



Linfangioleiomiomatose: níveis circulantes de FGF23 e difusão pulmonar

Anthony J Esposito^{1,2}, Jewel Imani¹, Shikshya Shrestha¹, Shefali Bagwe¹, Anthony M Lamattina¹, Marina Vivero³, Hilary J Goldberg¹, Ivan O Rosas⁴, Elizabeth P Henske¹, Souheil Y El-Chemaly^{1,5}

1. Department of Medicine, Division of Pulmonary and Critical Care Medicine, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston (MA) USA.
2. Department of Medicine, Division of Pulmonary and Critical Care Medicine, Northwestern University, Feinberg School of Medicine, Chicago (IL) USA.
3. Department of Pathology, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston (MA) USA.
4. Department of Medicine, Section of Pulmonary, Critical Care, and Sleep Medicine, Baylor College of Medicine, Houston (TX) USA.
5. Sanofi, Cambridge (MA) USA.

Recebido: 25 setembro 2022.

Aprovado: 19 fevereiro 2023.

Estudo realizado no *Brigham and Women's Hospital*, Boston (MA) EUA.

RESUMO

Objetivo: A linfangioleiomiomatose (LAM) é uma doença rara e destrutiva dos pulmões com um número limitado de determinantes da atividade da doença, que são uma necessidade crítica para ensaios clínicos. O FGF23 já foi implicado em várias doenças pulmonares crônicas. O nosso objetivo foi determinar a associação entre os níveis séricos de FGF23 e a função pulmonar em uma coorte de pacientes com LAM. **Métodos:** Estudo descritivo unicêntrico no qual foram recrutados indivíduos com LAM e controles com doenças pulmonares não declaradas. Os níveis séricos de FGF23 foram medidos em todos os indivíduos. Os dados clínicos, incluindo testes de função pulmonar, foram obtidos retrospectivamente a partir dos prontuários eletrônicos dos indivíduos com LAM. As associações entre os níveis de FGF23 e as características clínicas da LAM foram exploradas por meio do teste de hipóteses não paramétrico. **Resultados:** A amostra incluiu 37 indivíduos com LAM e 16 controles. Os níveis de FGF23 foram mais altos no grupo LAM do que no grupo controle. No grupo LAM, níveis de FGF23 acima do ponto de corte ideal distinguiram 33% dos indivíduos com níveis não diagnósticos de VEGF-D. Níveis mais baixos de FGF23 estavam associados à DL_{CO} comprometida ($p = 0,04$), particularmente naqueles com comprometimento isolado da difusão e sem outras alterações espirométricas ($p = 0,04$). **Conclusões:** Nossos resultados sugerem que o FGF23 está associado a alterações na difusão pulmonar em pacientes com LAM e potencialmente indicam novos mecanismos de patogênese da LAM. O FGF23 isoladamente ou em combinação com outras moléculas precisa ser validado como um biomarcador da atividade da LAM em futuras pesquisas clínicas.

Descritores: Linfangioleiomiomatose; Fator de crescimento de fibroblastos 23; Capacidade de difusão pulmonar.

INTRODUÇÃO

A linfangioleiomiomatose (LAM) é uma doença cística rara dos pulmões.⁽¹⁾ Afeta quase exclusivamente mulheres jovens em idade fértil e ocorre esporadicamente ou em associação com *tuberous sclerosis complex* (TSC, complexo da esclerose tuberosa), sendo que a associação TSC-LAM afeta até 81% das mulheres com a síndrome genética.^(2,3) A LAM causa a destruição progressiva do parênquima pulmonar em virtude do acúmulo de células LAM semelhantes a células de músculo liso que, sem terapia citostática, acaba resultando em insuficiência respiratória e morte na ausência de transplante pulmonar.

Mutações por perda de função nos genes supressores tumorais *TSC1* ou *TSC2* resultam na ativação constitutiva do alvo mamífero/meanicista da via da rapamicina, levando a um crescimento descontrolado, motilidade e sobrevivência das células de LAM, entre outras alterações.⁽⁴⁾ As células de LAM — além dos monócitos estimulados por células *TSC2* deficientes — liberam VEGF-D,^(5,6) que foi validado como biomarcador diagnóstico em virtude de sua elevação no sangue periférico de pacientes com

LAM em comparação com controles saudáveis.^(6,7) Um nível de VEGF-D superior a 800 pg/mL é 100% específico para LAM, mas tem uma taxa de falso-negativos de cerca de 40%, o que, na ausência de outras características de LAM (ou seja, angiomiolipoma, derrame quiloso), frequentemente torna necessária uma biópsia pulmonar.⁽⁸⁾ Independentemente dos níveis de VEGF-D ou da evidência de hipertensão pulmonar, nós e outros demonstramos anteriormente que um subgrupo de pacientes com LAM pode apresentar redução isolada da DL_{CO}.⁽⁹⁻¹¹⁾

Alteração da densidade mineral óssea é frequente em pacientes com LAM e já foi associada à deficiência de estrogênio e doenças pulmonares.⁽¹²⁾ O FGF23, proteína de 32 kDa secretada pelos osteócitos, é essencial para a manutenção da homeostase do fosfato sérico e se encontra desregulado nas doenças humanas que afetam a densidade mineral óssea.⁽¹³⁾ Conseqüentemente, os níveis de FGF23 apresentam correlação positiva com a inflamação das vias aéreas na DPOC e se encontram elevados nos pulmões de pacientes com fibrose pulmonar idiopática (FPI), doença na qual o FGF23 desempenha um papel antifibrótico e anti-inflamatório.^(14,15) Portanto,

Endereço para correspondência:

Anthony J Esposito. 675 North Saint Clair Street, Suite 18-250, Chicago, ZIP 60611, IL, USA.

Tel.: 1 312 695-1800. Fax: 1 312 695-4741. E-mail: anthony.esposito@northwestern.edu

Apoio financeiro: Souheil Y El-Chemaly recebeu apoio financeiro dos *Congressionally Directed Medical Research Programs* (TS180064) e do *Anne Levine LAM Research Fund*. Anthony J Esposito recebeu apoio financeiro do *National Heart, Lung, and Blood Institute at the National Institutes of Health* (F32 HL151132).

aventamos a hipótese de que os níveis circulantes de FGF23 se encontrariam alterados em pacientes com LAM e estariam associados à função pulmonar comprometida.

MÉTODOS

Mulheres adultas (≥ 18 anos de idade) com LAM e controles adultos saudáveis do sexo feminino foram recrutados no *Brigham and Women's Hospital* (Boston, MA, EUA) segundo protocolos aprovados pelo Conselho de Revisão Institucional do *Mass General Brigham* (2008P002027 e 2012P000840). Todos os indivíduos participantes assinaram um termo de consentimento livre e esclarecido. A LAM foi diagnosticada por critérios estabelecidos.⁽¹⁶⁾ Foram excluídos os indivíduos com histórico de tabagismo ou que estavam recebendo inibidores do alvo da rapamicina em mamíferos/mechanicista. Amostras de soro foram coletadas de cada indivíduo por meio de protocolos padronizados. Dados sobre idade e testes de função pulmonar (TFP) foram coletados retrospectivamente dos prontuários médicos. Os TFP foram realizados em um laboratório clínico de acordo com os padrões da *American Thoracic Society*.⁽¹⁷⁾ As concentrações de FGF23 foram determinadas por ELISA (R&D Systems, Minneapolis, MN, EUA) segundo o protocolo do fabricante.

Os grupos LAM e controle foram comparados quanto à idade basal por meio do teste U de Mann-Whitney. Defeito de difusão foi definido segundo os critérios da *American Thoracic Society*.⁽¹⁸⁾ Redução isolada da DL_{CO} foi definida como VEF_1 e CVF acima (ou seja, normal) e DL_{CO} abaixo (ou seja, alterada) do 5º percentil dos valores previstos. Uma curva ROC foi gerada para determinar se os níveis de FGF23 eram efetivos para identificar mulheres com LAM vs. controles. Foram excluídos os níveis de FGF23 abaixo do nível de detecção do teste ELISA (78,1 pg/mL), e atribuiu-se um valor de 50.000 pg/mL aos níveis acima do nível de detecção (5.000 pg/mL em uma diluição de 1:10) para essas análises. Os *outliers* foram excluídos pelo método *extreme studentized deviate*. A ASC e o IC95% correspondente foram calculados pelos métodos trapezoidal e de Wilson-Brown, respectivamente. Os valores ideais de FGF23 para diferenciar indivíduos com e sem LAM foram determinados pelo índice de Youden. A associação entre os níveis de FGF23 e de VEGF-D foi determinada pela correlação de postos

de Spearman. Todas as análises estatísticas foram realizadas com o programa Stata, versão 16.1 (College Station, TX, EUA).

RESULTADOS

Foram recrutados 37 indivíduos com LAM e 16 indivíduos controle para esta análise. As características basais dos indivíduos com LAM são apresentadas na Tabela 1. A média de idade nos grupos LAM (46 anos; IIQ: 35-56 anos) e controle (43 anos; IIQ, 37-51 anos) não diferiu estatisticamente ($p = 0,94$). Os dados de função pulmonar dos indivíduos controle não estavam disponíveis; no entanto, esses indivíduos não tinham histórico autorrelatado de doença pulmonar. A mediana do intervalo entre a flebotomia para avaliação dos níveis séricos de FGF23 e os TFP foi de um dia (IIQ: 0-31 dias).

Os indivíduos com LAM apresentaram níveis mais altos de FGF23 do que os controles (Figura 1A). A curva ROC avaliando a eficiência dos níveis de FGF23 para discriminar os grupos LAM e controle (Figura 1B) produziu uma ASC de 0,74 (IC95%: 0,60-0,88; $p = 0,0059$). O ponto de corte ideal de 1.349,0 pg/mL estimado a partir da curva ROC identificou corretamente quase todos os controles, exceto 2, produzindo uma especificidade de 87,50%, e 22 indivíduos com LAM, produzindo uma sensibilidade de 59,46% (razão de verossimilhança positiva de 4,76). Os níveis de FGF23 e de VEGF-D apresentaram correlação inversa ($p = -0,37$; $p = 0,03$). A mediana do nível de FGF23 nos indivíduos com LAM e níveis não diagnósticos de VEGF-D (< 800 pg/mL) foi significativamente maior (12.843,9 pg/mL; IIQ: 3.044,2-32.096,6 pg/mL) do que naqueles com LAM e níveis diagnósticos de VEGF-D (1.365,6 pg/mL; IIQ: 395,4-1.690,8 pg/mL; $p = 0,01$). Dos 22 indivíduos com LAM e níveis de FGF23 elevados, 21 tinham resultados de dosagem de VEGF-D disponíveis para análise, dos quais 7 (33%) estavam abaixo do limiar diagnóstico de 800 pg/mL. Por outro lado, dos 27 indivíduos com níveis de VEGF-D elevados, 13 (48%) apresentaram níveis de FGF23 abaixo do ponto de corte ideal.

Entre os indivíduos com LAM, o defeito de difusão estava associado a níveis mais baixos de FGF23 (Figura 2A). Os indivíduos com defeito isolado de difusão também apresentaram níveis mais baixos de FGF23 em comparação com aqueles com DL_{CO} normal ou com alterações nos TFP (Figura 2B). Os níveis de FGF23, no entanto, não estavam associados a alterações no VEF_1 ou na CVF.

Tabela 1. Características basais dos indivíduos com linfangioleiomiomatose (N = 37).^a

Variáveis	Indivíduos
Idade, anos	46 [35-56]
TSC	6 (16)
VEF_1 , % do previsto	88 [75-98]
CVF, % do previsto	98 [90-108]
DL_{CO} , % do previsto	73 [57-88]
Redução isolada da DL_{CO}	7 (19)

TSC: *tuberous sclerosis complex* (complexo da esclerose tuberosa). ^aValores expressos em n (%) ou mediana [IIQ]. Dados indisponíveis: DL_{CO} (n = 1).

DISCUSSÃO

O FGF23 já foi associado a doenças pulmonares crônicas como DPOC e FPI.^(14,15) Aqui, demonstramos que os níveis séricos de FGF23 diferenciam indivíduos com LAM de controles e estão associados a defeitos de difusão pulmonar. Esses achados não foram relatados anteriormente, sugerem diferenças mecanicistas subjacentes na patogênese da doença e propõem um

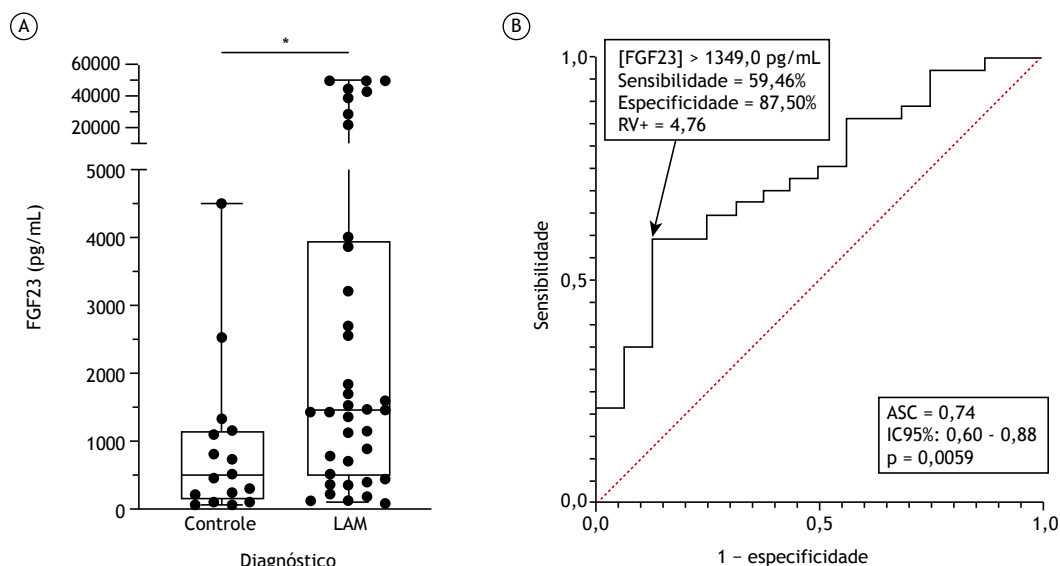


Figura 1. Níveis circulantes de FGF23 diferenciam indivíduos com linfangioleiomiomatose (LAM) de controles saudáveis. Em A, níveis séricos de FGF23 em indivíduos controle (N = 16) e com LAM (N = 37). Em B, curva ROC avaliando a eficiência dos níveis séricos de FGF23 para discriminar indivíduos com LAM de controles. RV+: razão de verossimilhança positiva. *p < 0,05.

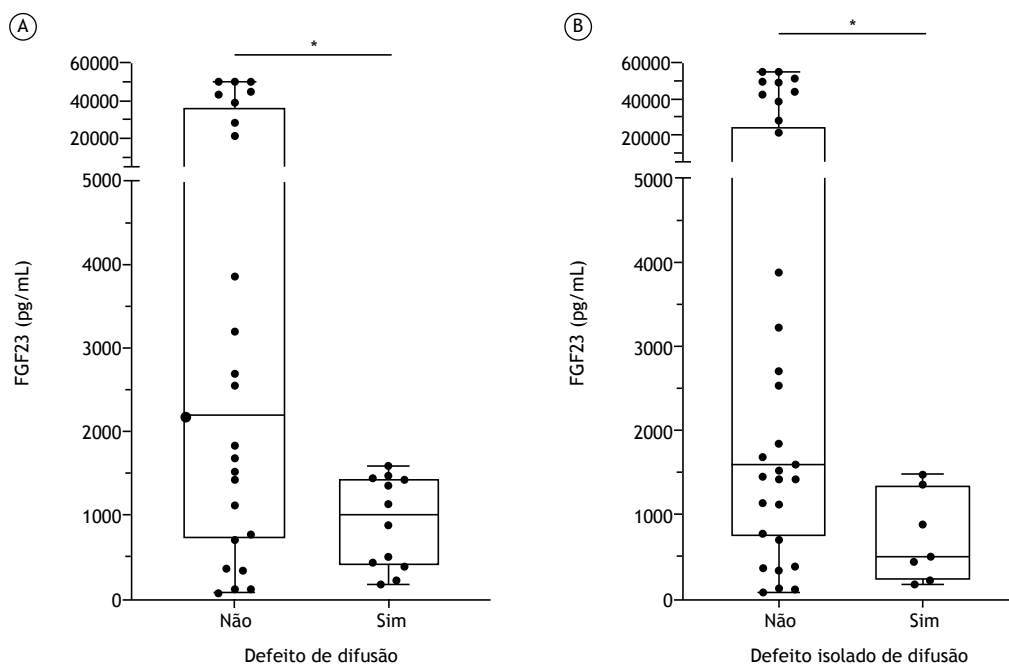


Figura 2. Níveis circulantes de FGF23 são mais baixos em indivíduos com linfangioleiomiomatose (LAM) e alterações na difusão pulmonar. Em A, níveis séricos de FGF23 em indivíduos com LAM (N = 36) com ou sem defeito de difusão. Em B, níveis séricos de FGF23 em indivíduos com LAM (N = 36) com ou sem defeito isolado de difusão. *p < 0,05.

potencial candidato a biomarcador da atividade da doença na LAM, uma necessidade ainda não atendida no desenho de ensaios clínicos.

O FGF23 é um hormônio fosfatúrico que atua nos tecidos por meio de receptores de FGF e Klotho, sendo que essa última atua como correceptor.⁽¹⁹⁾ Estudos anteriores implicaram FGF23 e Klotho em doenças pulmonares. Os níveis plasmáticos de FGF23

encontram-se aumentados em pacientes com DPOC e já foram associados a um fenótipo de exacerbação frequente.⁽²⁰⁾ Tanto no modelo de camundongos *knockout* para Klotho e para o receptor 4 do FGF, a inflamação das vias aéreas encontra-se aumentada.^(14,21) Além disso, os níveis de FGF23 encontram-se suprarregulados em indivíduos com FPI, e a administração conjunta de FGF23 e Klotho reduziu os marcadores fibróticos e

inflamatórios em fibroblastos estimulados pelo TGF- β .⁽¹⁵⁾ O presente estudo é, até onde sabemos, o primeiro a implicar FGF23 na LAM.

Níveis baixos de Klotho já foram associados à função pulmonar comprometida, incluindo DL_{CO} baixa, em pacientes com leves alterações parenquimatosas não dependentes que afetam mais de 5% dos pulmões na TC, denominadas alterações pulmonares intersticiais.⁽²²⁾ Em células *TSC2* deficientes — como as células de LAM — já foi demonstrado que Klotho apresenta efeito citocida.⁽²³⁾ Klotho e FGF23 são regulados reciprocamente de tal forma que se espera que pacientes com níveis baixos de Klotho tenham níveis altos de FGF23.⁽²⁴⁾ Em nosso estudo, encontramos associação entre níveis baixos de FGF23 e defeitos de difusão em pacientes com LAM, que é distinta da associação descrita em pacientes com alterações pulmonares intersticiais. Dada a interação entre FGF23 e Klotho em modelos experimentais e seus papéis descritos anteriormente em doenças respiratórias humanas, é tentador aventar a hipótese de que o FGF23 não só é um biomarcador de LAM, mas também pode contribuir para a patogênese da doença. O papel do FGF23 na LAM pode refletir o que já foi descrito para a variante do promotor *MUC5B* na FPI — tanto de forma prediativa quanto prognóstica.^(25,26) São necessários estudos pré-clínicos que examinem o papel do FGF23 e/ou de seu cofator Klotho na patogênese e progressão da LAM.

Muitos biomarcadores já foram descritos para a LAM; no entanto, a maioria não tem relação com a gravidade da doença. O VEGF-D é um biomarcador amplamente utilizado no diagnóstico da LAM; no entanto, ele tem uma taxa de falso-negativos de cerca de 40%.^(7,8) Nossa coorte produziu um desempenho semelhante, já que 8 dos 35 indivíduos com LAM e dados de VEGF-D disponíveis (23%) apresentaram níveis inferiores ao limiar diagnóstico. Encorajadoramente, constatamos que o FGF23 identificou corretamente 7 desses 8 indivíduos (88%) com LAM e níveis não diagnósticos de VEGF-D. Os níveis de FGF23 e de VEGF-D apresentaram correlação negativa em nosso estudo. Uma possível explicação para essa observação é que o FGF23 e o VEGF-D podem ter mecanismos regulatórios diferentes e que pacientes com FGF23 e VEGF-D baixos podem apresentar um fenótipo clínico único de doença leve. Nossos dados sugerem que, uma vez validado, o FGF23 pode ter valor diagnóstico em mulheres com “LAM VEGF-D negativa” para evitar a necessidade de biópsia pulmonar.

A identificação de biomarcadores da atividade da doença LAM para apoiar o desenho de ensaios clínicos é uma prioridade de pesquisa amplamente reconhecida entre os especialistas da área.⁽²⁷⁻²⁹⁾ Pesquisas anteriores demonstraram que, além do VEGF-D,⁽³⁰⁾ os níveis séricos de endostatina e de proteína de ligação à vitamina D apresentam correlação com os níveis de DL_{CO} e que esses últimos também estão associados a um fenótipo de doença progressiva.^(10,31) Nosso estudo sugere que FGF23 também pode ser uma adição valiosa a esses biomarcadores emergentes da função pulmonar em

pacientes com LAM, já que níveis mais baixos estavam associados a defeito de difusão e redução isolada da DL_{CO}. Pesquisas futuras são necessárias para determinar o desempenho desses biomarcadores, incluindo o FGF23, potencialmente como parte de um painel que avalie a atividade da doença em pacientes com LAM, o qual pode ter um desempenho melhor do que o de qualquer um deles isoladamente.

Nosso estudo tem várias limitações importantes. Embora nossos dados tenham identificado uma associação entre FGF23, alterações na difusão pulmonar e indivíduos com LAM, o desempenho do FGF23 como um potencial biomarcador da doença ainda não foi comprovado. Sugerimos um papel potencial para o FGF23 na avaliação da atividade da doença; entretanto, estudos futuros precisarão validar esses achados em uma coorte independente para estabelecer a generalização. Além disso, o tamanho de nossa amostra de pacientes com LAM foi pequeno, o que se deve em parte à prevalência extremamente baixa da doença. Apesar dessa consideração, ainda fomos capazes de determinar associações estatisticamente significativas com importantes implicações clínicas, sugerindo que o tamanho do efeito do FGF23 pode ser substancial. Em estudos posteriores com coortes maiores, poder significativo para identificar associações entre o FGF23 e as características de pacientes com LAM deverá impulsionar nossas conclusões. Além disso, nosso estudo carece de avaliação longitudinal. É possível que os níveis de FGF23 estejam associados ao declínio progressivo da função pulmonar; para nossos propósitos, esses níveis foram determinados apenas em um único momento. Seria importante determinar se os níveis de FGF23 prevêm doença progressiva, pois haveria importantes implicações terapêuticas e prognósticas.

Em resumo, constatamos que os níveis séricos de FGF23 estavam associados a alterações na difusão pulmonar e distinguimos indivíduos com LAM de controles. Embora estudos adicionais sejam necessários para validar nossas conclusões, esses achados podem ter implicações importantes para futuras pesquisas de investigação translacional da patogênese da LAM e para o desenho de ensaios clínicos, potencialmente como um marcador da atividade da doença.

AGRADECIMENTOS

Nossos sinceros agradecimentos às pacientes com LAM e suas famílias que participaram do estudo e à equipe do Centro de Pesquisa e Atendimento Clínico em LAM do *Brigham and Women's Hospital* por seus esforços.

CONTRIBUIÇÕES DOS AUTORES

AJE, AML, MV, HJG, IOR, EPH e SYE-C: desenho do estudo. AJE, JI, SS, SB, AML, MV e SYE-C: aquisição, análise ou interpretação dos dados. AJE e SYE-C: análise estatística. Todos os autores contribuíram para a revisão crítica do manuscrito quanto ao conteúdo

intelectual importante. Todos os autores leram e aprovaram o manuscrito final.

CONFLITOS DE INTERESSE

Nenhum declarado.

REFERÊNCIAS

- Johnson SR. Lymphangioliomyomatosis. *Eur Respir J*. 2006;27(5):1056-1065. <https://doi.org/10.1183/09031936.06.00113303>
- Moss J, Avila NA, Barnes PM, Litzenger RA, Bechtle J, Brooks PG, et al. Prevalence and clinical characteristics of lymphangioliomyomatosis (LAM) in patients with tuberous sclerosis complex. *Am J Respir Crit Care Med*. 2001;164(4):669-671. <https://doi.org/10.1164/ajrccm.164.4.2101154>
- Cudzilo CJ, Szczesniak RD, Brody AS, Rattan MS, Krueger DA, Bissler JJ, et al. Lymphangioliomyomatosis screening in women with tuberous sclerosis. *Chest*. 2013;144(2):578-585. <https://doi.org/10.1378/chest.12-2813>
- Henske EP, Jóźwiak S, Kingswood JC, Sampson JR, Thiele EA. Tuberous sclerosis complex. *Nat Rev Dis Primers*. 2016;2:16035. <https://doi.org/10.1038/nrdp.2016.35>
- Cui Y, Steagall WK, Lamattina AM, Pacheco-Rodriguez G, Stylianou M, Kidambi P, et al. Aberrant SYK Kinase Signaling Is Essential for Tumorigenesis Induced by TSC2 Inactivation. *Cancer Res*. 2017;77(6):1492-1502. <https://doi.org/10.1158/0008-5472.CAN-16-2755>
- Seyama K, Kumasaka T, Souma S, Sato T, Kurihara M, Mitani K, et al. Vascular endothelial growth factor-D is increased in serum of patients with lymphangioliomyomatosis. *Lymphat Res Biol*. 2006;4(3):143-152. <https://doi.org/10.1089/rb.2006.4.143>
- Young LR, Inoue Y, McCormack FX. Diagnostic potential of serum VEGF-D for lymphangioliomyomatosis. *N Engl J Med*. 2008;358(2):199-200. <https://doi.org/10.1056/NEJMc0707517>
- Young LR, Vandyke R, Gulleman PM, Inoue Y, Brown KK, Schmidt LS, et al. Serum vascular endothelial growth factor-D prospectively distinguishes lymphangioliomyomatosis from other diseases. *Chest*. 2010;138(3):674-681. <https://doi.org/10.1378/chest.10-0573>
- Courtwright AM, Baldi BG, Kidambi P, Cui Y, Lamattina AM, Villaiba JA, et al. Characterization of lymphangioliomyomatosis patients with discordance between spirometric and diffusion measurements of pulmonary function. *Sarcoidosis Vasc Diffuse Lung Dis*. 2018;35(3):206-212.
- Lamattina AM, Poli S, Kidambi P, Bagwe S, Courtwright A, Louis PH, et al. Serum endostatin levels are associated with diffusion capacity and with tuberous sclerosis-associated lymphangioliomyomatosis. *Orphanet J Rare Dis*. 2019;14(1):72. <https://doi.org/10.1186/s13023-019-1050-4>
- Matthew BP, Hasani AM, Chen YC, Pirooznia M, Stylianou M, Rollison SF, et al. Ultra-Small Lung Cysts Impair Diffusion Without Obstructing Air Flow in Lymphangioliomyomatosis. *Chest*. 2021;160(1):199-208. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2021.01.077>
- Taveira-Dasilva AM, Stylianou MP, Hedin CJ, Hathaway O, Moss J. Bone mineral density in lymphangioliomyomatosis. *Am J Respir Crit Care Med*. 2005;171(1):61-67. <https://doi.org/10.1164/rccm.200406-701OC>
- Guo YC, Yuan Q. Fibroblast growth factor 23 and bone mineralisation. *Int J Oral Sci*. 2015;7(1):8-13. <https://doi.org/10.1038/ijos.2015.1>
- Krick S, Grabner A, Baumlin N, Yanucil C, Helton S, Grosche A, et al. Fibroblast growth factor 23 and Klotho contribute to airway inflammation. *Eur Respir J*. 2018;52(1):1800236. <https://doi.org/10.1183/13993003.00236-2018>
- Barnes JW, Duncan D, Helton S, Hutcheson S, Kurundkar D, Logsdon NJ, et al. Role of fibroblast growth factor 23 and klotho cross talk in idiopathic pulmonary fibrosis. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol*. 2019;317(1):L141-L154. <https://doi.org/10.1152/ajplung.00246.2018>
- McCormack FX, Gupta N, Finlay GR, Young LR, Taveira-Dasilva AM, Glasgow CG, et al. Official American Thoracic Society/Japanese Respiratory Society Clinical Practice Guidelines: Lymphangioliomyomatosis Diagnosis and Management. *Am J Respir Crit Care Med*. 2016;194(6):748-761. <https://doi.org/10.1164/rccm.201607-1384ST>
- Graham BL, Steenbruggen I, Miller MR, Barjaktarevic IZ, Cooper BG, Hall GL, et al. Standardization of Spirometry 2019 Update. An Official American Thoracic Society and European Respiratory Society Technical Statement. *Am J Respir Crit Care Med*. 2019;200(8):e70-e88. <https://doi.org/10.1164/rccm.201908-1590ST>
- Culver BH, Graham BL, Coates AL, Wanger J, Berry CE, Clarke PK, et al. Recommendations for a Standardized Pulmonary Function Report. An Official American Thoracic Society Technical Statement. *Am J Respir Crit Care Med*. 2017;196(11):1463-1472. <https://doi.org/10.1164/rccm.201710-1981ST>
- Razzaque MS. FGF23-mediated regulation of systemic phosphate homeostasis: is Klotho an essential player?. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2009;296(3):F470-F476. <https://doi.org/10.1152/ajprenal.90538.2008>
- Gulati S, Wells JM, Urdaneta GP, Balestrini K, Vital I, Tovar K, et al. Fibroblast Growth Factor 23 is Associated with a Frequent Exacerbator Phenotype in COPD: A Cross-Sectional Pilot Study. *Int J Mol Sci*. 2019;20(9):2292. <https://doi.org/10.3390/ijms20092292>
- Easter M, Garth J, Harris ES, Shei RJ, Helton ES, Wei Y, et al. Fibroblast Growth Factor Receptor 4 Deficiency Mediates Airway Inflammation in the Adult Healthy Lung?. *Front Med (Lausanne)*. 2020;7:317. <https://doi.org/10.3389/fmed.2020.00317>
- Buendia-Roldan I, Machuca N, Mejia M, Maldonado M, Pardo A, Selman M. Lower levels of α -Klotho in serum are associated with decreased lung function in individuals with interstitial lung abnormalities. *Sci Rep*. 2019;9(1):10801. <https://doi.org/10.1038/s41598-019-47199-0>
- Shrestha S, Adib E, Imani J, Aguiar DJ, Lamattina AM, Tassew DD, et al. Angiotensin II receptor type 1 blockade regulates Klotho expression to induce TSC2-deficient cell death. *J Biol Chem*. 2022;298(11):102580. <https://doi.org/10.1016/j.jbc.2022.102580>
- Richter B, Faul C. FGF23 Actions on Target Tissues-With and Without Klotho. *Front Endocrinol (Lausanne)*. 2018;9:189. <https://doi.org/10.3389/fendo.2018.00189>
- Hunninghake GM, Hatabu H, Okajima Y, Gao W, Dupuis J, Latourelle JC, et al. MUC5B promoter polymorphism and interstitial lung abnormalities. *N Engl J Med*. 2013;368(23):2192-2200. <https://doi.org/10.1056/NEJMoa1216076>
- Peljo AL, Zhang Y, Fingerlin TE, Ma SF, Garcia JG, Richards TJ, et al. Association between the MUC5B promoter polymorphism and survival in patients with idiopathic pulmonary fibrosis. *JAMA*. 2013;309(21):2232-2239. <https://doi.org/10.1001/jama.2013.5827>
- Nijmeh J, El-Chemaly S, Henske EP. Emerging biomarkers of lymphangioliomyomatosis. *Expert Rev Respir Med*. 2018;12(2):95-102. <https://doi.org/10.1080/17476348.2018.1409622>
- El-Chemaly S, Henske EP. The next breakthrough in LAM clinical trials may be their design: challenges in design and execution of future LAM clinical trials. *Expert Rev Respir Med*. 2015;9(2):195-204. <https://doi.org/10.1586/17476348.2015.1024663>
- Lamattina AM, Taveira-Dasilva A, Goldberg HJ, Bagwe S, Cui Y, Rosas IO, et al. Circulating Biomarkers From the Phase 1 Trial of Sirolimus and Autophagy Inhibition for Patients With Lymphangioliomyomatosis. *Chest*. 2018;154(5):1070-1082. <https://doi.org/10.1016/j.chest.2018.08.1029>
- Hirose M, Matsumuro A, Arai T, Sugimoto C, Akira M, Kitaichi M, et al. Serum vascular endothelial growth factor-D as a diagnostic and therapeutic biomarker for lymphangioliomyomatosis. *PLoS One*. 2019;14(2):e0212776. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0212776>
- Miller S, Coveney C, Johnson J, Farmaki AE, Gupta N, Tobin MD, et al. The vitamin D binding protein axis modifies disease severity in lymphangioliomyomatosis. *Eur Respir J*. 2018;52(5):1800951. <https://doi.org/10.1183/13993003.00951-2018>