



UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD

FACULTAD DE MEDICINA

EFECTO DE LA ADMINISTRACIÓN DE LA VITAMINA D3 EN LOS
NIVELES SÉRICOS DE OSTEOPROTEGERINA DE ADULTOS EN DIÁLISIS
PERITONEAL, ENSAYO CLÍNICO CONTROLADO

TESIS DE POSTGRADO

QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE
DOCTORADO EN CIENCIAS MÉDICAS

PRESENTA

JUAN CARLOS RAMÍREZ SANDOVAL

TUTOR PRINCIPAL DE TESIS

DR. JOSÉ RICARDO CORREA ROTTER
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

CIUDAD UNIVERSITARIA, CIUDAD DE MÉXICO, JUNIO 2018



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.



ÍNDICE

RESUMEN.....	5
INTRODUCCIÓN	6
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA.....	15
PREGUNTA DE INVESTIGACIÓN.....	15
JUSTIFICACIÓN.....	16
HIPÓTESIS.....	17
OBJETIVOS.....	17
METODOLOGÍA.....	18
RESULTADOS.....	26
DISCUSIÓN.....	40
CONCLUSIÓN.....	36
REFERENCIAS.....	44



TÍTULO

**EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE LA VITAMINA D3 EN LOS NIVELES SÉRICOS DE
OSTEOPROTEGERINA DE ADULTOS EN DIÁLISIS PERITONEAL, ENSAYO CLÍNICO CONTROLADO**

DR. JOSÉ RICARDO CORREA ROTTER

TUTOR DE TESIS

JEFE DEL DEPARTAMENTO DE NEFROLOGIA Y METABOLISMO MINERAL

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

DR. CARLOS ALBERTO AGUILAR SALINAS

MIEMBRO DEL COMITÉ TUTORAL

RESPONSABLE ACADÉMICO DE SEDE

INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN SALVADOR ZUBIRÁN

JOSÉ DANTE AMATO MARTÍNEZ,

MIEMBRO DEL COMITÉ TUTORAL

JOSÉ RAMÓN PANIAGUA SIERRA.

MIEMBRO DEL COMITÉ TUTORAL

UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO
COORDINACIÓN DEL PROGRAMA DE MAESTRÍA Y DOCTORADO EN CIENCIAS
MÉDICAS, ODONTOLÓGICAS Y DE LA SALUD
INSTITUTO NACIONAL DE CIENCIAS MÉDICAS Y NUTRICIÓN
SALVADOR ZUBIRÁN

TITULO DEL PROYECTO : EFFECTO DE LA ADMINISTRACION DE LA VITAMINA D3 EN LOS NIVELES SÉRICOS DE OSTEOPROTEGERINA DE ADULTOS EN DIÁLISIS PERITONEAL, ENSAYO CLÍNICO CONTROLADO.

ALUMNO CURSANDO EL 7MO SEMESTRE DEL DOCTORADO: JUAN CARLOS RAMÍREZ SANDOVAL.

COMITÉ TUTORIAL: JOSÉ RICARDO CORREA ROTTER, JOSÉ DANTE AMATO MARTÍNEZ, CARLOS ALBERTO AGUILAR SALINAS, JOSÉ RAMÓN PANIAGUA SIERRA.

Acuerdo técnico AG13-(CM/SCA/SO183/16)

RESUMEN.

Introducción. La deficiencia de vitamina 25-hidroxi D es frecuente en diálisis peritoneal (DP) y su corrección pudiera ser potencialmente benéfica debido a sus efectos pleiotrópicos. El objetivo del estudio fue evaluar la seguridad, eficacia y los efectos en varias proteínas del metabolismo mineral asociados a la corrección de la vitamina 25-hidroxi D con colecalciferol en sujetos en DP.

Métodos. Ensayo clínico controlado con placebo, doble ciego. Se suministró colecalciferol (4,800 unidades diariamente, vía oral) durante 16 semanas Vs. placebo en sujetos en DP crónica con niveles de vitamina 25-hidroxi D <20 ng/mL. Se cuantificaron los cambios en las proteínas osteogénicas: osteoprotegerina, factor de crecimiento de fibroblastos molécula intacta (iFGF23), osteocalcina, osteopontina [ELISA], interleucina-6, vitamina 1,25-hidroxi D y hormona paratiroidea, entre otros, así como cambios en el grosor de íntima media de las carótidas. El análisis fue por intención a tratar.

Resultados. Fueron aleatorizados 58 sujetos (29 recibieron colecalciferol y 29, placebo). Las características basales fueron similares en ambos grupos. Las concentraciones medias de vitamina 25-hidroxi D aumentaron de 11.4 ± 5.0 ng/ml a 28.3 ± 10.3 ng/ml en el grupo tratado con colecalciferol durante 16 semanas ($p < 0.0001$) así como las de vitamina 1,25-hidroxi D (de 7.2 ± 0.2 pg/mL a 23 ± 0.7 pg/mL, $p < 0.0001$). El grupo con placebo no tuvo cambios significativos en las concentraciones de vitamina 25-hidroxi D (11.7 ± 4.6 ng/ml a 11.9 ± 4.3 ng/ml). Un 95% de los sujetos suplementados con colecalciferol aumentó >30% las concentraciones de iFGF23 comparado con un 29% en el grupo placebo ($p < 0.0001$). Concentraciones extremadamente altas de iFGF23 (>30,000 pg/ml) ocurrieron en 74% de los sujetos tratados. Los cambios observados en iFGF23 se asociaron a elevaciones de 1,25-hidroxi D y no fueron confundidos por otras variables tales como terapias concomitantes, cambios en el volumen urinario residual, fósforo sérico u hormona paratiroidea. No se observaron diferencias entre los grupos en las concentraciones séricas de osteoprotegerina, osteocalcina, calcio, fósforo, hormona paratiroidea, IL-6, quelantes de fósforo o uso de calcitriol. Aunque el cambio en los niveles de Osteoprotegerina estuvieron asociados con cambios en el grosor de la íntima media, la suplementación con colecalciferol no se asoció a ninguna modificación.

Conclusiones. La suplementación con colecalciferol 4800 unidades diarias por 16 semanas corrige efectivamente la deficiencia de vitamina 25-hidroxi D y aumenta las concentraciones de 1,25-hidroxi D, aunque induce un aumento exponencial en las concentraciones de iFGF23 en la mayoría de los pacientes en DP, lo cual puede ser un problema importante y una contraindicación para esta maniobra.

Introducción.

Los pacientes con enfermedad renal crónica en terapia sustitutiva de la función renal, ya sea hemodiálisis o diálisis peritoneal (DP), tienen un riesgo exponencialmente mayor de muerte por causas cardiovasculares comparado con la población general, a pesar de los avances en la terapia dialítica (USRDS 2010). Son varios factores de riesgo implicados en este fenómeno tales como envejecimiento, dislipidemia, tabaquismo, hipertensión, diabetes mellitus o calcificación vascular, entre otros (Weiner et al 2006). De estos factores de riesgo, destacan aquellos potencialmente modificables como por ejemplo la deficiencia de vitamina D (Allison 2013).

La vitamina D es una prohormona cuya activación requiere en primera instancia la hidroxilación en el carbono 25 del colecalciferol (vitamina D3) en los hepatocitos para producir vitamina 25-hidroxi D (calcidiol o “vitamina D nutricional”), la principal forma circulante de vitamina D. En segunda instancia, debe ocurrir la generación de vitamina 1,25-dihidroxi D (calcitriol), la forma activa de la vitamina D, al hidroxilarse el carbono 1 del anillo A en el tejido renal (Melamed et al 2012) (Véase *Figura 1*).

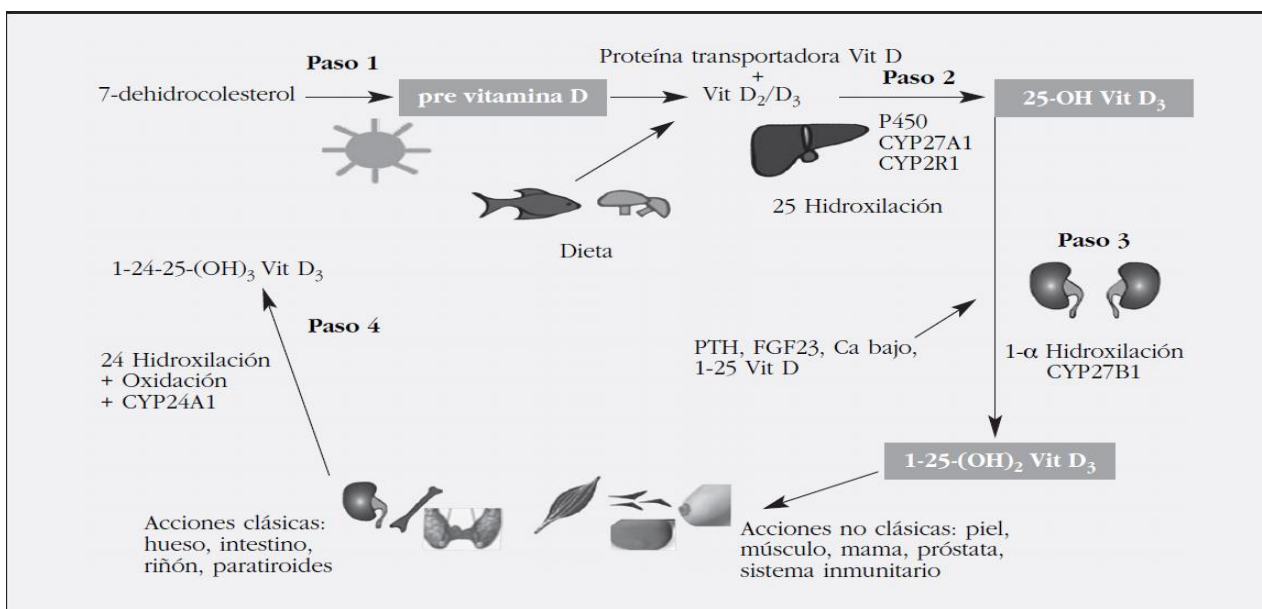
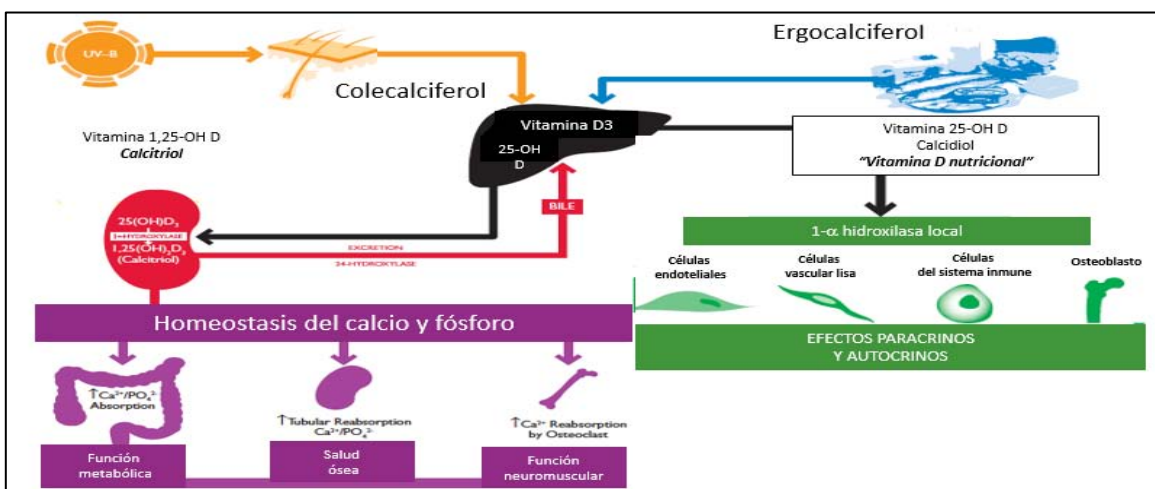


Figura 1. Pasos en la síntesis y metabolización de la vitamina D. Paso 1: Conversión del 7-dehidrocolesterol a colecalciferol. Paso 2: Primera hidroxilación por varias citocromos, especialmente la CYP2R1, en el átomo de C de la posición 25 en el hígado. Paso 3: Segunda hidroxilación renal por la enzima 1α hidroxilasa (CYP27B1). Paso 4: Inactivación de la vitamina D por la CYP24A1 que la convierte en metabólicamente inactiva [1,24,25(OH)₃ vitamina D o ácido calcitrico (adaptado de Torres et al. 2014).

La enseñanza tradicional ha enfatizado que el tratamiento de la hipovitaminosis D en pacientes en tratamiento con diálisis deba ser con vitamina 1,25-dihidroxi D o algún análogo activo (paricalcitol o doxecaliferol) y ha omitido lo relacionado a la medición e intervención clínica respecto a la insuficiencia de vitamina 25-hidroxi D (Kramer et al 2014). Sin embargo, los efectos autócrinos y parácrinos a la vitamina D dependen principalmente de las adecuadas concentraciones tisulares de vitamina 25-hidroxi D tisular y no de las concentraciones séricas de vitamina 1,25-dihidroxi D (Michaud et al 2010). Dichos efectos benéficos autócrinos y parácrinos pudieran estar relacionados a cambios en el metabolismo óseo tales como un adecuado balance entre la reabsorción y formación ósea, una menor transformación fenotípica de las células musculares lisas responsables de la calcificación vascular, una mejor efectividad de la acción

del sistema inmune, una regulación en los efectos inflamatorios de la uremia y una menor activación del sistema renina angiotensina aldosterona, entre otros (Stubbs et al 2010) (Véase Figura 2).

Figura 2. La presencia de 1- α hidroxilasa local en células endoteliales, vasculares lisas, del sistema inmune y del osteoblasto (en verde) regula autocrina y paracrinamente la producción de vitamina 1,25-dihidroxi D. Este sistema local depende de concentraciones tisulares adecuadas



de vitamina 25-hidroxi D (adaptado de Petchey et al 2011).

La mayoría de los pacientes en tratamiento con terapia sustitutiva de la función renal no son candidatos al tratamiento con vitamina 1,25-dihidroxi D por sus efectos hiperfosfatémicos (Bhan et al 2015). Si bien la deficiencia de la vitamina 1,25-dihidroxi D es universal en los pacientes tratados con diálisis, se estima que menos del 30% son candidatos a recibir la sustitución hormonal por la presencia de hiperfosfatemia, la cual empeora al realizar la suplementación con vitamina 1,25-dihidroxi D (Rodríguez et al 2014). En contraparte, la suplementación con colecalciferol o ergocalciferol en pacientes en hemodiálisis aumenta significativamente las concentraciones de vitamina 25-hidroxi D sin aumentos en las concentraciones de calcio, fósforo o del producto calcio-fósforo (Saab et al 2007).

La deficiencia de vitamina 25-hidroxi D es frecuente en la población en diálisis y actualmente las recomendaciones internacionales de la KDIGO recomiendan la medición de vitamina 25-hidroxi D en los pacientes en tratamiento en diálisis, pero reconoce que no existe una estrategia de tratamiento en estos pacientes y que la utilidad de la medición pudiera solamente influir en la toma de decisiones de pacientes trasplantados. La mismas recomendaciones de KDIGO definieron la deficiencia de vitamina 25-hidroxi D con valores menores a 16 ng/mL (40 nmol/L) y la insuficiencia con valores de 16-30 ng/mL (40-75 nmol/L) (KDIGO 2009). Las recomendaciones del grupo para las mejores prácticas renales europeas (European Renal Best Practice Group-ERBG) favorecieron, al igual que las guías KDIGO, la medición de 25-hidroxi D y sugirieron que especialmente los sujetos con concentraciones de 25-hidroxi D muy bajas (menores a 12.5 ng/mL) recibieran suplementación con ergocalciferol o colecalciferol mientras que en aquellos sujetos con concentraciones entre 12.5 ng/mL y 30 ng/mL la decisión de reposición fuera individualizada (Goldsmith et al 2010). Ambas guías insistieron en la necesidad de realizar ensayos clínicos con suplementación de 25-hidroxi D en pacientes en diálisis.

La deficiencia de vitamina 25-hidroxi D es más severa en los pacientes tratados en diálisis peritoneal (DP), donde existe una gran cantidad de pérdidas peritoneales de la vitamina (Gracia-Iguacel et al 2010). En el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), se encontró que el 100% de los pacientes en DP tenían valores de vitamina 25-hidroxi D menor a 30 ng/mL y el 86% menores a 20 ng/mL (Ramirez-Sandoval et al 2016). Esta evidencia ha generado un debate sobre la necesidad de corregir los bajos niveles de vitamina 25-hidroxi D ya sea con colecalciferol o ergocalciferol en los pacientes con enfermedad renal crónica en terapia sustitutiva tratados con diálisis peritoneal, independientemente de las decisiones de tratar con análogos activos de vitamina D (calcitriol, paricalcitol u otros).

La sustitución de colecalciferol (50,000 IU mensuales) en pacientes en terapia sustitutiva aumenta significativamente las concentraciones de vitamina 25-hidroxi D sin aumentar las

concentraciones de calcio y fósforo (Saab et al 2007) o los índices de calcificación obtenidos de radiografía simples de columna; así también algunos marcadores de inflamación como IL-6 y el factor de necrosis tumoral muestran disminuciones significativas al corregir la deficiencia de vitamina D (Bucharles et al 2012). El ensayo clínico aleatorizado con mayor cantidad de pacientes en hemodiálisis (Dyalisis Infection and Vitamin D in New England, DIVINE), aleatorizó a 114 sujetos con concentraciones de vitamina 25-hidroxi D menores de 32 ng/mL a dos esquemas de sustitución con ergocalciferol o placebo. El 91% de sujetos que recibió ergocalciferol 50000 U semanales demostró una adecuada “suficiencia” en los niveles de vitamina 25-hidroxi D al final de las 12 semanas así como una menor mortalidad durante el periodo. Ninguno de los sujetos que recibió ergocalciferol presentó eventos de hipercalcemia o hiperfosfatemia en el estudio, lo cual refuerza el concepto de que su administración es segura en relación en sujetos en terapia sustitutiva de la función renal (Bhan et al 2015).

La realización de un ensayo clínico, multicéntrico, en donde una gran cantidad de pacientes con enfermedad renal crónica en tratamiento sustitutivo de la función renal reciban por varios años suplementación con el objetivo de corregir concentraciones de vitamina 25-hidroxi D para mejorar desenlaces cardiovasculares sería el estudio ideal para definir la utilidad de esta maniobra. Sin embargo, la realización de un costoso estudio de tales características debiera estar precedido de estudios que demuestren la seguridad y efectividad de la corrección utilizando desenlaces intermedios, tales como proteínas osteogénicas e inflamatorias (Ormsby et al 2013).

Existen varios biomarcadores derivados de proteínas óseas involucradas en el fenómeno de calcificación vascular tales como osteopontina (OPN), osteocalcina (OCN) y osteoprotegerina (OPG) siendo este último uno de los biomarcadores de calcificación vascular con mayores expectativas clínicas (Siasos et al 2012).

La OPG es una proteína soluble miembro de la súper familia de receptores de los factores de necrosis tumoral y actúa como un receptor “señuelo” del receptor ligando de NFKB

(RANKL, receptor activator of NF- κ B ligand) y del receptor del factor de necrosis tumoral inductor de apoptosis (TRAIL), neutralizando a ambos. Al impedir la interacción entre RANK y el receptor de RANK, OPG inhibe la diferenciación osteoclástica de la célula osteoclástica y endotelial (Van Campenhout et al 2009). Los efectos in vitro de OPG inhiben la reabsorción osteoclástica y disminuyen la calcificación vascular (Lee et al 2013).

A diferencia de los modelos básicos, en los estudios observacionales las concentraciones de OPG están directamente correlacionadas a la magnitud de la calcificación vascular medida por diversos estudios de imagen. Varios estudios observacionales han mostrado que Los pacientes con mayor calcificación presentan concentraciones séricas mayores de OPG (Stompor et al 2006). Concentraciones séricas de OPG mayores a 25 pmol/L se asocian independientemente a mayor calcificación vascular (Sigrist et al 2009) y concentraciones muy altas de OPG se asocian a mortalidad cardiovascular en estudios de cohorte con población general (Mogelvang et al 2012). Es consistente en estudios de cohorte que la elevación de OPG en sujetos urémicos precede la aparición de calcificaciones vasculares detectadas en tomografía de arterias coronarias (Bargnoux et al 2009, Hjelmessaeth et al 2006). En pacientes con diabetes mellitus y hemodiálisis, los incrementos en las concentraciones de OPG se asocian además a calcificación coronaria (Jung et al 2010).

Los estudios en sujetos con enfermedad renal crónica avanzada en tratamiento con DP también han mostrado la asociación positiva entre las concentraciones séricas de OPG y la magnitud del proceso de calcificación. Janda y cols. informaron que la concentración de OPG correlacionaba positivamente con el grosor de la íntima media en un grupo de 67 sujetos en DP (Janda et al 2013). En 76 pacientes en DP atendidos en el Instituto Nacional de Ciencias Médicas y Nutrición Salvador Zubirán (INCMNSZ), las concentración medias de OPG fueron mayores en el grupo con calcificación vascular comparado con el grupo sin evidencia de calcificación. En un modelo de regresión lineal, por cada 400 pg/mL de OPG el puntaje de calcificación vascular obtenido en radiografía de columna lateral aumentaba media unidad de

dicho puntaje, independientemente de la edad, tiempo en diálisis, sexo y presencia de diabetes mellitus (Ramirez-Sandoval et al 2016).

Se ha propuesto que el cambio de la célula vascular lisa hacia un fenotipo osteogénico aumenta la expresión y las concentraciones séricas de OPG en un intento de inhibir el proceso de calcificación y que las condiciones urémicas crean un “efecto de resistencia a las acciones anticalcificantes” de la OPG (Olesen et al 2012). Así, las concentraciones elevadas de OPG en sujetos con calcificación vascular sugieren una mayor “carga de calcificación” de este inhibidor de la diferenciación osteoclástica (Pereira et al 2013). Varias hipótesis se han propuesto para la resistencia a la OPG, de las cuales destaca la asociación con la resistencia a la insulina (Suliburska et al 2013), la presencia de un ambiente inflamatorio (Matsubara et al 2009), la obesidad (Davenport et al 2012), polimorfismos del receptor de la vitamina D (Hussien et al 2013) y concentraciones deficientes de vitamina 25-hidroxi D (Lee et al 2012). Experimentos in vitro con cultivos de osteoblastos, han demostrado que la sustitución adecuada de vitamina D disminuye las concentraciones de OPG y que cuando estos osteoblastos son modificados genéticamente incrementado la cantidad del receptor de vitamina D (VDR), se obtiene una respuesta contraria, incrementando las concentraciones de OPG (Baldock et al 2006).

Recientemente algunos estudios clínicos han utilizado a OPG como un subrogado intermedio de calcificación vascular. Nikolaos et al, reportaron un ensayo clínico en pacientes de alto riesgo cardiovascular sin enfermedad renal tratados con estatinas y demostraron disminuciones de OPG con el tratamiento de 47% respecto al basal (Kadoglou et al 2014). Otros autores han mostrado que intervenciones tales como el uso de metformin o pioglitazona disminuyen las concentraciones de OPG en sujetos con diabetes mellitus sin ERC (Esteghamati et al 2015). Esta evidencia preliminar sugiere que la OPG podría ser un buen desenlace intermedio en intervenciones que buscan disminuir las complicaciones vasculares asociados a trastornos del metabolismo óseo.

Se conoce que el bloqueo de la acción del receptor del VDR aumenta la transcripción de varias proteínas ligadas a la osteoclastogénesis tales como RANKL, M-CSF, OPG, IL-6 y TWEAK (Ormsby et al 2014, Stubbs et al 2010); en estudios clínicos, la corrección de la deficiencia de vitamina 25-hidroxi D disminuyó la concentración de OPG en una muestra de 47 sujetos con sobrepeso (Daghri et al 2013).

Además de la OPG, otra de las proteínas involucradas en la calcificación vascular y que pudiera modificarse con la suficiencia de vitamina 25-hidroxi D, es la Adiponectina (Berner et al 2004). La Adiponectina es un polipéptido de aproximadamente 30-kDa, expresado en adipocitos diferenciados, con altas concentraciones en plasma y con propiedades anti-diabetogénicas, antiinflamatorias e inhibitorias del proceso de calcificación (Lee et al 2014). Los efectos biológicos de la Adiponectina están mediados por dos subtipos de receptores: AdipoR1 y 2. Las células vasculares lisas con transformación osteogénica expresan principalmente AdipoR1 y su activación disminuye la expresión de la fosfatasa alcalina ósea, la secreción de OCN y la expresión del factor de transcripción Runx2, los cuales tienen efectos procalcificantes (Luo et al 2009). Existe también evidencia que la corrección de la deficiencia de vitamina 25-hidroxi D se asocia a incrementos persistentes en las concentraciones de adiponectina (Belenchia et al 2013) lo cual pudiera tener un efecto benéfico en el proceso de la calcificación vascular. Otros marcadores de inflamación como IL-6 y el factor de necrosis tumoral muestran disminuciones significativas al corregir la deficiencia de vitamina D (Bucharles et al 2012).

La seguridad de la corrección de vitamina 25-hidroxi D no debe limitarse solamente a los efectos de hipercalcemia o hiperfosfatemia y requiere la inclusión en la medición de la proteína de crecimiento derivada de fibroblastos (FGF23, por sus siglas en inglés *fibroblast growth factor-23*). La FGF23 es una hormona de 26 kDa sintetizada en los osteocitos y cuya función es disminuir la hiperfosfatemia al aumentar la excreción urinaria de calcio y suprimir la producción de vitamina 1,25-dihidroxi D (Bai et al., 2004). La pérdida de la función renal, con la subsecuente incapacidad para depurar el fósforo sérico, aumenta los niveles de FGF23. En sujetos con

enfermedad renal crónica en tratamiento con diálisis, las elevaciones de FGF23 pueden encontrarse excepcionalmente altas, lo cual induce hipertrofia de cardiomiocitos por un efecto directo FGF23 en los receptores FGF tipo 1. Altas concentraciones de FGF23 están asociadas a mayor hipertrofia ventricular, mayor riesgo de eventos de falla cardiaca y una menor sobrevida en diálisis (Faul et al 2011, Gutierrez et al 2009). Dado que las concentraciones intracelulares de vitamina 1,25 hidroxilada estimulan la producción de FGF23, uno de los riesgos potenciales de la suplementación con vitamina 25-hidroxilada es el aumento de las concentraciones de FGF23 (Marckmann et al 2012), lo cual ha sido poco estudiado en población en diálisis.

Por lo anterior, el objetivo del presente estudio fue determinar la seguridad, eficacia y el efecto en las concentraciones de OPG, OCN, OPN, Adiponectina, IL-6 y FGF23 con la corrección de la vitamina 25-hidroxilada con colecalciferol en sujetos con enfermedad renal crónica en DP.

Planteamiento del Problema.

La principal causa de mortalidad de los pacientes en DP es cardiovascular cuya causa es multifactorial. Destacan dos factores interrelacionados: la calcificación vascular y la deficiencia de vitamina 25-hidroxi D. Recientemente, algunos nuevos biomarcadores derivados de proteínas osteogénicas como la OPG han mostrado asociación consistente con la progresión de calcificación y mortalidad. Se desconoce si la corrección de la deficiencia de vitamina 25-hidroxi D pudiera modificar la progresión de la calcificación vascular reflejado en la mejoría de estos biomarcadores lo cual pudiera traducirse en una mejoría en la sobrevida y una menor tasa de eventos cardiovasculares de los pacientes tratados en diálisis.

Se desconoce también la seguridad de la reposición en población en diálisis peritoneal, especialmente en los cambios esperables en las concentraciones de calcio, fósforo y FGF23.

Es una prioridad de investigación realizar ensayos que busquen la corrección de algunos otros factores modificables susceptibles de tratamiento médico, que pudieran disminuir la progresión de la calcificación, mejorar la función endotelial, disminuir los marcadores inflamatorios observados en la uremia y mejorar la sobrevida sin efectos secundarios. En este sentido, cada vez existe mayor evidencia del papel de la vitamina 25-hidroxi D en el metabolismo óseo-mineral, en la inflamación y en la función endotelial, independientes del efecto de la vitamina 1, 25-dihidroxi D.

Pregunta de Investigación.

¿Cuál es el efecto en las proteínas osteogénicas asociadas a la calcificación vascular después de la administración de colecalciferol comparado con placebo durante 16 semanas en sujetos en diálisis peritoneal con concentraciones de vitamina 25-hidroxi D iguales o menores a 20 ng/mL?

Justificación.

En México, aproximadamente el 65 % de los pacientes en terapia sustitutiva de la función renal se encuentran en DP. De este grupo de pacientes, por lo menos el 30 al 40% tienen evidencia de algún grado de calcificación vascular en estudios de imagen radiográficos simples lo cual condiciona una mayor morbilidad y mortalidad cardiovascular, siendo prioritario realizar ensayos clínicos que modifiquen algunos factores clínicos susceptibles de tratamiento. Las medidas terapéuticas actuales tales como la adecuación de la dosis de diálisis, la estrategias de control del fósforo sérico, el control de la presión arterial, el control del hiperparatiroidismo secundario, el uso de inhibidores del sistema renina angiotensina o de estatinas han mostrado eficacia limitada, razón por la que la mortalidad cardiovascular de los pacientes en diálisis en los últimos 10 años continúa prácticamente sin cambios. En este sentido, existe evidencia básica y observacional que sugiere que la deficiencia y corrección de la deficiencia de la vitamina 25-hidroxi D en población tratada con DP pudiera tener efectos benéficos en la función endotelial, reducción del estrés oxidativo y una menor transformación osteogénica de la célula vascular lisa. Además, se ha demostrado que la corrección de la deficiencia de la vitamina 25-hidroxi D en pacientes en diálisis es segura y no genera efectos secundarios graves.

De demostrar que la corrección de vitamina 25-hidroxi D con colecalciferol disminuye los valores de proteínas relacionadas a la calcificación vascular, se contaría con un tratamiento seguro, potencialmente efectivo para disminuir la progresión de la calcificación vascular y, en comparación con los análogos activos de vitamina D, de menor costo y sin los efectos secundarios de la hipercalcemia o hiperfosfatemia. Así también, si la repleción de vitamina D disminuye los marcadores de calcificación sin presentar efectos adversos, se sustentaría la realización de ensayos clínicos controlados, en donde una gran cantidad de pacientes en diálisis fueran expuestos a este tratamiento con el objetivo de disminuir morbilidad y mortalidad.

Hipótesis.

El grupo tratado con colecalciferol mostrará una disminución en las concentraciones séricas de osteoprotegerina (OPG) de 400 pg/mL o superiores comparado con el grupo tratado con placebo.

Objetivos.

Objetivo principal (general): Determinar el cambio en las proteínas séricas asociadas a la calcificación vascular en pacientes en DP y concentraciones de vitamina 25-hidroxi D iguales o menores a 20 ng/mL después de tratamiento por 16 semanas con colecalciferol versus placebo.

Objetivo específico: Determinar el cambio en las concentraciones séricas de OPG en pacientes en DP con deficiencia de vitamina 25-hidroxi D después de recibir tratamiento por 16 semanas con 4800 U diarias de colecalciferol versus placebo.

Objetivo secundarios: (1) Comparar el cambio en los niveles de Adiponectina, FGF-23, OCN, OPN e IL-6 e sérica en pacientes en DP con concentraciones de vitamina 25-hidroxi D iguales o menores a 20 ng/mL después de recibir tratamiento por 16 semanas con colecalciferol versus placebo; (2) evaluar el efecto de la suplementación con colecalciferol en las concentraciones de vitamina 1,25 hidroxi D (3) evaluar la seguridad de la administración de colecalciferol en la población referida (eventos de hipercalcemia, hiperfosfatemia, calcifilaxis tisular); (4) comparar eventos cardiovasculares, infecciosos, función renal residual, proteinuria en 24 horas, marcadores de inflamación, fracturas, hospitalizaciones y mortalidad entre los grupos; (5) evaluar el cambio en el grosor íntima-media carotídea observado por ultrasonido al año después de la intervención.

Métodos.

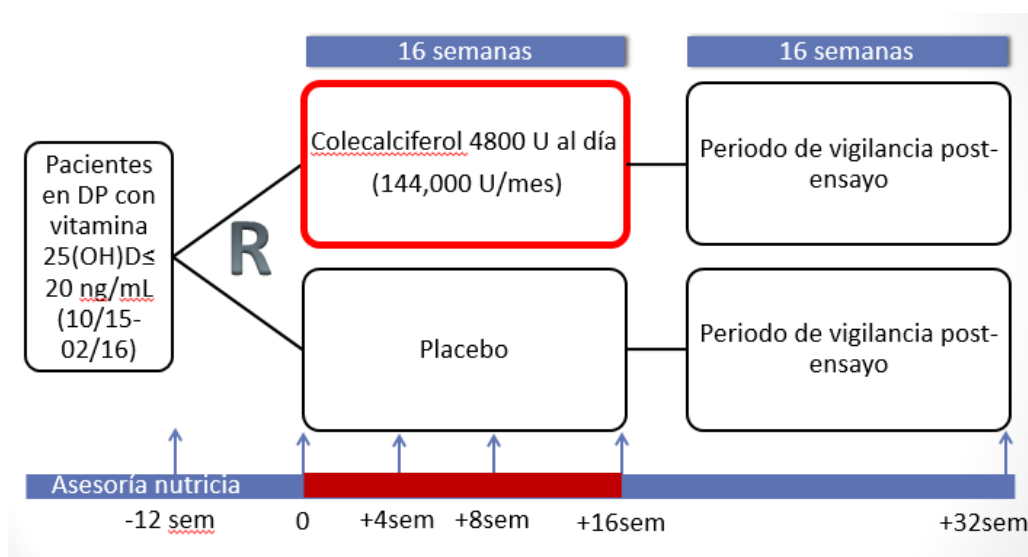
Ensayo clínico controlado con placebo, doble ciego, aleatorizado en bloques de 10 sujetos, de duración de 16 semanas, comparó el uso de colecalciferol 4800 unidades diarias versus placebo en sujetos adultos en diálisis peritoneal crónica con concentraciones séricas de vitamina D iguales o menores a 20 ng/mL. El ensayo fue aprobado por el comité de investigación y de ética en investigación del INCMNSZ (referencia 1419). El ensayo clínico fue publicado en [clinical trials.gov](https://clinicaltrials.gov) con el número de identificación NCT02598635 (<https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT02598635>).

Fueron incluidos sujetos con edad ≥ 18 años atendidos en la clínica de terapia sustitutiva del Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral del INCMNSZ, en tratamiento en diálisis peritoneal por lo menos 3 meses, una expectativa de vida mayor a 6 meses, con concentraciones de vitamina 25-hidroxi D < 20 ng/mL por lo menos durante 3 meses, con calcio corregido < 10.5 mg/dL, fósforo sérico < 7.0 mg/dL, hierro repletado (ferritina > 100 ng/mL y saturación de transferrina $> 20\%$) y hormona paratiroidea intacta > 100 pg/mL y < 1500 pg/mL. Se excluyeron aquellos sujetos con participación activa en otro protocolo, deficiencia de vitamina D debido a una enfermedad hereditaria, falla o enfermedad hepática, uso de colecalciferol o ergocalciferol ≥ 2000 IU por día dentro de los 6 meses previos, inicio del consumo de calcitriol o paricalcitol en cualquier dosis antes de tres meses previos a la intervención (los sujetos que tomaban calcitriol o paricalcitol solamente podían ser incluidos si dichos medicamentos habían sido consumidos por lo menos tres meses previos y sin modificaciones sustanciales en la dosis), tratamiento en los últimos tres meses con calcimiméticos o bifosfonatos, tratamiento con antiepilépticos u otros medicamentos que influyan en el metabolismo de la vitamina D, embarazo o lactancia, cáncer activo u otra enfermedad inflamatoria activa, VIH o SIDA e historia de trasplante renal.

Todos los sujetos incluidos en el estudio recibieron una intervención nutricional con restricción de fósforo a 900 mg/día durante 3 meses y los estudios se repitieron antes y después de la intervención.

Se administró colecalciferol (4,800 unidades diariamente, vía oral) durante 16 semanas Vs. placebo en sujetos en DP crónica con concentraciones de vitamina 25-hidroxi D <20 ng/mL. Las presentaciones del colecalciferol y del placebo fueron idénticas (Tres tabletas de colecalciferol, marca comercial valmetrol 3 de 1600 U, fueron pulverizadas y encapsuladas en la farmacia del INCMNSZ con la misma presentación del placebo, tanto en la forma, peso y consistencia del medicamento). Las muestras quedaron bajo resguardo del investigador JCRS quien tuvo las muestras bajo almacenamiento en el Departamento de Nefrología y Metabolismo Mineral. Se etiquetaron de acuerdo a una lista del código aleatorizado en bloques y por cada caso se envasaron 3 frascos de 28 cápsulas cada uno de 4800 U o placebo. En la cita basal, cita 2 (semana 4) y cita 3 (semana 8) se entregó un frasco a los pacientes. Los frascos eran recolectados y se contaban las cápsulas restantes como evidencia de cumplimiento. En la *figura 3*, se muestra el esquema general de seguimiento.

Figura 3. Esquema general de seguimiento.



Todos los bloques de sujetos fueron aleatorizados al mismo tiempo y su seguimiento fue sincronizado para evitar variaciones estacionales.

Se cuantificaron los cambios en las proteínas osteogénicas: OPG, factor de crecimiento de fibroblastos molécula intacta (iFGF23), OCN, OPN, IL-6 y hormona paratiroidea entre otros. En todos los casos, se tomaron muestras (15 mL) de plasma después de 12 de ayuno y las muestras fueron conservadas a -4°C. La determinación las proteínas osteogénicas fue realizada

por ELISA en una corrida (Luminex, modelo MagPix, software xPonent 4.2, MA, E.E.U.U.). El ensayo para OPG, adiponectina, OPN, OCN, FGF-23 e IL-6 tuvo un coeficiente de variación intraensayo e interensayo del 5% y 11% para OPG, 5% y 12% para OCN, 2% y 12% para OPN, 8% y 12% para iFGF-23, 7% y 13% para IL6 y 4% y 10% para adiponectina respectivamente. Las concentraciones mínimas detectables para OPG, OCN, OPN, iFGF-23, IL6 y adiponectina fueron 1.9 pg/mL, 68.5 pg/mL, 37.7 pg/mL, 9.2 pg/mL, 1.4 pg/mL, y 11 pg/mL respectivamente. La determinación de las concentraciones de vitamina 25-hidroxi D y 1,25-dihidroxi D fueron realizadas por quimioluminiscencia (QLIA automatizado, Liaison) y ELISA (Luminex, modelo MagPix, software xPonent 4.2, MA, E.E.U.U.) por duplicado. El valor mínimo de detección de vitamina 25-hidroxi D y 1,25-dihidroxi D fueron de 2.0 ng/mL y 5.0 pg/mL respectivamente.

La detección de la calcificación vascular fue evaluada atendiendo las recomendaciones internacionales (KDIGO). Se realizaron radiografías simples de columna lateral y anteroposterior de pelvis y manos practicadas exclusivamente en el Departamento de Radiología e Imagen del INCMNSZ. La técnica fue verificada por un radiólogo certificado (Casanova I). El análisis de las radiografías fue llevado a cabo por un radiólogo certificado y un nefrólogo certificado, ambos estuvieron cegados a la información clínica y a cada paciente le fue asignado un puntaje utilizando los índices descritos por Adragao (radiografías manos-pelvis) y por Kauppila (columna lumbar) utilizando una plantilla impresa como guía para asignar el puntaje (*figura 4*) (Kaupilla et al 2007, Adragao et al 2008). La prueba de concordancia interobservador para definir la presencia o no de calcificación tuvo kappa de 0.92 para manos-pelvis y de 0.88 para columna lumbar tuvo

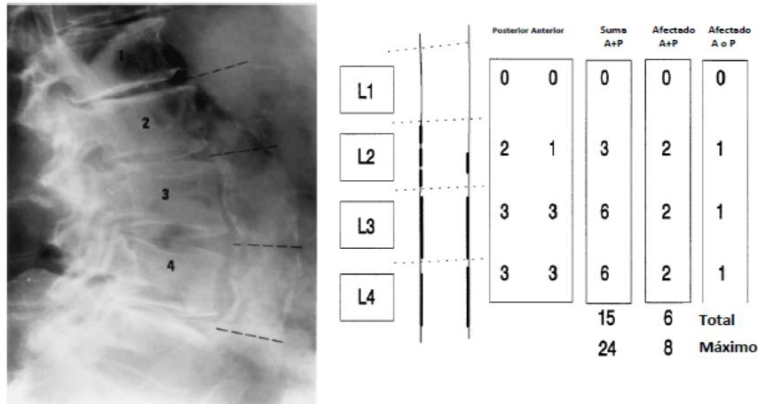


Figura 1. Índice de Kauppila para valorar calcificaciones aórticas segmentarias en una radiografía lateral. Ejemplo de un caso. Puntaje de 0 (tanto pared aórtica posterior y anterior) para la vertebra L1, puntaje de 2 para la pared posterior y 1 para la pared anterior en frente de L2, puntaje de 3 para las calcificaciones de la pared anterior y posterior de L3 y L4¹².



Figura 2. Índice de Adragao. El índice de calcificación es la suma de la presencia (1) o ausencia (0) de calcificaciones lineales paralelas en cada sección. En este caso, la suma total es 8¹¹.

Figura 4. Detección de calcificación vascular por Adragao y Kaupillas.

un valor de kappa de 0.92 para manos-pelvis y de 0.88 para columna lumbar utilizando los primeros 30 estudios de imagen. La variabilidad intraobservador para el radiólogo fue de 0.98 para manos y pelvis y de 0.92 para columna lateral. El coeficiente de variación para los puntajes fue de 1.5 y 0.9% para ambos índices.

La membrana peritoneal se evaluó mediante la prueba de equilibrio peritoneal (PET) de Twardowski al inicio del estudio, utilizando la noche anterior un intercambio de 1,5-2 L de líquido de diálisis con una concentración de dextrosa de 2,5% y una permanencia de 8 horas en peritoneo. Ese líquido se drenó en el hospital a 1ª hora de la mañana siguiente y se infundió un volumen de líquido similar. Se realizó una extracción de líquido a los 240 minutos de permanencia y se extrajo una muestra de sangre. Se asignó el tipo de transporte (bajo, promedio bajo, promedio alto y alto) según los valores validados para nuestra población (Cueto-Manzano et al 1999). Se determinaron los niveles de creatinina y fósforo en líquido y plasma, para calcular

el cociente líquido/plasma de creatinina (Cr) y fósforo a las 4 horas de permanencia (D/Pcr4 y D/Pp4). Para clasificar el tipo de transporte de fósforo, se utilizó el cociente de fósforo del dializado/suero (D/P) a las 4 horas y si la relación D/P es mayor que 1 desviación estándar por arriba del promedio; el paciente será promedio alto (PA) si la D/P se encuentra entre el valor promedio y + 1 desviación estándar; será promedio bajo (PB) si la D/P se encuentra entre el valor promedio y -1 desviación estándar; y finalmente, será bajo si la D/P está por debajo de -1 desviación estándar. Cada sujeto fue entrevistado el día de la PEP y se tomaron variables de talla, peso, presión arterial en 3 ocasiones y medicamentos prescritos.

La medición del grosor íntima media fue determinada a partir del promedio en tres mediciones de la pared de la arteria carotida común, tomadas a 1 cm de la bifurcación usando un ultrasonido con alta resolución en modo-B (ultrasonido de alta resolución 7.5 MHz transducer, Sonos 2000 ® de Hewlett-Packard, Bothell, Wash., USA). La detección de las placas calcificadas en la media fue realizada por comparaciones en el modo -B observados en el ultrasonido.

Seguridad y efectos adversos

Un comité de evaluación independiente integrado por los doctores Olynka Vega Vega y Mauricio Arvizu revisó periódicamente la seguridad y efectos secundarios. Aquellos pacientes que desarrollaron hipercalcemia (calcio corregido >10.5 mg/dL), o hiperfosfatemia (fósforo >7 mg/dL), se pospuso la administración de la maniobra durante 30 días hasta normalización de dichas variables con uso de quelantes de fósforo, dieta y/o suspensión de quelantes de fósforo a base de calcio. Se estipuló la suspensión del tratamiento en aquellos sujetos que presentaron de manera sostenida (2 o más ocasiones durante la evaluación) hiperfosfatemia grave (fósforo >7 mg/dL), hipercalcemia persistente >10.5 mg/dL y PTH <100 pg/mL o >1200 pg/mL

Cálculo del tamaño de muestra.

Se consideró como desenlace principal los cambios en la diferencia de OPG al final de la intervención. Fue considerada la diferencia útil a detectar un cambio de 400 pg/mL al finalizar la maniobra. Dicha diferencia como criterio de éxito fue basada en la siguiente consideración: las

concentración medias de OPG en la población en DP (n=76) del INCMNSZ fue de 5500 ± 543 pg/mL. En un modelo de regresión lineal, aproximadamente un cambio 400 pg/mL estuvo asociado con el aumento de media unidad del puntaje de calcificación vascular obtenido de una radiografía de columna lateral (Ramirez-Sandoval et al 2016). Este modelo fue similar a otros publicados con OPG y calcificación vascular en población con enfermedad renal crónica o hemodiálisis (Janda et al 2013). Se consideró que la desviación estándar anticipada en el grupo placebo fuera aproximadamente de 500 pg/mL y que la diferencia clínicamente útil a detectar en el cambio de OPG debe ser de 400 pg/mL.

Así, se utilizó la siguiente fórmula de comparación de 2 promedios para obtener el tamaño de la muestra, considerando un error alfa del 5% y un poder del 80% :

$$n = (2s^2(Z\alpha + Z\beta)^2) / \Delta^2$$

donde

$$s = 500 \text{ (desviación estándar)}$$

$$Z\alpha = 1.96$$

$$Z\beta = 0.84$$

$$\Delta = 400 \text{ (Delta o diferencia clínicamente útil a detectar)}$$

Se calcularon 25 sujetos por grupo, tanto placebo como colecalciferol. Asumiendo una pérdida del 15%, se planteó un total de 58 sujetos, es decir, 29 en el grupo placebo y 29 en el de intervención.

Así también, se calculó el tamaño de la muestra utilizando como desenlace el alcanzar valores de vitamina 25-hidroxi D mayores a 20 ng/mL al final de las 16 semanas de intervención. Basados en otros estudios (Bhan et al 2015), se asumió que al finalizar la intervención por 16 semanas, se alcanzarían niveles mayores a 20 ng/mL en el 90% de sujetos tratados con 4800 U diarias de colecalciferol y 10%, en el grupo placebo. Asumiendo un error alfa del 5%, 24 pacientes por grupo (total=50) proporcionarían un poder estadístico del 90% para la comparación entre las tasas de repleción entre ambos grupos. Este tamaño de muestra fue similar al tamaño de muestra calculado utilizando el desenlace principal.

Análisis estadístico.

El análisis de eficacia fue pre especificado y realizado por intención a tratar (en todos los sujetos aleatorizados); todos los sujetos tomaron al menos una dosis del medicamento o placebo.

Se utilizó estadística descriptiva con medidas de tendencia central y de dispersión de los datos de acuerdo a la distribución de los mismos. La distribución de las variables se analizó con la prueba de Kolmogorov-Smirnov. En el caso de variables categóricas se utilizó frecuencias y porcentajes. En el caso de variables continuas con distribución normal se utilizó media y desviación estándar; para variables continuas con distribución no normal se utilizó mediana e intervalo intercuartilar.

El desenlace primario fue definido como la proporción de aquellos participantes que lograron una disminución en sus concentraciones de OPG mayor a 400 pg/mL al finalizar la intervención. Estas proporciones fueron comparadas utilizando una prueba de χ^2 . Adicionalmente, se examinaron los cambios en las concentraciones de vitamina 25-hidroxi D y en los biomarcadores osteogénicos comparando los grupos usando un modelo de efectos mixtos para muestras repetidas de todas las mediciones longitudinales (MMRM, mixed-effect model of repeated measures). La covarianza no estructurada fue definida utilizando los criterios según la información de Akaike. Se utilizaron aproximaciones de Satterthwaite para estimar los grados de libertad de los denominadores. Se utilizaron los modelos MMRM para examinar los cambios en todas las medidas de laboratorio tales como OPG, FGF-23, OCN, OPN, calcio, fósforo y PTH. Se obtuvo la pendiente de todas las mediciones longitudinales para cada sujeto y fueron comparadas según el brazo de tratamiento asignado. Dado que OPG, iFGF23, OCN, IL6, OPN e iPTH tuvieron una distribución sesgada, se utilizó el logaritmo natural de dichas mediciones.

Las comparaciones entre los grupos se realizó con la prueba de χ^2 en el caso de las comparaciones entre la proporción de los sujetos expuestos a diversos medicamentos, efectos adversos, hospitalizaciones y usos de medicamentos. Se realizó análisis multivariado tomando en cuenta variables confusoras tales como la edad, diabetes, tiempo en diálisis, control

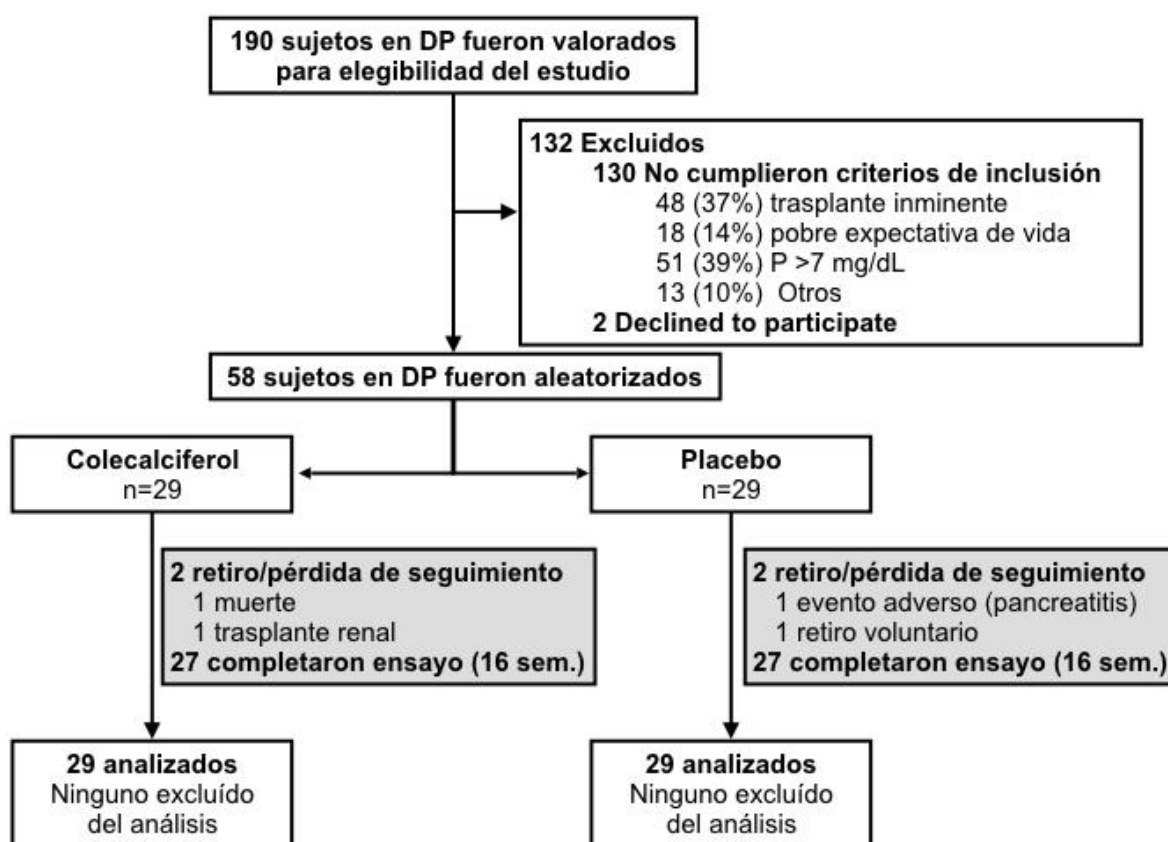
glucémicos y cambios en uso de calcitriol para evaluar los cambios en FGF23. El análisis estadístico fue llevado a cabo con el programa SPSS 21.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) y las gráficas con Graphpad prism 5 (San Diego, CA, USA)

. Se consideró significativa una $p < 0.05$.

Resultados.

Reclutamiento.

Fueron valorados 190 sujetos, de los cuales se 102 casos (68%) fueron valorados con estudios de laboratorio. Al final, 58 sujetos fueron aleatorizados. Las causas de exclusión se muestran en la *figura 5*. Entre “otras causas de exclusión” señaladas en la figura, se encontraron: negativa a participar (n=3), hospitalizaciones recientes (n=2), infarto al miocardio reciente (n=2), osteomielitis (n=1), embarazo (n=1), peritonitis reciente (n=2), endocarditis (n=1) y lupus activo (n=1). Fueron aleatorizados 58 sujetos (29 recibieron colecalciferol y 29, placebo). Todos los sujetos recibieron 3 o más dosis de colecalciferol, todos recibieron exclusivamente



tratamiento con DP y todos fueron expuestos a concentraciones de calcio del efluente de 3.5 mEq/L.

Figura 5. Reclutamiento de pacientes en diálisis. DP=diálisis peritoneal.

Características iniciales.

Las características iniciales fueron similares en ambos grupos respecto a la edad, sexo, características basales clínicas y uso de medicamentos (Tabla 1). Las mediciones iniciales de metabolismo mineral, incluyendo las concentraciones de vitamina 25-hidroxi D, calcio, fósforo y hormona paratiroidea fueron también similares entre los grupos. En ambos brazos de intervención, 17 (56%) de los sujetos tuvieron coincidentalmente niveles muy bajos de vitamina 25-hidroxi D (<12.5 ng/mL) y niveles indetectables de 1,25-dihidroxi D (<5 ng/mL). Una función renal residual definida como una tasa >2mL/min/1.73m² fue observada en 17 (58%) y 14 (48%) de los sujetos tratados con placebo y con colecalciferol respectivamente.

Tabla 1. Características iniciales de los pacientes.

Características	Colecalciferol (n=29)	Placebo (n=29)	P
Edad, (años)	38 (25-65)	43 (28-61)	0.36
Hombres, (n)	16 (55%)	14 (48%)	0.79
Tiempo en DP, (años)	1.9 (0.9-3.4)	2.9 (1.6- 4.4)	0.16
Causa of ERC			
Diabetes, (n)	11 (38%)	10 (35%)	1.00
Desconocida, (n)	9 (31%)	12 (41%)	0.58
Índice de Charlson	3 (2-6)	3 (2-5)	0.38
Diálisis peritoneal automatizada, (n)	15 (52%)	11 (39%)	0.43
Signos vitales			
Índice de masa corporal (kg/m ²)	24.0±3.7	25.4±4.8	0.21
Presión sanguínea sistólica (mmHg)	134±25	142±25	0.19
Presión sanguínea diastólica (mmHg)	86±17	89±18	0.40
Valores de laboratorio			
Vitamina 25-hidroxi D (ng/mL)	11.7±4.6	11.4±5.0	0.78
Vitamina 1,25-dihidroxi D (pg/mL)	4.99 (4.99-7.16)	4.99 (4.99-7.85)	0.92
Sujetos con valores no detectables de vitamina 1,25-dihidroxi D (<5 pg/mL)	17 (59%)	17 (59%)	1.00
Vitamina 25-hidroxi D <12.5 (ng/mL)	17 (59%)	17 (59%)	1.00
Ca corregido (mg/dL)	9.5±0.9	9.6±0.7	0.67
P (mg/dL)	5.0±1.2	5.1±1.2	0.62
iPTH (pg/mL)	344 (166-541)	474 (148-643)	0.39

Albúmina (g/dL)	3.3±0.5	3.2±0.5	0.45
Hemoglobina (g/L)	11.2±2.2	11.9±2.2	0.26
Ferritina (ng/mL)	125 (50-336)	169 (87-311)	0.36
Fosfatasa Alcalina (IU/mL)	105 (81-123)	96 (65-120)	0.45
Kt/V total semanal	1.8 (1.5-2.6)	1.7 (1.6-2.3)	0.63
Volumen urinario <200 mL/day (n)	12 (43%)	15 (54%)	0.36
Kt/V renal (en sujetos con función renal residual)	0.7±0.2	0.8±0.3	0.14
Volumen urinario residual (L/day)	0.8 (0.5-1.5)	0.8 (0.5-1.5)	0.60
Transporte peritoneal en PEP, D/P Cr	0.49 (0.38-0.58)	0.50 (0.42-0.59)	0.80
Medicamentos			
Calcitriol (n)	7 (24%)	8 (28%)	1.00
Sevelamer (n)	5 (17%)	5 (17%)	1.00
CaCO ₃ (n)	12 (41%)	13 (45%)	1.00
Cinacalcet (n)	0	0	1.00
Eritropoyetina humana recombinante (units/week)	4000 (1000-11000)	4000 (2000-8000)	0.87
β-bloqueador (n)	4 (13%)	9 (31%)	0.21
Inhibidor de ECA(n)	6 (21%)	10 (35%)	0.38
ARA (n)	14 (48%)	14 (50%)	1.00

* Calcificación vascular en aorta fue medida por el índice de Kaupillas, observado en radiografía de columna lateral de columna. Los valores se expresan como RIC: rango intercuartilar, D.E.:desviación estándar según su distribución. Iniciales: DP: diálisis peritoneal, ERC: enfermedad renal crónica, CaCO₃: carbonato de calcio, D/P: Dializado/plasmática obtenida en prueba de PEP, ECA: enzima convertidora de angiotensina, ARA: antagonista del receptor de angiotensina 2.

Suplementación y corrección de hipovitaminosis 25-hidroxi D.

Las concentraciones medias de vitamina 25-hidroxi D aumentaron de 11.4±5.0 ng/mL al inicio a 21.7±9.0 ng/mL a las 4 semanas, a 24.0±10.5 ng/mL a las 8, y a 28.3±10.3 ng/mL a las 16. En el grupo placebo no se observaron cambios significativos (de 11.7±4.6 ng/mL a 12.3±5.8 ng/mL a las 4 semanas, a 10.6±4.9 ng/mL a las 8, y a 11.9±4.3 ng/mL a las 16). Al final del seguimiento, el 92% de los sujetos lograron una concentración de vitamina 25-hidroxi D mayor a 20 ng/mL. Solamente 4 sujetos (14%) de los sujetos en el brazo de colecalciferol tuvieron concentraciones mayores de 30 ng/mL. Las diferencias globales en las concentraciones de vitamina 25-hidroxi D fueron estadísticamente significativas (P<0.001). El grupo con colecalciferol tuvo concentraciones más altas de vitamina 25-hidroxi D entre la determinación basal y a las 4 semanas después del inicio del tratamiento (P<0.001) y entre la semana 8 y 16

($P=0.03$). No se observaron diferencias entre la toma de la semana 4 y 8 ($P=0.23$). Al suspender el ensayo, las concentraciones de vitamina 25-hidroxi D en el brazo que recibió colecalciferol disminuyó de 28.3 ± 10.3 a 20.0 ± 7.7 después de 32 semanas de haber suspendido el tratamiento ($P<0.001$). Véase figura 6.

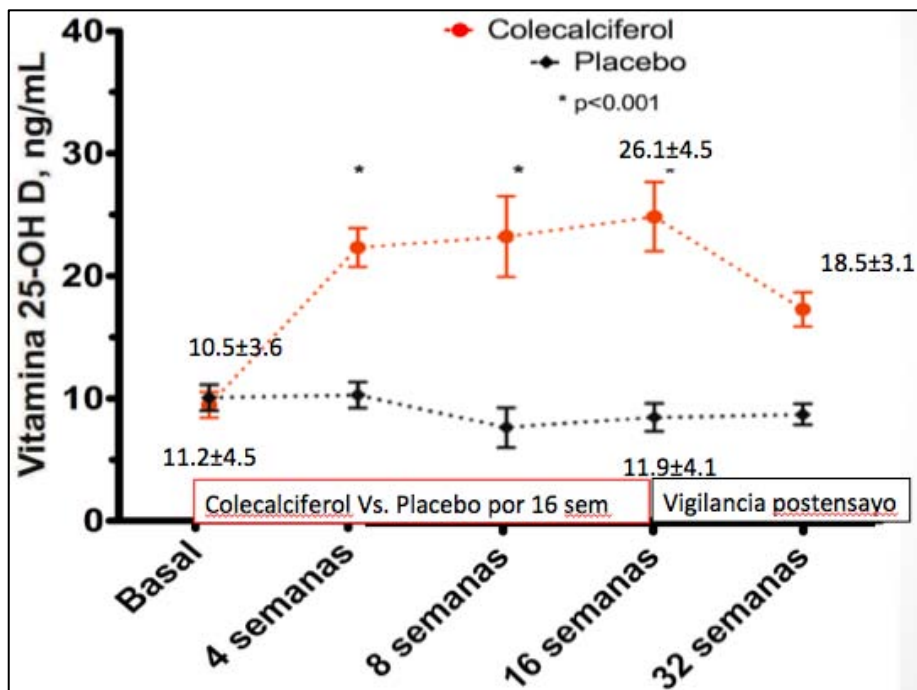


Figura 6. Concentraciones de vitamina 25-hidroxi D en ambos brazos. Al suspender las maniobra, las concentraciones de vitamina 25-hidroxi D disminuyeron en el grupo tratado con colecalciferol. No se observaron cambios en las concentraciones en el grupo placebo.

En total, 15 (26%) de los sujetos recibieron calcitriol en dosis bajas, con una dosis de 0.25 mcg por día en el 75% de dichos casos. Dicha dosis de calcitriol fue persistente durante el ensayo. Ningún paciente recibió cinacalcet o terapia con hierro intravenoso durante el estudio. No se observaron diferencias entre la velocidad de cambio o las concentraciones finales de vitamina 25-hidroxi D.

Efectos de la suplementación de vitamina 25-hidroxi D en Osteoprotegerina.

Los análisis primarios no mostraron diferencias entre las concentraciones de OPG a lo largo del estudio. Las concentraciones basales de OPG fueron de 6,000 pg/mL (rango intercuartilar (RIC) de 4099 a 7100) en el grupo tratado con colecalciferol y de 5500 pg/mL (RIC 4997 a 6152) en grupo tratado con placebo y no mostraron diferencias estadísticamente significativas a lo largo del estudio, excepto en la visita de la semana 4, en el cual se observó una diferencia estadísticamente significativa en las concentraciones de OPG en el grupo tratado con colecalciferol ($P=0.045$) la cual desapareció en la siguiente visita. Véase figura 7.

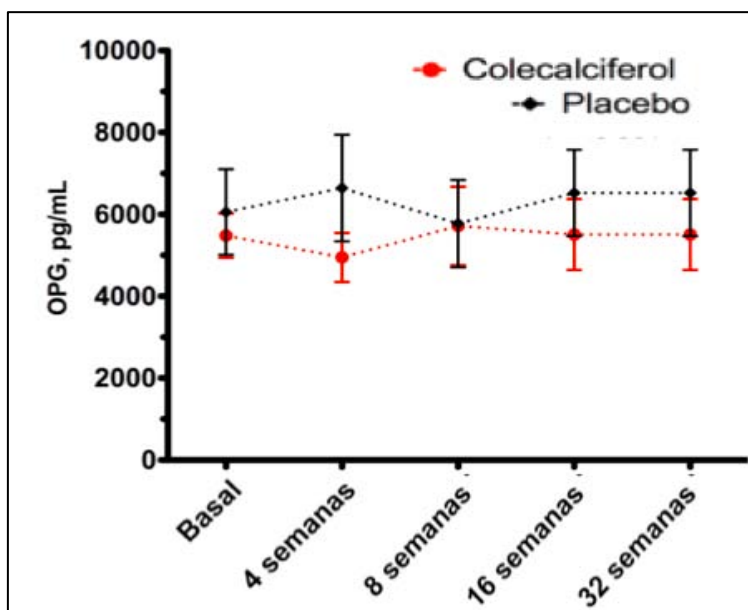


Figura 7. Cambios observados en la osteoprotegerina (OPG) durante las 16 semanas de intervención y después de la intervención.

Aunque la intervención no modificó OPG, la proteína estuvo asociado con marcadores de calcificación vascular. A todos los sujetos se les realizó ultrasonido carotídeo al iniciar el estudio. El grosor mediano de la íntima media fue de 0.59 (RIC 0.49-0.78) en grupo tratado con colecalciferol y 0.62 (RIC 0.46-0.79) en el grupo que recibió placebo ($p=0.45$). Se observó una correlación positiva entre los valores de OPG y el grosor de la íntima media derecha ($\rho=0.69$).

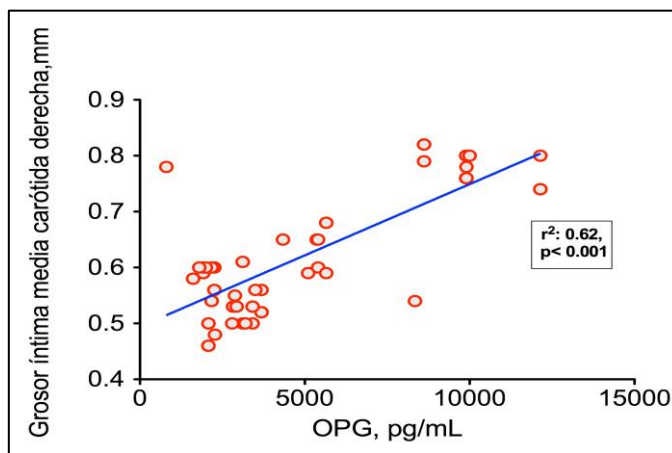


Figura 8. Asociación entre el grosor íntima media y OPG basal al iniciar el estudio

La regresión líneal ajustada a la edad y tiempo en diálisis mostró una r^2 de 0.62. Véase *figura 8*. Las concentraciones de OPG fueron más altas en los pacientes con mayor calcificación vascular según los índices de calcificación vascular medidos en radiografías basales de manos y pies (Adragao>3) comparado con el grupo sin calcificación (OPG en pg/mL de 2641 (477–4998) Vs. 6,050 (1709–14,569), $P<0.001$). También se observaron mayores concentraciones de OPG en el grupo con calcificación de aorta (Kaupillas >6) comparado con el grupo sin calcificación (OPG en pg/mL de 2896 (604–4,341) Vs. 11,656 (5,118–18500), <0.001).

La segunda medición del grosor íntima media reveló que el grosor de la íntima media no tuvo cambios significativos en el grosor de la íntima media, entre el inicio del estudio y a las 48 semanas después de haber concluido la maniobra (**Figura 9**). Las concentraciones de OPG fueron más altas en los pacientes con mayor calcificación vascular y con mayor engrosamiento del estudio según un aumento de 0.2 medido en el ultrasonido comparado con el grupo sin cambios en el grosor (OPG en pg/mL de 1641 (457–6098) Vs. 6,050 (3509–23,009), $P<0.001$).

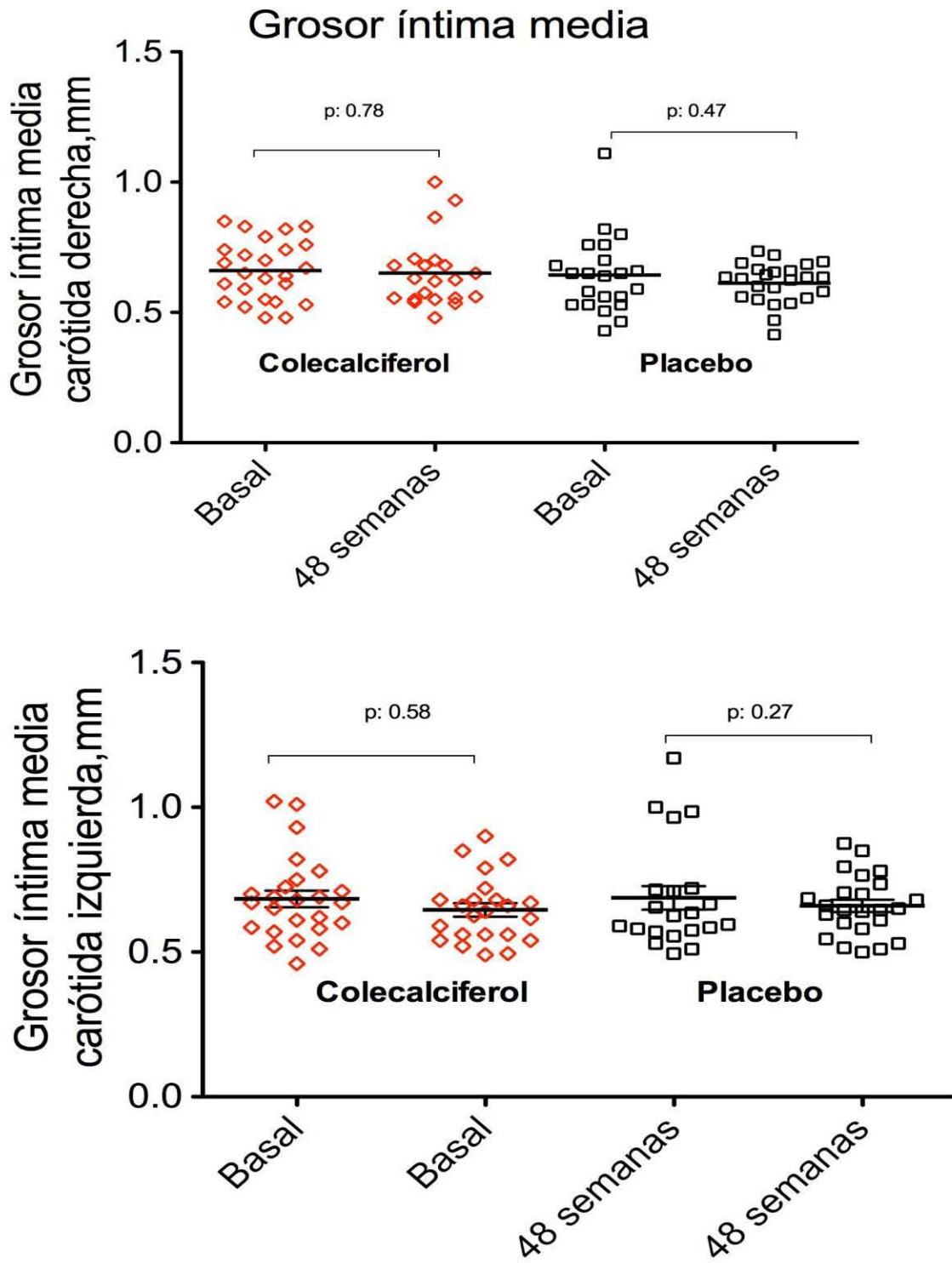


Figura 9. Cambios observados en el grosor íntima media derecha e izquierda en ambos brazo de intervención. El grupo tratado con colecalciferol no mostró cambios comparado con el grupo placebo.

Efectos de la suplementación de vitamina 25-hidroxi D en FGF23 molécula intacta.

Un 95% de los sujetos suplementados con colecalciferol tuvieron un aumento >30% en las concentraciones de iFGF23 comparado con un 29% en el grupo placebo ($p < 0.0001$). Una gran proporción de sujetos que recibieron colecalciferol tuvieron una mediana de aumento de +3.4 veces (RIC+1.8 a+4.5) comparado con -0.2 (IQR -0.6 a 1.2) en el grupo placebo ($p < 0.001$).
Veáse figura 10.

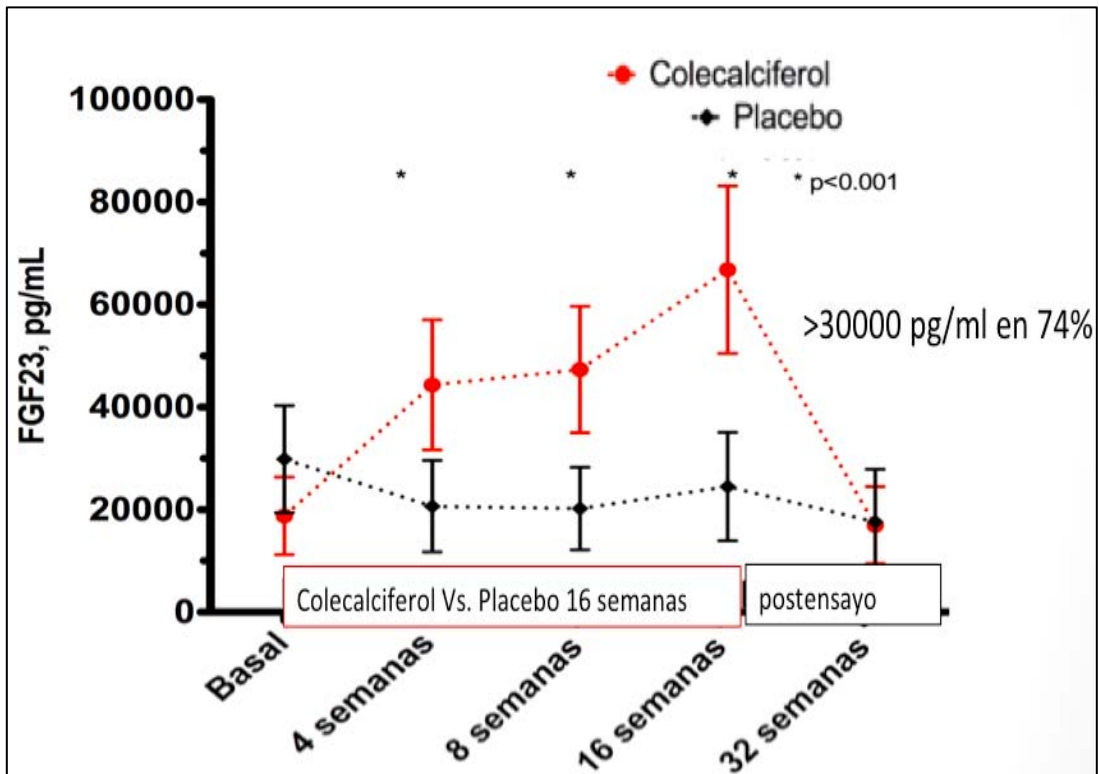


Figura 10. Cambios observados en los valores FGF23 en ambos brazo de intervención. El grupo tratado con colecalciferol mostró elevaciones sostenidas a lo largo de la intervención que disminuyeron a las 16 semanas de suspender la maniobra.

Concentraciones extremadamente altas de iFGF23 (>30000 pg/ml) fueron observadas en 74% de los sujetos tratados con colecalciferol al final del seguimiento. Los cambios observados en iFGF23 no fueron confundidos por otras variables tales como terapias concomitantes, cambios en el volumen urinario residual, fósforo sérico u hormona paratiroidea.

No se observaron diferencias entre los grupos en las concentraciones séricas de OPN, OCN, calcio, fósforo, hormona paratiroidea, IL-6, quelantes de fósforo o uso de calcitriol. Véase *figura 11 y 12*.

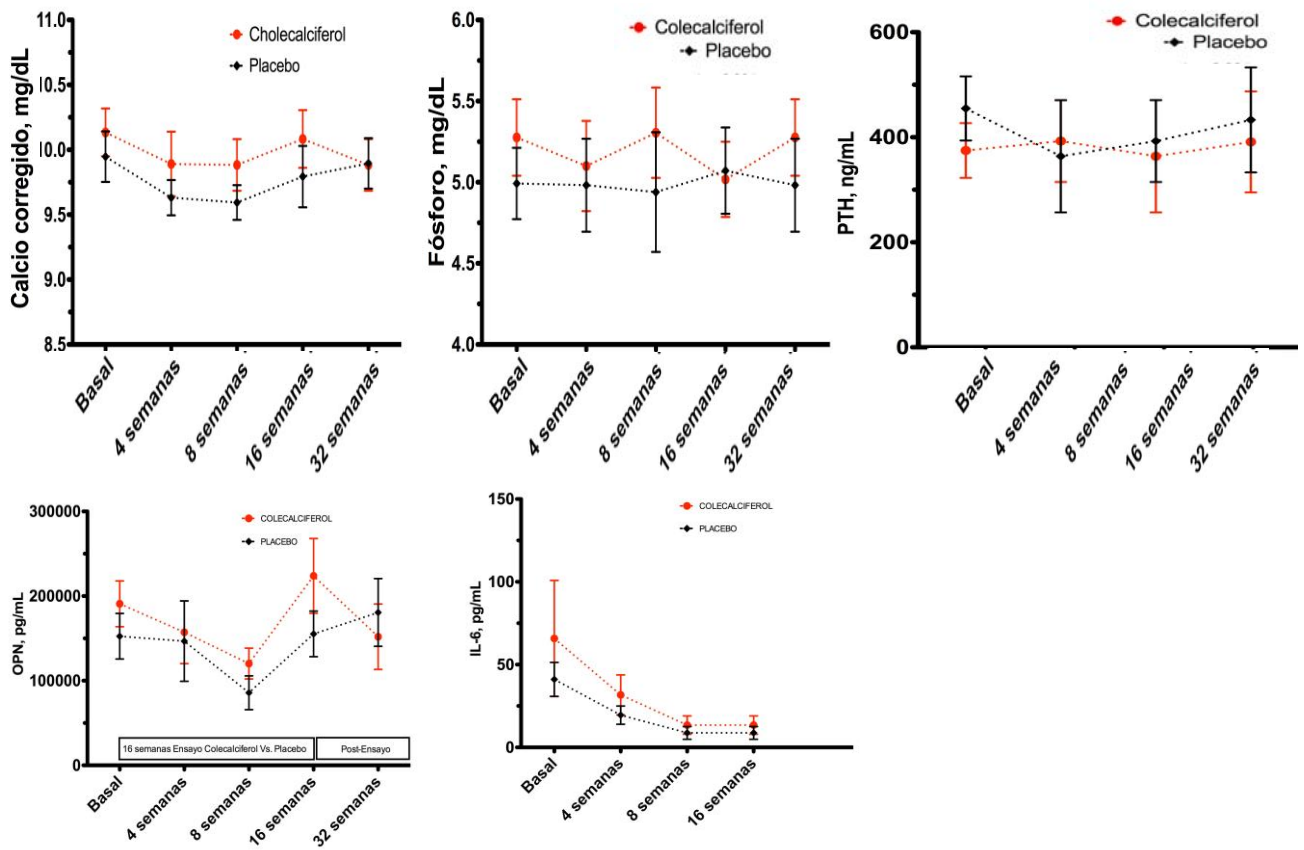


Figura 11. Cambios observados en los valores de calcio, fósforo, hormona paratiroidea (PTH) y osteopontina (OPN) durante el protocolo.

Tabla 2. Cambios en los parámetros del metabolismo mineral entre los grupos de tratamiento durante las 16 semanas del estudio y durante las siguientes semanas de seguimiento al finalizar el ensayo clínico.

Parametro del metabolismo mineral*	Placebo							Colecalciferol						
	Basal	4 semanas	8 semanas	16 semanas	48 semanas	Pendiente del modelo ** (95% CI)	Valor de P intragrupo***	Basal	4 semanas	8 semanas	16 semanas	48 semanas	Pendiente del modelo (95% CI)	Valor de P intragrupo***
25D (ng/mL)	11.7±4.6	12.3±5.8	10.6±4.9	11.9±4.3	16.0±6.6	-0.11 (-0.94 a 0.72)	0.79	11.4±5.0	21.7±9.1	24.1±10.5	28.3±10.3	20.0±7.7	5.36 (3.83 a 6.88)	<0.001*
1,25D (pg/mL)	6.1 (4.9-7.7)	7.6 (5.3-11.6)	10.3 (5.4-13.7)	7.0 (6.1-10.4)	5.8 (4.9-11.2)	0.15 (-0.07 a 0.22)	0.15	5.1 (4.9-7.9)	10.5 (4.9-15.2)	13.7 (8.4-22.5)	14.5 (9.0-23.6)	7.0 (5.2-9.1)	0.21 (0.11 a 0.31)	<0.001*
OPG, pg/mL	4694 (3012-7651)	4553 (2255-6432)	3747 (1750-7071)	3949 (1186-7360)	1063 (716-1283)	-0.11 (-0.25 a 0.02)	0.92	2600 (2042-10757)	3379 (1787-9731)	2939 (1665-7983)	4131 (2451-9475)	1163 (576-2248)	0.10 (-0.15 a 0.18)	0.91
iFGF23, ng/mL	29876 (952-77532)	20667 (875-45018)	20233 (456-66763)	24507 (649-64507)	17629 (438-57171)	0.04 (-0.24 to 0.32)	0.79	18783 (1415-150123)	44349 (1832-19386)	47344 (4536-409945)	66799 (2802-150000)	9222 (984-14437)	0.42 (0.08 to 0.76)	0.016
OCN, ng/mL	103 (35-263)	98 (43-237)	99 (33-521)	147 (57-394)	140 (79-221)	0.09 (-0.13 a 0.32)	0.41	111 (62-229)	113 (64-462)	131 (73-265)	129 (80-359)	141 (93-229)	0.04 (-0.11 a 0.19)	0.61
IL6,	28 (0.9-59)	0.9 (0.9-82.1)	0.9 (0.9-13.1)	18.9 (0.9-82)	0.9 (0.9-3.3)	0.09 (-0.13 a 0.31)	0.41	28 (0.9-59)	1.0 (0.9-28)	0.9 (0.9-2.5)	0.9 (0.9-28)	1.0 (1.0-1.0)	0.04 (-0.11 a 0.19)	0.61
OPN, ng/mL	133 (104-324)	90 (43-156)	85 (28-131)	156 (61-274)	40 (23-254)	-0.09 (-0.31 a 0.12)	0.40	111 (25-224)	40 (24-190)	39 (21-87)	14 (38-231)	42 (10-400)	0.1 (-0.25 a 0.27)	0.92
Hb, g/L	11.2±2.2	-	-	11.2±1.9	11.7±2.8	2.5 (-2.3 a 7.3)	0.30	11.9±2.2	-	-	11.5±2.3	10.9±3.5	-0.9 (-2.5 a 0.7)	0.27
Ca corregido (mg/dL)	9.2±0.7	9.4±0.7	9.3±0.6	9.3±0.6	9.3±1.1	0.02 (-0.10 to 0.15)	0.69	9.4±0.7	9.5±0.7	9.5±0.6	9.5±0.7	9.5±0.9	0.03 (-0.09 a 0.15)	0.58
P (mg/dL)	5.2±1.4	5.1±1.5	5.1±1.5	4.9±1.4	5.1±1.5	-0.09 (-0.34 to 0.16)	0.48	5.5±1.4	5.0±1.2	5.4±1.3	5.4±1.4	4.9±1.6	0.01 (-0.22 a 0.25)	0.92
iPTH (pg/mL)	344 (164-570)	-	301 (208-753)	314 (127-694)	201 (113-576)	0.04 (-0.18 a 0.26)	0.72	474 (146-663)	-	203 (115-429)	345 (142-448)	265 (140-452)	-0.13 (-0.38 a 0.13)	0.33
Presión sistólica, mmHg	134±25	135±18	139±21	134±22	130±20	0.1 (-12.6 a 12.8)	0.99	143±22	140±21	141±19	134±22	141±26	-4.8 (-17 to 7.5)	0.44
Presión del pulso, mmHg	48±20	47±19	49±21	50±16	48±18	2.1 (-7.7 a 12.0)	0.66	52±24	50±21	51±18	52±20	53±19	-0.4 (-12.2 a 11.3)	0.94
VUR, (L/día)	0.8 (0.5-1.4)	1.0 (0.5-1.2)	1.0 (0.8-1.5)	1.1 (0.2-2.0)	0.8 (0.2-1.6)	0.55 (-0.28 to 1.4)	0.19	0.8 (0.5-1.6)	1.0 (0.5-1.6)	1.1 (0.5-2.0)	1.1 (0.3-1.5)	0.7 (0.3-1.5)	0.35 (-0.6 to 1.3)	0.45

** Para las variables con distribución no Gausiana, se muestran medianas y rangos intercuartilares. Para las variables con distribución gausiana se muestran medias y desviaciones estándar. Para aquellas variables con distribución no gausiana se modela la pendiente en base al logaritmo natural de la variable. La pendiente se modela para las 16 semanas de intervención. La pendiente del modelo con su intervalo de confianza al 95% de un parámetro dado se interpreta como el porcentaje de cambio de la variable por mes. Por ejemplo, la pendiente de 1.02 para el iFGF-23 se interpreta como un 2% de aumento en el logaritmo natural de FGF-23 por mes. Para la vitamina 25-hidroxi D, la pendiente de +0.10 se interpreta como un aumento de 0.10 ng/mL de aumento por mes en los valores de vitamina 25-hidroxi D.*

****El valor de la P intra-grupo asume en la hipótesis nula que no existe cambio en la variable respect al tiempo y la el valor de la p inter-grupo asume que no existe diferencia entre las pendientes de ambos brazo de tratamiento.*

+Valor p inter-grupos menor de 0.05.

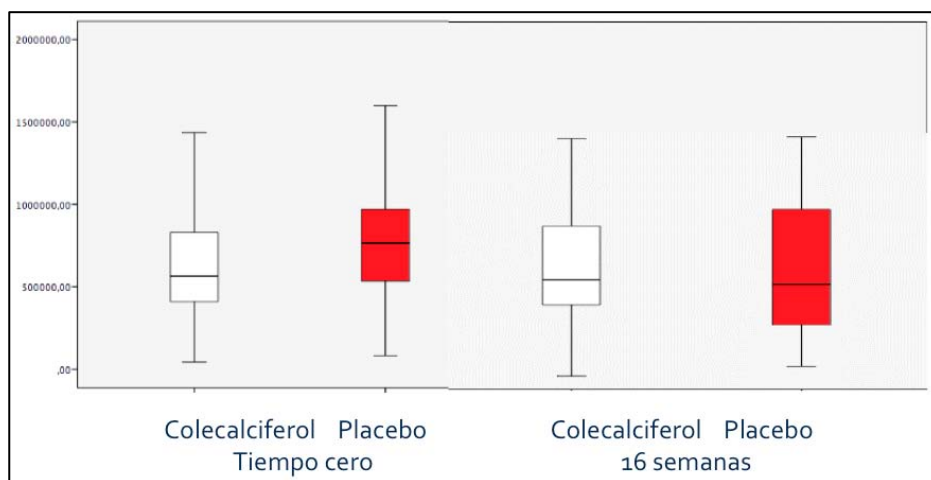


Figura 12. Cambios observados en los valores de adiponectina al inicio y al final del tratamiento. No se observaron diferencia significativas entre los grupos durante el protocolo.

Cambios en las concentraciones de 1,25 hidroxí vitamina D.

En 33 sujetos (57%) de los sujetos participantes se encontraron concentraciones de 1,25 dihidroxí D al ingreso del estudio en valores indetectables. El grupo tratado con colecalciferol mostró elevaciones sostenidas en los valores de vitamina 1,25 dihidroxí D a lo largo de las 16 semanas comparados con el grupo placebo (pendiente de la curva de 0.29, IC 95% de 0.19 a 0.40, Vs. 0.13 IC 95% de 0.03 a 0.24, $p = 0.018$) (Tabla 3, Figura 13). Al final de la intervención, se observaron valores detectables de vitamina 1,25-dihidroxí D en 22 (81%) de los sujetos tratados con colecalciferol comparados con 14 (52%) del grupo placebo ($p=0.042$).

Al estratificar el uso de calcitriol (5 sujetos en cada grupo) se observó una tendencia a mayores concentraciones de 1,25 dihidroxívitamina D comparado con aquellos que no recibieron dicha suplementación (pendiente de +1.58 en el grupo estratificado con calcitriol versus +1.34 en el grupo placebo, $p = 0.081$).

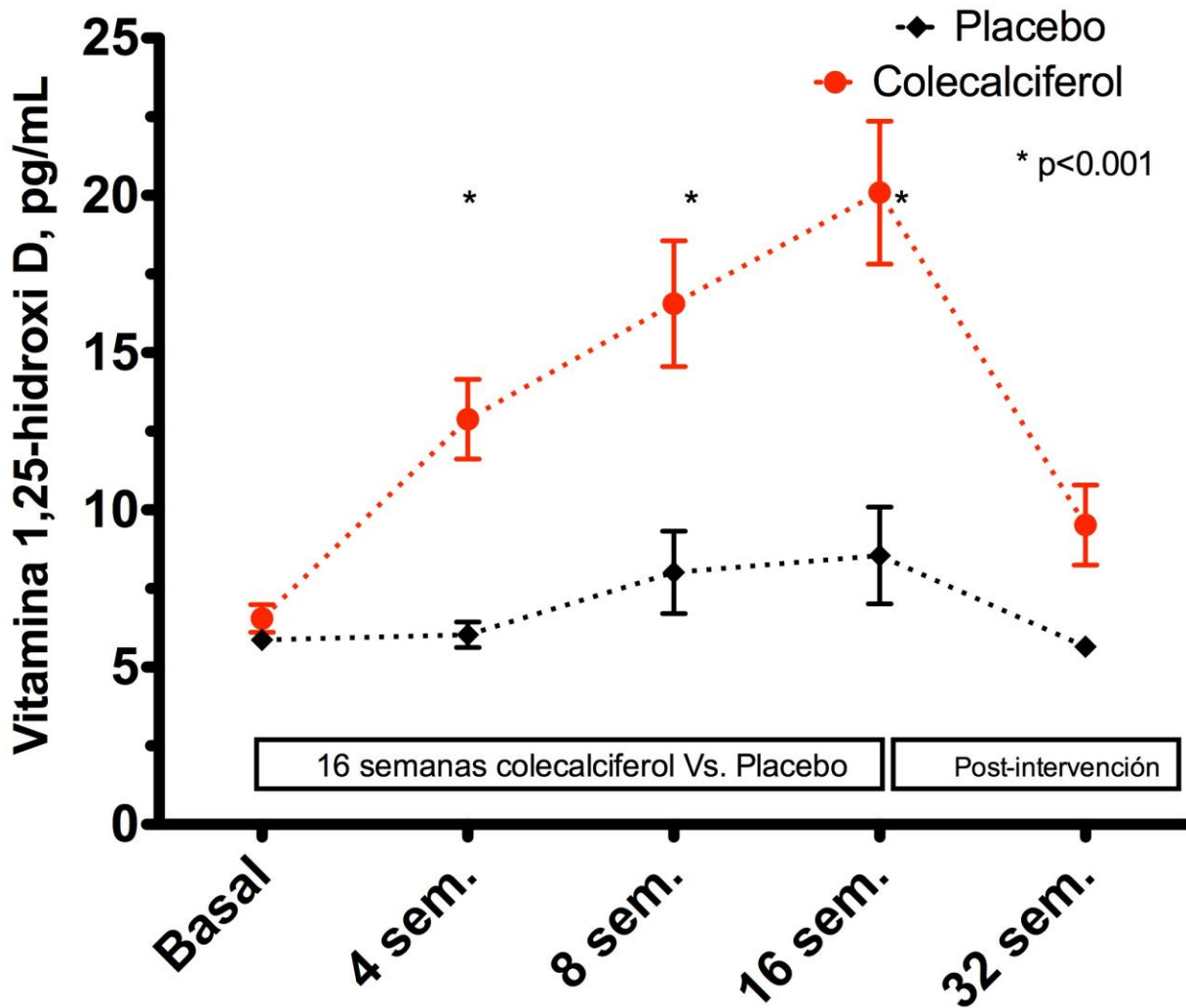


Figura 13. Elevaciones en las concentraciones de 1,25 dihidroxivitamina D con el tratamiento con colecalciferol. A diferencia de lo observado en las concentraciones de vitamina 25-hidroxi D, en cada una de las citas subsecuentes del protocolo se observaron un aumentos en las concentraciones de calcitriol con una diferencia significativa.

Otros factores.

Al finalizar la semana 16 (fin del periodo de tratamiento, no se encontraron diferencias en las presiones arteriales sistémicas sistólicas (146 ± 5 mmHg en colecalciferol, 150 ± 6 mmHg en placebo, $P=0.65$) o en las presiones arteriales diastólicas (91 ± 6 en colecalciferol, 88 ± 7 en placebo, $P=0.10$). La dosis en las dosis de eritropoyetina y en la proporción de pacientes con eritropoyetina fue similar entre ambos periodos (colecalciferol 69%, placebo 61%, $P=0.57$).

Eventos adversos.

Se observaron eventos adversos en la mayoría de los pacientes tanto en el grupo de intervención como en el grupo placebo (Tabla 2). Las elevaciones de calcio corregido >10.5 mg/dL y fósforo >7 mg/dL fueron similares entre ambos grupos. En el grupo tratado con colecalciferol se observó una muerte asociada a neumonía y en el grupo tratado con placebo un evento de pancreatitis grave, asociado a peritonitis, que requirió el cambio de terapia dialítica a hemodiálisis.

Tabla 3. Frecuencia de eventos adversos durante la intervención.

Evento adverso*	Colecalciferol (n=29)	Placebo (n=29)	P**
Cualquier evento adverso	22 (80)	23 (86)	1.00
Muerte, n	1 (3)	0 (0)	1.00
Pancreatitis, n	0 (0)	1 (3)	1.00
Fósforo >7mg/dL	14 (50)	13(46)	1.00
Calcio corregido >10.5 mg/dL	1 (3)	2(7)	1.00
Potasio >5.5 mEq/L	0(0)	0(0)	1.00
Leucocitos >12,000 c/mL	0(0)	1(3)	1.00
Infección	4(14)	6(20)	0.72
Naúsea/vómito/diarrea	6(20)	7(25)	1.00
Dolor óseo	5(16)	4(17)	1.00
Peritonitis	1 (3)	2(7)	1.00
Caídas	2 (7)	1 (4)	1.00

*Los valores son expresados como n (%), **Prueba exacta de Fisher en todos los casos

Discusión.

La evidencia básica acerca de los efectos pleiotrópicos de la vitamina D ha proliferado en la última década. Un optimismo reciente ha sugerido que la suplementación con vitamina D nutricional (colecalfiferol, ergocalciferol) es benéfica en pacientes con enfermedad renal crónica en terapia sustitutiva de la función renal (Nigwekar et al 2012) y varios clínicos han adoptado la corrección de la hipovitaminosis utilizando valores similares a la población general.

Varios estudios básicos han sugerido que la adecuada concentración a nivel tisular (“local”) de vitamina 25-hidroxi D en diversos tejidos tales como células inmunes, tejido endotelial, células vasculares lisas u osteoblastos pudiera tener efectos benéficos en el proceso de calcificación o inflamación independientemente de las concentraciones séricas de calcitriol producidas en tejido renal. Por ejemplo, estudios experimentales en cultivos celulares, han demostrado que la adecuada concentración intracelular de vitamina 25-hidroxi D revierte la transformación fenotípica de la célula vascular lisa hacia un fenotipo calcificante a través de la expresión de la proteína Klotho a nivel celular (Lim et al 2012).

A pesar de la alta prevalencia de insuficiencia y/o deficiencia de vitamina 25-hidroxi D en sujetos tratados con diálisis, especialmente en aquellos tratados con DP, existe incertidumbre sobre la utilidad de la suplementación en el campo de la nefrología. Con el fin de investigar los beneficios y riesgos potenciales de la reposición, presentamos los resultados de este ensayo clínico, aleatorizado, controlado el cual utiliza la fórmula más potente de vitamina D nutricional (colecalfiferol) durante 16 semanas y determinar su efecto en varias proteínas osteogénicas, asociadas varias de ellas al proceso de calcificación vascular.

La administración diaria de 4,800 unidades de colecalfiferol durante 16 semanas en sujetos en diálisis peritoneal logró niveles de vitamina 25-hidroxi D mayores a 20 ng/mL en casi la mayoría de los pacientes (23%) sin generar grandes cambios en los síntomas clínicos de los pacientes, efectos adversos o en las concentraciones de calcio, fósforo u hormona paratiroidea. A diferencia de lo que ocurre en las poblaciones tratadas en hemodiálisis, la minoría (14%) de los pacientes en sustitución lograron concentraciones mayores a 30 ng/mL durante la sustitución. Las conclusiones del estudio muestran dos principales: (1) la corrección de la hipovitaminosis con colecalfiferol no modifica las concentraciones de varias proteínas osteogénicas, tales como OPG, la cual es un marcador indirecto de la carga de

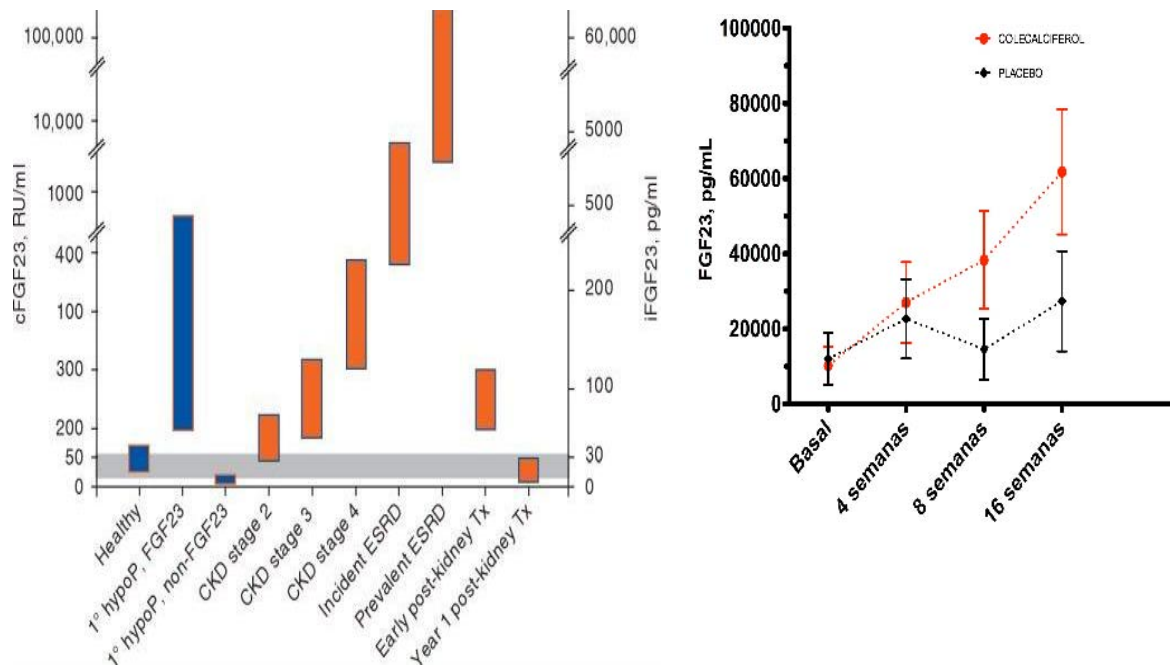
calcificación vascular, ni tampoco modifica proteínas asociadas a inflamación, y (2) la corrección genera incrementos exponenciales en las concentraciones de FGF23, lo cual es motivo de preocupación.

La proteína FGF23 es producida principalmente por los osteocitos en hueso y, en condiciones fisiológicas, actúa como un factor fosfatúrico al reducir la reabsorción renal de fósforo (suprime la expresión de los cotransportadores NaPi IIa y IIc en el túbulo proximal). Además, la FGF23 suprime la expresión de la α 1-hidroxilasa, reduciendo de esta manera la producción renal de vitamina 1,25-dihidroxi D y también aumenta la expresión de la 24-hidroxilasa renal que transforma a la vitamina D en un metabolito de menor actividad biológica. De esta manera, el FGF23 no solo disminuye el fósforo plasmático por supresión de su reabsorción renal sino también disminuye la absorción intestinal al disminuir los niveles de vitamina 1,25-dihidroxi D (Quarles et al 2008). Es probable que la suplementación con colecalciferol y la subsecuente corrección de la deficiencia de vitamina 25-hidroxi D, haya incrementado las concentraciones tisulares en osteocitos de vitamina 1,25-dihidroxi D producida por α 1-hidroxilasa local lo cual es un fuerte estímulo para la producción de FGF23. Es de llamar la atención que la pendiente de incremento en las concentraciones de vitamina 25-hidroxi D en los sujetos suplementados muestra una meseta entre las semanas 8 a 16 asociado al aumento exponencial de FGF-23. Es probable que dicha meseta este asociada a la transformación de vitamina 24-hidroxi D producto del efecto de FGF-23. Durante el transcurso de este semestre, se espera realizar la medición de vitamina 24-hidroxi D y de vitamina 1,25-dihidroxi D para complementar esta hipótesis.

Existe evidencia de que FGF-23 ejerce efectos directos sobre el sistema cardiovascular. Se ha propuesto que a altas concentraciones, el FGF-23 es capaz de establecer uniones de baja afinidad a los receptores tipo 1 independientes de Klotho, lo cual provoca efectos perjudiciales en múltiples órganos y tejidos. FGF-23 es capaz de inducir hipertrofia celular en cultivos de cardiomiocitos y en modelos in vivo, su administración intravenosa e intramiocárdica resultó en el desarrollo de hipertrofia ventricular izquierda (Faul et al 2011). Ello sugiere que la asociación entre muerte cardiovascular, hipertrofia ventricular y mayores concentraciones de FGF23 pudiera ser atribuible, al menos en parte, a la acción directa del FGF-23.

En la *figura 11*, se muestran las concentraciones de FGF-23 reportadas en diversas poblaciones comparados con nuestros resultados. Los valores observados al final de las 16 semanas se encuentran en los cuartiles más altos de los pacientes con enfermedad renal crónica terminal los cuales están asociados a una mayor mortalidad cardiovascular (Isakova et al 2011).

Figura 11. Valores de FGF23 reportadas en diversas poblaciones (Isakova et al 2011) comparados



con los resultados del estudio.

Es complicado reconciliar la evidencia de los efectos benéficos de la vitamina D nutricional con los cambios observados en las concentraciones de FGF23. Con los resultados observados, podemos concluir que la administración continúa de colecalciferol para lograr concentraciones superiores a 20 ng/mL en sujetos en diálisis peritoneal produce un incremento exponencial de FGF23 lo cual pudiera aumentar el riesgo cardiovascular a largo plazo. En un intento de no descartar un beneficio potencial de la suplementación, queda claro que las concentraciones y dosis de vitamina D debieran ser menores en esta población con el objetivo de lograr una menor pendiente en las elevaciones de FGF23, algo sugerido por algunos autores (Wolff 2012).

El trabajo presentado tiene limitaciones. Algunas de ellas incluyen la falta de medición de proteína ligadora de vitamina D o la vitamina D biodisponible, el potencial error tipo 2 al no observar cambios en algunos biomarcadores dada su distribución, la ausencia de biopsias óseas que ayuden a entender los cambios ocurridos en el hueso con la reposición y un seguimiento relativamente corto para concluir si las elevaciones de FGF23 en realidad tienen un efecto clínico deletéreo. Sin embargo, el estudio es un ensayo clínico con un estricto seguimiento y una tasa mínima de pérdidas, además de ser el primer estudio en pacientes en DP. Además, demuestra que la suplementación tiene poca utilidad en el corto plazo, tanto en la calidad de síntomas como en varios parámetros bioquímicos, y señala algunos riesgos potenciales en la elevación de una proteína, FGF23, asociada a desenlaces cardiovasculares adversos.

Conclusiones.

La suplementación con colecalciferol 4800 U diarias por 16 semanas corrige la deficiencia de vitamina 25-hidroxi D en pacientes en DP. La sustitución no induce cambios en la mayoría de las proteínas osteogénicas excepto en iFGF23. El aumento de iFGF23 durante la suplementación es motivo de preocupación y pudiera ser una posible contraindicación para esta maniobra.

Referencias.

- Allison SJ. (2013). Bone and the kidney: it's complex. *Nat Rev Nephrol*, 9, p.p. 623.
- Adragão T, Frazão J. (2008). Cardiovascular risk in dialysis patients: an X-ray visión on vascular calcifications. *Kidney Int.* 74(12), p.p.1505-1507.
- Bai X, Miao D, Li J, Goltzman D, Karaplis AC. (2004). Transgenic mice overexpressing human fibroblast growth factor 23 (R176Q) delineate a putative role for parathyroid hormone in renal phosphate wasting disorders. *Endocrinology.* 145, p.p.5269–5279.
- Baldock PA, Thomas GP, Hodge JM, Baker SU, Dressel U, O'Loughlin PD, et al.(2006). Vitamin D action and regulation of bone remodeling: suppression of osteoclastogenesis by the mature osteoblast. *J Bone Miner Res.* 21(10), p.p.1618-1626.
- Bargnoux AS, Dupuy AM, Garrigue V, Jaussent I, Gahide G, Badiou S, et al. (2009). Evolution of coronary artery calcifications following kidney transplantation: relationship with osteoprotegerin levels. *Am J Transplant.*9, p.p. 2571-2579.
- Bhan I, Dobens D, Tamez H, Deferio JJ, Li YC, Warren HS, et al. (2015). Nutritional vitamin D supplementation in dialysis: a randomized trial. *Clin J Am Soc Nephrol.* 10(4), p.p. 611-619.
- Berner HS, Lyngstadaas SP, Spahr A, Monjo M, Thommesen L, Drevon CA, et al. (2004). Adiponectin and its receptors are expressed in bone-forming cells. *Bone*, 35(4), p.p. 842-849.
- Bucharles S, Barberato SH, Stingham AE, Gruber B, Piekala L, Dambiski AC, et al. (2012). Impact of cholecalciferol treatment on biomarkers of inflammation and myocardial structure in hemodialysis patients without hyperparathyroidism. *J Ren Nutr*, 22(2), 284-291.
- Cueto-Manzano A M, Díaz-Alvarenga A, Correa-Rotter R. (1999). Analysis of the peritoneal equilibration test in Mexico and of factors influencing the peritoneal transport rate. *Perit Dial Int.* 19(1), p.p. 45-50.
- Daghri NM, Alkharfy KM, Al-Othman A, Yakout SM, Al-Saleh Y, Fouda M, et al. (2013) Effect of non-pharmacologic vitamin D status correction on circulating bonemarkers in healthy overweight and obese Saudis. *Molecules.* 18(9), p.p.10671-80.

- Davenport C, Kenny H, Ashley DT, O'Sullivan EP, Smith D, O'Gorman DJ. (2012). The effect of exercise on osteoprotegerin and TNF-related apoptosis-inducing ligand in obese patients. *Eur J Clin Invest.* 42(11), p.p. 1173-1179.
- Esteghamati A, Azizi R, Ebadi M, Noshad S, Mousavizadeh M, Afarideh M, et al. (2015). The comparative effect of pioglitazone and metformin on serum osteoprotegerin, adiponectin and intercellular adhesion molecule concentrations in patients with newly diagnosed type 2 diabetes: a randomized clinical trial. *Exp Clin Endocrinol Diabetes.* 123(5), p.p.289-295.
- Faul C, Amaral AP, Oskoueï B, Hu MC, Sloan A, Isakova T, et al. (2011). FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest,* 121, p.p. 4393–4408.
- Goldsmith DJ, Covic A, Fouque D, Locatelli F, Olgaard K, Rodriguez M, et al. (2010). Endorsement of the Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) Guidelines: a European Renal Best Practice (ERBP) commentary statement. *Nephrol Dial Transplant.* 25(12), p.p.3823-31.
- Gracia-Iguacel C, Gallar P, Qureshi AR, Ortega O, Mon C, Ortiz M, et al. (2010). Vitamin D deficiency in dialysis patients: effect of dialysis modality and implications on outcome. *J Ren Nutr,*20(6),359-367.
- Gutiérrez OM, Januzzi JL, Isakova T, Laliberte K, Smith K, Collerone G, et al. (2009). Fibroblast growth factor 23 and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease. *Circulation,* 119, p.p. 2545–2552.
- Hjelmessaeth J, Ueland T, Flyvbjerg A, Bollerslev J, Leivestad T, Jenssen T, et al.(2006). Early posttransplant serum osteoprotegerin levels predict long-term (8-year) patient survival and cardiovascular death in renal transplant patients. *J Am Soc Nephrol.*17, p.p. 1746-1754.
- Hussien YM, Shehata A, Karam RA, Alzahrani SS, Magdy H, El-Shafey AM. (2013). Polymorphism in vitamin D receptor and osteoprotegerin genes in Egyptian rheumatoid arthritis patients with and without osteoporosis. *Mol Biol Rep.* 40(5), p.p. 3675-3680.
- Isakova T, Xie H, Yang W. (2011). Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease. *JAMA.* 305, p.p. 2432–2439.

- Janda K, Krzanowski M, Chowaniec E, Kuśnierz-Cabala B, Dumnicka P, Kraśniak A, Podolec P, Sułowicz W. (2013). Osteoprotegerin as a marker of cardiovascular risk in patients on peritoneal dialysis. *Pol Arch Med Wewn*, 123(4), p.p.149-155.
- Jung CH, Lee WY, Kim SY. (2010). The relationship between coronary artery calcification score, plasma osteoprotegerin level and arterial stiffness in asymptomatic type 2 DM. *Acta Diabetol*. 47(suppl 1), p.p. S145-S152.
- Kadoglou NP, Kottas G, Lampropoulos S, Vitta I, Liapis CD. (2014). Serum levels of fetuin-A, osteoprotegerin and osteopontin in patients with coronary artery disease: effects of statin (HMGCoA-reductase inhibitor) therapy. *Clin Drug Investig*. 34(3), p.p.165-171.
- Kauppila LI, Polak JF, Cupples LA, Hannan MT, Kiel DP, Wilson PW. (1997). New indices to classify location, severity and progression of calcific lesions in the abdominal aorta: A 25-year follow-up study. *Atherosclerosis*. 132(2), p.p. 245–250.
- Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group (2009). KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl*. 113, p.p. S1-130.
- Kramer H, Berns JS, Choi MJ, Martin K, Rocco MV. (2014). 25-Hydroxyvitamin D testing and supplementation in CKD: an NKF-KDOQI controversies report. *Am J Kidney Dis*, 64(4), p.p. 499-509.
- Lim K, Lu TS, Molostvov G, Lee C, Lam FT, Zehnder D, Hsiao LL. (2012). Vascular Klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23. *Circulation*. 125(18), 2243-2255.
- Lee CT, Chua S, Hsu CY, Tsai YC, Ng HY, Kuo CC, et al. (2013). Biomarkers associated with vascular and valvular calcification in chronic hemodialysis patients. *Dis Markers*. 34(4), p.p. 229-235.
- Lee JW, Iwahashi A, Hasegawa S, Yonezawa T, Jeon WB, Cha BY, et al. (2012). Coptisine inhibits RANKL-induced NF- κ B phosphorylation in osteoclast precursors and suppresses function through the regulation of RANKL and OPG gene expression in osteoblastic cells. *J Nat Med*. 66(1), p.p. 8-16.
- Lee S, Kwak HB. (2014). Effects of interventions on adiponectin and adiponectin receptors. *J Exerc Rehabil*, 30,10(2), p.p. 60-68.

- Luo XH, Zhao LL, Yuan LQ, Wang M, Xie H, Liao EY. (2009). Development of arterial calcification in adiponectin-deficient mice: adiponectin regulates arterial calcification. *J Bone Miner Res*, 24(8), p.p.1461-1468.
- Marckmann P, Agerskov H, Thinesh Kumar S, Bladbjerg EM, Sidelmann JJ, Jespersen J, Nybo M, Rasmussen LM, Hansen D, Scholze A. (2012). Randomized controlled trial of cholecalciferol supplementation in chronic kidney disease patients with hypovitaminosis D. *Nephrol Dial Transplant*, 27, p.p. 3523–3531.
- Matsubara K, Stenvinkel P, Qureshi AR, Carrero JJ, Axelsson J, Heimbürger O, et al. (2009). Inflammation modifies the association of osteoprotegerin with mortality in chronic kidney disease. *J Nephrol*. 22(6), p.p.774-82.
- Melamed ML, Thadhani RI. (2012). Vitamin D therapy in chronic kidney disease and end stage renal disease. *Clin J Am Soc Nephrol*, 7(2), p.p. 358-65.
- Michaud J, Naud J, Ouimet D, Demers C, Petit JL, Leblond FA, et al. (2010). Reduced hepatic synthesis of calcidiol in uremia. *J Am Soc Nephrol*, 21(9), p.p.1488-1497.
- Mogelvang R, Pedersen SH, Flyvbjerg A, et al. (2012). Comparison of osteoprotegerin to traditional atherosclerotic risk factors and high-sensitivity C-reactive protein for diagnosis of atherosclerosis. *Am J Cardiol*. 109(4), p.p. 515-520.
- Nigwekar SU, Bhan I, Thadhani R. (2012). Ergocalciferol and cholecalciferol in CKD. *Am J Kidney Dis*. 60, p.p. 139–156.
- Olesen M, Skov V, Mehta M, Mumm BH, Rasmussen LM. (2012). No influence of OPG and its ligands, RANKL and TRAIL, on proliferation and regulation of the calcification process in primary human vascular smooth muscle cells. *Mol Cell Endocrinol*, 362(1-2), p.p.149-156.
- Ormsby RT, Findlay DM, Kogawa M, Anderson PH, Morris HA, Atkins GJ. (2014). Analysis of vitamin D metabolism gene expression in human bone: Evidence for autocrine control of bone remodelling. *J Steroid Biochem Mol Biol*. 144 Pt A, p.p.110-113.

- Petchey WG, Johnson DW, Isbel NM. (2011). Shining D' light on chronic kidney disease: mechanisms that may underpin the cardiovascular benefit of vitamin D. *Nephrology (Carlton)*. 16(4), p.p. 351-367.
- Pereira GB, Tibana RA, Navalta J, Sousa NM, Córdova C, Souza VC, et al. (2013). Acute effects of resistance training on cytokines and osteoprotegerin in women with metabolic syndrome. *Clin Physiol Funct Imaging*. 33(2), p.p. 122-30.
- Ramirez-Sandoval JC, Casanova I, Villar A, Gomez FE, Cruz C, Correa-Rotter R. (2016). Biomarkers Associated with Vascular Calcification in Peritoneal Dialysis. *Perit Dial Int*, 36(3), p.p. 262-8.
- Rodriguez M, Munoz-Castaneda JR, Almaden Y. (2014). Therapeutic use of calcitriol. *Curr Vasc Pharmacol*. 12(2), p.p. 294-299.
- Saab G, Young DO, Gincherman Y, Giles K, Norwood K, Coyne DW. (2007). Prevalence of vitamin D deficiency and the safety and effectiveness of monthly ergocalciferol in hemodialysis patients. *Nephron Clin Pract*. 105(3), p.p. c132-138.
- Seiler S, Reichart B, Roth D, Seibert E, Fliser D, Heine GH. (2010). FGF-23 and future cardiovascular events in patients with chronic kidney disease before initiation of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant*, 25, 3983–3989.
- Siasos G, Tousoulis D, Michalea S, Oikonomou E, Kolia C, Kioufis S, et al. (2012). Biomarkers determining cardiovascular risk in patients with kidney disease. *Curr Med Chem*. 19, p.p. 2555-2571.
- Sigrist M, Levin A, Er L. (2009). Elevated osteoprotegerin is associated with all-cause mortality in CKD stage 4 and 5 patients in addition to vascular calcification. *Nephrol Dial Transplant*. 24, p.p. 3157-3162.
- Stompór T, Krzanowski M, Kusnierz-Cabala B. (2006). Pulse wave velocity and proteins regulating vascular calcification and bone mineralization in patients treated with peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 21(12), p.p. 3605-3606.
- Stubbs JR, Idiculla A, Slusser J, Menard R, Quarles LD. (2010). Cholecalciferol supplementation alters calcitriol-responsive monocyte proteins and decreases inflammatory cytokines in ESRD. *J Am Soc Nephrol*. 21(2), p.p. 353-61.

- Suliburska J, Bogdanski P, Gajewska E, Kalmus G, Sobieska M, Samborski W. (2013). The association of insulin resistance with serum osteoprotegerin in obese adolescents. *J Physiol Biochem.* 69(4), p.p. 847-53.
- Torres del pliego E., Nogués SX. (2014). ¿Cómo utilizar la vitamina D y qué dosis de suplementación sería la más idónea para tener el mejor balance eficacia/seguridad? *Rev Osteoporos Metab Miner.* 6(Supl 1): p.p. S1-4.
- U. S. Renal Data System. (2010). *USRDS Annual Data Report: Atlas of Chronic Kidney Disease and End-Stage Renal Disease in the United States* [en línea], http://www.usrds.org/2011/pdf/v1_ch03_11.pdf
- Van Campehout A, Golledge J. (2009). Osteoprotegerin, vascular calcification and atherosclerosis. *Atherosclerosis*, 204(2), p.p. 321-329.
- Weiner D, Tabatabai S, Tighiouart H, Elsayed E, Bansal N, Griffith J, et al. (2006). Cardiovascular outcomes and all-cause mortality: exploring the interaction between CKD and cardiovascular disease. *Am. J. Kidney Dis*, 48, p.p. 392–401.
- Wolf M. (2012). Update on fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 82(7), p.p.737-47.