankheiten (Direktor: Herr Prof. Dr. med. Danilo Fliser) am Universitätsklinikum des Saarlandes in Homburg und in Zusammenarbeit mit Herrn Prof. Dr. med. Jürgen Scharhag am Institut für Sport- und Präventivmedizin der Universität des Saarlandes in Saarbrücken (Direktor: Herr Prof. Dr. med. Tim Meyer) entstanden.

Inhaltsverzeichnis

1	Abkürzungsverzeichnis	1
2	Übersicht	3
2.1	Zusammenfassung	3
2.2	Summary	5
3	Einleitung	7
3.1	Hintergrund	7
3.2	Fibroblast Growth Factor 23	8
3.3	Fragestellung	11
4	Material und Methoden	12
4.1	Studiendesign und -population	12
4.2	Ein- und Ausschlusskriterien	13
4.3	Bestimmung der individuellen anaeroben Schwelle	13
4.4	Prozedere vor den Fahrradergometrien	15
4.5	Durchführung der Fahrradergometrien	18
4.6	Überwachung der Herzfrequenz	19
4.7	Probengewinnung und -archivierung	19
4.8	Bestimmung von Fibroblast Growth Factor 23	20
4.9	Berechnung der fraktionellen Calcium- und Phosphatausscheidung	21
4.10	Kalkulierung der Sauerstoffaufnahme	22
4.11	Statistik	22
5	Ergebnisse	23
5.1	Baseline-Charakteristika	23
5.2	Intensive Fahrradergometrie	25
5.2.1	Grunddaten	25

5.2.2	Effekt der intensiven Fahrradergometrie auf den Calcium-Phosphat-Haushalt	26
5.2.3	Effekt der intensiven Fahrradergometrie auf den Fibroblast Growth Factor 23	30
5.3	Hochintensive Fahrradergometrie	32
5.3.1	Grunddaten	32
5.3.2	Effekt der hochintensiven Fahrradergometrie auf den Calcium-Phosphat-Haushalt	33
5.3.3	Effekt der hochintensiven Fahrradergometrie auf den Fibroblast Growth Factor 23	37
6	Diskussion	39
6.1	Hintergrund	39
6.2	Analyse der Baseline-Charakteristika	46
6.3	Effekt einer sportlichen Betätigung auf den Calcium-Phosphat-Haushalt	46
6.4	Effekt einer sportlichen Betätigung auf den Fibroblast Growth Factor 23	49
6.5	Limitationen	53
6.6	Schlussfolgerungen	55
7	Literaturverzeichnis	56
8	Publikationen / Kongressbeiträge	64
9	Danksagung	65

1 Abkürzungsverzeichnis

AS	Aminosäure
BMI	Body-Mass-Index
CARE FOR HOME	Cardiovascular and Renal Outcome in CKD 2 – 4 Patients – The Fourth Homburg evaluation
CKD	Chronic kidney disease; chronische Nierenerkrankung
CKD-MBD	Chronic kidney disease – minimal and bone disorder; Mineralstoff- und Knochenerkrankungen bei chronischer Nierenerkrankung
eGFR	Estimated glomerular filtration rate; geschätzte glomeruläre Filtrationsrate
EKG	Elektrokardiogramm
EDTA	Ethylendiamintetraessigsäure
FE	Fahrradergometrie
FGF-23	Fibroblast Growth Factor 23
FGFR	Fibroblast Growth Factor Rezeptor
FGFR4	Fibroblast Growth Factor Rezeptor 4
HMG-CoA	3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A
IAS	Individuelle anaerobe Schwelle
IQR	Interquartile Range; Interquartilabstand
LDL-C	Low Density Lipoprotein – Cholesterin
LVH	Linksventrikuläre Hypertrophie
NFAT	Nuclear-factor-of-activated-t-cells
PTH	Parathormon
RU	Relative units, relative Einheiten

sKlotho

Soluble Klotho, lösliche Form von Klotho

VO₂max

Maximale Sauerstoffaufnahme

2 Übersicht

2.1 Zusammenfassung

Ein hoher Plasmaspiegel des phosphaturischen Hormons Fibroblast Growth Factor 23 (FGF-23) ist bei nierenkranken und nierengesunden Menschen in Querschnittsanalysen mit linksventrikulärer systolischer Insuffizienz und in Längsschnittstudien mit kardialen Dekompensationen assoziiert.

Unklar ist bislang die Kausalität zwischen einer FGF-23 Erhöhung und kardialer Morbidität. Tierexperimentelle Daten weisen auf eine erhöhte Expression von FGF-23 bei erhöhter Sympathikusaktivität hin und implizieren damit, dass eine chronische Herzinsuffizienz mit konsekutiver Sympathikusaktivierung Ursache und nicht Folge erhöhter FGF-23-Plasmaspiegel sein könnte.

Da die klinische Bedeutung dieser tierexperimentellen Verknüpfung noch ungeklärt ist, wurde der Einfluss einer Sympathikusaktivierung im physiologischen Stressmodell einer akuten körperlichen Aktivität auf den Calcium-Phosphat-Haushalt mit Fokus auf FGF-23 untersucht.

In die Fit@HOME Studie wurden 15 männliche Probanden ohne kardiovaskuläre Erkrankungen im Zeitraum von März bis November 2015 eingeschlossen. Bei der Eingangsuntersuchung (Anamnese, körperliche Untersuchung, Echokardiographie, Ruhe- und Belastungs-Elektrokardiogramm) erfolgte eine standardisierte Fahrradergometrie (FE) zur Ermittlung der individuellen anaeroben Schwelle (IAS) nach Stegmann durch eine Laktatbestimmung aus dem Kapillarblut des hyperämisierten Ohrläppchens und der Zielherzfrequenzen. In randomisierter Reihenfolge absolvierten die Probanden im Abstand von einer Woche eine intensive FE bei 90% der IAS (mittlere Belastungsdauer: 60 min) und eine hochintensive FE bei 110% der IAS (mittlere Belastungsdauer: 38 ± 18 min).

Messungen von C-terminalem und intaktem FGF-23 und von weiteren Parametern des Calcium-Phosphat-Haushalts erfolgten an vier verschiedenen Zeitpunkten (vor der FE und 5 min, 90 min und 24 h danach).

Die Probanden waren im Durchschnitt 25 ± 3 Jahre alt, $1,79 \pm 0,07$ m groß, 79 ± 13 kg schwer und hatten eine geschätzte mittlere glomeruläre Filtrationsrate von 110 ± 17 ml/min/1,73 m². Da zwei Probanden nicht die Vorgabe der intensiven FE (Belastungszeitraum: 60 min) erreichten, wurden sie bei den nachfolgenden Analysen dieser Belastung nicht berücksichtigt. Weder die intensive noch die hochintensive FE induzierten einen signifikanten Anstieg von C-terminalem FGF-23 (intensive Belastung: prä Median 79,6 [Interquartilsabstand (IQR) 64,9 – 92,4] relative Einheiten (RU)/ml; 5 min post Median 79,0 [IQR 62,3 – 103,2] RU/ml; 90 min post Median 74,9 [IQR 64,2 – 90,1] RU/ml; 24 h post Median 75,2 [IQR 57,5 – 95,3] RU/ml; $p = 0,656$; hochintensive Belastung: prä Median 71,2 [IQR 48,6 – 94,4] RU/ml; 5 min post Median 71,2 [IQR 55,8 – 97,2] RU/ml; 90 min post Median 75,9 [IQR 63,0 – 134,6] RU/ml; 24 h post Median 64,6 [IQR 46,0 – 84,3] RU/ml; $p = 0,184$). Auch das intakte FGF-23 zeigte keine Zunahme bei der intensiven (prä Median 39,7 [IQR 34,1 – 50,9] pg/ml; 5 min post Median 40,5 [IQR 35,6 – 47,6] pg/ml; 90 min post Median 42,1 [IQR 30,8 – 49,7] pg/ml; 24 h post Median 43,7 [IQR 39,3 – 55,4] pg/ml; $p = 0,635$) und bei der hochintensiven (prä Median 34,5 [IQR 29,0 – 42,1] pg/ml; 5 min post Median 41,3 [IQR 31,0 – 48,8] pg/ml; 90 min post Median 39,3 [IQR 33,0 – 50,1] pg/ml; 24 h post Median 39,3 [IQR 32,2 – 56,4] pg/ml; $p = 0,135$) Belastung. Jedoch stieg die Phosphat-Plasmakonzentration trotz Erhöhung der fraktionellen Phosphatausscheidung, die in der intensiven, nicht jedoch in der hochintensiven FE Signifikanzniveau erreichte.

Der Calcium-Plasmaspiegel stieg bei hochintensiver, nicht jedoch bei intensiver Belastung mit Abnahme der fraktionellen Calciumausscheidung.

Die Daten unserer Studie untermauern die, in bisherigen Studien postulierte, Hypothese nicht, dass eine Sympathikusaktivierung einen signifikanten FGF-23 Anstieg induziert. Welche anderen Faktoren FGF-23 physiologisch und pathophysiologisch regulieren, sollte in weiteren Arbeiten untersucht werden. Nachfolgend wäre zu prüfen, ob diese Faktoren durch therapeutische Interventionen zur Senkung von FGF-23 führen könnten. In einem letzten Schritt sollte geprüft werden, ob eine solche Senkung von FGF-23 in randomisierten klinischen Studien den erhofften kardiovaskulären Vorteil erbringt.

2.2 Summary

Both in patients suffering from chronic kidney disease and individuals with intact kidney function, high plasma fibroblast growth factor 23 (FGF-23) levels are cross-sectional related to left ventricular systolic dysfunction. Moreover, they predict future cardiac decompensations in chronic kidney disease patients and among individuals with normal renal function.

The pathophysiologic pathways by which elevated plasma FGF-23 may induce cardiovascular morbidity are largely unknown. In animal studies, high sympathetic activity induces FGF-23 expression, which suggests that chronic heart failure with consecutively increased sympathetic activity may induce, rather than follow, high FGF-23 plasma levels.

As the clinical relevance of these findings has been unknown so far, we aimed to investigate the influence of sympathetic activity on calcium phosphate regulation, focussing on FGF-23, in a physiological stress model of physical activity.

Between March and November 2015, 15 male participants without cardiovascular disease were recruited into the Fit@HOME study. All participants underwent physical examination, echocardiography, electrocardiogram at rest, and an exercise electrocardiogram; additionally, a standardized questionnaire was completed by all participants. A standardized bicycle ergometry was performed in order to define the individual anaerobic threshold (IAT; according to the protocol suggested by Stegmann via capillary blood analyses) and to determine the target heart rate. In randomized order, all participants absolved an intensive bicycle ergometry with 90% of the IAT (average load time of 60 min) and highly-intensive bicycle ergometry with 110% of the IAT (average load time of 38 ± 18 min), with an interval of seven days between the first and the second test.

At four time points (before the ergometry and after 5 min, 90 min and 24 h) C-terminal, intact FGF-23 and further calcium phosphate metabolism parameters were measured.

The participants were 25 ± 3 years of age, had a mean height and weight of 1.79 ± 0.07 m and 79 ± 13 kg, respectively, and a mean eGFR of 110 ± 17 ml/min/1.73 m². Two participants did not tolerate the workload of the intensive bicycle ergometry for 60 minutes; thus they were excluded from the corresponding analyses. Neither the intensive, nor the highly-intensive bicycle ergometry induced a significant rise of C-terminal (intensive load: pre median 79.6 [interquartile range (IQR) 64.9 – 92.4] relative units (RU)/ml; 5 min post median 79.0 [IQR 62.3 – 103.2] RU/ml; 90 min post median 74.9 [IQR 64.2 – 90.1] RU/ml; 24 h post median 75.2 [IQR 57.5 – 95.3] RU/ml; $p = 0.656$; highly intensive load: pre median 71.2 [IQR 48.6 – 94.4] RU/ml; 5 min post median 71.2 [IQR 55.8 – 97.2] RU/ml; 90 min post median 75.9 [IQR 63.0 – 134.6] RU/ml; 24 h post median 64.6 [IQR 46.0 – 84.3] RU/ml; $p = 0.184$). Intact FGF-23 did also not increase with either intensive (pre median 39.7 [IQR 34.1 – 50.9] pg/ml; 5 min post median 40.5 [IQR 35.6 – 47.6] pg/ml; 90 min post median 42.1 [IQR 30.8 – 49.7] pg/ml; 24 h post median 43.7 [IQR 39.3 – 55.4] pg/ml; $p = 0.635$) or highly-intensive (pre median 34.5 [IQR 29.0 – 42.1] pg/ml; 5 min post median 41.3 [IQR 31.0 – 48.8] pg/ml; 90 min post median 39.3 [IQR 33.0 – 50.1] pg/ml; 24 h post median 39.3 [IQR 32.2 – 56.4] pg/ml; $p = 0.135$) workload. However, with intensive (but admittedly not with highly-intensive) workload plasma phosphate increased despite rising urinary fractional phosphate excretion.

Plasma calcium rose and fractional calcium excretion decreased during highly-intensive, but not during the intensive load.

The results of our study are not in line with experimental data which suggested that increased sympathetic activity raise plasma FGF-23 levels. As a next step, alternative physiologic and pathophysiologic regulators of FGF-23 should be identified. Subsequently, it has to be studied in how far therapeutic interventions that target these regulatory factors will decrease plasma FGF-23. In a final step, it has to be analyzed in how far such interventions that lower plasma FGF-23 will also exert beneficial cardiovascular effects.

3 Einleitung

3.1 Hintergrund

Eine chronische Nierenerkrankung („chronic kidney disease“, CKD) ist ein zentraler kardiovaskulärer Risikofaktor. So zeigen große epidemiologische Studien in der Allgemeinbevölkerung und bei Patienten mit erhöhtem Risiko für Herz- und Kreislauferkrankungen, dass die kardiovaskuläre Morbidität und Mortalität mit abnehmender Filtrationsleistung der Niere überproportional zunimmt [38, 42, 87, 127]. Eine eingeschränkte Nierenfunktion persistiert auch nach Korrektur für traditionelle kardiovaskuläre Risikofaktoren als ein unabhängiger Prädiktor für kardiovaskuläre Ereignisse [42, 84, 87, 127]. Die Prävalenz der CKD beträgt in der deutschen Allgemeinbevölkerung bei 18 - 79 jährigen Menschen 12,7 %; unter Einbeziehung der Gesamtbevölkerung wird eine Zahl von über zehn Millionen angenommen [41].

Der genaue pathophysiologische Zusammenhang zwischen einer Nierenfunktionsstörung und der Entstehung und Progredienz kardiovaskulärer Erkrankungen ist noch unklar; vermutlich besteht eine multifaktorielle Pathogenese. Neben traditionellen kardiovaskulären Risikofaktoren (arterielle Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, Nikotinabusus, Alter, Geschlecht und familiäre Disposition) wird als wichtiger Faktor der dysfunktionale Knochen- und Mineralstoffwechsel bei nierenkranken Menschen („chronic kidney disease – mineral and bone disorder“; CKD-MBD) diskutiert, der eine Hyperphosphatämie, eine Hypovitaminose D₃, einen sekundären Hyperparathyreoidismus und eine Erhöhung des phosphaturischen Hormons Fibroblast Growth Factor 23 (FGF-23) umfasst [51, 124]. Letztere gilt als frühester Marker der CKD-MBD; so geht bereits eine geringgradige Einschränkung der Nierenfunktion – entsprechend einer geschätzten glomerulären Filtrationsrate („estimated glomerular filtration rate“; eGFR) von 45 - 60 ml/min/1,73 m² – in klinischen Studien mit einer Erhöhung der Plasmaspiegel des Hormons FGF-23 einher [33, 57, 61].

Eine weitere Verschlechterung der Nierenleistung mit Verlust von renalen Tubuluszellen, die das Enzym 1 α -Hydroxylase exprimieren, führt gemeinsam mit einer direkt inhibitorischen Wirkung von FGF-23 auf dieses Enzym [78] zu einer eingeschränkten Bildung von aktivem Vitamin D₃. Beides führt zu einer verminderten intestinalen Calciumresorption [56]. Nachfolgend mündet der Ausfall des negativen Feedbacks von aktivem Vitamin D₃ und Calcium auf die Bildung von Parathormon (PTH) in einen sekundären Hyperparathyreoidismus [46, 50].

Aufgrund der phosphaturischen Wirkung von FGF-23 und PTH verbleiben die Phosphat-Plasmaspiegel trotz verminderter eGFR im Verlauf einer CKD lange im physiologischen Bereich. Erst mit einem sehr ausgeprägtem Abfall der eGFR kommt es zu einem Anstieg der Phosphat-Plasmaspiegel [57, 68].

In rezenten epidemiologischen Arbeiten hat dieser kontinuierliche Anstieg von FGF-23 bei chronisch nierenkranken Menschen Aufmerksamkeit erlangt. Eigentlich sollte ein Anstieg von FGF-23 aufgrund seiner phosphaturischen Wirkung durch Verhinderung einer Hyperphosphatämie bei geringgradiger und mittelgradiger CKD vaskuloprotektiv sein, da er eine phosphatinduzierte Gefäßkalzifikation verhindern müsste [40]. Tatsächlich wurde in mehreren prospektiven Studien bei Patienten mit verschiedenen Stadien einer CKD erhöhte und nicht verringerte Plasmaspiegel von FGF-23 als unabhängige Prädiktoren von kardiovaskulären Ereignissen [61, 104, 110] und Mortalität jedweder Genese erkannt [48, 61, 110].

3.2 Fibroblast Growth Factor 23

Das Proteohormon FGF-23 besteht aus 251 Aminosäuren (AS) [131]. Es ist aus einer Signalsequenz für das endoplasmatische Retikulum (AS 1-24) und dem physiologisch aktiven FGF-23 (AS 25-251) aufgebaut [131]. Innerhalb des physiologisch aktiven FGF-23 besteht eine Cleavagesequenz, die eine Spaltung des physiologisch aktiven, intakten FGF-23 in das N-terminale FGF-23 (AS 25-179) und das C-terminale FGF-23 (AS 180-251) erlaubt, wobei die Funktion dieser Fragmente weitgehend unklar ist [11, 12, 112].

Mit Hilfe seines obligatorischen Corezeptors Klotho entfaltet FGF-23 seine Wirkung an der Niere und den Nebenschilddrüsen über eine damit verbundene erhöhte Affinität für den FGF-Rezeptor-1 [121]. Als Folge führt FGF-23 durch Hemmung des Natrium-Phosphat-Cotransporters im proximalen Tubulus der Niere zu einer Phosphaturie und zu einer verminderten Synthese von aktiven Vitamin D₃ durch Hemmung der 1 α -Hydroxylase [98]. Des Weiteren wurde eine FGF-23 vermittelte Suppression der PTH-Bildung in den Nebenschilddrüsen berichtet [9].

Die Produktion von FGF-23 erfolgt beim Menschen vor allem durch Osteoblasten [86] und Osteozyten [99, 100]; zusätzlich konnte eine geringe extraossäre Bildung nachgewiesen werden [22]. Diese Ergebnisse konnten in verschiedenen Mausmodellen reproduziert werden [25, 73, 99, 131]. Die Halbwertszeit von FGF-23 beträgt in vivo etwa 50 Minuten [69].

Die Expression vom FGF-23 wird multifaktoriell beeinflusst. Es wird postuliert, dass eine orale Zufuhr von Phosphat zu einer gesteigerten Bildung von FGF-23 führt [49], ohne dass die genauen zugrundeliegenden Signalkaskaden charakterisiert wurden. So wurde bei einer intravenösen Phosphatgabe keine gesteigerte Bildung von FGF-23 beobachtet [59], was einen zusätzlichen, noch nicht bekannten Mediator vermuten lässt, der nach oraler Phosphataufnahme die ossäre Bildung von FGF-23 stimuliert. Zudem fördert aktives Vitamin D₃ die Expression von FGF-23 durch Bindung an ein Vitamin-D-Response-Element im Promotor des FGF-23-Gens [73, 78]; konsekutiv wurden in klinischen Studien erhöhte FGF-23-Plasmaspiegel bei Gabe von Vitamin D₃-Analoga nachgewiesen [23, 114].

Als weiterer Einflussfaktor für die Expression von FGF-23 gilt das PTH. Es wird eine direkte Beeinflussung über einen PTH-Rezeptor an den Osteozyten [99] als auch eine indirekte Beeinflussung über den Calcium-Phosphat-Haushalt diskutiert [80].

Jedoch kann der exponentielle Anstieg von FGF-23 bei chronisch nierenkranken Menschen nicht allein durch eine Freisetzung des Hormons durch klassische Komponenten der CKD-MBD – Phosphatzufuhr, Vitamin D₃ und PTH – erklärt werden. Vielmehr müssen weitere Stimulatoren – möglicherweise außerhalb der klassischen CKD-MBD – zur FGF-23-Freisetzung beitragen [51].

In diesem Kontext werden die, bei der CKD auftretende, chronische Inflammation und der ebenfalls bei der CKD auftretende Eisenmangel diskutiert [1, 3]. So führt bei nierengesunden Mäusen ein entzündungsvermittelter Eisenmangel zu erhöhten FGF-23-Plasmaspiegel [25]. Bei chronisch nierenkranken Mäusen zeigt sich eine Korrelation zwischen der Inflammation, der Expression und Bildung von intaktem FGF-23 [25]. In einer klinischen Studie wurde bei Frauen mit einer Eisenmangelanämie erhöhte C-terminale FGF-23-Plasmaspiegel beobachtet; gleichwohl wiesen diese Frauen – vermutlich aufgrund beschleunigter intrazellulärer Spaltung von intakten FGF-23 zu N-terminalen und C-terminalen FGF-23 – ein normales, intaktes (physiologisch aktives) FGF-23 und konsekutiv eine Normophosphatämie auf. Nach Eisensubstitution normalisierten sich die C-terminalen FGF-23-Plasmaspiegel wieder [128].

Allerdings weisen auch chronisch nierenkranke Menschen ohne manifesten Eisenmangel und ohne systemische Inflammation deutlich erhöhte FGF-23-Plasmaspiegel auf, so dass zusätzliche Induktoren zum Anstieg von FGF-23 beitragen (unveröffentlichte Daten der Cardiovascular and Renal Outcome in CKD 2 – 4 Patients – The Fourth Homburg evaluation (CARE-FOR-HOMe) Kohorte).

Als weitere Auslöser der FGF-23 Freisetzung bei chronisch nierenkranken Menschen werden in rezenten Publikationen Katecholamine diskutiert. Eine erhöhte Sympathikusaktivität ist ein weiterer Effekt einer CKD [26, 44, 137], der mit einer erhöhten kardiovaskulären Morbidität und Mortalität assoziiert wird [137]. Zudem fördert der Sympathikus im Tierexperiment die FGF-23 Bildung nahrungszeitenabhängig in einem circadianen Rhythmus [64]; so führt ein β_2 -Sympathomimetikum (Isoproterenol) [64] und eine präsumtive Sympathikusaktivierung im Rahmen einer Anästhesie [45] zu einem erhöhten FGF-23.

3.3 Fragestellung

Obgleich experimentell ein Zusammenhang zwischen einer pathologischen Sympathikusaktivität und der Freisetzung von FGF-23 gezeigt wurde [64], ist die klinische Relevanz dieser Befunde noch unklar.

Daher soll in dieser Promotionsarbeit die Bedeutung eines physiologischen Stressmodells mit akuter Sympathikusaktivierung auf die FGF-23-Plasmaspiegel und den Calcium-Phosphat-Haushalt untersucht werden.

Mit dieser Arbeit möchten wir die Hypothese überprüfen, dass eine physiologische Sympathikusstimulation – Form einer definierten sportlichen Aktivität - zu einer Zunahme des FGF-23 und konsekutiv zu einer vermehrten renalen Phosphatexkretion führt.

Die Überprüfung dieser Hypothese soll zu einem besseren Verständnis der Regulation der FGF-23-Expression ermöglichen, das zur Entwicklung neuer Therapiestrategien benötigt wird. So könnten möglicherweise durch Modifikationen von FGF-23 kardioprotektive Effekte erzielt werden.

4 Material und Methoden

4.1 Studiendesign und -population

In die Fit@HOMe Studie wurden im Zeitraum von März 2015 bis November 2015 15 männliche Probanden ohne kardiovaskuläre Erkrankungen eingeschlossen. Bei der vorliegenden, prospektiven Studie handelt es sich um eine monozentrische Cross-Over Studie zur Überprüfung des Einflusses einer akuten körperlichen Aktivität auf die Plasmaspiegel des phosphaturischen Hormons FGF-23.

Bei allen Probanden erfolgte eine standardisierte Fahrradergometrie (FE) im Institut für Sport- und Präventivmedizin der Universität des Saarlandes in Saarbrücken. Hierbei wurde die individuelle anaerobe Schwelle (IAS) nach Stegmann [115] bestimmt, welche die Berechnung von herzfrequenzorientierten Belastungsstufen (intensiv / hochintensive Belastung) für die nachfolgenden Fahrradergometrien in der Klinik für Innere Medizin IV – Nieren- und Hochdruckkrankheiten – des Universitätsklinikums des Saarlandes in Homburg ermöglichte.

Die Studie wurde durch die Ethikkommission der Saarländischen Ärztekammer genehmigt. Die Probanden haben eine schriftliche Einverständniserklärung unterschrieben.

4.2 Ein- und Ausschlusskriterien

Einschlusskriterien

- Männer im Alter von 18 - 35 Jahre
- Einwilligung in Teilnahme an der Studie nach ausführlicher Aufklärung
- Regelmäßige körperliche Aktivität in den letzten sechs Wochen (mindestens durchschnittlich 30 min pro Woche)

Ausschlusskriterien

- Weibliches Geschlecht
- Prävalente kardiovaskuläre Erkrankung
- Prävalente nephrologische Erkrankung
- Prävalenter Diabetes mellitus
- Prävalente hämatologische / onkologische Erkrankung
- Schwere neurologische oder orthopädische Komorbiditäten
- Akuter Infekt in den letzten vierzehn Tagen

4.3 Bestimmung der individuellen anaeroben Schwelle

Alle Probanden wurden im Institut für Sport- und Präventivmedizin untersucht. Zunächst wurde durch Erhebung einer internistisch-sportmedizinischen Anamnese, in der Vorerkrankungen, kardiovaskuläre Ereignisse des Probanden, die Familienanamnese, die wöchentliche körperliche Aktivität und die etwaige Einnahme von Medikamenten erfasst. Im Anschluss wurde eine körperliche Untersuchung, eine transthorakale Echokardiographie und ein Ruhe-Elektrokardiogramm (EKG) durchgeführt, um das Vorliegen kardialer Erkrankungen auszuschließen. Das Körpergewicht und die Körpergröße wurden mit einer Säulenwaage mit integriertem Messstab (Modell M304040-01, ADE Schnellwagen- und Aufschnittmaschinen-Fabrik Walter R. Mayer GmbH & Co., Hamburg, Deutschland) und der arterielle Blutdruck mit einem manuellen Sphygmomanometer gemessen.

Die FE fand mit einem drehzahlunabhängigen Fahrradergometer der Firma Lode (Excalibur Supersport, Groningen, Niederlande) statt. Für die Überwachung der Herzfrequenz während der Belastung diente ein 12-Kanal-EKG-Monitoring. Jede FE startete auf der 50 Watt-Stufe, wobei alle drei Minuten eine Belastungssteigerung um weitere 50 Watt erfolgte. Pro Stufe musste der Proband zwischen 60 bis 80 Umdrehungen pro Minute erreichen.

Zur Dokumentation und zur Überwachung wurde während jeder Belastungsstufe der arterielle Blutdruck gemessen und ein EKG abgeleitet und ausgedruckt.

Die Ergometrie wurde bei individueller Erschöpfung oder bei Auftreten eines Abbruchkriteriums nach Maßgabe der Leitlinie zur Ergometrie der Deutschen Gesellschaft für Kardiologie – Herz- und Kreislaufforschung abgebrochen [119].

Kapilläre Blutentnahmen erfolgten am mit Finalgon hyperämisierten Ohrläppchen der Probanden vor der Belastung in Ruhe, am Ende jeder Belastungsstufe, zum Zeitpunkt des Abbruchs der Belastung, eine Minute, drei Minuten, fünf Minuten, sieben Minuten und zehn Minuten nach der Belastung. In diesen Blutproben wurde enzymatisch-amperometrisch (SuperGL, Rolf Greiner Biochemica GmbH, Flacht, Deutschland) die Laktatkonzentration bestimmt.

Aus den Messergebnissen wurde eine Laktat-Leistungskurve erstellt. Die Ermittlung der IAS erfolgte mit dem Schwellenmodell nach Stegmann & Kindermann (1981), das die IAS als Zeitpunkt definiert, an dem ein Gleichgewicht zwischen der maximalen Eliminationsrate und der Diffusionsrate des Laktats besteht [115].

Nach Bestimmung der IAS wurden die Zielherzfrequenzen für die zwei Fahrradergometrien festgelegt. Die Zielherzfrequenz für die intensive fahrradergometrische Dauerbelastung lag bei 90 % der IAS (Belastungsdauer: 60 min), die Zielherzfrequenz für die hochintensive FE lag bei 110 % der IAS (Belastungsdauer: bis zur körperlichen Erschöpfung, maximal 60 min).

4.4 Prozedere vor den Fahrradergometrien

Im Abstand von einer Woche wurden die zwei Fahrradergometrien in randomisierter Reihenfolge durchgeführt (siehe Abbildung 1). Auf Grund der zirkadianen Rhythmik der Phosphatregulation [60, 66] wurden die beiden Fahrradergometrien zwischen 13:30 und 17:00 Uhr gestartet.

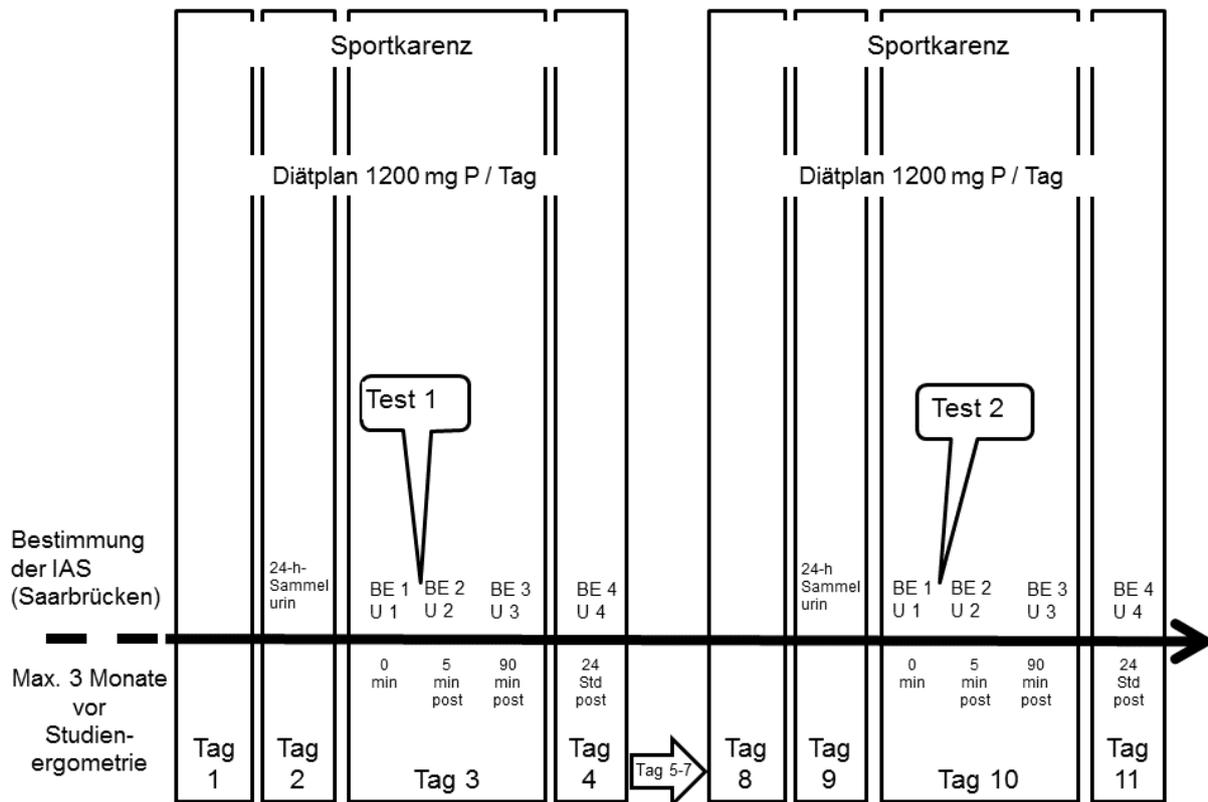


Abbildung 1: Planungsskizze der Studie

IAS: Individuelle anaerobe Schwelle; 1200 mg P/Tag: 1200 mg Phosphor pro Tag; BE: Blutentnahme, U: Urinentnahme; min: Minuten; post: Zeit nach der Fahrradergometrie

Zwei Tage vor der FE und einen Tag nach der FE mussten die Probanden eine Sportkarenz und eine Phosphatdiät einhalten. Die Sportkarenz wurde angeordnet, um eine Einflussnahme von körperlicher Aktivität außerhalb der FE auf die Studienergebnisse zu verhindern. Das Ziel der Phosphatdiät war maximal 1200 mg Phosphor mit der Ernährung aufzunehmen, um einen Einfluss einer überhöhten Phosphorzufuhr auf FGF-23 zu verhindern. Phosphor (P) ist ein Mineralstoff, der in Form von Phosphationen (PO_4^{3-}) oral aufgenommen und dessen Gehalt im Blut dementsprechend mit dem Phosphat im Plasma angegeben wird. Alle Probanden wurden angewiesen, auf Nahrungsmittel mit hohem Phosphorgehalt zu verzichten; dies sollten sie in einem Ernährungstagebuch dokumentieren. Die laborchemische Kontrolle erfolgte im 24-h Sammelurin, in dem etwa 800 mg Phosphor bei einer täglich aufgenommenen Menge von 1200 mg Phosphor ausgeschieden werden sollten [53].

Am Tag vor den Fahrradergometrien sammelten die Probanden über 24 Stunden ihren Urin zur Bestimmung der Calcium-, Phosphor-, Kreatinin- und Harnstoffausscheidung. Über die korrekte Vorgehensweise zur Gewinnung des Sammelurins wurden alle Probanden mündlich und schriftlich aufgeklärt.

Vor jeder Belastung wurden mittels kurzer Anamnese eine relevante Infektionserkrankung und sonstige akute Erkrankungen ausgeschlossen.

Der Zeitpunkt des Eintreffens des Probanden wurde notiert. Nach Anlegen der Sportkleidung wurde die Körpergröße mit dem wandfesten Messstab (Modell SECA 216, Seca Deutschland, Hamburg, Deutschland) und das Körpergewicht (SECA Modell 920, Seca Deutschland) des leicht bekleideten, barfüßigen Probanden gemessen. Der Body-Mass-Index (BMI) wurde aus Körpergewicht und Körpergröße (Körpergewicht [kg] / Körpergröße [m]²) berechnet. Eine Ruheblutdruckmessung und die Ruheblutentnahme erfolgten nach fünfminütiger Ruhe im Sitzen. Die Blutdruckmessung (Dinamap V100, Anandic Medical Systems, Feuerthalen, Schweiz) wurde an beiden Armen durchgeführt, zusätzlich wurde die Herzfrequenz notiert. Anschließend erfolgte die venöse Ruheblutentnahme. Die Lagerung der Blutproben für die Bestimmung der Elektrolyte und des Kreatinins erfolgten bei Raumtemperatur; das Ethylendiamintetraessigsäure (EDTA)-Röhrchen für die spätere Bestimmung von FGF-23 wurde direkt auf Eis gelagert.

Nachfolgend gab der Proband eine Spontanurinprobe ab. Eine Übersicht der gewonnenen Patientenproben ist in Tabelle 1 dargestellt.

Tabelle 1: Übersicht über die gewonnenen Patientproben

Zeitpunkt	Röhrchen	Bestimmung
BE 1-8	4,7 ml Lithium-Heparin	Calcium; Phosphat; Kreatinin Cystatin C (nur BE1)
	9 ml EDTA	FGF-23 Bestimmung Asservierung von Plasmaproben
	9 ml Serum	Asservierung von Serumproben
	2,7 ml EDTA	Monozytenfärbung
BE 1	4,7 ml Serum	1,25-Dihydroxycholecalciferol; Parathormon
	2,7 ml EDTA	Kleines Blutbild
U 1-8	9 ml Urin	Calcium; Phosphat; Kreatinin
		Asservierung von Urinproben
U1 und U5	9 ml Sammelurin	Calcium; Phosphat; Harnstoff; Kreatinin
		Asservierung von Urinproben

BE: Blutentnahme; U: Urinentnahme; FGF-23: Fibroblast Growth Factor 23.

4.5 Durchführung der Fahrradergometrien

Zu Beginn der FE sollte der Proband in einer individuellen Aufwärmphase seine Zielherzfrequenz erreichen. Es wurde dokumentiert, wenn die Aufwärmphase länger als fünf Minuten dauerte. Die Belastungsstufe in Watt wurde durch den Probanden individuell gewählt und angepasst.

Nach Erreichen des Zielherzfrequenzbereichs begann die eigentliche Belastungsphase. Als Aktivitätsdauer wurden bei der Belastungsintensität von 90 % der IAS 60 Minuten vorgegeben. Bei 110 % der IAS erfolgte die Belastung bis zur individuellen Erschöpfung, maximal jedoch 60 Minuten. Die kapillären Blutentnahmen zur Laktatbestimmung vor der FE und unmittelbar nach Belastungsabbruch wurden am hyperämisierten Ohrläppchen durchgeführt und mit dem Blutgasanalysator ABL90 FLEX (Radiometer Medical ApS, Kopenhagen, Dänemark) gemessen. Der Erschöpfungsgrund wurde notiert. Flüssigkeitszufuhr während der Belastung war erlaubt; die Trinkmenge wurde dokumentiert.

Im Anschluss an die Belastung erfolgten Blutentnahmen nach fünf Minuten, nach 90-minütigem Sitzen und 24 Stunden später, erneut nach fünfminütiger Ruhe Phase im Sitze (siehe Tabelle 2).

Tabelle 2: Übersicht über die Untersuchungen während des Studienablaufs

Zeit	Kürzel	Blut- und Urinentnahme	weitere Untersuchungen
vor der Studienergometrie	ZP0	BE 1/BE 5 und U 1/U 5	Gewicht und Größe
			Fragebogen
			Ruheblutdruckmessung
			Laktatentnahme
nach der Studienergometrie	ZP1	BE 2/BE 6 und U 2/U 6	Laktatentnahme
90 Minuten nach der Studienergometrie	ZP2	BE 3/BE 7 und U 3/U 7	keine
24 Stunden nach der Studienergometrie	ZP3	BE 4/BE 8 und U 4/U 8	keine

ZP: Zeitpunkt; BE: Blutentnahme; U: Urinentnahme.

4.6 Überwachung der Herzfrequenz

Die Herzfrequenzbestimmung erfolgte bei den ersten Probanden mittels 12-Kanal EKG-Monitoring. Da die Elektroden beim schwitzenden Probanden nicht zuverlässig hielten und die EKG-Kabel für Bewegungsartefakte trotz Befestigung der Extremitätenelektroden am Rücken anfällig waren, wurde ab dem vierten Probanden zu einer Pulsuhr-getriggerten Überwachung gewechselt. Dafür wurde ein EKG-Gurt (Beurer GmbH, Ulm, Deutschland) unterhalb der Brust platziert, der die Herzfrequenz an die Pulsuhr PM25 (Beurer GmbH) weiterleitete; diese gab einen akustischen Alarm, wenn die Zielherzfrequenz unter- oder überschritten wurde.

4.7 Probengewinnung und -archivierung

Im Labor (Innere Medizin IV - Nieren- und Hochdruckkrankheiten, Homburg, Deutschland) wurde das 9-ml-EDTA-Röhrchen und das 4,7-ml-Serum-Röhrchen bei 4000 Umdrehungen pro Minute sieben Minuten lang zentrifugiert. Mit der Spontanurinprobe wurde ein 9-ml-Urin-Röhrchen befüllt. Plasma-, Serum-, und Urinproben wurden unmittelbar nachfolgend eingefroren und bei -80 °C gelagert. Zudem wurde eine 100- μ l-Vollblutprobe aus dem 2,7-ml-EDTA-Röhrchen und 9 ml der Sammelurinprobe bei -80 °C für spätere Analysen eingefroren und gelagert.

Die Bestimmung der Blut- und Urinwerte – mit Ausnahme von FGF-23 – erfolgte nach den Standardmethoden im Zentrallabor des Universitätsklinikum des Saarlandes [135].

4.8 Bestimmung von Fibroblast Growth Factor 23

Kommerziell verfügbare Enzyme Linked Immunosorbent Assays (ELISAs) messen den Plasmaspiegel von FGF-23 mittels zwei Strategien, um die unterschiedlichen Epitope des FGF-23 zu erkennen.

Der humane intakte FGF-23 Assay der zweiten Generation (Immunotopics, San Clemente, CA, USA; unterer Grenzwert 1,5 pg/ml, oberer Grenzwert 2230 pg/ml, alle Proben wurden unverdünnt gemessen) misst nur das physiologisch aktive FGF-23 unter Einsatz von zwei spezifischen Antikörpern, von denen der eine Antikörper ein Epitop am N-terminalen Segment und der andere Antikörper ein Epitop am C-terminalen Segment bindet. Somit kann dieser Test nur das intakte FGF-23 bestimmen, das sowohl aus einem N-terminalen als auch aus einem C-terminalen Segment besteht (siehe Abbildung 2).

Der humane C-terminale FGF-23 Assay der zweiten Generation (Immunotopics; unterer Grenzwert 1,5 relative Einheiten („relative units“, RU)/ml, oberer Grenzwert 1380 RU/ml, alle Proben wurden unverdünnt gemessen) misst neben intakten FGF-23 auch abgespaltene C-terminale FGF-23-Segmente, da dessen spezifische Antikörper nur Epitope am C-terminalen FGF-23-Segment binden (siehe Abbildung 2).

Die Konzentration von FGF-23 wurde durch photometrische Messung mit dem Photometer Sunrise[™] (Tecan Group Ltd., Männedorf, Schweiz) bestimmt. Schlussendlich wurde eine Auswertung der Messergebnisse mit der Software Megellan[™] durchgeführt (Tecan Group Ltd.).

Humaner intakter FGF-23 Assay	Humaner C-terminale FGF-23 Assay
<p>Keine Reaktion</p> <p>N-terminales Segment C-terminales Segment</p>	<p>N-terminales Segment C-terminales Segment</p>
Nur bei Bindung der Antikörper an die <u>zwei</u> verbundenen Segmente des FGF-23 kommt es zu einer messbaren Reaktion	Bei Bindung der Antikörper an das C-terminale Segment des FGF-23 kommt es zu einer messbaren Reaktion

Abbildung 2: Vereinfachte graphische Gegenüberstellung der Messmethoden der Assays für FGF-23

Die halben Rahmen sind die Epitope der jeweiligen Assays; der Blitz zeigt die jeweils messbare Form des FGF-23 an. FGF-23: Fibroblast Growth Factor 23.

4.9 Berechnung der fraktionellen Calcium- und Phosphatausscheidung

Zur Bestimmung der fraktionellen Calcium- und Phosphatausscheidung wurden im Plasma bzw. im Urin die Kreatinin-, Calcium- und Phosphatkonzentrationen gemessen und mit Hilfe der folgenden Formeln berechnet:

Fraktionelle Calciumausscheidung = $(\text{Urin Calcium} * \text{Plasma Kreatinin}) / (\text{Plasma Calcium} * \text{Urin Kreatinin}) * 100$

Fraktionelle Phosphatausscheidung = $(\text{Urin Phosphat} * \text{Plasma Kreatinin}) / (\text{Plasma Phosphat} * \text{Urin Kreatinin}) * 100$

4.10 Kalkulierung der Sauerstoffaufnahme

Die absolute maximale Sauerstoffaufnahme (VO_{2max}) wurde mit folgender Formel [117] kalkuliert:

$$VO_{2max} = 700 + 11 * \text{Watt der maximalen Leistung}$$

Für die relative VO_{2max} wird die absolute VO_{2max} durch das Körpergewicht dividiert.

4.11 Statistik

Die elektronische Datenerfassung erfolgte mit Microsoft® Excel. Danach wurden die Daten zur statistischen Auswertung in die Statistik Software SPSS 20 übertragen. Graphische Abbildungen wurden mit dem Programm GraphPad Prism 6.04 erstellt.

Kategoriale Werte sind als Anzahl (Prozentwert) angegeben, stetige Werte als Mittelwert \pm Standardabweichung und nicht-parametrische Werte sind mit Median (Interquartilsrange) angegeben. Intragruppenanalysen wurden mittels abhängigen-t-Test und Intergruppenanalysen wurden mittels Zweistichproben-t-test betrachtet. Für Analysen von mehreren abhängigen Stichproben im zeitlichen Verlauf wurde die einfaktorielle Varianzanalyse mit Messwiederholung bei Nominalverteilung mit dem Intra-Subjekt-Faktor Zeit (ZP0, ZP1, ZP2 und ZP3) und dem Inter-Subjekt-Faktor Belastungsintensität (Herzfrequenz bei 90 % der IAS oder Herzfrequenz bei 110% der IAS) verwendet. Als Post-hoc Test wurde der Tukey Test gewählt.

Bei fehlender Nominalverteilung wurde für die Untersuchung von drei oder mehr gepaarten Stichproben der Friedman-Test verwendet.

Statistische Signifikanz wurde akzeptiert bei $p \leq 0,05$.

5 Ergebnisse

5.1 Baseline-Charakteristika

17 männliche Freiwillige absolvierten die standardisierte FE im Institut für Sport- und Präventivmedizin der Universität des Saarlandes in Saarbrücken, nachfolgend wurden ein Proband mit pathologischem Befund (ventrikuläre Salven) und ein weiterer Proband aufgrund fehlender körperliche Fitness ausgeschlossen. Somit wurden 15 männliche Freizeitsportler mit einem Alter von 25 ± 3 Jahren in die Fit@HOME Studie eingeschlossen (weitere Baselinecharakteristika siehe Tabelle 3).

Die relative $VO_2\text{max}$ lag bei 47 ± 8 ml/kg Körpergewicht/min und die gewichtsbezogene maximale fahrradergometrische Leistung im Stufentest bei $3,4 \pm 0,7$ W/kg Körpergewicht. Nach Bestimmung der IAS mit dem Schwellenmodell nach Stegmann [115] errechnete sich eine durchschnittliche Herzfrequenz bei 90% der IAS von 146 ± 12 und bei 110% der IAS von 165 ± 11 Schläge pro Minute ($p < 0,001$). Es wurde zweimalig ein 24-Stunden-Sammelurin (vor der intensiven und hochintensiven FE) durchgeführt. Die Ergebnisse sind in Tabelle 4 zusammengefasst.

Tabelle 4: Sammelurinwerte vor beiden Fahrradergometrien

	Vor intensiver Fahrradergometrie (n = 13)	Vor hochintensiver Fahrradergometrie (n = 15)	p - Werte
Calcium (mmol/24 h)	$3,9 \pm 1,6$	$3,2 \pm 1,7$	0,182
Phosphat (mg/24 h)	1013 ± 242	1002 ± 244	0,608
Kreatinin (mg/24 h)	1792 ± 444	1651 ± 307	0,410
Harnstoff (mg/24 h)	23968 ± 8966	23074 ± 6316	0,641

Angegeben sind Mittelwerte \pm Standardabweichung. Zwei Probanden erreichten bei der intensiven Fahrradergometrie nicht die Zielvorgabe und wurden somit ausgeschlossen. Es wurde der t-Test für ungepaarte Stichproben angewendet. Die Urinparameter wurden über 24 Stunden gesammelt und quantitativ bestimmt.

Tabelle 3: Baselinecharakteristika

Alter (Jahre)	25 ± 3
Größe (m)	1,79 ± 0,07
Gewicht (kg)	79 ± 13
BMI (kg/m ²)	25 ± 3
Blutdruck systolisch (mmHg)	126 ± 14
Blutdruck diastolisch (mmHg)	73 ± 12
HF in Ruhe	71 ± 12
Raucher (%)	1 (6,7)
Asthma bronchiale (%)	1 (6,7)
Sportliche Betätigung pro Woche (n) (mindestens 30 min)	2 ± 1
Belastung an der IAS (Watt)	161 ± 35
Absolute VO ₂ max (ml/min)	3621 ± 571
Relative VO ₂ max (ml/kg Körpergewicht/min)	47 ± 8
Hämoglobin (g/dl)	14,6 ± 0,6
Vitamin D ₃ (ng/l)	21,3 ± 9,4
Parathormon, intakt (pg/ml)	40,6 ± 11,8
eGFR (ml/min/1,73 m ²)	110 ± 17
Cystatin C GFR (ml/min/1,73 m ²)	115 ± 11

Angegeben sind Anzahl (Prozentwert) bzw. Mittelwerte ± Standardabweichung. BMI: Body-Mass-Index; HF: Herzfrequenz; IAS: Individuelle anaerobe Schwelle; VO₂max: maximale Sauerstoffaufnahme; eGFR: estimated (geschätzte) glomeruläre Filtrationsrate; min: Minuten.

5.2 Intensive Fahrradergometrie

5.2.1 Grunddaten

Für die intensive FE wurde eine mittlere Zielherzfrequenz von 146 ± 12 Schlägen pro Minute ermittelt. Die Ergometrieparameter sind in Tabelle 5 dargestellt. Die angestrebte 60-minütige Belastung konnte von 13 Probanden absolviert werden; zwei Probanden brachen vorzeitig (20 min und 30 min nach Belastungsbeginn) wegen Schmerzen in den Beinen ab. Als Folge wurden diese zwei Probanden bei den nachfolgenden Analysen nicht berücksichtigt, da sie nicht die Vorgabe (Belastungszeitraum: 60 min) erreichten.

In Abbildung 3 ist der individuelle Verlauf des kapillären Laktats skizziert. Bei einem Probanden konnte aufgrund eines Aspirationsfehlers des ABL90 FLEX Blutgasanalysators kein Laktat nach der FE bestimmt werden; infolgedessen wurde er bei der Untersuchung der Laktatwerte nicht berücksichtigt. Alle Probanden befanden sich vor und nach der FE unterhalb der IAS, somit im aeroben Bereich. Insgesamt wies der mittlere Laktatwert eine Tendenz zur Zunahme ($p = 0,061$) von $1,09 \pm 0,38$ mmol/l auf $1,66 \pm 0,67$ mmol/l auf.

Tabelle 5: Ergometrieparameter der intensiven Fahrradergometrie

HF bei 90% der IAS (Schläge/min)	146 ± 12 (n = 13)
Laktat vor der Fahrradergometrie (mmol/l)	$1,09 \pm 0,38$ (n = 12)
Belastungszeitraum (min)	60 (n = 13)
Fahrradergometrieabbruch	kein Abbruch (n=13) Abbruchgrund Beinschmerzen (n=2)
Laktat nach der Fahrradergometrie (mmol/l)	$1,66 \pm 0,67$ (n=12)

Angegeben sind Mittelwerte \pm Standardabweichung. HF: Herzfrequenz; IAS: individuelle anaerobe Schwelle

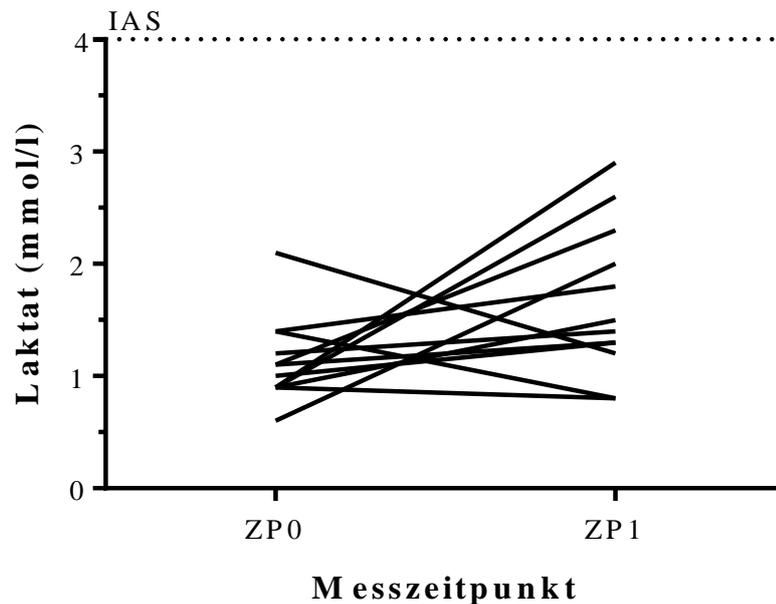


Abbildung 3: Individueller Verlauf des kapillären Laktats vor (ZP0) und nach (ZP1) der Fahrradergometrie

ZP: Zeitpunkt.

5.2.2 Effekt der intensiven Fahrradergometrie auf den Calcium-Phosphat-Haushalt

Es wurden bei allen Probanden zum ZP0 (vor der FE), ZP1 (5 min nach der FE), ZP2 (90 min nach der FE) und ZP3 (24 h nach der FE) die Calcium-, Phosphat- und Kreatininkonzentrationen im Plasma und Urin untersucht.

Wie in Tabelle 6 dargestellt, stieg der Phosphat-Plasmaspiegel bei erhöhter fraktioneller Phosphatausscheidung an. Die Calcium-Plasmakonzentration blieb konstant bei Abnahme der fraktionellen Calciumausscheidung.

Die Abbildungen 4 a-c zeigen die individuellen Verläufe der Plasma- und Urinkonzentrationen von Phosphat und der fraktionellen Phosphatausscheidung bei der intensiven Belastung.

Tabelle 6: Veränderungen des Calcium-Phosphat-Haushalts bei der intensiven Belastung

		ZP0	ZP1	ZP2	ZP3	p
Plasma	Calcium	2,35	2,39	2,38	2,35	0,356
	(mmol/l)	± 0,08	± 0,04	± 0,06	± 0,05	
	Phosphat	3,72 § ₃	4,27 * ₃ & ₃ # ₂	3,75 § ₃	3,66 § ₂	
	(mg/dl)	± 0,60	± 0,80	± 0,65	± 0,57	
	Kreatinin	0,96 §	1,02 * &	0,96 §	0,96	0,125
	(mg/dl)	± 0,17	± 0,16	± 0,13	± 0,07	
	Calcium	2,92 § ₂	1,70 * ₂	1,95	2,39	
Urin	(mmol/l)	± 1,70	± 1,33	± 1,59	± 2,05	
	Phosphat	64 §	121 * #	91	63 §	0,007
	(mmol/l)	± 32	± 68	± 55	± 43	
Kreatinin	163	220 #	157	127 §	0,004	
	(mg/dl)	± 62	± 137	± 91	± 79	
	FePi	11 &	14	15 *	13	0,007
	(%)	± 5	± 4	± 4	± 5	
	FeCi	0,78 § ₂	0,37 * ₂ & ₃ # ₃	0,51 § #	0,82 § ₃ &	< 0,001
	(%)	± 0,47	± 0,25	± 0,36	± 0,37	

Angegeben sind Mittelwerte ± Standardabweichung. Der Vergleich der vier Studienzeitpunkte erfolgte mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung und nachfolgendem post-hoc Tukey-Test (*: $p \leq 0,05$ ggü. ZP0; §: $p \leq 0,05$ ggü. ZP 1; & $p \leq 0,05$ ggü. ZP2; # $p \leq 0,05$ ggü. ZP3. Die Anzahl der Symbole weist auf das Signifikanzniveau hin (z. B. *: $p \leq 0,05$; *₂ $p \leq 0,01$; *₃: $p \leq 0,001$).

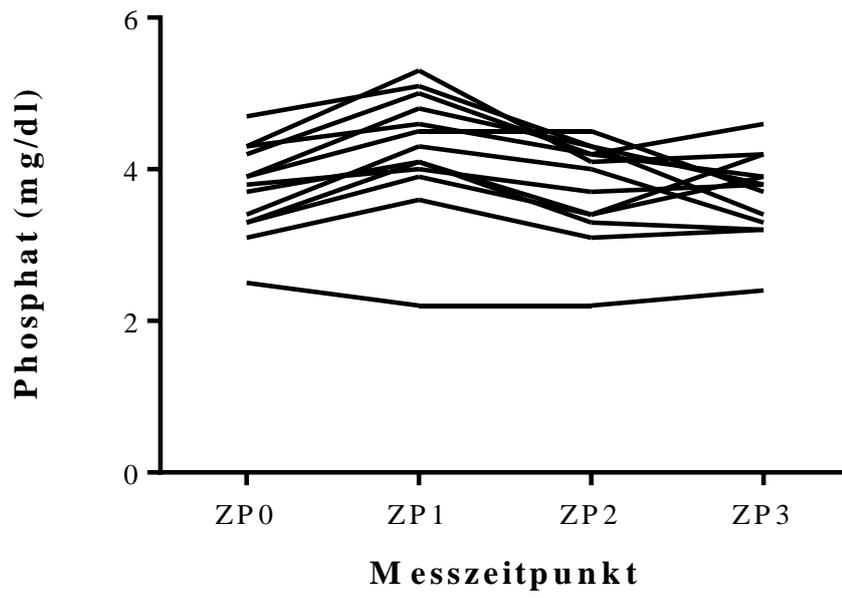


Abbildung 4 a

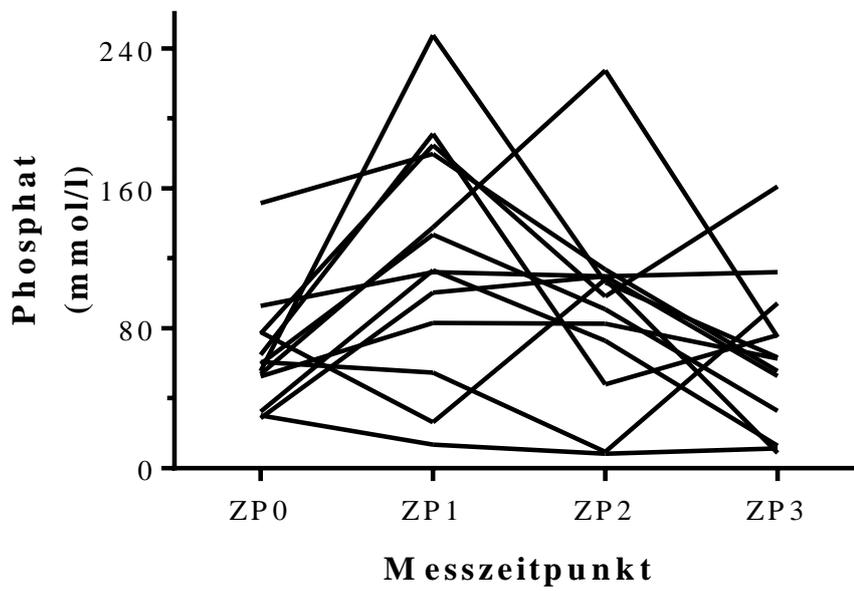
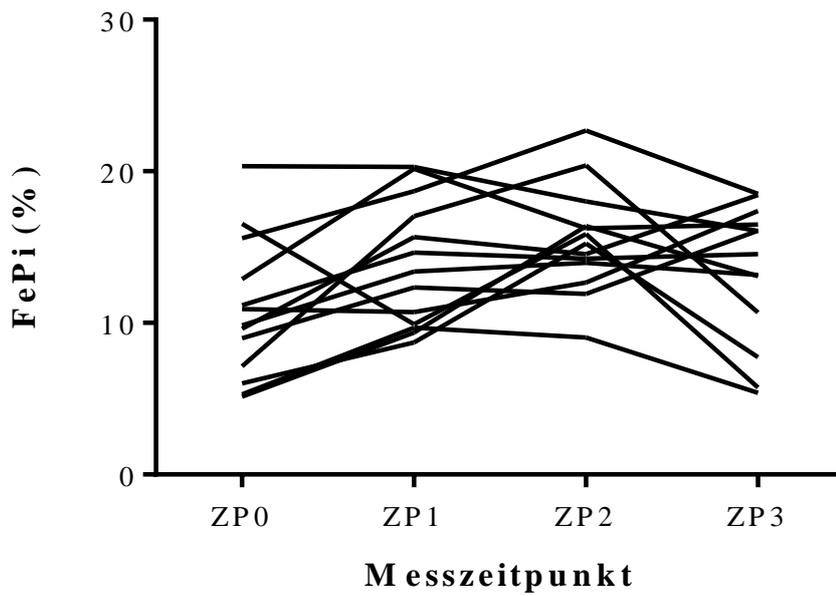


Abbildung 4 b



Abbildungen 4 a-c: Individuelle Verläufe der (a) Phosphat-Plasmakonzentrationen, (b) der Phosphat-Urinkonzentrationen und (c) der fraktionellen Phosphatausscheidung

ZP0: vor der Fahrradergometrie; ZP1: 5 min nach der Fahrradergometrie; ZP2: 90 min nach der Fahrradergometrie; ZP3: 24 h nach der Fahrradergometrie; FePi: Fraktionelle Phosphatausscheidung.

5.2.3 Effekt der intensiven Fahrradergometrie auf den Fibroblast Growth Factor 23

Die FE bei 90 % der Zielherzfrequenz führte zu einem diskreten Anstieg von intakten FGF-23 bzw. zu einem diskreten Abfall von C-terminalem FGF-23 im Plasma. Die Unterschieden waren aber nicht signifikant (siehe Tabelle 7)

In den Abbildungen 5 a und b ist der zeitliche Verlauf der Plasmaspiegel der beiden Formen von FGF-23 bei der intensiven Belastung dargestellt.

Tabelle 7: Zeitlicher Verlauf der FGF-23-Plasmaspiegel

	ZP0	ZP1	ZP2	ZP3	p
Intaktes FGF-23 (pg/ml)	39,7 (34,1 – 50,9)	40,5 (35,6 – 47,6)	42,1 (30,8 – 49,7)	43,7 (39,3 – 55,4)	0,635
C-Terminales FGF-23 (RU/ml)	79,6 (64,9 – 92,4)	79,0 (62,3 – 103,2)	74,9 (64,2 – 90,1)	75,2 (57,5 – 95,3)	0,656

Angegeben sind aufgrund der fehlenden Normalverteilung der Median (Interquartilsabstand). Die statistische Analyse erfolgte mit dem Friedman-Test. FGF-23: Fibroblast Growth Factor 23.

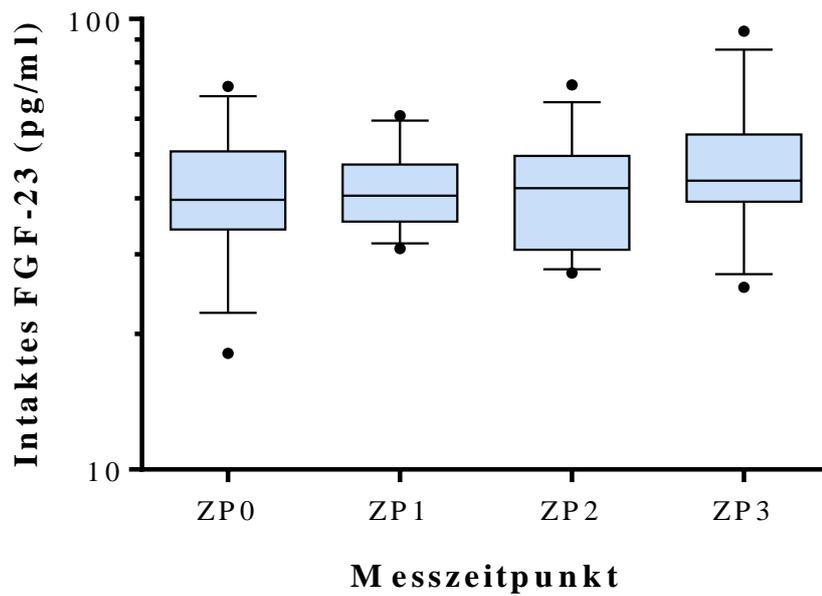
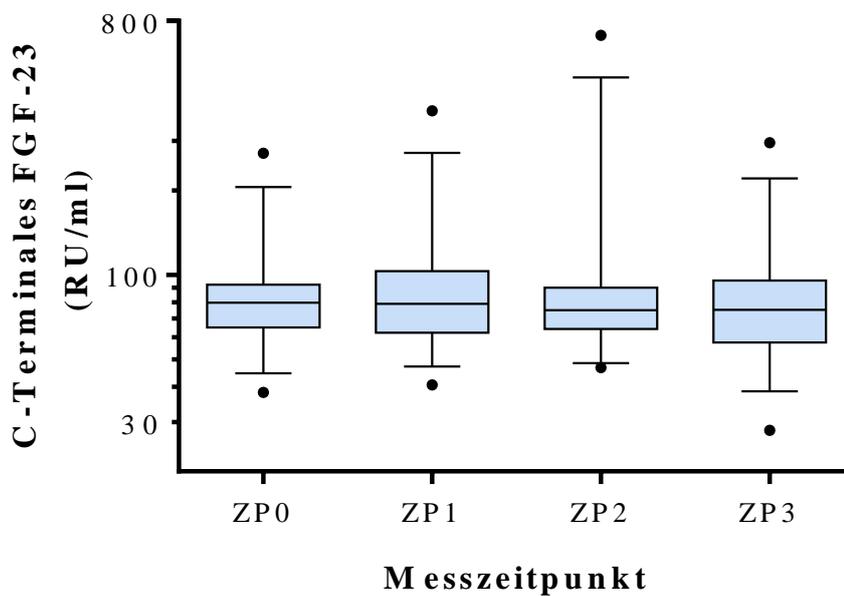


Abbildung 5 a



Abbildungen 5 a-b: Zeitlicher Verlauf der Plasmaspiegel von (a) intaktem FGF-23 und (b) C-terminalem FGF-23 bei der intensiven Fahrradergometrie

Angegeben sind der Median mit Interquartilsabstand und 10.-90. Perzentile. Abkürzungen vgl. Abbildung 3. FGF-23: Fibroblast Growth Factor 23

5.3 Hochintensive Fahrradergometrie

5.3.1 Grunddaten

Für die hochintensive FE wurde eine Zielherzfrequenz von im Durchschnitt 165 ± 11 Schlägen pro Minute bestimmt. Die Ergometrieparameter sind in Tabelle 8 dargestellt. Die hochintensive FE brachen 11 Probanden vorzeitig (mittlere Belastungsdauer: 30 ± 13 min) wegen Beinschmerzen oder Muskelerschöpfung ab, wobei vier Probanden die maximale 60-minütige Belastung absolvierten.

In Abbildung 6 ist der individuelle Verlauf des kapillären Laktats skizziert. Nach der hochintensiven Belastung waren acht Probanden im anaeroben (Laktatwerte oberhalb der IAS von 4 mmol/l) und sieben Probanden im aeroben (Laktatwerte unterhalb der IAS von 4 mmol/l) Bereich. Insgesamt stieg der mittlere Laktatwert von $1,12 \pm 0,51$ mmol/l auf $4,95 \pm 2,84$ mmol/l an.

Tabelle 8: Ergometrieparameter der hochintensiven Fahrradergometrie

HF bei 110% der IAS (Schläge/min)	165 ± 11
Laktat vor der Fahrradergometrie (mmol/l)	$1,12 \pm 0,51$
Belastungszeitraum (min)	38 ± 18
Fahrradergometrieabbruch	kein Abbruch (n=4) Abbruchgrund Beinschmerzen (n=7) Abbruchgrund Muskelerschöpfung (n=4)
Laktat nach der Fahrradergometrie (mmol/l)	$4,95 \pm 2,84$

Angegeben sind Mittelwerte \pm Standardabweichung. HF: Herzfrequenz; IAS: individuelle anaerobe Schwelle

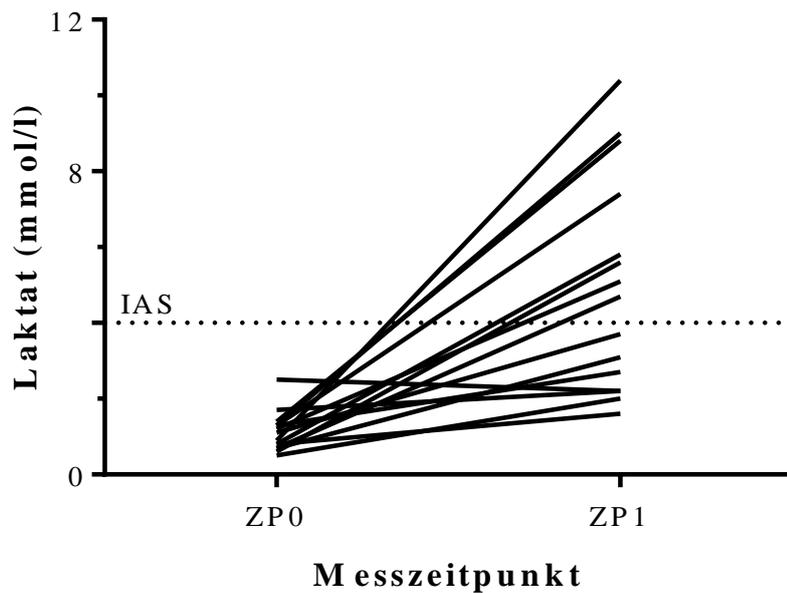


Abbildung 6: Individueller Verlauf des kapillären Laktats vor (ZP0) und nach (ZP1) der Fahrradergometrie

ZP: Zeitpunkt, IAS: Individuelle anaerobe Schwelle.

5.3.2 Effekt der hochintensiven Fahrradergometrie auf den Calcium-Phosphat-Haushalt

Die hochintensive Fahrradergometrie führte zu einem hochsignifikanten Anstieg der Calcium-Plasmaspiegel mit Abnahme der fraktionellen Calciumausscheidung bei der hochintensiven Belastung beobachtet. Gleichzeitig stieg die Phosphat-Plasmakonzentration durch die hochintensive Belastung bei erhöhter Phosphatausscheidung und konstanter fraktioneller Phosphatausscheidung hochsignifikant an.

Die Abbildungen 7 a-c zeigen die individuellen Verläufe der Plasma- und Urinkonzentrationen von Phosphat und der fraktionellen Phosphatausscheidung bei der hochintensiven Belastung.

Tabelle 9: Veränderungen des Calcium-Phosphat-Haushalts bei der hochintensiven Belastung

		ZP0	ZP1	ZP2	ZP3	p
Plasma	Calcium	2,34	2,38 ^{&2}	2,33 ^{§2}	2,32	0,008
	(mmol/l)	± 0,10	± 0,10	± 0,11	± 0,07	
	Phosphat	3,37 ^{§3}	4,03 ^{*3 &3 #2}	3,47 ^{§3}	3,44 ^{§2}	
	(mg/dl)	± 0,58	± 0,74	± 0,75	± 0,58	
	Kreatinin	0,95 ^{§3}	1,11 ^{*3 &3}	0,98 ^{§3}	0,97	0,006
	(mg/dl)	± 0,14	± 0,14	± 0,13	± 0,19	
Urin	Calcium	2,47 ^{§2}	1,91	1,53 ^{*2 #}	2,95 ^{&}	0,028
	(mmol/l)	± 1,63	± 1,31	± 1,12	± 1,84	
	Phosphat	48 ^{§2}	91 ^{*2 #2}	75 [#]	53 ^{§2 &}	< 0,001
	(mmol/l)	± 33	± 43	± 50	± 39	
	Kreatinin	133 ^{§2}	217 ^{*2}	182 ^{#2}	121 ^{§2}	0,001
	(mg/dl)	± 85	± 104	± 138	± 77	
Analyse	FePi	11	13	14	13	0,346
	(%)	± 4	± 4	± 5	± 6	
	FeCi	0,82 ^{§2 &2 #2}	0,38 ^{*2 #3}	0,36 ^{*2 #3}	1,16 ^{*2 §3 &3}	
	(%)	± 0,35	± 0,24	± 0,25	± 0,49	

Angegeben sind Mittelwerte ± Standardabweichung. Der Vergleich der vier Studienzeitpunkte erfolgte mittels der einfaktoriellen Varianzanalyse mit Messwiederholung und nachfolgendem post-hoc Tukey Test (*: $p \leq 0,05$ ggü. ZP0; §: $p \leq 0,05$ ggü. ZP 1; & $p \leq 0,05$ ggü. ZP2; # $p \leq 0,05$ ggü. ZP3. Die Anzahl der Symbole weist auf das Signifikanzniveau hin (z. B. *: $p \leq 0,05$; *2 $p \leq 0,01$; *3: $p \leq 0,001$).

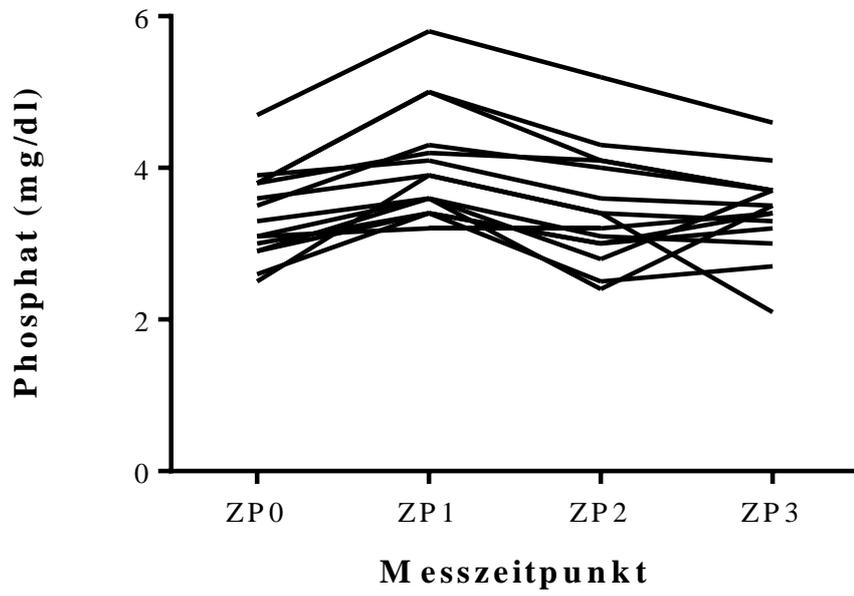


Abbildung 7 a

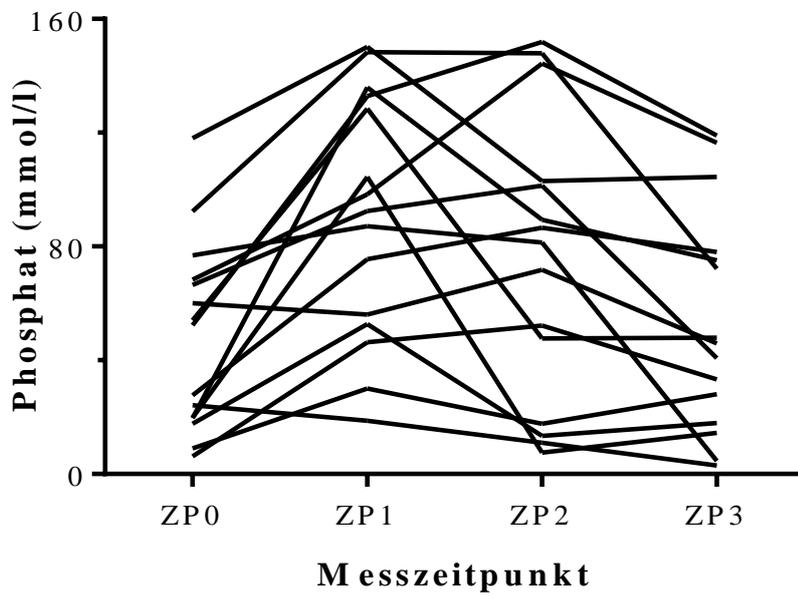
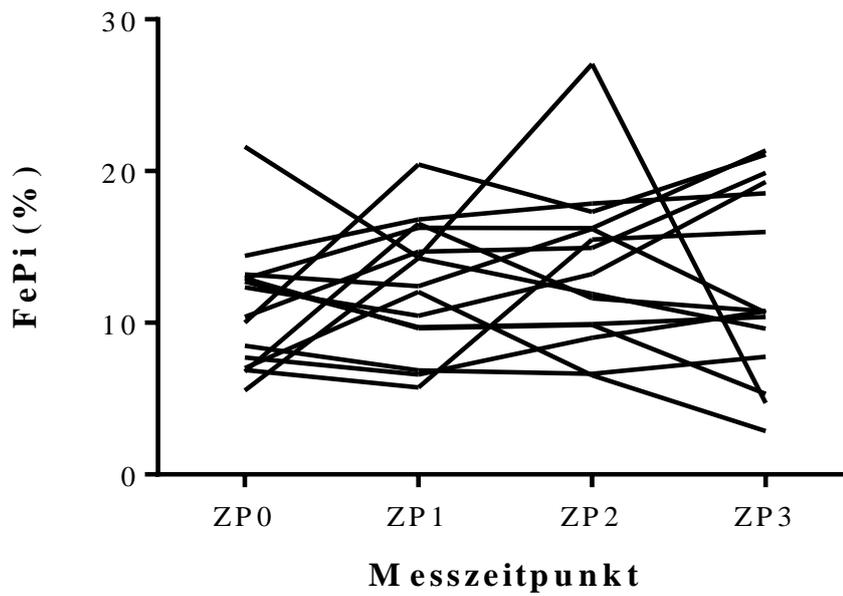


Abbildung 7 b



Abbildungen 7 a-c: Individuelle Verläufe der (a) Phosphat-Plasmakonzentrationen, (b) der Phosphat-Urinkonzentrationen und (c) der fraktionellen Phosphatausscheidung

ZP0: vor der Fahrradergometrie; ZP1: 5 min nach der Fahrradergometrie; ZP2: 90 min nach der Fahrradergometrie; ZP3: 24 h nach der Fahrradergometrie; FePi: fraktionelle Phosphatausscheidung.

5.3.3 Effekt der hochintensiven Fahrradergometrie auf den Fibroblast Growth Factor 23

Die hochintensive FE verursache initial (ZP1) einen Anstieg von intakten FGF-23 im Plasma. 90 Minuten bzw. 24 Stunden nach der Belastung fiel der Plasmaspiegel von intaktem FGF-23 wieder ab, blieb aber auf einem höheren Niveau als der Ausgangswert. Die Unterschieden waren aber statistisch nicht signifikant (siehe Tabelle 10). Der C-terminalen FGF-23-Plasmaspiegel stieg erst 90 Minuten nach der hochintensiven Belastung an, um dann nach 24 Stunden wieder auf ein höheres Niveau als der Ausgangswert zurückzufallen. Auch diese Unterschieden waren nicht statistisch signifikant (siehe Tabelle 10).

Die den Abbildungen 8 a und b ist der zeitliche Verlauf der Plasmaspiegel der beiden Formen von FGF-23 bei der hochintensiven Belastung dargestellt.

Tabelle 10: Zeitlicher Verlauf der FGF-23-Plasmaspiegel

	ZP0	ZP1	ZP2	ZP3	p
Intaktes FGF-23 (pg/ml)	34,5 (29,0 – 42,1)	41,3 (31,0 – 48,8)	39,3 (33,0 – 50,1)	39,3 (32,2 – 56,4)	0,135
C-Terminales FGF-23 (RU/ml)	71,2 (48,6 – 94,4)	71,2 (55,8 – 97,2)	75,9 (63,0 – 134,6)	64,6 (46,0 – 84,3)	0,184

Angegeben sind aufgrund der fehlenden Normalverteilung der Median (Interquartilsabstand). Die statistische Analyse erfolgte mit dem Friedman-Test. FGF-23: Fibroblast Growth Factor 23.

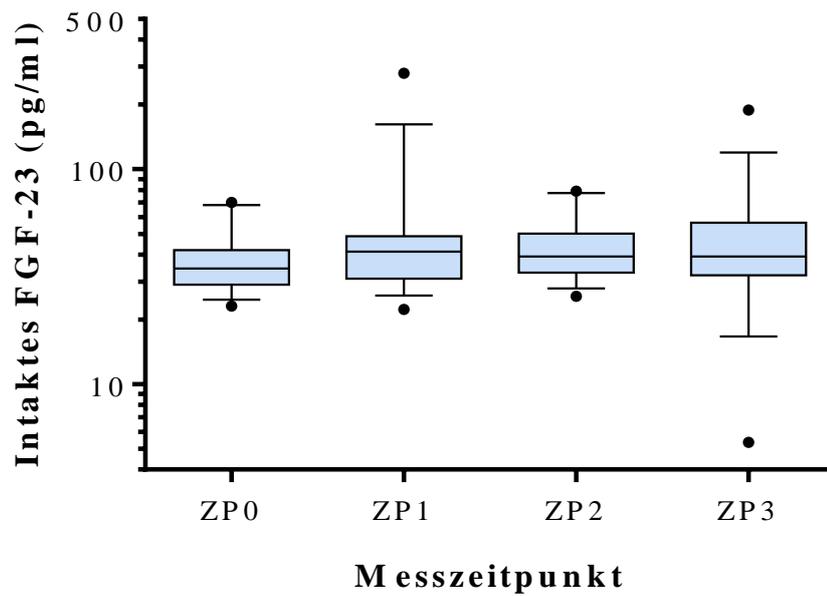
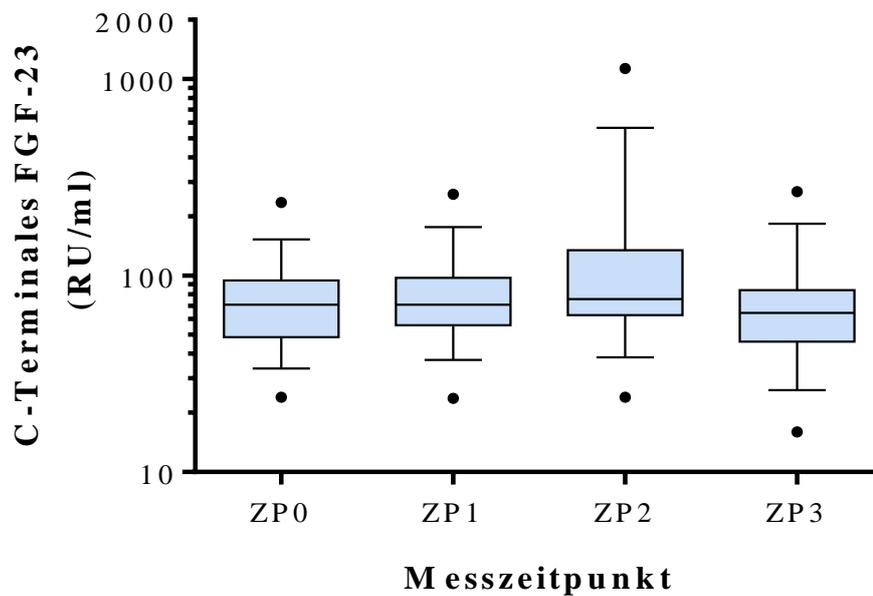


Abbildung 8 a



Abbildungen 8 a-b: Zeitlicher Verlauf der Plasmaspiegel von (a) intaktem FGF-23 und (b) C-terminalem FGF-23 bei der hochintensiven Fahrradergometrie

Angegeben sind der Median mit Interquartilsabstand und 10.-90. Perzentile. Abkürzungen vgl. Abbildung 7. FGF-23: Fibroblast Growth Factor 23.

6 Diskussion

6.1 Hintergrund

Eine chronische Nierenerkrankung („chronic kidney disease“, CKD) geht mit einem erhöhten Risiko für einen Tod jedweder Genese einher [28, 37, 42, 52, 84, 127]. In epidemiologischen Untersuchungen wurde bereits in frühen Stadien der CKD eine erhöhte kardiovaskuläre Ereignisrate gefunden und je ausgeprägter die Nierenfunktion eingeschränkt ist, desto höher war das kardiovaskuläre Risiko und die Mortalität [42, 87].

In der nierengesunden Allgemeinbevölkerung konnten große epidemiologische Arbeiten traditionelle Risikofaktoren – arterielle Hypertonie, Hyperlipidämie, Diabetes mellitus, Nikotinabusus, Alter, Geschlecht und familiäre Disposition – als unabhängige starke Prädiktoren für das Risiko eines kardialen Ereignisses und des Todes feststellen [13, 20, 31, 32, 37, 82, 91]. Umgekehrt verbesserte eine Behandlung der traditionellen Risikofaktoren das kardiovaskuläre Risiko. So wurde in einer großen Metanalyse mit insgesamt 613.815 Patienten eine Verminderung der kardiovaskulären Ereignisse und der Mortalität durch eine Senkung des systolischen arteriellen Blutdrucks festgestellt [32]. In einer anderen Metaanalyse konnte gezeigt werden, dass sowohl in der Primärprophylaxe als auch in der Sekundärprophylaxe durch Senkung des LDL-Cholesterins (LDL-C) mit Hilfe eines 3-Hydroxy-3-Methylglutaryl-Coenzym-A (HMG-CoA)-Reduktase-Hemmers ein vermindertes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse und Gesamtmortalität in der Allgemeinbevölkerung erreicht wurde [21].

Anders als bei der Allgemeinbevölkerung können bei der CKD traditionelle Risikofaktoren wie beispielsweise das LDL-C das erhöhte kardiovaskuläre Risiko nur eingeschränkt erklären. Die simultane Gabe des HMG-CoA-Reduktase-Hemmers Simvastatin mit Ezetimib führte durch Senkung des LDL-C bei Patienten mit nicht-dialysepflichtiger CKD und mit terminaler Niereninsuffizienz zu einer Senkung von atherosklerotischen Ereignissen, die als Myokardinfarkt, ischämischen Apoplex, arteriellen Revaskularisationen oder koronaren Tod als primärer Endpunkt vordefiniert waren [4].

Andererseits konnte die Behandlung mit den HMG-CoA-Reduktase-Hemmern Rosuvastatin [35] oder Atorvastatin [126] bei Patienten mit terminaler Niereninsuffizienz trotz Senkung des LDL-C keine Reduktion kardiovaskulärer Ereignisse, definiert als nicht-fataler Myokardinfarkt, nicht-fataler Schlaganfall und Tod mit kardiovaskulärer Genese, bewirken.

Daher müssen neben traditionellen Risikofaktoren auch nicht-traditionelle Risikofaktoren berücksichtigt werden. Zu diesen gehören unter anderem die Mineralstoff- und Knochenerkrankungen bei CKD („Chronic kidney disease – minimal and bone disorder“; CKD-MBD), eine chronische Inflammation, oxidativer Stress, endotheliale Dysfunktion, renale Anämie und eine Hyperurikämie [3, 65, 76, 124, 133, 136]. Unter diesen Faktoren wird die CKD-MBD als eine ausschlaggebende Ursache für das erhöhte kardiovaskuläre Risiko bei nierenkranken Patienten diskutiert [124].

Die CKD-MBD ist charakterisiert durch das Auftreten einer Hypovitaminose D₃, einer Hyperphosphatämie und eines sekundären Hyperparathyreoidismus, deren kumuliertes Auftreten als ein zentraler Grund für das erhöhte kardiovaskuläre Risiko bei chronisch nierenkranken Patienten diskutiert wurde [53, 70, 103, 125]. Die Pathophysiologie der Entwicklung einer CKD-MBD ist noch nicht hinreichend geklärt. Mehrere tierexperimentelle und humane Studien wiesen bei einer gering eingeschränkten Nierenfunktion einen Anstieg des Fibroblast Growth Factor 23 (FGF-23) im Plasma bei sonst noch unverändertem Calcium-Phosphat-Haushalt nach, so dass ein FGF-23-Anstieg als früher Biomarker der CKD-MBD diskutiert wird [50, 57, 95, 116].

Der durch den fortschreitenden Verlust der Nierenfunktion bedingte Anstieg des FGF-23-Plasmaspiegels sollte eigentlich zu einer verminderten Bildung von Parathormon (PTH) führen [9], jedoch konnte schon tierexperimentell FGF-23 einen sekundären Hyperparathyreoidismus bei der CKD nicht verhindern [19]. Ebenso wurde bei urämischen Patienten mit erhöhten FGF-23-Plasmaspiegeln Resistenzen der Nebenschilddrüsen durch verminderte Expression des FGF-23-Rezeptors beschrieben [74]. Allerdings kommt es durch eine FGF-23-abhängige Hemmung des Enzyms 1 α -Hydroxylase [50, 78] und nicht allein – wie initial vermutet – durch den Untergang der renalen Tubuluszellen zu einem Mangel an aktivem Vitamin D₃ [56]. Da aktives Vitamin D₃ ein potenter Inhibitor der PTH-Bildung ist, hat eine Verminderung von aktivem Vitamin D₃ zusammen mit einem verminderten Calcium im Blut durch verminderte intestinale Resorption und renale Reabsorption einen sekundären Hyperparathyreoidismus zur Folge [50, 56].

Durch seine phosphaturische Funktion sollte ein FGF-23-Anstieg in frühen Stadien der CKD vaskuloprotektiv sein, da er eine Hyperphosphatämie und somit eine phosphatinduzierte Gefäßkalzifikation verhindern sollte. Jedoch korrelierten hohe Plasmaspiegel von FGF-23 bei CKD mit vaskulären Kalzifikationen [5, 89]. Schlussendlich korrelierten erhöhte Plasmaspiegel von FGF-23 bei nierenkranken Patienten für kardiovaskuläre Ereignisse [61, 67, 104, 110] und eine erhöhte Mortalität jedweder Genese [48, 58, 61, 67].

Als zentrales pathophysiologisches Agens, das erhöhte FGF-23-Plasmaspiegel und Herz-Kreislauf-Erkrankungen verbinden könnte, wird in aktuellen klinischen Studien von einer Assoziation zwischen FGF-23 und linksventrikulärer Hypertrophie (LVH) berichtet [34, 47, 71], nachdem eine LVH ihrerseits mit einer erhöhten Rate an kardiovaskulären [29] und renalen [120] Ereignissen assoziiert ist.

Als pathophysiologischer Mechanismus wird eine FGF-23-Bindung des myokardialen FGF-Rezeptors mit anschließender Phosphorylierung der Phospholipase C und der darauffolgenden Aktivierung des Calcineurin/nuclear-factor-of-activated-t-cells (NFAT)-Signalwegs diskutiert [34]. Durch die Gabe des kompletten-Fibroblast Growth Factor Rezeptor (FGFR)-Blockers PD173074 wurde im CKD-Rattenmodell der Calcineurin/NFAT-Signalweg blockiert und die Entwicklung einer LVH abgeschwächt [30, 34], jedoch führte der komplette-FGFR-Blocker PD-0330361 in einer tierexperimentellen Studie bei Wildtyp-Ratten zu erhöhten FGF-23-Plasmaspiegeln mit Hyperphosphatämie und vermehrten Kalzifikationen im Gewebe [132]. Als mögliche Ursache einer vermehrten Kalzifikation wurde bei erhöhten Plasmakonzentrationen von Phosphat und von normalem bis erhöhtem Calcium ein daraus folgendes erhöhtes Calciumphosphat-Produkt diskutiert [16, 132]. Als andere Ursache wurde die These einer Hemmung der Angiogenese bei dem kompletten-FGFR-Blocker PD176067 bei jungen Ratten geprüft und nach Experimenten an ausgewachsenen Ratten verworfen, da diese ebenfalls Kalzifikationen im Gewebe aufwiesen [17].

Als alternative Intervention zur Verhinderung von myokardialen Effekten des FGF-23 wurden Ratten Anti-FGF-23-Antikörper injiziert. Diese bewirkten bei Ratten mit eingeschränkter Nierenfunktion jedoch keine signifikante Abschwächung der Entwicklung einer LVH und führten im Gegenzug zu einer Hyperphosphatämie mit verstärkter vaskulären Kalzifikation und Mortalität [111]. Aufgrund der zentralen Rolle von FGF-23 als phosphaturisches Hormon ist die beobachtete Hyperphosphatämie nicht überraschend.

Als möglicherweise spezifischerer Angriffspunkt einer pharmakologischen Therapie wurde der myokardiale Rezeptor Fibroblast Growth Factor Rezeptor 4 (FGFR4) identifiziert, der über FGF-23 den Calcineurin/NFAT-Signalweg induziert [43]. Eine Gain-of-Function-Mutation dieses Rezeptors, die zu einer übermäßigen Aktivierung führt, induzierte im Mausmodell eine LVH und eine kardiale Fibrosierung; bei einer Knock-out-Mutation des Rezeptors entwickelten die Mäuse trotz einer hoher Phosphatdiät und daraus folgenden erhöhten FGF-23-Plasmaspiegeln im Gegensatz zu den normalen Wildtyp-Mäusen keine LVH [43]. Die Blockade des Rezeptors durch einen FGFR4-Blocker führte zu einer Verhinderung der Hypertrophie in isolierten Kardiomyozyten und zu einer verringerten LVH bei nierenkranken Ratten im Vergleich zu nierenkranken Ratten ohne FGFR4-Blockade [43]. Nicht ausreichend untersucht wurde, ob sich bei den FGFR4-Knock-Out-Mäusen oder bei Mäusen mit einer Anti-FGFR4-Therapie Gefäßkalzifikationen zeigten. Ein FGFR4-Knock-Out verursachte bei nierengesunden Mäusen keine Hyperphosphatämie. Durch Knock-Out des FGFR4 konnte ein protektiver Effekt auf das Herz gezeigt werden; somit ist in weiteren Studien zu prüfen, inwiefern sich eine FGFR4 Blockade auf den Stoffwechsel auswirkt.

Jedoch wird die pathophysiologische Bedeutung von FGF-23 für die Entstehung einer LVH und konsekutiv für das Auftreten kardiovaskulärer Ereignisse weiterhin kontrovers diskutiert.

So wurde von einer anderen Arbeitsgruppe anstelle erhöhter FGF-23-Plasmaspiegel ein Mangel an Klotho als eigentliches pathophysiologisches Agens diskutiert, das Störungen im Calcium-Phosphat-Haushalt mit myokardialen Schädigungen verknüpft [130]. Klotho ist der obligate membranständige Korezeptor, der für eine spezifische Wirkung von FGF-23 an dessen klassischen Zielorganen Niere und Nebenschilddrüsen sorgt [121]. Der löslichen Form von Klotho (soluble Klotho, sKlotho) werden sowohl renoprotektive [54, 55, 92] als auch kardiovaskulärprotektive [2, 77, 129] Effekte zugeschrieben.

Daher untersuchten Xie et al. in einer rezenten experimentellen Arbeit die Bedeutung von sKlotho für die Entstehung einer LVH [130]. Hierbei zeigten heterozygot-Klotho-defiziente-Mäuse mit reduzierter Nierenfunktion unabhängig von der Phosphat-Serumkonzentration und dem FGF-23-Plasmaspiegel eine erhöhte linksventrikuläre Masse gegenüber ebenfalls niereninsuffizienten Wildtyp-Mäusen. Bei nierengesunden Mäusen unterschied sich die linksventrikuläre Masse von Klotho-defizienten und Wildtyp-Mäusen nicht. Als pathophysiologischen Mechanismus vermuteten die Autoren eine verminderte Abschirmung vor kardialen Stress durch den Mangel an sKlotho und eine damit einhergehende überschießende Aktivität des Calcineurin/NFAT-Signalwegs. Durch eine intravenöse Injektion von sKlotho-exprimierenden Genen besserte sich bei den nierenkranken heterozygoten-Klotho-defizienten Mäusen die urämische Kardiomyopathie, die durch eine LVH, eine kardiale Fibrose und eine kapilläre Rarefizierung charakterisiert wurde. Dabei wurde keine Veränderung von FGF-23 und Phosphat im Vergleich zur Gabe eines leeren Vektors bei nierenkranken heterozygoten Klotho-defizienten Mäusen gefunden [130]. Durch unabhängigen Effekt von FGF-23 und der somit ausbleibenden Hyperphosphatämie ist die Gabe von sKlotho eine vielversprechende therapeutische Option; jedoch fehlen bislang pharmakologische Interventionsstudien beim Menschen.

Als Stimulatoren der ausgeprägten Bildung von FGF-23 bei der CKD kommen neben einer Hyperphosphatämie und dem sekundären Hyperparathyreoidismus auch eine chronische Inflammation und ein Eisenmangel in Betracht, die bei chronisch nierenkranken Menschen regelmäßig auftreten [1, 3]. Die beiden zuletzt genannten Faktoren können jedoch nur unzureichend den exponentiellen Anstieg von FGF-23 bei chronisch nierenkranken Patienten erklären, denn in unserer Cardiovascular and Renal Outcome in CKD 2 – 4 Patients – The Fourth Homburg evaluation (CARE FOR HOME) Studie hatten Patienten mit einer CKD mit einem ausreichenden Eisengehalt im Blut (Ferritin von > 100 ng/ml) und normalen Entzündungswerten (CRP von < 3 mg/l) einen erhöhten medianen FGF-23 Wert von 85,9 (IQR 58,1 – 119,8) (unveröffentlichte Daten der CARE FOR HOME Kohorte).

Ein anderer bedeutender Regulationsfaktor der Freisetzung von FGF-23 könnte eine vermehrte Sympathikusaktivität sein, die bei chronisch nierenkranken Menschen in der Regel vorliegt und die von prognostischer Relevanz ist [26, 137]. Im Mausmodell wurde ein direkter positiver Effekt auf die Expression von FGF-23 nach Gabe von einem β 2-Sympathomimetikum nachgewiesen [64]. Ebenso zeigte sich bei Patienten mit koronarem Schock mit zusätzlicher präsumtiver Katecholaminfreisetzung unabhängig von der Nierenfunktionsleistung ein Anstieg des FGF-23-Plasmaspiegels [39].

Um den Einfluss des sympathischen Nervensystems auf die CKD-MBD besser zu verstehen, wurde in der Fit@HOME Studie die Bedeutung einer kurzzeitig vermehrten Sympathikusaktivität im Rahmen eines physiologischen Belastungsmodells bei nierengesunden Probanden auf FGF-23-Plasmaspiegel untersucht.

6.2 Analyse der Baseline-Charakteristika

Die relative $VO_2\text{max}$ ist der klinische Parameter für den Vergleich der kardiopulmonalen Fitness, da er im Gegensatz zur absoluten $VO_2\text{max}$ das Gewicht berücksichtigt [94]. Eine gute kardiopulmonale Fitness ist mit einer verminderten Rate von kardiovaskulären Ereignissen und Mortalität jedweder Genese assoziiert [15, 72].

Die durchschnittliche relative $VO_2\text{max}$ betrug in unserer Kohorte 47 ml/kg/min. Damit lag sie leicht über den, in den American-College-of-Sports-Medicine-Guidelines für Exercise-Testing-and-Prescription publizierten, Normwerten der relativen $VO_2\text{max}$ für 18-25 Jahre alten Probanden mit 44 ml/kg/min und der 26-35 Jahre alten Probanden mit 40 ml/kg/min [94]. In einer Kohorte mit ähnlichen anthropologischen Maßen und Alter erzielten 37 gesunde männliche Universitätsstudenten, die kein Ausdauertraining betrieben, im Durchschnitt eine relative $VO_2\text{max}$ von 42,7 ml/kg/min. Es fehlte jedoch eine Angabe der wöchentlichen Sportfrequenz [83]. In rezenten klinischen Kohortenstudien erreichten professionelle Radrennfahrer je nach Trainingszustand, Alter und Messverfahren eine mittlere relative $VO_2\text{max}$ zwischen 62,3 – 73,5 ml/kg/min [63, 81, 83, 88, 94]. Unter Zusammenschau der vorliegenden Daten kann die Kohorte der Fit@HOME Studie eher den Freizeitsportlern und nicht den professionellen Radrennfahrern zugeordnet werden.

6.3 Effekt einer sportlichen Betätigung auf den Calcium-Phosphat-Haushalt

Es konnte in dieser Studie gezeigt werden, dass die intensiven und die hochintensiven Fahrradergometrien zu einem Anstieg der Phosphat-Plasmaspiegel und zu einem Abfall der fraktionellen Calciumausscheidung führen. Die intensive, nicht jedoch die hochintensive FE führte zu einer erhöhten fraktionellen Phosphatausscheidung; umgekehrt führte die hochintensive FE zu einem Anstieg der Calcium-Plasmakonzentration.

In einer prospektiven Kohortenstudie mit 21 Probanden (11 Freizeit- und 10 Ausdauersportler) wurde während und bis zwei Stunden nach einer läuferischen körperlichen Betätigung (bestehend aus einer Ausdauerkomponente mit 60 Minuten Rennen bei 65 % der VO_2max , einer 15 Minuten langen Pause und schlussendlich einem Rennen bei 70 % der VO_2max bis zur Erschöpfung) ein Anstieg des Albumin-adjustierten Calciums – ein Ersatz für Calcium im Plasma bei normalem Proteinstatus [93] – festgestellt [105]. Weitere Studien publizierten ebenfalls einen Anstieg von Albumin-adjustiertem-Calcium durch eine Belastung [106, 108, 118]; andere Autoren wiederum konnten keinen Zusammenhang feststellen [107, 109]. Der Grund dieser Diskrepanz ist noch unklar. Es wurden verschiedene zeitliche Verläufe von Calcium und Albumin-adjustierten-Calcium im Plasma während und nach der Belastung aufgezeigt; so ist das Albumin-adjustierte-Calcium abhängiger von den beobachteten Schwankungen des Albumins während und nach der sportlichen Belastung als das Gesamt-Calcium im Blut [118]. Scott et al. (2012) propagierten als mögliche Ursache für den Anstieg von Albumin-adjustierten-Calcium und PTH nach einer körperlichen Betätigung, dass ursächlich das Calcium im Plasma und damit das ionisierte Calcium in den ersten Minuten nach Beginn der Belastung gesunken sein könnte. Dies könnte zu einem Anstieg von PTH mit folgender vermehrter Calciumfreisetzung aus dem Knochen, vermehrter Calciumreabsorption in der Niere und Calciumabsorption aus dem Darm führen [107]. Eine Kohorte mit 10 Freizeitsportlern wurde auf dem Laufband an drei verschiedenen Tagen für jeweils 30 Minuten mit angepasster Geschwindigkeit von 55 %, 65 % und 75% der individuellen VO_2max mit nachfolgender zweieinhalbstündiger Pause belastet, zuvor mussten die Freizeitsportler jeweils eine zweitägige Sportkarenz einhalten. Es wurde sowohl während der Belastung als auch in der folgenden Pause Blut abgenommen. In den ersten Minuten der sportlichen Betätigung stiegen bei den beiden intensiveren Belastungsstufen das Albumin-adjustierte-Calcium und das freie Calcium im Plasma an, während das PTH sank. In den weiteren Minuten stiegen das Albumin-adjustierte-Calcium und PTH an, während das Calcium im Plasma abfiel. Townsend et al. (2016) postulierten eine mögliche calciumabhängige Hemmung der PTH-Freisetzung während einer sportlichen Betätigung, wobei der initiale Calciumanstieg im Plasma durch eine vermehrte Freisetzung von Calcium aus calciumbindenden Proteinen ursächlich sein könnte [118].

In einer doppelblinden Studie führte eine orale Gabe von Calcium vor einer 60-minütigen FE zu einem abgeschwächten Anstieg von PTH im Serum nach der Belastung im Vergleich zu der Placebogruppe; dies unterstützt die These einer calciumabhängigen Hemmung der PTH-Freisetzung [7]. Die bereits diskutierte Hypothese von Scott et al. (2012) eines initialen Abfalls des ionisierten Calciums bei körperlicher Betätigung kann somit verworfen werden.

Noch ungeklärt ist, wieso die Calcium-Plasmakonzentration in der Studie von Townsend et. al (2016) nach anfänglichem Anstieg innerhalb weniger Minuten abfällt und es in der Folge zu einem Anstieg von PTH im Serum kommt. Da PTH die fraktionelle Calciumausscheidung senkt, könnte der in einigen Studien publizierte belastungsabhängige Anstieg von PTH [8, 85, 108, 118] bei beiden Belastungsformen der Fit@HOME Studie die verminderte fraktionelle Calciumausscheidung fünf Minuten nach der FE erklären. 90 Minuten nach der Belastung wurde bei der hochintensiven FE die niedrigste fraktionelle Calciumausscheidung gemessen; bei der intensiven FE war die fraktionelle Calciumausscheidung 90 Minuten nach Belastung bereits wieder gestiegen. Dieses Ergebnis könnte auf eine deutlich erhöhte PTH-Freisetzung bei der hochintensiven FE im Vergleich zur intensiven FE zurückzuführen sein.

Die durchgeführte Studiauswertung weist auf einen belastungsabhängigen Anstieg des Phosphat-Plasmaspiegels hin [85, 105-107, 109, 118]. Dafür gibt es verschiedene publizierte Erklärungsansätze: Zum einen könnte es durch einen Anstieg von PTH zu einer vermehrten osteoklastischen Freisetzung von Phosphat kommen [105] und zum anderen wurde eine belastungsinduzierte Freisetzung von Phosphat aus dem Muskel diskutiert [118]. In der vorliegenden Promotionsarbeit wurde bei der intensiven und hochintensiven FE fünf Minuten nach der körperlichen Aktivität ein Anstieg der Phosphat-Plasmaspiegel beobachtet, diese waren 90 Minuten nach der Belastung wieder im Normbereich. Auch in anderen Studien wurde Stunden nach der Belastung von einer Normalisierung des Phosphats berichtet [107-109].

Bei der intensiven FE zeigte sich eine erhöhte fraktionelle Phosphatausscheidung, als Ursache kommt PTH, FGF-23 oder ein anderer Mediator in Frage. Für PTH spricht die bereits diskutierte Freisetzung bei körperlicher Betätigung mit osteoklastischer Freisetzung von Phosphat [105] mit Hemmung der Phosphatreabsorption in der Niere [134], die allerdings den Phosphat-Plasmaspiegel adäquat senken sollte. FGF-23 könnte als Ursache für die Phosphaturie in Frage kommen, jedoch musste die Hypothese eines belastungsinduzierten FGF-23-Anstiegs verworfen werden.

6.4 Effekt einer sportlichen Betätigung auf den Fibroblast Growth Factor 23

In der hier vorgelegten Dissertation führte die körperliche Belastung der Probanden zwar zu Veränderungen der Calcium- und Phosphatkonzentrationen im Blut und Urin; es traten aber weder bei der intensiven noch bei der hochintensiven FE Schwankungen der Plasmaspiegel von intaktem FGF-23 oder C-terminalem FGF-23 auf.

Unsere Arbeit beruht auf dem Modell einer stressinduzierten Katecholaminfreisetzung. In der Fit@HOME Studie wurde keine explizite Katecholaminbestimmung durchgeführt. Jedoch wurde von einigen klinischen Studien eine belastungsinduzierte Katecholaminfreisetzung wiederholt nachgewiesen. So wurden bei sieben Athleten direkt nach einem 24-stündigen Ultramarathon um das zweifach erhöhte freie Noradrenalin- und leicht erhöhte Dopamin-Plasmaspiegel festgestellt. Diese stiegen nach einer anschließenden 24-stündigen Ruhephase noch leicht an [102]. Sowohl beim Wingate-Test – einem Fahrradergometrietest mit dem Ziel einer maximalen individuellen Ausbelastung über 30 Sekunden – und bei einer submaximalen Belastung auf dem Fahrradergometer über 45 Minuten erreichten trainierte Athleten und Freizeitsportler erhöhte Adrenalin- und Noradrenalin-Plasmaspiegel [62, 113]. Daraus kann gefolgert werden, dass eine körperliche Betätigung zu erhöhter Sympathikusaktivität führt.

Unsere initiale Studienhypothese einer sympathikusinduzierten FGF-23-Freisetzung beruhte einerseits auf Daten von Patienten mit stabiler koronarer Herzkrankheit, andererseits auf Daten von Patienten mit akutem Myokardinfarkt und assoziierten kardiogenen Schock [39, 96]. Patienten mit einem akuten Myokardinfarkt und assoziiertem kardiogenem Schock, jedoch nicht Patienten mit akutem Myokardinfarkt ohne kardiogenen Schock weisen deutlich höhere FGF-23-Plasmaspiegel als Patienten mit einer stabilen koronarer Herzkrankheit auf [96]. Diese Feststellung hat eine prognostische Relevanz, da Patienten mit kardiogenem Schock und einem FGF-23-Plasmaspiegel oberhalb des Medians und einem Kreatinin im Serum oberhalb des Medians ein erhöhtes Mortalitätsrisiko aufweisen [39]. Es wurden folgende Punkte von Poss et al. und Fuernau et al. diskutiert:

Erstens könnte eine Hypoxie der Osteoblasten – die möglicherweise mit einem FGF-23-Anstieg assoziiert ist [14] – der Auslöser für die FGF-23-Zunahme sein, da ein inverser Zusammenhang zwischen FGF-23-Plasmaspiegeln und der arteriellen Sauerstoffstättigung beobachtet wurde [96]. Jedoch vertreten Fuernau et al. (2014) den Standpunkt, dass auf Grund des unzureichenden Anstiegs von FGF-23 bei einem akuten Myokardinfarkt die Ischämie nicht die Ursache sein könne, sondern neuroendokrine oder hämodynamische Prozesse [39].

Zweitens führt ein akuter kardiogener Schock zu einer starke Aktivierung des Renin-Angiotensin-Aldosteron-Systems auf [24]; dies führt pathophysiologisch zu einem Abfall von Klotho im Blut mit einer Anstieg von FGF-23 im Plasma [27, 39, 96].

Drittens wäre eine Sympathikusaktivierung als Ursache für die Zunahme des FGF-23 bei Patienten mit kardiogenem Schock möglich. Bei Patienten mit chronischer Herzinsuffizienz steigen bei invasiven Eingriffen reaktiv die Katecholamine an [75]. Zudem konnte im Tierexperiment eine circadiane Rhythmik von Sympathikusaktivität und FGF-23 gezeigt werden [64]. Es ist hervorzuheben, dass ein akuter Myokardinfarkt mit assoziiertem Schock zu einer hohen Katecholaminausschüttung führt [10] und diese folglich für die beobachtete Zunahme von FGF-23 verantwortlich sein könnte.

In unserer Studie wurden davon ausgegangen, dass es unter einer akuten körperlichen Belastung zu einer Katecholaminfreisetzung kommt. Da jedoch, FGF in unseren Untersuchungen nicht anstieg, können unsere Studienergebnisse keine kausale Bedeutung der Katecholaminfreisetzung für die Bildung von FGF-23 im Gegensatz zu den Ergebnissen von Lombardi et al. (2014) nachweisen. In deren Studie zeigte sich bei neun Profisportlern nach einer dreiwöchigen Giro d'Italia ein Anstieg der Plasmaspiegel von intaktem FGF-23 im Vergleich zu den Baseline FGF-23-Plasmaspiegeln und ohne Änderung weiterer Parameter des Calcium-Phosphat-Haushalts (Calcium- und Phosphat-Plasmakonzentration, 25-Hydroxy-Vitamin D₃ und Serum PTH) [79].

Diese unterschiedlichen Ergebnisse könnten an dem unterschiedlichen Belastungsmodell einer einmaligen Belastung über maximal 60 Minuten bei Freizeitsportlern in der vorgelegten Promotionsarbeit und einer mehrwöchigen Belastung durch ein dreiwöchiges Etappenrennen bei Profisportlern in der italienischen Vergleichsstudie liegen [79].

Die Blutentnahmen erfolgten am Tag vor dem Rennen, am Tag 11 und am ersten Tag nach Ende des Rennens jeweils am Morgen nach den Belastungen; dies könnte ungünstig sein, da unter Berücksichtigung der Halbwertszeit von FGF-23 mit 46 - 58 Minuten [69] der Zeitpunkt der Blutentnahmen zu spät gewählt worden sein könnte. Andererseits zeigte sich bei einer weiteren Studie zu dem Zusammenhang zwischen oraler Phosphatzufuhr und der FGF-23-Plasmaspiegel erst nach acht Stunden eine Zunahme von FGF-23 im Plasma [90], was somit auch eine Latenzperiode zwischen sportlicher Aktivität und FGF-23-Anstieg möglich erscheinen lässt.

Da die Blutentnahme am Tag nach dem dreiwöchigen Radrennen durchgeführt wurde, konnten bei Lombardi et al. (2014) die, in anderen Studien publizierten, bis wenige Stunden nach Belastung andauernden Veränderung von PTH, Calcium und Phosphat [106-108] nicht beobachtet werden. Zu deren Ergebnissen passend, waren in der Fit@HOME Studie die initial nach der sportlichen Belastung erhöhten Plasmaspiegel von Calcium und Phosphat bereits anderthalb Stunden nach den Fahrradergometrien wieder regredient.

Bei alleinigem Anstieg des FGF-23-Plasmaspiegels bei normalen Parametern des Calcium-Phosphat-Haushalts [79] stellt sich die Frage nach der Kausalität und der Relevanz. Als mögliche Ursache wurde eine kontinuierliche Aktivität der FGF-23 produzierenden Osteozyten und Osteoblasten durch die körperliche Belastung diskutiert [79]. Ursächlich könnte auch die vermehrte durchschnittliche Phosphoraufnahme von 3875 mg/Tag bei einer Calciumaufnahme von 1800 mg/Tag über drei Wochen gewesen sein. So wurde in einer Studie mit einer oralen Supplementation von 3000 mg Phosphor/Tag über fünf Tage von in der Folge erhöhten Phosphat- und FGF-23-Plasmaspiegeln berichtet, die positiv mit der Phosphatausscheidung im 24-Stunden-Sammelurin, aber nicht mit dem Phosphat-Plasmaspiegel korrelierten [36]. Ferrari et al. (2005) gingen von einem Fließgleichgewicht zwischen den Plasmakonzentrationen von Phosphat und FGF-23 aus, gleichzeitig zeigten sich keine signifikanten Änderungen des PTH oder des Calciums durch die Phosphorzufuhr [36]. Daraus kann man ableiten, dass eine erhöhte Phosphorzufuhr zu erhöhten FGF-23-Plasmaspiegeln führen kann, und somit könnte der beobachtete Effekt einer FGF-23-Zunahme bei Lombardi et al. (2014) durch die hohe Phosphorzufuhr über drei Wochen entstanden sein. Der ansonsten normale Calcium-Phosphat-Haushalt am ersten Tag nach dem Rennen unterstützt diese Hypothese.

Nicht untersucht wurden bei Lombardi et al (2014) Urinproben, die weitere Rückschlüsse hätten geben können. In einer tierexperimentellen Studie wurde gezeigt, dass eine verminderte Calciumaufnahme mit konsekutiver Hypocalcämie eine FGF-23 Produktion trotz erhöhter Phosphoraufnahme verhindert [101]. Es wird Calcium als weiterer potentieller Einflussfaktor auf die FGF-23-Bildung diskutiert [97].

Zusammenfassend können die Ergebnisse unserer Studie mit einem physiologischen Modell der Sympathikusaktivierung, die postulierte Hypothese, dass eine Sympathikusaktivierung einen signifikanten Anstieg von FGF-23 induziert [39], nicht untermauern.

6.5 Limitationen

Als Limitation der Fit@HOME Studie müssen wir zunächst konstatieren, dass die angestrebte diätetische Phosphatzufuhr von 1200 mg bei einzelnen Probanden überschritten wurde. Dieser maximale Grenzwert wurde angestrebt, um eine Beeinflussung von FGF-23 durch übermäßige Phosphatzufuhr zu vermeiden. Hierzu erhielten die Probanden ökotrophologische Ratschläge zur diätetischen Phosphorbegrenzung. Da die gastrointestinale Phosphorabsorption selten mehr als zwei Drittel des diätetisch zugeführten Phosphors umfasst [53, 123], gleichzeitig die mittlere Phosphorausscheidung – die im Fließgleichgewicht der gastrointestinalen Phosphataufnahme entsprechen sollte – im Mittel ~ 1000 mg betrug, muss davon ausgegangen werden, dass die tatsächliche Phosphorzufuhr mindestens 1500 mg Phosphor betrug [53]. Allerdings ist der Einfluss der diätetischen Phosphorzufuhr auf den FGF-23-Plasmaspiegel weiterhin unklar [6, 97].

Als weitere Limitation könnte die Wahl der Blutentnahmezeitpunkte suboptimal definiert worden sein: So war in der Fit@HOME Studie die dritte Blutentnahme eineinhalb Stunden nach Belastung potentiell zu früh und die vierte Blutentnahme 24 Stunden nach der Belastung möglicherweise zu spät. So zeigte eine orale Phosphorzufuhr erst nach acht Stunden eine Zunahme von FGF-23 [90]; in dieser Studie wurde keine weitere Messung nach diesen acht Stunden durchgeführt.

Die Auswahl der Messzeitpunkte eineinhalb und 24 Stunden nach Belastung erfolgte, weil erstens die Blutentnahme acht Stunden nach Belastung bei durchschnittlichen Start der Fahrradergometrie gegen 14 Uhr zeitlich schwer machbar gewesen wäre, weil zweitens andere sportmedizinischen Studien mit Fokus auf den Calcium-Phosphat-Haushalt teilweise frühere oder spätere Messzeitpunkte nach der Belastung [85, 105-107, 118] wählten, weil drittens eine orale Phosphatzufuhr nicht gleichbedeutend mit einer sportlichen Betätigung ist und weil viertens die Messung 24 Stunden nach der Belastung auf einen verzögerten Anstieg von FGF-23 hätte hinweisen können.

Eine weitere mögliche Limitation ist die Klassifizierung der intensiven FE als intensiv, da der geringe Laktatanstieg von 1,66 mmol/l eine extensive Belastung vermuten lässt. Für eine intensive Belastung wären mittlere Laktatwerte zwischen 2 – 3 mmol/L erwartet worden [122]. Ein Grund für diese Diskrepanz könnte eine Gewöhnung der Probanden an die sportliche Betätigung mit Reduzierung der Leistungsstufe in Watt sein; um die den gewählten Zielbereich von \pm fünf Schlägen zu halten.

Die Studiengröße von 15 eingeschlossenen Probanden könnte zu klein sein, um geringe Veränderungen von FGF-23 zu detektieren; allerdings ist die klinische Bedeutung solcher etwaiger geringer Veränderungen fraglich. Das aufwendige Studienprotokoll (u.a. die doppelte Sammelurinbestimmung, die doppelte viertägige Phosphatdiät und Sportkarenz) und die Einschlusskriterien (Männer zwischen 18 und 35 Jahren, keine relevante Vorerkrankung) bereiteten Schwierigkeiten, Probanden zu rekrutieren. Dementsprechend hatten andere sportmedizinische Kohortenstudien eine ähnlichen Probandenzahl [18, 79, 105].

Es wurden keine Frauen in die Studie aufgenommen, daher können keine geschlechtsspezifischen Aussagen getätigt werden. Der Grund für diese Entscheidung war, dass ein Großteil der sportmedizinischen Studien zur Untersuchung des Calcium-Phosphat-Haushalts nur männliche Probanden berücksichtigte [79, 85, 106-109], so dass der alleinige Einschluss von männlichen Probanden eine bessere Vergleichbarkeit mit den Ergebnissen dieser Studien erlaubt.

Als möglicher Mediator für die Veränderungen des Calcium-Phosphat-Haushalts könnte PTH eine wichtige Rolle besitzen, das in unserer Studie nur anfangs einmalig bestimmt wurde.

Schließlich muss bedacht werden, dass gesunde Probanden und keine Patienten mit Vorerkrankungen an Herz und Niere untersucht wurden; diese Auswahl wurde getroffen, da wir die Physiologie der FGF-23-Bildung unter Sympathikusaktivität beobachten wollten.

6.6 Schlussfolgerungen

Die vorliegenden Ergebnisse dieser Promotionsarbeit deuten darauf hin, dass eine physiologische Sympathikusstimulation während einer akuten körperlichen Belastung zwar zu einem Anstieg der Calcium- und Phosphat-Plasmaspiegel, jedoch nicht zu einem Anstieg der FGF-23-Plasmaspiegel führt. Diese Resultate stehen in Widerspruch zu der bislang einzigen klinischen Studie zum Einfluss von sportlicher Aktivität auf FGF-23, die allerdings ein vollständig anderes Belastungsmodell verwendete [79].

Somit kann die vorgelegte Inaugurationsschrift die Hypothese, dass eine Sympathikusaktivierung im Rahmen eines physiologischen Stressmodells bei nierengesunden Probanden zur Regulierung von FGF-23 beiträgt, nicht unterstützen. Weitere Arbeiten sollten untersuchen, welche anderen Faktoren FGF-23 physiologisch und pathophysiologisch regulieren. Nachfolgend sollte untersucht werden, ob solche Regulatoren Ziele für therapeutische Interventionen zur Senkung von FGF-23 darstellen könnten. In einem weiteren Schritt sollte überprüft werden, ob eine solche Senkung von FGF-23 in randomisierten klinischen Studien den erhofften kardiovaskulären Nutzen erbringen kann.

7 Literaturverzeichnis

1. Agarwal, R., Iron deficiency anemia in chronic kidney disease: Uncertainties and cautions. *Hemodial Int*, 2017. 21 Suppl 1: p. S78-S82.
2. Ai, F., et al., Protective role of Klotho on cardiomyocytes upon hypoxia/reoxygenation via downregulation of Akt and FOXO1 phosphorylation. *Mol Med Rep*, 2015. 11(3): p. 2013-9.
3. Amdur, R.L., et al., Inflammation and Progression of CKD: The CRIC Study. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2016.
4. Baigent, C., et al., 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*, 2011. 377(9784): p. 2181-92.
5. Balci, M., et al., Plasma fibroblast growth factor-23 levels are independently associated with carotid artery atherosclerosis in maintenance hemodialysis patients. *Hemodial Int*, 2010. 14(4): p. 425-32.
6. Bansal, S., et al., Spleen contributes significantly to increased circulating levels of fibroblast growth factor 23 in response to lipopolysaccharide-induced inflammation. *Nephrol Dial Transplant*, 2017. 32(6): p. 960-968.
7. Barry, D.W., et al., Acute calcium ingestion attenuates exercise-induced disruption of calcium homeostasis. *Med Sci Sports Exerc*, 2011. 43(4): p. 617-23.
8. Barry, D.W. and W.M. Kohrt, Acute effects of 2 hours of moderate-intensity cycling on serum parathyroid hormone and calcium. *Calcif Tissue Int*, 2007. 80(6): p. 359-65.
9. Ben-Dov, I.Z., et al., The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *J Clin Invest*, 2007. 117(12): p. 4003-8.
10. Benedict, C.R. and D.G. Grahame-Smith, Plasma adrenaline and noradrenaline concentrations and dopamine-beta-hydroxylase activity in myocardial infarction with and without cardiogenic shock. *Br Heart J*, 1979. 42(2): p. 214-20.
11. Benet-Pages, A., et al., FGF23 is processed by proprotein convertases but not by PHEX. *Bone*, 2004. 35(2): p. 455-62.
12. Berndt, T.J., et al., Biological activity of FGF-23 fragments. *Pflugers Arch*, 2007. 454(4): p. 615-23.
13. Berry, J.D., et al., Lifetime risks of cardiovascular disease. *N Engl J Med*, 2012. 366(4): p. 321-9.
14. Bhattacharyya, N., et al., Fibroblast growth factor 23: state of the field and future directions. *Trends Endocrinol Metab*, 2012. 23(12): p. 610-8.
15. Blair, S.N., et al., Changes in physical fitness and all-cause mortality. A prospective study of healthy and unhealthy men. *JAMA*, 1995. 273(14): p. 1093-8.
16. Block, G.A., Prevalence and clinical consequences of elevated Ca x P product in hemodialysis patients. *Clin Nephrol*, 2000. 54(4): p. 318-24.
17. Brown, A.P., et al., Cartilage dysplasia and tissue mineralization in the rat following administration of a FGF receptor tyrosine kinase inhibitor. *Toxicol Pathol*, 2005. 33(4): p. 449-55.

18. Brown, W.M., et al., A Systematic Review of the Acute Effects of Exercise on Immune and Inflammatory Indices in Untrained Adults. *Sports Med Open*, 2015. 1(1): p. 35.
19. Canalejo, R., et al., FGF23 fails to inhibit uremic parathyroid glands. *J Am Soc Nephrol*, 2010. 21(7): p. 1125-35.
20. Cholesterol Treatment Trialists, C., et al., Efficacy and safety of LDL-lowering therapy among men and women: meta-analysis of individual data from 174,000 participants in 27 randomised trials. *Lancet*, 2015. 385(9976): p. 1397-405.
21. Cholesterol Treatment Trialists, C., et al., 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*, 2012. 380(9841): p. 581-90.
22. Consortium, A., Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet*, 2000. 26(3): p. 345-8.
23. Cozzolino, M., et al., Paricalcitol- or cinacalcet-centred therapy affects markers of bone mineral disease in patients with secondary hyperparathyroidism receiving haemodialysis: results of the IMPACT-SHPT study. *Nephrol Dial Transplant*, 2014. 29(4): p. 899-905.
24. Cunningham, S.G., G.G. Knowlton, and J.B. Sanders, Plasma renin activity levels in two patients with impending cardiogenic shock. *N Engl J Med*, 1982. 306(16): p. 993-4.
25. David, V., et al., Inflammation and functional iron deficiency regulate fibroblast growth factor 23 production. *Kidney Int*, 2015.
26. de Beus, E., et al., Sympathetic activation secondary to chronic kidney disease: therapeutic target for renal denervation? *J Hypertens*, 2014. 32(9): p. 1751-61.
27. de Borst, M.H., et al., Cross talk between the renin-angiotensin-aldosterone system and vitamin D-FGF-23-klotho in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 2011. 22(9): p. 1603-9.
28. de Jager, D.J., et al., Cardiovascular and noncardiovascular mortality among patients starting dialysis. *JAMA*, 2009. 302(16): p. 1782-9.
29. Desai, C.S., H. Ning, and D.M. Lloyd-Jones, Competing cardiovascular outcomes associated with electrocardiographic left ventricular hypertrophy: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Heart*, 2012. 98(4): p. 330-4.
30. Di Marco, G.S., et al., Treatment of established left ventricular hypertrophy with fibroblast growth factor receptor blockade in an animal model of CKD. *Nephrol Dial Transplant*, 2014. 29(11): p. 2028-35.
31. Erhardt, L., Cigarette smoking: an undertreated risk factor for cardiovascular disease. *Atherosclerosis*, 2009. 205(1): p. 23-32.
32. Ettehad, D., et al., Blood pressure lowering for prevention of cardiovascular disease and death: a systematic review and meta-analysis. *Lancet*, 2016. 387(10022): p. 957-67.
33. Evenepoel, P., et al., Fibroblast growth factor-23 in early chronic kidney disease: additional support in favor of a phosphate-centric paradigm for the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2010. 5(7): p. 1268-76.
34. Faul, C., et al., FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest*, 2011. 121(11): p. 4393-408.
35. Fellstrom, B.C., et al., Rosuvastatin and cardiovascular events in patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med*, 2009. 360(14): p. 1395-407.

36. Ferrari, S.L., J.P. Bonjour, and R. Rizzoli, Fibroblast growth factor-23 relationship to dietary phosphate and renal phosphate handling in healthy young men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2005. 90(3): p. 1519-24.
37. Foley, R.N., et al., Chronic kidney disease and the risk for cardiovascular disease, renal replacement, and death in the United States Medicare population, 1998 to 1999. *J Am Soc Nephrol*, 2005. 16(2): p. 489-95.
38. Foley, R.N., P.S. Parfrey, and M.J. Sarnak, Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol*, 1998. 9(12 Suppl): p. S16-23.
39. Fuernau, G., et al., Fibroblast growth factor 23 in acute myocardial infarction complicated by cardiogenic shock: a biomarker substudy of the Intraaortic Balloon Pump in Cardiogenic Shock II (IABP-SHOCK II) trial. *Crit Care*, 2014. 18(6): p. 713.
40. Giachelli, C.M., The emerging role of phosphate in vascular calcification. *Kidney Int*, 2009. 75(9): p. 890-7.
41. Girndt, M., et al., The Prevalence of Renal Failure. *Dtsch Arztebl Int*, 2016. 113(6): p. 85-91.
42. Go, A.S., et al., Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*, 2004. 351(13): p. 1296-305.
43. Grabner, A., et al., Activation of Cardiac Fibroblast Growth Factor Receptor 4 Causes Left Ventricular Hypertrophy. *Cell Metab*, 2015.
44. Grassi, G., et al., Early sympathetic activation in the initial clinical stages of chronic renal failure. *Hypertension*, 2011. 57(4): p. 846-51.
45. Gravesen, E., et al., High dose intravenous iron, mineral homeostasis and intact FGF23 in normal and uremic rats. *BMC Nephrol*, 2013. 14: p. 281.
46. Gutierrez, O., et al., Fibroblast growth factor-23 mitigates hyperphosphatemia but accentuates calcitriol deficiency in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 2005. 16(7): p. 2205-15.
47. Gutierrez, O.M., et al., Fibroblast growth factor 23 and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease. *Circulation*, 2009. 119(19): p. 2545-52.
48. Gutierrez, O.M., et al., Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med*, 2008. 359(6): p. 584-92.
49. Gutierrez, O.M., M. Wolf, and E.N. Taylor, Fibroblast growth factor 23, cardiovascular disease risk factors, and phosphorus intake in the health professionals follow-up study. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2011. 6(12): p. 2871-8.
50. Hasegawa, H., et al., Direct evidence for a causative role of FGF23 in the abnormal renal phosphate handling and vitamin D metabolism in rats with early-stage chronic kidney disease. *Kidney Int*, 2010. 78(10): p. 975-80.
51. Heine, G.H., Mineral metabolism in heart disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 2015. 24(4): p. 310-6.
52. Herzog, C.A., J.Z. Ma, and A.J. Collins, Poor long-term survival after acute myocardial infarction among patients on long-term dialysis. *New England Journal of Medicine*, 1998. 339(12): p. 799-805.
53. Hruska, K.A., et al., Hyperphosphatemia of chronic kidney disease. *Kidney Int*, 2008. 74(2): p. 148-57.
54. Hu, M.C. and O.W. Moe, Klotho as a potential biomarker and therapy for acute kidney injury. *Nat Rev Nephrol*, 2012. 8(7): p. 423-9.
55. Hu, M.C., et al., Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 2011. 22(1): p. 124-36.

56. Hu, M.C., et al., Fibroblast growth factor 23 and Klotho: physiology and pathophysiology of an endocrine network of mineral metabolism. *Annu Rev Physiol*, 2013. 75: p. 503-33.
57. Isakova, T., et al., Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int*, 2011. 79(12): p. 1370-8.
58. Isakova, T., et al., Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease. *JAMA*, 2011. 305(23): p. 2432-9.
59. Ito, N., et al., Effect of acute changes of serum phosphate on fibroblast growth factor (FGF)23 levels in humans. *J Bone Miner Metab*, 2007. 25(6): p. 419-22.
60. Ix, J.H., et al., Effect of dietary phosphate intake on the circadian rhythm of serum phosphate concentrations in chronic kidney disease: a crossover study. *Am J Clin Nutr*, 2014. 100(5): p. 1392-7.
61. Ix, J.H., et al., Fibroblast growth factor-23 and death, heart failure, and cardiovascular events in community-living individuals: CHS (Cardiovascular Health Study). *J Am Coll Cardiol*, 2012. 60(3): p. 200-7.
62. Jacob, C., et al., Effect of the intensity of training on catecholamine responses to supramaximal exercise in endurance-trained men. *Eur J Appl Physiol*, 2004. 91(1): p. 35-40.
63. Karlsen, A., et al., Heat acclimatization does not improve VO₂max or cycling performance in a cool climate in trained cyclists. *Scand J Med Sci Sports*, 2015. 25 Suppl 1: p. 269-76.
64. Kawai, M., et al., Sympathetic activation induces skeletal Fgf23 expression in a circadian rhythm-dependent manner. *J Biol Chem*, 2014. 289(3): p. 1457-66.
65. Kdoqi and F. National Kidney, KDOQI Clinical Practice Guidelines and Clinical Practice Recommendations for Anemia in Chronic Kidney Disease. *Am J Kidney Dis*, 2006. 47(5 Suppl 3): p. S11-145.
66. Kemp, G.J., A. Blumsohn, and B.W. Morris, Circadian changes in plasma phosphate concentration, urinary phosphate excretion, and cellular phosphate shifts. *Clin Chem*, 1992. 38(3): p. 400-2.
67. Kendrick, J., et al., FGF-23 associates with death, cardiovascular events, and initiation of chronic dialysis. *J Am Soc Nephrol*, 2011. 22(10): p. 1913-22.
68. Kestenbaum, B., et al., Serum phosphate levels and mortality risk among people with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*, 2005. 16(2): p. 520-8.
69. Khosravi, A., et al., Determination of the elimination half-life of fibroblast growth factor-23. *J Clin Endocrinol Metab*, 2007. 92(6): p. 2374-7.
70. Kimata, N., et al., Association of mineral metabolism factors with all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients: the Japan dialysis outcomes and practice patterns study. *Hemodial Int*, 2007. 11(3): p. 340-8.
71. Kirkpantur, A., et al., Serum fibroblast growth factor-23 (FGF-23) levels are independently associated with left ventricular mass and myocardial performance index in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*, 2011. 26(4): p. 1346-54.
72. Kodama, S., et al., Cardiorespiratory fitness as a quantitative predictor of all-cause mortality and cardiovascular events in healthy men and women: a meta-analysis. *JAMA*, 2009. 301(19): p. 2024-35.
73. Kolek, O.I., et al., 1 α ,25-Dihydroxyvitamin D₃ upregulates FGF23 gene expression in bone: the final link in a renal-gastrointestinal-skeletal axis that controls phosphate transport. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol*, 2005. 289(6): p. G1036-42.

74. Komaba, H., et al., Depressed expression of Klotho and FGF receptor 1 in hyperplastic parathyroid glands from uremic patients. *Kidney Int*, 2010. 77(3): p. 232-8.
75. Levine, T.B., et al., Activity of the sympathetic nervous system and renin-angiotensin system assessed by plasma hormone levels and their relation to hemodynamic abnormalities in congestive heart failure. *Am J Cardiol*, 1982. 49(7): p. 1659-66.
76. Li, L., et al., Is hyperuricemia an independent risk factor for new-onset chronic kidney disease?: a systematic review and meta-analysis based on observational cohort studies. *Bmc Nephrology*, 2014. 15.
77. Lim, K., et al., Vascular Klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23. *Circulation*, 2012. 125(18): p. 2243-55.
78. Liu, S., et al., Fibroblast growth factor 23 is a counter-regulatory phosphaturic hormone for vitamin D. *J Am Soc Nephrol*, 2006. 17(5): p. 1305-15.
79. Lombardi, G., et al., Reciprocal regulation of calcium-/phosphate-regulating hormones in cyclists during the Giro d'Italia 3-week stage race. *Scand J Med Sci Sports*, 2014. 24(5): p. 779-87.
80. Lopez, I., et al., Direct and indirect effects of parathyroid hormone on circulating levels of fibroblast growth factor 23 in vivo. *Kidney Int*, 2011. 80(5): p. 475-82.
81. Lounana, J., et al., Relationship between %HRmax, %HR reserve, %VO2max, and %VO2 reserve in elite cyclists. *Med Sci Sports Exerc*, 2007. 39(2): p. 350-7.
82. Lubin, J.H., et al., Risk of cardiovascular disease from cumulative cigarette use and the impact of smoking intensity. *Epidemiology*, 2016.
83. Lucia, A., et al., Frequency of the VO2max plateau phenomenon in world-class cyclists. *Int J Sports Med*, 2006. 27(12): p. 984-92.
84. Mahmoodi, B.K., et al., Abstract P342: Assessing Interaction in GFR-risk Associations in Meta-analyses: An example of Hypertension in the CKD Prognosis Consortium. *Circulation*, 2012. 125(Suppl 10): p. AP342-AP342.
85. Maimoun, L., et al., The intensity level of physical exercise and the bone metabolism response. *Int J Sports Med*, 2006. 27(2): p. 105-11.
86. Masuyama, R., et al., Vitamin D receptor in chondrocytes promotes osteoclastogenesis and regulates FGF23 production in osteoblasts. *J Clin Invest*, 2006. 116(12): p. 3150-9.
87. Matsushita, K., et al., Estimated glomerular filtration rate and albuminuria for prediction of cardiovascular outcomes: a collaborative meta-analysis of individual participant data. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2015. 3(7): p. 514-25.
88. Michalczyk, M., et al., Blood antioxidant status in road cyclists during progressive (VO2max) and constant cyclist intensity test (MLSS). *J Sports Med Phys Fitness*, 2015. 55(9): p. 855-64.
89. Nakayama, M., et al., Fibroblast growth factor 23 is associated with carotid artery calcification in chronic kidney disease patients not undergoing dialysis: a cross-sectional study. *BMC Nephrol*, 2013. 14: p. 22.
90. Nishida, Y., et al., Acute effect of oral phosphate loading on serum fibroblast growth factor 23 levels in healthy men. *Kidney Int*, 2006. 70(12): p. 2141-7.
91. Oberg, M., et al., Worldwide burden of disease from exposure to second-hand smoke: a retrospective analysis of data from 192 countries. *Lancet*, 2011. 377(9760): p. 139-46.

92. Panesso, M.C., et al., Klotho has dual protective effects on cisplatin-induced acute kidney injury. *Kidney Int*, 2014. 85(4): p. 855-70.
93. Payne, R.B. and B.E. Walker, Serum-calcium. *Lancet*, 1979. 1(8128): p. 1248.
94. Pescatello, L.S. and American College of Sports Medicine., ACSM's guidelines for exercise testing and prescription. 9th ed. 2014, Philadelphia: Wolters Kluwer/Lippincott Williams & Wilkins Health. xxiv, 456 p.
95. Portale, A.A., et al., Disordered FGF23 and mineral metabolism in children with CKD. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2014. 9(2): p. 344-53.
96. Poss, J., et al., FGF-23 is associated with increased disease severity and early mortality in cardiogenic shock. *Eur Heart J Acute Cardiovasc Care*, 2013. 2(3): p. 211-8.
97. Quinn, S.J., et al., Interactions between calcium and phosphorus in the regulation of the production of fibroblast growth factor 23 in vivo. *Am J Physiol Endocrinol Metab*, 2013. 304(3): p. E310-20.
98. Razzaque, M.S., The FGF23-Klotho axis: endocrine regulation of phosphate homeostasis. *Nat Rev Endocrinol*, 2009. 5(11): p. 611-9.
99. Rhee, Y., et al., Parathyroid hormone receptor signaling in osteocytes increases the expression of fibroblast growth factor-23 in vitro and in vivo. *Bone*, 2011. 49(4): p. 636-43.
100. Riminucci, M., et al., FGF-23 in fibrous dysplasia of bone and its relationship to renal phosphate wasting. *J Clin Invest*, 2003. 112(5): p. 683-92.
101. Rodriguez-Ortiz, M.E., et al., Calcium deficiency reduces circulating levels of FGF23. *J Am Soc Nephrol*, 2012. 23(7): p. 1190-7.
102. Sagnol, M., et al., Catecholamines and fuels after an ultralong run: persistent changes after 24-h recovery. *Int J Sports Med*, 1989. 10(3): p. 202-6.
103. Scialla, J.J., et al., Mineral metabolites and CKD progression in African Americans. *J Am Soc Nephrol*, 2013. 24(1): p. 125-35.
104. Scialla, J.J., et al., Fibroblast growth factor-23 and cardiovascular events in CKD. *J Am Soc Nephrol*, 2014. 25(2): p. 349-60.
105. Scott, J.P., et al., The effect of training status on the metabolic response of bone to an acute bout of exhaustive treadmill running. *J Clin Endocrinol Metab*, 2010. 95(8): p. 3918-25.
106. Scott, J.P., et al., The role of exercise intensity in the bone metabolic response to an acute bout of weight-bearing exercise. *J Appl Physiol (1985)*, 2011. 110(2): p. 423-32.
107. Scott, J.P., et al., Effect of fasting versus feeding on the bone metabolic response to running. *Bone*, 2012. 51(6): p. 990-9.
108. Scott, J.P., et al., Effect of recovery duration between two bouts of running on bone metabolism. *Med Sci Sports Exerc*, 2013. 45(3): p. 429-38.
109. Scott, J.P., et al., Treadmill running reduces parathyroid hormone concentrations during recovery compared with a nonexercising control group. *J Clin Endocrinol Metab*, 2014. 99(5): p. 1774-82.
110. Seiler, S., et al., Associations of FGF-23 and sKlotho with cardiovascular outcomes among patients with CKD stages 2-4. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2014. 9(6): p. 1049-58.
111. Shalhoub, V., et al., FGF23 neutralization improves chronic kidney disease-associated hyperparathyroidism yet increases mortality. *J Clin Invest*, 2012. 122(7): p. 2543-53.
112. Shimada, T., et al., Mutant FGF-23 responsible for autosomal dominant hypophosphatemic rickets is resistant to proteolytic cleavage and causes hypophosphatemia in vivo. *Endocrinology*, 2002. 143(8): p. 3179-82.

113. Silverman, H.G. and R.S. Mazzeo, Hormonal responses to maximal and submaximal exercise in trained and untrained men of various ages. *J Gerontol A Biol Sci Med Sci*, 1996. 51(1): p. B30-7.
114. Sprague, S.M., et al., Effect of Cinacalcet and Vitamin D Analogs on Fibroblast Growth Factor-23 during the Treatment of Secondary Hyperparathyroidism. *Clin J Am Soc Nephrol*, 2015. 10(6): p. 1021-30.
115. Stegmann, H., W. Kindermann, and A. Schnabel, Lactate kinetics and individual anaerobic threshold. *Int J Sports Med*, 1981. 2(3): p. 160-5.
116. Stubbs, J.R., et al., Longitudinal evaluation of FGF23 changes and mineral metabolism abnormalities in a mouse model of chronic kidney disease. *J Bone Miner Res*, 2012. 27(1): p. 38-46.
117. Swain, D.P. and R.L. Wright, Prediction of VO₂peak from submaximal cycle ergometry using 50 versus 80 rpm. *Med Sci Sports Exerc*, 1997. 29(2): p. 268-72.
118. Townsend, R., et al., Parathyroid Hormone Secretion is Controlled by Both Ionised Calcium and Phosphate During Exercise and Recovery in Men. *J Clin Endocrinol Metab*, 2016: p. jc20161848.
119. Trappe, H.J. and H. Lollgen, [Guidelines for ergometry. German Society of Cardiology--Heart and Cardiovascular Research]. *Z Kardiol*, 2000. 89(9): p. 821-31.
120. Tsioufis, C., et al., Left ventricular hypertrophy as a determinant of renal outcome in patients with high cardiovascular risk. *J Hypertens*, 2010. 28(11): p. 2299-308.
121. Urakawa, I., et al., Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature*, 2006. 444(7120): p. 770-4.
122. Urhausen, A. and W. Kindermann, Blood ammonia and lactate concentrations during endurance exercise of differing intensities. *Eur J Appl Physiol Occup Physiol*, 1992. 65(3): p. 209-14.
123. Uribarri, J., Phosphorus homeostasis in normal health and in chronic kidney disease patients with special emphasis on dietary phosphorus intake. *Semin Dial*, 2007. 20(4): p. 295-301.
124. Vervloet, M.G., et al., Bone: a new endocrine organ at the heart of chronic kidney disease and mineral and bone disorders. *Lancet Diabetes Endocrinol*, 2014. 2(5): p. 427-36.
125. Wang, T.J., et al., Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation*, 2008. 117(4): p. 503-11.
126. Wanner, C., et al., Atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis. *N Engl J Med*, 2005. 353(3): p. 238-48.
127. Weiner, D.E., et al., Chronic kidney disease as a risk factor for cardiovascular disease and all-cause mortality: a pooled analysis of community-based studies. *J Am Soc Nephrol*, 2004. 15(5): p. 1307-15.
128. Wolf, M., T.A. Koch, and D.B. Bregman, Effects of iron deficiency anemia and its treatment on fibroblast growth factor 23 and phosphate homeostasis in women. *J Bone Miner Res*, 2013. 28(8): p. 1793-803.
129. Xie, J., et al., Cardioprotection by Klotho through downregulation of TRPC6 channels in the mouse heart. *Nat Commun*, 2012. 3: p. 1238.
130. Xie, J., et al., Soluble Klotho Protects against Uremic Cardiomyopathy Independently of Fibroblast Growth Factor 23 and Phosphate. *J Am Soc Nephrol*, 2015. 26(5): p. 1150-60.

131. Yamashita, T., M. Yoshioka, and N. Itoh, Identification of a novel fibroblast growth factor, FGF-23, preferentially expressed in the ventrolateral thalamic nucleus of the brain. *Biochem Biophys Res Commun*, 2000. 277(2): p. 494-8.
132. Yanochko, G.M., et al., Pan-FGFR inhibition leads to blockade of FGF23 signaling, soft tissue mineralization, and cardiovascular dysfunction. *Toxicol Sci*, 2013. 135(2): p. 451-64.
133. Yilmaz, M.I., et al., The determinants of endothelial dysfunction in CKD: oxidative stress and asymmetric dimethylarginine. *Am J Kidney Dis*, 2006. 47(1): p. 42-50.
134. Yuan, Q., et al., FGF-23/Klotho signaling is not essential for the phosphaturic and anabolic functions of PTH. *J Bone Miner Res*, 2011. 26(9): p. 2026-35.
135. Zentrallabor, U.d.S.-. Verfahrensliste. 2016; Available from: <http://zentrallaborweb.med-rz.uniklinik-saarland.de/labor/Verfahrensliste.pdf> [Stand 18.02.2016, 11:53].
136. Zoccali, C., Endothelial dysfunction and the kidney: emerging risk factors for renal insufficiency and cardiovascular outcomes in essential hypertension. *J Am Soc Nephrol*, 2006. 17(4 Suppl 2): p. S61-3.
137. Zoccali, C., et al., Plasma norepinephrine predicts survival and incident cardiovascular events in patients with end-stage renal disease. *Circulation*, 2002. 105(11): p. 1354-9.

8 Publikationen / Kongressbeiträge

Teilergebnisse der vorliegenden Dissertationsschrift sind zur Begutachtung bei dem „American Journal of Kidney Disease“ eingereicht.

Zentrale Ergebnisse dieser Dissertation wurden von dem Autor auf folgenden Kongressen präsentiert:

- 8. Jahrestagung der Deutschen Gesellschaft für Nephrologie (DGfN),
Berlin, 10. – 13. September 2016
Posterpräsentation: „Effekt eines physiologischen Stressmodells auf den Calcium-Phosphat-Haushalt und Fibroblast Growth Factor 23 bei nierengesunden Probanden“

- 123. Kongress der Deutschen Gesellschaft für Innere Medizin e.V. (DGIM),
Mannheim, 29. April – 02. Mai 2017
Posterpräsentation: „Effekt eines physiologischen Stressmodells auf den Calcium-Phosphat-Haushalt und Fibroblast Growth Factor 23 bei nierengesunden Probanden“

9 Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich bei Allen bedanken, die zum Gelingen dieser Dissertationsschrift beigetragen haben.

Mein besonderer Dank meinem Betreuer und Doktorvater Herrn Prof. Dr. Gunnar Heine für seine fachlich sehr kompetente Unterstützung und die Studienkonzeption. Durch seine Ideen, Anregungen und konstruktive Kritik konnte er mir stets helfen und mich motivieren. Ich möchte mich herzlich für seine unaufdringliche Bestärkung der Wichtigkeit von stetiger Weiterbildung bedanken, denn dadurch habe ich an sehr interessanten internistischen Kongressen teilgenommen und konnte dort Ergebnisse der Promotionsarbeit präsentieren.

Ich bedanke mich auch ganz herzlich bei meinem Doktorvater Herrn Prof. Dr. Jürgen Scharhag für seine akribischen internistisch-sportmedizinische Anamnese und körperliche und diagnostische Eingangsuntersuchung der Probanden.

Herrn Prof. Dr. Danilo Fliser, Leiter der Klinik für Innere Medizin IV des Universitätsklinikums des Saarlandes drücke ich meinen Dank aus, dass er mir die vorliegende Promotionsarbeit an seiner Klinik zur Verfügung stellte.

Ebenso danke ich Herrn Prof. Dr. Tim Meyer, Leiter des Instituts für Sport- und Präventivmedizin der Universität des Saarlandes in Saarbrücken, für die Bereitstellung der Räumlichkeiten und seinen ausgezeichneten und freundlichen Mitarbeitern.

Ein herzlicher Dank geht an Frau Martina Wagner für die aktive Unterstützung bei der Bestimmung des Fibroblast Growth Factors 23 mit Hilfe von Enzyme Linked Immunosorbent Assays.

Allen Korrektoren dieser Arbeit danke ich für ihren Einsatz und das genaue Lesen der vorliegenden Dissertationsarbeit.

Explizit danke ich meiner Familie und meiner Freundin Lucie Bauer für ihre tatkräftige Unterstützung.