



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.**

PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS,  
ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

FACULTAD DE MEDICINA

INVESTIGACIÓN CLÍNICA EXPERIMENTAL EN SALUD  
CAMPO DE LA FARMACOLOGÍA CLÍNICA

EFEECTO DE LA NORMALIZACIÓN DE 25-HIDROXIVITAMINA D SOBRE EL EJE  
CALCIO-FOSFOTRÓPICO E IRISINA EN PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL

**TESIS**

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:

DOCTOR EN CIENCIAS

PRESENTA

LOURDES JOSEFINA BALCÁZAR HERNÁNDEZ

TUTORES:

D. EN C. MARÍA DE LOURDES BASURTO ACEVEDO  
UNIDAD DE INVESTIGACIÓN EN ENFERMEDADES ENDOCRINAS  
UMAE CMN SXXI, INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

D. EN C. MARÍA DEL CARMEN JIMÉNEZ MARTÍNEZ  
INSTITUTO DE OFTALMOLOGÍA "CONDE DE LA VALENCIANA"

D. EN C. JOSE LUIS MARTÍNEZ ORDAZ  
UMAE CMN SXXI, INSTITUTO MEXICANO DEL SEGURO SOCIAL

CIUDAD UNIVERSITARIA, CDMX., ABRIL 2023



Universidad Nacional  
Autónoma de México

Dirección General de Bibliotecas de la UNAM

**Biblioteca Central**



**UNAM – Dirección General de Bibliotecas**  
**Tesis Digitales**  
**Restricciones de uso**

**DERECHOS RESERVADOS ©**  
**PROHIBIDA SU REPRODUCCIÓN TOTAL O PARCIAL**

Todo el material contenido en esta tesis esta protegido por la Ley Federal del Derecho de Autor (LFDA) de los Estados Unidos Mexicanos (México).

El uso de imágenes, fragmentos de videos, y demás material que sea objeto de protección de los derechos de autor, será exclusivamente para fines educativos e informativos y deberá citar la fuente donde la obtuvo mencionando el autor o autores. Cualquier uso distinto como el lucro, reproducción, edición o modificación, será perseguido y sancionado por el respectivo titular de los Derechos de Autor.

## **IDENTIFICACIÓN DE INVESTIGADORES.**

ALUMNO:

M. EN C. LOURDES JOSEFINA BALCÁZAR HERNÁNDEZ

Número de cuenta: 304083491

Facultad de Medicina, División de Estudios de Posgrado. Universidad Nacional Autónoma de México.

TUTORES:

D. EN C. MARÍA DE LOURDES BASURTO ACEVEDO

Unidad de Investigación en Enfermedades Endocrinas

UMAE CMN SXXI, Instituto Mexicano del Seguro Social

D. EN C. MARIA DEL CARMEN JIMÉNEZ MARTÍNEZ

Instituto de Oftalmología “Conde de la Valenciana”

D. EN C. JOSE LUIS MARTÍNEZ ORDAZ

UMAE CMN SXXI, Instituto Mexicano del Seguro Social

## ÍNDICE.

MARCO TEÓRICO.	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	20
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	21
JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	21
HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN	22
OBJETIVOS	22
METODOLOGÍA.	23
TAMAÑO DE LA MUESTRA.	23
CRITERIOS DE SELECCIÓN	23
DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES	24
MATERIAL Y MÉTODOS.	28
ASPECTOS ÉTICOS	31
RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD.	32
ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD Y FARMACOVIGILANCIA	32
RESULTADOS	33
DISCUSIÓN	39
CONCLUSIONES	42
REFERENCIAS	43

## RESUMEN

**Antecedentes:** Las alteraciones del metabolismo mineral óseo son frecuentes en pacientes con trasplante renal, incluyendo la hipovitaminosis D, el hiperparatiroidismo persistente, el aumento de FGF23 y la disminución de la proteína Klotho. En pacientes con enfermedad renal crónica, se ha evidenciado una reducción en las concentraciones de irisina, miocina propuesta como vínculo entre el tejido adiposo, muscular y óseo, reportándose una relación indirecta con las concentraciones de PTH. El tratamiento con colecalciferol es de elección en pacientes con hipovitaminosis D, el cuál ha demostrado mejorar diversos parámetros relacionados con el metabolismo mineral, tanto en personas sanas, pacientes con enfermedad renal crónica y en receptores de trasplante renal. En pacientes con trasplante renal, el tratamiento con colecalciferol ha demostrado una disminución en las concentraciones de PTH, sin embargo, su efecto sobre FGF-23, Klotho e irisina aún se desconoce. Las alteraciones del eje calcio-fosfotrópico no sólo se relacionan con riesgo de fracturas, sino que están asociadas a complicaciones cardiovasculares, disminución de la calidad de vida, disfunción o rechazo del injerto, infecciones, neoplasias y aumento de la morbimortalidad en este grupo prioritario de pacientes. El conocer los efectos de la normalización de Vitamina D sobre el eje calcio-fosfotrópico e irisina en receptores trasplante renal tratados con colecalciferol permitirá optimizar el tratamiento del paciente con trasplante renal y emplear de manera más efectiva los recursos en materia de salud.

**Objetivo:** Identificar el efecto de la normalización de 25OHD sobre el eje calcio-fosfotrópico (PTH-FGF23-Klotho-calcio-fósforo) e irisina en pacientes con trasplante renal tratados con colecalciferol y la frecuencia de reacciones adversas medicamentosas o sospecha de las mismas durante el tratamiento.

**Material y métodos:** Se realizó un ensayo clínico no controlado, antes y después en receptores de trasplante renal con hipovitaminosis D y nefropatía primaria atendidos en la Clínica de Metabolismo óseo y trasplante del Hospital de Especialidades, UMAE CMNSXXI, IMSS. Previa firma de consentimiento informado, se obtuvieron los datos clínicos y bioquímicos de los pacientes, así como la toma de 3cc de sangre periférica para la medición de FGF23, Klotho e irisina, tanto antes del tratamiento con colecalciferol como a la normalización de 25OHD. Se realizó el análisis estadístico correspondiente con los

programas estadísticos STATA v.13 y SPSS 22, considerando significativa un valor de  $p < 0.05$ .

**Resultados:** Se incluyeron 23 receptores de trasplante renal con hipovitaminosis D que lograron la normalización de 25 OHD. El 52.2% (n=12) fueron hombres. La mediana de la edad fue de 28 (RIC 25-33.5) años, con un IMC de 21.7 (RIC 19.8-24). La hipoplasia renal fue la etiología más frecuente de la enfermedad renal crónica (52%). El tipo de trasplante más frecuente fue el proveniente de donador vivo relacionado (47.8 %). La dosis de colecalciferol requerida para lograr la normalización fue de 5000 UI/día (RIC 4000-6000), con un tiempo de 12 semanas (RIC 4-12). A la normalización de vitamina D se evidenció un aumento en las concentraciones de 25OHD [13 (9.3-17.1) vs 37.6 (32-45.2) ng/mL;  $p=0.001$ ] y de fósforo sérico [3.1 (2.3-3.5) vs 3.3 (3-3.6) mg/dL;  $p=0.01$ ] y una reducción en las concentraciones de PTH [103 (58.5-123.9) vs 45.6 (30.1-65.1) pg/mL;  $p=0.002$ ] e irisina [4.1 (3.8-4.5) vs 0.9 (0.4-3.07) ng/mL;  $p=0.04$ ]. No se observaron diferencias estadísticamente significativas en el resto de las variables. Se corroboró una asociación positiva entre Klotho y PTH ( $\beta=0.421$ ;  $B=0.004$ ; IC95% 0.003 – 0.007;  $p=0.045$ ) y entre irisina y masa muscular ( $\beta=0.625$ ;  $B=0.225$ ; IC95% 0.097 – 0.325;  $p=0.001$ ).

**Conclusiones:** El tratamiento con colecalciferol es eficaz para la normalización de las concentraciones de 25OHD en paciente con TR, mostrando algunos efectos positivos sobre el eje calcio-fosfotrópico. En este estudio se observó una reducción en las concentraciones de irisina con la normalización de vitamina D, sin modificaciones en Klotho y FGF-23. El colecalciferol es un fármaco seguro en pacientes con TR a pesar del requerimiento de dosis más altas y mayor duración del tratamiento para la normalización de 25OHD.

## **MARCO TEÓRICO.**

### **GENERALIDADES DEL METABOLISMO MINERAL ÓSEO**

La regulación de la homeostasis del calcio y fosfato plasmático es un mecanismo fisiológico complejo e indispensable para mantener un sin número de funciones celulares vitales. Este proceso depende de la interacción armónica de la glándula paratiroides, hueso y riñón, estando involucrados factores hormonales tales como la vitamina D, hormona paratiroidea (PTH) y FGF 23/Klotho, principalmente [1-3].

#### **Papel de la hormona paratiroidea en el metabolismo mineral óseo.**

La PTH es una hormona polipeptídica de 84 aminoácidos, con un peso molecular de 9500 KDa, compuesta por un fragmento amino-terminal (1-34 aa) y otro carboxi-terminal (50-84 aa). Está codificada por un sólo gen (11p15) y es secretada por la glándula paratiroides en respuesta a la disminución de las concentraciones de calcio iónico extracelular, con una vida media "in vivo" de 2 a 4 minutos. La PTH es sintetizada a nivel ribosomal a partir de la pre-proPTH, la cual cuenta con 115 aa y tiene una vida media corta (<1 min); en el retículo endoplásmico rugoso, sufre la pérdida de un segmento de 25 aa del extremo N-terminal (péptido señal) para formar la prohormona (proPTH) de 90 aa, la cual, después de su hidrólisis en el aparato de Golgi, se convierte en PTH. La porción C-terminal es necesaria para un eficiente procesamiento y transporte de PTH. El 80% de la PTH circulante representa fragmentos C-terminales, siendo PTH intacta sólo el 20%. De este 20%, el 70% corresponde a la molécula completa 1-84 y el resto a fragmentos no 1-84-PTH (22 %) y amino-PTH (8%). [1-3]

La PTH ejerce su acción mediante la unión a receptores específicos, siendo el PTHR1, un receptor de 60 a 80 KDa acoplado a proteína G, el más estudiado. El PTHR1 se expresa predominantemente en riñón, hueso, pulmón, hígado y vasos sanguíneos. Su activación es responsable de las acciones biológicas clásicas de PTH, además, presenta una alta afinidad por PTH 1-84, PTH 1-34 y PTHrP. La regulación de PTH es compleja y esta dada principalmente por las concentraciones de calcio, fósforo y calcitriol, con otros factores reguladores como el aluminio, magnesio, PTHrP, fármacos calciomiméticos, estrógenos,

corticoides, citocinas (IL1, IL2, IL6), factores de crecimiento fibroblástico, factores de necrosis tumoral y la osteoprotegerina. [1-5]

Para la regulación de PTH mediada por calcio, es indispensable la presencia del receptor sensor de calcio (CaSR), un receptor de membrana acoplado a proteínas G con expresión en paratiroides, riñón, tracto gastrointestinal, osteoblastos, cerebro, monocitos y macrófagos. La estimulación del receptor de vitamina D (VDR) por 1,25 (OH)<sub>2</sub>D, regula la expresión del gen de PTH al inhibir la transcripción y síntesis del RNAm del gen de pre-PTH. El fósforo regula la síntesis y secreción de PTH de manera independiente a calcio y calcitriol. La hiperfosfatemia es un potente estimulador de PTH, actuando sobre su RNAm, favoreciendo la proliferación de las células paratiroides e inhibiendo la expresión de los receptores CaSR y VDR. [1-5]

La PTH tiene acciones clásicas y no clásicas. Las clásicas requieren la unión al PTHR1 para la regulación a nivel renal y óseo. La PTH estimula la resorción ósea al promover el aumento del RANKL (Ligando del Receptor del Activador del Factor Nuclear Kappa-B), factor de estimulación de colonias de macrófagos (M-CSF) y citocinas calciotrópicas (IL-1, IL-6, y TNF- $\alpha$ ), cuyo objetivo es reducir la producción osteoprotegerina (OPG o factor de inhibición de la osteoclastogénesis) y, después de su unión al receptor RANK (Receptor Activador de NF-kB), promover la diferenciación de los precursores del osteoclasto y estimular su actividad resorptiva (osteoclastogénesis). Dentro de las acciones “no clásicas”, se requiere la activación del receptor CPTHr por los fragmentos C-PTH, con efectos biológicos antagónicos a los de PTH 1-84, es decir, inhibición de la resorción ósea [1-5].

### **Papel de FGF 23 y Klotho en el metabolismo mineral óseo.**

El factor de crecimiento fibroblástico (FGF23) es el principal regulador del fósforo y es producido por el osteocito. FGF23 actúa sobre el túbulo renal proximal para disminuir la reabsorción de fosfato y suprimir la actividad de la 1- $\alpha$  hidroxilasa. El gen de FGF23 está ubicado en el brazo corto del cromosoma 12 (12p13.3) y codifica una proteína de 251 aa que incluye un péptido señal de 24 aa [6].

FGF23 produce su efecto biológico a través de su unión al complejo/receptor Klotho-FGF receptor 1c (FGFR1c). La interacción entre FGF23 y FGFR1c está mediada por la región



homóloga FGF de FGF23, sin embargo, es una unión débil, por lo cual, requiere la interacción de la proteína Klotho para llevar a cabo la acción biológica del complejo/receptor/ligando [7].

El gen de la proteína Klotho se encuentra en el cromosoma 13q12, con un transcrito del gen de 5.2 Kb; por splicing alternativo se generan 2 transcritos: la proteína transmembrana de 1012 aa y la proteína secretada de 549 aa. La proteína Klotho transmembrana funciona como un co-receptor obligado para FGF23, mientras que Klotho secretada funciona como un factor humoral independientemente de FGF23, siendo susceptible a ser detectada y medida a nivel sérico, urinario y en líquido cerebroespinal. [8,9].

La proteína Klotho secretada regula la actividad de varios canales iónicos y transportadores, de los cuales destaca el aumento de la actividad del canal de potasio ROMK1 (renal outer medullary potassium channel 1), la inactivación del canal de calcio TRPC6 (Transient receptor potential cation channel, subfamily C, member 6) y Npt2a/c, independientemente de FGF23. Klotho secretada tiene actividad sialidasa que hidroliza el enlace  $\alpha$ -glicosídico entre ácido siálico y galactosa en los transportadores TRPV5. Los transportadores TRPV5 se expresa en la membrana apical de los túbulos distales y funcionan como la principal puerta de entrada de la reabsorción de calcio transcelular, por ello, el Klotho secretado incrementa la captación celular de calcio a través de TRPV5. [10,11]

El gen Klotho se expresa predominantemente en riñón (túbulo distal), y en menor proporción en células endoteliales del plexo coroideo cerebral, hipófisis, glándula paratiroidea, músculo esquelético, placenta, vejiga, colon, oído interno, nodo sinoauricular, páncreas, testículo y ovario. La activación del complejo/receptor FGF 23/Klotho permite la activación de vías de transducción tales como PI3K/AKT, JAK/ STAT y MAPK. [6]

Las concentraciones de fosfato se relacionan proporcionalmente con FGF23. FGF23 suprime la expresión de los cotransportadores de sodio-fosfato tipo 2a y 2c (Na-Pi) que median la reabsorción de fosfato en los túbulos proximales. El FGF23 regula los niveles de fosfato y 1,25 (OH)<sub>2</sub>D a través de acciones en el túbulo proximal y aumenta la reabsorción de calcio y sodio activando el canal TRPV5 y aumentando la expresión del N del cotransportador sodio-cloruro en túbulo distal. FGF23 disminuye la expresión de 1 $\alpha$ -

hidroxilasa y aumenta la expresión de 24-hidroxilasa, con lo que reduce el fosfato sérico inhibiendo su reabsorción tubular y su absorción intestinal [6].

No todas las acciones del FGF23 requieren la presencia de Klotho. Cuando Klotho se elimina de las células paratiroides in vivo, FGF23 puede disminuir la secreción de PTH. [10,12].

### **Irisina y su papel en el metabolismo mineral óseo**

La estrecha relación entre el músculo esquelético y el hueso se ha explicado por las fuerzas mecánicas generadas por la carga, sin embargo, recientemente, se ha evidenciado la presencia de señales bioquímicas que median esta interacción. El músculo esquelético se considera un órgano endocrino que funciona como depósito de “miocinas”, las cuales se describen como moléculas producidas por el miocito y que actúan de manera paracrina y endocrina. La irisina es una miocina originalmente descrita como una molécula promotora de la transdiferenciación, mecanismo por el cual los adipocitos blancos adquieren todas las características de los adipocitos marrones clásicos, activando la termogénesis y, en consecuencia, aumentando el gasto de energía y mejorando la homeostasis de la glucosa. Se propone que el efecto potente del ejercicio para la formación de hueso puede estar mediado por la irisina [13]. La irisina podría ser un vínculo entre el tejido adiposo, músculo y tejido óseo.

La irisina se expresa principalmente en músculo esquelético, corazón, tejido adiposo e hígado y se produce durante la actividad física. Estudios in vitro e in vivo, han evidenciado que la irisina promueve la diferenciación de osteoblastos, aumenta la densidad mineral ósea (DMO), la circunferencia perióstica y la resistencia ósea [14].

La irisina posee un efecto autocrino, así mismo, se ha evidenciado un mayor contenido mitocondrial y consumo de oxígeno en los miocitos formados, lo que se relaciona con un aumento de la síntesis de irisina, sugiriendo que el aumento de la masa muscular promueve un aumento de irisina, y esta miocina, el de la célula [14].

La irisina muestra una relación indirecta con PTH. El aumento de las concentraciones de PTH de manera prolongada conduce a la activación del receptor del ligando del factor

nuclear kB y reducción de la osteoprotegerina (OPG), dando como resultado la activación de la osteoclastogénesis. En contraste, la irisina promueve directamente la diferenciación y proliferación de osteoblastos in vitro, conduciendo a la formación ósea, un efecto contrario al de PTH. Palermo et al, demostraron una regulación a la baja de FNDC5, gen codificante de irisina, en miotúbulos tratados con PTH (1-34), así como una reducción en la expresión de ARNm de PTH en osteoblastos expuestos a irisina recombinante [15].

La disminución en la expresión de PTH en osteoblastos sugiere que la irisina puede ejercer su efecto anabólico sobre el hueso, no sólo al estimular la formación y función de los osteoblastos, sino también al reducir la acción catabólica de PTH en estas células. Estos datos pueden respaldar la hipótesis de que algunos cambios metabólicos inducidos por PTH, también pueden estar mediados por irisina, pudiendo ser la irisina una de las claves para interpretar la acción de PTH sobre grasa, músculo y hueso [16].

En poblaciones con hiperparatiroidismo secundario, como pacientes con hemodiálisis y calcificación vascular, se ha demostrado una correlación negativa entre los niveles de irisina y PTH [17].

## **VITAMINA D Y SU PAPEL EN EL METABOLISMO MINERAL ÓSEO.**

La vitamina D es una molécula esteroidea con un papel fundamental en la regulación del calcio, fósforo y metabolismo óseo (acciones clásicas), sin embargo, posee acciones no clásicas en la regulación de otros sistemas, como el inmunológico [18]. La vitamina D2 (ergocalciferol) y vitamina D3 (colecalfiferol o 25OHD) son las dos principales formas fisiológicas de la vitamina D. El término "vitamina D" generalmente hace referencia a la vitamina D3 en la literatura internacional, ya sea la producida de manera endógena por la acción de la luz solar sobre la piel en la vía 7-dihidrocolesterol o a la obtenida de la dieta o suplementos de vitamina D3. Las concentraciones circulantes de 25OHD reflejan directamente el status de la vitamina D. La forma biológicamente activa de la vitamina D es el calcitriol, 1,25(OH)2D3 o 1,25 (OH)2D, cuyas acciones dependen de la unión a su receptor VDR. La vitamina D se absorbe en el intestino delgado, siendo la bilis esencial para su absorción. La principal vía de excreción de D3 es a través de la bilis. La vida media de la vitamina D es de 20 a 30 hrs, pero se almacena en depósitos adiposos por periodos prolongados [19].

Los metabolitos de la vitamina D se transportan en la sangre a través de su fijación a la proteína de unión a la vitamina D (DBP) en un 85-88% y a albúmina en un 12-15%. Las concentraciones de DBP son normalmente 4-8mM mayores a las de los metabolitos de la vitamina D, de tal manera que DBP se satura sólo en un 2%. La DBP es sintetizada principalmente en hígado, siendo otros sitios riñón, testículos y tejido adiposo. Condiciones como la enfermedad hepática y el síndrome nefrótico, disminuyen los niveles de DBP y albúmina, reduciendo las concentraciones totales de 25OHD y 1,25 (OH)2D, sin afectar necesariamente las concentraciones libres. Puede haber variaciones en DBP a través de polimorfismos en diversas poblaciones. Los glucocorticoides y citocinas como EGF, IL-6 y TGF- $\beta$  han demostrado que aumentan (glucocorticoides, EGF, IL-6) o disminuyen (TGF- $\beta$ ) la producción de DBP [18,19].

### **Metabolismo de la Vitamina D.**

El metabolismo de vitamina D inicia con la formación de pre-D3 a partir de 7-dihidroxicolesterol y bajo la influencia de la radiación solar o UV; pre-D3 se somete a un reordenamiento estructural para formar D3, lumisterol y taquisterol, obteniéndose la vitamina D2 a partir de la dieta [18-20]. Las vitaminas D2 y D3 presentan una hidroxilación a nivel hepático (a través de la 25-hidroxilasa o CYP27A1), produciéndose 25OHD, el marcador clínicamente útil para determinar el estado de la vitamina D. La CYP27A1 es una enzima de alta capacidad y baja afinidad, la cual se distribuye ampliamente en diferentes tejidos como hígado y músculo, riñón, intestino, pulmón, piel y hueso. La 25OHD es metabolizada a 1,25 (OH)2D a nivel renal mediante la 25OHD-1 $\alpha$  hidroxilasa (CYP27B1); 1,25 (OH)2D se considera el metabolito activo de vitamina D y media la mayoría de sus acciones. La expresión de CYP27B1 es alta en riñón, queratinocitos epidérmicos, cerebro, placenta, testículos, intestino, pulmón, mama, macrófagos, linfocitos, glándula paratiroides, osteoblastos y condrocitos. Los principales reguladores de la actividad del CYP27B1 en el riñón son PTH, FGF23, calcio, fosfato y 1,25 (OH)2D. La producción extrarrenal tiende a ser estimulada por citocinas como IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  de manera más eficaz que PTH y puede ser menos inhibida por calcio, fosfato y 1,25 (OH)2D dependiendo del tejido. PTH aumenta actividad CYP27B1, mientras que el aumento de las concentraciones de calcio y FGF23 la disminuyen [18-24]. Finalmente, el mecanismo de contrarregulación negativo es la

formación de 24,25 (OH)<sub>2</sub>D (metabolito inactivo) a partir de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D, esto gracias a la acción de la 25OHD-24 hidroxilasa (CYP24A1) [24-33].

En resumen, el metabolismo de la vitamina D incluye: 1) La producción endógena de vitamina D<sub>3</sub> por la acción de la luz solar y la vía 7-dihidrocolesterol en piel (o en su defecto, la administración exógena de D<sub>3</sub>/D<sub>2</sub> en la dieta o suplementos). 2) La conversión de vitamina D<sub>3</sub> a 25OHD en el hígado por la 25 α-hidroxilasa. 3) El transporte de vitamina D<sub>3</sub> al túbulo contorneado proximal en riñón y su hidroxilación a 1,25 (OH)<sub>2</sub>D por la 25-hidroxivitamina D<sub>3</sub> 1 α-hidroxilasa (CYP27B1), en un mecanismo regulado por PTH. 4) El metabolismo de la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D a formas inactivas como 24,25 (OH)<sub>2</sub>D por la 24-hidroxilasa (CYP24) dentro de un mecanismo de contrarregulación negativo [18-33].

#### Mecanismo de acción, acciones clásicas y no clásicas de la vitamina D.

La vitamina D lleva a cabo sus acciones biológicas a través de vías genómicas (mediadas por receptor) y acciones no genómicas (no mediadas por receptor). El VDR pertenece a la superfamilia de receptores nucleares y actúa como un ligando-factor de transcripción activado, siendo 1,25 (OH)<sub>2</sub>D su ligando principal. El complejo 1,25 (OH)<sub>2</sub>D-RVD forma un heterodímero con el receptor retinoide (RXR) e induce la expresión génica dirigida al unirse a los elementos de respuesta a hormona (VDRE) en las regiones promotoras de los genes blanco. [34-37]. RXR parece ser responsable de mantener VDR en el núcleo en ausencia de ligando. VDR también puede asociarse con otros receptores, incluyendo el receptor tiroideo (TR) y el receptor de ácido retinoico (RAR). Los heterodímeros VDR/RXR se unen a los VDRE en el DNA, en sitios conocidos como DR3 (repeticiones directas con espaciamiento de tres nucleótidos). La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D se requiere para la unión de alta afinidad y la activación de la transcripción génica [34-39].

Dentro de las acciones no genómicas de la vitamina D, se ha descrito el papel de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D en la regulación de la actividad del canal de calcio y cloruro, la activación y distribución de la proteína quinasa C y la actividad de la fosfolipasa C a nivel de osteoblastos, hígado, músculo e intestino [41-48].

Las acciones genómicas y no genómicas de la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D incluyen la capacidad de estimular el transporte de calcio y fósforo a través de la membrana plasmática. La 1,25

(OH)<sub>2</sub>D, a nivel intestinal, estimula la entrada de calcio en la membrana del borde de cepillo a través de un gradiente electroquímico y, en gran medida a través del canal de calcio TRPV6. El transporte de calcio a través de la célula está regulado por una clase de proteínas llamadas calbindinas. La eliminación del calcio a través de la membrana basolateral requiere energía, siendo fundamental la presencia de ATP para la acción de la bomba de calcio Ca<sup>+</sup>ATPasa. La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D induce TRPV6, calbindinas, y CaATPasa ya sea por medio de acciones dependientes o no de receptor nuclear. Mecanismos similares regulan la reabsorción de calcio en el túbulo distal del riñón. Las proteínas implicadas son homólogas, pero no idénticas. A nivel de hueso, el VDR se encuentran en los osteoblastos. La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D promueve la diferenciación de osteoblastos y regula la producción de proteínas como el colágeno, la fosfatasa alcalina y la osteocalcina que se considera importantes en la formación ósea. Así mismo, 1,25 (OH)<sub>2</sub>D induce RANKL, lo que permite a los osteoblastos estimular la formación y actividad de los osteoclastos. Por lo tanto, la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D regula tanto la formación ósea como la resorción ósea. Algunas pruebas sugieren que el efecto principal de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D en el hueso es proporcionar niveles adecuados de calcio y fosfato del intestino. Las acciones no clásicas de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D incluyen la regulación de la proliferación y diferenciación celular, la regulación de la secreción hormonal y la regulación de la función inmunitaria. La capacidad de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D para inhibir la proliferación y estimular la diferenciación ha llevado al desarrollo de una serie de análogos con la esperanza de tratar trastornos proliferativos e inflamatorios sin elevar el calcio sérico. Diversos estudios sobre enfermedades inmunológicas, inflamatorias, cáncer y crónico-degenerativas han demostrado los beneficios de la vitamina D en su evolución clínica [24,25,48,49].

#### **VITAMINA D: INSUFICIENCIA Y DEFICIENCIA.**

La hipovitaminosis D se define como la disminución en las concentraciones de vitamina D en sangre, incluyendo tanto la insuficiencia como la deficiencia de vitamina D. No existe un consenso universal para la definición de hipovitaminosis D o de las concentraciones óptimas de 25OHD. Dependiendo del punto de corte [ $<20$  o  $<30$  ng/mL ( $<50$  o  $<75$  nmol/L)], algunos estudios demuestran que las concentraciones bajas de vitamina D se relacionan con un riesgo elevado de fracturas, limitación funcional, cáncer, diabetes, enfermedad cardiovascular, depresión, enfermedades autoinmunes y muerte [50].

La Endocrine Society define la deficiencia de vitamina D como una concentración total de 25OHD menor a 50 nmol/L (<20 ng/mL) e insuficiencia como una concentración total de 25OHD entre 52.5 y 72.5 nmol/L (21 a 29 ng/mL) [51].

El colecalciferol o vitamina D3, es el medicamento de elección para el tratamiento de pacientes con hipovitaminosis D. Diversas guías internacionales establecen la dosis de colecalciferol de acuerdo a grupos de edad, determinándose una dosis de 600 UI a 4000 UI/día en niños y menores de 18 años de edad con hipovitaminosis D y una dosis de 1500 a 10000UI/día en mayores de 18 años de edad con hipovitaminosis D, sin embargo, no existe una dosis establecida y/o estandarizada para determinada población, ya sea sana o con alguna patología relacionada.

### **TRASPLANTE RENAL Y ALTERACIONES EN LA HOMEOSTASIS DEL CALCIO, FÓSFORO Y VITAMINA D.**

A pesar de los múltiples efectos benéficos del trasplante renal, se ha encontrado la persistencia de la enfermedad mineral ósea en receptores de trasplante renal. Dentro de los primeros 6 meses post-trasplante, se ha observado una mayor pérdida de densidad, con una tasa de 14.5%, seguido de una disminución paulatina hasta los 2 años post-trasplante [52], sin embargo, se ha visto en algunos estudios, una restauración de la densidad mineral ósea al estado pre-trasplante a 8 años post trasplante [53]. La presencia de osteoporosis se reporta en 11 a 56% de receptores de trasplante renal, con un riesgo paralelo de fractura entre 5 y 44% [54].

En el paciente post-trasplante renal se ha evidenciado la reducción en la osteoblastogénesis, aumento en la apoptosis del osteoblasto y alteración en la formación y mineralización ósea. Estos cambios están relacionados con: 1) la alteración del eje FGF23-PTH-Vitamina D, 2) la terapia de inmunosupresión, 3) el status óseo pre-trasplante, 4) la función del injerto y 5) la hipofosfatemia. Dentro de estos factores, la hipovitaminosis D, el hiperparatiroidismo persistente y los fármacos inmunosupresores son los principales relacionados [52].

A largo plazo, se ha evidenciado un aumento de PTH y FGF23 en receptores de trasplante renal con tasa de filtrado glomerular por arriba de 45 m/min/SC, proponiendo que la resistencia a FGF23 es persistente aún en la presencia de hiperparatiroidismo. [55]

## **DEFICIENCIA E INSUFICIENCIA DE VITAMINA D EN EL PACIENTE POST TRASPLANTE RENAL**

La hipovitaminosis D, al igual que en la población general, es común en pacientes post trasplante renal, con una prevalencia de deficiencia de vitamina D del 30% e insuficiencia del 81 a 85% [56,57]. Posterior al trasplante, las concentraciones de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D tienden a normalizarse dentro de los primeros 3 a 6 meses, sin embargo, se ha demostrado una persistencia tanto de insuficiencia como deficiencia de 25OHD durante el seguimiento, misma que se ha relacionado con deterioro clínico y reducción de los efectos benéficos del trasplante renal [57].

Diversos estudios, como el reportado por Stavroulopoulos et al, han mostrado la deficiencia de Vitamina D hasta en un 97% de pacientes post trasplantados de riñón antes del primer año y 94% en pacientes con más de 1 año de trasplante renal [58].

### Etiopatogenia de la hipovitaminosis D en pacientes post trasplante renal.

Diversos mecanismos se han propuesto sobre la etiopatogenia de la hipovitaminosis D, dentro de los que destacan: 1) La deficiente administración con vitamina D3 antes y después del trasplante renal; 2) Aumento del catabolismo de la 25OHD inducido por los fármacos inmunosupresores. En el caso de los glucocorticoides, existe un aumento en la expresión 25 $\alpha$ -hidroxilasa y CYP27B1, así mismo un incremento en las concentraciones de FGF23 y PTH. Los inhibidores de calcineurina (tacrolimus) y los inhibidores de mTOR tienen efectos discrepantes, con reportes de resistencia a vitamina D, e incluso estudios donde no se observan alteraciones en el metabolismo óseo. Otros inmunosupresores pueden aumentar el metabolismo de 25OHD por la misma vía de estimulación enzimática observada con el uso de corticoesteroides. La ciclosporina, al igual que el tacrolimus, ha mostrado resistencia a vitamina D [52]; 3) Conversión acelerada de 25OHD a 1,25 (OH)<sub>2</sub>D ante elevación de PTH y FGF23, así como hipofosfatemia. Las concentraciones de FGF23



tienden a disminuir 3 meses post-trasplante y normalizar a los 1-3 años [59,60]; 4) Reducción a la exposición solar para prevención de cáncer de piel [57].

#### Efectos de la hipovitaminosis D en el paciente post trasplante renal.

Diversos estudios han demostrado el papel de la vitamina D en el paciente post-trasplante renal, destacando la mejoría de la función cardiovascular, el efecto positivo sobre función del injerto, la prevención de infecciones, mejoría del metabolismo mineral óseo, disminución del riesgo de fracturas, control de T.A., antiproteinuria, disminución en la aparición de cáncer de novo así como disminución de la mortalidad [61].

La enfermedad cardiovascular y la disfunción del injerto son las principales causas de mortalidad en los pacientes post-trasplante renal en un 36-55% y 42% respectivamente [62]. La vitamina D se ha considerado un factor protector contra la enfermedad cardiovascular y el rechazo del injerto por sus efectos pleiotrópicos.

Keyzer et al, demostraron la asociación independiente entre las concentraciones de 25OHD menores a 12 ng/dL con mortalidad en pacientes post trasplante renal [63]. Así mismo, la hipovitaminosis D se ha asociado a disfunción del injerto y disminución acelerada de la TGF anual. No se ha evidenciado asociación entre las concentraciones de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D y la disminución de la TFG anual post-trasplante [52].

Tomando en cuenta que la proteinuria es un parámetro importante para determinar disfunción del injerto, y que se presenta entre 7.5 y 45% de pacientes post-trasplante, algunos estudios demuestran que la administración de vitamina D puede mejorar la sobrevida del injerto por un efecto anti-proteinúrico directo [52].

La vitamina D regula negativamente el sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) y se ha demostrado que reduce la fibrogénesis renal mediada por RAAS en un modelo de ratas con nefropatía obstructiva [64,65]. Considerando estos hallazgos, la inhibición del RAAS y la reducción de la proteinuria son dos mecanismos por los cuales la vitamina D podría modificar positivamente la función del injerto.

Por otra parte, la hipovitaminosis D, se ha relacionado con un aumento en el riesgo de desarrollo de infecciones post trasplante renal, principalmente de etiología bacteriana, con una alta frecuencia de peritonitis, otitis media, colitis infecciosa, endocarditis, sinusitis, desarrollo de abscesos, infección de herida quirúrgica, celulitis y sobre todo, infección de vías urinarias [66].

## **TRATAMIENTO CON COLECALCIFEROL EN EL PACIENTE POST TRASPLANTE RENAL.**

En el paciente post trasplante renal, la administración de 1,25 (OH)2D o sus análogos ha sido utilizada para la prevención de la pérdida ósea y tratamiento del hiperparatiroidismo secundario normocalcémico, sin embargo, su administración no compensa las concentraciones bajas de la 25OHD, sustrato importante de la 1 $\alpha$ -hidroxilasa (CYP27B1) a nivel renal y otros tejidos extrarrenales [52].

A pesar de la alta prevalencia de hipovitaminosis D en este grupo, no existe consenso sobre la administración de vitamina D3. Algunas guías internacionales como KDIGO, recomiendan la repleción de 25OHD en caso de concentraciones menores a 30 ng/ml en pacientes post trasplante renal, sin embargo, no se especifica la dosis requerida en este grupo para la normalización [52,57].

La dosis de administración de colecalciferol varía de acuerdo a diversos estudios y criterios. En 2005, Wissing et al, demostró que la administración de 25,000 IU de colecalciferol una vez al mes era insuficiente para la normalización de 25OHD, requiriéndose dosis más elevadas para lograr la suficiencia de vitamina D en pacientes post trasplante renal [67]. Courbebaisse et al, en 2009, reportó que el tratamiento con dosis altas de vitamina D3 a base de 100,000 IU de colecalciferol cada 2 semanas, durante 2 meses (equivalente a 6,600 IU/día), fueron capaces de normalizar las concentraciones de 25OHD y PTH [68]. Benaboud S et al, estimó que la dosis de 100,000 UI una vez al mes de colecalciferol permitió la normalización de 25OHD entre 30 y 80 ng/ml durante el primer año postrasplante [69]. Dado que el paciente post trasplante renal presenta condiciones como uso de medicamentos que modifican el metabolismo de la vitamina D, de acuerdo a las recomendaciones de la Endocrine Society, en este grupo se sugiere la administración de 6000 a 10 000 UI/día en caso de hipovitaminosis D, debiéndose continuar el monitoreo para

ajustar dosis al lograr concentraciones de 25OHD >30 ng/dL. Así mismo, se recomienda la administración de 50, 000UI una vez por semana por 8 semanas, manteniendo 25OHD entre 35 y 50 ng/dL [51].

La intoxicación por Vitamina D ocurre cuando las concentraciones de 25OHD superan los 150 ng/mL, sin existir evidencia de variación en el margen de seguridad entre los pacientes con enfermedad renal y la población general [70]. La dosis diaria de colecalciferol recomendada en la dieta en pacientes con inmunosupresores o problemas de absorción intestinal es de 4,000 IU a 10,000 IU/día, misma que no afecta la concentración de calcio sérico ni urinario [71,72]. En un estudio previo de nuestra población, se evidenció un requerimiento de 5000 UI/día para el logro de la normalización de 25OHD, en un tiempo de 8 semanas (RIC 9–32) [73].

### **EFFECTO DE COLECALCIFEROL SOBRE EJE CALCOTRÓPICO Y FOSFOTRÓPICO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA Y TRASPLANTE RENAL**

El tratamiento con colecalciferol en pacientes con trasplante renal ha demostrado un efecto positivo sobre el eje calciotrópico, con evidencia de reducción de PTH y fosfatasa alcalina, normalización de fósforo y mantenimiento de calcio en rangos de normalidad [74], con una baja tasa de reacciones adversas medicamentosas, sin embargo, su efecto sobre moléculas tales como FGF-23 y Klotho, si bien ha sido evidenciado en otras poblaciones, es nulamente reportado en el receptor de trasplante renal.

En individuos aparentemente sanos, con hipovitaminosis D, el tratamiento con colecalciferol evidenció una reducción en las concentraciones de PTH, sin embargo, un aumento estadísticamente significativo en 1,25(OH)2D y FGF23 [75]. En pacientes con ERC y diálisis peritoneal, el tratamiento con colecalciferol ha demostrado un aumento exponencial de FGF-23, con niveles extremadamente elevados (> 30,000 pg/ml) en 74 % de los pacientes, con una reducción hasta valores basales a las 32 semanas de su suspensión [76]. Otros estudios coinciden con el aumento en las concentraciones de FGF23, sin embargo, a pesar de dicha elevación, no evidenciaron modificaciones en las concentraciones de Klotho [77]. En cuanto al efecto de colecalciferol sobre irisina, los reportes son escasos, siendo nulos en pacientes con trasplante renal. En adultos jóvenes con hipovitaminosis D, la administración de una dosis única de 100,000 IU de colecalciferol, no demostró

modificaciones en las concentraciones de irisina, siendo únicamente destacable la elevación tres veces por arriba del valor basal en un solo individuo [78].

## **IRISINA EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA Y TRASPLANTE RENAL**

Las concentraciones de irisina obtenidas después de su medición a través de métodos como ELISA, dependen de la generación, sensibilidad y variación inter e intraensayo del kit comercial utilizado. En individuos sanos, se reportan concentraciones de irisina entre 1.29 y 27.5 ng/mL utilizando métodos de segunda generación, con una sensibilidad de 1.29 ng/mL, una variación intra-ensayo <10% y variación inter-ensayo <8% [79]. Las concentraciones de irisina varían de acuerdo a la actividad física y porcentaje de masa muscular y adiposa en adultos sanos [80].

En pacientes con ERC se ha reportado una disminución en las concentraciones de irisina utilizando el método de ELISA para su medición. Ebert T. et al., evidenciaron la reducción de irisina circulante en pacientes con ERC, incluso después del ajuste por edad, sexo e IMC, con una mayor reducción durante el estadio 5 (KDIGO). Aunado a lo anterior, corroboraron una correlación positiva entre irisina y TFG. En dicho estudio, irisina no mostró asociación con ningún marcador de composición corporal (masa grasa, masa magra o tasa de metabolismo basal), a diferencia de lo observado en individuos sanos, así mismo, se evidenció una reducción del 23% en las concentraciones de irisina después de someterse a hemodiálisis [81].

Kałużna M, et al, corroboraron la disminución de las concentraciones de irisina en pacientes con ERC en estadio 5, comparado con controles sanos [4.57 (3.48–6.38) vs 7.90 (6.54–9.45) ng/mL;  $p=0.001$ ]. En dicho estudio, no se demostró ninguna correlación entre las concentraciones de irisina, medidas antropométricas y composición corporal en pacientes con ERC [82].

Wen, et al., también encontraron una disminución de irisina en pacientes con ERC, comparación con individuos sanos, además de evidenciar una asociación negativa entre irisina y los niveles de nitrógeno ureico y creatinina [83]. A diferencia de lo reportado en

pacientes con ERC, los estudios sobre las concentraciones de irisina en pacientes con trasplante renal son nulos.

## **EFFECTO DEL TRATAMIENTO CON COLECALCIFEROL SOBRE LAS CONCENTRACIONES DE IRISINA**

El efecto del tratamiento con colecalciferol sobre las concentraciones de irisina ha sido estudiado principalmente en modelos animales. En ratones con deficiencia de vitamina D, la administración de colecalciferol durante 2 semanas demostró un aumento significativo en las concentraciones de irisina. En dicho estudio, se observó una correlación entre 25OHD e irisina [84].

En adultos jóvenes con hipovitaminosis D, al evaluar las concentraciones de irisina después de la administración de 100,000 UI de colecalciferol, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas ni asociaciones entre irisina y 25OHD [85]. Gmiat, et al, en mujeres de edad avanzada, demostraron un aumento de las concentraciones de irisina a 12 semanas de la administración de colecalciferol aunado a un programa de entrenamiento de marcha nórdica, sin embargo, el efecto per se de colecalciferol no fue evaluado, proponiendo que la vitamina D es uno de los factores que median la relación entre el ejercicio, la inflamación y la función muscular [86].

En pacientes con ERC y trasplante renal, no existen estudios sobre la relación entre irisina y 25OHD, así como del efecto del tratamiento con colecalciferol sobre las concentraciones de esta miocina.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La frecuencia de enfermedad renal crónica ha ido en aumento, y con ello, el número de pacientes en espera de trasplante renal, el manejo terapéutico de elección que ofrece una disminución en la morbilidad y mejora la supervivencia. Los pacientes con ERC, incluidos los candidatos a trasplante renal, presentan múltiples alteraciones en el metabolismo mineral óseo, incluyendo la hipovitaminosis D, así como un aumento en el estado proinflamatorio, lo cual condiciona un incremento en la morbilidad.

La hipovitaminosis D es un trastorno metabólico frecuente en la población mexicana, tanto en poblaciones aparentemente sanas como en receptores de trasplante renal. El tratamiento con vitamina D3 en el receptor de trasplante renal, ha demostrado un efecto positivo sobre el eje calcitropic, con reducción significativa de PTH, sin embargo, su efecto sobre el eje fosfotric e irisina aún no han sido evaluado. Las alteraciones del eje calcio-fosfotric no sólo se relacionan con riesgo de fracturas, sino que están asociadas a complicaciones cardiovasculares, disminución de la calidad de vida, disfunción o rechazo del injerto, infecciones, neoplasias y aumento de la morbimortalidad en este grupo prioritario de pacientes.

## **PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

### **Pregunta principal**

¿Cuál es el efecto de la normalización de 25OHD sobre el eje calcio-fosfotric (PTH-FGF23-Klotho-calcio-fósforo) e irisina en los pacientes con trasplante renal tratados con colecalciferol?

### **Pregunta secundaria**

- ¿Cuál es la frecuencia de reacciones adversas medicamentosas o sospecha de estas, durante el tratamiento con colecalciferol en los pacientes con trasplante renal e hipovitaminosis D?

## **JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO**

En la clínica de metabolismo óseo y mineral del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, se atiende a más de 100 pacientes receptores de trasplante renal. La mayoría de los pacientes atendidos en la clínica presentan alteraciones en el metabolismo mineral óseo, tales como hiperparatiroidismo secundario y terciario, osteopenia u osteoporosis, osteomalacia, así como hipovitaminosis D, relacionándose con una alta morbimortalidad, lo cual aumenta los costos en salud y limita los beneficios del trasplante renal. El tratamiento con colecalciferol es de bajo costo, accesible e ideal para la normalización en las concentraciones de 25OHD. Se ha demostrado que el tratamiento con colecalciferol mejora la calidad del hueso y promueve la homeostasis del eje calcio-fosfotric en paciente sin y con nefropatía. En nuestra población hay evidencia de mejoría

del eje calcitropicó al normalizar las concentraciones de 25OHD en receptores de trasplante renal, sin embargo, no existen estudios relacionados con el efecto de la normalización en el eje calcitropicó y en miocinas involucradas en el metabolismo mineral óseo. El conocer los efectos de la normalización de Vitamina D sobre el eje calcio-fosfotricó e irisina en pacientes receptores trasplante renal tratados con colecalciferol, permitirá optimizar el tratamiento del paciente con trasplante renal y emplear los recursos en materia de salud de manera más adecuada.

## **HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN**

En pacientes con trasplante renal tratados con colecalciferol, la normalización de 25OHD:

- Disminuye las concentraciones séricas de PTH
- Aumenta las concentraciones séricas de FGF-23, Klotho e irisina
- Mantiene en rangos de normalidad las concentraciones séricas y urinarias de calcio y fósforo

### **Hipótesis secundaria**

- La frecuencia de reacciones adversas medicamentosas, o sospecha de las mismas, es menor al 10% durante el tratamiento con colecalciferol en pacientes con trasplante renal e hipovitaminosis D.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Identificar el efecto de la normalización de 25OHD sobre el eje calcio-fosfotricó (PTH-FGF23-Klotho-calcio-fósforo) e irisina en pacientes con trasplante renal tratados con colecalciferol

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar la frecuencia de reacciones adversas medicamentosas o sospecha de las mismas durante el tratamiento con colecalciferol en pacientes receptores trasplante renal e hipovitaminosis D.

## **METODOLOGÍA.**

### **TAMAÑO DE LA MUESTRA.**

El tamaño de muestra se estimó de acuerdo a diferencia de medias, a través del programa STATA v.13, considerando resultados del trabajo de Ramirez-Sandoval et al, J Nephrol. 2019 Aug;32(4):645-659. Bajo los supuestos:

alfa = 0.05 (dos colas)

poder = 0.90                      p alterna = 0.15

Tamaño de muestra estimado:        n= 21

### **CRITERIOS DE SELECCIÓN**

Criterios de inclusión:

- Pacientes de ambos géneros
- Pacientes mayores de 18 años y menores de 60 años
- Pacientes post-operados de trasplante renal (donador vivo o fallecido) por nefropatía crónica de causa primaria (alteraciones estructurales, glomerulopatías primarias).
- Evolución post trasplante renal mayor a 1 mes y menor a 1 año
- Pacientes con reducción de las concentraciones de 25OHD <30 ng/dL.
- Pacientes con Tasa de Filtrado Glomerular post-trasplante renal mayor a 60 ml/min/SC.
- Pacientes que acepten participar y firmen el consentimiento informado.

Criterios de no inclusión:

- Pacientes en los que no se pueda realizar la supervisión del tratamiento con colecalciferol.
- Pacientes post-operados de trasplante renal por nefropatía crónica de causa secundaria (enfermedad autoinmune, nefropatía diabética, nefropatía hipertensiva)
- Pacientes con diabetes mellitus, hepatopatía, enfermedad reumática, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardiaca, procesos infecciosos activos, enfermedades linfoproliferativas, infiltrativas o neoplasias conocidas previamente al inicio del estudio
- Pacientes con hipersensibilidad al fármaco.
- Pacientes con hipercalcemia y/o hiperfosfatemia.



Criterios de eliminación:

- Pacientes que no cumplan con el tratamiento con colecalciferol (inadecuado apego al tratamiento, definido como un apego terapéutico por debajo del 90%).
- Pacientes que no normalicen las concentraciones de 25OHD a pesar de adecuado apego al tratamiento con colecalciferol.
- Pacientes que abandonen el tratamiento.
- Pacientes que presenten reacciones adversas o sospecha de las mismas.

**DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES**

Variable	Tipo	Definición conceptual	Definición operacional	Escala medición	Fuente de información
Edad	Cuantitativa continua	Tiempo en años a partir del nacimiento.	Tiempo en años a partir del nacimiento	Años	Expediente clínico
Género	Cualitativa Nominal dicotómica	Característica biológica que permite clasificar a los seres humanos en hombres o mujeres.	Sexo: masculino o femenino	0=hombre 1= mujer	Expediente clínico
Parathormona (PTH)	Cuantitativa Continua	Hormona peptídica producida por la glándula paratiroides, la cual, tras la unión a su receptor, PTH1R principalmente, promueve la resorción ósea, la reabsorción de calcio a nivel renal y la 1- $\alpha$ hidroxilación de vitamina D con el fin de mantener la homeostasis del calcio	Cifra de hormona paratiroidea sérica biológicamente activa de 84 aminoácidos, con amino y carboxiterminal, medida antes del trasplante renal, después del trasplante y después del tratamiento con colecalciferol	pg/mL	Sistema electrónico de laboratorio
25OHD (Vitamina D3)	Cuantitativa Continua	Hormona esteroidea importante en el metabolismo óseo y acciones pleiotrópicas sistémicas que condicionan funciones no	Concentración sérica de vitamina D medida en suero antes y después del tratamiento con colecalciferol en receptores de trasplante	ng/mL	Expediente clínico

		clásicas. En el riñón, la 25-hidroxi vitamina D se transforma en una forma activa de la vitamina, la cual ayuda a controlar los niveles de fosfato y de calcio en el cuerpo.	renal. Se determina su status en: 0=suficiente o normal (>30 ng/mL) 1=insuficiente (<30->20 ng/mL) 2=deficiente (<20 ng/dL)		
Factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF-23)	Cuantitativa Continua	Proteína sintetizada en el osteocito que inhibe la reabsorción proximal de P, promueve la disminución de los niveles de 1,25 (OH)2D (calcitriol) al inhibir la $\alpha$ -1 hidroxilasa renal y bloquea la síntesis/liberación de PTH.	Concentración sérica de FGF23 medida en suero antes y después del tratamiento con colecalciferol en receptores de trasplante renal.	ng/L	Medición en Unidad de Investigación médica.
Klotho	Cuantitativa Continua	Proteína transmembrana producida principalmente a nivel renal, con acciones relacionadas con "antienvjecimiento" celular y la homeostasis del fósforo al actuar de manera conjunta con FGF23.	Concentración sérica de Klotho medida en suero antes y después del tratamiento con colecalciferol en receptores de trasplante renal.	pg/mL	Medición en Unidad de Investigación médica.
Irisina	Cuantitativa Continua	Miocina relacionada con la transdiferenciación del tejido adiposo marrón y la diferenciación del osteoblasto, con la subsecuente formación ósea	Concentración sérica de irisina medida en suero antes y después del tratamiento con colecalciferol en receptores de trasplante renal.	ng/mL	Medición en Unidad de Investigación médica.
Calcio	Cuantitativa Continua	Elemento químico o ión, metal blando, presente de manera libre o precipitado, que actúa como cofactor u hormona (unión a su	Cantidad de ión calcio medida antes del trasplante renal, después del trasplante y después	mg/dL	Sistema electrónico de laboratorio

		receptor CaSR), necesario para el metabolismo mineral óseo, coagulación, metabolismo de hidratos de carbono, lípidos, proteínas, neurotransmisión y contracción muscular, entre otras funciones.	del tratamiento con colecalciferol.		
Fósforo	Cuantitativa Continua	Macromineral, importante para la formación ósea, metabolismo de lípidos, proteínas e hidratos de carbono, formación de membranas, contracción muscular, función cardiovascular, neurotransmisión, entre otras funciones.	Cantidad de ión medida antes del trasplante renal, después del trasplante y después del tratamiento con colecalciferol.	mg/dL	Sistema electrónico de laboratorio
Magnesio	Cuantitativa Continua	Elemento químico o ión, mineral, importante en la inhibición de la secreción de PTH, contracción muscular, neurotransmisión, sistema inmunitario, cardiovascular, entre otras funciones	Cantidad de ión medida antes del trasplante renal, después del trasplante y después del tratamiento con colecalciferol.	mg/dL	Sistema electrónico de laboratorio
Fosfatasa alcalina	Cuantitativa Continua	Proteína sintetizada por fibroblastos, relacionada con la velocidad de formación ósea. Promueve el inicio de la mineralización por incremento de las concentraciones de fosfato.	Cantidad en sangre de fosfatasa alcalina total utilizada como marcador de recambio óseo, medida antes del trasplante renal, después del trasplante y después del tratamiento con colecalciferol	U/dL	Sistema electrónico de laboratorio

Dosis de prednisona	Cuantitativa Continua	Dosis utilizada de glucocorticoide para inmunosupresión en pacientes receptores de trasplante renal	Dosis administrada de prednisona en mg por día, durante el seguimiento de los pacientes receptores de trasplante renal	mg/día	Expediente clínico
Dosis de micofenolato	Cuantitativa Continua	Dosis utilizada del inhibidor de síntesis de purinas, micofenolato, para inmunosupresión en pacientes receptores de trasplante renal	Dosis administrada de micofenolato en mg por día, durante el seguimiento de los pacientes receptores de trasplante renal	mg/día	Expediente clínico
Dosis de tacrolimus	Cuantitativa Continua	Dosis utilizada del inhibidor de calcineurina, tacrolimus, para inmunosupresión en pacientes receptores de trasplante renal	Dosis administrada de tacrolimus en mg por día, durante el seguimiento de los pacientes receptores de trasplante renal	mg/día	Expediente clínico
Dosis para normalización de 25OHD	Cuantitativa Continua	Dosis de colecalciferol administrada a pacientes receptores de trasplante renal con hipovitaminosis D para lograr la normalización de las concentraciones de vitamina D en sangre	Dosis de colecalciferol administrada al paciente con la que se logran concentraciones de 25OHD >30 ng/mL	UI/día	Expediente clínico
Masa muscular	Cuantitativa Continua	Volumen del tejido corporal total que corresponde al músculo	Porcentaje de masa muscular obtenido por impedancia bioeléctrica	%	Medición durante la evaluación médica
Reacciones adversas por medicamentos	Cualitativa Nominal dicotómica	Cualquier respuesta a un fármaco que es nociva, no intencionada y que se produce a dosis habituales para la profilaxis, diagnóstico, o tratamiento	Presencia de hipercalcemia, hiperfosfatemia y/o hipercalciuria durante el tratamiento con colecalciferol	0=no 1=si	Expediente clínico

## **MATERIAL Y MÉTODOS.**

**DISEÑO DEL ESTUDIO:** Ensayo clínico no controlado, antes y después

- Por finalidad del estudio: Analítico
- Por control del factor de estudio: Experimental
- De acuerdo a la medición de variables en la secuencia del tiempo: Longitudinal
- De acuerdo a cronología: Prospectivo
- Por la naturaleza del estudio: Clínico
- Por el propósito: Terapéutica
- Aleatorización: Ninguna.

**UNIVERSO DE TRABAJO.** Clínica de metabolismo mineral óseo del Servicio de Endocrinología, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS.

**POBLACIÓN BLANCO.** Pacientes receptores de trasplante renal que acuden a la clínica de metabolismo mineral óseo del Hospital de Especialidades del CMN Siglo XXI, IMSS.

**POBLACIÓN DE ESTUDIO.** Todos los pacientes tratados en el servicio de Endocrinología, Hospital de Especialidades CMN Siglo XXI, IMSS, con diagnóstico de enfermedad renal crónica, post operados de trasplante renal.

### **DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO**

Se realizó la evaluación del eje calciotrópico a todos los pacientes post-operados de trasplante renal con evolución mayor a 1 mes y menor a 1 año que acudieron a la clínica de metabolismo mineral óseo del servicio de Endocrinología. Se invitó a participar a aquellos que cumplieron con los criterios de inclusión, previa explicación clara y precisa de aspectos generales, objetivos, beneficios y riesgos del estudio. Previo consentimiento informado, se realizó la evaluación clínica y toma de muestra de sangre para obtención del suero requerido para medición del eje calcio-fosfotrópico e irisina previo al inicio del tratamiento. El eje calcio-fosfotrópico incluyó la determinación de PTH, FGF-23, Klotho, calcio sérico, fósforo sérico y calcio y fósforo urinarios de 24 hrs. Las características clínicas y bioquímicas obtenidas durante el estado de hipovitaminosis D post-trasplante renal se determinaron como “estado basal” (tiempo 0).

Se administró una dosis inicial de 4000UI/día [51], con el objetivo terapéutico de lograr la normalización de 25OHD (concentraciones séricas >30 ng/mL). Se realizó la medición del

eje calciotrópico mensualmente hasta corroborarse la normalización de las concentraciones de 25OHD. Al lograrse la normalización de 25OHD, se realizó una nueva toma de muestras sanguíneas para obtención de suero y medición del eje calcio-fosfotrópico e irisina. Las características clínicas y bioquímicas obtenidas en dicho momento se determinaron como “estado a la normalización de vitamina D” (tiempo 1). Se definió como “tiempo para lograr la normalización de vitamina D” al número de semanas desde el inicio de colecalciferol hasta el logro de concentraciones séricas de 25OHD >30 ng/mL.

Farmacovigilancia: El apego terapéutico se evaluó de acuerdo al método de “recuento de pastillas”, el cual consistió en cuantificar el número de pastillas tomadas entre dos visitas a la consulta en comparación con el número total de pastillas recibidas. La fórmula utilizada para su determinación fue: (número de pastillas dispensadas - número de pastillas restantes) / (número otorgado de pastillas por día x número de días entre 2 visitas); el resultado se multiplicó por 100 para obtener el porcentaje de adherencia. La adherencia exitosa se definió como la toma del 90-100% de pastillas durante el seguimiento. Un porcentaje menor al 90% se consideró como apego terapéutico inadecuado. Los efectos adversos que se vigilaron durante el seguimiento incluyeron: hipercalcemia (aumento de concentraciones de calcio corregido por arriba de 10.4 mg/dL), hiperfosfatemia (aumento de concentraciones de fósforo superiores a 5.4 mg/dL), hipercalciuria (calcio urinario en 24 hrs mayor a 250 mg/día en mujeres y 300 mg/día en hombres, o un aumento en la relación Ca urinario 24 hrs por kg de peso mayor a 4 mg/kg/día) o el desarrollo de litiasis renoureteral. Se consideraron reacciones adversas medicamentosas poco frecuente a aquellas con una frecuencia de presentación menor al 10%.

## **MÉTODOS DE MEDICIÓN.**

### Obtención de material biológico

Se realizó la toma de muestra de sangre periférica a través de venopunción, previa asepsia y antisepsia, con material estrictamente estéril. Se eligió como primera opción la punción de la vena cefálica, vena mediana y vena basílica, con punción de vena basílica y colaterales en caso de no lograrse canalizar las anteriores. Se extrajeron 3cc de sangre para la medición sérica de FGF23, Klotho e irisina. Se realizó el manejo de residuos peligrosos biológicos infecciosos de acuerdo a lo establecido en las normas nacionales (RPBI).

### Análisis bioquímico.

La determinación de calcio, fósforo, magnesio, urea, creatinina, fosfatasa alcalina y albúmina se realizó por medio de colorimetría. Para la medición de las concentraciones de PTH intacta y 25OHD en suero se utilizó la técnica de electroquimioluminiscencia. Las anteriores mediciones del eje calcio-fosforotrópico se consideraron rutinarias en el seguimiento del paciente receptor de trasplante renal. La medición de FGF23, irisina y Klotho se realizó por medio de inmunoensayo a través de técnica de ELISA (Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay), utilizando kits comerciales de la firma MyBioSource.

Los rangos de referencia para cada una de las variables bioquímicas fueron:

Variable	Rangos de referencia
25OHD	Suficiencia: $\geq 30$ ng/mL Insuficiencia: 20-29 ng/mL Deficiencia: $< 20$ ng/mL Toxicidad: $> 100$ ng/mL
PTH	15-65 pg/mL
Calcio	8.4-10.2 mg/dL
Albúmina	3.5-5.2 g/dL
Calcio urinario de 24 hrs	$< 250$ mg/día en mujeres $< 300$ mg/día en hombres
Índice calcio urinario/Kg peso	$< 4$ mg/kg por día
Fósforo	2.7-4.5 mg/dL
Fósforo urinario de 24 hrs	4-13 g/24 hrs
Magnesio	1.6-2.6 mg/d
Fosfatasa alcalina	40-129 U/L
Creatinina	0.40-1.2 mg/dL
FGF23	Adultos: $< 59$ pg/mL

### **ANÁLISIS ESTADÍSTICO.**

En el análisis descriptivo, se utilizaron frecuencias y proporciones para las variables cualitativas y medidas de tendencia central y dispersión para variables cuantitativas (de acuerdo a la distribución de las variables: media  $\pm$  desviación estándar en paramétricas o

mediana y rango intercuantílico en no paramétricas). Se utilizó la prueba de Shapiro Wilk para contraste de normalidad. Para la comparación antes y después, se utilizó la prueba *t* o prueba de Wilcoxon de acuerdo a la distribución de las variables. Para establecer una correlación entre las variables, se utilizó el coeficiente de correlación de Pearson o Spearman de acuerdo al tipo de variable. Se realizó el análisis multivariado de acuerdo a los hallazgos en el análisis bivariado. Se consideró un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo. Se utilizó el paquete estadístico SPSS v.24 y STATA v.13 para el análisis.

## **ASPECTOS ÉTICOS**

El presente estudio incluyó pacientes receptores de trasplante renal con hipovitaminosis D tratados sustitutivamente con colecalciferol, a quienes se sometió a la toma de una muestra sanguínea de 3cc, antes y durante el tratamiento. Por lo anterior, este estudio requirió una intervención de riesgo mínimo de acuerdo a lo establecido en el título segundo, capítulo primero, artículo 17 de la Ley General de Salud en Materia de Investigación. El estudio se realizó según los estatutos internos del comité de Ética del HECMNSXXI, la Ley General de Salud y las recomendaciones de la Declaración de Helsinki, así como las recomendaciones internacionales para la realización de ensayos clínicos (CONSORT). Se mantuvo estrecho apego a lo establecido en la NOM-012-SSA3-2012 para la ejecución de proyectos de investigación en seres humanos y NOM-220-SSA1-2016 para la instalación y operación de la farmacovigilancia.

Antes de cualquier maniobra de investigación, se le solicitó autorización a cada paciente para participar en el estudio mediante una carta de consentimiento informado, de la cual recibieron una copia original. El estudio se sometió a revisión por el Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud del Hospital de Especialidades CMN SXXI, Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez, Instituto Mexicano del Seguro Social con número de aprobación R-2020-3601-172. No hubo remuneración económica para los participantes.

## **RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD.**

En el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS se tiene un registro de más de 100 pacientes con trasplante renal en seguimiento. Frecuentemente



estos pacientes son enviados para valoración metabólica ósea o cardiovascular al servicio de endocrinología, donde se cuenta con la clínica de metabolismo mineral óseo, constituida por médicos especialistas y residentes en formación. En el Hospital de Especialidades CMNSXXI se contó con recursos humanos y de infraestructura para realizar todos los procedimientos diagnósticos, terapéuticos y de vigilancia requeridos para el desarrollo de este protocolo de investigación. Así mismo se contó con el apoyo de la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Endocrinas, cuyo personal cuenta con amplia experiencia en investigación y con publicaciones que validan las técnicas de medición moleculares incluyendo la técnica de ELISA para factores fibroblásticos y otras moléculas [87-89].

#### **ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD Y FARMACOVIGILANCIA.**

El colecalciferol o Vitamina D3 se ha utilizado desde hace más de 10 años en la Clínica de Metabolismo óseo y calcio para el tratamiento de pacientes con hipovitaminosis D. El colecalciferol es considerado en la Ley General de Salud como un medicamento del grupo IV (medicamentos que para adquirirse requieren receta médica, pero que pueden resurtirse tantas veces como lo indique el médico que prescriba) con número de registro 001V2015 SSA IV. La dosis utilizada en este protocolo fue establecida de acuerdo a las recomendaciones en guías de práctica clínica internacionales (4000 a 10000 UI/día de colecalciferol). Se ha referido una baja frecuencia de reacciones adversas en la literatura tras la administración de vitamina D3 (hipercalcemia, anorexia, cefalea, vómitos y diarrea en pacientes con administración excesiva y prolongada), sin embargo, como en cualquier terapéutica farmacológica, se establecieron las medidas de farmacovigilancia de acuerdo a las leyes establecidas en nuestro país. Se consideró el uso de algoritmos de causalidad (naranja), así como los necesarios para la clasificación del grado de intensidad en caso de eventos adversos, sospechas y reacciones adversas medicamentosas. Todo procedimiento, así como posibles ventajas y probables efectos secundarios de los tratamientos fueron informados por el investigador ante el comité de ética. Los resultados y la evolución del paciente fueron comentados a cada paciente.

## RESULTADOS

### Características generales de la población.

De un total de 26 pacientes receptores de trasplante renal e hipovitaminosis D, se incluyó un total de 23 pacientes que lograron la normalización de 25 OHD. Dos pacientes tuvieron un inadecuado apego terapéutico y un paciente tuvo el diagnóstico de síndrome de mala absorción (Figura 1). Las características basales de los pacientes incluidos en el estudio se resumen en la Tabla 1.

Figura 1. Diagrama de flujo sobre la metodología del estudio

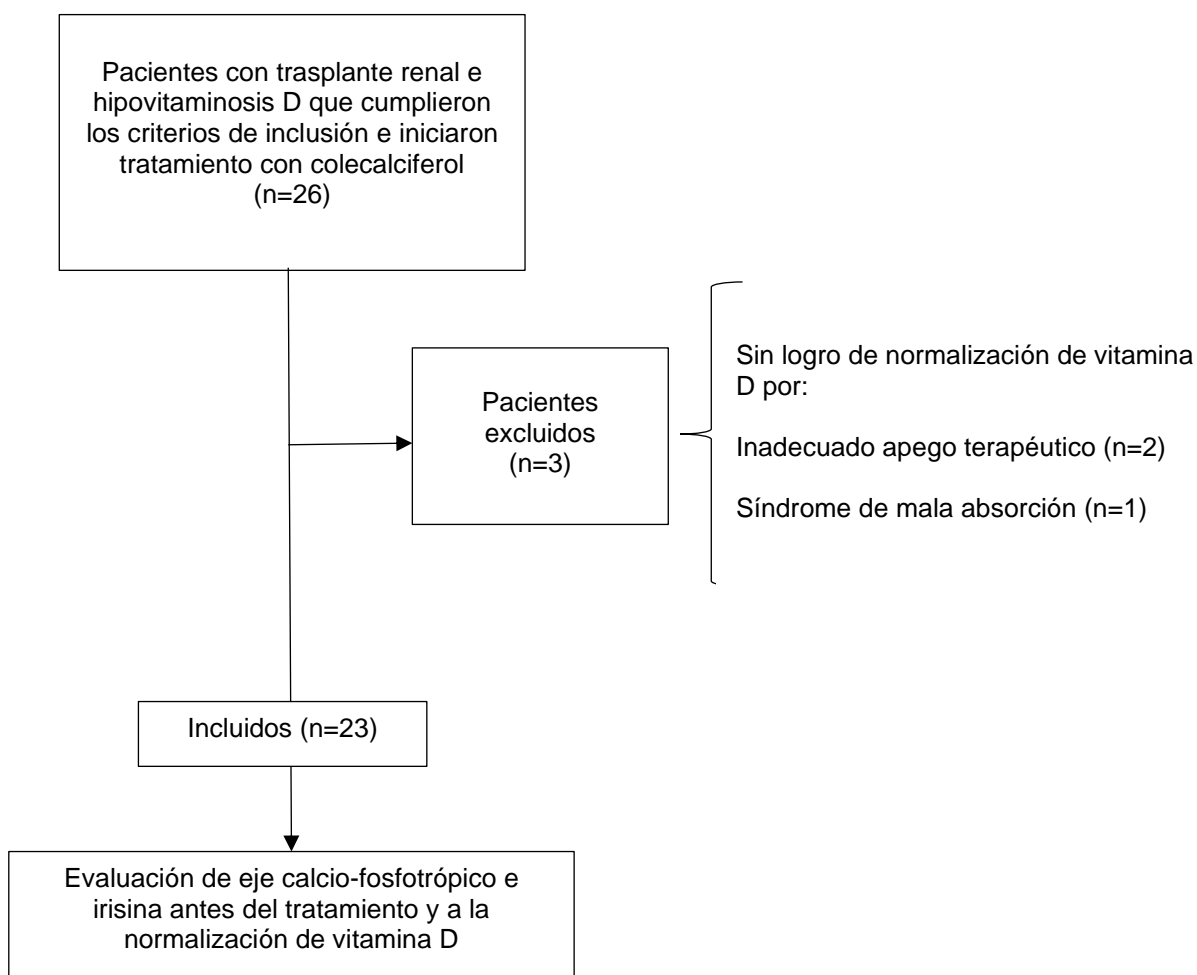


Tabla 1. Características basales y demográficas de la población (n=23)

Variable	Resultado
Género; %(n=)	Mujer: 47.8 (11) Hombres: 52.2 (12)
Edad (años)	28 (25-33.5)
Etnia; (n=)	Latinos (23)
IMC (kg/m <sup>2</sup> )	21.7 (19.8-24)
Distribución corporal (%)	
Masa muscular	31.4 (29.8-32.3)
Masa grasa	17.8 (16.4-21.25)
Tabaquismo; %(n=)	Antes del trasplante renal: 26.1 (6) Después del trasplante renal: 0
Consumo de alcohol; %(n=)	Antes del trasplante renal: 26.1 (6) Después del trasplante renal: 0
Etiología de Enfermedad Renal Crónica; %(n=)	Hipoplasia renal: 52.2 (12) Idiopática: 30.5 (7) Glomerulonefritis (Membranosa, proliferativa, focal y segmentaria): 13 (3) Cistinosis: 4.3 (1)
Tipo de tratamiento sustitutivo de la función renal antes del trasplante; %(n=)	Diálisis peritoneal: 56.5 (13) Hemodiálisis: 13 (3) Diálisis peritoneal y posteriormente hemodiálisis: 30.5 (7)
Tipo de trasplante renal; %(n=)	Donador vivo relacionado: 47.8 (11) Donador vivo no relacionado: 30.4 (7) Donador fallecido: 21.7 (5)

IMC= índice de masa corporal. Variables cualitativas reportadas en porcentajes y frecuencia. Variables cuantitativas reportadas en mediana y rango intercuartílico

### Normalización de vitamina D en pacientes con trasplante renal e hipovitaminosis D tratados con colecalciferol.

Posterior al tratamiento con colecalciferol, el tiempo para lograr la normalización de 25OHD fue de 12 semanas (4-12). La dosis de colecalciferol requerida para lograr la normalización fue de 5000 UI/día (4000-6000).

No se evidenció ninguna reacción adversa medicamentosa o sospecha de las misma durante el tratamiento con colecalciferol (hipercalcemia, hiperfosfatemia, litiasis renoureteral o hipersensibilidad a los componentes de la fórmula). No se evidenciaron modificaciones en el IMC a la normalización de vitamina D [21.7 (19.8-24) vs 21.9 (18.9-24.2); p=0.16]

### Efecto de la normalización de vitamina D sobre el eje calciotrópico

Al evaluarse las características del eje calciotrópico a la normalización de vitamina D se evidenció el aumento en las concentraciones de 25OHD [13 (9.3-17.1) vs 37.6 (32-45.2) ng/mL; p= 0.000] y la reducción de PTH [103 (58.5-123.9) vs 45.6 (30.1-65.1) pg/mL; p=0.002] con respecto al estado de hipovitaminosis D. No se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de calcio, calcio urinario de 24 hrs y en el índice CaU/Kg (Tabla 2).

Tabla 2. Características del eje calciotrópico en hipovitaminosis D y a la normalización de 25OHD

	Hipovitaminosis D post trasplante renal	A la normalización de vitamina D post trasplante renal	p
25OHD (ng/mL)	13 (9.3-17.1)	37.6 (32-45.2)	0.0001
PTH (pg/mL)	103 (58.5-123.9)	45.6 (30.1-65.1)	0.002
Calcio (mg/dL)	9.7 (9.3-10.1)	9.8 (9.4-10)	0.39
Calcio corregido (mg/dL)	9.2 (8.9-9.5)	9.3 (9.1-9.6)	0.30
Albúmina (g/dL)	4.5 (4.3-4.8)	4.8 (4.4-5)	0.52
Calcio urinario de 24 hrs (mg/día)	94.6 (57.5-125)	110 (90-160)	0.14
Índice calcio urinario/Kg peso (mg/kg/día)	1.7 (1.15-2.08)	2 (1.4-2.6)	0.13

Variables reportadas en mediana y rango intercuartílico

### Efecto de la normalización de vitamina D sobre el eje fosfotrópico

Al evaluarse las características del eje fosfotrópico a la normalización de vitamina D, se evidenció un aumento en las concentraciones de fósforo sérico [3.1 (2.3-3.5) vs 3.3 (3-3.6) mg/dL; p=0.01]. No se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de FGF-23, Klotho y fósforo urinario de 24 hrs (Tabla 3).

Tabla 3. Características del eje fosfotrópico en hipovitaminosis D y a la normalización de 25OHD

	Hipovitaminosis D post trasplante renal	A la normalización de vitamina D post trasplante renal	p
FGF-23 (pg/mL)	6.2 (5.6-9.6)	6.6 (5.6-11.05)	0.39
Klotho (pg/mL)	18.4 (15.3-23.9)	19.5 (13.8-32.5)	0.09
Fósforo (mg/dL)	3.1 (2.3-3.5)	3.3 (3-3.6)	0.01
Fósforo urinario de 24 hrs (g/día)	53 (37.7-56.2)	54.2 (44.6-59.3)	0.41

Variables reportadas en mediana y rango intercuartílico

### Efecto de la normalización de vitamina D sobre irisina.

A la normalización de vitamina D, se evidenció una disminución en las concentraciones de irisina [4.1 (3.8-4.5) vs 0.9 (0.4-3.07) ng/mL; p=0.04] (Tabla 4).

### Efecto de la normalización de vitamina D sobre magnesio, fosfatasa alcalina y función renal.

A la normalización de vitamina D, no se evidenciaron diferencias estadísticamente significativas en las concentraciones de magnesio, fosfatasa alcalina, creatinina, así como en la tasa de filtrado glomerular (Tabla 4).

Tabla 4. Características de las concentraciones de irisina, magnesio, fosfatasa alcalina y función renal en hipovitaminosis D y a la normalización de 25OHD

	Hipovitaminosis D post trasplante renal	A la normalización de vitamina D post trasplante renal	p
Irisina (ng/mL)	4.1 (3.8-4.5)	0.9 (0.4-3.07)	0.04
Magnesio (mg/dL)	1.7 (1.5-1.9)	1.7 (1-5-1.8)	0.37
Fosfatasa alcalina (U/L)	82 (71-92)	75 (68-82.5)	0.22
Creatinina (mg/dL)	1 (0.8-1.2)	1.1 (0.8-1.3)	0.15
Tasa Estimada de Filtrado Glomerular (ml/min): CKD-EPI	79.6 (66.8-109.5)	78 (63.7-92.3)	0.17
Masa muscular (%)	31.4 (29.8-32.3)	32 (30-32.4)	0.24

Variables reportadas en mediana y rango intercuartílico

#### Asociaciones entre los diferentes componentes del eje calcio-fosfotrópico a la normalización de vitamina D

Las concentraciones de PTH tuvieron una correlación negativa con la dosis de vitamina D ( $r=-0.57$ ;  $p=0.004$ ), klotho ( $r=0.54$ ;  $p=0.008$ ), fosfatasa alcalina ( $r=0.50$ ;  $p=0.01$ ). No se evidenció correlación con fósforo, FGF-23 e irisina pre-tratamiento o a la normalización de Vitamina D (Tabla 5).

Las concentraciones de klotho tuvieron una correlación positiva con PTH ( $r=0.54$ ;  $p=0.008$ ). No se evidenció correlación el resto de las variables (Tabla 5). Las concentraciones de irisina mostraron una correlación positiva con la masa muscular, sin evidenciarse correlación con PTH, calcio sérico, fosforo, FGF23, vitamina D o klotho (Tabla 5).

Las concentraciones de vitamina D y FGF-23 no tuvieron correlación con el resto de los componentes del eje calcio-fosfotrópico o irisina (Tabla 5).

Tabla 5. Asociaciones entre los diferentes componentes del eje calcio-fosfotrópico a la normalización de vitamina D

	Vitamina D	PTH	FGF-23	Klotho	Irisina
Vitamina D		r= -0.08 p= 0.70	r= 0.74 p= 0.73	r= -0.30 p= 0.15	r= 0.25 p= 0.25
PTH	r= -0.08 p= 0.70		r= -0.10 p= 0.62	<b>r= 0.54</b> <b>p= 0.008</b>	r= 0.08 p= 0.70
Calcio sérico	r= 0.01 p= 0.94	r= 0.09 p= 0.66	r= 0.17 p= 0.43	r= 0.20 p= 0.34	r= 0.095 p= 0.66
Calcio urinario 24 hrs	r= -0.01 p= 0.95	r= 0.12 p= 0.57	r= 0.32 p= 0.13	r= -0.02 p= 0.91	r= 0.09 p= 0.66
FGF-23	r= 0.74 p= 0.73	r= -0.10 p= 0.62		r= -0.08 p= 0.70	r= 0.40 p= 0.06
Klotho	r= -0.30 p= 0.15	<b>r= 0.54</b> <b>p= 0.008</b>	r= -0.08 p= 0.70		r= 0.05 p= 0.81
Fósforo	r= -0.25 p= 0.23	r= 0.93 p= 0.67	r= -0.17 p= 0.43	r= 0.14 p= 0.50	r= -0.28 p= 0.18
Fósforo urinario	r= -0.22 p= 0.30	r= 0.01 p= 0.95	r= -0.02 p= 0.91	r= 0.07 p= 0.73	r= 0.13 p= 0.52
Mg sérico	r= -0.21 p= 0.32	r= 0.21 p= 0.33	r= 0.96 p= 0.66	r= 0.15 p= 0.48	r= 0.15 p= 0.48
Irisina	r= 0.25 p= 0.25	r= 0.08 p= 0.70	r= 0.40 p= 0.06	r= 0.05 p= 0.81	
Fosfatasa alcalina	r= 0.20 p= 0.35	<b>r= 0.50</b> <b>p= 0.01</b>	r= -0.32 p= 0.91	r= 0.26 p= 0.21	r= -0.96 p= 0.66
Masa muscular	r= 0.18 p= 0.18	r= 0.41 p= 0.85	r= 0.27 p= 0.20	r= -0.007 p= 0.97	<b>r= 0.72</b> <b>p= 0.0001</b>
Prednisona	r= -0.14 p= 0.51	r= 0.22 p= 0.29	r= -0.18 p= 0.39	r= 0.06 p= 0.77	r= 0.10 p= 0.64
Micofenolato	r= -0.03 p= 0.88	r= -0.04 p= 0.84	r= -0.05 p= 0.81	r= -0.10 p= 0.62	r= -0.06 p= 0.77
Tacrolimus	r= 0.17 p= 0.41	r= 0.38 p= 0.66	r= -0.06 p= 0.77	r= -0.14 p= 0.50	r= -0.39 p= 0.06

La regresión lineal simple para cada una de las correlaciones significativas, corroboró la asociación positiva de Klotho con PTH ( $\beta=0.421$ ;  $B=0.004$ ; IC95% 0.003 – 0.007;  $p=0.045$ ) e irisina con la masa muscular ( $\beta=0.625$ ;  $B=0.225$ ; IC95% 0.097 – 0.325;  $p=0.001$ ). No se corroboró la asociación entre PTH y la dosis de colecalciferol ( $\beta=0.134$ ;  $p=0.22$ ) o de PTH y fosfatasa alcalina ( $\beta=0.173$ ;  $p=0.34$ ). No se evidenció una asociación entre los fármacos utilizados en el esquema inmunosupresor y los componentes del eje calcio-fosforotrópico.

## DISCUSIÓN

Los resultados de este estudio confirmaron que el tratamiento con colecalciferol es eficaz para la lograr normalización de 25OHD en paciente con TR, con efectos positivos sobre el eje calcio-fosforotrópico caracterizados por la reducción de PTH y el aumento en las concentraciones de fósforo sérico sin ocasionar hiperfosfatemia.

En las hormonas involucradas en este eje tales como FGF-23 y Klotho, no se observaron modificaciones significativas posteriores al tratamiento con colecalciferol y normalización de vitamina D. Estos datos contrastan con lo evidenciado en individuos aparentemente sanos y en pacientes con ERC. En personas aparentemente sanas se ha demostrado que el tratamiento con colecalciferol aumenta las concentraciones de FGF23 [75], mientras que en pacientes con ERC y diálisis peritoneal se ha reportado desde el aumento exponencial de FGF-23 [76] hasta la ausencia de modificaciones, incluyendo Klotho [77]. Hasta el momento no se cuentan con estudios en pacientes con TR, por lo que nuestros resultados serán útiles para contrastar con futuras investigaciones.

En el presente estudio se observó una disminución en las concentraciones de irisina al normalizar vitamina D. Es importante destacar que, si bien el efecto del tratamiento con colecalciferol sobre las concentraciones de irisina ha sido estudiado en modelos animales (aumento de irisina post administración de colecalciferol) [84] y en personas aparentemente sanas (sin modificaciones post-administración de colecalciferol) [85,86], los estudios en poblaciones con ERC y TR son nulos, por lo que estos resultados son originales y novedosos en el tema.

En cuanto a los posibles factores que pudiesen condicionar la reducción de irisina en nuestra población hacemos las siguientes consideraciones: 1) si bien, encontramos una



asociación entre irisina y masa muscular, esta última no se modificó a la normalización de vitamina D, por lo que no se podría atribuir a cambios en la cantidad de masa muscular; 2) es importante considerar un posible efecto del esquema inmunosupresor sobre esta miocina (no descrito en la literatura hasta el momento), sin embargo, no encontramos asociación en nuestro estudio para estas variables, por lo que no se puede explicar la reducción de irisina a la dosis o tipo de fármaco utilizado para la inmunosupresión en nuestros pacientes; 3) existen factores metabólicos como las modificaciones en el IMC o las alteraciones del metabolismo de los carbohidratos que se han asociado con una reducción de irisina en poblaciones sin ERC o TR [90]. En nuestro estudio, no evidenciamos modificaciones en el IMC a la normalización de vitamina D ni asociación de IMC con irisina por lo que no es posible atribuir a la misma la reducción de la miocina, sin embargo, resultaría necesario e interesante el evaluar en este grupo de pacientes el efecto de las alteraciones del metabolismo de los carbohidratos y proteínas sobre irisina. Si bien, dentro de nuestros criterios de inclusión se descartaron pacientes con alteraciones del metabolismo de los carbohidratos, la posibilidad del desarrollo de resistencia a la insulina y diabetes de nuevo inicio post-trasplante en esta población esta presente [91], proponiéndose un tema a explorar en nuestras futuras líneas de investigación.

Es importante destacar que el tiempo para lograr la normalización de 25OHD en nuestro estudio fue de 12 semanas con una dosis de colecalciferol requerida de 5000 UI/día, ambas mayores a lo establecido en guías internacionales para el tratamiento con colecalciferol en personas aparentemente sanas [51]. Por otra parte, a lo largo del seguimiento no se observó ninguna reacción adversa medicamentosa o sospecha de las misma (hipercalcemia, hiperfosfatemia, litiasis renoureteral o hipersensibilidad a los componentes de la fórmula), con lo cual podemos considerar que colecalciferol es un fármaco eficaz y seguro en nuestra población a pesar del requerimiento de dosis más altas y una mayor duración del tratamiento para la normalización de 25OHD. Dentro de los factores que podrían explicar estos hallazgos destacan las alteraciones en la farmacocinética de colecalciferol, relacionadas con alteraciones en su absorción (sobre todo en pacientes con síndrome de mala absorción intestinal condicionada por nefropatía crónica o relacionada con polifarmacia), el aumento del catabolismo de la 25OHD inducido por los fármacos inmunosupresores o alteraciones farmacodinámicas como la resistencia a vitamina D inducida por tacrolimus [52]. Aunado a lo anterior, no descartamos la posibilidad de variantes farmacogenéticas en nuestra población que condicionen la modificaciones en la

dosis y tiempo requeridos para el logro de normalización de 25OHD (polimorfismos CYP2D25, CYP27A1, CYP3A4 o del receptor de vitamina D)

En relación a las asociaciones entre las hormonas involucradas en el eje calcio-fosforotrópico y las concentraciones de irisina a la normalización de vitamina D se corroboró la asociación positiva entre Klotho y PTH pre-tratamiento, así como entre irisina y masa muscular.

Klotho tiene un papel importante en la regulación del metabolismo del calcio tanto a corto como a mediano plazo, en un sistema regulador de "varios pasos". Klotho se une a la Na<sup>+</sup>,K<sup>+</sup>-ATPasa y regula su reclutamiento en la superficie celular; en respuesta a concentraciones reducidas de calcio extracelular, controla la reabsorción de calcio en las células del túbulo contorneado distal y la secreción de PTH en las glándulas paratiroides.

En la "regulación de segundos a minutos" Klotho promueve el transporte transepitelial de Ca<sup>2+</sup> y la secreción de PTH. En la "regulación de minutos a horas" y "de horas a días" regula la homeostasis del calcio a través de la acción de la PTH y de la producción de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D mediada por PTH [92]. La asociación entre Klotho y PTH evidenciada en nuestro puede ser explicada por este mecanismo fisiológico.

Por otra parte, Klotho participa en la transducción de señales de FGF23, la cual regula a la baja la producción de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D y con ello la disminución en la absorción intestinal de calcio. A nivel renal, Klotho aumenta la capacidad del canal TRPV5 en la superficie luminal, lo cual aumenta la reabsorción de Ca<sup>2+</sup> en el riñón [92].

En la población general con función renal conservada se ha evidenciado una asociación entre Klotho y PTH dependiente del sexo. En hombre se ha visto una asociación positiva entre estas dos variables mientras que en mujeres la asociación es negativa [93], sin embargo, los mecanismos no han sido dilucidados.

Sin embargo, esta asociación no ha sido aún reportada en otras poblaciones. Específicamente en pacientes con TR, se ha evidenciado una asociación de Klotho con la DMO lumbar y osteocalcina, así como de PTH con DMO del cuello femoral, 1/3 distal de radio y de todo el cuerpo, sin embargo, la asociación de PTH y Klotho no fue reportada [94].

Por otra parte, la asociación entre irisina y masa muscular concuerda con lo esperado al proceso fisiológico de secreción de esta miocina [95].

Dentro de las fortalezas de nuestro estudio, destacamos la originalidad de algunos resultados relacionados con el eje fosfotrópico e irisina, así como la relevancia del estudio al realizarse en una población en la cual el efecto de colecalciferol sobre el eje calcio-fosfotrópico ha sido poco estudiado, con una intervención terapéutica que tuvo como meta la normalización de vitamina D y no solo de sustitución con colecalciferol sin corroborarse el logro de concentraciones de 25OHD >25 ng/mL. Dentro de las limitaciones se encuentra el tamaño de muestra relativamente pequeño derivado de los criterios de inclusión y exclusión establecidos, sin embargo, es importante destacar que el número de pacientes incluidos superó el tamaño de muestra estimado, cumpliendo con un adecuado poder estadístico. Como otras posibles limitaciones encontramos la falta de determinaciones de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D, forma biológicamente activa de vitamina D, medición de DBP, evaluación de polimorfismos de las enzimas involucradas en el metabolismo de Vitamina D, así como la evaluación de FGF23 e irisina tisulares o klotho transmembrana y urinaria, ya que en nuestro estudio la determinación de estas tres hormonas fue en suero. Proponemos la realización de estudios prospectivos enfocados a disminuir estas limitaciones y a evaluar los efectos de la normalización de vitamina D tanto a nivel óseo y no óseo (cardiovascular, renal, inmunológico, etc), incluso, su efecto sobre el pronóstico y los aspectos relacionados con farmacoeconomía.

## **CONCLUSIONES**

El tratamiento con colecalciferol es eficaz para la normalización de las concentraciones de 25OHD en paciente con TR, mostrando algunos efectos positivos sobre el eje calcio-fosfotrópico tales como la optimización de las concentraciones de fósforo sérico y la reducción de PTH. El colecalciferol es un fármaco seguro en pacientes con TR a pesar del requerimiento de dosis más altas y mayor duración del tratamiento para la normalización de 25OHD. En nuestro estudio no se corroboraron modificaciones en las concentraciones de Klotho y FGF-23 con la normalización de vitamina D. En cuanto a irisina, se observó una reducción de sus concentraciones a la normalización de vitamina D, sin embargo, no se corroboró asociación entre esta miocina y las variables del eje calcio-fosfotrópico, lo que implica que en RTR las variaciones de esta hormona pudiesen estar dadas por interacciones diferentes a las del músculo-hueso, tales como las relacionadas con la

interacción irisina y tejido adiposo o irisina y metabolismo de los carbohidratos. El tratamiento con colecalciferol ofrece una opción accesible, segura y eficaz en la mejoría del eje calcio-fosfotrópico en este grupo prioritario de pacientes.

## REFERENCIAS.

1. Cole D, Webb S, Chan P. Update on parathyroid hormone: New tests and new challenges for external quality assessment. *Clinical Biochemistry* 2007; 40: 585-590
2. D'Amour P., Brossard J.H. Carboxyl-terminal parathyroid hormone fragments: role in parathyroid hormone physiopathology. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 2005; 14 :330-336
3. D'Amour P. Circulating PTH molecular forms: What we know and what we don't. *Kidney International* 2006; 70: S29–S33
4. Kevin J, Martin IA, Esther A. Gonzalez EA. Parathyroid Hormone: New Assays, New Receptors. *Seminars in Nephrology*, 2004;24:3-9
5. Murray T.M., Rao L.G., Divieti P., Bringhurst F.R. Parathyroid Hormone Secretion and Action: Evidence for Discrete Receptors for the Carboxyl-Terminal Region and Related Biological Actions of Carboxyl-Terminal Ligands. *Endocrine Rev* 2005; 26 (1): 78-113
6. Hori, M., Shimizu, Y., Fukumoto, S. Minireview: fibroblast growth factor 23 in phosphate homeostasis and bone metabolism. *Endocrinology*, 2011, 152(1), 4-10.
7. Kuro-O M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, et al. Mutation of the mouse *klotho* gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature* 1997; 390 (6655):45-51.
8. Kuro-O M. *Klotho*. *Pflugers Arch* 2010; 459: 333-43.
9. Wang Y, Sun Z. Current understanding of *Klotho*. *Ageing Research Reviews* 2009;8:43- 51.
10. Kuro-O, M. The FGF23 and *Klotho* system beyond mineral metabolism. *Clinical and Experimental Nephrology* 2017: 1-6.
11. Olauson H, Lindberg K, AminR, et al. Parathyroid specific deletion of *Klotho* unravels a novel calcineurin dependent FGF23 signaling pathway that regulates PTH secretion. *PLoS Genet* 2013;9(12)
12. Faul C, Amaral AP, Oskouei B, et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest* 2011;121(11):4393–4408.

13. Bostrom P, Wu J, Jedrychowski MP, Korde A, Ye L, Lo JC, Rasbach KA, Bostrom EA, Choi JH, Long JZ, Kajimura S, Zingaretti MC, Vind BF, Tu H, Cinti S, Højlund K, Gygi SP, Spiegelman BM. A PGC1- $\alpha$ -dependent myokine that drives brownfat-like development of white fat and thermogenesis. *Nature*. 2012; 481(7382):463–468.
14. Colaianni G, Brunetti G, Colucci S, Grano M. Myokine Irisin and Its Effects Linking Bone and Muscle Function. *Clinic Rev Bone Miner Metab* 2018;16(1):16-21
15. Palermo A, Sanesi L, Colaianni G, Tabacco G, Naciu AM, Cesareo R, Pedone C, Lelli D, Brunetti G, Mori G, Colucci S, Manfrini S, Napoli N, Grano M. A Novel Interplay Between Irisin and PTH: From Basic Studies to Clinical Evidence in Hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 2019 Aug 1;104(8):3088-3096.
16. Thomas SS, Mitch WE. Parathyroid hormone stimulates adipose tissue browning: a pathway to muscle wasting. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care*. 2017;20(3):153–157
17. He L, He W-Y, A LT, Yang WL, Zhang AH. Lower serum irisin levels are associated with increased vascular calcification in hemodialysis patients. *Kidney Blood Press Res*. 2018;43(1):287–295.
18. Di Rosa M, Malaguarnera M, Nicoletti F, Malaguarnera L. Vitamin D3: a helpful immunomodulator. *Immunology* 2011;134: 123-139.
19. Hewison, M. An update on vitamin D and human immunity. *Clinical endocrinology* 2012, 76(3) :315-325.
20. Cheng, J.B., et al., Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004. 101(20): 7711-5.
21. Zehnder, D., et al., Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin D(3)-1  $\alpha$ -hydroxylase. *J Clin Endocrinol Metab* 2001. 86(2): 888-94.
22. Bikle, D.D., Extra renal synthesis of 1,25 dihydroxyvitamin D and its Health Implications. *Clin Rev in Bone and Min Metab* 2009. 7: 114-125.
23. Sun J. Vitamin D and mucosal immune function. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26: 591–5.
24. White JH. Vitamin D metabolism and signaling in the immune system. *Rev Endocr Metab Disord* 2012;13:21-9.
25. Hewison M. Vitamin D and immune function: autocrine, paracrine or endocrine? *Scand J Clin Lab Investig Suppl* 2012; 243:92–102.
26. Hewison M. Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. *Rheum Dis Clin N Am* 2012;38:125–39.

27. Lang PO, Samaras D. Aging adults and seasonal influenza: does the vitamin d status (h)arm the body?. *J Aging Res* 2012;2012:806198.
28. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Platz A et al. Effect of high-dosage cholecalciferol and extended physiotherapy on complications after hip fracture: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 2010;170: 813–20.
29. Lang PO, Aspinall R. Can we translate vitamin D immunomodulating effect on innate and adaptive immunity to vaccine response? *Nutrients* 2015;7: 2044–60.
30. Wang Y, Zhu J, De Luca HF. Where is the vitamin D receptor? *Arch Biochem Biophys* 2012;523: 123–33.
31. Haussler MR, Haussler CA, Jurutka PW et al. The vitamin D hormone and its nuclear receptor: molecular actions and disease states. *J Endocrinol* 1997;154 (3 Suppl):S57–73.
32. Yasmin R, Williams RM, Xu M, Noy N. Nuclear import of the retinoid X receptor, the vitamin D receptor, and their mutual heterodimer. *J Biol Chem* 2005;280:40152–60.
33. Christakos, S., Dhawan, P., Verstuyf, A., Verlinden, L., Carmeliet, G. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiological reviews* 2016, 96(1), 365-408.
34. Haussler, M.R. Norman A.W. Chromosomal receptor for a vitamin D metabolite. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1969. 62(1): p. 155-62.
35. McDonnell, D.P., et al., Molecular cloning of complementary DNA encoding the avian receptor for vitamin D. *Science* 1987. 235(4793): p. 1214-7.
36. Baker, A.R., et al., Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988. 85(10): p. 3294-8.
37. Makowski, A., et al., Determination of nuclear receptor corepressor interactions with the thyroid hormone receptor. *Mol Endocrinol* 2003. 17(2): p. 273-86.
38. Leo, C., Chen J.D. The SRC family of nuclear receptor coactivators. *Genes* 2000. 245: p. 1-11.
39. Rachez, C., et al., Ligand-dependent transcription activation by nuclear receptors requires the DRIP complex. *Nature* 1999. 398(6730): p. 824-8.
40. Rachez, C., et al., The DRIP complex and SRC-1/p160 coactivators share similar nuclear receptor binding determinants but constitute functionally distinct complexes. *Mol Cell Biol* 2000. 20(8): p. 2718-26.

41. Palmer, H.G., et al., Vitamin D(3) promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of beta-catenin signaling. *J Cell Biol* 2001. 154(2): p. 369-87.
42. Hill, C. S. Transcriptional control by the SMADs. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2016, 8(10), a022079.
43. Caffrey, J.M. and M.C. Farach-Carson, Vitamin D3 metabolites modulate dihydropyridine-sensitive calcium currents in clonal rat osteosarcoma cells. *J Biol Chem* 1989. 264(34): p. 20265-74.
44. Baran, D.T., et al., 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3-induced increments in hepatocyte cytosolic calcium and lysophosphatidylinositol: inhibition by pertussis toxin and 1 beta,25-dihydroxyvitamin D3. *J Bone Miner Res* 1990. 5(5): p. 517-24.
45. Morelli, S., Boland A.R., Boland R.L. Generation of inositol phosphates, diacylglycerol and calcium fluxes in myoblasts treated with 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Biochem J* 1993. 289(Pt 3): p. 675-9.
46. Wali, R.K., et al., 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D3 stimulates membrane phosphoinositide turnover, activates protein kinase C, and increases cytosolic calcium in rat colonic epithelium. *J Clin Invest* 1990. 85(4): p. 1296-303.
47. Khanal, R.C., et al., Membrane receptor-initiated signaling in 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-stimulated calcium uptake in intestinal epithelial cells. *J Cell Biochem* 2008. 105(4): p. 1109-16.
48. Boland R.L. VDR activation of intracellular signaling pathways in skeletal muscle. *Mol Cell Endocrinol* 2011, 347:11–16
49. Bikle, D. D. Extraskelatal actions of vitamin D. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2016, 1376(1), 29-52.
50. LeBlanc E, Zakher B, Daeges M, Pappas M, Chou R. Screening for vitamin D deficiency: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2014;162:109-22.
51. Holick, M. F., Binkley, N. C., Bischoff-Ferrari, H. A., Gordon, C. M., Hanley, D. A., Heaney, R.P., Murad H., Weaver, C. M. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2011, 96(7), 1911-1930.
52. Cianciolo, G., Galassi, A., Capelli, I., Angelini, M. L., La Manna, G., Cozzolino, M. Vitamin D in kidney transplant recipients: mechanisms and therapy. *American journal of nephrology* 2016, 43(6), 397-407.

53. Carlini RG, Rojas E, Weisinger JR, et al: Bone disease in patients with long-term renal transplantation and normal renal function. *Am J Kidney Dis* 2000;36:160–166.
54. Alshayeb HM, Josephson MA, Sprague SM: CKD-mineral and bone disorder management in kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 2013;61:310–325.
55. Bleskestad IH, Thorsen IS, Jonsson G, Skadberg O, Bergrem H, et al. Soluble Klotho and intact fibroblast growth factor 23 in long-term kidney transplant patients. *Eur J Endocrinol*. 2015 Apr;172(4):343-50.
56. Boudville NC, Hodsman AB: Renal function and 25-hydroxyvitamin D concentrations predict parathyroid hormone levels in renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2621–2624.
57. Bienaimé F, Girard D, Anglicheau D, et al: Vitamin D status and outcomes after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2013;24: 831–841
58. Stavroulopoulos A, Cassidy MJ, Porter CJ, Hosking DJ, Roe SD: Vitamin D status in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2007, 7(11):2546–2552.
59. Economidou D, Dovas S, Papagianni A, et al: FGF-23 Levels before and after renal transplantation. *J Transplant* 2009;2009:379082.
60. Evenepoel P, Meijers BK, de Jonge H, et al: Recovery of hyperphosphatemia and renal phosphorus wasting one year after successful renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3:1829–1836.
61. Courbebaisse et al. VITamin D supplementation in renAL transplant recipients (VITALE): a prospective, multicentre, double-blind, randomized trial of vitamin D estimating the benefit and safety of vitamin D3 treatment at a dose of 100,000 UI compared with a dose of 12,000 UI in renal transplant recipients: study protocol for a double-blind, randomized, controlled trial. *Trials* 2014 15:430
62. Kahwaji J, Bunnapradist S, Hsu JW, et al: Cause of death with graft function among renal transplant recipients in an integrated healthcare system. *Transplantation* 2011;91: 225–230.
63. Keyzer CA, Riphagen IJ, Joosten MM, et al: Associations of 25(OH) and 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D with long-term outcomes in stable renal transplant recipients. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100:81–89.
64. Li YC, Kong J, Wei M, Chen ZF, Liu SQ, Cao LP: 1,25-dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest* 2002, 110(2):229–238.



65. Zhang Y, Kong J, Deb DK, Chang A, Li YC: Vitamin D receptor attenuates renal fibrosis by suppressing the renin-angiotensin system. *J Am Soc Nephrol* 2010, 21(6):966–973.
66. Park, Y. J., Kim, S. U., Lee, K. H., Lee, J. H., Kwon, E., et al. Vitamin D deficiency is associated with increased risk of bacterial infections after kidney transplantation. *The Korean journal of internal medicine* 2017, 32(3), 505.
67. Wissing KM, Broeders N, Moreno-Reyes R, Gervy C, Stallenberg B, Abramowicz D: A controlled study of vitamin D3 to prevent bone loss in renal-transplant patients receiving low doses of steroids. *Transplantation* 2005, 79:108–115.
68. Courbebaisse M, Thervet E, Souberbielle JC, Zuber J, Eladari D, Martinez F, Mamzer-Bruneel MF, Urena P, Legendre C, Friedlander G, Prié D: Effects of vitamin D supplementation on the calcium-phosphate balance in renal transplant patients. *Kidney Int* 2009, 75:646–651.
69. Benaboud S, Urien S, Thervet E, Prié D, Legendre C, Souberbielle JC, Hirt D, Friedlander G, Treluyer JM, Courbebaisse M: Determination of optimal cholecalciferol treatment in renal transplant recipients using a population pharmacokinetic approach. *Eur J Clin Pharmacol* 2013, 69:499–506.
70. Vieth R: Vitamin D toxicity, policy, and science. *J Bone Miner Res* 2007, 22:64–68.
71. Barger-Lux MJ, Heaney RP. Effects of above average summer sun exposure on serum 25-hydroxyvitamin D and calcium absorption. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87:4952–4956.
72. Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ: Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr* 2003, 77:204–210.
73. Balcázar-Hernández L, Vargas-Ortega G, González-Virla B, et al. Biochemical Characteristics of Bone Mineral Metabolism before and throughout the First Year after Kidney Transplantation, Persistent Hyperparathyroidism, and Risk Factors in a Latin Population. *Int J Endocrinol* 2020;2020:6913506.
74. Balcázar-Hernández L. Efectos de la normalización de vitamina D sobre citocinas y hormonas calciotrópicas en trasplante renal. Tesis de maestría, 2019. Universidad Nacional Autónoma de México, Ciudad Universitaria, CDMX
75. Kamelian T, Saki F, Jeddi M, Dabbaghmanesh MH, Omrani GHR. Effect of Cholecalciferol therapy on serum FGF23 in vitamin D deficient patients: a randomized clinical trial. *J Endocrinol Invest*. 2018 Mar;41(3):299-306.

76. Ramirez-Sandoval JC, Arvizu-Hernandez M, Cruz C, Vazquez-Cantu B, Rojas-Concha LJ, et al. Cholecalciferol supplementation increases FGF23 in peritoneal dialysis patients with hypovitaminosis D: a randomized clinical trial. *J Nephrol*. 2019 Aug;32(4):645-659.
77. Scholze A, Liu Y, Pedersen L, Xia S, Roth HJ, et al. Soluble  $\alpha$ -klotho and its relation to kidney function and fibroblast growth factor-23. *J Clin Endocrinol Metab*. 2014 May;99(5):E855-61.
78. Cavalier É, Mismetti V, Souberbielle JC. Evaluation of circulating irisin levels in healthy young individuals after a single 100,000 IU vitamin D dose. *Ann Endocrinol (Paris)*. 2014 Jul;75(3):162-4.
79. Vvv Ebert T, Focke D, Petroff D, Wurst U, Richter J, et al. Serum levels of the myokine irisin in relation to metabolic and renal function. *Eur J Endocrinol* 2014;170(4):501-6. doi: 10.1530/EJE-13-1053.
80. Tentolouris A, Eleftheriadou I, Tsilingiris D, Anastasiou IA, Kosta OA, et al. Plasma Irisin Levels in Subjects with Type 1 Diabetes: Comparison with Healthy Controls. *Horm Metab Res* 2018;50(11):803-810. doi: 10.1055/a-0748-6170.
81. Ebert T, Focke D, Petroff D, Wurst U, Richter J, Bachmann A, et al. Serum levels of the myokine irisin in relation to metabolic and renal function. *Eur J Endocrinol* 2014;170(4):501-6. doi: 10.1530/EJE-13-1053.
82. Kałużna M, Hoppe K, Schwermer K, Ibrahim AY, Pawlaczyk K, Ziemnicka K. Adropin and irisin levels in relation to nutrition, body composition, and insulin resistance in patients with end-stage renal disease on chronic hemodialysis and peritoneal dialysis. *Pol Arch Med Wewn* 2016;126(7-8):474-82. doi: 10.20452/pamw.3466.
83. Wen MS, Wang CY, Lin SL, Hung KC. Decrease in irisin in patients with chronic kidney disease. *PLoS One*. 2013;8(5):e64025.
84. Nadine Ahmad Raafat, Mahmoud Mustafa Ali Abulmeaty. Effect of vitamin D3 administration on irisin levels in vitamin D deficient rat model. *Al-Azhar Med J* 2017;46(1):237-250 doi: 10.12816/0035551
85. Cavalier É, Mismetti V, Souberbielle JC. Evaluation of circulating irisin levels in healthy young individuals after a single 100,000 IU vitamin D dose. *Ann Endocrinol (Paris)* 2014;75(3):162-4. doi: 10.1016/j.ando.2014.05.005.
86. Gmiat A, Mieszkowski J, Prusik K, Prusik K, Kortas J, et al. Changes in pro-inflammatory markers and leucine concentrations in response to Nordic Walking

- training combined with vitamin D supplementation in elderly women. *Biogerontology*. 2017 Aug;18(4):535-548. doi: 10.1007/s10522-017-9694-8.
87. Basurto L, Díaz A, Rodríguez A, Robledo A, Vega S, García Vega J, Martínez Murillo C. Circulating levels of plasminogen activator inhibitor-1 are associated with metabolic syndrome rather than with menopause. *Gynecological Endocrinology* 2019. DOI: 10.1080/09513590.2019.1604658.
88. Basurto L, Sánchez L, Díaz A, Valle M, Robledo A, Martínez-Murillo C. Differences between metabolically healthy and unhealthy obesity in PAI-1 level. *Thrombosis Research* 2019; 180:11-114 Doi.org/10.1016/j.thromres.2019.06.013.
89. Basurto L, Gregory MA, Barrera S, Sánchez L, Díaz-Martínez A, Manuel L. et al. Monocyte chemoattractant protein-1 (MCP-1) and fibroblast growth factor-21 (FGF-21) as biomarkers of subclinical atherosclerosis in women. *Experimental Gerontology* 2019; 124: 110624
90. Song R, Zhao X, Zhang DQ, Wang R, Feng Y. Lower levels of irisin in patients with type 2 diabetes mellitus: A meta-analysis. *Diabetes Res Clin Pract*. 2021 May;175:108788. doi: 10.1016/j.diabres.2021.108788.
91. Ponticelli C, Favi E, Ferrareso M. New-Onset Diabetes after Kidney Transplantation. *Medicina (Kaunas)*. 2021 Mar 8;57(3):250. doi: 10.3390/medicina57030250.
92. Imura A, Tsuji Y, Murata M, Maeda R, Kubota K, Iwano A, Obuse C, Togashi K, Tominaga M, Kita N, Tomiyama K, Iijima J, Nabeshima Y, Fujioka M, Asato R, Tanaka S, Kojima K, Ito J, Nozaki K, Hashimoto N, Ito T, Nishio T, Uchiyama T, Fujimori T, Nabeshima Y. alpha-Klotho as a regulator of calcium homeostasis. *Science*. 2007 Jun 15;316(5831):1615-8. doi: 10.1126/science.1135901.
93. Dhayat NA, Pruijm M, Ponte B, Ackermann D, Leichtle AB, Devuyst O, Ehret G, Guessous I, Pechère-Bertschi A, Pastor J, Martin PY, Burnier M, Fiedler GM, Vogt B, Moe OW, Bochud M, Fuster DG. Parathyroid Hormone and Plasma Phosphate Are Predictors of Soluble  $\alpha$ -Klotho Levels in Adults of European Descent. *J Clin Endocrinol Metab*. 2020 Apr 1;105(4):e1135–43. doi: 10.1210/clinem/dgz232
94. Matei A, Bilha SC, Constantinescu D, Pavel-Tanasa M, Cianga P, Covic A, Branisteanu DD. Body composition, adipokines, FGF23-Klotho and bone in kidney transplantation: Is there a link? *J Nephrol*. 2022 Jan;35(1):293-304. doi: 10.1007/s40620-021-00972-9.

95. Pedersen BK, Febbraio MA. Muscles, exercise and obesity: skeletal muscle as a secretory organ. *Nat Rev Endocrinol.* 2012 Apr 3;8(8):457-65. doi: 10.1038/nrendo.2012.49.