



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
FACULTAD DE MEDICINA
DIVISIÓN DE ESTUDIO DE POSGRADO
HOSPITAL INFANTIL DE MÉXICO FEDERICO GÓMEZ

POLIMORFISMOS DEL RECEPTOR DE
VITAMINA D EN RELACION CON
OSTEODISTROFIA RENAL EN NIÑOS
CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICO
TERMINAL

TESIS

PARA OBTENER EL TÍTULO DE
ESPECIALISTA EN:

PEDIATRÍA

P R E S E N T A:

Dra. María Perla Oropeza Martínez



HOSPITAL INFANTIL *de* MÉXICO
FEDERICO GÓMEZ

Instituto Nacional de Salud

TUTOR DE TESIS
DRA. MARA MEDEIROS DOMINGO
Jefe del Laboratorio de Investigación en Nefrología y
Metabolismo Mineral y Óseo
Adscrito del Servicio de Nefrología Pediátrica

MÉXICO, D.F. AGOSTO 2011



Universidad Nacional
Autónoma de México



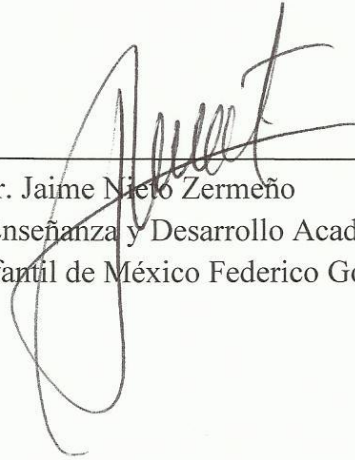
UNAM – Dirección General de Bibliotecas
Tesis Digitales
Restricciones de uso

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.

**POLIMORFISMOS DEL RECEPTOR DE VITAMINA D EN RELACION
CON OSTEODISTROFIA RENAL EN NIÑOS CON INSUFICIENCIA
RENAL CRÓNICO TERMINAL**



Dr. Jaime Nieto Zermeño
Director de Enseñanza y Desarrollo Académico
Hospital Infantil de México Federico Gómez



Tutora Dra. Mara Medeiros Domingo
Jefe del Laboratorio de Investigación en Nefrología y Metabolismo
Mineral y Óseo.

AGRADECIMIENTOS

A mis PADRES, quienes han sido mis guías e instructores de mi camino, seguirme en mis sueños, por estar a mi lado en cada momento, llenarme de amor, brindarme su apoyo incondicional en cada momento y por inculcarme los valores de amor, perseverancia y responsabilidad. Los quiero.

A mis ABUELOS, por ser mis ángeles de la guarda que me han cuidado desde pequeña hasta la fecha y sé que están orgullosos de su nieta.

A mi HERMANO, por ser mi compañero de vida, amigo y confidente.

INDICE

SECCIÓN	PÁGINA
ANTECEDENTES	1
MARCO TEORICO	11
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	16
JUSTIFICACION	17
OBJETIVOS	18
PREGUNTA DE INVESTIGACION	19
HIPÓTESIS	20
MATERIAL Y MÉTODOS	21
CONSIDERACIONES ETICAS	26
CONSIDERACIONES BIOETICAS	27
CRONOGRAMA	28
RESULTADOS	29
DISCUSIÓN	35
CONCLUSIONES	36
REFERENCIAS	37

POLIMORFISMOS DEL RECEPTOR DE VITAMINA D EN RELACION CON OSTEODISTROFIA RENAL EN NIÑOS CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICO TERMINAL

ANTECEDENTES

La infancia y la adolescencia son momentos cruciales para el desarrollo de la salud del sistema óseo y vascular, alteraciones en la remodelación ósea o biología vascular en estos periodos, tienen consecuencias que afectan gravemente la calidad de vida, así como esperanza de vida. (1) En las personas sanas el balance del calcio-fósforo es mantenido por una función coordinada por el riñón, glándulas paratiroides, hueso y tracto gastrointestinal. Este balance es a través de la compleja relación que existe entre la hormona paratiroidea, calcitonina, la 1,25 dihidroxivitamina D y fosfatoninas. (2) (3). En los niños con enfermedad renal crónica presentan desórdenes de la regulación del metabolismo mineral, y por consecuencia alteraciones en la modelación, remodelación y crecimiento óseo. Estas alteraciones tienen un amplio espectro ya que ocurren tempranamente durante la enfermedad crónica renal (ECR) hasta la insuficiencia renal (IRC) y se acompañan por el desarrollo de calcificaciones cardiovasculares. La falla de medro y estatura baja deben ser de vital importancia para los pacientes, familiares y médicos por igual, la optimización del crecimiento y la estatura adulta final ha sido un punto importante en el manejo de la enfermedad renal crónica en niños.

Más recientemente, una creciente conciencia en las calcificaciones cardiovasculares que acompañan a la ECR, como causa de mortalidad en adultos jóvenes y niños con enfermedad renal, y que los tratamientos diseñados para tratar las consecuencias del metabolismo de la IRC afecta la progresión de la patología vascular ha llevado a una reclasificación de la enfermedad mineral, esquelético y vascular asociada con la insuficiencia renal progresiva (4).

A este respecto una nueva definición recomendada por la guía internacional KDIGO de la tradicionalmente llamada osteodistrofia surge para enriquecerlo, incorporando todos los elementos de las alteraciones en el hueso y la mineralización asociados con la IRC. El concepto trastorno mineral-óseo por enfermedad renal crónica (CKD-MBD, CKD-mineral and bone disease disorder) se utiliza actualmente y se define como un trastorno sistémico del metabolismo y la mineralización ósea debido a IRC. (Tabla 1) (5)

El término osteodistrofia renal se refiere sólo a la patología ósea de la IRC y, por lo tanto representa sólo uno de los componentes del CKD-MBD. Si bien la evaluación definitiva de la osteodistrofia renal requiere de una biopsia ósea, este procedimiento no se realiza rutinariamente en la práctica clínica. Sin embargo, la histomorfometría ósea sigue siendo el estándar de oro para la evaluación de los aspectos esenciales de la histología del hueso: el recambio, la mineralización y el volumen. (4)

Tabla 1. Clasificación KDIGO de la IRC-Enfermedad mineral ósea (CKD-MBD) y osteodistrofia renal.

<p>Definición de CKD-MBD</p> <p>Un trastorno sistémico del metabolismo mineral óseo debido a insuficiencia renal que se manifiesta por uno o más de los siguientes:</p> <ul style="list-style-type: none"> • Alteraciones en el metabolismo de calcio, fósforo, PTH o metabolismo de vitamina D • Alteraciones en el recambio óseo, mineralización, volumen, crecimiento lineal o fuerza • Calcificación vascular o de tejidos blandos
<p>Definición de Osteodistrofia renal</p> <ul style="list-style-type: none"> • Es una alteración en la morfología del hueso en pacientes con enfermedad renal crónica • Es una medida del componente esquelético del trastorno sistémico CKD-MBD que es cuantificable por la histomorfometría de la biopsia ósea.

Fuente: Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). Kidney International 2009; 76 (Suppl 113): S1-S130

El riñón desempeña un papel fundamental en la homeostasis mineral:

- a) Regula el equilibrio externo del calcio, el fósforo y el magnesio;
- b) Sintetiza la formación de 1,25-hidroxivitamina D3 (1,25(OH)2D3) y 24,25(OH)2D3,
- c) Desempeña un papel principal en la acción y degradación de la PTH y el aclaramiento de la misma desde la circulación. (6)

Además, el riñón es la mayor (sino es la única) ruta para la eliminación de ciertas sustancias como aluminio y alfa-microglobulina, que pueden afectar de

forma adversa a la homeostasis mineral y ósea cuando se retienen en altas concentraciones. (6)

ANORMALIDADES DEL CALCIO, FOSFORO, PARATHORMONA (PTH) Y METABOLISMO DE LA VITAMINA D

Los riñones regulan la absorción intestinal de calcio por la conversión de 25 hidroxivitamina D₃ (25(OH)D₃), la forma de almacenamiento de la vitamina D, a 1,25 dihidroxivitamina D₃ (1,25 (OH) 2D₃, calcitriol), la forma activa de la Vitamina D, por medio de la enzima 1 α hidroxilasa. La supresión de la síntesis de calcitriol ocurre en forma temprana en la ERC, antes de la alteración de niveles de calcio, fósforo, PTH y se pueden detectar bajos niveles circulantes de calcitriol, (7) (8) lo que se debe, en parte, a la pérdida del funcionamiento de la masa renal y causar disminución de la absorción intestinal de calcio, estimulando un incremento de PTH (9). En las primeras etapas de las enfermedades renales crónicas (ERC), niveles elevados de PTH circulante pueden resultar en normales o bajos niveles de fosfato sérico. En etapa avanzada, sin embargo, la disminución de la tasa de filtración glomerular y de excreción de fósforo se encuentra límite. La hiperfosfatemia producida, causa supresión de la actividad de la 1 α hidroxilasa (10) y se estimula la liberación de PTH. (11)

A medida que disminuye la función renal, los riñones y el esqueleto son cada vez más resistentes a las acciones de la PTH, lo que exige mayores niveles de PTH para mantener el metabolismo óseo y mineral normal. (12) Mientras que el principal estímulo para la PTH es la concentración de calcio sérico, la hiperfosfatemia también potencia la secreción de PTH, mientras que la vitamina D, a través del receptor de la vitamina D en el tejido de la glándula paratiroidea, suprime la transcripción PTH. Por lo tanto, se comprende que la reducción progresiva de la masa renal se asocia con alteraciones de la homeostasis mineral. (13) Levin et al. Han descrito la prevalencia de anomalías en el calcio sérico, fósforo y PTH en paciente con ERC en un estudio transversal de 1800 pacientes en estadio 3-5 de ERC. Los valores de calcio y el fósforo no tuvieron anomalías hasta que la tasa de filtración glomerular (TFG) cayó por debajo de 40 ml/min por 1.73m²SC y se mantuvieron relativamente estables hasta que la TFG cayó por debajo de

20ml/min por $1.73\text{m}^2\text{SC}$ (Figura 1). Sin embargo, el 12% de los pacientes con $\text{TFG} < 80\text{mL}/\text{min}$ por $1.73\text{m}^2\text{SC}$ tenían elevación de PTH (definido como $465\text{ pg}/\text{ml}$, el límite superior del rango normal de la prueba empleada) y casi el 60% de los pacientes con $\text{TFG} < 60\text{ mL} / \text{min}$ por $1.73\text{m}^2\text{SC}$ tenían niveles elevados de PTH (Figura 2) (14). Mientras que en los pacientes en estadio 5 con manejo de terapia sustitutiva renal, en la cohorte prospectiva, se realizaron medidas repetidas de los valores de laboratorio. En pacientes de reciente ingreso a diálisis, los niveles séricos de calcio y fósforo en el inicio de la diálisis fueron $9.35\text{ mg}/\text{dL}$ ($2.34\text{ mmol}/\text{L}$) y $5.23\text{ mg}/\text{dL}$ ($1,69\text{mmol}/\text{L}$), respectivamente. La media de los niveles séricos aumentado durante los primeros 6 meses de la terapia de reemplazo renal (calcio $9.51\text{mg}/\text{dL}$ o $2.38\text{mmol}/\text{l}$; fósforo $5.43\text{mg}/\text{dL}$ o $1.75\text{mmol}/\text{l}$). (15) Aunque hay numerosos estudios transversales de niveles séricos de calcio, fósforo y PTH en el estadio de IRC-5 población, Dialysis Outcomes and Practice Pattern Study ofrece el más completo con una visión global de la prevalencia de los trastornos del calcio (corregido por la albúmina), el fósforo y PTH. (16) Por desgracia, no existe una estandarización de los ensayos de PTH de todo el mundo.

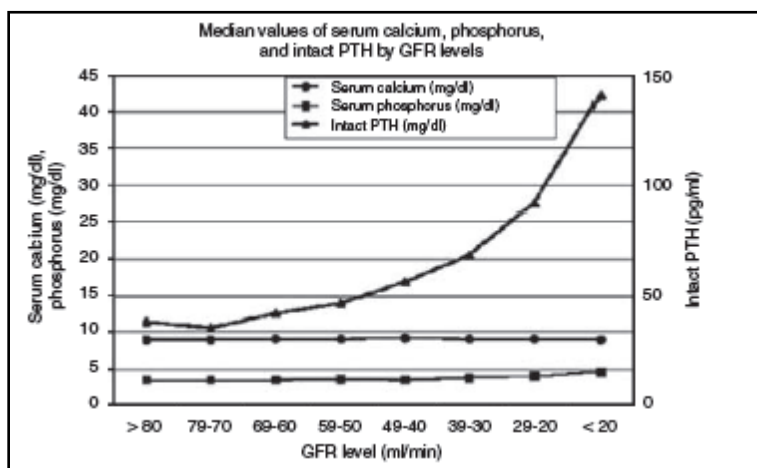


Figura. 1 Valores de la mediana de Ca, P y PTHi sérico para los niveles de tasa de filtración glomerular. Fuente Levin et al. (14)

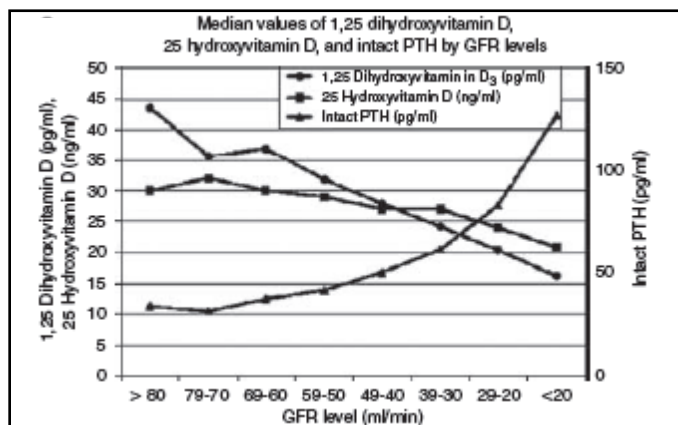


Figura. 2 Los valores medios de 1,25 (OH) 2D3, 25 D3 (OH), y los niveles de iPTH por filtración glomerular. Levin et al (14)

Con el tiempo, la hipocalcemia crónica, la hiperfosfatemia, y los niveles circulantes bajos de calcitriol, son resultado de la hiperplasia de las glándulas paratiroides. Dado que la vida media de las células paratiroides es de aproximadamente 30 años, una vez que se establece la hiperplasia es difícil de revertir. La estimulación a largo plazo de las glándulas paratiroides también puede conducir a alteraciones cromosómicas que se traducen en un crecimiento autónomo, no regulado y liberación de hormonas. (17)

Recambio óseo

Tradicionalmente, la osteodistrofia renal ha sido clasificada principalmente en alteraciones en el recambio óseo. La lesión primaria de la osteodistrofia renal en los niños es de alto recambio óseo, también llamado " hiperparatiroidismo secundario". La exposición prolongada a altos niveles de PTH en suero a menudo conduce a cambios fibrosos en los huesos, esta lesión se denomina "osteítis fibrosa quística". Desde que la PTH activa la PTH/Proteína relacionada con la hormona paratiroidea (PTHrP) en el receptor de osteocitos y los osteoblastos, se aumenta la actividad celular de los mismos, (18) (19) los niveles excesivos de PTH circulantes dan como resultado aumento del recambio óseo. (20) El recambio óseo aumentado (hiperparatiroidismo secundario) es evidente en pacientes con etapas tempranas y avanzadas de la IRC y es casi universal en los niños no tratados en el inicio de la diálisis. (21) Estas condiciones se caracterizan por un mayor número de osteoblastos y osteoclastos. Debido al exceso de actividad osteoclástica, aumento de la

resorción de minerales y de la matriz a lo largo de las superficies trabecular y los canales haversianos son evidentes. Osteítis fibrosa quística, la lesión avanzada del hiperparatiroidismo secundario, también se asocia con fibrosis peritrabecular. (22)

Un bajo recambio óseo (osteodistrofia renal adinámica) también se produce en los niños tratados con diálisis de mantenimiento, aunque no ha sido demostrada en adultos o niños con las primeras etapas de la IRC. (23) La adinamia ósea es resultado de un exceso de la supresión de la PTH sérica, debido al manejo excesivo de vitamina D y las sales de calcio y se caracteriza por volumen normal de osteoide, la ausencia de fibrosis, y una tasa de formación ósea reducida, también se ha asociado con niveles bajos de fosfatasa alcalina, niveles altos de calcio en suero, y una propensión a calcificación vascular. (24) (25).

Mineralización

El aumento de hueso no mineralizado (osteoide), junto con las tasas de retraso de la deposición de minerales, son comunes. (26) Mineralización defectuosa que se asocia con la enfermedad de alto recambio óseo se denomina "lesión mixta", cuando se asocia con un bajo a normal recambio óseo, se conoce como osteomalacia.(4) Mientras que las implicaciones de la mineralización defectuosa aún no se han establecido, el aumento de las tasas de fractura, deformidades en huesos, y retraso en el crecimiento son frecuentes en los pacientes con enfermedad renal crónica y puede ser debido, en parte, a la alteración de la mineralización. (1)

Volumen

La PTH es un esteroide anabólico en el nivel de hueso trabecular, altos niveles séricos de ésta se asocian típicamente con el aumento de volumen óseo, el volumen y ancho trabecular. (27). Así, los niños con enfermedad renal crónica suelen tener el volumen óseo normal o alto según la evaluación de histomorfometría ósea. Aquellos tratados con corticoesteroides, sin embargo, pueden mostrar pérdida de volumen óseo, denominada "osteoporosis". El impacto de la osteoporosis en la infancia no siempre es inmediatamente aparente durante el pico máximo de crecimiento durante la adolescencia se

asocia con un mayor riesgo de osteoporosis, fracturas de cadera, y la mortalidad en la edad adulta. (28)

Crecimiento

A pesar de la corrección de la acidosis y la anemia, la normalización de los niveles de calcio y fósforo, y terapia de reemplazo con vitamina D; la mayoría de los niños con IRC siguen creciendo mal. La falta de crecimiento empeora a medida que disminuye la función renal, la altura promedio de los niños con enfermedad renal crónica, incluso leve es una desviación estándar (SDS) por debajo del promedio para los niños sanos. ERC moderada se asocia con una altura de menos 1,5 SDS, y en el momento de inicio de diálisis, la altura media de menos 1,8 SDS. (29)

El hiperparatiroidismo secundario contribuye al retraso del crecimiento, aunque los valores óptimos para el objetivo de PTH en los niños en todas las etapas de ERC siguen siendo controvertidas. En los niños con enfermedad renal crónica moderada, algunos datos indican que la velocidad de crecimiento normal se alcanza cuando los niveles de PTH se mantienen dentro del rango normal, (30) mientras que otros han demostrado una correlación lineal entre crecimiento y valores de PTH en la misma población de pacientes, aquellos con los mayores valores de PTH mantienen las mayores tasas de crecimiento. (31). En los niños tratados con diálisis de mantenimiento, la enfermedad ósea adinámica y la falta de crecimiento han sido asociados con los niveles de PTH alrededor de 100pg/mL, por esto muchos expertos recomiendan niveles objetivo de PTH 3-5 veces del rango normal en la ERC avanzada. (32). Datos de la Comunidad Europea, sin embargo, han demostrado que la velocidad de crecimiento óptimo en esta población puede estar asociada con los niveles de PTH de 2-3 veces el rango normal. (33)

BIOMARCADORES DE OSTEODISTROFIA RENAL

Calcio y fósforo sérico

Los niveles de calcio y fósforo se mantienen estables en las etapas de 1 y 2 de la IRC. A medida que avanza la insuficiencia renal, los niveles séricos de calcio en respuesta a la caída de la absorción intestinal de calcio disminuyen como resultado de bajos niveles circulantes de $1,25 \text{ (OH)}_2\text{D}_3$. (7) El tratamiento con análogos de vitamina D activa y quelantes del fósforo corrige la hipocalcemia, y, en la etapa 5 de la IRC, la hipercalcemia puede desarrollarse en respuesta a un tratamiento agresivo con altas dosis de análogos de vitamina D y quelantes de fosfato. En este contexto, el aumento de calcio en suero, junto con los bajos niveles de fosfatasa alcalina y PTH, puede indicar el desarrollo del hueso adinámico. (32) El ajuste de dosis de la vitamina D y el uso de calcio puede prevenir la falla de crecimiento. El aumento de los niveles séricos de calcio, se asocian con un mayor riesgo de mortalidad en las grandes poblaciones de pacientes adultos en diálisis, también puede prevenir la progresión de la calcificación cardiovascular. (34) (35)

Actividad de fosfatasa alcalina

Los valores séricos de fosfatasa alcalina son marcadores de actividad de los osteoblastos justo en niños con enfermedad renal crónica. Los osteoblastos expresan normalmente grandes cantidades de la isoenzima ósea de la fosfatasa alcalina, y los niveles séricos elevados se correlacionan con la formación de hueso. Dado que la fosfatasa alcalina también está presente en el hígado, los niveles séricos elevados de fosfatasa alcalina total no siempre indican el recambio óseo aumentado. La medición de la fracción estable al calor y las fracciones lábiles al calor puede ayudar a separar el origen óseo de las causas de los elevados niveles hepáticos. La medición de fosfatasa alcalina es útil en el seguimiento de la respuesta del hueso a un tratamiento con análogos de vitamina D en pacientes con osteítis fibrosa; en donde los valores empiezan a disminuir durante varios meses, por lo general indican la mejoría histológica. (1) Sin embargo, los valores de fosfatasa alcalina sérica

bajos, especialmente en niños con enfermedad renal crónica estadio 5 dosis con manejo con análogos de vitamina D y calcio, son consistentes con hueso adinámico.

Hormona paratiroidea

Los niveles séricos de PTH son ampliamente utilizados como marcadores no invasivos en la distinción entre remodelación lenta y osteítis fibrosa (36), sin embargo hay mucha controversia con respecto al tipo de ensayo que debe emplearse. La PTH es una proteína de 84 aminoácidos que se guarda en gránulos secretorios en la glándula paratiroidea hasta que se libera. Una vez liberada la vida media de la 1-84 PTH es de 2-4min, la hormona se fracciona tanto en glándula paratiroidea como en el hígado y riñones. En la circulación hay tanto PTH intacta como diferentes fragmentos de menor peso molecular que se generan tanto en la glándula paratiroides como en el metabolismo periférico que pueden tener diferentes actividades en el metabolismo mineral, el fragmento 7-84 PTH induce hipocalcemia e inhibe al 1-84 PTH. (37) (38). Actualmente las recomendaciones para los niveles objetivo de PTH se basan en las mediciones obtenidas por el ensayo de primera generación de la PTH, obtenidos de biopsias de los niños tratados con diálisis de mantenimiento y que recibieron calcitriol oral en dosis bajas o ningún tratamiento. (Tabla 2) (39) El aumento de la resistencia del esqueleto a las acciones de la PTH requiere que ésta, se mantenga en los niveles más altos en las etapas avanzadas de la IRC. La regulación a la baja del receptor de la PTH, disminución de la expresión del factor de diferenciación de los osteoblastos, y el aumento de los niveles del factor inhibidor osteoclastogénesis ocurren con disminución de la función renal, lo que contribuye a la resistencia esquelética a la PTH.(39) En pacientes con insuficiencia renal leve a moderada, los niveles de PTH que se encuentran dentro del rango normal por lo general corresponden a las tasas normales de formación ósea, mientras que los niveles moderadamente elevados sugieren la presencia de hiperparatiroidismo secundario (23). En los pacientes sometidos a diálisis de mantenimiento que están sin tratamiento o están recibiendo pequeñas dosis diarias de calcitriol, los niveles de PTH son de aproximadamente de dos a cinco veces el límite superior de lo normal, que

por lo general corresponden a las tasas normales de formación ósea.(31) La sobre supresión de la PTH en pacientes en diálisis también se ha demostrado como la presencia de falla de crecimiento, hipercalcemia, y hueso adinámico.(32) En resumen, los niveles de PTH se deben mantener a niveles adecuados según el rango para la etapa de IRC; niveles apropiados para etapas tempranas de IRC, indican baja remodelación ósea en pacientes manejados con diálisis; mientras que niveles adecuados para estadio 4 IRC representan osteítis fibrosa.

Tabla 2. Metas de rangos de PTH por estadio de Insuficiencia renal crónica

Estadio de IRC	Tasa de Filtración Glomerular (ml/min per 1.73m²)	Meta de PTH intacta (pg./ml)
3	30-59	35-70
4	15-29	70-110
5	<15 o diálisis	200-300

Fuente: National Kidney Foundation K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in children with chronic kidney disease. Am J Kidney Dis (2005) 46 [4 Suppl 1]: S1-121

Vitamina D

La nutrición es fundamental para el manejo óptimo de la osteodistrofia renal. (39) La deficiencia de vitamina D es frecuente en los niños, incluidos aquellos con función renal normal, y la presencia de insuficiencia renal agrava esa deficiencia. En la actualidad, la terapéutica de vitamina D nativa se halla disponible en dos formas: la vitamina D2 (ergocalciferol) que se obtiene de las plantas y la vitamina D3 (colecalfiferol) obtenida de fuentes animales. La reposición de los depósitos de vitamina D se ha demostrado que aumentar la producción de calcitriol, lo que mejora el hiperparatiroidismo secundario, y trata las lesiones de pobre mineralización en pacientes con IRC estadio 2 a 4. (40). Por lo tanto, la evaluación y la reposición de los depósitos de vitamina D nativa se recomienda en esta población. Es de destacar que las recomendaciones actuales de dosificación para la reposición de la vitamina D nativa son similares a los recomendados para el tratamiento del raquitismo nutricional y superan con creces las recomendaciones para la ingesta diaria de rutina.

MARCO TEÓRICO

MECANISMOS MOLECULARES

La 1,25 vitamina D así como el calcio extracelular, como se mencionó anteriormente, son los principales factores para estimular la producción y secreción de la PTH. La 1,25VD entra por difusión al citosol de la célula paratiroidea y se une a su receptor específico (VDR) y este complejo (1,25VD-VDR) viaja hacia el núcleo donde forma un heterodímero con el receptor del ácido retinoico (RXR). Este nuevo complejo (1,25VD-VDR-RXR) se une a una región promotora del elemento de respuesta de la vitamina D (VDRE) del ácido desoxiribonucleico (ADN). Tanto los factores de transcripción basales como las moléculas reguladoras son reclutadas para modular el grado de transcripción por la RNA polimerasa II, suprimiendo la traducción de la PTH. (41) El RSCa se encuentra en la superficie de las células paratiroideas y reconoce el nivel extracelular del calcio, al elevarse este ión en plasma inhibe la secreción de PTH a través de la activación secuencial de la cascada de la protein cinasa C. (42) De esta forma tanto el complejo 1,25VD-VDR-RXR como el RSCa determinan la síntesis y secreción de PTH. En la IRC, como se explicó previamente, tanto la 1,25 VD como el calcio están disminuidos, por lo que existe un estímulo constante para la producción y secreción de PTH.

Factores genéticos

Con respecto a las bases moleculares, en estudios realizados en familias y gemelos, la influencia genética puede representar hasta el 80% de la variación en la densidad mineral ósea. (42) La masa ósea final es resultado de todos los mecanismos implicados en el metabolismo óseo. En consecuencia, los factores ambientales tienen un efecto menor sobre el hueso, y esto dependerá de los condicionantes genéticos. Teniendo en cuenta el efecto de un gran número de hormonas sistémicas y locales en la regulación del metabolismo óseo, es muy posible tener una influencia poligénica. En muchos estudios, se ha demostrado la influencia de los genes que codifican el receptor de

vitamina D (VDR), el receptor de estrógeno, la síntesis del factor de crecimiento transformante, el TGF- β o la síntesis de colágeno tipo I $_{\alpha-1}$. (43)

El gen VDR se ha estudiado más ampliamente entre todos estos. Esta se encuentra en el cromosoma 12, se compone de 5.6kb. La mayoría de los genes comprenden regiones no codificantes donde con frecuencia se encuentran modificaciones de la secuencia de bases, aunque esto no modifica el resultado de aminoácidos de la estructura del receptor, que sabemos que puede cambiar la transcripción de la región codificante o la estabilidad del ARNm. Los cambios en la secuencia de bases en la región de codificación son menos frecuentes, uno se encuentra normalmente en las porciones intrónicas (secuencias de silencio). Por otro lado, la sustitución de bases en el fragmento del exón no siempre altera el aminoácido resultante, ya que podemos obtener un codón sinónimo para el mismo aminoácido. Sólo hay una modificación descrita, en el segundo exón, que modifica el codón inicial (ATG), y en cuya presencia se agregan tres aminoácidos adicionales a la estructura del receptor de la vitamina D. Aunque hay cuatro sitios en los que la sustitución de la base han sido descritos, sólo hay uno que puede imponer cambios estructurales en la secuencia de aminoácidos. Estas mutaciones están relacionadas a los cambios en la región no codificante (conocido como fenómeno de (desequilibrio de ligamento) "linkage imbalance") y se pueden utilizar como marcadores indirectos. (44)

Las nuevas secuencias de bases resultantes son reconocidas por las enzimas de restricción que fragmentan el ADN en el lugar donde se encuentra la mutación. Si el sitio de restricción está presente, se obtiene un fragmento de ADN que contiene la secuencia nueva y describe el alelo con la letra minúscula inicial de la enzima de restricción utilizada. Cuando no se produce la fragmentación, el alelo se escribe con la letra mayúscula inicial de la enzima. Por lo tanto, teniendo en cuenta la duplicidad cromosómica, tenemos dos alelos y los diferentes genotipos de cada variación. Por lo tanto, un gran número de polimorfismos se pueden obtener si se combinan diferentes enzimas de restricción. (Tabla 3) (43)

Tabla 3. Polimorfismos del VDR		
Enzima de Restricción	Alelos	Genotipos
Bsm1	B	BB
	b	Bb
		Bb
Taq1	T	TT
	t	Tt
		Tt
Apa 1	A	AA
	a	Aa
		Aa
Fok1	F	FF
	f	Ff
		ff

Fuente: Gómez C, Navez M, Díaz-Corte C, Fernández M, Cannata J. Vitamin D receptor gene (VDR) polymorphism: effect on bone mass, bone loss and parathyroid hormone regulation. *Neprrol Dial Transplant* (1998) 13 [Suppl 3] 73-77 (43)

En la práctica, los alelos se escriben mediante el uso de cebadores y la reacción en cadena de polimerasa (PCR) que amplifican los ciclos el fragmento de ADN con el sitio de restricción reconocido por la enzima. El producto de amplificación se incuba con la enzima de restricción y los productos de digestión se observan por electroforesis, dando lugar a diferentes fragmentos de acuerdo a su tamaño. Una vez que ha escrito los alelos VDR diferentes, podemos estudiar su influencia sobre el metabolismo óseo. Por lo tanto, podemos considerar el efecto sobre la regulación de hormonas, marcadores bioquímicos de recambio óseo, la masa ósea y el hueso cambios de la densidad mineral con el tiempo, los efectos sobre la incidencia y prevalencia de las fracturas y los efectos en las respuestas terapéuticas diferentes. (45)

Polimorfismo del receptor de vitamina D y Regulación de PTH

La posible influencia de los diferentes polimorfismos del VDR sobre la regulación del eje calcio-hormona paratiroidea (PTH)-vitamina D es particularmente importante en pacientes con insuficiencia renal crónica, donde se han observado otros factores relacionados con la osteodistrofia renal. Las diferencias en los valores basales de PTH con respecto a los polimorfismos de VDR no se han descrito. (46) Sin embargo, también hay resultados controvertidos en esta área. En el estudio realizado por Fernández et al. en pacientes con insuficiencia renal crónica sometidos a hemodiálisis crónica, los pacientes con el genotipo bb tenían un menor riesgo de desarrollo de hipoparatiroidismo (OR = 0,3; 0.11-0.82, $p < 0,01$) que la población general en diálisis. Por el contrario, el genotipo BB fue más frecuente en el grupo de bajo nivel de PTH (32,3%) en comparación con los pacientes con el genotipo bb (12,5%, $P < 0,05$). (47) Estos resultados sugieren que el alelo B parece ser más sensible a los cambios capaces de influir en la regulación de la PTH. Estos resultados, a diferencia de los de la población con función renal normal, de acuerdo con los resultados obtenidos en pacientes con hiperparatiroidismo primario, donde los alelos y genotipos bb fueron más frecuentes.

La influencia de los polimorfismos del VDR en la densidad mineral ósea (DMO) y su evolución ha sido ampliamente estudiada, y ha dado lugar a resultados divergentes, es muy importante puntualizar que estas discrepancias pueden obedecer más a diferencias étnicas ya que la frecuencia de los alelos difiere entre distintas poblaciones.

El genotipo BB está reportado en el 15% de la población caucásica mientras que solamente en el 1-2% de la japonesa. Como consecuencia en la población japonesa el polimorfismo Apa1 es más informativo que el Bsm1. Yokoyama et al estudió a 129 pacientes japoneses y encontró que el alelo A muestra asociación negativa con la progresión del HPTS. (48)

EPIDEMIOLOGIA DEL HIPERPARATIROIDISMO EN PACIENTES PEDIÁTRICOS CON INSUFICIENCIA RENAL CRÓNICA

En nuestra población existen pocos datos epidemiológicos; en un estudio realizado en 2006 en la Unidad de Investigación Médica en Enfermedades Nefrológicas, Hospital de Especialidades, Centro Médico Nacional Siglo XXI, Ávila-Díaz et al, estudiaron 41 pacientes de 5-17 años en diálisis peritoneal, fueron clasificados en dos grupos de acuerdo a marcadores séricos; grupo 1 Enfermedad ósea de bajo recambio positiva, definida por $PTH < 150 \text{ pg/mL}$ más calcio corregido $> 10 \text{ mg/dL}$; y grupo 2 Enfermedad ósea de bajo recambio negativa, definida por $PTH > 150 \text{ pg/mL}$ más calcio corregido $< 10 \text{ mg/dL}$. El 48.8% fueron del grupo 1 (bajo recambio); mientras que 51.2% no tuvo bajo recambio. (49)

EPIDEMIOLOGIA DE LOS POLIMORFISMOS DEL RECEPTOR DE VITAMINA D

En un estudio realizado por Sainz et al, en cien niñas sanas, prepúberes americanas con ascendencia mexicana, con un rango de edad entre 6.7 y 11.7 años, que fueron reclutadas en las escuelas en Los Ángeles, California, se encontró la presencia de genotipo más común fue Aa (55%), Bb (42%), y TT (54%). Genotipos aa y bb fueron más frecuentes (24% y 44% respectivamente) que AA y BB (21% y 14% respectivamente). Lo cual es muy similar a lo anteriormente encontrado en Francia y en personas de ascendencia europea en Australia y Estados Unidos. (50)

PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA

La osteodistrofia renal se presenta en todos los pacientes urémicos, hay poca información sobre el tema en niños. Así mismo la relación con la prevalencia de los polimorfismos del receptor de vitamina D en pacientes con IRC, no han sido concluyentes ya que los trabajos publicados tienen deficiencias metodológicas secundario a estudios con pocos pacientes.

Debido a la relación que se ha observado entre los polimorfismos del VDR y osteodistrofia renal, en pacientes urémicos, es necesario conocer la prevalencia de estos en la población mexicana específicamente en niños, en donde no se ha estudiado ninguno de ellos.

JUSTIFICACION

Las alteraciones del metabolismo óseo, son una enfermedad multifactorial donde no sólo se requiere de una estrategia terapéutica para tratarla y prevenir sus complicaciones sino de una estrategia terapéutica integral que tome en cuenta todos los posibles factores que contribuyan a su desarrollo. De ahí que es de vital importancia conocer si existe asociación entre los diferentes genotipos del VDR con los niveles de PTH ya que este conocimiento tendría claras implicaciones clínicas y terapéuticas. Nos permitirá establecer nuevas rutas de abordaje terapéutico en estos pacientes, por ejemplo, si conocemos que la genotipificación se asocia a mayor resistencia al tratamiento con calcitriol podríamos saber de forma anticipada que pacientes requerirán más paratiroidectomía como tratamiento definitivo. Y de esta forma acortar el tiempo de espera de dicho procedimiento quirúrgico, lo cual se traduce en menor riesgo de complicaciones esqueléticas y cardiovasculares asociadas a esta patología.

De forma contraria si encontramos que los pacientes mexicanos con HPTS a IRCT portan de forma más frecuente una genotipificación más susceptible de respuesta al calcitriol, la recomendación terapéutica cambiaría. En este caso se haría mayor énfasis en el tratamiento médico agresivo a base de calcitriol y quelantes de fósforo aún sopesando el costo económico que ello implica.

Por otro lado también es de gran valor científico conocer la genotipificación del VDR en nuestra población ya que hasta el momento desconocemos si el ajuste de estas frecuencias en poblaciones de estructura genómica más compleja como los mexicanos podrían tener frecuencias mayores de los genotipos de riesgo.

Finalmente no existe ningún artículo publicado que conjugue los genotipos de los tres polimorfismos del VDR en pacientes con HPTS e IRC y que explore si estos genotipos juegan un papel pronóstico aditivo o dominante en el desarrollo de esta patología.

OBJETIVOS

OBJETIVO PRINCIPAL

Conocer la frecuencia de los polimorfismos del receptor de vitamina D en niños mexicanos con insuficiencia renal crónica

OBJETIVOS SECUNDARIOS

1. Determinar si existe asociación de los polimorfismos del gen del VDR, se asocian con niveles mayores de hormona paratiroidea en pacientes pediátricos con insuficiencia renal crónica terminal.
2. Determinar si existe asociación entre los diferentes genotipos del VDR con los niveles de fósforo en pacientes mexicanos pediátricos con IRCT.

PREGUNTA DE INVESTIGACION

¿Cuál es la frecuencia de los polimorfismos del receptor de vitamina D en niños mexicanos?

¿Existe algún genotipo del VDR que se asocie a niveles más elevados de PTH (al menos 25% más de la PTH promedio) en pacientes pediátricos mexicanos con IRCT en terapia sustitutiva?

HIPOTESIS

Los genotipos bb, aa y TT, se asocian con niveles mayores de hormona paratiroidea en pacientes pediátricos con insuficiencia renal crónica terminal.

METODOLOGIA

DISEÑO

Estudio de asociación genética, transversal, comparativo y observacional.

POBLACIÓN DE ESTUDIO

Pacientes pediátricos mexicanos con insuficiencia renal crónica terminal menores de 17 años que acudan a consulta de seguimiento para recibir un primer trasplante renal por el servicio de Nefrología en el Hospital Infantil de México "Federico Gómez".

PERIODO DE REALIZACION

Noviembre 2009-marzo 2011

CRITERIOS DE INCLUSIÓN

1. Pacientes menores de 17 años con insuficiencia renal crónica que vayan a recibir trasplante renal.
2. Firma de documentos de consentimiento y asentamiento informado

CRITERIOS DE EXCLUSIÓN

1. Pacientes que previo a uremia tengan alteraciones del metabolismo óseo como raquitismo hipofosfatémico, acidosis tubular renal congénita, litiasis renal o nefronoptosis.

VARIABLES

- Variables dependientes:
Niveles de calcio sérico corregido, fósforo y PTH
- Variables independientes
Edad, género, enfermedad renal original, tipo de terapia sustitutiva, ingesta de fármacos relacionados con metabolismo óseo (suplementos de calcio, análogos de la 1,25 VD, quelantes de fósforo), polimorfismos del gen del VDR.

- Definición de variables (Tabla 4)

Variable	Definición	Tipo de Variables	de Escala de Medición
Edad	Tiempo transcurrido desde su nacimiento hasta el momento de inclusión al estudio	Cuantitativa continua	Años
Genero	Condición orgánica que distingue al hombre de la mujer	Nominal	Masculino o femenino
Mexicano	Pacientes nacidos de padres y abuelos mexicanos	Nominal	Dicotómica Si/No
Enfermedad Renal Crónica	Tasa de filtrado glomerular <15ml/min	Cuantitativa continua	ml/min
Terapia sustitutiva	Tratamiento de la insuficiencia renal crónica terminal	Nominal	Hemodiálisis o Diálisis peritoneal
Hiperparatiroidismo secundario grave	Hiperparatiroidismo secundario con niveles de PTH > 800pg/ml	Nominal	Dicotómica Si/No
Polimorfismo Bsm 1 del VDR	Polimorfismo del VDR que es reconocido por la enzima de restricción Bsm 1	Nominal	Dicotómica Si/No
Polimorfismo Fok 1 del VDR	Polimorfismo del VDR que es reconocido por la enzima de restricción Fok	Nominal	Dicotómica Si/No Homocigoto Heterocigoto
Polimorfismo Apa 1 del VDR	Polimorfismo del VDR que es reconocido por la enzima de restricción Apa 1	Nominal	Dicotómica Si/No Homocigoto Heterocigoto
Polimorfismo Taq 1 del VDR	Polimorfismo del VDR que es reconocido por la enzima de restricción Taq 1	Nominal	Dicotómica Si/No Homocigoto Heterocigoto
Nivel sérico de calcio	Niveles sérico de calcio	Cuantitativa continua	mg/dL
Nivel sérico de fósforo	Niveles séricos de fósforo	Cuantitativa continua	mg/dL

Nivel sérico de PTH	Niveles séricos de PTH	Cuantitativa continua	pg/dL
Albúmina	Niveles sérico de albumina	Cuantitativa continua	g/dL
Fármacos relacionados al metabolismo óseo	Medicamentos administrados al paciente con la intención de tratar alteraciones del metabolismo óseo	Nominal	Calcitriol, Carbonato de calcio, etc.

PROCEDIMIENTOS

- Selección y captación de pacientes: Servicio de Nefrología del HIMFG.
- Obtención de la información clínica: Se realizó revisión de los expedientes clínicos para la recolección de datos.
- Medición de las determinaciones bioquímicas: La medición de las variables bioquímicas se realizó en el laboratorio de Nefrología del Hospital Infantil de México. El cual sigue procedimientos de estandarización de acuerdo a las recomendaciones de la Organización Mundial de Salud, incluyendo uso de sueros externos como control.
 - Calcio: se realizó medición con ensayo de espectrometría de absorción.
 - Fósforo: Determinado cuantitativamente con fofomolibdato y espectrometría del complejo.
 - Fosfatasa alcalina total y fracción termolábil: Determinación con espectrometría de Gutman y su isoenzima ósea con el método desnaturalización por calentamiento.
 - Paratohormona: Determinación a través de radioinmunoanálisis utilizando I^{25} como marcador. Los paquetes se obtuvieron en DiaSorin, Inc (Stillwater MN, USA).

La muestra de plasma para fragmentos de PTH se congeló para realizarse con kit de ELISA comercial.

- Polimorfismos del gen VDR

Los polimorfismos del gen del VDR se realizaron en el departamento de Nefrología del Hospital Infantil de México Federico Gómez con sondas New England Biolabs. Se extrajo el DNA genómico a partir de leucocitos de sangre periférica de los pacientes usando un procedimiento de extracción estándar no enzimático(11). Los análisis genéticos de los polimorfismos intrónicos Apa I y Taq I se realizaron con el fragmentador sentido (5´ CAG AGC ATG GAC AGG GAG CAA G 3´) y el fragmentador antisentido (5´GCA ACT CCT CAT GGC TGA GGT CTC A 3´). Después de la desnaturalización inicial a 94°C se continuó por 5 min de 30 ciclos a 94°C por 40s, apareamiento a 60°C por 40 s, polimerización a 72°C por 40s con polimerización final a 72°C por 7 min. El fragmento producido de DNA de 745 pb fue digerido con ambas enzimas de restricción Taq I (New England Biolabs) a 65°C por 90 min o Apa I (New England Biolabs) a 37°C por 120 min.

La región polimórfica Bsm I fue amplificada utilizando el fragmentador sentido (5´CAA CCA AGA CTA CAA GTA CCG CGT CAG TGA 3´) y el partidor antisentido (5´AAC CAG CGG AAG AGG TCA AGG G 3´). El fragmentador originado será de 825 pb, el que será sometido a idénticas condiciones que los polimorfismos Apa I y Taq I. Los productos de la PCR fueron digeridos con la enzima Bsm I (New England Biolabs) a 65°C por 120 min.

- Identificación de los alelos

Los productos de la PCR se sometieron a una electroforesis en gel de agarosa al 1% para los polimorfismos Bsm I, Apa I y Taq I. Luego los geles se tiñeron con una solución de bromuro de etidio y el resultado se visualizó en un

transiluminador de luz ultravioleta. Según la presencia o ausencia del sitio de restricción fueron identificados como BB (825 pb), Bb (650 pb) y bb (175 pb) para Bsm I. En los casos de Apa I y Taq I serán identificados AA (745 pb), Aa (528 pb), aa (217 pb) y TT (745 pb). Se comparó el tamaño de las bandas correspondientes que contienen los polimorfismos según su migración electroforética, usando estándares de peso molecular conocidos.

TAMAÑO DE LA MUESTRA

En nuestra Institución se realizan alrededor de 35 trasplantes por año. Por lo cual se contempló incluir a cuando menos 30 pacientes en el estudio.

Si bien se lograron muestrear 32 pacientes, se tienen resultados de genotipificación en 29.

ANÁLISIS DE LA INFORMACIÓN

La información se capturó en hojas diseñada ex profeso (ver anexos). Esta información se capturó y analizó con el paquete estadístico Graph Pad versión 5. Se realizó estadística descriptiva, expresando los datos como promedio \pm desviaciones estándar para variables con distribución normal y medianas con rangos para variables con distribución anormal.

Se utilizó análisis de varianza (ANOVA) para la comparación de múltiples variables.

Para evaluar las diferencias entre la concentración de PTH y la presencia o ausencia de polimorfismos en el gen de VDR se utilizó X^2 o la prueba exacta de Fisher.

Se consideró estadísticamente significativo valores de significancia $p \leq 0.05$

CONSIDERACIONES ETICAS

Este estudio se efectuó de acuerdo a la Declaración de Helsinki del año 2000 y al Reglamento de la Ley General de Salud en Materia de Investigación.

Los investigadores participantes son especialistas en Nefrología Pediátrica y por consiguiente están debidamente capacitados para desarrollar la investigación.

La información proporcionada por el paciente y sus familiares será de manejo exclusivo de los investigadores y se mantuvo en reserva en el expediente clínico y formatos de recolección de datos del estudio.

En el estudio sólo participaron los pacientes que otorgaron su consentimiento informado por escrito; los pacientes o sus familiares conservan copia del mismo y se mantuvo la disponibilidad para atender sus dudas o preguntas en el momento que lo requieran.

CONSIDERACIONES DE BIOSEGURIDAD

Las muestras de sangre empleadas para el estudio fueron obtenidas en el laboratorio de Nefrología de acuerdo a estándares establecidos, el personal a cargo usó bata y guantes para su protección, las muestras fueron trasladadas al laboratorio de Investigación en Nefrología en una gradilla. Los desechos líquidos obtenidos del procesamiento de las muestras sanguíneas se colocaron en recipientes de plástico rotulados con el tipo de desecho que se tratara.

Se generaron las solicitudes necesarias y se enviaron al departamento de control ambiental de nuestra institución, para la recolección y eliminación correspondiente de cada uno de los desechos generados.

En el estudio se realizó la determinación de PTH, por radioinmunoanálisis, para lo cual se requirió de kits marcados con I^{125} que tiene actividad de 60 días. La determinación se realizó en el Laboratorio de Nefrología y Metabolismo Mineral y Óseo, área de radioinmunoanálisis en el Edificio Mundet 3er piso del Hospital Infantil de México Federico Gómez. El Dr. Francisco H. Velásquez Forero cuenta con licencia de manejo de sustancias radioactivas No. AOO200/0253/2006, con vigencia de 29 marzo de 2006 a 29 marzo de 2011.

Los residuos radioactivos se desecharon de la siguiente manera, líquidos no acuosos: recipientes de plástico o vidrio. Se almacenaron temporalmente midiendo la actividad a la entrada y salida con radiómetro Geiger Müller. Se envió oficio a la subdirección de mantenimiento con solicitud de retiro. Se recoge por empresa externa, aproximadamente cada 3 meses.

CRONOGRAMA

	2009		2010												2011					
	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN	JUL	AGO	SEP	OCT	NOV	DIC	ENE	FEB	MAR	ABR	MAY	JUN
Captura de paciente	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X				
Toma de muestra de sangre	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X				
Procesamiento de muestra						X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X				
Análisis												X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X	X X
Presentación y difusión de resultados finales																	X X	X X	X X	X X

RESULTADOS

Se incluyeron 29 pacientes en un periodo de 20 meses a los cuales se realizo la genotipificación de polimorfismos del receptor de vitamina D. La demografía de los pacientes se describe en la Tabla 5.

Tabla 5. Demografía de los pacientes	
Característica	
Edad	
(promedio ± DS)	14.2 ±3.5
Género	
Masculino (n,%)	14 (48%)
Femenino (n,%)	15 (52%)
Terapia Sustitutiva	
Diálisis Peritoneal (n,%)	17 (59%)
Hemodiálisis (n,%)	8 (24%)
Prediálisis (n,%)	5 (17%)
Tipo de Trasplante Renal	
Donador Vivo Relacionado	15 (52%)
Donador Fallecido	14 (48%)

En la tabla 6 podemos observar los parámetros bioquímicos estudiados como fueron la creatinina sérica, la tasa de filtración glomerular calculada por la fórmula de Schwartz, así como los valores promedio de calcio, fósforo y PTH en suero.

Tabla 6. Parámetros bioquímicos	
Característica	
Creatinina sérica (mg/dl) (promedio ± DS)	10.26±4.41
Tasa de filtración glomerular estimada ml/min/1.73m²SC (promedio ± DS)	8.90±4.78
Calcio sérico (mg/dl) (promedio ± DS)	8.91±1.39
Fósforo sérico (mg/dl) (promedio ± DS)	5.57±1.60
Hormona Paratiroidea sérica (pg./dl) (promedio ± DS)	448.98±21.18

La tabla No. 7 muestra la frecuencia de polimorfismos del receptor de vitamina D en los pacientes pediátricos mexicanos con insuficiencia renal. Se realizaron 29 polimorfismos con sus correspondientes enzimas de restricción.

En relación a Apa 1, el genotipo AA fue el más frecuente (38%), para Taq 1 los heterocigotos fueron los más frecuentes (63%) y en el caso de Bsm 1 el genotipo BB fue el más frecuente (52%).

Tabla 7. Frecuencia de polimorfismos del receptor de vitamina D.		
Polimorfismo	N	%
Apa 1		
AA	10	38
Aa	9	35
aa	7	27
Taq 1		
TT	9	33
Tt	17	63
tt	1	4
Bsm 1		
BB	15	52
Bb	14	48
bb	0	0

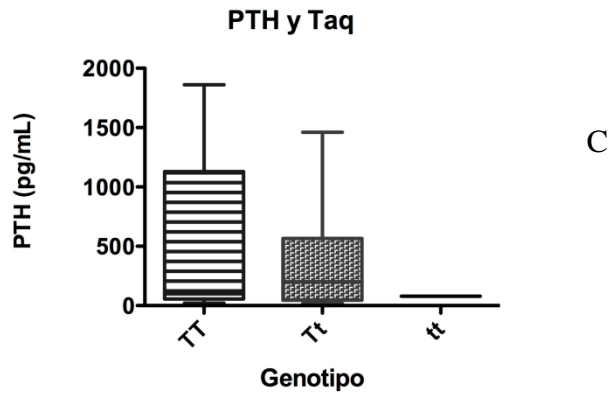
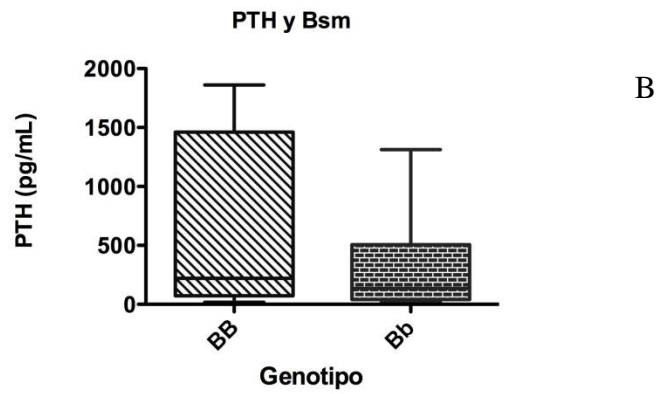
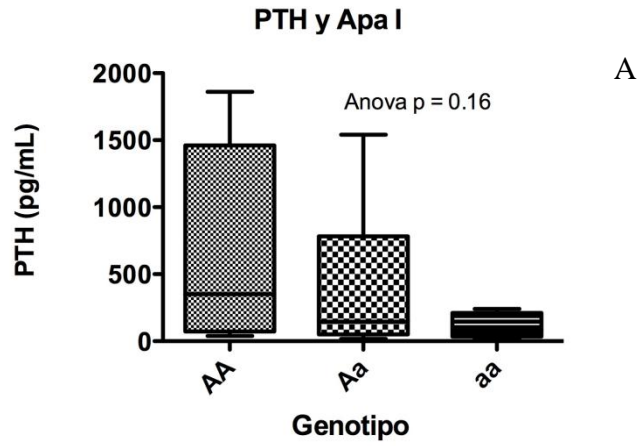


Figura 1. Niveles de Hormona Paratiroidea en relación al genotipo del receptor de vitamina D determinado con enzimas de restricción Apa 1(A), Bsm1 (B), Taq 1 (C) en pacientes pediátricos con insuficiencia renal crónica.

No encontramos diferencia significativa en los valores de PTH según el genotipo del VDR, hubo una tendencia de valores mayores con los genotipos AA y BB (Figura 1).

Con respecto al desarrollo de hipofosfatemia posterior al trasplante renal y polimorfismos del receptor de Vitamina D, observamos en la figura 2 claramente que la presencia del genotipo heterocigoto Bb predispone a niveles séricos bajos de fósforo post-trasplante, con respecto al resto de los genotipos no se encontró significancia estadística.

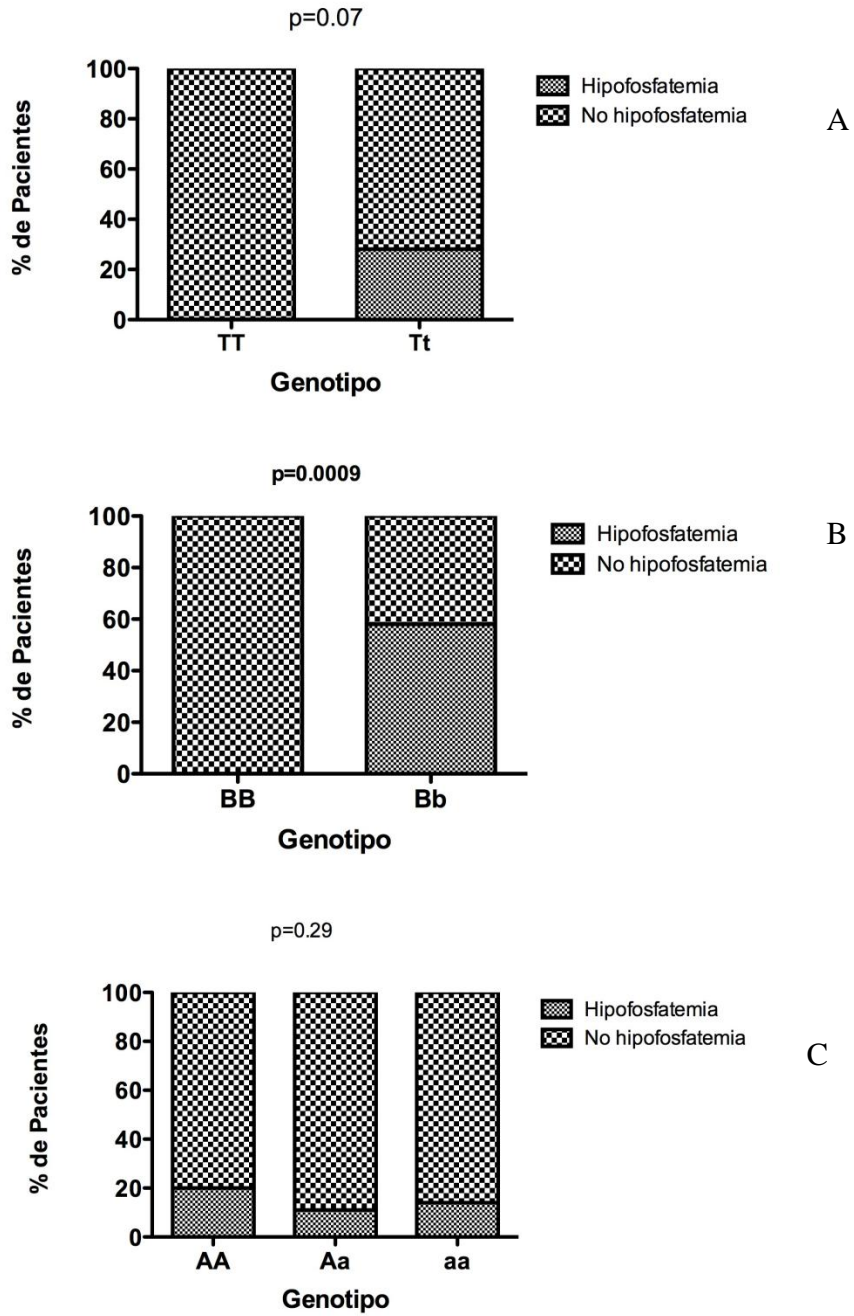


Figura 1. Presencia de Hipofosfatemia posterior a trasplante renal y relación al genotipo del receptor de vitamina D determinado con restricción de enzimas Apa 1(A), Bsm1 (B), Taq 1 (C) en pacientes pediátricos.

DISCUSION

Los resultados del presente estudio nos muestran la influencia genética determinada para el desarrollo y severidad de hiperparatiroidismo secundario en insuficiencia renal, aunque en gran parte estos aun son desconocidos. Con respecto a los polimorfismos del receptor de vitamina D se ha reportado en la literatura la mayor prevalencia del genotipo BB, en la población caucásica (17.2%) comparado con los afroamericanos (4.9%) o asiáticos (2.3%) en pacientes adultos aparentemente sanos. (43) Mientras que en un estudio en pacientes pediátricos femeninos americanos con ascendencia mexicana se reporta mayor prevalencia los genotipos Aa (55%), bb (44%) y TT (54%).

En nuestro caso como lo muestra la tabla No. 5 con respecto al genotipo más frecuente en Apa 1 fue el genotipo AA (35 %), BB (52 %) y Tt (63%).

A pesar de que el estándar de oro para clasificar la osteodistrofia renal es la biopsia ósea metabólica con doble marcaje de tetraciclina, se ha publicado la utilización de valores de Hormona Paratiroidea como predictor de lesiones de alto o bajo recambio, en este estudio se encontró un 47% de pacientes con determinación de PTH bajas (<150 pg/mL) sugestivas de adinamia así como un 25% de los pacientes con medición de PTH elevadas (>300 pg/mL) sugerentes de lesión de alto remodelamiento,

Con respecto a los polimorfismos y relación con los niveles de PTH no encontramos diferencias significativas, se ha reportado que en pacientes adultos con hemodiálisis crónica, el alelo b se asocia a mayores niveles de PTH, consideramos que es necesario incluir a un mayor número de pacientes para acalarar este punto.

Un hallazgo importante es que los pacientes con genotipo BB tuvieron mayor frecuencia de hipofosfatemia a los 3 meses post-trasplante renal.

CONCLUSIONES

Los genotipos más frecuentes en niños mexicanos con insuficiencia renal fueron AA (35 %), BB (52 %) y Tt (63%).

La frecuencia de los genotipos difiere marcadamente en las poblaciones caucásica y japonesa reportadas en otras series así como en niñas mexicoamericanas. Las diferentes mezclas raciales pueden explicar estos hallazgos.

Los pacientes con genotipo BB tienen mayor incidencia de hipofosfatemia post-trasplante renal.

Es necesario incluir un mayor número de pacientes, prolongar el seguimiento e idealmente relacionar nuestros resultados con biopsia ósea metabólica.

REFERENCIAS

- 1) *Wesseling K, Bakkaloglu S. Chronic kidney disease mineral and bone disorder in children, Pediatric Nephrol (2008) 23: 195-207*
- 2) *Ritz, E. Managing mineral balance in end-stage renal disease, Nephrol Dial Transplant (2004) Suppl 1, Vol 19: 1-13*
- 3) *Fukagawa M, Nakanishi S, Kazama JJ. Basic and clinical aspect of parathyroid hyperplasia in chronic kidney disease, Kdney International (2006), Vol 70:S3-S7*
- 4) *Moe S, Drueke T, Cunningham J, Goodman W, Martin K, Olgaard K, Ott S, Sprague S, Lameire N, Eknoyan G. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcome (KDIGO) (2006), Kidney Int 69:1945-1953*
- 5) *Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD–MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease–mineral and bone disorder (CKD–MBD). Kidney International 2009; 76 (Suppl 113): S1–S130.*
- 6) *Slatopolsky E, Brown A, Dusso A. Pathogenesis of secondary hyperparathyroidism, Kidney Int (1999) Vol 73: S14-19*
- 7) *Martínez I, Saracho R, Montenegro J, Llach, F. A déficit of calcitriol synthesis may not be the initial factor in the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. Nephrol Dial Transplant (1996) 11 (Suppl 3): 22-28*
- 8) *Levin A, Barkris GL, Molitch M, Smulders M, Tian J, Williams LA, Andress DL. Prevalence of abnormal serum vitam D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidnez disease. Kidney Int (2007) 71:31-38*

- 9) Gray R, Boyle I, DeLuca HF. Vitamin D, metabolism: The role of kidney tissue. *Science* (1971) 172: 1232-1234
- 10)Portale AA, Booth BE, Halloran BP, Morris RC JR. Effect of dietary phosphorus on circulating concentrations of 1, 25 dihydroxvitamin D and immunoreactive parathyroid hormona in children moderate renal insufficiency. *J Clin Invest* (1984) 73: 1580-1589.
- 11)Almaden Y, Canalejo A, Ballesteros E, Anon G, Canadillas S, Rodriguez M. Regulation of arachidonic acid production by intracellular calcium in parathyroid cells. Effect of extracellular phosphate. *J Am Soc Nephrol* (2002) 13:693-698.
- 12)Koch PC, David L, Cochat P. Evolution of secondary hyperparathyroidism after renal transplantation. *Pediatr Nephrol* (2000) 14:342-346.
- 13)Massry SG, Coburn JW, Lee DB, Jowsey J, Kleeman CR. Skeletal resistance to parathyroid hormone in renal failure . Studies in 105 human subjets. *Ann Intern Med* (1973) 78: 357-364.
- 14)Levin A, Bakris GL, Molitch M et al. Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease:results of the study to evaluate early kidney disease. *Kidney Int* 2007; 71:31–38.
- 15)Melamed ML, Eustace JA, Plantinga LC et al. Third-generation parathyroid hormone assays and all-cause mortality in incident dialysis patients: the CHOICE study. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23: 1650–1658.
- 16)Tentori F, Blayney MJ, Albert JM et al. Mortality risk for dialysis patients with different levels of serum calcium, phosphorus, and PTH: the Dialysis Outcomes and Practice Patterns Study (DOPPS). *Am J Kidney Dis* 2008; 52:519–530.

- 17) Lloyd HM, Parfitt AM, Jacobi JM, Willgoss DA, Craswell PW, Petrie JJ, Boyle DD. *The parathyroid glands in chronic renal failure: a study of their growth and other properties made on the basis of findings in patients with hypercalcemia. J Lab Clin Med (1989) 114:358-367.*
- 18) Atkins D, Peacock M. *A comparison of the effects of the calcitonins, steroid hormones and thyroid hormones on the response of bone to parathyroid hormone in tissue culture. J. Endocrinol (1975), 64:573-583.*
- 19) Lee K, Deeds JD, Bond AT, Juppner H, Abou-Samra AB, Segre GV. *In situ localization of PTH/PTHrP receptor mRNA in the bone fetal and young rats. Bone (1993) 14:341-345.*
- 20) Sherrad DJ. *Renal osteodystrophy. Semin Nephrol (1986) 56-67.*
- 21) Groothoff JW, Offringa M, Van Eck-Smit BL, Gruppen MP, Van DE Kar NJ, Wolff ED, Lilien MR, Davin JC, Heymans HS, Dekker FW. *Severe bone disease and low bone mineral density after juvenile renal failure. Kidney Int (2003) 63:266-275.*
- 22) Malluche H, Faugere MC. *Renal bone disease 1990: an unmet challenge for the nephrologist. Kidney Int (2003) 63: 266-275.*
- 23) Hamdy NA, Kanis JA, Beneton MN, Brown CB, Juttmann JR, Jordans JG, Josse S, Meyrier A, Lins RL, Fahey IT. *Effect of alfacalcidol on natural course of renal bone disease in mild to moderate renal failure. BMJ (1995) 310: 358-363.*
- 24) Ott SM, Moloney NA, Klein GL, Alfrey AC, Ament ME, Coburn JW, Sherrad DJ. *Aluminium is associated with low bone formation in patients receiving chronic parenteral nutrition. Ann Intern Med (1983) 98: 910-914.*
- 25) London GM, Marty C, Marchais SJ, Guerin AP, Metivier F, de Vernejoul MC. *Arterial calcification and bone morphometry in end-stage disease. J Am Soc Nephrol(2004) 15: 1943-1951.*
- 26) Salusky IB, Ramirez JA, Oppenheim W, Gales B, Segre GV, Goodman WG. *Biochemical markers of renal osteodystrophy in*

pediatric patients unrgoing CAPD/CCPD. Kidney Int (1994) 45: 253-258.

27) *Salusky IB, Coburn JW, Brill J, Foley J, Stalopolsky E, Fine, RN, Goodman WG. Bone disease in pediatric patients undergoing dialysis with CAPD or CCPD. Kidney Int (1998) 33: 975-982.*

28) *Ho, AY, Kung AW. Determinants of peak bone mineral density and bone area in young women. J. Bone Miner Metab (2005) 23: 470-475.*

29) *North American Pediatric Renal Transplant Cooperative. North American Pediatric Renal Transplant Cooperative Study (NAPRTCS) 2006 Annual report.*

30) *Waller SC, Ridout D, Cantor T, Rees L. Parathyroid hormone and growth in children with chronic renal failure. Kidney Int (2005). Kidney Int 67; 2338-2345.*

31) *Schmitt CP, Ardissino G, Testa S, Claris-Appiani, A Mehtls O. Growth in children with chronic renal failure on intermittent versus daily calcitriol. Pediatr Nephrol (2003) 18:440-444.*

32) *Kuizon BD, Goodman WG, Juppner H, Boechat I, Nelson P, Gales B, Salusky IB. Diminished linear growth during intermittent calcitriol therapy in children undergoing CCPD. Kidney Int (1998) 53: 205-211.*

33) *Klaus G, Watson A, Edefonti A, Fischbach M, Rönholm K, Schaefer F, Simkova E, Stefanidis CJ, Strazdins V, Vande Walle J, Schrönder C, Zurowska A, Ekim M, European Pediatric Dialysis Working Group (EPDWG) Prevention and treatment of renal osteodystrophy in children on chronic renal failure: European guidelines. Pediatr Nephrol (2006) 21: 151-159.*

34) *Chertow GM, Burke SK, Raggi P. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. Kidney Int (2002) 62: 245-252*

35) *Block GA, Spiegel DM, Ehrlich J, Mehta R, Lindbergh J, Dreisbach A, Raggi P. Effects of sevelamer and calcium on*

coronay artery calcification in patients new to hemodialysis. *Kidney Int* (2005) 68: 1815-1824.

- 36) Sherrad DJ, Hercz G, Pei Y, Maloney NA, Greenwood C, Manuel A, Saiphoo C, Fenton SS, Segre GV. The spectrum of bone disease in end-stage renal failure-an evolving disorder. *Kidney Int* (1993) 43: 436-442.
- 37) Huan J, Olgaard K, Nielsen LB, Lewin E. Parathyroid hormone 7-84 induce hypocalcemia and inhibits the parathyroid hormone 1-84 secretory response to hypocalcemia in rats with intact parathyroid glands. *J Am Soc Nephrol* (2006) 17: 1923-1930
- 38) Martin KJ, Gonzalez EA, Parathyroid hormone assay: problems and opportunities. *Pediatr Nephrol* (2007) 22: 1651-1654.
- 39) National Kidney Foundation K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in children with chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* (2005) 46 [4 Suppl 1]: S1-121
- 40) Langman CB, Mazur AT, Baron R, Norman ME. 25-hydroxyvitamin D3 (calcifediol) therapy of juvenile renal osteodystrophy: beneficial effect on linear growth velocity. *J. Pediatr* (1982) 100: 815-820.
- 41) Haussker MR, Whitfield GK, Haussler CA. The nuclear vitamin D receptor: biological and molecular regulatory properties revealed. *J. Bone Miner Res*, (1998) 13: 325-349
- 42) Krall, EA, Dawson-Hughes B. Heritable and life-style determinants of bone mineral density. *J Bone Miner Res* (1993) 8: 1-8
- 43) Gómez C, Navez M, Díaz-Corte C, Fernández M, Cannata J. Vitamin D receptor gene (VDR) polymorphism: effect on bone mass, bone loss and parathyroid hormone regulation. *Neprol Dial Transplant* (1998) 13 [Suppl 3] 73-77
- 44) Morrison NA, Qi JC, Toxita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen TV, Sambrook PN, Eisman Ja. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature* (1994) 10: 395-8

- 45) Torres A, Machado M, Concepcion MT, et al. Influence of vitamin D receptor genotype on bone mass changes after renal transplantation. *Kidney Int* (1999) 50: 1726-1733.
- 46) Howard G, Nguyen T, Morrison N et al. Genetic influences on bone density: physiological correlates of vitamin D receptor gene alleles in premenopausal women. *J. Clin Endocrinol Metab* (1995) 80: 2800-2805.
- 47) Fernández E, Fibla J, Betriu A, Piulats JM, Alirall J, Montoliu J. Association between vitamin D receptor gene polymorphism and relative hypoparathyroidism in patients with chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol*, (1997)8:1546-1552.
- 48) Yokoyama K, Shigematsu T, Tsukada T, Ogura Y, Takemoto F, Hara S, Yamada A, Kawaguchi Y, Hosoya T. Apa 1 polymorphism in the vitamin D receptor gene may affect the parathyroid response in Japanese with end-stage renal disease. *Kidney Int* (1998) 53: 454-458
- 49) Ávila-Díaz M, Matos M, García-López E, Prado MC, Castro-Vazquez F, Ventura MJ, González E, Amato D. Serum Markers of Low-turnover bone disease in Mexican children with chronic kidney disease undergoing dialysis. *Peritoneal Dialysis International* (2006)26: 78-84
- 50) Sainz J, Van Tornout J, Loro I, Sayre J, Roe T, Gilsanz V. Vitamin D-receptor gene polymorphisms and bone density in prepuberal American girls of Mexican descent. *N Engl J Med* (1997)337: 77-82