

Diplomarbeit

**Effekte einer Vitamin-D-Supplementierung auf FGF-23:
eine randomisierte, Placebo kontrollierte Studie bei
PatientInnen mit arteriellem Hypertonus**

eingereicht von

Julia Steinkellner

zur Erlangung des akademischen Grades

**Doktorin der gesamten Heilkunde
(Dr^{in.} med. univ.)**

an der

Medizinischen Universität Graz

ausgeführt an der

**Universitätsklinik für Innere Medizin Graz
Klinische Abteilung für Endokrinologie und Diabetologie**

unter der Anleitung von

Assoz. Prof., Priv.-Doz., Dr.med.univ. Stefan Pilz, PhD

und

Dr^{in.} med. univ. Marlene Pandis

Graz, am 18.08.2018

Eidesstattliche Erklärung

Ich erkläre ehrenwörtlich, dass ich die vorliegende Arbeit selbstständig und ohne fremde Hilfe verfasst habe, andere als die angegebenen Quellen nicht verwendet habe und die den benutzten Quellen wörtlich oder inhaltlich entnommenen Stellen als solche kenntlich gemacht habe.

Graz, am 18.08.2018

Julia Steinkellner eh.

Danksagung

An dieser Stelle möchte ich mich herzlich bei meinen beiden Betreuern Assoz. Prof., Priv.-Doz., Dr. med. univ. Stefan Pilz, PhD und Dr.ⁱⁿ med. univ. Marlene Pandis für die unkomplizierte Zusammenarbeit und die Unterstützung beim Erstellen dieser Diplomarbeit bedanken.

Ein großes Dankeschön gilt meiner Familie für die Unterstützung in den letzten Jahren. Besonders möchte ich meinen Eltern dafür danken, dass sie mir dieses Studium ermöglicht haben und mir immer den nötigen Rückhalt geben.

Ganz besonders möchte ich mich auch bei meinen Mitbewohnerinnen, allen FreundInnen und StudienkollegInnen für die Hilfe, Unterstützung und schönen Momente der Studienzeit bedanken.

Zusammenfassung

Hintergrund: FGF-23 ist ein Hormon aus dem Knochen, welches gemeinsam mit Calcitriol und dem Parathormon den Kalzium- und Phosphathaushalt durch einem komplexen Regulations- und Feedbackmechanismus steuert. Der negative Feedbackmechanismus von FGF-23 auf die Calcitriolproduktion ist bereits in mehreren Studien belegt worden. Umgekehrt wird vermutet, dass es durch Calcitriol zu einem Anstieg von FGF-23 kommt, was in bisherigen Studien noch nicht eindeutig bestätigt werden konnte. Diese Fragestellung ist jedoch von Bedeutung, da eine erhöhte FGF-23-Konzentrationen mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko und einer erhöhten Mortalität bei HämodialysepatientInnen assoziiert sind. Vor diesem Hintergrund untersuchten wir in dieser Studie die Effekte einer Vitamin-D-Supplementation auf die FGF-23-Konzentration.

Methoden: Diese Studie ist eine post-hoc Analyse der Steirischen Vitamin-D-Bluthochdruckstudie. Dabei handelt es sich um eine Placebo kontrollierte, randomisierte Parallelgruppenstudie, welche von 2011 bis 2014 an der Medizinischen Universität Graz durchgeführt wurde. Es wurden 200 PatientInnen mit arterieller Hypertonie und einem 25(OH)D- Spiegel <30 ng/dL entweder einer Interventions- oder Placebogruppe zugeteilt. Der Interventionsgruppe wurden täglich 2800 IU Vitamin D und der Vergleichsgruppe ein Placebo für acht Wochen verabreicht.

Ergebnisse: In dieser post- hoc Analyse konnten nur TeilnehmerInnen mit verfügbaren FGF-23- Baseline- und Follow-up- Werten einbezogen werden ($n=181$; Mittelwert \pm Standardabweichung Alter: $60,1 \pm 11,3$; 48% Frauen). Bei den Baselinewerten wurde eine signifikante Korrelation zwischen FGF-23 und Phosphat festgestellt ($r=0,135$; $p=0,002$). In der Studie konnte kein signifikanter Effekt einer Vitamin-D-Supplementation auf FGF-23 bezogen auf die gesamte Studienkohorte gefunden werden (durchschnittlicher Behandlungseffekt $0,374$; 95% Konfidenzintervall $-0,024$ bis $0,772$ pmol/L; $p=0,065$). Jedoch konnte ein signifikanter Anstieg an FGF-23-Serumspiegel in den Subgruppen mit 25(OH)D-Baselineswerten <20 ng/mL (durchschnittlicher Behandlungseffekt $0,973$; 95%

Konfidenzintervall -0,032 bis 1,979 pmol/L; p=0,019) und <16 ng/mL (durchschnittlicher Behandlungseffekt 0,593; 95% Konfidenzintervall 0,076 bis 1,109; p=0,022) gezeigt werden.

Diskussion: In unserer Studie konnte kein Effekt einer Vitamin- D- Supplementation auf FGF-23 in der gesamten Studienpopulation festgestellt werden. Dennoch konnte ein signifikanter Anstieg der FGF-23- Werte bei TeilnehmerInnen mit 25(OH)D- Serumkonzentrationen <20 ng/mL und <16 ng/mL nach der Supplementation beobachtet werden. Es werden noch weitere Studien für die weitere und genauere Erforschung dieser Thematik benötigt.

Schlagerworte: Vitamin- D- Supplementation; FGF-23; randomisierte kontrollierte Studie; Phosphat; Calcitriol

Abstract

Background: FGF-23 is a hormone produced in bone. Together with calcitriol and parathyroid hormone it regulates calcium and phosphate homeostasis through a complex feedback mechanism. While the negative feedback system of FGF-23 on calcitriol synthesis is well explored, there is an inconsistency in literature regarding the effects of calcitriol on FGF-23. Considering the association of high FGF-23-concentrations with several adverse outcomes in hemodialysis patients, such as increased cardiovascular events or mortality, more information about the effects of calcitriol on FGF-23 is needed.

Methods: This is a post hoc analysis of the Styrian hypertension trial. This trial is a randomized, placebo-controlled parallel group study and was conducted from 2011 to 2014 at the medical university of Graz. Two hundred subjects with arterial hypertension and 25(OH)D concentration below 30 ng/mL were allocated either to an intervention group or a placebo group. Participants received either 2800 IU of vitamin D or a matching placebo daily over eight weeks.

Results: Only participants with available FGF-23- baseline and follow-up concentrations (n=181; mean \pm standard deviation age: 60.1 \pm 11.3; 48% women) were considered in this post hoc analysis. At baseline, FGF-23 was significantly correlated with serum phosphate (r=0.135; p=0.002). In this trial, vitamin D supplementation showed no significant effect on FGF-23 in the entire cohort (mean treatment effect 0.374; 95% confidence interval -0.024 to 0.772 pmol/L; p=0.065). However, FGF-23 concentration increased in subgroups with 25(OH)D baseline levels below <20ng/mL (mean treatment effect 0.973; 95% confidence interval -0.032 to 1.979 pmol/L; p=0.019) and <16 ng/mL (mean treatment effect 0.593; 95% confidence interval 0.076 to 1.109; p=0.022).

Discussion: In this RCT vitamin D supplementation had no significant effect on FGF-23 in the entire study cohort. Although there was an increase in FGF-23 concentration after vitamin D supplementation in subgroups with low 25(OH)D levels. Our results extend previous published study data and provided more insights into the interaction of vitamin D and FGF-23. Further studies are

warranted to close the knowledge gaps regarding the effect of vitamin D supplementation on FGF-23.

Keywords: vitamin- D- supplementation, FGF-23, RCT, phosphate, calcitriol

Inhaltsverzeichnis

Eidesstattliche Erklärung.....	I
Danksagung	II
Zusammenfassung.....	III
Abstract	V
Inhaltsverzeichnis.....	VII
Glossar und Abkürzungen.....	IX
Abbildungsverzeichnis.....	XII
Tabellenverzeichnis.....	XIII
1. Einleitung	1
1.1. Hintergrund und Rationale.....	1
1.2. Vitamin D.....	2
1.2.1. Biosynthese, Metabolismus und Signalweg	2
1.2.2. Wirkung von Calcitriol.....	5
1.2.2.1. im Kalzium- Phosphathaushalt und Knochenumbau	6
1.2.2.2. im kardiovaskulären System.....	9
1.2.2.3. auf die Muskulatur	11
1.2.3. Regulation des Vitamin- D- Haushalts.....	12
1.2.4. Vitamin- D- Mangel und Supplementierung.....	13
1.3. Fibroblast growth factor 23	19
1.3.1. Aufbau und Synthese	19
1.3.2. Wirkungsweise und Wirkungsmechanismus	20
1.3.3. Die „FGF-23–PTH–Vitamin-D“-Achse	21
1.3.4. FGF-23 bei CKD und kardiovaskulärer Risikofaktor.....	25
1.4. Phosphat	34
1.4.1. Vorkommen, Absorption und Exkretion.....	34
1.4.2. Hormonelle Regulation.....	37
1.4.3. Störungen des Phosphathaushalts.....	40
1.4.4. Phosphat bei CKD und als kardiovaskulärer Risikofaktor	44

2. Methoden	48
2.1. Studiendesign	48
2.2. StudienteilnehmerInnen	48
2.3. Intervention	49
2.4. Messungen	50
2.5. Datenanalyse	51
3. Ergebnisse	52
4. Diskussion	54
Literaturverzeichnis	57

Glossar und Abkürzungen

1,25(OH) ₂ D	1,25-Dihydroxycholecalciferol = Calcitriol
25(OH)D	25-Hydroxyvitamin D = Calcidiol
ABDM	ambulantes Blutdruckmonitoring
ACE	angiotensin converting enzyme (engl.)
ACS	acute coronary syndrome = akutes Koronarsyndrom
ACTH	Adrenocorticotropeshormon
ADP	Adenosindiphosphat
ATP	Adenosintriphosphat
BD	Blutdruck
BMI	Body Mass Index
CKD	chronic kidney disease = chronische Niereninsuffizienz
CKD-MBD	chronic kidney disease- mineral bone disorder (engl.)
CVD	cardiovascular disease = kardiovaskuläre Erkrankungen
DBP	Vitamin D- binding Protein
ECaC	epithelialer Kalziumkanal
EFSA	European Food Safety Authority
ELISA	enzyme-linked Immunosorbent Assay
eGFR	estimated glomerular filtration rate
ES	endocrine society

ESRD	end-stage renal disease
FGF	fibroblast growth factor
FGFR	fibroblast growth factor receptor
gp-130	Glykoprotein 130
HOST-Studie	The Homocysteine in Kidney and End Stage Renal Disease study
ICU	intensive care unit
IL-1, -6, -11	Interleukin-1, -6, -11
IOM	institute of medicine
IU	international unite (engl.)
KDIGO	kidney disease improving global outcome
LIF	Leukämiehemmender Faktor
LVH	Linksventrikelhypertrophie
LVMi	left ventricular mass index
mRNA	messenger Ribonukleinsäure
NEJM	New England Journal of Medicine
NPT2a, -2b, -2c	sodium-dependent phosphate co-transporter =natriumabhängiger Phosphat-Co-Transporter
pAVK	periphere arterielle Verschlusskrankheit
PGE2	Prostaglandin E ₂
pHPT	primärer Hyperparathyreoidismus
PMCa	Plasma membrane calcium pump (engl.)
PTH	Parathormon
PTX	Parathyreidektomie

RAAS	Renin-Angiotensin-Aldosteron-System
RCT	randomized controlled trial (engl.)
ROD	renale Osteodystrophie
RR	Blutdruck (Riva-Rocci)
sHPT	sekundärer Hyperparathyreoidismus
SLC-34	solute carrier- 34
TnC	Troponin C
TIO	tumor- induced osteomalacia
TGF- β	transforming growth factor β (engl.)
TNF- α	Tumornekrosefaktor α
TIA	Transitorische ischämische Attacke
TRP	Phosphatrückresorption im proximalen Tubulus
TRP-6	transient receptor potential channels- 6
UVB-Strahlung	Ultraviolette Strahlung im Wellenbereich von 280 bis 315 nm
VDR	Vitamin-D-Rezeptor
VDRE	Vitamin-D-response element (engl.)
XLH	x- linked Hypophosphatämia

Abbildungsverzeichnis

Abbildung 1: Chemische Strukturen und Transformation zur biologisch aktiven Form von Calcitriol aus Deluca (2004) S.1690 (1).....	5
Abbildung 2: Synthese und Metabolismus von Vitamin D und Regulation des Kalzium-Phosphat- und Knochenhaushalts aus Holick (2007) S. 269 (2)	6
Abbildung 3: Einflussfaktoren auf eine ausreichende Vitamin- D- Versorgung aus Zittermann (2017) S.304 (3)	15
Abbildung 4: „PTH-FGF-23- Vitamin D- Achse“ aus Blau et al.(2015)(4) S.170. 22	
Abbildung 5: Odds ratio (Chancenverhältnis) der Mortalität bezogen auf cFGF-23- Quartile aus Gutierrez et al. (2015)(5) S.591	28
Abbildung 6: Einfluss von FGF-23 auf den menschlichen Körper aus Erben (2016)(6) S.57	33
Abbildung 7: Phosphattransport im Intestinum aus Penido et al. (2012) (7) S.2041	35
Abbildung 8: Transzellulärer Phosphattransport im proximalen Tubulus aus Penido et al. (2012)(7) S.2048	36
Abbildung 9: Regulationsmechanismen des Phosphathaushalts aus Penido et al. (2012)(7) S.2047	37

Tabellenverzeichnis

Tabelle 1: Stadien der Vitamin-D-Versorgung in Bezug auf die 25(OH)D-Konzentration im Blut aus Zittermann (2017)(3) S.303	14
Tabelle 2: Ursachen bzw. Erkrankungen, die zu reduzierter Calcitriolwirkung bzw. Vitamin- D- Mangel führen aus Zittermann (2017)(3) S.305.....	16
Tabelle 3: Zufuhrempfehlung diverser Fachgesellschaften für Vitamin D in µg/Tag aus Zittermann (2017)(3) S. 306	17
Tabelle 4: Zusammenhang zwischen FGF-23- Konzentration und kardiovaskulären Risikofaktoren aus Gutierrez et al. (2011) S. 2873 (5).....	30
Tabelle 5: Vergleich von Echokardiographieparameter zwischen verschiedenen FGF-23- Serumkonzentrationen und einer Vergleichsgruppe aus Kirkpantur et al. (2011)(8) S.1349	32
Tabelle 6: Organspezifische Symptome einer Hypophosphatämie adaptiert nach Herold (2015) S.588 (9) und Lhotta (2014) S.22(10).....	41
Tabelle 7: Baseline- Parameter aller randomisierten TeilnehmerInnen mit vorhandenen FGF-23- Konzentrationen zu beiden Zeitpunkten (Baseline und follow- up).....	52
Tabelle 8: Baseline- und follow-up Konzentrationen von FGF-23 aller TeilnehmerInnen und Subgruppen	53

Einleitung

1.1 Hintergrund und Rationale

Bei dem fibroblast-growth-factor 23 (FGF-23) handelt es sich um einen Hauptregulator des Kalzium- und Phosphathaushalts. Gemeinsam mit Calcitriol und dem Parathormon (PTH) ist FGF-23 Teil eines komplexen, mehrere Gewebe umfassenden Regulations- und Feedbackmechanismus. (4) In Zusammenspiel mit seinem Co-Faktor α -Klotho erhöht FGF-23 die Phosphatausscheidung über die Niere durch eine verminderte Expression von NPT2a und NPT2c. Außerdem senkt es durch eine Inhibierung der 1α -Hydroxylase die Bildung von Calcitriol in der Niere. (11) Im Gegensatz dazu ist der Einfluss von Vitamin D auf FGF-23 noch nicht vollständig geklärt. Es gibt Hinweise darauf, dass Calcitriol den FGF-23-Spiegel erhöht, diese konnten jedoch noch nicht eindeutig in Studien nachgewiesen werden. Eine genauere Erforschung des Einflusses von Calcitriol auf FGF-23 ist von besonderem klinischen Interesse, da ein erhöhter FGF-23-Spiegel als Risikofaktor für Mortalität sowie auch für kardiovaskuläre Pathologien und kardiovaskulären Ereignissen etabliert ist.(12)(13)(14)

Als gesichert gilt, dass eine Vitamin-D-Supplementation den Calcitriolspiegel steigert. Weniger bekannt ist, welchen Effekt eine Supplementierung von Vitamin D auf FGF-23 hat. Studien von Burnett- Bowie et al.(15), Georgiadou et al.(16) und Turner et al. (17) zeigten alle eine Assoziation zwischen einer Vitamin-D-Supplementierung und steigenden FGF-23-Konzentrationen. Im Gegensatz dazu konnten Nygaard et al.(18) und Bhagatwala et al. (19) diesen Zusammenhang nicht feststellen.

Die Intention dieser Studie war es, die noch unschlüssige Studienlage zum Effekt einer Vitamin-D-Supplementation auf FGF-23 zu evaluieren. Dazu führten wir eine post-hoc Analyse der Steirischen Vitamin-D-Bluthochdruckstudie (20) durch. Dabei war das Hauptziel der aktuellen Studie herauszufinden, ob Unterschiede zwischen den FGF-23-Werten der Vitamin-D-Interventionsgruppe im Vergleich zur Placebogruppe feststellbar sind.

1.2 Vitamin D

Die Entdeckung von Vitamin D steht im direkten Zusammenhang mit einer erfolgreichen Behandlung der Rachitis. Lange Zeit war die Ursache und die erfolgreiche Therapie der Erkrankung unbekannt.(21)(22) Erst im Jahr 1919 zeigte Sir Edward Mellanby(23) bei einem Experiment, in dem er Hundewelpen mit Lebertran fütterte, dass er damit Rachitis bei den Welpen verhindern konnte. Zuerst vermutete man, dass die heilende Wirkung vom damals schon bekannten und im Lebertran enthaltenen Vitamin A kommt.(24) Erst als Sir Elmer McCollum (25) durch weitere Forschung Vitamin A im Lebertran inaktivierte und dennoch eine Heilung der Rachitis erzielte, schrieb er den antirachitischen Effekt einem neuen, noch nicht bekanntem Vitamin zu, welches er Vitamin D nannte. Er erkannte, dass dieses neue Vitamin zur Kalziumeinlagerung in den Knochen beiträgt und das Wachstum fördert. Zur selben Zeit konnten Forscher wie Huldshinsky in Wien oder Chick in England beweisen, dass UV-Strahlung und Sonnenlicht ebenfalls einen kurativen Effekt auf die Rachitis besitzten.(24) Im Jahr 1937 wurde die chemische Struktur von Vitamin D₃ von den Forschern Windaus und Bock(26) identifiziert.(24) Einen weiteren wichtigen Schritt in der Erforschung von Vitamin D setzte Michael F. Holick 1972 mit der Entdeckung der beiden zirkulierenden Hauptformen und der biologisch aktiven Form von Vitamin D im menschlichen Körper.(27)(28)(29) Bis heute wird viel Forschung rund um die Funktionen und Wirkungen von Vitamin D betrieben. Neben seiner klassischen, regulierenden Funktion des Kalzium- und Phosphathaushalts werden ihm auch weitere Effekte das Herz- Kreislaufsystem, das Immunsystem betreffend oder auch bezüglich der Entstehung von Neoplasien zugeschrieben.(2)(30)

1.2.1 Biosynthese, Metabolismus und Signalweg

Bis zum heutigen Tag ist Calcitriol noch immer als Vitamin in den Köpfen verankert und nicht korrekterweise als Prohormon.(31) Wobei man schon vor Jahrzehnten herausgefunden hat, dass Calcitriol nicht nur wie ein Vitamin über die Nahrung aufgenommen wird, sondern vor allem körpereigen in der Haut synthetisiert wird.(24)(32)

Bei Calcitriol handelt es sich um ein Steroidhormon. Es sind uns zwei Hauptformen von Vitamin D bekannt, nämlich Vitamin D₂ (Ergocalciferol) und Vitamin D₃ (Cholecalciferol).(31)(33) Die beiden unterscheiden sich lediglich durch ihre Seitenketten. Während Vitamin D₃ in der Haut synthetisiert wird und über tierische Lebensmittel, wie beispielsweise Fischöl und Eigelb aufgenommen wird, kommt Vitamin D₂ nur in pflanzlichen Produkten vor.(31)(33)

Das mit der Nahrung aufgenommene Vitamin D wird an Chylomikronen gebunden und über das lymphatische System in den Kreislauf befördert, wo es an das vitamin-D-binding protein (DBP) gekoppelt wird und zur weiteren Metabolisierung in die Leber transportiert wird.(31)

Das für die Eigenproduktion in der Haut benötigte Cholesterin kommt initial entweder aus der Nahrung oder wird in der Leber aus Acetyl-CoA de novo synthetisiert.(33) In der Leber wird Cholesterin über die Cholesterin-Dehydrogenase zu 7-Dehydrocholesterin umgewandelt. Dieses 7-Dehydrocholesterin wird danach in die Plasmamembran der Epidermiszellen der Haut transportiert. Dort wird 7-Dehydro-Cholesterin durch UVB-Strahlung im Rahmen einer Isomerisierungsreaktion in Prävitamin D₃ umgewandelt.(34) Die Effizienz dieser Umwandlung ist zum einen von der Wellenlänge der UV-Strahlung abhängig, welche zwischen 290- 315 nm am effektivsten ist.(34)(35) Zum anderen hängt diese auch von der Anzahl an UVB-Photonen ab, die in die Epidermis eindringen.(35) Da Prävitamin D₃ äußerst instabil ist, konvertiert es über temperaturabhängige Prozesse intrazellulär zu Vitamin D₃.(32)(35) Vitamin D₃ ist biologisch vermutlich inert und muss in weiteren Schritten noch zu seiner biologisch wirksamen Form umgewandelt werden.

Die Synthese von 7-Dehydrocholesterin zu Prävitamin D₃ in der Epidermis kann jedoch einigen Limitationen unterliegen. UVB-Strahlung wird zu einem großen Teil in der Ozonschicht der Stratosphäre absorbiert. Nun kommt es im November bis März dazu, dass sich der Einfallswinkel der Sonne abflacht und dadurch die UV-Strahlung einen längeren Weg durch die Ozonschicht nehmen muss. Dies führt dazu, dass vor allem die Bevölkerung über dem 35. Breitengrad in dieser Jahreszeit nur minimal Vitamin D in der Haut produzieren kann.(35) Es erklärt auch, warum die Sonne am frühen Morgen, als auch spät abends nicht für eine

effektive Vitamin-D- Synthese geeignet ist.(32) Das Gegenteil, nämlich ein Vitamin-D- Überschuss bzw. eine Intoxikation durch zu lange, exzessive Sonnenlichtexposition ist auf diesem Wege nicht möglich, da das überschüssig produzierte Vitamin D₃ von den Sonnenstrahlen zerstört wird.(35) Des Weiteren kann durch das Auftragen von Sonnencremes, als auch durch Melanin, welches als natürlicher Sonnenschutz fungiert, die Anzahl der in die Epidermis eintretende UVB-Strahlung stark reduziert sein und die Vitamin-D- Synthese um über 90% verringert werden.(35) (32)

Vitamin D₃ wird im nächsten Schritt aus den Hautzellen geschleust und an das DBP gebunden, welches es über das dermale Kapillarsystem zur Leber transportiert, wo die weitere Metabolisierung stattfindet.(36) In der Leber wird Vitamin D₃ von DBP abgespalten und gelangt somit in die Hepatozyten. Dort wird es über die 25-OHase zu 25(OH)D (Calcidiol) hydroxyliert. (35)

25(OH)D ist die Hauptzirkulationsform im menschlichen Körper. Da es eine Halbwertszeit von zirka 2-3 Wochen im Serum hat, wohingegen 25(OH)₂D eine Halbwertszeit von nur ein paar Stunden hat, wird es aus diesem Grund zur Bestimmung des Vitamin-D-Status herangezogen.(24,35) Die Serumkonzentration von 25(OH)D wird entweder in ng/ml oder nmol/L angegeben, wobei der Umrechnungsfaktor von ng/ml in nmol/L 2,496 ist. Da es sich bei 25(OH)D noch immer nicht um die biologisch aktive Form von Vitamin D handelt, muss noch eine letzte Metabolisierung durchgeführt werden, welche in der Niere stattfindet.(37) Dazu wird 25(OH)D wieder an DBP gebunden und zu den Tubuluszellen der Niere transportiert. Um in die Tubuluszelle zu gelangen, muss der Komplex an Megalin, ein Zellmembranprotein, binden.(38) Intrazellulär wird 25(OH)D von DBP getrennt und in den Mitochondrien über die 25-HydroxyvitaminD-1 α -Hydroxylase (kurz 1 α -Hydroxylase) zu seiner biologisch aktiven Form, dem 1,25(OH)₂D (=Calcitriol), umgeformt.(35)(37)

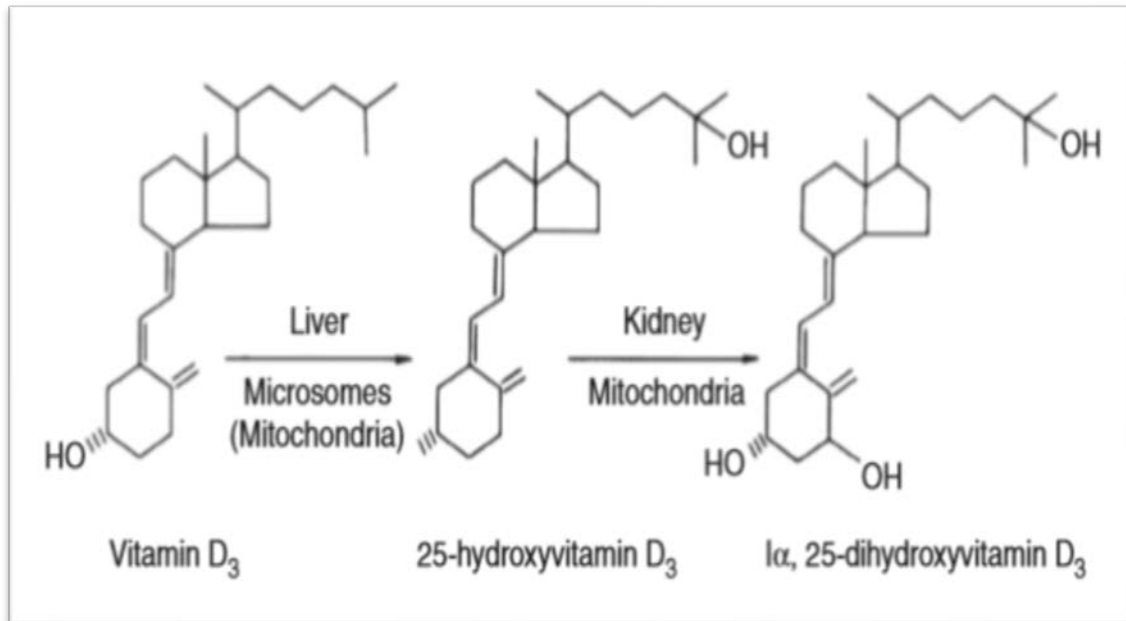


Abbildung 1: Chemische Strukturen und Transformation zur biologisch aktiven Form von Calcitriol aus Deluca (2004) (1)

Der Abbau von Calcitriol erfolgt primär über die Oxidation der Seitenkette. Zuständig für diese Oxidation ist die Vitamin-D-24-Hydroxylase. Jeder Oxidationsschritt führt zu einer weiteren biologischen Inaktivierung des Hormons. (37) Das Endprodukt ist die biologisch inerte Calcitroinsäure. Sie ist wasserlöslich und wird neben der Niere primär über die Gallensäure ausgeschieden und unterliegt somit dem enterohepatischen Kreislauf.(39)

1.2.2 Wirkung von Calcitriol

Calcitriol entfaltet seine Wirkung über den Vitamin-D-Rezeptor (VDR). Der VDR gehört zu den nukleären Rezeptoren und ist eng mit dem Retinoid-X- Rezeptor oder dem Thyroidhormonrezeptor verwandt.(24)(35)(38)(40) Der VDR wirkt über sogenannte vitamin-D-responsive-elements (VDRE), welche sich an der Promotorregion der entsprechenden Zielgene befinden.(24)(38)(40) Der VDR befindet sich nicht nur auf den Enterozyten, Osteoblasten und distalen Tubuluszellen, welche zu den klassischen Wirkorten von Vitamin D zählen, sondern er wurde auch in beinahe allen anderen kernhaltigen Zellen des menschlichen Körpers nachgewiesen.(38)

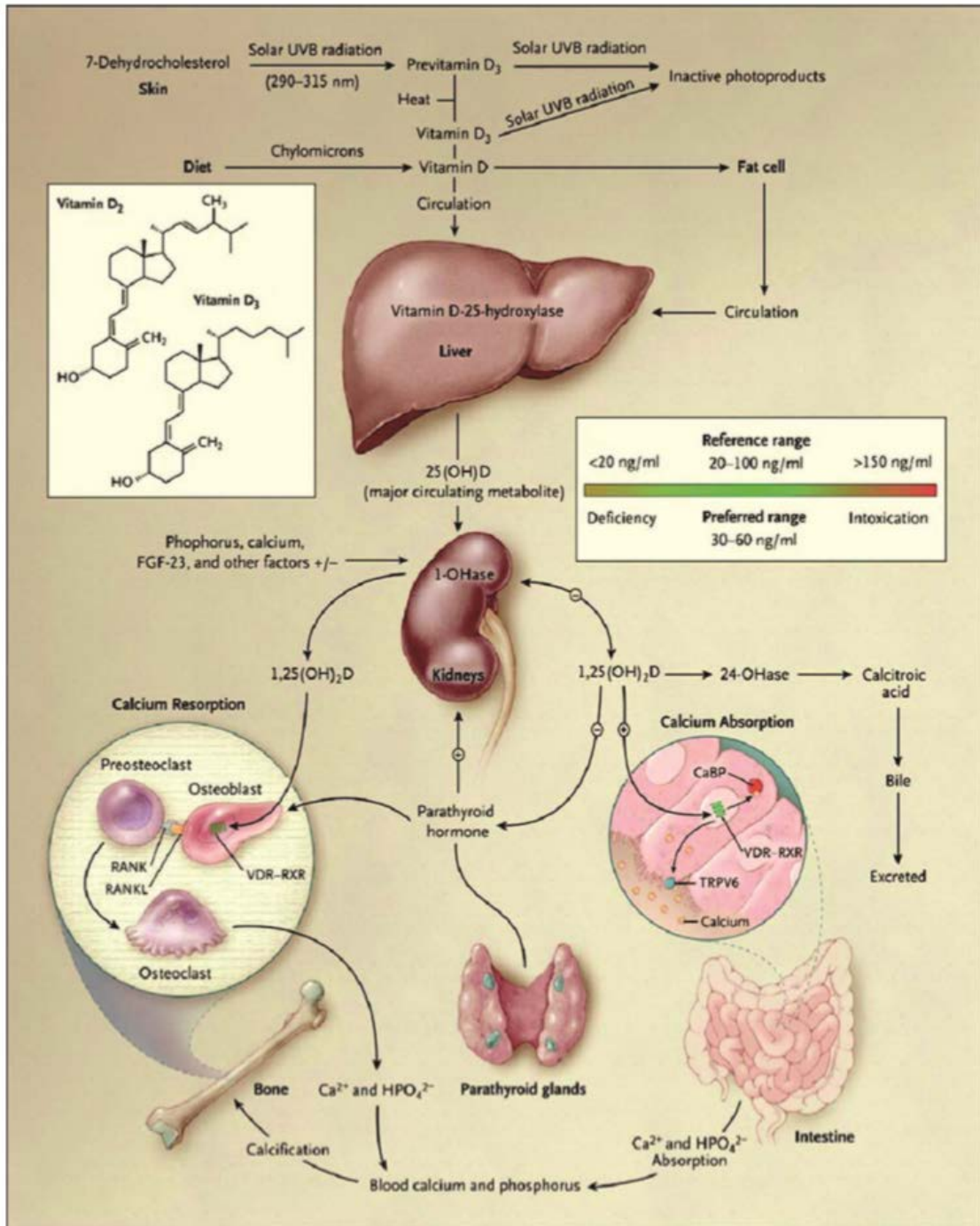


Abbildung 2: Synthese und Metabolismus von Vitamin D und Regulation des Kalzium- Phosphat- und Knochenhaushalts aus Holick (2007)(2) Reproduced with permission from (scientific reference citation), Copyright Massachusetts 1.2.2.1 im Kalzium- Phosphathaushalt und Knochenumbau

Eine der essentiellen und am besten untersuchten Aufgaben von Calcitriol ist die Konstanthaltung des Kalzium- und Phosphathaushalts. Den Serumspiegel an

ionisiertem Kalzium reguliert Calcitriol dabei über drei Organsysteme, nämlich den Darm, die Niere und den Knochen.(24)

Historisch betrachtet ist die Kalziumabsorption aus dem Darm die frühest entdeckte Funktion von Calcitriol. Es wurde schon sehr früh von Nicolaysen und Eeg- Larson oder auch von Orr et al. gezeigt, dass Vitamin D womöglich der endogene Faktor ist, der bei einem Kalziumbedarf des Knochens eine vermehrte Absorption von Kalzium im Darm initiiert.(40) Die biologisch aktive Form von Vitamin D ist der wichtigste Faktor für die intestinale Aufnahme von Kalzium. (41)(21) Ohne Calcitriol werden nur etwa 10 – 15% des Kalziums und etwa 60% des Phosphats aus der Nahrung absorbiert. Interagiert es mit dem VDR im Darm, so kann die intestinale Absorption des Kalziums auf bis zu 40% und die des Phosphats auf 80% gesteigert werden.(2) Dabei ist die Absorption von Phosphat unabhängig von der Kalziumabsorption.(40)

Es sind uns zwei Mechanismen der Kalziumaufnahme im Darm bekannt. Zum einen ein transzellulärer, Calcitriol-abhängiger, aktiver Prozess, welcher in drei Stufen eingeteilt wird.(41) Zuerst wird Kalzium über die Bürstensaummembran in den Enterozyten aufgenommen, danach durchquert es das Zytosol der Darmzelle und wird zum Schluss über einen energieerfordernden Prozess gegen einen Konzentrationsgradienten an der basolateralen Membran des Enterozyten ausgeschleust.(41) Zum anderen kommt es auch zu einer Calcitriol-unabhängigen Kalziumaufnahme über einen parazellulären Weg.(38) Dieser wirkt bei höheren luminalen Kalziumkonzentrationen und wird über tight-junctions und andere interzelluläre Strukturen bewerkstelligt. Um den parazellulären Mechanismus genauer zu verstehen bedarf es jedoch noch weiterer Forschung.(41)

Der Großteil der Kalziumabsorption findet im unteren Teil des Dünndarms, besonders im Ileum, statt. Da aber der VDR in allen Anteilen des Dün- und Dickdarms exprimiert ist, wird im Duodenum, Caecum und Colon auch von einer Kalziumabsorption berichtet.(41) Neben Kalzium führt Calcitriol auch zu einer vermehrten Phosphatabsorption. Dieser Prozess erfolgt ebenfalls über einen aktiven Sättigungsprozess, dessen genauer Mechanismus jedoch noch nicht weiter geklärt ist. Das meiste Phosphat wird im Dünndarm absorbiert, speziell im Jejunum.(41)

Im Normalfall reichen geringe Konzentrationen von Calcitriol aus, um über eine Stimulierung der Enterozyten eine Erhöhung des Kalziumspiegels zu erreichen. Sollte über die Nahrung zu wenig oder kein Kalzium verfügbar sein und es zu keiner Erhöhung im Serum kommen, schüttet die Nebenschilddrüse kontinuierlich PTH aus. Damit wird zum einen vermehrt Calcitriol gebildet, zum anderen hebt Calcitriol im Zusammenspiel mit PTH den Kalziumspiegel entweder durch Mobilisierung aus dem Knochen oder durch Reabsorption über den distalen Tubulus.(24)

Es erscheint paradox, dass Calcitriol den Kalziumspiegel über den Knochenabbau steigert, wo es doch als knochenkalzifizierendes Mittel gegen Rachitis entdeckt wurde. Bisher wird die Rolle von Calcitriol im Mineralisierungsprozess des Knochens kontrovers betrachtet. Es muss noch verifiziert werden, ob es über einen direkten Weg zur Kalzifizierung des Skeletts führt oder ob Calcitriol indirekt über seine Funktion den Kalzium- und Phosphatspiegel konstant zu halten den Knochenaufbau fördert.(42)

Die einzigen für den Knochenabbau verantwortlichen Zellen sind die Osteoklasten. (42) Osteoklasten entstehen durch Fusion von einkernigen Vorläuferzellen, aus denen auch Monozyten und Makrophagen hervorgehen.(43) Die Differenzierung und Proliferation von Osteoblasten zu Osteoklasten kann über drei verschiedene Wege erfolgen. Calcitriol aktiviert die Osteoblasten über den VDR, der im Zellkern liegt. Weiters induzieren PTH, PGE 2 und IL-1 eine Osteoklastenaktivierung über eine Proteinkinase-A-System. Der dritte Weg führt über IL-6, IL-11, LIF und Oncostatin M, welche über gp-130 ihr Signal transferieren.(42) Die Mobilisierung von Kalzium aus dem Knochen gelingt im Fall von Calcitriol jedoch nur mit Hilfe des PTH. Diese Entdeckung machte Carlsson(44) schon 1952 in einem Rattenexperiment. Er verabreichte den Tieren eine Kalzium- und Calcitriol- arme Diät und halbierte somit ihren Serumkalziumspiegel. Danach wurden sowohl gesunden, als auch parathyrektomierten (PTX) Ratten 100 IU Calcitriol verabreicht. Bei den gesunden Ratten steigerte sich daraufhin innerhalb von drei Tagen ihr Kalziumspiegel. Im Gegensatz dazu änderte sich bei den PTX Ratten im Serumkalziumspiegel nichts.(42)(44)

Der dritte Weg für Calcitriol den Kalzium- und Phosphatspiegel zu erhöhen führt über die vermehrte Rückresorption in der Niere.(24)(45) In den Glomerula werden etwa 8000 mg Kalzium in 24 Stunden filtriert und davon wieder 98% rückresorbiert. Von diesen 98% werden etwa 50-60% parazellulär oder Na^+ - abhängig im proximalen Tubulus, weitere 20% in der Pars ascendens der Henle'schen Schleife, 10- 15% im distalen Tubulus und die übrigen 5% im Sammelrohr rückresorbiert.(45) Der Vitamin-D-abhängige Rücktransport findet im distalen Tubulus statt . Dort befinden sich Proteine, wie VDR, calbindin D28K und D9K, PMCa pump und die ECaCs, die alle direkt oder indirekt über Calcitriol aktiviert werden.(45)

Calcitriol inhibiert jedoch die Phosphatrückresorption in der Niere indirekt über eine mögliche Erhöhung des FGF-23 und direkt über eine Vermehrung des FGF-23-Co-Rezeptors α -Klotho.(31) Für seine adäquate Wirkung an der Niere benötigt Calcitriol PTH. Dies wurde sowohl im Jahr 1974 von Popovtzer et al.(46) publiziert, als auch 1984 von Yamamoto et al.(47) in einem Experiment mit Knock-out-Mäusen bewiesen.

1.2.2.2 im kardiovaskulären System

Wie oben schon erwähnt, wird der VDR nicht nur in Knochen, Niere und Darm exprimiert, sondern kommt in fast allen kernhaltigen Zellen des Körpers vor. Diese Entdeckung lässt darauf schließen, dass Calcitriol nicht nur im Kalzium- und Knochenhaushalt eine bedeutende Rolle spielt, sondern es ein breiteres Wirkungsspektrum aufweist.(38)(30)(48)(49) Da VDR sowohl in Herzmuskelzellen und Blutgefäßen, als auch in allen anderen für den Kreislauf relevanten Geweben exprimiert wird, liegt der Verdacht nahe, dass Calcitriol auch eine Rolle im Herzkreislaufsystem spielt.(30)(38)(49) Es existieren viele Studien, welche die Einflussmöglichkeiten von Calcitriol auf kardiovaskuläre Erkrankungen (CVD), wie beispielsweise Bluthochdruck, Gefäßverkalkung oder Linksherzhypertrophie (LVH) beleuchten.

Bereits 1981 berichtete Scragg(50) von einer saisonalen Schwankung im Auftreten von CVD mit einer gehäuften Inzidenz in den Wintermonaten. Seiner Hypothese nach gibt es eine Korrelation zwischen einem Serumpeak an $25(\text{OH})\text{D}$

in den Sommermonaten und dem Rückgang an CVD in dieser Jahreszeit. Kausal könnte die vermehrte UVB-Strahlung im Sommer und die daraus resultierende gesteigerte Vitamin-D-Synthese in der Haut zu höheren Vitamin-D-Blutspiegeln im Sommer führen, welche einen Schutz vor CVD bieten.(50)

Ein wichtiger Faktor für die Regulation des Blutdrucks, sowie der Elektrolythomöostase ist das Renin-Angiotensin-Aldosteron-System (RAAS). Eine Schlüsselrolle in der Aktivierung des RAAS spielt die Protease Renin, welche in den juxtaglomerulären Zellen der Niere gebildet wird und das aus der Leber kommende Angiotensinogen in Angiotensin I spaltet. Angiotensin I wird nun vom angiotensin-converting-enzym (ACE) in das Angiotensin II umgewandelt, welches an seinen Rezeptor bindet und über eine Vasokonstriktion, erhöhten cardiac output und durch vermehrte Ausschüttung von Aldosteron den Blutdruck steigert. (51) Eine unkontrollierte Stimulation dieses Systems stellt einen Hauptrisikofaktor für Bluthochdruck, Schlaganfall und Herzinfarkte dar. Im Jahr 2002 haben Li et al.(52) in einem Versuch mit Knock-out-Mäusen eine Suppression der Reninexpression durch VDR gezeigt. Sie stellten fest, dass bei VDR -/- Mäusen sowohl die Reninproduktion, als auch der Angiotensin- II- Plasmaspiegel erhöht waren. Bei Wildtypmäusen konnte beobachtet werden, dass eine Inhibierung von Calcitriol zu einer gesteigerten Expression von Renin, jedoch eine Calcitriolinjektion zur Senkung dieser führte.(52)

Einen weiteren Hinweis für die Funktion von Calcitriol im Kreislaufsystem erbrachten Chen et al.(53) im Jahr 2008. Sie konnten den VDR sowohl in Myozyten, als auch in Fibroblasten des Herzens nachweisen. Außerdem zeigten sie, dass bei einer Myokardhypertrophie ein signifikanter Anstieg von VDR zu beobachten ist.(53) Durch ein spezifisches knock-out des VDR-Gens in den Kardiomyozyten stellten Chen et al.(54) 2011 die direkte antihypertrophe Wirkung von Calcitriol durch die Interaktion mit dem VDR fest.(54)

Eine weitere Wirkung von Calcitriol auf das Herzkreislaufsystem ist sein anti-atheriosklerotischer Effekt. Dieser protektive Mechanismus kommt unter anderem durch eine Aufnahmehinderung von Cholesterin in die Makrophagen, eine Downregulation der Proliferation und Migration von glatten Gefäßmuskelzellen und

durch eine Unterdrückung des entzündlichen Prozesses im Endothel zustande.(55)

Die Entdeckung dieser Zusammenhänge zwischen kardiovaskulärem System und Calcitriol weckten die Hoffnung durch eine Vitamin-D-Supplementierung einen positiven Effekt bei PatientInnen mit CVD beobachten zu können. Bisher wurden einige randomisiert kontrollierte Studien durchgeführt, welche aber keinen eindeutigen, positiven Effekt einer Vitamin-D-Supplementation feststellen konnten. (Pilz et al. 2015 (20), Arora et al. 2015 (56), Witham et al. 2013 (57) und 2014 (58), Forman et al. 2013(59); Larsen et al. 2012(60); Dalbeni et al. 2013(61))

1.2.2.3. auf die Muskulatur

In der Literatur sind bei PatientInnen mit schwerem Vitamin-D-Mangel neben den Knochenschmerzen auch allgemeine Schwäche, eingeschränkte Leistungsfähigkeit und vor allem Muskelschmerzen beschrieben.(62)(63) Die Muskelschmerzen und die Schwäche verschwanden bei der Therapie des Vitamin-D-Mangels, was zu der Annahme verleiten lässt, dass Calcitriol wichtig für die maximale Leistungsfähigkeit des Skelettmuskels ist.(2)(62) Im Jahr 2001 konnte diese Annahme durch eine Publikation von Bischoff untermauert werden, da sie den VDR in situ bei menschlichen Skelettmuskelzellen nachwies.(64) Forschungen ergaben, dass Calcitriol auf mehreren molekularen Wegen den Skelettmuskel stärkt. Es verändert den intrazellulären Kalziumspiegel indem es über Signaltransduktion zu einem raschen Kalziumeinstrom vom sarkoplasmatischen Retikulum in das Zytosol führt.(62) Zudem erhöht es die Phosphataufnahme, welche die Bildung von energiereichen ATP und Proteinen fördert. (62)(63) Die Synthese von Aktin und TnC, welche wichtige Proteine für die Muskelkontraktion sind, wird ebenfalls durch eine Vitamin-D-Supplementation gesteigert.(63)(62)(2) Die durch Calcitriol gewonnene Muskelstärke und gesteigerte Kontraktilität wirkt sich nun positiv auf die Knochendichte und Knochenstruktur aus.

Bischoff- Ferrari et al.(65) beschäftigten sich in einer Metaanalyse von mehreren RCTs mit der Frage, wie effektiv sich eine Vitamin-D-Supplementierung auf die Prävention von Sturzgeschehen älterer PatientInnen auswirkt. Die Analyse ergab,

dass bei einer Vitamin-D- Supplementation Stürze im Vergleich zu Kontrollgruppen statistisch signifikant um 22% reduziert werden können.(65)

Eine weitere Studie von Broe et al.(66) untersuchte die Effektivität verschiedener Dosierungen der Vitamin-D-Supplementierung auf das Sturzrisiko von PflegeheimbewohnerInnen. Über einen Zeitraum von fünf Monaten wurden 124 HeimbewohnerInnen mit einem Durchschnittsalter von 89 Jahren täglich entweder 200 IU, 400 IU, 600 IU, 800 IU eines Vitamin-D-Supplements oder ein Placebo verabreicht. Die Studiengruppe mit der höchsten Dosierung an Vitamin D (800 IU) konnte gegenüber den Vergleichsgruppen ihr Sturzrisiko um 72% reduzieren.(2)(66) Eine weitere Metaanalyse von Bischoff- Ferrari et al. 2005(67) untersuchte die Effektivität einer Vitamin-D-Substitution auf die Prävention von Hüft- oder nicht-vertebralen Frakturen von PatientInnen über 60 Jahren. Es wurden fünf RCTs einbezogen, welche das Risiko für Hüftfrakturen und sieben RCTs, welche das Risiko für nicht- vertebrale Frakturen untersuchten. Die Studiengruppen wurden je nach Dosierung der Vitamin-D-Supplementation in eine high-dose Gruppe mit 700-800 IU/d und eine low-dose Gruppe mit 400IU/d oder weniger getrennt. In der Metaanalyse konnte gezeigt werden, dass PatientInnen mit einer high-dose Supplementierung ein um 26% geringeres Risiko an Hüftfrakturen und ein um 23% reduziertes Risiko an nicht-vertebralen Frakturen gegenüber den Vergleichsgruppen haben. Eine Dosis von 400 IU/d an Vitamin D konnte keine Prävention für diese Frakturen bieten.(67)

1.2.3. Regulation des Vitamin- D- Haushalts

Die Regulation von Calcitriol wird über zwei entscheidende Enzyme des Vitamin-D- Metabolismus bewerkstelligt, nämlich die 1 α -Hydroxylase und die 24-Hydroxylase.(68) Die beiden Enzyme werden vor allem über PTH, Serumkalzium- und phosphat, Calcitriol selbst und auch FGF-23 aktiviert oder inhibiert.(31)(37)

Die 1 α -Hydroxylase wird in erster Linie über drei Hormone reguliert: PTH, FGF-23 und Calcitriol selbst. Bei einer Hypokalzämie wird vermehrt PTH aus der Nebenschilddrüse freigesetzt, welches direkt an der proximalen Tubuluszelle wirkt und über eine vermehrte Bildung der 1 α -Hydroxylase die Calcitriolsynthese steigert. Umgekehrt führt ein Absinken von PTH zu einer Erhöhung der 24-

Hydroxylase und verminderten Synthese der 1α -Hydroxylase.(31)(37) Ein erhöhtes Serumphosphat unterdrückt die Calcitriolsynthese über eine Stimulation von FGF-23, welcher die Produktion von Calcitriol über eine Inhibierung der 1α -Hydroxylase hemmt.(37)(69)

Die 24-Hydroxylase wird primär über die Calcitriolkonzentration reguliert. Ein erhöhter Calcitriolspiegel induziert eine vermehrte Produktion des Enzyms. Die sonstige Regulation verhält sich reziprok zur 1α -Hydroxylase. Während FGF-23 zu einer Erhöhung der 24-Hydroxylase führt, vermindert ein ansteigendes PTH seine Exprimierung.(31)

Von einer PTH- unabhängigen Steuerung der Vitamin- D- Synthese durch Kalzium wurde bereits 1998 durch Rosemarie Bland (70) berichtet. In ihrer Arbeit konnte sie zeigen, dass das Serumkalzium auch alleine zu einer Aktivierung der 1α -Hydroxylase in den proximalen Tubuluszellen der Niere führt.(70)

Des Weiteren hat auch Calcitriol durch seinen eigenen, negativen Feedbackmechanismus die Fähigkeit seine Produktion selbst zu regulieren. In Zellkulturen konnte durch das Hinzufügen des aktiven Vitamin D die Autoregulation der Hydroxylasen gezeigt werden.(37)

Ein weiterer regulierender Faktor im Vitamin-D-Metabolismus ist die Azidose. Eine Azidose führt einerseits zu einer verminderten Wirkung von PTH am proximalen Tubulus, wo die 1α -Hydroxylase synthetisiert wird. Andererseits führt der niedrige pH-Wert des Bluts zu einer Erhöhung des ionisierten Serumkalziums. Diese beiden Faktoren werden als Ursache für den verringerten Calcitriolspiegel in der Azidose gesehen.(37)

1.2.4 Vitamin-D-Mangel und Supplementierung

Bis zum Jahr 1998 wurde ein Vitamin- D- Mangel als eine 25(OH)D- Serumkonzentration unter <10 ng/mL definiert. Diese Definition beruhte vor allem auf Berichten, welche den Zusammenhang zwischen der 25-(OH)D-Konzentration im Blut und dem Auftreten von Rachitis beschrieben haben.(71) Damals war auch schon die inverse Beziehung zwischen dem PTH- Serumspiegel und der 25-(OH)D- Konzentration erforscht. Es war bekannt, dass ein Vitamin- D- Mangel zu

einem Anstieg von PTH im Serum (= sekundärer Hyperparathyreoidismus; sHPT) führt.(71) In zahlreichen Studien wurde belegt, dass sich der PTH- Serumspiegel bei einem Vitamin- D- Wert von >30ng/mL auf ein Minimumplateau einpendelt.(71)(72) Diese Korrelation zwischen PTH und Serumvitamin- D evaluierten Malabana et al.(73) in einem Experiment im Jahre 1998. Sie beobachteten, dass der PTH- Serumspiegel signifikant sinkt, wenn man gesunde Erwachsene mit einem 25(OH)-D- Serumspiegel zwischen 11 – 19 ng/mL mit Vitamin D₂ supplementiert. Die Senkung des PTH- Levels konnte nur für diesen 25(OH)D- Serumbereich erzielt werden, nicht aber für 25(OH)D- Werte von 20 - 25 ng/mL. Damit wurde die Grenze des Vitamin-D-Mangels auf einen Bereich < 20 ng/mL neu definiert.(71)(73)

Im Jahr 2011 publizierte das Institute of Medicine (IOM) (74) die Empfehlung einen Vitamin- D- Mangel ab einem 25(OH)D-Serumwert <12 ng/mL, eine Vitamin- D- Insuffizienz bei Werten zwischen 12 und <20 ng/mL festzusetzen und einen 25(OH)D- Wert von 20 ng/mL oder höher als Zielkonzentration für eine maximale muskuloskeletale Gesundheit anzustreben.(71)(74)

Stadium	25-Hydroxyvitamin D (nmol/l)	mögliche klinisch/biochemische Veränderungen
Defizit	<30	Rachitis, Osteomalazie, Kalziummalabsorption, ausgeprägter sekundärer Hyperparathyreoidismus, erniedrigte 1,25(OH) ₂ D-Spiegel, Störungen der Immun- und Herzfunktion, Tod
Insuffizienz	30 – 49,9	verminderter Knochenmineralgehalt, gestörte Muskelfunktion, erniedrigte Kalziumabsorptionsrate, erhöhte Parathormonspiegel, leicht verminderte 1,25(OH) ₂ D-Spiegel
adäquate Versorgung	50 – 125	keine Störungen von Vitamin-D-abhängigen Körperfunktionen
potenziell schädlich	>125 – 375	eventuell erhöhte Rate an kardiovaskulären Ereignissen, Frakturen und Todesfällen
Intoxikation	>375	intestinale Hyperabsorption von Kalzium, Hyperkalziämie, Hyperkalziurie, Weichteilverkalkungen, Tod

Tabelle 1: Stadien der Vitamin-D-Versorgung in Bezug auf die 25(OH)D- Konzentration im Blut aus Zittermann (2017)(3)

Hält man sich nun an folgende Grenzen der IOM- Empfehlung so sind etwa 1 Milliarde Menschen weltweit von einem Vitamin- D- Defizit betroffen.(72) Dabei zählen vor allem Schwangere, Menschen mit dunklem Hautkolorit, Kinder und junge Erwachsene mit Übergewicht oder Personen, welche Sonnenexposition meiden, zu den gefährdeten Gruppen.(72)(71)

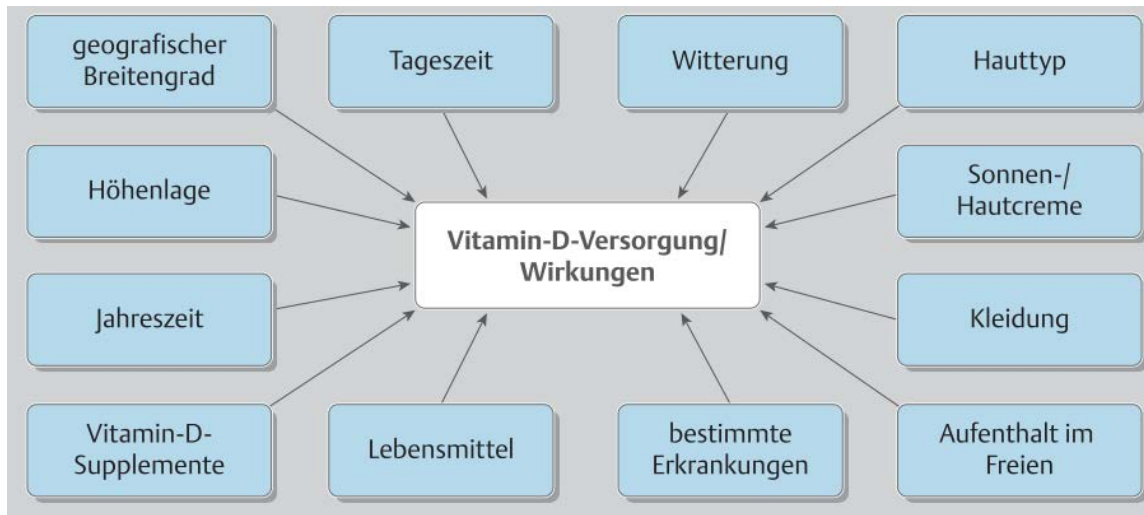


Abbildung 3: Einflussfaktoren auf eine ausreichende Vitamin- D- Versorgung aus Zittermann 2017(3)

Die Ursachen für den weltweiten Vitamin- D- Mangel sind vielfältig. Da die natürliche Sonnenexposition die größte Quelle für Vitamin D ist, zählt ihr Mangel auch als Hauptgrund für den Vitamin- D- Defizit. Zum einen ist die Sonneneinstrahlung über dem 37° Nord- und unter dem 37° Südbreitengrad während der Wintermonate zu gering. Zum anderen führen Faktoren wie eine dunkle Hautpigmentierung, Bekleidung oder die Verwendung von Sonnenschutzcremes dazu, dass die Vitamin- D- Synthese in der Haut stark beeinträchtigt wird.(2)(35)(32) Ein Vitamin-D-Mangel ist ebenfalls in >80% bei PatientInnen mit chronischer Niereninsuffizienz oder an der Dialyse zu beobachten.(75) Des Weiteren wurde ein inverser Zusammenhang zwischen BMI und Vitamin- D- Status entdeckt, wonach Übergewicht generell mit einem reduzierten 25(OH)D- Wert assoziiert ist. Zudem zählen PatientInnen mit bariatrischen Operationen oder Fettmalabsorptionssyndromen zur gefährdeten Gruppe. Bestimmte Medikamente, wie Antikonvulsiva oder eine antiretrovirale Therapie, können den Katabolismus von Vitamin D steigern. Außerdem ist auch

die ältere Bevölkerung besonders von einem Vitamin- D- Mangel gefährdet. Dies liegt daran, dass einerseits die Vitamin- D- Syntheseleistung der Haut im Alter abnimmt und nur mehr ein Viertel der Menge eines Adulten produziert wird. Andererseits liegt es daran, dass mit der Nahrung in der Regel nur relativ geringe Mengen an Vitamin D zugeführt und aufgenommen werden.(2)(72)(71)(76)

Ursache	Effekt
reduzierte Bioverfügbarkeit – Fettmalabsorption – Adipositas (BMI > 30 kg/m ²) – Untergewicht (BMI < 18 kg/m ²)	Vitamin-D-Malabsorption reduzierte Vitamin-D-Verfügbarkeit in den Zielzellen reduzierte Vitamin-D-Speicher (Fettgewebe, Muskulatur)
erhöhter Katabolismus – Alkohol, Medikamente (z. B. Glukokortikoide)	erhöhter Abbau von 25OHD und 1,25(OH) ₂ D
reduzierte 25OHD-Synthese – Leberinsuffizienz (mild bis moderat) – Leberinsuffizienz (> 90 %)	Vitamin-D-Malabsorption, 25OHD-Synthese möglich zusätzlich 2OHD-Synthese reduziert
erhöhte renale 25OHD-Verluste – nephrotisches Syndrom	25OHD-Verluste im Harn
verminderte 1,25(OH) ₂ D-Synthese – Hyperphosphatämie – chronische Niereninsuffizienz (Stadium 2 und 3) – chronische Niereninsuffizienz (Stadium 4 und 5)	verminderte 1α-Hydroxylaseaktivität moderat reduzierte 1α-Hydroxylaseaktivität stark reduzierte 1α-Hydroxylaseaktivität
angeborene Störungen – Vitamin-D-resistente Rachitis Typ I – Vitamin-D-resistente Rachitis Typ II – hypophosphatämische Rachitis	stark reduzierte 1α-Hydroxylaseaktivität stark erhöhte 1,25(OH) ₂ D-Spiegel aufgrund gestörter Vitamin-D-Rezeptor-Synthese moderat reduzierte 1α-Hydroxylaseaktivität
erworbene Erkrankungen – primärer Hyperparathyreoidismus – Granulomatosen (Sarkoidose, Tuberkulose, Lymphome) – Hyperthyreoidismus	reduzierte 25OHD-Spiegel bei moderat erhöhten 1,25(OH) ₂ D-Spiegeln reduzierte 25OHD-Spiegel bei erhöhten 1,25(OH) ₂ D-Spiegeln reduzierte 25OHD-Spiegel

!MI: Body-Mass-Index; 1,25(OH)₂D: 1,25-Dihydroxyvitamin D, 25OHD: 25-Hydroxyvitamin D

Tabelle 2: Ursachen bzw. Erkrankungen, die zu reduzierter Calcitriolwirkung bzw. Vitamin- D- Mangel führen aus Zittermann (2017)(3)

Aufgrund der im vorherigen Kapitel „Wirkung von Calcitriol“ geschilderten Funktionen und Wirkorten von Calcitriol im menschlichen Körper lässt sich dementsprechend auf die daraus resultierenden Mangelerscheinungen schließen. So führt ein ausgeprägter Calcitriolmangel beispielsweise bei Säuglingen und Kleinkindern zu Rachitis und beim Erwachsenen zur Osteomalazie.(71)(76)

Durch einen ausreichenden Vitamin- D- Spiegel kann das Frakturrisiko im Alter um etwa 20% und vermutlich auch das Mortalitätsrisiko um ca. 10% reduziert werden. Außerdem trägt eine adäquate Vitamin- D- Versorgung in der Allgemeinbevölkerung vermutlich zu einem verminderten Risiko von Atemwegsinfekten bei.(76) Reicht die endogene Produktion nicht aus, um den Vitamin- D- Bedarf zu decken, wird eine Supplementierung von den Fachgesellschaften bei Vitamin- D- Defizit/Mangel empfohlen.

Alter	D-A-CH ¹		EFSA		IOM ²		ES ³	
	Empfehlung	UL	Empfehlung	UL	Empfehlung	UL	Empfehlung	UL
0 – 6 Monate	10	25	10	25	10 – 25	25	10 – 25	25
6 – 12 Monate	10	25	10	38	10 – 25	25	10 – 25	25
1 – 3 Jahre	20	50	15	63	37,5 – 50	100	37,5 – 50	100
4 – 8 Jahre	20	50	15	75	37,5 – 50	100	37,5 – 50	100
9 – 10 Jahre	20	50	15	75	37,5 – 50	100	37,5 – 50	100
18 Jahre	20	100	15	100	37,5 – 50	100	37,5 – 50	100
19 – 70 Jahre	20	100	15	100	37,5 – 50	250	37,5 – 50	250
>70 Jahre	20	100	20	100	37,5 – 50	250	37,5 – 50	250
Schwangere								
<19 Jahre	20	100	15	100	15 – 25	100	15 – 25	100
≥19 Jahre	20	100	15	100	37,5 – 50	250	37,5 – 50	250
Stillende								
<19 Jahre	20	100	15	100	15 – 25	100	15 – 25	100
≥19 Jahre	20	100	15	100	37,5 – 50	250	37,5 – 50	250

Tabelle 3: Zufuhrempfehlung diverser Fachgesellschaften für Vitamin D in µg/Tag aus Zittermann (2017)(3); D-A-CH = Deutschland, Österreich, Schweiz; EFSA = European Food Safety Authority, ES = Endocrine Society, IOM = Institute of Medicine, UL= Upper Tolerable Daily Intake Level

In Tabelle 4 sind die Zufuhrempfehlungen der deutschen und nordamerikanischen Ernährungsgesellschaft sowie die Empfehlung der Endocrine Society (ES) zu sehen. Die Empfehlung liegt bei den Ernährungsgesellschaften zwischen 15 und 20 µg/Tag und bei der ES bei 37,5 bis 50 µg/Tag (1µg Vitamin D entspricht 40 IU). Der Unterschied ist darin begründet, dass die ES die untere Grenze einer adäquaten Vitamin- D- Versorgung höher anlegt als die Ernährungsgesellschaften. Als sichere Tageshöchstdosis sehen die EFSA, als auch die IOM ein Dosis von 100 µg an. Im Gegensatz dazu sieht die ES eine Dosierung bis zu 250 µg /d als

sicher an. Eine explizite Empfehlung des eidgenössischen Bundesamts für Gesundheit sieht eine Supplementierung von 15µg/Tag für Schwangere, Stillende und Kinder unter 3 Jahren, sowie 10 µg/Tag für alle Säuglinge vor.(76) Besteht bei einem Patienten bzw. einer Patientin schon eine Vitamin- D- abhängige Erkrankung, wie Rachitis oder Osteomalazie, kann eine rasche Aufsättigung mit rezeptpflichtigen Vitamin- D- Präperaten erwogen werden. Bei PatientInnen mit einer chronischen Niereninsuffizienz im Stadium 4 oder 5 wird auch häufig aktives Vitamin D in einer Dosis von 0,25- 1,0 µg/Tag verabreicht.(76)

1.3 Fibroblast growth factor 23

1.3.1 Aufbau und Synthese

Die Fibroblast growth factors (kurz FGFs) sind eine Gruppe von Signalproteinen, welche ein breites Spektrum an biologischen Funktionen, wie Zellproliferation, Zellwachstum und Differenzierung erfüllen.(77) Die FGFs sind Polypeptide, welche eine gemeinsame, homologe Kernregion von etwa 120 Aminosäuren, jedoch verschiedene N- und C-Endketten besitzen. Bisher wurden sieben Subgruppen der humanen FGFs entdeckt.(11)

Der zuletzt entdeckte Faktor ist der FGF-23 und gehört der Subgruppe FGF-19 an.(11) Das Besondere an FGF-23 ist, dass er aus dem Knochen ausgeschüttet wird, seine Wirkung an der Niere entfaltet und somit systemisch im Körper eingreift. Im Gegensatz dazu reguliert der Rest der FGFs nur lokal verschiedene Zellfunktionen.(78) Erstmals wurde über FGF-23 im Jahr 2000 von Yamashita et al. (79) berichtet. Sie konnten den Faktor im Nucleus ventralis anterolateralis des Thalamus von Mäusen nachweisen. Das Glykoprotein ist 32 kDa schwer und besteht insgesamt aus 251 Aminosäureresten.(79)(80) Der dafür codierende Genlocus beim Menschen befindet sich am Chromosom 19. FGF-23 besteht aus einer hydrophoben 24-Aminosäuresignalsequenz, einer 154 N-terminalen Sequenz, welche auch die FGF-Kernregion beinhaltet und einer 73 C-terminalen Domäne. (80)

Produziert wird FGF-23 hauptsächlich im Knochen und zwar in den Osteoblasten und Osteozyten. In geringeren Konzentrationen wird er auch in anderen Geweben exprimiert, unter anderem im Hypothalamus, in der Nebenschilddrüse, dem Skelettmuskel, der Leber und dem Herz.(77)(80)

Im Blut zirkulieren zwei verschiedene Formen von FGF-23: eine reife, intakte, biologisch aktive und eine verkürzte, biologisch inaktive Form. Der biologisch inaktiven Form fehlt das C-terminale Ende, welches für die Interaktion mit dem FGF-23 Co-Faktor α -Klotho verantwortlich ist.(80) Unter physiologischen Bedingungen ist das inaktive FGF-23 die Hauptzirkulationsform im Blut mit einer Halbwertszeit von etwa 58 Minuten.(77)

1.3.2 Wirkungsweise und Wirkmechanismus

Im Jahr 2000 kam man neben der Entdeckung von FGF-23 auch seiner Wirkungsweise auf die Spur. In der Zeitschrift *Nature genetics* wurde publiziert, dass die autosomal-dominante hypophosphatämische Rachitis mit einer gain-of-function Mutation von FGF-23 assoziiert ist.(81)(6) Kurze Zeit später (2004) erschienen Arbeiten, die zeigten, dass es sich bei FGF-23 um ein Hormon handelt, welches eine renale Phosphatausscheidung bewirkt.(82)(83)(84) In einer dieser Arbeiten konnte bei FGF-23-Knock-out-Mäusen ein erhöhtes Serumphosphat und eine vermehrte renale Phosphatresorption beobachtet werden. Außerdem zeigten die FGF 23 $-/-$ Mäuse einen erhöhten Calcitriol-Serumspiegel und eine vermehrte renale Expression der 1α -Hydroxylase.(82) In einer weiteren Studie wurde Mäusen FGF-23 in vivo injiziert.(83) Es zeigte sich, dass das injizierte FGF-23 eine Reduktion des Phosphatserumspiegels und auch des Calcitriolspiegels verursacht. Der sinkende Phosphat Spiegel wurde dabei neun Stunden nach der Injektion beobachtet. Ein Rückgang des Calcitriolspiegels konnte bereits nach drei Stunden festgestellt werden. Zudem wurde eine Reduzierung der NPT2a- und NPT2c-Transporter im proximalen Tubulus der Niere festgestellt. All diese Beobachtungen fanden ohne eine Erhöhung von PTH statt.(83) Auch bei Mäusen mit PTX führte FGF-23 alleine zu einer Phosphatsenkung. Begleitend kam es in der Niere durch FGF-23 zu einer verminderten Produktion von renaler mRNA für die 1α -Hydroxylase und daraus resultierend zu einem sinkenden Calcitriolspiegel. (83) Durch ein Experiment mit VDR- Knock-out-Mäusen konnte bewiesen werden, dass FGF-23 VDR-unabhängig wirkt.(84) Daraus ließ sich ableiten, dass es sich bei FGF-23 um einen alleinigen, potenten Regulator des Phosphat- und Vitamin-D-Haushaltes handelt.

Um nun als Hormon an seinen Zielzellen wirken zu können benötigt FGF-23 einen Rezeptorkomplex. Dieser besteht aus dem FGF-Rezeptor (FGFR) und aus dem Co-Faktor α -Klotho.(6) Die FGF-Peptide sind Liganden der FGFR. Grundsätzlich gibt es vier Hauptgruppen dieser Rezeptoren (FGFR 1- FGFR 4). Aufgrund von Variationen in den immunoglobulin-like loops entstehen verschiedene Subtypen dieser FGFRs.(78)(85) Bei den FGFRs handelt es sich um

Tyrosinkinaserzeptoren, welche durch Aktivierung mittels Liganden zu einer Phosphorylierung von intrazellulären Molekülen führen.(78) Ein Rezeptor besteht aus einer intrazellulären Domäne mit Tyrosinkinaseaktivität, einem single-pass Transmembranprotein und einer extrazellulären Bindungsstelle.(85)(11) Gattenini et al.(86) zeigten in ihrer Studie 2008 mit Rezeptor-Knock-out-Mäusen, dass FGF-23 primär über den FGFR 1 die NPT2a- und NpT2c-Proteine im proximalen Tubulus und den Calcitriolspiegel reduziert. Ihre Studie konnte mRNA von FGFR 1, -3 und -4 im proximalen Tubulus nachweisen, jedoch nicht von FGFR4. Neben dem Rezeptor braucht FGF-23 für seine Wirkung ebenfalls das Protein α -Klotho als Co-Rezeptor. α -Klotho stabilisiert die Bindung zwischen FGF und FGFR, indem es mit beiden interagiert.(78)(87) Bei α -Klotho handelt es sich um ein single-pass Transmembranprotein, dessen Oberflächenstruktur ähnlich der von β -Glukosidasen ist. Mit seiner Oberfläche interagiert α -Klotho mit FGF und FGFR und formt mit beiden einen tertiären Komplex.(78)(87) 2006 veröffentlichten Kurosu et al.(87), dass der FGFR-Klotho-Komplex mit höherer Affinität an FGF-23 bindet, als eine der Komponenten allein. Außerdem konnten sie zeigen, dass Klotho die Fähigkeit von FGF-23 steigert eine Phosphorylierung der Substrate am FGFR zu induzieren. Exprimiert wird α -Klotho in allen target-cells von FGF23, wie dem proximalen Tubulus der Niere, der Nebenschilddrüse oder der Glandula pituitaria.(78) Interessanterweise konnte bei Knock-out-Mäusen ohne FGF-23 dennoch eine Phosphaturie festgestellt werden. Dies legte den Verdacht einer direkten, unabhängigen Wirkung des Co-Faktors α -Klotho nahe. In einer 2010 erschienen Studie von Hu et al.(88) konnte bewiesen werden, dass α -Klotho allein ebenfalls einen phosphaturischen Effekt besitzt. α -Klotho wirkt am proximalen Tubuluslumen als Enzym, wo es die Transportfunktion von NPT2a downreguliert. (88)

1.3.3 Die „FGF-23 – PTH – Vitamin D- Achse“

Mit der Entdeckung von FGF-23 und dessen Funktionen wurde das Verständnis für die Regulation des Phosphat- und Vitamin-D-Haushalts erneuert. Die Konstanzhaltung des Mineralhaushalts erfolgt über die Interaktion von FGF-23, Vitamin D und PTH in der „FGF-23- PTH-Vitamin D-Achse“.(4)

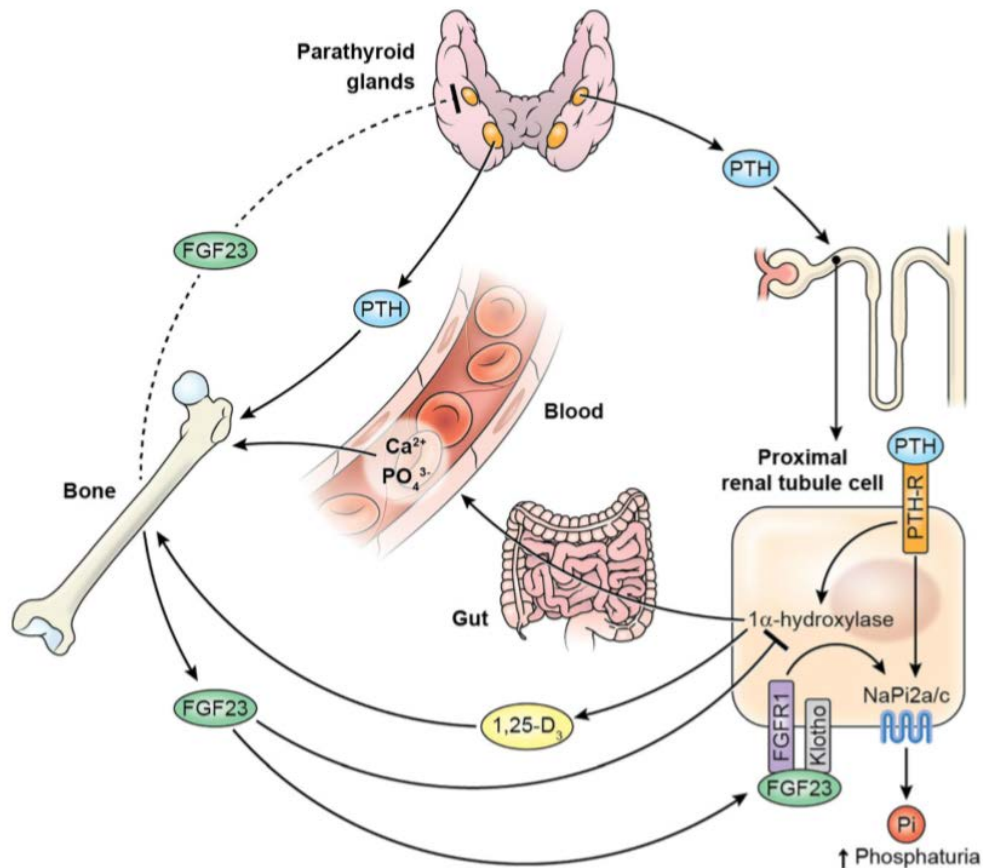


Abbildung 4: „PTH- FGF-23- Vitamin D- Achse“ aus Blau et al. (2015)(4)

PTH und FGF23

Die Beziehung zwischen PTH und FGF-23 ist äußerst komplex. Da PTH lange Zeit als alleiniger Hauptregulator des Phosphathaushalts betrachtet wurde, vermutete man einen negativen Feedbackmechanismus vom neu entdeckten FGF-23. In der Studie von Ben-Dov et al.(89) konnten in der Parathyreoidea von Ratten α - Klotho und zwei der FGFRs nachgewiesen werden. Krajnsnik et al.(90) behandelten bovine Parathyreoideazellen mit FGF-23 und konnten daraus resultierend eine Senkung der PTH-mRNA nachweisen. Beide Studien lassen auf eine direkte Downregulation von PTH durch FGF-23 schließen. Jedoch finden sich in der Klinik Beispiele, welche diese Aussage entkräften. Brownstein et al.(91) untersuchten FGF-23, Phosphat und PTH bei einer de novo Translationsmutation, welche zu einer gesteigerten α - Klothoexpression führt. Neben einer Hypophosphatämie und

erhöhten FGF-23-Werten konnten sie ebenfalls einen Hyperparathyreoidismus feststellen. Ebenfalls können bei Erkrankungen mit hohen FGF23-Spiegel, wie beispielsweise der tumorinduzierten Osteomalazie (TIO) oder einer x-linked Hypophosphatämia (XLH), keine Inhibierung der PTH-Synthese festgestellt werden.(92)(4)

Auch wenn man den Einfluss von PTH auf den FGF-23-Spiegel betrachtet, gibt es widersprüchliche Daten. Einerseits berichten Gutierrez et al.(93) über eine akute Senkung des FGF-23-Serumspiegels bei einer PTH-Infusion innerhalb von sechs Stunden bei 26 freiwilligen Erwachsenen. Andererseits publizierten Burnett-Bowie et al.(94), dass bei einer PTH-Infusion bei 20 gesunden Männern eine Steigerung des FGF-23 und Calcitriolspiegels innerhalb von 18 Stunden aufgetreten ist. Auch bei PatientInnen mit primären Hyperparathyreoidismus (pHPT) konnte man keine eindeutige Antwort auf diese Frage finden. Trebben et al.(95) untersuchten 13 PatientInnen mit pHPT vor und nach einer PTX. Die FGF-23-Serumwerte waren sowohl im PatientInnenkollektiv, als auch in der Kontrollgruppe im Normbereich.(95) Yamashita et al.(96) schlossen in ihre Studie 89 PatientInnen mit pHPT vor einer PTX ein und fanden signifikant höhere FGF-23-Werte als in der gesunden Kontrollgruppe.(96) Diese Unschlüssigkeiten lassen entweder auf eine wesentliche Rolle von Kalzium, Calcitriol oder einen noch unbekanntem Mechanismus bei der PTH- FGF23- Regulation schließen.(4)

FGF 23 – Vitamin D

Im Kapitel „Wirkungsweise und Wirkmechanismus“ wurde bereits erwähnt, dass FGF-23 den Calcitriolspiegel über eine Downregulation der 1α -Hydroxylase senkt. (83)(84) Keine klare Aussage konnte bisher bei Betrachtung der umgekehrten Beeinflussung von Calcitriol auf den FGF-23-Haushalt getroffen werden. Es wird vermutet, dass Calcitriol FGF-23 über den VDR reguliert.(4)

Im Tiermodell zeigte sich, dass durch Calcitriol ein Anstieg von FGF-23 bewirkt wird. Saito et al.(97) konnten bei para- und thyreoidektomierten Mäusen und einer dosisabhängigen Verabreichung von Calcitriol steigende FGF-23-Werte beobachten. In VDR-Nullmäusen stellten sie nur niedrige FGF-23-Werte fest,

welche auf eine Calcitriolgabe nicht anstiegen.(97) Im Gegensatz dazu konnte bei Studien am Menschen noch keine eindeutigen Ergebnisse erzielt werden.

Nygaard et al.(18) publizierten 2014 eine randomisierte, doppelblinde Studie, in der sie 40 ProbandInnen mit Vitamin-D-Mangel oral 3000 IU Vitamin D pro Tag über vier Monate verabreichten. Sie beobachteten einen Anstieg von FGF-23 sowohl in der Interventions- als auch der Kontrollgruppe.(18) Auch Turner et al.(17) untersuchten bei 45 ProbandInnen mit Vitamin-D-Mangel und Osteoporose, wie sich eine high-dose Vitamin-D-Supplementation von 300 000 IU auf FGF-23 auswirkt. Sie stellten fest, dass es einen signifikanten Anstieg von FGF-23-Werten gab.(17)

In einer weiteren Studie wurde der kurzzeitige Effekt von Vitamin D und Sevelamer auf FGF-23 getestet. Bei 15 gesunden ProbandInnen wurde zuerst Vitamin-D supplementiert und im Anschluss eine Kombination aus Vitamin D und Sevelamer verabreicht. Eine Erhöhung von FGF-23 konnte nur bei der Supplementation mit Vitamin D, nicht aber bei der Kombination mit Vitamin D und Sevelamer beobachtet werden. (16)

Burnett- Bowie et al.(15) konnten in ihrer Studie bei ProbandInnen mit Vitamin-D-Serumspiegel $<20\text{ng/mL}$ durch eine Supplementation von 50 000 IU/ Woche ebenfalls eine Erhöhung von FGF-23 im Vergleich zur Placebogruppe feststellen.

Im Gegensatz dazu konnte in einer Studie bei übergewichtigen AfroamerikanerInnen (n=70) mit 25(OH)D-Spiegel $<20\text{ ng/mL}$ keine dosis- oder zeitabhängige Veränderung des FGF-23-Spiegels beobachtet werden. (19)

Alshayeb et al.(98) untersuchten den Zusammenhang von Vitamin D und FGF-23 bei PatientInnen mit Vitamin-D-Mangel und CKD. Sie verabreichten in ihrer Studie 10 000 IU Vitamin D pro Woche an 25 StudienteilnehmerInnen mit Vitamin-D-Mangel und einer eGFR $>60\text{ ml/min/1,73m}^2$, 27 CKD-PatientInnen (eGFR $<60\text{ml/min/1,73m}^2$) und 14 PatientInnen mit ESRD. Sie stellten nur eine positive Korrelation von Vitamin D und FGF-23 bei „gesunden“ PatientInnen (Vitamin D Mangel und GFR $>60\text{ ml/min/1,73m}$) fest, jedoch keine Korrelation bei CKD- oder ESRD- PatientInnen.

FGF- 23 und Phosphat

FGF-23 wird auch über das mit der Nahrung aufgenommene Phosphat selbst reguliert. Dieser Umstand ist bereits durch mehrere Studien belegt worden. (99)(100)(101)(102) Ferrari et al.(99) untersuchten den FGF-23 Spiegel bei 29 gesunden Männern. Die Probanden erhielten fünf Tage lang eine phosphatarme Diät mit Phosphatbindern und anschließend eine phosphatreiche Nahrung. Antoniucci et al. (100) kontrollierten bei 13 gesunden Männern den FGF-23-Serumspiegel während einer vierwöchigen, konstant bemessenen Phosphatdiät. Auch Burnett et al.(101) beobachteten bei 66 gesunden Männern und Frauen den FGF-23-Serumwert, bezogen auf ihre Phosphataufnahme. Die ProbandInnen wurden in zwei Gruppen aufgeteilt, wobei eine Gruppe phosphatreiche und die andere phosphatarme Nahrung erhielt. Alle drei Arbeitsgruppen erhielten die gleichen Ergebnisse. Bei einer erhöhten Phosphataufnahme durch die Nahrung steigt auch die Konzentration von FGF-23 im Blut. Rückschließend beobachteten sie auch niedrige FGF-23-Spiegel bei geringer Phosphataufnahme. Jedoch ist der Effekt des Phosphats bezogen auf die FGF-23- Konzentration langsamer, als sein Effekt auf PTH.(4)

1.3.4 FGF-23 bei CKD und als kardiovaskulärer Risikofaktor

Hauptfunktion von FGF-23 ist es, Phosphat über die Niere auszuscheiden und somit den Phosphatserumspiegel konstant zu halten. Nun kommt es bei der CKD zu einem Verlust der glomerulären Filtrationsrate und zur Kumulation von Phosphat im Blut. Wie im entsprechenden Unterkapitel „Phosphat bei CKD und als kardiovaskulärer Risikofaktor“ besprochen wird, steigt der Phosphatspiegel dabei erst relativ spät ab Stadium 4 der CKD an. Erhöhte PTH-Werte treten aber schon ab einer eGFR $<60 \text{ ml/min/1,73m}^2$ (entspricht Stadium 3 der CKD) auf, während man Veränderungen des Vitamin D-, Kalzium- oder Phosphatspiegels erst bei einer weiter eingeschränkteren Nierenfunktion beobachtet.(103) In der „heart- and -soul-study“ von Ix et al.(104) wurde der Zusammenhang von FGF-23-Plasmaspiegel, eGFR und albumin-to-creatinin-ratio bei 792 PatientInnen mit kardiovaskulären Erkrankungen und normaler bis leicht eingeschränkter

Nierenfunktion untersucht. Dabei konnten sie feststellen, dass die PatientInnen mit einer eGFR zwischen 60-90 ml/min/1,73m² signifikant höhere FGF-23-Werte hatten als jene PatientInnen mit einer eGFR >90 ml/min/1,73m². Eine weitere Verschlechterung der Nierenfunktion war mit einem weiteren Ansteigen der FGF-23-Konzentration verbunden.(104) Die FGF-23-Serumspiegel können bei PatientInnen mit ESRD auf das 1000-fache der Norm ansteigen.(105)

Im Jahr 2011 publizierten Isakova et al.(106) eine Studie, in der sie FGF-23-Baselinesamples von CKD-PatientInnen untersuchten. In die Studie wurden 3879 PatientInnen eingeschlossen, welche eine mittlere eGFR von 42,8+/-13,5 ml/min/1,73m² aufwiesen. Während PTH und Serumphosphat sich im Normbereich befanden, waren die FGF-23-Spiegel im Vergleich zur gesunden Vergleichsgruppe markant erhöht und stiegen auch signifikant mit sinkender eGFR an.(106)

Damit liegt der Verdacht nahe, dass es sich bei FGF-23 um einen frühen, sensitiven Biomarker handelt, der bereits in den ersten Stadien der CKD auf eine Phosphathaushaltsstörung hinweist, während der Serumphosphatspiegel noch im Normbereich liegt.(11)(106) Bisher konnte noch nicht geklärt werden, warum genau es zu diesem frühen Anstieg von FGF-23 kommt. Eine mögliche Erklärung für die steigenden Serumwerte ist die reduzierte, renale FGF-23-Ausscheidung durch die CKD, wobei kein Anstieg von FGF-23-Metaboliten gefunden wurde. Eine weitere Hypothese vermutet, dass ein noch unbekannter, renal gesteuerter Stimulus bei CKD ausgeschüttet wird und eine vermehrte FGF-23-Produktion im Knochen induziert.(11) In einer Studie untersuchten Koh et al.(107) die Nieren von zehn CKD-PatientInnen histologisch. Sie stellten fest, dass es sowohl zu einer verminderten mRNA- Expression, als auch Proteinproduktion von α - Klotho bei einer CKD kommt. Daher wäre es auch möglich, dass es zu einer Organresistenz gegenüber der Funktion von FGF-23 und seinem Co-Faktor α - Klotho kommt.

Die Überproduktion von FGF-23 und PTH bei chronischer Niereninsuffizienz ermöglicht es, den Phosphatserumspiegel über lange Zeit konstant zu halten. Auch wenn ein hoher FGF-23-Spiegel vor einer Hyperphosphatämie schützen soll, so kommt es dadurch trotzdem zu unerwünschten Nebenwirkungen, wie einem Vitamin-D-Mangel und einem sHPT.(11) Sowohl Vitamin-D-Mangel, als auch

sHPT sind mit einer erhöhten Mortalität bei PatientInnen mit CKD assoziiert.(5) Über die letzten Jahre gibt es immer mehr Hinweise darauf, dass FGF-23 vor allem in unphysiologisch hohen Konzentrationen, wie sie bei CKD auftreten, ein pleiotropes Hormon ist. Es beeinflusst nicht nur den Mineralhaushalt, sondern hat auch Auswirkungen auf das kardiovaskuläre System.(105) In zahlreichen Studien ist ein Zusammenhang zwischen erhöhten FGF-23-Serumspiegel und einem schlechteren Outcome, wie Progression zur ESRD, kardiovaskuläre Erkrankungen oder erhöhte Mortalität, bei PatientInnen mit CKD festgestellt worden.(108)

FGF-23 und Mortalität

Die Mehrheit der Studien belegt den direkten Zusammenhang zwischen erhöhten FGF-23-Werten und erhöhter Mortalität. Nur wenige Studien, wie von Olauson et al. (109), fanden diese Korrelation nicht. Gutierrez et al.(5) publizierten 2008 im NEJM eine prospektive Studie in der sie durch nested case-control-samples den Zusammenhang zwischen FGF-23-Werten und Mortalität bei 400 ESRD-PatientInnen untersuchten. Sie definiert als Studiengruppe 200 PatientInnen, welche im ersten Jahr an der Hämodialyse verstarben. Zum Vergleich wurde eine Kontrollgruppe von ebenfalls 200 HämodialysepatientInnen herangezogen, die das erste Jahr überlebten. Sie stellten fest, dass die FGF-23-Konzentrationen bei der verstorbenen Studienpopulation signifikant höher waren, als jene in der Kontrollgruppe. Durch Analysen zeigten sie, dass steigende FGF-23-Werte unabhängig mit einem steigenden Risiko für Mortalität bei HämodialysepatientInnen assoziiert sind.

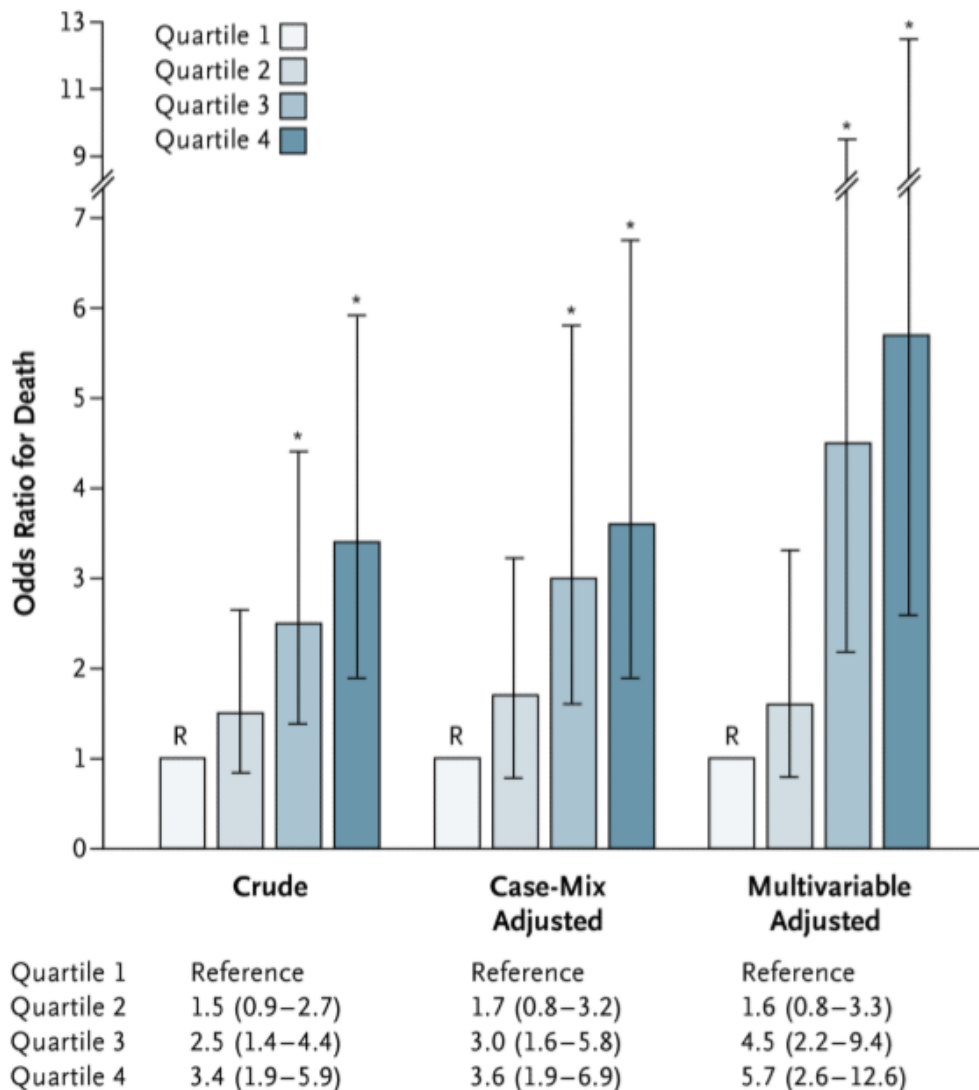


Abbildung 5: Odds ratio (Chancenverhältnis) der Mortalität bezogen auf cFGF-23- Quartile aus Gutierrez et al.(2015)(5); Reproduced with permission from (scientific reference citation), Copyright Massachusetts Medical Society.

Die Studie von Terrat et al.(110) beschäftigte sich ebenfalls mit dem Zusammenhang von FGF-23 und der 2-Jahresüberlebensrate bei ESRD-PatientInnen. Sie schlossen 219 PatientInnen an der Langzeitdialyse in die Studie ein. Festgestellt wurde dabei, dass PatientInnen mit hohem FGF-23-Serumspiegel eine erhöhte 2-Jahresmortalität aufweisen. Zudem wurde gezeigt, dass FGF-23-Werte auch bei inkonstanter Hyperphosphatämie hoch waren und sie bestätigten damit, dass FGF-23 unabhängig vom Phosphatserumspiegel mit einer erhöhter Mortalität assoziiert ist.(110)

In den oben genannten Studien wurde ein Zusammenhang zwischen steigenden FGF-23-Konzentrationen und erhöhter Mortalität nur bei ESRD-PatientInnen beobachtet. Isakova et al.(111) untersuchten FGF-23 als Risikofaktor bei CKD in einer groß angelegten, prospektiven Studie mit 3879 PatientInnen, welche sich alle zwischen den CKD-Stadien 2 bis 4 befanden. Sie zeigten, dass FGF-23 ein unabhängiger Risikofaktor für ESRD bei PatientInnen mit eingeschränkt erhaltener Nierenfunktion ist und zudem die Mortalität in allen CKD-Stadien erhöht.(111)

FGF-23 und Progression der CKD

Einige Studien haben FGF-23 als Risikofaktor für die Progression der CKD beschrieben. In der oben erwähnten Studie von Isakova et al.(111) hatten PatientInnen mit einer FGF-23- Serumerhöhung ein signifikant höheres Risiko einer ESRD. Kendrick et al.(112) beschäftigten sich 2011 in ihrer Studie mit den FGF-23-Serumkonzentrationen von 1099 PatientInnen, welche an der HOST-Studie teilgenommen hatten. Im Follow-up der Studie von etwa 3 Jahren mussten davon 615 (56%) der PatientInnen mit der Dialyse beginnen. Sie schlossen daraus, dass es eine starke und unabhängige Assoziation zwischen FGF-23 und dem Risiko einer ESRD gibt.(112)

FGF-23 als kardiovaskulärer Risikofaktor

Der deutliche Zusammenhang zwischen FGF-23 und kardiovaskulären Risikofaktoren bzw. Ereignissen wurde auch in vielen Studien beschrieben.(108) In der health professionals follow-up Studie untersuchten Gutierrez et al.(113) bei 1261 PatientInnen mit größtenteils erhaltener Nierenfunktion den FGF23-Plasmaspiegel in Bezug auf kardiovaskuläre Parameter. Sie konnten feststellen, dass PatientInnen mit Hypertonus, erhöhtem BMI, erhöhter Phosphataufnahme oder Raucher einen deutlich erhöhten FGF-23-Wert im Vergleich zu den anderen StudienteilnehmerInnen aufwiesen. In einer Subgruppe von 748 PatientInnen konnte auch eine unabhängige Assoziation zwischen erhöhten Entzündungsmarkern und hohen FGF-23-Werten gefunden werden. (113)

Table 1. Participant demographic, clinical, and laboratory characteristics according to quartile of fibroblast growth factor 23					
	FGF23 Q1 (<48 RU/ml)	FGF23 Q2 (48 to 58 RU/ml)	FGF23 Q3 (59 to 73 RU/ml)	FGF23 Q4 (>73 RU/ml)	P for Trend
<i>n</i>	315	315	316	315	
Age	63 ± 8	63 ± 9	64 ± 9	66 ± 8	<0.01
Body mass index (kg/m ²)	25 ± 3	25 ± 3	26 ± 3	26 ± 4	0.01
eGFR (ml/min per 1.73 m ²)	91 ± 20	88 ± 20	84 ± 16	81 ± 20	<0.01
Smoking (%)					0.07
never	44	41	41	36	
past	46	46	47	45	
current	4	9	7	15	
other/unknown	6	4	5	4	
Comorbidities (%)					
hypertension	27	24	34	44	<0.01
diabetes	5	6	4	7	0.31
hyperlipidemia	39	45	46	48	0.14
nephrolithiasis	11	12	11	9	0.78
gout	7	7	11	13	0.06
Laboratory					
FGF23 (RU/ml)	40 ± 6	52 ± 3	64 ± 4	101 ± 33	<0.01
creatinine (mg/dl)	0.9 ± 0.2	1.0 ± 0.2	1.0 ± 0.2	1.0 ± 0.3	<0.01
phosphate (mg/dl)	2.8 ± 0.6	2.8 ± 0.6	2.9 ± 0.5	2.9 ± 0.5	<0.01
PTH (pg/ml)	37 ± 12	37 ± 12	38 ± 14	42 ± 17	<0.01
uric acid (mg/dl)	5.5 ± 1.2	5.7 ± 1.2	5.9 ± 1.1	6.3 ± 1.4	<0.01
25(OH)D (ng/dl)	23 ± 7	24 ± 8	25 ± 9	24 ± 8	0.79
total cholesterol (mg/dl)	205 ± 35	206 ± 36	206 ± 37	206 ± 39	0.71
HDL (mg/dl)	47 ± 11	46 ± 13	44 ± 12	42 ± 13	<0.01
LDL (mg/dl)	130 ± 30	131 ± 32	128 ± 33	128 ± 34	0.08
triglycerides (mg/dl)	134 ± 111	135 ± 81	160 ± 96	175 ± 115	<0.01

The results are presented as the means ± standard deviation or as frequencies. FGF23, fibroblast growth factor 23; eGFR, estimated GFR; PTH, parathyroid hormone; 25(OH)D, 25-hydroxyvitamin D; RU, relative units; Q, quartile.

Tabella 4: Zusammenhang zwischen FGF-23 und kardiovaskulären Risikofaktoren aus Gutierrez et al.(2011)(5)

Im Jahr 2010 erschien die "heart- and soul- study" (13) von Parker bei der die FGF-23- Spiegel bei 833 PatientInnen mit stabiler koronarer Herzkrankheit in Bezug auf kardiovaskuläre Ereignisse und Mortalität beobachtet wurden. Als kardiovaskuläres Event wurden in der Studie ein Myokardinfarkt, eine TIA, ein Schlaganfall oder Herzversagen definiert. Die TeilnehmerInnen der Studie hatten großteils eine gut erhaltene Nierenfunktion, nur 22% wiesen eine eGFR <60 ml/min/1,73m² auf. Bei der Analyse der Daten stellte man bei den TeilnehmerInnen mit erhöhtem FGF-23- Wert ein doppelt so hohes Risiko für kardiovaskuläre Ereignisse und Mortalität fest, als bei den PatientInnen der Vergleichsgruppe. Zudem zeigten die Daten, dass jede Verdoppelung des FGF-23- Plasmaspiegels mit einem 41% höheren Mortalitätsrisiko und einem 24% höheren Risiko für ein kardiovaskuläres Ereignis assoziiert ist. (13)

Auch Seiler et al.(12) konnten in ihrer Studie bei 149 nicht dialysepflichtigen CKD-PatientInnen einen unabhängigen Zusammenhang zwischen erhöhten FGF-23- Plasmawerten und dem erstmaligen Auftreten eines kardiovaskulären Events

feststellen. In dieser Studie wurden ein Myokardinfarkt, eine koronare Angioplastie, ein Stent, eine Bypassoperation, ein Schlaganfall oder auch eine Endarteriektomie der Karotiden als kardiovaskuläre Events gewertet.(12) In der Studie von Kendrick et al.(112) waren FGF-23- Erhöhungen mit artherosklerotischen Events, wie Myokardinfarkt oder Amputationen, jedoch nicht mit Schlaganfällen assoziiert.

Auch das Endothel und die Gefäßwände können laut Studien bei einer CKD und erhöhten FGF-23- Werten zu Schaden kommen. Beispielsweise konnten Yilmaz et al.(114) eine Korrelation zwischen einer FGF-23- Erhöhung und einer endothelialen Dysfunktion bei CKD- PatientInnen im Stadium 3-4 feststellen.

Neben der vaskulären Verkalkung ist FGF-23 auch häufig mit einer LVH assoziiert, welche wiederum zu Arrhythmien, Herzversagen und Mortalität bei CKD-PatientInnen führt.(108)(115) In zahlreichen Studien konnte eine unabhängige Korrelation zwischen LVH und erhöhten FGF-23 Werten gefunden werden. Canziani et al.(14) konnten mit ihrer Querschnittstudie von 96 PatientInnen im CKD- Stadium 2-4 einerseits beweisen, dass LVH mit einer hohen Prävalenz in nicht dialysepflichtigen CKD- PatientInnen auftritt. Zudem zeigten ihre Ergebnisse, dass PatientInnen mit LVH ebenfalls ein höheres Alter, eine höhere Prävalenz an Hypertonie und eine Assoziation mit erhöhten FGF-23-Werten aufweisen. Sowohl Mirza et al.(116) als auch Kirkpantur et al. (8) konnten in ihren Publikationen einen unabhängigen, direkten Zusammenhang zwischen erhöhten FGF-23-Plasmaspiegeln, LVH und erhöhten LVMI sowohl bei DialysepatientInnen(8), als auch bei der gesunden, älterer Bevölkerung(116) zeigen.

Parameter	Controls with preserved renal function	FGF-23 quartile 1 [§] (<454 RU/mL)	FGF-23 quartile 2 [§] (454–1023 RU/mL)	FGF-23 quartile 3 [§] (>1023 RU/mL)	P-value [*] (trend)
<i>n</i>	40	41	44	43	
Septal thickness (cm)	0.90 ± 0.12 ^a	1.34 ± 0.21 ^a	1.45 ± 0.18 ^a	1.59 ± 0.19 ^a	0.004
Posterior wall thickness (cm)	0.88 ± 0.10 ^a	1.11 ± 0.22 ^a	1.23 ± 0.17 ^a	1.36 ± 0.18 ^a	0.009
LVEDD (cm)	4.00 ± 0.62 ^a	4.17 ± 0.69 ^a	4.49 ± 0.72 ^a	4.81 ± 0.75 ^a	0.010
LVESD (cm)	3.05 ± 0.77	3.27 ± 0.99	3.35 ± 0.84	3.57 ± 0.72	0.230
EF (%)	68 ± 7.4	60.9 ± 9.17	62 ± 11	62 ± 10.1	0.960
FS	31 ± 4.8	30.6 ± 6.7	31.4 ± 6.3	32.1 ± 6.1	0.680
LVMI (g/m ²)	49 ± 13 ^a	94 ± 15 ^a	103 ± 14 ^a	111 ± 18 ^a	0.040
LVH (%)	4 (10%) ^a	19 (46%) ^a	31 (70%) ^a	41 (95%) ^a	0.002
MPI	0.21 ± 0.05 ^a	0.30 ± 0.09 ^a	0.40 ± 0.10 ^a	0.53 ± 0.14 ^a	0.008

LVEDD, left ventricular end-diastolic diameter; LVESD, left ventricular end-systolic diameter; EF, ejection fraction; FS, fractional shortening; LVMI, left ventricular mass index; LVH, left ventricular hypertrophy; MPI, myocardial performance index.

Tabelle 5: Vergleich von Echokardiographieparameter zwischen verschiedenen FGF-23- Serumkonzentrationen und einer Vergleichsgruppe aus Kirkpuntur et al.(2011)(8);

Durch die oben genannten Studien wird belegt, dass eine FGF-23-Erhöhung mit kardiovaskulären Veränderungen, wie vaskulärer Kalzifizierung, LVH, endothelialer Dysfunktion und erhöhten Entzündungsmarkern assoziiert ist. Derzeit ist noch nicht bekannt, ob es sich bei erhöhten FGF-23-Werten um die Ursache für die Veränderungen im kardiovaskulären System handelt oder ob FGF-23 lediglich nur als Marker für kardiovaskuläre Events fungiert.(117) Bisher gibt es lediglich Hypothesen, welche den Mechanismus zwischen kardiovaskulären Veränderungen und FGF-23 zu erklären versuchen. Eine davon ist, dass bei der CKD neben den erhöhten FGF-23- Werten auch andere metabolische Abnormalitäten auftreten, wie beispielsweise ein sHPT, Vitamin-D- Mangel oder Hyperphosphatämie, die alle mit einem erhöhten kardiovaskulären Risiko vergesellschaftet sind. Damit wäre FGF-23 nur ein Marker für die bei der CKD-MBD auftretenden Mechanismen und Komplikationen.(117) Eine andere Vermutung ist, dass es zu einem Funktionsverlust des Co-Faktors α -Klotho kommt. α - Klotho wirkt selbst als Hormon und ihm wird über eine Downregulation von TRP6-Kanälen im Herzen eine kardioprotektive Wirkung zugeschrieben.(118) FGF-23 hemmt die α -Klothoexpression in der Niere.(119) Nun kann es sein, dass es durch hohe FGF-23- Plasmaspiegel zu einer Hemmung der α -Klothosynthese kommt. Folge dieser Reduzierung an zirkulierendem α - Klotho könnte eine verminderte kardioprotektive Wirkung sein, welche zu LVH bei CKD und außerdem zum weiteren Ansteigen der FGF-23- Serumkonzentration führt.(117)

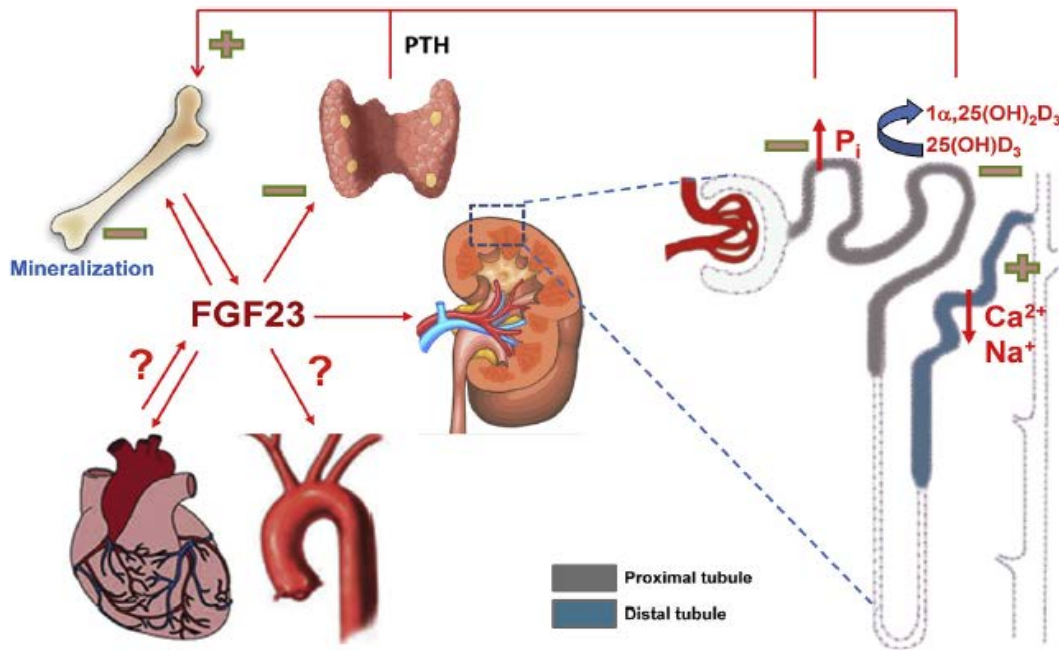


Abbildung 6: Einfluss von FGF-23 auf den menschlichen Körper aus Erben(2016)(6)

Bei den bisherigen Hypothesen fungiert FGF-23 als Marker, aber nicht als Ursache für die kardiovaskuläre Veränderung. Dai et al. publizierten 2012(119) eine Studie in der sie Gene aus Mäusenieren identifizierten und analysierten, die direkt von FGF-23 reguliert werden. Sie entdeckten unter anderem, dass FGF-23 die Expression von ACE-2 in der Niere hemmt und über diesen Mechanismus das RAAS stimuliert. Die Aktivierung des RAAS könnte eine mögliche Erklärung für den Zusammenhang zwischen FGF-23 und den Veränderungen, wie beispielsweise einer LVH, bieten. Außerdem konnten Dai et al.(119) eine vermehrte Produktion von Entzündungsmarkern, wie Lipocalin-2, TGF- β oder TNF- α durch FGF-23 feststellen. Dies würde die kausale Rolle von FGF-23 bei kardiovaskulären Veränderungen unterstreichen.(119)

1.4 Phosphat

1.4.1 Vorkommen, Absorption und Exkretion

Der Bestand an Phosphat im menschlichen Körper beläuft sich auf 700 g oder etwa 1% des Körpergewichts.(120)(10) Anteilsmäßig liegen 85% des Phosphats in Zähnen und Knochen vor, wo es als Hydroxyapatit gespeichert ist.(10)(7) Weitere 14% sind intrazellulär in Form von Nukleinsäuren, Phospholipiden, Proteinen, ADP und ATP zu finden. Nur etwa 1 % des gesamten Phosphats befindet sich im Extrazellulärraum.(10) Der Referenzbereich von Serumphosphat liegt zwischen 0,77 - 1,55 mmol/L, wobei dieser Bereich auch altersabhängig variiert. Säuglinge und Kleinkinder haben durch das Wachstum bedingt einen höheren Phosphatbedarf.(7)(10) Kleinkinder haben dabei um etwa 50% und Kinder um ca. 30% höhere Referenzwerte als Erwachsene.(9) Phosphat unterliegt einem zirkadianen Rhythmus mit einem Minimum vormittags und einem Maximum mitternachts.(9) Bei einer „normalen“ westlichen Ernährung werden etwa 1000 - 1600 mg Phosphat pro Tag durch die Nahrung zur Verfügung gestellt. Davon werden etwa 13 mg/kg KG/Tag im Darm absorbiert. Milch und Milchprodukte besitzen den größten Anteil an Phosphat. Weitere Nahrungsmittel mit einem hohem Phosphatgehalt sind Fisch, Fleisch, Eier oder auch Erdnüsse. (7)

Um den Phosphatbedarf des Körpers zu decken kann Phosphat nun entweder durch die Nahrung absorbiert oder über die Niere rückresorbiert werden. Die Phosphatabsorption erfolgt in den Epithelzellen des Dünndarms, hier vor allem im Duodenum und Jejunum und kann über zwei Wege, nämlich parazellulär oder transzellulär, bewerkstelligt werden.(121)

Zur parazellulären Aufnahme kommt es passiv über Diffusion, welche auch vom Phosphatangebot in der Nahrung abhängig ist. Transzellulär wird Phosphat mit Hilfe von Natrium- und Phosphat- Co- Transportern aufgenommen, welche zur Familie der SLC 34 gehören.(10) Zu den wichtigsten Co- Transportern dieser Gruppe zählen NPT2a, NPT2b und NPT2c. Im Darm wird NPT2b exprimiert, welcher in einem energieabhängigen Prozess Phosphat aus dem Lumen in die

Zelle aufnimmt.(10)(122) Gesteuert wird die Expression von NPT2b am luminalen Bürstensaum über Calcitriol.(10)

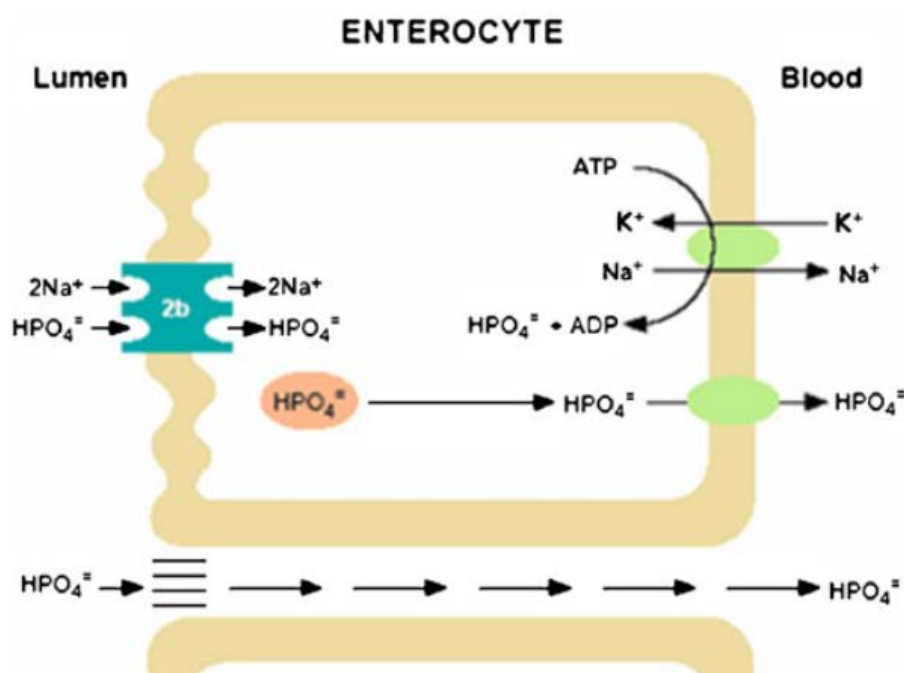


Abbildung 7: Phosphattransport im Intestinum aus Penido et al.(2012)(7)

Die Niere ist das wichtigste Organ in der Regulation der Phosphathomöostase sowohl bei der Phosphatabsorption als auch der Exkretion. Die Membranproteine NPT2a und NPT2c werden im proximalen Tubulus der Niere exprimiert. Über die beiden Transporter werden etwa 80% des filtrierte Phosphates aus dem Harn wieder rückresorbiert.(7) Dies ist ein unidirektionaler, aktiver, sättigungsfähiger und Na^+ -abhängiger Prozess. Dabei wird Phosphat über die Bürstensaummembran in die Zelle aufgenommen, durch die Zelle geschleust und an der basolateralen Membran wieder abgegeben.(10)(7) Abhängig ist dieser Prozess von der Anzahl der funktionierenden Transporter und der Größe des Na^+ Gradienten an der luminalen Membran. Gesteuert wird die renale Reabsorption bzw. die Expression von NPT2a und NPT2c unter anderem über PTH, Calcitriol, FGF-23 und das mit der Nahrung zugeführte Phosphat.(10)(123)

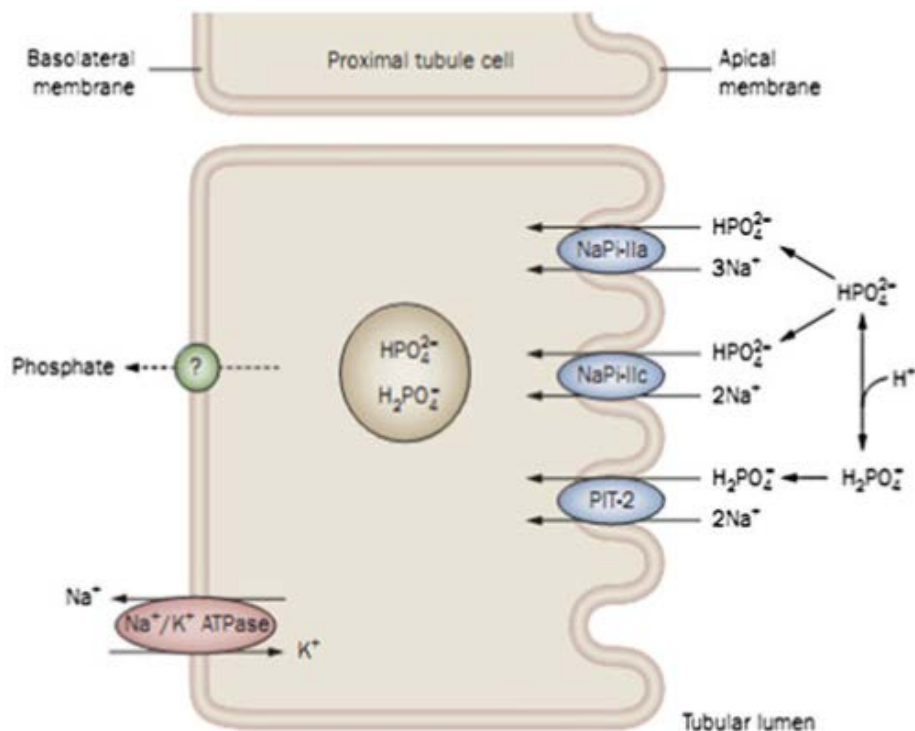


Abbildung 8: Transzellulärer Phosphattransport im proximalen Tubulus aus Penido et al.(2012)(7)

Um die renale Phosphatausscheidung am besten beurteilen zu können, ist das tubuläre Maximum der renalen Phosphatrückresorption der geeignete Messwert und ist ident mit der renalen Phosphatschwelle.(10) Die Berechnung des im Harn ausgeschiedenen Phosphats kann über folgende Formel erfolgen:

$$TRP(\%) = 100 - \left(\frac{\text{Harnphosphat} \times \text{Serumkreatinin}}{\text{Serumphosphat} \times \text{Harnkreatinin}} \right) \times 100$$

Es gibt jene Phosphatkonzentration im Glomerulumfiltrat an, welche vollständig rückresorbiert wird. Liegt diese Konzentration unter 0,8 mmol/L liegt ein renaler Phosphatverlust vor.(10)

In erster Linie ist Calcitriol dafür bekannt den Kalziumspiegel zu erhöhen. Calcitriol wirkt, wie im Unterkapitel „Wirkungsweise von Vitamin D“ beschrieben, über die Niere, den Knochen und den Darm. Da die Kalziumaufnahme und -ausscheidung eng mit der des Phosphathaushalts gekoppelt ist, kommt es durch Calcitriol auch zu einer Erhöhung des Phosphatspiegels. Im Dünndarm wird durch Calcitriol mehr Phosphat resorbiert, wobei der exakte Mechanismus dafür noch nicht vollständig geklärt ist.(10) Bekannt ist, dass es zu einer Up- Regulation der NPT2b Rezeptoren kommt. Vermutet wurde initial, dass dies über VDR geschieht. Dies konnte jedoch durch eine Studie mit VDR- knock out Mäusen widerlegt werden.(124)(125)

Im Knochen stimuliert Calcitriol über den VDR mit Hilfe des PTH sowohl Osteoklasten als auch Osteoblasten. Durch den Knochenabbau wird somit Kalzium und auch Phosphat freigesetzt. In der Niere erhöht Calcitriol ebenfalls in Kombination mit PTH die Expression von Transportproteinen und steigert somit die Resorption von Kalzium und Phosphat.(124) Während PTH eine vermehrte Expression der 1α - Hydroxylase und damit eine Erhöhung von Calcitriol bewirkt, senkt Calcitriol über einen negativen Feedbackmechanismus den PTH- Spiegel. Zudem wird vermutet, dass Calcitriol die Produktion von FGF-23 in den Osteoblasten steigert. Umgekehrt senkt FGF-23 jedoch die Calcitriolsynthese.(124)(126)

Parathormon

Die primäre Funktion des PTH liegt darin den Kalziumspiegel zu erhöhen. Damit ist die Hypokalziämie auch der Hauptstimulus um PTH aus der Parathyroidea auszuschütten.(7) Neben dem Serumkalzium wird PTH auch über das Serumphosphat, FGF-23 und Calcitriol beeinflusst.(90) Einerseits kommt es durch PTH zu einer erhöhten Calcitriolbildung und einer Serumphosphaterhöhung. Diese ist jedoch gering im Vergleich zum phosphaturischen Effekt von PTH. Dieser kommt durch eine Down- Regulation von NPT2a und NPT2c Co-Transportern im proximalen Tubulus zustande.(10) Sollte es dauerhaft zu erhöhten PTH-Werten kommen, so würde der Serumphosphatspiegel bei erhaltener Nierenfunktion unter den Normbereich sinken.(7) Neben der Stimulation von Calcitriol führt das PTH zu

einer vermehrten FGF-23-Ausschüttung, welche wiederum zu einer erhöhten Phosphatausscheidung führt.(10)(123)

Fibroblast growth factor 23

Als neuer Regulator des Phosphathaushalts wurde FGF-23 entdeckt. Gemeinsam mit seinem Co-Faktor α -Klotho bewirkt FGF-23 eine Senkung des Serumphosphats. Zu dieser Senkung kommt es unter anderem durch eine Reduktion der NPT2a- und NPT2c-Proteine im proximalen Tubulus der Niere. Dies führt zu einer verminderten Resorption des Phosphats und einer erhöhten Phosphaturie.(10)(7)(125) Sowohl FGF-23 als auch PTH führen jeweils renal zu einer Phosphaturie. Dabei ist die Wirkung von FGF-23 sowohl von PTH als auch von Calcitriol unabhängig.(7)(126) Die Wirkung von PTH setzt sofort ein, während der phosphaturische Effekt von FGF-23 erst nach ca. acht bis neun Stunden einsetzt.(7)(126) Des Weiteren wird FGF-23 auch eine intestinale Reduktion der Phosphatabsorption zugeschrieben. Bisher ist noch nicht geklärt, ob FGF-23 direkt zu einer verminderten Absorption führt oder ob es indirekt über eine Senkung des Calcitriols dazu kommt.(126)

Hauptstimulus für eine FGF-23- Ausschüttung ist der Serumphosphatspiegel und eine erhöhte Phosphatzufuhr über die Nahrung.(126) Neben der direkten Regulation der Phosphathomöostase beeinflusst FGF-23 auch PTH und Calcitriol. In Studien wurde gezeigt, dass eine Injektion von Vitamin D₃ eine vermehrte Expression von FGF-23 in Osteozyten bewirkt.(84) Umgekehrt reduziert FGF-23 die Serumkonzentration von Calcitriol über eine verminderte Expression der 1 α -Hydroxylase und einer gesteigerten Produktion der 24- Hydroxylase.(10) Es konnte auch gezeigt werden, dass ein erhöhter FGF-23 Spiegel zu einer Senkung des zirkulierenden PTH führt.(127) Ob diese Reduktion nun direkt oder indirekt durch FGF-23 verursacht wird, konnte von Krajisnik et al.(90) aufgeklärt werden. Im Jahr 2007 zeigten sie in einem Experiment mit bovinen Nebenschilddrüsenzellen, dass FGF-23 direkt die Produktion von PTH hemmt. Im Gegensatz dazu führt eine vermehrte PTH- Sekretion auch zu einer erhöhten FGF-23-Ausschüttung.(7)(90)

1.4.3 Störungen des Phosphathaushaltes

Hypophosphatämie

Störungen des Phosphathaushaltes nehmen im Bewusstsein der MedizinerInnen nur eine untergeordnete Rolle ein. Wobei etwa 3% aller hospitalisierten Patienten und sogar 28% der Patienten auf einer intensive care unit eine Hypophosphatämie aufweisen.(10)(128) Liu et al.(129) veröffentlichten 2018 eine Metaanalyse von ICU- PatientInnen die zeigte, dass es einen signifikanten Zusammenhang zwischen einer Hypophosphatämie und der Schwere der Erkrankung, längerer ICU- Aufenthaltsdauer, längerer Beatmungsdauer und erhöhter Mortalität gibt. (129)

Definiert wird eine Hypophosphatämie ab einem nüchtern gemessenen Serumphosphatgehalt von $<0,8$ mmol/L beim Erwachsenen. Die Einteilung erfolgt in

- eine leichte 0,5- 0,8 mmol/L
- einen mittlere 0,3- 0,5 mmol/L
- und eine schwere Hypophosphatämie unter $<0,3$ mmol/L.(9)

Klinische Symptome der Hypophosphatämie treten erst unter einem Serumwert $<0,64$ mmol/L auf, schwere Symptome erst ab einem Wert unter $<0,32$ mmol/L.(10) Zu Grunde liegt diesen Symptomen ein durch den Phosphatmangel entstehendes, generalisiertes, zelluläres Energiedefizit. Dieses kann einerseits durch eine verminderte Produktion von ATP intrazellulär entstehen oder durch einen Abfall des 2,3- Diphosphoglyzerat der Erythrozyten bedingt sein, welches die Affinität des Sauerstoffs zu Hämoglobin steigert und dessen Abgabe in das Gewebe mindert.(10)(130)(9) Die organspezifischen Ausfälle bei Hypophosphatämie sind in Tabelle 6 aufgeführt:

Niere	Ablagerung von Kalziumphosphat-kristallen, welche ins Interstitium wandern und in den Papillenspitzen Randall-Plaques bilden aus denen Nierensteine entstehen Schädigung des proximalen Tubulus, akute Tubulusnekrose, Nierenversagen
Gastrointestinal	Inappetenz, Übelkeit, Ileus
Knochen	Osteopenie, Osteomalazie
Muskulatur	Schwäche, Myopathie, Rhabdomyolyse, respiratorische Insuffizienz
Herz	Pumpversagen
Nervensystem	Polyneuropathie, Verwirrtheit, cerebrale Krämpfe, Koma

Table 6: Organspezifische Symptome einer Hypophosphatämie adaptiert nach Herold (2015)(9) und Lhotta (2014)(10)

Für die Entstehung einer Hypophosphatämie sind drei Hauptmechanismen beschrieben. Dazu zählen

1. eine verminderte gastrointestinale Absorption
2. ein erhöhter renaler Phosphatverlust
3. ein Shift vom Extra- in den Intrazellularraum.(10)(9)

Ursachen einer (1.) verminderten gastrointestinalen Phosphataufnahme sind unter anderem

- Mangelernährung
- chronische Diarrhoe
- Vitamin- D- Mangel
- die Einnahme von Phosphatbindern
- oder die Behandlung mit Al- oder Mg-haltigen Antazida.(10)(9)

Von einem (2.) renalen Phosphatverlust geht man ab einer TRP <85% aus.

Gründe dafür sind unter anderem

- pHPT oder sHPT
- Vitamin- D- Mangel
- Fanconi-Syndrom
- TIO
- Medikamente wie Glukokortikoide, Östrogene oder Diuretika
- eine „loss- of function“-Mutation der Transportproteine NTP2a und NTP2c.
(10)(9)(130)

Zu einem (3.) Shift von extra- zu intrazellulärem Phosphat kommt es durch eine Stimulation der intrazellulären Glykolyse. Durch eine Phosphorylierung von intrazellulär frei werdenden Glukosemolekülen steigt der Bedarf an Phosphat in der Zelle. Zu solch einer intrazellulären Glykolyse kann es durch

- eine respiratorische Alkalose
- Medikamente, wie Sympathomimetika, Insulin, Glukose- oder Fruktoseinfusionen
- oder schwere Infektionen kommen.(10)(9)

Bei der Therapie der Hypophosphatämie sollte vor allem das kausale Problem, beispielsweise ein pHPT, behoben werden. Als symptomatische Therapie genügt bei einem leichten bis moderaten Phosphatmangel eine orale Supplementation. Entweder in Form von phosphathaltigen Lebensmittel oder als Kalium-/Natriumphosphat oral in einer Tageshöchstdosis von 2,5 - 3,5 g/d.(10)(9) Eine parenterale Therapie sollte nur in sehr schweren Fällen der Hypophosphatämie und unter besonderer Vorsicht erfolgen. Empfohlen wird eine intravenöse Zufuhr von 0,08 - 0,24 mmol/kg über 6 Stunden oder 0,25 - 0,50 mmol/kg über 8 - 12 Stunden. Dabei sollte sowohl der Phosphat-, als auch Kalziumspiegel engmaschig kontrolliert werden, da das intravenös verabreichte Phosphat mit dem vorhandenen Kalzium komplexieren kann. Als Folge dessen können eine Hypokalzämie und Herzrhythmusstörungen auftreten. Wird ein konstanter Serumphosphatspiegel von 0,64mmol/L erreicht, kann zu einer oralen Supplementation gewechselt werden.(10)(9)

Hyperphosphatämie

Unter einer Hyperphosphatämie definiert man einen nüchtern gemessenen Phosphatserumspiegel über $>1,6$ mmol/L beim Erwachsenen.

Grundsätzlich können dafür vier Mechanismen ursächlich sein:

1. eine verminderte renale Exkretion oder erhöhte tubuläre Resorption
2. eine gesteigerte gastrointestinale Zufuhr
3. ein Shift vom intra- in den Extrazellulärraum
4. eine Mobilisierung aus dem Knochen.(10)(130)

Zur häufigsten Ursache der renalen Hyperphosphatämie (1.) zählt die CKD auf die im folgenden Unterkapitel „Phosphat bei chronischer Niereninsuffizienz (CKD) und als kardiovaskulärer Risikofaktor“ noch näher eingegangen wird. Außerdem können auch ein akutes Nierenversagen, Hypoparathyreoidismus, Vitamin-D-Intoxikation oder Störungen im FGF-23- Haushalt, beispielsweise bei einem Hyperostosis- Hyperphosphatemia Syndrom oder einer familiären tumoralen Kalzinose, zum Anstieg des Phosphats führen.(10)(130)

Ursachen einer (2.) gesteigerten intestinalen Absorption können die Verwendung von phosphathaltigen oralen Lösungen, phosphathaltige Einläufe oder eine Vitamin D- Intoxikation sein.

Zum Shift von intrazellulärem Phosphat nach außen (3.) kann es durch eine Azidose, einen Insulinmangel oder durch eine Zellschädigung, beispielsweise einer Rhabdomyolyse, einem Tumorlysesyndrom oder einer hämolytischer Anämie kommen.(10)(130)

Zudem kann eine Erhöhung des Serumspiegels durch eine Mobilisierung des Phosphats aus dem Knochen (4.) aufgrund von Tumoren, Immobilisierung oder eines Hyperparathyreoidismus erfolgen.(130)

Meist sind PatientInnen mit einer Hyperphosphatämie asymptomatisch. Symptome entstehen oft erst durch die daraus resultierende Hypokalzämie.(10)(9) Eine gefürchtete Komplikation der Hyperphosphatämie ist die Phosphatnephropathie. Dabei kommt es zur Ausfällung von Kalziumphosphat in den Nierentubuli und zum akuten Nierenversagen.(10)

Die Therapie erfolgt primär kausal. Symptomatisch kann eine verminderte Phosphatzufuhr angestrebt oder Phosphatbinder verabreicht werden. Bei einer lebensbedrohlichen, schweren Hyperphosphatämie ist eine Hämodialyse indiziert.
(10)(9)

1.4.4 Phosphat bei chronischer Niereninsuffizienz (CKD) und als kardiovaskulärer Risikofaktor

Definiert wird die CKD (chronic kidney disease) als irreversible, meist progrediente Einschränkung der Nierenfunktion unterschiedlicher Ätiologie bis hin zum dialysepflichtigen Terminalstadium. Diese Entwicklung wird begleitet von kompensatorischen Prozessen, welche ihre eigene klinische Symptomatik haben.
(131) Eine dieser resultierenden Prozesse ist die chronic kidney disease- mineral and bone disorder (CKD- MBD). Definiert ist die CKD- MBD als systemische Störung des Knochen- und Mineralstoffwechsels aufgrund einer CKD.

Manifestieren kann sie sich als isolierte oder kombinierte Störung des Phosphat-, Kalzium-, PTH- oder Vitamin- D- Metabolismus. Sie kann auch als abnormaler Knochenumbau, verminderte Mineralisation und Stärke oder geringes Volumen und lineares Wachstum des Knochens auftreten. Außerdem kann sich die CKD- MBD in Form von Gefäß- und Weichteilverkalkungen präsentieren.(132)

Pathophysiologisch kommt es bei der CKD durch den Verlust der renalen Clearance zu einer Positivbilanz und somit auch zum Anstieg des Phosphats. Wird das Löslichkeitsprodukt überschritten, verbindet sich Phosphat mit Kalzium und fällt als schwerlösliches Kalziumphosphat aus. Dieses lagert sich in Gelenken, der Haut und in den Gefäßen ab. Durch die Komplexierung von Kalzium mit Phosphat sinkt der Kalziumspiegel und es kommt zur Hypokalzämie.(130) Diese stimuliert die Ausschüttung von PTH, welches Kalziumphosphat aus dem Knochen mobilisiert. Durch die eingeschränkte Phosphatelimination der Niere komplexiert das gewonnene Kalzium jedoch gleich wieder mit dem noch immer erhöhten Phosphat.(130) Aufgrund der eingeschränkten renalen Funktion kommt es auch zur verminderten Vitamin- D- Produktion. Diese führt wiederum zu einer geringen Kalziumresorption, Hypokalzämie und ist ein weiterer Stimulus für die PTH-

Sekretion.(9) Ein somit generierter sHPT fördert den Knochenabbau immer weiter. Die Reservoirfunktion für Phosphat im Knochen geht verloren und steigert somit auch wieder die Hyperphosphatämie.(9)(133) Nicht nur die Hypokalzämie, sondern auch die Hyperphosphatämie ist ein Stimulus um sowohl PTH, als auch FGF-23 vermehrt auszuschütten. Wobei diese Phosphat- downregulierenden Hormone bereits im Stadium 2 der CKD (eGFR = 60 – 90 ml/min/1,73m²) beginnen zu steigen. Im Gegensatz zum Phosphat selbst, dessen Anstieg meistens erst im Stadium 4 der CKD (eGFR <30 ml/min/1,73m²) auftritt.(9) Das Phosphat steigt ab diesem Zeitpunkt kontinuierlich bis der/die PatientIn eine end stage renal disease (ESRD) das Stadium 5 der CKD (eGFR <15 ml/min/1,73m²) erreicht hat.(9)

Eine Komponente der CKD- MBD ist die renale Osteodystrophie (ROD). Die ROD ist eine Störung der Knochenstärke und Knochenqualität. Sie ist die Folge der oben genannten hormonellen und metabolischen Komplikationen, wie Hyperphosphatämie, Hypokalzämie, Vitamin- D- Mangel und sHPT. Gestört sind dabei der Knochenabbau, die Mineralisation, die Kollagenstruktur und die trabekuläre und kortikale Mikroarchitektur. Das Frakturrisiko und die Anzahl der Frakturgeschehen sind deshalb bei PatientInnen mit CKD deutlich erhöht.(134) Dies konnten sowohl Alem et al.(135), Naylor et al.(136) oder auch Dooley et al. (137) in ihren Studien zeigen. Es steigt sowohl die Prävalenz als auch die Inzidenz der Frakturen bei Verschlechterung der Nierenfunktion. Zudem sind diese Frakturgeschehen bei CKD- PatientInnen mit einer erhöhten Morbidität und Mortalität verbunden.(134)

Eine weitere Komponente der CKD- MBD ist die Kalzifizierung des kardiovaskulären Systems.(138) Die Phosphatablagerungen führen zur vaskulären Kalzifizierung, pAVK und endothelialer Dysfunktion.(139) Bei der vaskulären Kalzifizierung kann man zwischen der arteriellen Mediaverkalkung und der gesteigerten Verkalkung von Intimaplaques unterscheiden. Beide Typen treten bei PatientInnen mit CKD auf.(139) Als Konsequenz der arteriellen Verkalkung kommt es im Weiteren zu einer verringerten arteriellen Elastizität, erhöhter Pulswellengeschwindigkeit und erhöhtem Pulsdruck.(140) Aus diesen Veränderungen resultiert eine Hypertrophie der Kardiomyozyten mit LVH und

eingeschränkter Linksventrikelfunktion.(140) Häufig wird auch eine Verkalkung des Mitralringes und der Aortenklappe bei PatientInnen mit ESRD beobachtet. (138) Blacher et al.(141) publizierten eine Studie in der sie verschiedene kardiovaskuläre Parameter, beispielsweise die Intima-Media-Dicke oder die Kalzifizierung der abdominalen Aorta bei PatientInnen mit ESRD untersuchten. Sie konnten dabei feststellen, dass die vaskuläre Kalzifizierung ein starker Prädiktor für kardiovaskuläre Events und Mortalität ist.(145)

Im Jahr 2015 erschien von Fernandez- Martin et al. (142) die COSMOS- Studie in der die Auswirkungen der Phosphat-, Kalzium- und PTH- Konzentrationen auf das Mortalitätsrisiko bei PatientInnen mit Hämodialyse untersucht wurden. Es handelte sich dabei um eine multizentrische, open- cohort, prospektive Studie, die 3 Jahre dauerte, 20 europäische Länder umfasste und 6797 Patienten mit Hämodialyse einschloss. Sie konnten in ihren Daten einen signifikanten Zusammenhang zwischen sowohl zu niedrigem als auch zu hohem Phosphat-, Kalzium- und PTH- Spiegeln und einer erhöhten Mortalität in diesen PatientInnengruppen feststellen. (142)

Von der KDIGO wird daher in den CKD- MBD- Guidelines eine Konstanthaltung der Phosphatkonzentration von CKD Stadium 3 - 5 und ein Monitoring des Phosphatspiegels ab dem CKD Stadium 3 für die Praxis empfohlen.(133)

Für diese Konstanthaltung gibt es nun drei Möglichkeiten:

1. eine Restriktion der Phosphatzufuhr über die Nahrung
2. die Verwendung von oralen Phosphatbindern
3. oder die Elimination mittels Dialyse.(133)(9)(143)

Alle diese Methoden zur Konstanthaltung weisen jedoch ihre Limitationen auf. Die Restriktion über die Nahrung ist bei der überaus phosphathaltigen, westlichen Ernährung problematisch. Zudem ist es schwierig eine adäquate Eiweißzufuhr bei PatientInnen mit CKD zu erhalten und gleichzeitig das Phosphat in der Nahrung zu reduzieren.(133)(143) An der Hämodialyse können jeweils nur 800 – 1000 mg von Phosphat pro Sitzung aus dem Blut entfernt werden. Bei nur drei Dialyseterminen pro Woche ist diese Elimination allein unzureichend.(133) Die effektivste Methode zur Reduktion der Phosphataufnahme bleibt die Verwendung

von oralen Phosphatbindern. Neben kalziumhaltigen Phosphatbindern (Kalziumacetat, Kalziumkarbonat), stehen auch kalziumfreie (Sevelamer, Lanthancarbonat) und neue eisenhaltige Präparate (Sucroferric Oxyhydroxide) sowie Kombinationspräparate (Kalziumacetat und Magnesiumkarbonat) zur Verfügung.(143) Aluminiumhaltige Phosphatbinder sind wegen der Gefahr der Aluminiumtoxizität zur Therapie bei CKD und DialysepatientInnen nicht geeignet und empfohlen. Auch die Anwendung von kalziumhaltigen Phosphatbindern ist wegen der erhöhten Aufnahme von Kalzium und der Gefahr einer Verschlechterung der vaskulären Verkalkung bedenklich.(143) Probleme bei der Anwendung aller Phosphatbinder sind unter anderem die große Tablettenform, die Einnahme gemeinsam mit allen Mahlzeiten, die gastrointestinalen Beschwerden und die zusätzliche Medikamentenlast, welche die Adhärenz der PatientInnen sinken lassen.(133)(143)

2. Methoden

2.1. Studiendesign

Diese Studie ist eine post- hoc Analyse der Steirischen Vitamin- D- Bluthochdruckstudie.(20) Dabei handelt es sich um eine monozentrische, doppelblinde, Placebo kontrollierte Parallelgruppenstudie, welche von Juni 2011 bis August 2014 an der Medizinischen Universität Graz durchgeführt wurde. Die Methoden und das Studiendesign wurden bereits 2015 in der Zeitschrift Hypertension publiziert.(20) Die Studie wurde sowohl bei <http://www.clinicaltrialsregister.eu> (EudraCT number 2009-018125-70) als auch bei clinicaltrials.gov (ClinicalTrials.gov Identifier NCT02136771) registriert. Die Publikation der Studie wurde nach den Consolidated Standards of Reporting Trials (CONSORT) 2010 statement durchgeführt.(144)

2.2. StudienteilnehmerInnen

Die TeilnehmerInnen der Studie wurden über die Ambulanzen der Abteilung für Kardiologie und der Abteilung für Endokrinologie und Diabetologie der Universitätsklinik für Innere Medizin Graz rekrutiert. Die PatientInnen wurden durch ein Gespräch in der Ambulanz oder durch ein Telefonat über die Studie informiert. Die Studie wurde von der Ethikkommission der Medizinischen Universität Graz genehmigt und entsprechend der Deklaration von Helsinki designt und durchgeführt. Alle StudienteilnehmerInnen gaben ihr schriftliches Einverständnis (informed consent). Durchgeführt wurde die Studie von Juni 2011 bis August 2014 in der Ambulanz der Endokrinologie und Diabetologie.(20)

Ein- und Ausschlusskriterien

Um in die Studie miteingeschlossen zu werden, mussten die TeilnehmerInnen über 18 Jahre alt sein und bei ihnen musste ein arterieller Hypertonus sowie ein Vitamin- D- Mangel diagnostiziert sein.

Der Vitamin- D- Mangel wurde als 25(OH)D-Serumkonzentration ≤ 30 ng/mL definiert. Als arterielle Hypertonie wurde ein ambulant gemessener BD $\geq 140/90$ mmHg, ein Mittelwert von $\geq 125/80$ mmHg in der 24-h ABDM oder ein zu Hause gemessener BD $\geq 130/85$ mmHg klassifiziert. Auch PatientInnen mit antihypertensiver Therapie wurden in die Studie eingeschlossen.(20)

Zum Ausschluss aus der Studie kam es:

- bei Hyperkalzämie (Plasmakalziumkonzentration $> 2,65$ mmol/L)
- Schwangeren oder stillenden Frauen
- einer Medikamenteneinnahme im Zuge einer anderen klinischen Studie
- einem ACS oder zerebrovaskuläres Ereignis zwei Wochen vor Studienstart
- einer eGFR < 15 ml/min/1,73m²
- bei systolischen RR-Werten > 160 mmHg oder < 120 mmHg oder diastolischen RR-Werten > 100 mmHg in der 24-h ABDM
- bei einer Änderung der antihypertensiven Therapie (medikamentös oder den Lifestyle betreffend) innerhalb der letzten 4 Wochen vor Studienstart oder geplant während dem Studienzeitraum
- Erkrankungen mit einer Lebenserwartung unter einem Jahr
- akute Erkrankungen, welche eine sofortige medikamentöse Therapie, Chemotherapie oder Bestrahlung erfordern
- oder die regelmäßige Einnahme von > 880 IU Vitamin D pro Tag zusätzlich zur Studienmedikation vier Wochen vor Studienbeginn oder während der Studienzeit.(20)

2.3. Intervention

Die geeigneten StudienteilnehmerInnen wurden 1:1 in eine Interventions- oder eine Placebogruppe randomisiert. Die Randomisierung erfolgte mittels einer web-basierten Software (<http://www.randomizer.at/>) mit good clinical practice compliance, welche durch die Austrian Agency for Health and Food Safety bestätigt wird. Die Interventionsgruppe erhielt täglich 2800 IU Vitamin D₃ in Form von 7 öligen Tropfen (Oleovit ® D₃, Fresenius Kabi Graz, Austria) für 8 Wochen. Im Gegensatz dazu erhielt die Vergleichsgruppe ein passendes Placebo, ebenfalls

in Form von 7 öligen Tropfen für 8 Wochen. Die Zuteilung der Gruppen erfolgte mittels Blockrandomisierung mit einer Blockgröße von 10 und wurden bezüglich des Geschlechts stratifiziert. Alle StudienärztInnen/AutorInnen wurden bezüglich der Gruppenzuteilung verblindet.(20)

2.4. Messungen

Hauptzielgröße

Diese Studie ist eine post- hoc Analyse und vergleicht die FGF-23-Konzentration der beiden Studiengruppen am Ende der Studie bezogen auf ihre Baselinewerte. (145)

Messungen

Die erste Visite erfolgte zwischen 7 und 11 Uhr morgens und beinhaltete die klinische Untersuchung, eine Blutabnahme und die Erhebung der Anamnese mit besonderer Berücksichtigung der Medikamentenanamnese. Am selben Tag erhielten die TeilnehmerInnen ihre 24-h ABDM und 24h-Harnsammlung. Am nächsten Tag wurden die geeigneten PatientInnen in die Studie eingeschlossen, randomisiert und begannen mit der Einnahme der Studienmedikation.

FGF-23 wurde mit einem multi-matrix ELISA (FGF23 (C-terminal) ELISA; BIOMEDICA Medizinprodukte GmbH & CO KG, Vienna, Austria) mit einem intra-assay und inter- assay coefficient of variation (CV) von $\leq 12\%$ und $\leq 10\%$ gemessen.

25(OH)D wurde mit einem chemiluminescence assay (IDS-iSYS 25-hydroxyvitamin assay; Immunodiagnostic Systems Ltd, Boldon, United Kingdom) mit einem intra- assay und inter- assay CV von 6.2% und 11.6% gemessen. Die Details zu den weiteren gemessenen Laborparametern wurden in vorherigen Publikationen bereits veröffentlicht.(20)(146)(147)

2.5. Datenanalyse

Kontinuierliche Parameter, die eine Normalverteilung aufweisen, werden in der Analyse als Mittelwert \pm Standardabweichung (SD) dargestellt. Parameter, die von einer Normalverteilung abweichen, werden als Median mit Perzentilen präsentiert. Kategorielle Parameter werden im Folgenden als Prozentwerte dargestellt. Nicht normalverteilte Parameter wurden vor der parametrischen Analyse zu logarithmischen Werten ($\log e$) transformiert, da man durch die logarithmische Transformierung eine Annäherung an eine Normalverteilung des Parameters erreichen kann.

Um die Baselinewerte zwischen der Interventions- und der Placebogruppe zu vergleichen, wurde je nach Aussagekraft der student- t- test, der Mann- Whitney- U- test oder der chi- square- test verwendet. Die Pearson correlation analysis wurde zur Evaluierung der Korrelation zwischen den FGF-23- Baselinewerten und Phosphat verwendet. Mittels der analysis of covariance (ANCOVA) wurde der Unterschied der FGF-23-Konzentrationen bezogen auf die Baselinewerte zwischen der Interventions- und Placebogruppe bei der Follow- up- Visite getestet. Die analysis of covariance wurde ebenfalls bei den Subgruppen mit 25(OH)D- Baselinekonzentrationen unter <20 ng/mL und <16 ng/mL verwendet.(148) Die Analysen wurden nach dem intentio- to- treat- Prinzip durchgeführt. Es wurden keine Datenimputationsverfahren verwendet und es wurden alle TeilnehmerInnen mit den benötigten Baseline- und Follow- up- Werten in die Analyse miteinbezogen. Das statistische Signifikanzniveau lag bei einem p-Wert $<0,05$. Alle statistischen Auswertungen erfolgten mit dem Programm SPSS Version 23 (SPSS, Chicago, IL).

3. Ergebnisse

Etwa 1700 Personen wurden dazu eingeladen an der Steirischen Vitamin D Bluthochdruckstudie teilzunehmen. Von diesen gaben 518 PatientInnen ihr schriftliches Einverständnis (informed consent) und wurden bezüglich ihrer Eignung für die Studie gescreent. Die Randomisierung und das Follow-up fanden im Zeitraum zwischen Juni 2011 und August 2014 statt. Für diese post-hoc Analyse konnten nur TeilnehmerInnen miteinbezogen werden, bei denen sowohl die FGF-23- Baselinewerte, als auch die Werte der Follow-up- Visite vorhanden waren (n=181). Mit einer Einschlussquote von 47% Frauen konnte eine annähernd gleiche Geschlechterverteilung erreicht werden.

	All (n=181)	Vitamin D (n=90)	Placebo (n=91)	p-value
Age [years]	60.1 ± 11.3	60.6 ± 10.9	59.5 ± 11.6	0.492
Females [%]	48	46	51	0.553
BMI [kg/m ²]	30.2 ± 5.1	30.4 ± 4.4	30.1 ± 5.7	0.709
Office systolic BP (mmHg)	142.3 ± 15.1	142.2 ± 14.6	142.4 ± 15.6	0.948
Office diastolic BP (mmHg)	86.6 ± 10.3	86.5 ± 9.9	86.7 ± 10.7	0.881
FGF23 [pmol/L]	0.795 (0.582-1.211)	0.723 (0.542-1.118)	0.894 (0.636-1.286)	0.024
25(OH)D [ng/mL]	21.3 ± 5.6	22.1 ± 5.4	20.5 ± 5.8	0.053
Calcitriol [pg/mL]	49.9 ± 18.8	52.0 ± 18.4	47.9 ± 19.0	0.138
PTH [pg/mL]	49.0 (39.6-62.5)	48.9 (39.6-61.4)	51.3 (39.3-63.5)	0.884
Serum calcium [mmol/L]	2.37 ± 0.10	2.37 ± 0.10	2.37 ± 0.11	0.898
Serum phosphate [mmol/L]	0.95 ± 0.16	0.93 ± 0.17	0.97 ± 0.16	0.167
Creatinine [mg/dL]	0.87 (0.76-1.00)	0.87 (0.75-0.98)	0.88 (0.76-1.03)	0.394
eGFR [mL/min/1.73m ²]	79.0 ± 18.0	80.6 ± 18.1	77.6 ± 17.8	0.261
Triglycerides [mg/dL]	121 (82-168)	123 (82-168)	119 (81-163)	0.741
HDL-cholesterol [mg/dL]	56.5 ± 16.5	55.7 ± 16.5	57.2 ± 16.5	0.518
LDL-cholesterol [mg/dL]	114.0 ± 40.0	115.8 ± 41.1	112.3 ± 39.0	0.564
CRP [mg/L]	1.8 (0.9-3.5)	2.1 (0.9-3.8)	1.4 (0.8-3.0)	0.086

Die Daten sind als Mittelwerte mit Standardabweichung, Median mit Perzentilen oder als Prozentwerte dargestellt. Vergleiche zwischen der Interventions- und der Placebogruppe wurden mit dem Student t-test, Mann-Whitney-U-test oder chi-square test durchgeführt. BMI = body-mass index, BP = blood pressure, FGF23 = fibroblast growth factor 23, 25(OH)D = 25-hydroxyvitamin D, PTH = parathyroid hormone, eGFR = estimated glomerular filtration rate, HDL-cholesterol = high-density lipoprotein-cholesterol, LDL-cholesterol = low-density lipoprotein-cholesterol, CRP = C-reactives Protein

Tabelle 7: *Baseline- Parameter aller randomisierten TeilnehmerInnen mit vorhandenen FGF-23- Konzentrationen zu beiden Zeitpunkten (Baseline und follow-up)*

Bei den Baselinewerten zeigte sich eine signifikante Korrelation zwischen FGF-23 und Phosphatwerten ($r = 0,135$, $p = 0,002$). Die Vitamin- D- Supplementation hatte keinen signifikanten Effekt auf die FGF- 23- Konzentration am Studienende, wobei diese Analyse eine Adjustierung für die FGF-23- Baselinewerte inkludiert. (Tabelle 7)

Jedoch zeigt sich in der Subgruppenanalyse, dass eine Vitamin-D- Supplementierung zur signifikanten Steigerung von FGF-23-Werten in den Subgruppen mit einer 25(OH)D- Baselinekonzentration von <20 ng/mL und <16 ng/mL führt. (Tabelle 8)

	Baseline	Follow-Up	Treatment Effect	p-value
<i>All participants (n=181)</i>				
Vitamin D (n=90)	0.723 (0.542-1.118)	0.824 (0.598-1.168)	0.374 (-0.024 to 0.772)	0.065
Placebo (n=91)	0.894 (0.636-1.286)	0.944 (0.641-1.231)		
<i>25(OH)D < 20 ng/mL (n=70)</i>				
Vitamin D (n=30)	0.708 (0.519-1.051)	0.780 (0.562-1.385)	0.973 (-0.032 to 1.979)	0.019
Placebo (n=40)	0.987 (0.644-1.528)	0.927 (0.651-1.260)		
<i>25(OH)D < 16 ng/mL (n=40)</i>				
Vitamin D (n=15)	0.718 (0.494-1.020)	0.743 (0.570-1.601)	0.593 (0.076 to 1.109)	0.022
Placebo (n=25)	0.971 (0.694-1.360)	0.879 (0.635-1.201)		

Die Daten sind als Median mit Perzentilen dargestellt. Der Therapieeffekt mit 95%-Konfidenzintervall und die p-Werte wurden für die Vergleichsgruppen zum Follow-up mit Adjustierung der Baselinewerte mit ANCOVA berechnet. Die FGF-23- Werte wurden logarithmisch transformiert bevor sie in der ANCOVA- Berechnung verwendet wurden. FGF23 = fibroblast growth factor 23, 25(OH)D = 25-hydroxyvitamin D

Tabelle 8: Baseline- und follow-up Konzentrationen von FGF-23 aller TeilnehmerInnen und Subgruppen

4. Diskussion

In dieser Studie konnte kein signifikanter Effekt einer Vitamin- D- Supplementation auf die FGF-23- Konzentration bezogen auf die gesamte Studienkohorte gefunden werden. Jedoch konnte in Subgruppen mit 25(OH)D-Baselinewerten von ≤ 20 ng/mL und ≤ 16 ng/mL ein signifikanter Anstieg an FGF-23 festgestellt werden.

Die Ergebnisse dieser Studie tragen signifikant zur bisherigen limitierten Datenlage bzgl. des Effektes einer Vitamin D Supplementation auf FGF-23 bei. Bisherige Studien wiesen in der Regel deutliche Einschränkungen bzgl. Anzahl der einbezogenen StudienteilnehmerInnen oder der statistischen Analysen auf, indem z.B. bei Gruppenvergleichen nicht für die Baselinewerte adjustiert wurde. Manche Ergebnisse unserer Studie passen jedoch auch gut zu den bisher publizierten Resultaten, wie beispielsweise das Ansteigen der FGF-23- Konzentration in der Vitamin- D- Interventionsgruppe ohne Adjustierung für die Baselinewerte: Burnett- Bowie et al.(6) stellten in ihrer Studie bei ProbandInnen mit einem 25(OH)D- Serumspiegel ≤ 20 ng/mL und einer wöchentlichen Supplementation von 50 000 IU Ergocalciferol für 12 Wochen einen signifikanten Anstieg an FGF-23 fest. Turner et al.(17) konnten ebenfalls eine signifikante Erhöhung von FGF-23 bei 45 PatientInnen und einer high-dose Supplementation von 300 000 IU Ergocalciferol zeigen. Nygaard et al.(18) verabreichten ihren StudienteilnehmerInnen oral 3000 IU Cholecalciferol pro Tag für vier Monate und konnten einen signifikanten FGF-23- Anstieg beobachten. Alshayeb et al.(98) führten bei 66 PatientInnen eine Vitamin- D- Supplementation von 10 000 IU/Woche für acht Wochen durch. Sie fanden eine Erhöhung der FGF-23- Konzentration im Studienkollektiv ohne CKD (eGFR > 60 ml/min/1,73m²). Im Vergleich dazu konnten Bhagatwala et al.(19) in ihrer Studie keine dosis- oder zeitabhängige Veränderung des FGF-23 Spiegels nachweisen. Sie verabreichten übergewichtigen AfroamerikanerInnen mit 25(OH)D- Serumspiegel ≤ 20 ng/mL entweder 18 000 oder 120 000 IU Cholecalciferol über 16 Wochen.

Gründe für die unschlüssige Studienlage könnten darin liegen, dass bisher viele unterschiedliche PatientInnenkollektive untersucht wurden. Des Weiteren werden in den Vergleichsstudien oft nur eine geringe Anzahl an PatientInnen untersucht

und analysiert. Zudem unterscheiden sich die Therapieschemata bezüglich der Dosierung (IU) und der Häufigkeit der Einnahme (täglich, wöchentlich, monatlich). Außerdem ist der zeitliche Rahmen der Interventionen in den Studien verschieden.

Der Umstand, dass in unserer Studie eine signifikante FGF-23- Erhöhung in den Subgruppen mit 25(OH)D-Baselinewerten $\leq 20\text{ng/mL}$ und $\leq 16\text{ng/mL}$, jedoch nicht in der gesamten Studienkohorte gefunden wurde, kann möglicherweise auf den stärkeren Calcitriolanstieg bei den PatientInnen mit geringeren Baselinewerten zurückzuführen sein.(149) Dieser stärkere Calcitriolanstieg könnte demnach auch zu einem deutlichen ansteigen an FGF-23 führen. Die Validität unserer Studiendaten ist sehr gut durch die vorhandene, bekannte Assoziation von FGF-23 und Phosphat belegt. (150)

Eine Stärke unserer Studie liegt unter anderem in ihrem Design als post- hoc Analyse einer randomisierten, doppelblinden, Placebo- kontrollierten Studie. Placebo- kontrollierte Studien haben ein hohes Evidenzlevel um kausale Effekte zu evaluieren. Des Weiteren spricht der gut dokumentierte Therapieeffekt von Vitamin D auf 25(OH)D und PTH für die Aussagekraft bzw. Validität der Studie.(20) Jedoch lieferte die Studie trotz ihrer Stärken kein klares Bild bzgl. der Effekte von Vitamin D auf FGF-23 da ein Anstieg von FGF-23 nicht im Gesamtkollektiv, jedoch sehr wohl in Subgruppen mit niedrigem 25(OH)D zu beobachten war. Wie dieser mögliche Effekt von Vitamin D auf FGF-23 bei Vitamin- D- Mangel klinisch zu bewerten ist, d.h. ob es sich um einen eher schändlichen Effekt oder sogar einen positiven Effekt handelt, bleibt in Zukunft zu evaluieren. Da es nach wie vor nicht klar ist, ob hohe FGF-23 Spiegel über z.B. die Verhinderung einer Hyperphosphatämie günstig sind bzw. ob diverse direkte Effekte des FGF-23 auf das kardiovaskuläre System möglicherweise schändlich sind sollte daher in zukünftigen Studien geklärt werden.

Eine mögliche Limitation dieser Studie ist, dass es sich beim untersuchten Patientenkollektiv um PatientInnen mit arterieller Hypertonie und Vitamin-D- Mangel handelt. Die Resultate und Ergebnisse können daher nicht generalisiert werden oder auf ein PatientInnenkollektiv von besonderem Interesse, wie beispielsweise PatientInnen mit Hämodialyse, übertragen werden. Ein weiterer Schwachpunkt der Studie ist, dass in der Analyse nur 70 bzw. 40

StudienteilnehmerInnen einen 25(OH)D- Baselinespiegel von ≤ 20 ng/mL und ≤ 16 ng/mL aufgewiesen haben. Die entsprechende Subgruppenanalyse, welche eine signifikante FGF-23- Erhöhung zeigt, ist damit in ihrer Fallzahl wiederum limitiert.

Zusammenfassend konnten wir keinen signifikanten Effekt einer Vitamin- D- Supplementation auf die FGF-23- Konzentration bei PatientInnen mit Hypertonus und Vitamin-D-Mangel finden. In einer Subgruppenanalyse von PatientInnen mit 25(OH)D- Baselinewerten ≤ 20 und ≤ 16 ng/mL zeigte sich jedoch ein signifikanter Abstieg an FGF-23 in der Vitamin D- Interventionsgruppe. FGF-23 zeigte eine signifikante Korrelation mit Serumphosphat, was eine bekannte Assoziation ist, die jedoch die Validität unserer Daten unterstreicht. Aufgrund der oben genannten Vergleichsstudien und dieser Ergebnisse werden noch weitere Studien für die Erforschung des kausalen Zusammenhangs zwischen FGF-23 und einer Vitamin- D- Supplementation nötig sein. Dabei sollten sowohl generalisierte Studienkollektive als auch PatientInnenkollektive von speziellem Interesse (HämodialysepatientInnen) in die Studien einfließen und es soll vor allem die Frage geklärt werden welche klinischen Effekte hohe FGF-23- Werte neben ihrer phosphaturischen Wirkung möglicherweise haben.

Die Ergebnisse dieser Diplomarbeit konnten mit mir als Co-Autorin in dem Top 20% Journal European Journal of Nutrition veröffentlicht werden (Eur J Nutr. 2018 Mar 30. doi: 10.1007/s00394-018-1672-7.)

Literaturverzeichnis

1. DeLuca HF. Overview of general physiologic features and functions of vitamin D. *Am J Clin Nutr*. 2004;80(6 Suppl):1689–96.
2. Holick MF. Vitamin D Deficiency. *N Engl J Med* [Internet]. 2007;357(3):266–81. Available from: <http://www.nejm.org/doi/abs/10.1056/NEJMra070553>
3. Zittermann A, Pilz S. Vitamin D in clinic and practice Vitamin D in Klinik und Praxis. *Dtsch Medizinische Wochenschrift*. 2017;142(8):601–16.
4. Blau JE, Collins MT. The PTH-Vitamin D-FGF23 axis. *Rev Endocr Metab Disord*. 2015;16(2):165–74.
5. Gutierrez OM et al. Fibroblast Growth Factor 23 and Mortality among Patients Undergoing Hemodialysis. 2015;
6. Erben RG. Update on FGF23 and Klotho signaling. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2016;432(October):56–65. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2016.05.008>
7. Penido MGMG, Alon US. Phosphate homeostasis and its role in bone health. *Pediatr Nephrol* [Internet]. 2012;27(11):2039–48. Available from: <http://link.springer.com/10.1007/s00467-012-2175-z>
8. Kirkpantur A, Balci M, Gurbuz OA, Afsar B, Canbakan B, Akdemir R, 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):1346–54.
9. Herold G. *Innere Medizin* [Internet]. Vol. 96, *Innere Medizin*. 2015. 411-415 p. Available from: <http://www.amazon.com/Innere-Medizin-M-Classen-Diehl/dp/3437428306>
10. Lhotta K. Störungen des Phosphathaushaltes. *Austrian J Clin Endocrinol Metab*. 2011;4(4):20–3.
11. Kocelak P, Olszanecka-Glinianowicz M, Chudek J. Fibroblast growth factor 23--structure, function and role in kidney diseases. *Adv Clin Exp Med* [Internet]. 2012;21(3):391–401. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23214203>
12. Seiler S, Reichart B, Roth D, Seibert E, Fliser D, Heine GH. FGF-23 and future cardiovascular events in patients with chronic kidney disease before initiation of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(12):3983–9.
13. Parker BD, Schurgers LJ, Brandenburg VM, Robert H, Vermeer C, Ketteler M, et al. The Associations of Fibroblast Growth Factor 23 and Uncarboxylated Matrix Gla Protein With Mortality in Coronary Artery Disease: The Heart and Soul Study. *Ann Intern Med*. 2010;152(10):640–8.
14. Canziani MEF, Tomiyama C, Higa A, Draibe SA, Carvalho AB. Fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease: Bridging the gap between bone mineral metabolism and Left Ventricular Hypertrophy. *Blood Purif*. 2011;31(1–3):26–32.
15. Burnett-Bowie SAM, Leder BZ, Henao MP, Baldwin CM, Hayden DL, Finkelstein JS. Randomized trial assessing the effects of ergocalciferol administration on circulating FGF23. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(4):624–31.
16. Georgiadou E, Marketou H, Trovas G, Dontas I, Papaioannou N, Makris K, et al. Effect of calcitriol on FGF23 level in healthy adults and its dependence on phosphate level. *In Vivo (Brooklyn)*. 2017;31(1):145–50.
17. Turner C, Dalton N, Inaoui R, Fogelman I, Fraser WD, Hampson G. Effect of a 300 000-IU loading dose of ergocalciferol (vitamin D₂) on circulating 1,25(OH)₂-vitamin D and fibroblast growth factor-23 (FGF-23) in vitamin D insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab*.

- 2013;98(2):550–6.
18. Nygaard B, Frandsen NE, Brandi L, Rasmussen K, Oestergaard OV, Oedum L, et al. Effects of High Doses of Cholecalciferol in Normal Subjects: A Randomized Double-Blinded, Placebo-Controlled Trial. *PLoS One* [Internet]. 2014;9(8):e102965. Available from: <http://dx.plos.org/10.1371/journal.pone.0102965>
 19. Bhagatwala J, Zhu H, Parikh SJ, Guo D-H, Kotak I, Huang Y, et al. Dose and time responses of vitamin D biomarkers to monthly vitamin D3 supplementation in overweight/obese African Americans with suboptimal vitamin d status: a placebo controlled randomized clinical trial. *BMC Obes* [Internet]. 2015;2(1):27. Available from: <http://bmcbobes.biomedcentral.com/articles/10.1186/s40608-015-0056-2>
 20. Pilz S, Gaksch M, Kienreich K, Grübler M, Verheyen N, Fahrleitner-Pammer A, et al. Effects of Vitamin D on Blood Pressure and Cardiovascular Risk Factors: A Randomized Controlled Trial. *Hypertension*. 2015;65(6):1195–201.
 21. O’Riordan JLH, Bijvoet OLM. Rickets before the discovery of vitamin D. *Bonekey Rep* [Internet]. 2014;3(JANUARY):1–6. Available from: <http://www.portico.org/Portico/article?article=pgk2ph97qk2>
 22. K R. Vitamin D, cod-liver oil, sunlight, and rickets: a historical perspective. *Pediatrics* [Internet]. 2003;112(2):e132-- 5 1p. Available from: <http://search.ebscohost.com/login.aspx?direct=true%7B%7Ddb=cin20%7B%7DAN=106626988%7B%7Dsite=ehost-live>
 23. AN Experimental Investigation ON RICKETS. *Lancet*. 1919;193(4985):407–12.
 24. DeLuca HF. History of the discovery of vitamin D and its active metabolites. *Bonekey Rep* [Internet]. 2014;3(JANUARY):1–8. Available from: <http://www.portico.org/Portico/article?article=pgk2ph97rtf>
 25. McCollum EV, Simmonds N, Becker E. Studies on Experimental Rickets. 2011;521–9. Available from: <http://www.springerlink.com/index/10.1007/978-1-60761-956-7>
 26. Windaus A, Bock F. Über das Provitamin aus dem Sterin der Schweineschwarte. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem*. 1936;245(3–4):168–70.
 27. Holick MF, Schnoes HK, DeLuca F, Gray RW, Boyle IT, Suda T. Isolation and Identification of 24, 25-Dihydroxycholecalciferol, a Metabolite of Vitamin D3 made in the Kidney. *Biochemistry*. 1972;1(23):4251–5.
 28. Holick MF, Schnoes HK, DeLuca HF, Suda T, Cousins RJ. Isolation and Identification of 1,25-Dihydroxycholecalciferol. a Metabolite of Vitamin D Active in Intestine. *Biochemistry*. 1971;10(14):2799–804.
 29. Deluca HF, Avioli L V, Louis S, Michael F. Isolation and identification of 25-hydroxycholecalciferol from human plasma. - PubMed - NCBI. 2015;53706. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/4332591/>
 30. Pilz S, Gaksch M, O’Hartaigh B, Tomaschitz A, März W. The role of vitamin D deficiency in cardiovascular disease: Where do we stand in 2013? *Arch Toxicol*. 2013;87(12):2083–103.
 31. Gil Á, Plaza-Diaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr Metab*. 2018;87–95.
 32. Holick MF, Chen TC, Lu Z, Sauter E. Vitamin D and Skin Physiology: A D-Lightful Story. *J Bone Miner Res* [Internet]. 2007;22(S2):V28–33. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1359/jbmr.07s211>
 33. Lundqvist J. Vitamin D as a regulator of steroidogenic enzymes. *F1000Research* [Internet]. 2014;155:1–10. Available from: <http://f1000research.com/articles/3-155/v1>
 34. MacLaughlin J, Anderson R, Holick M. Spectral character of sunlight modulates

- photosynthesis of previtamin D3 and its photoisomers in human skin. *Science* (80-) [Internet]. 1982;216(4549):1001–3. Available from: <http://www.sciencemag.org/cgi/doi/10.1126/science.6281884>
35. Holick MF. Resurrection of vitamin D and rickets. *J Clin Invest*. 2006;116(8):2062–72.
 36. Holick MF, MacLaughlin JA, Clark MB, Holick SA, Potts JT, Anderson RR, et al. Photosynthesis of previtamin D3 in human skin and the physiologic consequences. *Science* [Internet]. 1980;210(4466):203–5. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/6251551>
 37. Brown AJ, Dusso A, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol* [Internet]. 1999;277(2 Pt 2):F157-75. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/10444570>
 38. Bouillon R, Carmeliet G, Verlinden L, Van Etten E, Verstuyf A, Luderer HF, et al. Vitamin D and human health: Lessons from vitamin D receptor null mice. *Endocr Rev*. 2008;29(6):726–76.
 39. Dietel M, Suttrop N, Zeitz M. *Harrisons Innere Medizin*. ABW Wissenschaftsverlag. 2013;18. Auflage:1046–56.
 40. Jones G, Strugnell S a, DeLuca HF. Current understanding of the molecular actions of vitamin D. *Physiol Rev*. 1998;78(4):1193–231.
 41. Christakos S. Recent advances in our understanding of 1, 25-dihydroxyvitamin D 3 regulation of intestinal calcium absorption. *Arch Biochem Biophys* [Internet]. 2012;523(1):73–6. Available from: <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0003986111004322>
 42. Suda T, Ueno Y, Fujii K, Shinki T. Vitamin D and bone. *J Cell Biochem*. 2003;88(2):259–66.
 43. Lüllmann-Rauch R. *Taschenlehrbuch Histologie*. 4. Auflage. Stuttgart: Thieme; 2012. p. 1–16. Available from: http://link.springer.com/10.1007/0-387-28957-7_1
 44. Carlsson A, Lindqvist M, Magnusson T. Tracer Experiments on the Effect of Vitamin-D on the Skeletal Metabolism of Calcium and Phosphorus. *Acta Physiol Scand*. 1952;26:212–20.
 45. Rajiv Kumar, Tebben P, James T. Vitamin D and the kidney. *Arch Biochem Biophys*. 2012;(523):77–86.
 46. Popovtzer MM, Robinette JB, DeLuca HF, Holick MF. The acute effect of 25 hydroxycholecalciferol on renal handling of phosphorus. Evidence for a parathyroid hormone dependent mechanism. *J Clin Invest*. 1974;53(3):913–21.
 47. Yamamoto M, Kawanobe Y, Takahashi H, Shimazawa E, Kimura S, Ogata E. Vitamin D deficiency and renal calcium transport in the rat. *J Clin Invest*. 1984;74(August):507–13.
 48. Autier P, Boniol M, Pizot C, Mullie P. Vitamin D status and ill health: A systematic review. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2014;2(1):76–89.
 49. Pludowski P, Holick MF, Pilz S, Wagner CL, Hollis BW, Grant WB, et al. Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality-A review of recent evidence. *Autoimmun Rev* [Internet]. 2013;12(10):976–89. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.autrev.2013.02.004>
 50. Scragg R. Seasonality of cardiovascular disease mortality and the possible protective effect of ultra-violet radiation. *International J Epidemiol*. 1981;10(4):337–41.
 51. Tomaschitz A, Pilz S, Ritz E, Obermayer-Pietsch B, Pieber TR. Aldosterone and arterial hypertension. *Nat Rev Endocrinol* [Internet]. 2010;6(2):83–93. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/nrendo.2009.263>
 52. Li Y, Kong J, Wei M, Chen Z, Liu S, Cao L. 1,25 dihydroxyvitamin D3 is a negative regulator of renin angiotensin system. *J Clin Invest*. 2002;110(2):229–38.

53. Chen S, Glenn DJ, Ni W, Grigsby CL, Olsen K, Law CS, et al. Expression of the Vitamin D Receptor is increased in the hypertrophic heart. *Hypertension*. 2008;52(6):1106–12.
54. Chen S, Law CS, Grigsby CL, Olsen K, Hong TT, Zhang Y, et al. Cardiomyocyte-specific deletion of the vitamin D receptor gene results in cardiac hypertrophy. *Circulation*. 2011;124(17):1838–47.
55. Pilz S, Tomaschitz A, März W, Drechsler C, Ritz E, Zittermann A, et al. Vitamin D, cardiovascular disease and mortality. *Clin Endocrinol (Oxf)*. 2011;75(5):575–84.
56. Arora P, Song Y, Dusek J, Plotnikoff G, Sabatine MS, Cheng S, et al. Vitamin D therapy in individuals with prehypertension or hypertension the DAYLIGHT trial. *Circulation*. 2015;131(3):254–62.
57. Witham MD, Price RJG, Struthers AD, Donnan PT, Messow CM, Ford I, et al. Cholecalciferol treatment to reduce blood pressure in older patients with isolated systolic hypertension the VitDISH randomized controlled trial. *JAMA Intern Med*. 2013;173(18):1672–9.
58. Witham MD, Ireland S, Graeme Houston J, Gandy SJ, Waugh S, Macdonald TM, et al. Vitamin D therapy to reduce blood pressure and left ventricular hypertrophy in resistant hypertension: Randomized, controlled trial. *Hypertension*. 2014;63(4):706–12.
59. Forman JP, Scott JB, Ng K, Drake BF, Suarez E, Hayden DL, et al. Effect of vitamin d supplementation on blood pressure in blacks. *Hypertension*. 2013;61(4):779–85.
60. Larsen T, Mose FH, Bech JN, Hansen AB, Pedersen EB. Effect of cholecalciferol supplementation during winter months in patients with hypertension: A randomized, placebo-controlled trial. *Am J Hypertens*. 2012;25(11):1215–22.
61. Dalbeni A, Scaturro G, Degan M, Minuz P, Delva P. Effects of six months of vitamin D supplementation in patients with heart failure: A randomized double-blind controlled trial. *Nutr Metab Cardiovasc Dis* [Internet]. 2014;24(8):861–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.numecd.2014.02.015>
62. Girgis CM, Clifton-Bligh RJ, Hamrick MW, Holick MF, Gunton JE. The roles of vitamin D in skeletal muscle: Form, function, and metabolism. *Endocr Rev*. 2013;34(1):33–83.
63. Ricardo B. The role of vitamin D in skeletal and cardiac muscle function. *Endocr Rev*. 1986;7(No.4):434–48.
64. Bischoff H a, Borchers M, Gudat F, Duermueller U, Theiler R, Stähelin HB, et al. In situ detection of 1,25-dihydroxyvitamin D3 receptor in human skeletal muscle tissue. *Histochem J*. 2001;33(1):19–24.
65. Bischoff-Ferrari HA. Effect of Vitamin D on Falls. *JAMA*. 2004;291(16):1999–2006.
66. Broe KE, Chen TC, Weinberg J, Bischoff-Ferrari HA, Holick MF, Kiel DP. A higher dose of vitamin D reduces the risk of falls in nursing home residents: A randomized, multiple-dose study. *J Am Geriatr Soc*. 2007;55(2):234–9.
67. Bischoff-Ferrari HA. Fracture prevention with Vitamin D Supplementation. *JAMA*. 2005;293(18):2257–64.
68. Perwad F, Portale AA. Vitamin D metabolism in the kidney: Regulation by phosphorus and fibroblast growth factor 23. *Mol Cell Endocrinol* [Internet]. 2011;347(1–2):17–24. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.mce.2011.08.030>
69. Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol*. 2014;21(3):319–29.
70. Bland R. Constitutive Expression of 25-Hydroxyvitamin D3-1 -Hydroxylase in a Transformed Human Proximal Tubule Cell Line: Evidence for Direct Regulation of Vitamin D Metabolism by Calcium. *Endocrinology* [Internet]. 1999;140(5):2027–34. Available from:

<https://academic.oup.com/endo/article-lookup/doi/10.1210/en.140.5.2027>

71. Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic: Approaches for diagnosis, treatment and prevention. *Rev Endocr Metab Disord*. 2017;18(2):153–65.
72. Holick MF. High prevalence of vitamin D inadequacy and implications for health. *Mayo Clin Proc [Internet]*. 2006;81(3):353–73. Available from: <http://dx.doi.org/10.4065/81.3.353>
73. Malabanan A, Veronikis IE, Holick MF. Redefining vitamin D insufficiency. *Lancet*. 1998;351(9105):805–6.
74. Calcium I of M (US) C to RDRI for VD and, Ross AC, Taylor CL, Yaktine AL, Valle HB Del. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D [Internet]. Dietary Reference Intakes for Calcium and Vitamin D. 2011. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21796828>
75. Jean G, Souberbielle JC, Chazot C. Vitamin D in chronic kidney disease and dialysis patients. *Nutrients*. 2017;9(4):1–15.
76. Zittermann A, Pilz S. Vitamin D in clinic and practice. *Aktuel Ernahrungsmed [Internet]*. 2016;41(4):300–16. Available from: <https://0-www-thieme--connect-de.wam.city.ac.uk/products/ejournals/abstract/10.1055/s-0042-110724>
77. Yun Y-R, Won JE, Jeon E, Lee S, Kang W, Jo H, et al. Fibroblast Growth Factors: Biology, Function, and Application for Tissue Regeneration. *J Tissue Eng [Internet]*. 2010;1(1):218142. Available from: <http://journals.sagepub.com/doi/10.4061/2010/218142>
78. Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, Iijima K, Hasegawa H, Okawa K, et al. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature*. 2006;444(7120):770–4.
79. Yamashita T, Yoshioka M, Itoh N. 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):494–8.
80. Martin A, David V, Quarles LD. Regulation and Function of the FGF23/Klotho endocrine pathways. *Physiol Rev [Internet]*. 2012;92(1):131–55. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15248822>
81. White KE, Evans WE, O’Riordan JLH, Speer MC, Econs MJ, Lorenz-Depiereux B, et al. Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet*. 2000;26(3):345–8.
82. Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y, Hasegawa H, Takeuchi Y, Fujita T, et al. Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin Invest*. 2004;113(4):561–8.
83. Shimada T, Hasegawa H, Yamazaki Y, Muto T, Hino R, Takeuchi Y, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res*. 2004;19(3):429–35.
84. Shimada T, Yamazaki Y, Takahashi M, Hasegawa H, Urakawa I, Oshima T, et al. Vitamin D receptor-independent FGF23 actions in regulating phosphate and vitamin D metabolism. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2005;289(5):F1088–95.
85. Xiuqin Z et al. Receptor Specificity of the Fibroblast Growth Factor Family: the complete mammalian FGF family*. *J Biol Chem*. 2006;281(23):15394–700.
86. Gattineni J, Bates C, Twombly K, Dwarakanath V, Robinson ML, Goetz R, et al. FGF23 decreases renal NaPi-2a and NaPi-2c expression and induces hypophosphatemia in vivo predominantly via FGF receptor 1. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2009;297(2):F282–91.
87. Kurosu H et al. Regulation of Fibroblast Growth Factor-23 Signaling by Klotho. *J Biol Chem*. 2006;281(10):6120–3.

88. Hu MC, Shi M, Zhang J, Pastor J, Nakatani T, Lanske B, et al. Klotho: a novel phosphaturic substance acting as an autocrine enzyme in the renal proximal tubule. *FASEB J* [Internet]. 2010;24(9):3438–50. Available from: <http://www.fasebj.org/cgi/doi/10.1096/fj.10-154765>
89. Ben-Dov IZ, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V, Goetz R, Kuro-o M, Mohammadi M, et al. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *J Clin Invest*. 2007;117(12):4003–8.
90. Krajisnik T, Björklund P, Marsell R, Ljunggren Osten O, Åkerström G, Jonsson KB, et al. Fibroblast growth factor-23 regulates parathyroid hormone and 1 α -hydroxylase expression in cultured bovine parathyroid cells. *J Endocrinol*. 2007;195(1):125–31.
91. Brownstein CA, Adler F, Nelson-Williams C, Iijima J, Li P, Imura A, et al. A translocation causing increased Klotho level results in hypophosphatemic rickets and hyperparathyroidism. *Proc Natl Acad Sci* [Internet]. 2008;105(9):3455–60. Available from: <http://www.pnas.org/cgi/doi/10.1073/pnas.0712361105>
92. Chong W. Tumor-induced osteomalacia. *Endocr Relat cancer*. 2011;18(3):R53–77.
93. Gutiérrez OM, Smith KT, Barchi-Chung A, Patel NM, Isakova T, Wolf M. (1-34) Parathyroid Hormone Infusion Acutely Lowers Fibroblast Growth Factor 23 Concentrations in Adult Volunteers. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7(1):139–45.
94. Burnett-Bowie SAM, Henao MP, Dere ME, Lee H, Leder BZ. Effects of hPTH(1-34) infusion on circulating serum phosphate, 1,25-dihydroxyvitamin D, and FGF23 levels in healthy men. *J Bone Miner Res*. 2009;24(10):1681–5.
95. Tebben PJ, Singh RJ, Clarke BL, Kumar R. Fibroblast growth factor 23, parathyroid hormone, and 1 α ,25-dihydroxyvitamin D in surgically treated primary hyperparathyroidism. *Mayo Clin Proc*. 2004;79(12):1508–13.
96. Yamashita H, Yamashita T, Miyamoto M, Shigematsu T, Kazama JJ, Shimada T, et al. Fibroblast growth factor (FGF)-23 in patients with primary hyperparathyroidism. *Eur J Endocrinol* [Internet]. 2004;151(1):55–60. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15248822>
97. Saito H, Maeda A, Ohtomo SI, Hirata M, Kusano K, Kato S, et al. Circulating FGF-23 is regulated by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ and phosphorus in vivo. *J Biol Chem*. 2005;280(4):2543–9.
98. Alshayeb H, Showkat A, Wall BM, Gyamlani GG, David V, Quarles LD. Activation of FGF-23 mediated vitamin D degradative pathways by cholecalciferol. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014;99(10):E1830–7.
99. Ferrari SL, Bonjour JP, Rizzoli R. Fibroblast growth factor-23 relationship to dietary phosphate and renal phosphate handling in healthy young men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2005;90(3):1519–24.
100. Antonucci DM, Yamashita T, Portale AA. Dietary phosphorus regulates serum fibroblast growth factor-23 concentrations in healthy men. *J Clin Endocrinol Metab*. 2006;91(8):3144–9.
101. Burnett SAM, Gunawardene SC, Bringham FR, Jüppner H, Lee H, Finkelstein JS. Regulation of C-terminal and intact FGF-23 by dietary phosphate in men and women. *J Bone Miner Res*. 2006;21(8):1187–96.
102. Scanni R, vonRotz M, Jehle S, Hulter HN, Krapf R. The Human Response to Acute Enteral and Parenteral Phosphate Loads. *J Am Soc Nephrol* [Internet]. 2014;25(12):2730–9. Available from: <http://www.jasn.org/cgi/doi/10.1681/ASN.2013101076>
103. Isakova T, Xie H, Yang W, Xie D. Fibroblast Growth Factor 23 and Risks of Mortality and End-Stage Renal Disease in Patients with Chronic Kidney Disease. 2011;305(23):2432–9.
104. Ix JH, Shlipak MG, Wassel CL, Whooley MA. Fibroblast growth factor-23 and early decrements in kidney function: The heart and soul study. *Nephrol Dial Transplant*.

- 2010;25(3):993–7.
105. Papagianni A. Fibroblast growth factor-23 : a novel biomarker for cardiovascular disease in chronic kidney disease patients. *Prilozi*. 2017;38(2):19–27.
 106. Isakova T, Wahl P, Vargas GS, Gutiérrez OM, Scialla J, Xie H, et al. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2011;79(12):1370–8.
 107. Koh N, Fujimori T, Nishiguchi S, Tamori A, Shiomi S, Nakatani T, et al. Severely reduced production of klotho in human chronic renal failure kidney. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;280(4):1015–20.
 108. Wolf M. Update on Fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2012;82(7):737–47.
 109. Olauson H, Qureshi AR, Miyamoto T, Barany P, Heimbürger O, Lindholm B, et al. Relation between serum fibroblast growth factor-23 level and mortality in incident dialysis patients: Are gender and cardiovascular disease confounding the relationship? *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(9):3033–8.
 110. Jean G, Terrat J-C, Vanel T, Hurot J-M, Lorriaux C, Mayor B, et al. High levels of serum fibroblast growth factor (FGF)-23 are associated with increased mortality in long haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant [Internet]*. 2009;24(9):2792–6. Available from: <https://academic.oup.com/ndt/article-lookup/doi/10.1093/ndt/gfp191>
 111. Isakova T, Xie H, Yang W, Xie D, Anderson AH, Scialla J, et al. Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease. *JAMA [Internet]*. 2011;305(23):2432–9. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21673295> <http://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3124770>
 112. Kendrick J, Cheung AK, Kaufman JS, Greene T, Roberts WL, Smits G, et al. FGF-23 Associates with Death, Cardiovascular Events, and Initiation of Chronic Dialysis. *J Am Soc Nephrol [Internet]*. 2011;22(10):1913–22. Available from: <http://www.jasn.org/cgi/doi/10.1681/ASN.2010121224>
 113. Gutiérrez OM, Wolf M, Taylor EN. Fibroblast Growth Factor 23, Cardiovascular Disease Risk Factors, and Phosphorus Intake in the Health Professionals Follow-up Study. *Clin J Am Soc Nephrol [Internet]*. 2011;6(12):2871–8. Available from: <http://cjasn.asnjournals.org/cgi/doi/10.2215/CJN.02740311>
 114. Yilmaz MI, Sonmez A, Saglam M, Yaman H, Kilic S, Demirkaya E, et al. FGF-23 and vascular dysfunction in patients with stage 3 and 4 chronic kidney disease. *Kidney Int [Internet]*. 2010;78(7):679–85. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2010.194>
 115. Glassock RJ, Pecoits-Filho R, Barberato SH. Left ventricular mass in chronic kidney disease and ESRD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4(SUPPL. 1):79–91.
 116. Mirza MAI, Larsson A, Melhus H, Lind L, Larsson TE. Serum intact FGF23 associate with left ventricular mass, hypertrophy and geometry in an elderly population. *Atherosclerosis*. 2009;207(2):546–51.
 117. Kovesdy CP, Quarles LD. The role of fibroblast growth factor-23 in cardiorenal syndrome. *Nephron - Clin Pract*. 2013;123(3–4):194–201.
 118. Xie J et al. Cardioprotection by Klotho through downregulation of TRPC6 channels in the mouse heart. *Nat Commun*. 2012;3(1):34–44.
 119. Dai B, David V, Martin A, Huang J, Li H, Jiao Y, et al. A Comparative Transcriptome Analysis Identifying FGF23 Regulated Genes in the Kidney of a Mouse CKD Model. *PLoS One*. 2012;7(9):1–15.
 120. Horn FI. *Biochemie des Menschen: Das Lehrbuch für das Medizinstudium*. Thieme.

2009;489.

121. Shobeiri N, Adams MA, Holden RM. Phosphate: An old bone molecule but new cardiovascular risk factor. *Br J Clin Pharmacol*. 2014;77(1):39–54.
122. Takeda E, Taketani Y, Sawada N, Sato T, Yamamoto H. The regulation and function of phosphate in the human body. *BioFactors* [Internet]. 2004;21(1–4):345–55. Available from: <http://doi.wiley.com/10.1002/biof.552210167>
123. Lederer E. Renal phosphate transporters. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2014;23(5):502–6.
124. Clemens B, Harald J. Regulation of Phosphate Homeostasis by PTH, Vitamin D and FGF23. 2017;69–81.
125. Capuano P, Radanovic T, Wagner C a, Bacic D, Kato S, Uchiyama Y, et al. Intestinal and renal adaptation to a low-P diet of type II NaP cotransporters in vitamin D receptor- and 1 α OHase-deficient mice. *Am J Cell Physiol*. 2005;288:429–34.
126. Lederer E. Regulation of serum phosphate. *J Physiol*. 2014;592(18):3985–95.
127. Kolek OI, Hines ER, Jones MD, LeSueur LK, Lipko MA, Kiela PR, 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 Liver Physiol* [Internet]. 2005;289(6):G1036–42. Available from: <http://www.physiology.org/doi/10.1152/ajpgi.00243.2005>
128. Padelli M, Leven C, Sakka M, Plée-Gautier E, Carré JL. Causes, conséquences et traitement de l'hypophosphorémie: une revue systématique de la littérature. *Press Medicale* [Internet]. 2017;46(11):987–99. Available from: <http://dx.doi.org/10.1016/j.lpm.2017.09.002>
129. Liu B. Hypophosphatemia is associated with poor prognosis of critically ill patients: a meta-analysis of 1 555 patients. *Chin Crit Care Med*. 2018;30(1):34–40.
130. Silbernagl S, Lang F. Taschenatlas Pathophysiologie. In: Taschenatlas Pathophysiologie [Internet]. 4. Auflage. Stuttgart: Thieme; 2013. Available from: <http://www.thieme-connect.de/products/ebooks/book/10.1055/b-002-89576>
131. Schölmerich J. Evolving concepts in IBD therapy: What should be studied in the future? In: *Digestive Diseases*. 2010. p. 472–7.
132. Moe S, Drüeke T, Cunningham J, Goodman W, Martin K, Olgaard K, et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: A position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int*. 2006;69(11):1945–53.
133. Suki WN, Moore LW. Phosphorus Regulation in Chronic Kidney Disease. *Methodist Debaque Cardiovasc J* [Internet]. 2016;12(4s):6–9. Available from: <http://journal.houstonmethodist.org/doi/10.14797/mdcj-12-4s1-6>
134. McNerny EMB, Nickolas TL. Bone Quality in Chronic Kidney Disease: Definitions and Diagnostics. *Curr Osteoporos Rep*. 2017;15(3):207–13.
135. Alem A, Sherrard D, Gillen D, Weiss N, Beresford S, Heckbert S, et al. Increased risk of hip fracture among patients with end-stage renal disease. *Kidney Int*. 2000;58(1):396–9.
136. Naylor KL, McArthur E, Leslie WD, Fraser LA, Jamal SA, Cadarette SM, et al. The three-year incidence of fracture in chronic kidney disease. *Kidney Int* [Internet]. 2014;86(4):810–8. Available from: <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2013.547>
137. Dooley AC, Weiss NS, Kestenbaum B. Increased Risk of Hip Fracture Among Men With CKD. *Am J Kidney Dis*. 2008;51(1):38–44.
138. McIntyre CW. The functional cardiovascular consequences of vascular calcification. *Semin Dial*. 2007;20(2):122–8.
139. Taketani Y, Koiwa F, Yokoyama K. Management of phosphorus load in CKD patients. *Clin*

- Exp Nephrol. 2017;21:27–36.
140. Schlieper G, Schurgers L, Brandenburg V, Reutelingsperger C, Floege J. Vascular calcification in chronic kidney disease: An update. *Nephrol Dial Transplant*. 2016;31(1):31–9.
 141. Blacher J. Arterial Calcifications, Arterial Stiffness, and Cardiovascular Risk in End-Stage Renal Disease. *Hypertension*. 2001;38(7):938–42.
 142. Fernandez-Martin JL, Martinez-Cambor P, Dionisi MP, Floege J, Ketteler M, London G, et al. Improvement of mineral and bone metabolism markers is associated with better survival in haemodialysis patients: The COSMOS study. *Nephrol Dial Transplant*. 2015;30(9):1542–51.
 143. Cannata-Andía JB, Martin KJ. The challenge of controlling phosphorus in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2016;31(4):541–7.
 144. Moher D, Hopewell S, Schulz KF, Montori V, Gøtzsche PC, Devereaux PJ, et al. CONSORT 2010 explanation and elaboration: updated guidelines for reporting parallel group randomised trials. *BMJ*. 2010;340.
 145. Vickers AJ, Altman DG. Statistics Notes: Analysing controlled trials with baseline and follow up measurements. *BMJ [Internet]*. 2001;323(7321):1123–4. Available from: <http://www.bmj.com/cgi/doi/10.1136/bmj.323.7321.1123>
 146. Schwetz V, Trummer C, Pandis M, Grübler MR, Verheyen N, Gaksch M, et al. Effects of vitamin D supplementation on bone turnover markers: A randomized controlled trial. *Nutrients*. 2017;9(5):1–11.
 147. Grübler MR, Gaksch M, Kienreich K, Verheyen N, Schmid J, Ó Hartaigh BWJ, et al. Effects of Vitamin D Supplementation on Plasma Aldosterone and Renin-A Randomized Placebo-Controlled Trial. *J Clin Hypertens (Greenwich) [Internet]*. 2016;18(7):608–13. Available from: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/jch.12825/full>
 148. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the Institute of Medicine: what clinicians need to know. *J Clin Endocrinol Metab [Internet]*. 2011;96(1):53–8. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/21118827%5Cnhttp://www.pubmedcentral.nih.gov/articlerender.fcgi?artid=PMC3046611>
 149. Zittermann A, Ernst JB, Birschmann I, Dittrich M. Effect of Vitamin D or activated Vitamin D on circulating 1,25-dihydroxyVitamin D concentrations: A systematic review and metaanalysis of randomized controlled trials. *Clin Chem*. 2015;61(12):1484–94.
 150. Marckmann P, Agerskov H, Thinesh Kumar S, Bladbjerg E-M, Sidelmann JJ, Jespersen J, et al. Randomized controlled trial of cholecalciferol supplementation in chronic kidney disease patients with hypovitaminosis D. *Nephrol Dial Transplant [Internet]*. 2012;27(9):3523–31. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/22822092>