

Nye hormoner relateret til calcium- og fosfathomøostasen ved nyresygdom

Maria Lerche Mace¹, Klaus Ølgaard² & Ewa Lewin¹

STATUSARTIKEL

1) Nefrologisk Afdeling,
Herlev-Gentofte
Hospital
2) Nefrologisk Afdeling,
Rigshospitalet

Ugeskr Læger
2018;180:V05170353

Calcium og fosfat er de hyppigst forekommende mineraler i den menneskelige organisme, og de har essentiell betydning for stort set alle metaboliske processer. Størstedelen af calcium (99%) og fosfat (80%) findes i skelettet i krystallinsk form, hvor de dels indgår som strukturel komponent i knoglevævet, og dels fungerer som buffer for opretholdelse af normale ionkoncentrationer i ekstracellulærvæsken [1]. I ekstracellulærvæsken findes calcium som biologisk aktiv fri ion samt bundet til plasmaproteiner og komplekse forbindelser. Calcium og fosfat reguleres af et kompliceret endokrint netværk bestående af flere hormoner, som opretholder mineralhomøostasen ved at regulere absorption i tarmen, udskillelse i nyreerne og knogleaktivitet [1]. Opdagelsen af *fibroblast growth factor* (FGF) 23 og dens koreceptor α Klotho har grundlæggende ændret forståelsen af det endokrine system, der regulerer mineralhomøostasen samt patogenesen ved mineral- og knogleforstyrrelsen ved nyresygdom [2].

REGULERING AF CALCIUM OG FOSFAT – TRADITIONELLE FAKTORER

Parathyroideahormon (PTH) og det biologisk aktive D-vitaminhormon, 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25 vit D), har traditionelt set været opfattet som det endokrine regulatoriske system for calcium- og fosfatstofskiftet [3]. Calcium registreres af den calciumsansende receptor (CaSR), som findes i flere væv, men især er

udtrykt i glandula parathyroidea. Koncentrationen af ioniseret calcium i blodet er stramt reguleret inden for normalområdet 1,15-1,35 mM, og et fald i calciumniveauet medfører en hurtig stigning i plasmakoncentrationen af PTH, der stimulerer knogleresorption, hvorefter calcium og fosfat frigives til blodbanen [3]. PTH nedregulerer samtidig natrium-fosfat-kotransporter type IIa og IIc (NaPi2a og NaPi2c)-ekspression på den apikale membran i den proksimale tubulus i nyreerne, så den øgede mængde fosfat udskilles. PTH stimulerer endvidere nyrerne 1- α -hydroxylase og produktion af 1,25 vit D, der opregulerer calcium- og fosfattransporten i tarmepitelet, så absorptionen øges, og derudover stimulerer 1,25 vit D knogleomsætningen. Når koncentration af ioniseret calcium er normaliseret, supprimeres PTH [4]. Persisterende høje niveauer af PTH medfører en øget knogleresorption og en udtyndning af knoglevævet. Fosfatkoncentrationen i plasma varierer over døgnet. Hvordan organismen sanser den ekstracellulære fosfatkoncentration er fortsat uafklaret [1].

FIBROBLAST GROWTH FACTOR 23 – ET FOSFAT- OG CALCIUMREGULERENDE HORMON

Kliniske observationer af de sjeldne fosfaturiske tilstande, paraneoplastisk syndrom af tumorinduceret osteomalaci og D-vitaminresistant hypofosfatæmisk rakisitis, tyder på eksistensen af en fosfaturisk faktor ud over PTH. Disse tilstande er karakteriseret ved hypofosfatæmi, forstyrret knogleminalisering og lavt niveau af plasma-1,25 vit D. I 2000 blev FGF23 klonet og karakteriseret som den fosfaturiske faktor ved de ovennævnte tilstande [5]. FGF23 er et peptidhormon, der produceres i knoglevævet af osteoblater og osteocytter, og det aktiverer FGF-receptor 1, 3 og 4, når α Klotho er udtrykt i vævet [6].

FGF23 tilhører en superfamilie af FGF-peptider, der har en bred vifte af biologiske virkninger via aktivering af FGF-receptortyrosinkinaser, en binding der faciliteres af heparin-/heparansulfat. De kanoniske FGF fungerer som autokrine eller parakrine faktorer. De er udtrykt i næsten samtlige væv og har en essentiell rolle under embryogenese og organogenese. I den voksne organisme fungerer de som homøostatiske faktorer af betydning for vævsmetabolisme, regeneration, sårhealing og angiogenese [2].

HOVEDBUDSKABER

- ▶ Nyreinsufficencens medfører forstyrrelser i calcium- og fosfatstofskiftet, der fører til udvikling af hyperfosfatæmi og sekundær hyperparathyroidisme med udtyndning af knoglevæv og dannelse af forkalkninger i blodkar og bløddede. Patienter med kronisk nyresygdom har markant øget risiko for knoglefraktur og øget kardiovaskulær mortalitet. Nuværende behandlingsprincipper har begrænset effekt.
- ▶ De nyopdagede hormoner *fibroblast growth factor* (FGF) 23 og dets koreceptor α Klotho er en del af det endokrine system, som regulerer calcium- og fosfathomøostasen. Plasmakoncentrationer af FGF23 stiger voldsomt ved nedsat nyrefunktion, og dette er associeret med øget morbiditet og mortalitet. α Klotho dannes i nyreerne, og produktionen falder tidligt ved nyresygdom.
- ▶ Kliniske studier må klarelægge, om sænkning af FGF23-niveau ved uræmi og tilførsel af α Klotho bedrer prognose og overlevelse hos patienter med kronisk nyresygdom.

Evolutionært har tre medlemmer af FGF-superfamilien (FGF15/19, FGF21 og FGF23) udviklet sig som endokrine hormoner, der er af betydning for galdesyre-, energi- og mineralomsætning. I modsætning til de kanoniske FGF har de endokrine FGF lav bindingsaffinitet til heparin-/heparansulfat. Denne reducerede bindingsevne muliggør frigivelse af disse FGF fra ekstracellulær matrix til cirkulation, og derved fungerer de som endokrine faktorer. Endokrine FGFs udøver også deres biologiske aktivitet via FGF-receptoranvendende proteiner fra Klothofamilien som obligat koreceptor [2]. Da FGF-receptorer udtrykkes i mange af organismens celler, er det tilstede værelsen af α Klotho, der gør cellen specifik for FGF23-signaler [6].

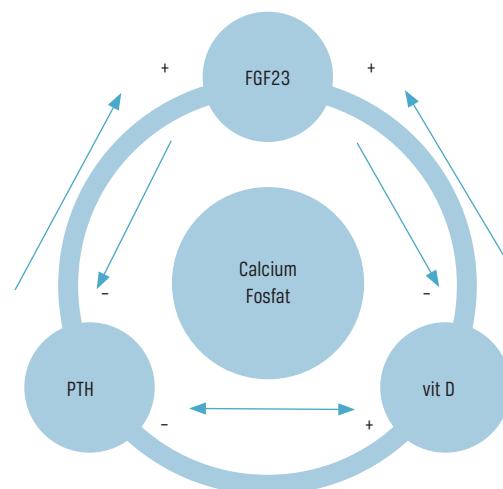
α Klotho findes primært i nyrene udtrykt både i det proksimale og det distale nefron. FGF23 nedregulerer fosfatreabsorption fra urinen i den proksimale tubulus, og herved øges fosfatudskillelsen [7]. Ved signalering via FGF-receptor- α Klotho-kompleks, aktivering af *extracellular signal-regulated kinases* (ERK1/2) og serin-/treonin-proteinkinase (SKG1) inducerer FGF23 Na^+/H^+ -exchanger regulatory factor (NHERF1)-fosforylering og nedregulerer forekomsten af NaPi2a og NaPi2c på den apikale cellemembran [8]. FGF23 regulerer endvidere nyrens enzymer, der indgår i 1,25 vit D-metabolismen. FGF23 hæmmer 1- α -hydroxylase, enzymet der omdanner 25-hydroxyvitamin D₃ til biologisk aktiv 1,25 vit D, og stimulerer samtidig 24-hydroxylase, enzymet der nedbryder 1,25 vit D. Således fungerer FGF23 som et vigtigt hormon til at nedregulere D-vitaminaktivitet [9]. I den distale tubulus har FGF23 direkte virkning som calciumkonserverende hormon, FGF23 øger forekomsten af den epithiale calciumkanal TRPV5 på den apikale membran, og herved øges calciumreabsorptionen [8]. α Klotho er også udtrykt i glandula parathyroidea, hvor FGF23 hæmmer PTH-sekretion og biosyntese via ERK1/2-signaling [10]. Det nye knoglederiverede hormon FGF23 er således en essentiel del af det endokrine system, som regulerer calcium- og fosfathomøostasen, og klassiske regulatoriske feedbackloop findes mellem FGF23, PTH og 1,25 vit D (Figur 1) [2].

ALFAKLOTHO – EN FAKTOR ASSOCIERET MED LANG LEVETID

α Klotho blev opdaget af Kuro-o *et al* ved et lykketræf i 1997 under arbejdet med en eksperimentel transgen hypertensionmodel, som mislykkedes, men medførte tab af α Klothogenekspresjon i mus og en fænotype, der ligner accelereret human aldring. En hypomorf Klothomus har forkortet levetid, forkalkninger i blodkar, osteoporose, sarkopeni, organatrofi, hyperfosfatæmi og øget 1,25 vit D-niveau. Overekspression af α Klotho forlænger derimod levetiden væsentligt med omkring 30%. Genet blev navngivet efter den græske

 FIGUR 1

Det endokrine system for calcium- og fosfathomøostasen. Knoglens fibroblast growth factor (FGF) 23-produktion bliver stimuleret af både parathyroidehormon (PTH) og 1,25 dihydroxyvitamin D₃ (1,25 vit D). FGF23 hæmmer PTH-produktion i glandula parathyroidea. FGF23 nedregulerer 1,25 vit D-synteseezymet, 1 α -hydroxylase og opregulerer nedbrydningenzymet 24-hydroxylase. Herved hæmmer FGF23 1,25 vit D-aktivitet. PTH stimulerer nyrens 1,25 vit D-syntese, og 1,25 vit D har en negativ feedbackregulering af PTH. Hormonernes direkte (og indirekte) virkning på plasmacalcium- og -fosfatniveau ses nederst [2].



Effekt på calcium (Ca) og fosfat (P)		
PTH	↑ Ca	↓ P
1,25 vit D	↑ Ca	↑ P
FGF23	(↓ Ca)	↓ P

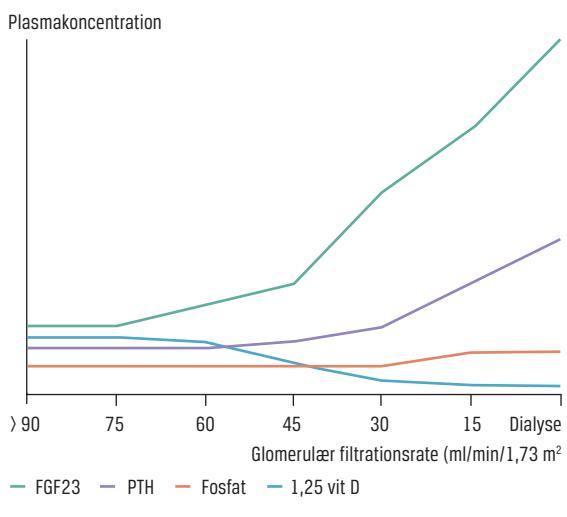
skæbnegudinde Klotho, som spinder livets tråd [11]. α Klothoprotein findes i to former, membran- α Klotho og cirkulerende α Klotho. Membranproteinet findes i nyrene, glandula parathyroidea og plexus choroideus, hvor det fungerer som koreceptor for FGF23. Det spaltes af sekretaserne ADAM 10 og 17 og secerneres til blodet, cerebrospinalvæsken og urinen, og det cirkulerrende α Klothoprotein har funktioner separat fra FGF23 og kan indvirke på flere signalveje, f.eks. transforming growth factor- β 1-signaling, samt regulere aktivitet af flere ionkanaler og oxidativ stress [6, 12].

FORSTYRRELSE I FOSFAT, FIBROBLAST GROWTH FACTOR 23, ALFAKLOTHO OG KARDIOVASKULÆR SYGDOM VED NYREINSUFFICIENS

Forstyrrelsen i mineralhomøostasen begynder allerede ved let nedsat nyrefunktion med initial øgning af plasma-FGF23 (Figur 2), fald i nyrens α Klothoproduktion, fald i plasma 1,25 vit D-niveau, udvikling af sekundær hyperparathyroidisme og fosfatretention [13,

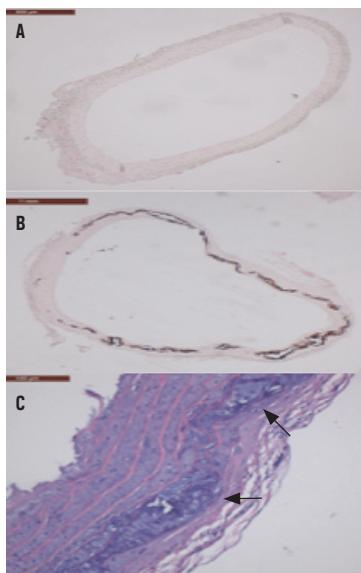
FIGUR 2

De hormonelle ændringer i calcium- og fosfatstofskiftet ved progression af nyreinsufficiens – plasmakoncentrationer af *fibroblast growth factor* (FGF) 23, 1,25-dihydroxyvitamin D₃ (1,25 vit D) og parathyroideahormon (PTH). Ændringer i de hormoner, som regulerer calcium- og fosfatbalancen, opstår allerede ved let nedsat nyrefunktion. Først stiger det fosfaturiske hormon FGF23. Dernæst følger et fald i 1,25 vit D-niveau grundet FGF23's inhibitoriske effekt på 1,25 vit D-metabolisme. Derefter stiger PTH-niveauet, der stimuleres af både lavt 1,25 vit D-niveau, lavt calciumniveau og fosfatretnition. Plasmakoncentrationen af fosfat stiger først ved svært nedsat nyrefunktion [13]. Plasmakoncentrationen af α Klotho er ikke inkluderet i figuren. Eksperimentelle studier tyder på, at produktion af α Klotho falder tidligt ved nyreinsufficiens. Der mangler stadig et validt assay til at måle α Klothoniveauet i plasma hos mennesker [12].



FIGUR 3

Den vaskulære kalcifikation ved uræmi er karakteriseret ved forkalkninger i lamina media i arteriene, hvor den vaskulære glatmuskelcelle ændrer fænotype til en knoglelignende celle. Histologisk vævsnit af aorta fra en uræmisk rotte. A. Der ses ingen kalkaflejringer i aorta fra en normal rotte ved von Kossa-farvning. B. derimod ses svære kalkaflejringer i lamina media i aorta fra en uræmisk rotte. C. Hæmatoxylin og eosin-farvning af aorta fra en uræmisk rotte viser den osteokondrogene transformation i de forkalkede områder af karvæggen med prolifération af glatmuskelcellerne og tilstedeværelsen af knoglelignende celler (pile) [16].



14]. Denne forstyrrelse i mineralhomøostasen er assosieret med udvikling af forkalkninger i blodkar, navnlige arterier, samt hjerteklapper, og hjerte-kar-sygdom er den primære dødsårsag for patienter med kronisk nyresygdom [15]. Karakteristisk for de vaskulære kalcifikationer ved uræmi er de svære kalkaflejringer i lamina media i karvæggen, Mönckebergs sklerose, også kendt fra diabetes og aldring (Figur 3) [16]. Udfældning af kalk i blodkar er en reguleret, cellemedieret proces. Både et uræmisk miljø og fosfat i sig selv kan inducere en ændring i den vaskulære glatmuskelcelles fænotype fra en kontraktile muskelcelle til en osteoblastlignende celle, der danner proteiner og ekstracellulær matrix, som er karakteristisk for knoglevæv, hvori kalk aflejres [16]. Fosfatretnitionen ved uræmi spiller en central rolle i dannelsen af vaskulære forkalkninger. In vitro er et højt fosfatniveau i kulturmediet påvist at kunne inducere transformation af vaskulære glatmuskelceller til osteoblastlignende celler, en effekt, der er medieret af en øget aktivitet af Pit-1, en type III-natriumafhængig fosfatkotransporter [17].

Lamina media-forkalkninger fører til karstivhed, hypertension og venstre ventrikkel-hypertrofi (VVH), hvilket hyppigt ses hos patienter med kronisk nyresygdom [15]. Epidemiologiske studier har vist, at selv lette øgninger i plasmafosfatniveauet øger risikoen for kardiovaskulære kalcifikationer. Således er selv en stigning inden for normalområdet i fosfatniveauet hos patienter med moderat nyreinsufficiens forbundet med både vaskulære forkalkninger og hjerteklapforkalkninger, helt uafhængigt af niveauet af både PTH og 1,25 vit D [18]. En tilsvarende relation mellem fosfat, endda i normalområdet, VVH, kardiovaskulære events og mortalitet er herudover fundet hos personer uden nyreinsufficiens [19, 20].

Epidemiologiske og eksperimentelle studier indikerer, at FGF23 er et potentielt uræmisk toksin. Plasmakoncentrationer af FGF23 stiger voldsomt i takt med progression af nyresygdom, hvilket skyldes nedsat renal nedbrydning af hormonet og flere andre faktorer i den uræmiske tilstand inklusive den sekundære hyperparathyroidisme, der stimulerer knoglegens produktion af FGF23 [21, 22]. FGF23-niveauet er korreleret til progression af nyresygdom, udvikling af hjerte-kar-sygdom og mortalitet [2, 23]. Eksperimentelle studier har vist, at høje niveauer af FGF23 kan inducere off target-effekt ved at aktivere FGF-receptorer, specielt FGF-receptor 4, i væv, hvor α Klotho ikke er udtrykt, og dermed kan stimulere produktion af inflammatoriske proteiner i leveren og inducere hypertrofi af kardiomycytter [24, 25].

Flere eksperimentelle studier har vist en beskyttende effekt af α Klotho på skader på nyre og blodkar [26, 27]. α Klothoproduktionen falder tidligt ved nyresygdom, og følgetilstandene af kronisk nyresygdom

kan ses som accelererede aldringsprocesser [12]. Således er uræmiske patienter præget af svære vaskulære kalcifikationer, muskelsvaghed, nedsat knoglemineralindhold, hudatrofi, progredierende renal fibrose og nedsat livslængde; disse forandringer er også beskrevet i fænotypen af hypomorf α Klothomus.

I dag anvendes der behandlinger mod to centrale komponenter i mineral- og knogleforstyrrelsen ved nyresygdom, hyperfosfatæmien og den sekundære hyperparathyroidisme. Behandlingen af den sekundære hyperparathyroidisme sænker frakturnrisikoen, men patienterne har fortsat udtalt kardiovaskulær sygdom. Koncentrationen af fosfat i plasma stiger sent i forløbet ved nedsat nyresygdom efter store ændringer i de regulatoreiske hormoner, og på dette tidspunkt findes der allerede svære forkalkninger i blodkarrene hos de fleste patienter [15]. I et igangværende studie undersøger man, om påbegyndelse af behandling med sænkning af fosfatoptagelse ved tidlige stadier af nedsat nyrefunktion er gunstigt for patienterne med henblik på at sænke både fosfat- og FGF23-niveauet [28].

KONKLUSION

Patienter med nedsat nyrefunktion får tidligt i forløbet en forstyrrelse i deres mineral- og knoglehomøostase, som progredierer med tabet af nyrefunktion og fører til fosfatretention, sekundær hyperparathyroidisme med udtynding af knoglevæv og højere risiko for fraktur samt udvikling af forkalkninger i bløddede og blodkar. Forståelsen af patogenese og mekanismer ved forstyrrelser i mineralhomøostasen ved uræmi er markant eksanderet i de senere år med opdagelsen af de nye hormoner FGF23 og α Klotho. I dag er behandlingerne rettet mod at sænke niveauerne af plasmafosfat og PTH. Kliniske studier er nødvendige for at klarlægge, om sænkning af FGF23-niveauet, blokade af FGF-receptor 4 og administration af α Klotho vil bedre prognose og overlevelse for patienter med nedsat nyrefunktion.

SUMMARY

Maria Lerche Mace, Klaus Ølgaard & Ewa Lewin:

Novel hormones related to the calcium and phosphate homeostasis in kidney disease

Ugeskr Læger 2018;180:V05170353

Calcium and phosphate levels are regulated by a complex interplay between parathyroid hormone (PTH), calcitriol, fibroblast growth factor 23 (FGF23) and its co-receptor α Klotho. Kidney failure causes severe disturbances in the mineral and bone homeostasis resulting in phosphate retention, hypocalcaemia and high plasma levels of FGF23 and PTH, and the patients develop fragile bones and vascular calcifications. Today's treatments aim to lower the levels of phosphate and PTH. Future studies need to clarify, if lowering the FGF23 level or supplementation with α Klotho will improve survival for patients with chronic kidney disease.

KORRESPONDANCE: Maria Lerche Mace.

E-mail: m.lerche.mace@gmail.com

ANTAGET: 31. januar 2018

PUBLICERET PÅ UGESKRIFTET.DK: 21. maj 2018

INTERESSEKONFLIKTER: ingen. Forfatternes ICMJE-formularer er tilgængelige sammen med artiklen på Ugeskriftet.dk

LITTERATUR

- Allgrove J. Physiology of calcium, phosphate, magnesium and vitamin D. *Endocr Dev* 2015;28:7-32.
- Martin A, David V, Quarles LD. Regulation and function of the FGF23/klotho endocrine pathways. *Physiol Rev* 2012;92:131-55.
- Nordholm A, Mace ML, Gravesen E et al. A potential kidney–bone axis involved in the rapid minute-to-minute regulation of plasma Ca²⁺. *BMC Nephrol* 2015;16:29.
- Gravesen E, Mace ML, Hofman-Bang J et al. Circulating FGF23 levels in response to acute changes in plasma Ca(2+). *Calcif Tissue Int* 2014;95:46-53.
- ADHR Consortium. Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet* 2000;26:345-8.
- Hu MC, Shizaki K, Kuro-o M et al. Fibroblast growth factor 23 and Klotho: physiology and pathophysiology of an endocrine network of mineral metabolism. *Annu Rev Physiol* 2013;75:503-33.
- Gattineni J, Bates C, Twombly K 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:F282-F291.
- Erben RG, Andrukova O. FGF23 regulation of renal tubular solute transport. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2015;5:450-6.
- Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y et al. Targeted ablation of FGF23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin Invest* 2004;113:561-8.
- Ben-Dov IZ, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V et al. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *J Clin Invest* 2007;117:4003-8.
- Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature* 1997;390:45-51.
- Lewin E, Olgaard K. The vascular secret of Klotho. *Kidney Int* 2015;87:1089-91.
- Wolf M. Forging forward with 10 burning questions on FGF23 in kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:1427-35.
- Isakova T, Wahl P, Vargas GS et al. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2011;79:1370-8.
- Tonelli M, Wiebe N, Culleton B et al. Chronic kidney disease and mortality risk: a systematic review. *J Am Soc Nephrol* 2006;17:2034-47.
- Rukov JL, Gravesen E, Mace ML et al. Effect of chronic uremia on the transcriptional profile of the calcified aorta analysed by RNA-sequencing. *Am J Physiol Renal Physiol* 2016;310:F477-F491.
- Shroff R. Phosphate is a vascular toxin. *Pediatr Nephrol* 2013;28:583-93.
- Adeney KL, Siscovick DS, Ix JH et al. Association of serum phosphate with vascular and valvular calcification in moderate CKD. *J Am Soc Nephrol* 2009;20:381-7.
- Cancela AL, Santos RD, Titan SM et al. Phosphorus is associated with coronary artery disease in patients with preserved renal function. *PLoS One* 2012;7:e36883.
- Dhingra R, Gona P, Benjamin EJ et al. Relations of serum phosphorus levels to echocardiographic left ventricular mass and incidence of heart failure in the community. *Eur J Heart Fail* 2010;8:812-8.
- Mace ML, Gravesen E, Hofman-Bang J et al. Key role of the kidney in the regulation of fibroblast growth factor 23. *Kidney Int* 2015;88:1304-13.
- Mace ML, Gravesen E, Nordholm A et al. Kidney fibroblast growth factor 23 does not contribute to elevation of its circulating levels in uremia. *Kidney Int* 2017;92:165-78.
- Gutierrez OM, Mannstadt M, Isakova T et al. Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 2008;359:584-92.
- Singh S, Grabner A, Yanucil C et al. Fibroblast growth factor 23 directly targets hepatocytes to promote inflammation in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2016;90:985-96.
- Grabner A, Amaral AP, Schramm K et al. Activation of cardiac fibroblast growth factor receptor 4 causes left ventricular hypertrophy. *Cell Metab* 2015;22:1020-32.
- Neyra JA, Hu MC. Potential application of klotho in human chronic kidney disease. *Bone* 2017;100:41-9.
- Six I, Okazaki H, Gross P et al. Direct, acute effects of Klotho and FGF23 on vascular smooth muscle and endothelium. *PLoS One* 2014;9:e93423.
- Isakova T, Ix JH, Sprague SM et al. Rationale and approaches to phosphate and fibroblast growth factor 23 reduction in CKD. *J Am Soc Nephrol* 2015;26:2328-39.