



**UNIVERSIDAD NACIONAL AUTÓNOMA DE MÉXICO.**

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

**INVESTIGACIÓN CLÍNICA EXPERIMENTAL EN SALUD  
CAMPO DE LA FARMACOLOGÍA CLÍNICA**

**EFFECTOS DE LA NORMALIZACIÓN DE VITAMINA D SOBRE CITOCINAS  
INFLAMATORIAS Y HORMONAS CALCITRÓPICAS EN EL PACIENTE CON  
TRASPLANTE RENAL**

**T E S I S  
QUE PARA OPTAR POR EL GRADO DE:**

**MAESTRÍA EN CIENCIAS**

**PRESENTA  
LOURDES JOSEFINA BALCÁZAR HERNÁNDEZ**

**TUTOR:  
M. EN C. VICTORIA MENDOZA ZUBIETA  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI.**

**COTUTORES:  
M. EN C. GUADALUPE VARGAS ORTEGA  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI.  
M. EN C. BALDOMERO JOSÉ GREGORIO GONZÁLEZ VIRLA.  
HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SIGLO XXI.**

**CIUDAD DE MÉXICO, AGOSTO DEL 2019**



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.

## **IDENTIFICACIÓN DE INVESTIGADORES.**

### **ALUMNO:**

Lourdes Josefina Balcázar Hernández

Número de cuenta: 304083491

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

Instituto Mexicano del Seguro Social.

Hospital de Especialidades CMN SXXI, Servicio de Endocrinología, Av. Cuauhtemoc 330, 4to piso, México D.F., CP. 06700

### **TUTOR:**

Dra. Victoria Mendoza Zubieta

Hospital de Especialidades CMN SXXI, Servicio de Endocrinología, Av. Cuauhtemoc 330, 4to piso, México D.F., CP. 06700

### **COTUTORES:**

Dra. Guadalupe Vargas Ortega

Hospital Ángeles México.

Hospital de Especialidades CMN SXXI, Servicio de Endocrinología, Av. Cuauhtemoc 330, 4to piso, México D.F., CP. 06700

Dr. Baldomero José Gregorio González Virla.

American British Cowdray Medical Center.

Hospital de Especialidades CMN SXXI, Servicio de Endocrinología, Av. Cuauhtemoc 330, 4to piso, México D.F., CP. 06700

## **AGRADECIMIENTOS**

A Dios

A mi Familia

A mis amigos

A mis tutores, maestros y guías

## ÍNDICE.

### MARCO TEÓRICO.

GENERALIDADES DEL METABOLISMO ÓSEO.	5
UNIDAD MULTICELULAR ÓSEA Y REMODELAMIENTO.	6
REGULACIÓN DEL REMODELAMIENTO ÓSEO.	9
MATRIZ EXTRACELULAR INORGÁNICA.	14
MATRIZ EXTRACELULAR ORGÁNICA.	14
METABOLISMO MINERAL ÓSEO Y HOMEOSTASIS DEL CALCIO Y FÓSFORO.	15
PTH, FGF23, KLOTHO Y SU PAPEL EN EL METABOLISMO MINERAL ÓSEO	15
PAPEL DE LA HORMONA PARATIROIDEA EN EL METABOLISMO MINERAL ÓSEO.	15
PAPEL DE FGF 23 Y LA PROTEÍNA KLOTHO EN EL METABOLISMO MINERAL ÓSEO.	18
VITAMINA D Y SU PAPEL EN EL METABOLISMO MINERAL ÓSEO.	21
VITAMINA D Y SISTEMA INMUNITARIO.	29
VITAMINA D: INSUFICIENCIA Y DEFICIENCIA.	34
ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA Y ALTERACIONES EN LA HOMEOSTASIS DEL CALCIO, FÓSFORO, VITAMINA D Y METABOLISMO ÓSEO.	36
ENFERMEDAD ÓSEA METABÓLICA EN PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL.	38
PERFIL INFLAMATORIO EN PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL.	39
DEFICIENCIA E INSUFICIENCIA DE VITAMINA D EN EL PACIENTE POST TRASPLANTE RENAL	40
TRASPLANTE RENAL EN MÉXICO.	45
PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA	47
PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN	48
JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO	48
HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN	49
OBJETIVOS	49
METODOLOGÍA.	50
TAMAÑO DE LA MUESTRA.	50
CRITERIOS DE SELECCIÓN	50
DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES	51
MATERIAL Y MÉTODOS.	55
ASPECTOS ÉTICOS	57
RECURSOS, FINANCIAMIENTO Y FACTIBILIDAD.	58
ASPECTOS DE BIOSEGURIDAD Y FARMACOVIGILANCIA	59
RESULTADOS	60
DISCUSIÓN	67
CONCLUSIONES	71
REFERENCIAS	72
ANEXOS	82

## **MARCO TEÓRICO.**

### **GENERALIDADES DEL METABOLISMO ÓSEO.**

El sistema esquelético es un órgano vital conformado por la unidad multicelular ósea, tejido conectivo especializado-mineralizado y cartílago, en cuyas funciones principales destacan: una función mecánica como soporte y sitio de inserción muscular para locomoción; una función protectora de órganos vitales y médula ósea, con apoyo para la hematopoyesis; así como una función metabólica (homeostasis mineral-ósea, equilibrio ácido-base e hidroelectrolítico), esencial para la vida. En algunas situaciones, el tejido óseo tiene la capacidad de captar una variedad de toxinas y metales, funcionando como un importante salvaguarda en procesos de intoxicación [1].

El hueso está compuesto por dos tipos de tejido: el cortical y el esponjoso. Ambos están formados por los mismos grupos celulares y elementos de matriz, existiendo diferencias estructurales y funcionales que permiten diferenciarlos. Estructuralmente, 80% a 90% del volumen del hueso compacto se encuentra calcificado vs 15% a 25% del volumen trabecular, siendo el resto ocupado por médula ósea, vasos sanguíneos y tejido conectivo. Funcionalmente, existe un predominio del hueso cortical sobre la función de sostén y locomoción y del hueso trabecular sobre los procesos metabólicos y biomecánicos.

La unidad multicelular ósea (UMO) esta formada por osteoblastos, osteocitos, osteoclastos y células de sostén. A pesar de su aspecto inerte, el hueso es un órgano altamente dinámico que es continuamente reabsorbido por osteoclastos y neoformado por osteoblastos, permitiendo el mantenimiento de la forma, calidad y cantidad del esqueleto, así como la homeostasis hidroelectrolítica, ácido-base y metabólica.

Las acciones coordinadas de osteoclastos, osteoblastos y osteocitos dentro de la UMO permiten llevar a cabo el remodelamiento óseo, un proceso de reestructuración del hueso a través de una constante formación y reabsorción celular. Los osteocitos actúan como mecanorreceptores, orquestando el proceso de remodelación ósea [2, 3], aunado al papel de la célula de revestimiento en el acoplamiento entre la resorción y formación ósea [4].

La remodelamiento óseo es un proceso altamente complejo constituido por 3 fases: 1) iniciación de la resorción ósea por osteoclastos, 2) transición (o período de reversión) de la reabsorción a la formación, y 3) formación ósea por osteoblastos [5, 6]. El remodelamiento óseo normal es necesario para la reparación de fracturas, adaptación a cambios mecánicos y homeostasis hidroelectrolítica; un desequilibrio en el remodelamiento óseo da lugar a enfermedades óseas y metabólicas [7]. El equilibrio entre la formación y resorción ósea es fundamental y depende de la acción de varios factores locales y sistémicos, incluyendo hormonas, citocinas, quimiocinas y estimulación biomecánica [8]. Estudios recientes han demostrado que el hueso influye en la actividad de otros órganos, por ejemplo, páncreas, tejido adiposo y músculo esquelético (regulación del metabolismo de los hidratos de carbono, lípidos y la producción y acción de la insulina), y a su vez, el mismo hueso es influenciado por otros órganos y sistemas, evidenciando la complejidad y la naturaleza dinámica del tejido óseo [9].

## **UNIDAD MULTICELULAR ÓSEA Y REMODELAMIENTO.**

### Osteoblastos y osteocitos.

El osteoblasto es una célula altamente especializada cuya función principal es la síntesis y secreción de la matriz orgánica. Las células precursoras mesenquimatosas pluripotenciales de la médula ósea se diferencian en diversas líneas celulares tales como osteoblastos, condrocitos, miocitos y adipocitos por efecto de factores de transcripción específicos. Diversos factores locales y sistémicos regulan estrictamente la diferenciación de la línea osteoblástica. Las proteínas morfogénicas óseas (BMPs) son los factores locales más importantes que inician la diferenciación de la célula mesenquimatosas e interactúan con otros factores para determinar el desarrollo y función del osteoblasto maduro. Los genes homeobox (Hox, Dlx, Bapx, Msx) juegan un papel en la diferenciación embrionaria de los osteoblastos y condroblastos. Algunos factores de transcripción relacionados con la maduración osteoblástica y su función enzimática son el factor A1 unido al núcleo (CBFA1), factor relacionado runt (Runx-2) y el factor de crecimiento Indian hedgehog (Ihh). Runx2 determina la expresión de genes específicos que regulan la síntesis y secreción de proteínas que participan en la síntesis de la matriz ósea (osteopontina, sialoproteína ósea, colágeno tipo 1, osteocalcina) y activan el ligando del receptor activador del factor nuclear kappa beta (NF- $\kappa$ B), conocido como RANK-L. Diversos factores del crecimiento, como el factor transformador de crecimiento (TGF) tipo

I y II, el factor de crecimiento fibroblástico ácido y básico (FGFa y b), el factor de crecimiento derivado de plaquetas (PDGF) y los factores de crecimiento tipo insulina (IGF-I e IGF-II), también están involucrados en la regulación de función de los osteoblastos [2-7].

El osteoblasto sintetiza en forma activa colágena tipo I y proteínas específicas de la matriz ósea, como fosfatasa alcalina, osteocalcina, osteopontina y la sialoproteína. Cuando los osteoblastos terminan de secretar la matriz ósea, y ésta se calcifica, concluye su actividad secretora y se transforman en osteocitos, quedando sumergidos en el hueso calcificado. Los osteocitos reciben riego sanguíneo a través de la red canalicular de los sistemas de Havers, constituyen los mecanorreceptores del hueso y envían señales a la superficie ósea para que los osteoclastos inicien el remodelado óseo [1-6]. En la superficie de los osteoblastos maduros están expresados los receptores de la paratohormona (PTH), hormona de crecimiento, y a nivel del núcleo, los receptores de esteroides sexuales, 1,25 hidroxivitamina D3 [1,25(OH)2D] o calcitriol, glucocorticoides y hormonas tiroideas. Otros receptores expresados son los de la interleucina 1 (IL-1), Interleucina 6 (IL-6), factor de necrosis tumoral (TNF- $\alpha$ ), prostaglandinas, factores de crecimiento tipo insulina y el de sus proteínas transportadoras (IGF-IGFBPs). Estas citocinas y hormonas participan en la regulación de la homeostasis del calcio y del remodelamiento óseo. Los osteoblastos y los osteocitos, liberan el ligando del receptor activador del factor nuclear kappa beta (RANKL) que es esencial para la osteoclastogénesis. Además de RANKL, los osteoblastos producen un inhibidor de la osteoclastogénesis conocido como osteoprotegerina (OPG). La OPG es un receptor soluble para RANKL que se une a éste impidiendo la interacción de RANKL con su receptor [5-10].

#### Osteoclasto y remodelamiento óseo.

El osteoclasto es una célula altamente especializada cuya función principal es la resorción ósea. Los osteoclastos son células multinucleadas que se originan de precursores hematopoyéticos de la línea monocito-macrófago. Los osteoclastos poseen un citoplasma con abundantes lisosomas, numerosas mitocondrias pleomórficas y una porción celular altamente especializada que está en contacto con el hueso. La membrana celular de esta zona presenta múltiples invaginaciones que permiten la fijación del osteoclasto al hueso a través de una integrina específica beta 3, formándose cavidades de resorción ósea conocidas como lagunas de Howship. Los osteoclastos son ricos en fosfatasa ácida, enzimas lisosómicas y anhidrasa carbónica tipo II, así mismo, poseen la bomba de



protones-ATPasa, que contribuye a crear un medio ácido en la zona de resorción ósea. Los osteoclastos secretan enzimas proteolíticas como catepsina K, cinasas e iones hidrógeno, que incrementan el pH ácido en la unidad de resorción ósea, óptimo para la acción de las enzimas proteolíticas, mismas que degradan la colágena de la matriz ósea y disuelven los cristales de hidroxapatita. Un número importante de factores locales y hormonales regulan estrictamente la diferenciación, activación, función y apoptosis de la línea celular osteoclástica.

Para la función resortiva de los osteoclastos se requiere la expresión de receptores c-src, c-fos y RANK, importantes para la síntesis de enzimas proteolíticas. El factor estimulador de colonias de macrófagos (M-CSF) es indispensable para la diferenciación de esta línea celular. El precursor osteoclástico expresa el factor de transcripción (PU-1) que participa en la activación de los linfocitos B y T; estos últimos producen las interleucinas IL-1, 6 y 11, que aumentan la actividad osteoclástica. La vía de señalización RANK-L/RANK/OPG es el sistema de regulación de la resorción ósea. RANK-L es el ligando del receptor activador del factor nuclear kappa (NF-k), una proteína o ligando que pertenece a la familia del factor de necrosis tumoral, la cual es sintetizada por los osteoblastos y los linfocitos. RANK-L se une a su receptor (denominado RANK), expresado en la membrana de los osteoclastos precursores y maduros (quiescentes). La unión del RANK-L con su receptor estimula la proliferación y diferenciación del osteoclasto e inhibe su apoptosis. La osteoprotegerina (OPG) es un receptor soluble producido por los osteoblastos y otras células estromales. La OPG actúa como un receptor señuelo al unirse al RANK-L, reduciendo importantemente la concentración del RANK-L, y de esta manera, inhibiendo la diferenciación del osteoclasto. Las hormonas que participan en la regulación de la función del osteoclasto son: PTH, calcitriol, PTH-rP (proteína relacionada con la PTH), prostaglandina E2, estrógenos, tiroxina y calcitonina [1,2,5-9].

#### Células de revestimiento óseo.

Las células de revestimiento óseo son osteoblastos quiescentes, de forma plana, las cuales cubren las superficies óseas donde no se produce ni resorción ósea ni formación ósea. [4,9,11]. Su actividad secretora depende del estado fisiológico del hueso, por lo que estas células pueden readquirir su actividad secretora, mejorar su tamaño y adoptar una apariencia cuboidal. Las funciones de las células de revestimiento óseo no se conocen completamente, pero se ha demostrado que evitan la interacción directa entre los

osteoclastos y la matriz ósea en condiciones donde la reabsorción ósea no debe ocurrir, así mismo, participan en la diferenciación osteoclástica, produciendo osteoprotegerina (OPG), la cual se une a RANKL [12-14].

## **REGULACIÓN DEL REMODELAMIENTO ÓSEO.**

El remodelamiento óseo es un proceso dinámico regulado por múltiples factores tanto sistémicos como locales. Dentro de los factores locales, destacan los cambios en la fuerza mecánica y los estímulos autocrinos y paracrinos (factores de crecimiento, citocinas, prostaglandinas y factores de la matriz ósea que se liberan durante la resorción ósea). Dentro de los factores sistémicos destacan la influencia hormonal de la hormona paratiroidea (PTH), 1,25 (OH)<sub>2</sub>D, calcitonina, hormona del crecimiento, glucocorticoides, hormonas tiroideas, hormonas sexuales y citocinas. Usualmente este ciclo está estrechamente acoplado y la cantidad de hueso nuevo formado por los osteoblastos es igual a la cantidad resorbida por los osteoclastos; la pérdida de este equilibrio condiciona enfermedad mineral ósea. [1-6, 9, 12,13].

### **Factores hormonales involucrados en el remodelamiento óseo.**

Hormona paratiroidea. La paratohormona (PTH) es secretada por las glándulas paratiroideas, siendo su función principal mantener las concentraciones normales del calcio sérico circulante. La PTH aumenta la resorción ósea, aumenta la reabsorción tubular renal del calcio y aumenta la absorción intestinal de calcio estimulando la síntesis renal de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D. Los osteoclastos, y no así los osteoblastos, expresan en su superficie celular los receptores tipo 1 de la PTH. La PTH posee un receptor acoplado a proteína G con 7 dominios transmembranales, de cuya unión resulta la modulación, secreción e interacción de factores locales que incrementan la diferenciación y activación de los osteoclastos, resultando en un incremento de la resorción ósea. La elevación persistente de las concentraciones de PTH produce un incremento de la resorción ósea, con incremento del calcio sérico y disminución de las concentraciones de fósforo. La administración intermitente produce incrementos transitorios de la PTH, inhibiendo la resorción ósea y estimulando la formación con incremento de la masa ósea, fundamento utilizado en el tratamiento de osteoporosis [1,9,13,15].

1,25-dihidroxitamina D o calcitriol. La PTH aumenta la absorción intestinal de calcio por medio de la síntesis del calcitriol, metabolito activo de la vitamina D. La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D es un potente estimulador de la resorción ósea, promoviendo la activación y diferenciación de los osteoclastos. El osteoblasto y las células linfocíticas expresan en su núcleo el receptor de la vitamina D, y no así el osteoclasto [1, 9,13,15].

Calcitonina. La calcitonina es producida principalmente en las células C o parafoliculares de la tiroides, así mismo, en otros tejidos como cerebro, tracto gastrointestinal, vejiga, timo y pulmones. El mayor estímulo para su secreción es la hipercalcemia. La calcitonina inhibe la diferenciación del osteoclasto por lo que es un potente inhibidor de la resorción ósea, reduciendo con ello las concentraciones de calcio sérico [13,15].

Hormonas tiroideas. Las hormonas tiroideas son esenciales para el crecimiento esquelético y la remodelación normal. Las hormonas tiroideas tienen una interacción positiva con IGF-1 y actúan principalmente en la formación del cartílago durante la vida embrionaria. Así mismo, estimulan la resorción ósea por incremento de la actividad del osteoclasto. [13,15,16].

Glucocorticoides. Los glucocorticoides se asocian con un incremento de la resorción ósea. Este efecto es indirecto, ya que los glucocorticoides inhiben la absorción intestinal del calcio y como consecuencia, se produce mayor secreción de PTH con mayor efecto en hueso. Así mismo, los glucocorticoides producen un incremento de la apoptosis de los osteoblastos y osteocitos, con reducción de la síntesis de la matriz ósea [17].

Esteroides gonadales. Los esteroides sexuales, estrógenos y andrógenos, son importantes en la maduración y crecimiento del esqueleto. Los esteroides gonadales previenen la pérdida ósea y disminuyen la resorción ósea por inhibición de la síntesis de citocinas osteoclastogénicas como IL-1, IL-6, IL-11, TNF- $\alpha$ , TNF- $\beta$  y M-CSF.

El estrógeno suprime la formación y la actividad de los osteoclastos e induce su apoptosis. Se ha sugerido que el estrógeno disminuye la formación de osteoclastos al inhibir la síntesis de RANKL, además, estimula la producción de osteoprotegerina (OPG), inhibiendo así la osteoclastogénesis [18,19].

Hormona de crecimiento y factores de crecimiento tipo insulina. El exceso o deficiencia de hormona de crecimiento (GH) se asocia con un incremento o una reducción del crecimiento óseo, respectivamente. La GH se une a sus receptores hepáticos y estimula la síntesis de IGF-I, el cual tiene un efecto directo en hueso. La síntesis paracrina y autocrina de IGF-I por los condrocitos en la placa de crecimiento es fundamental para el crecimiento posnatal. La GH ejerce un efecto mitogénico directo en los condrocitos de la placa de crecimiento e interactúa con los esteroides gonadales en la regulación del crecimiento [20].

Insulina. Es un importante regulador del crecimiento. En concentraciones fisiológicas, estimula la diferenciación y función osteoblástica con incremento de la síntesis de colágena y otras proteínas [11].

### **Otras moléculas involucradas en la regulación del remodelamiento óseo.**

Factor estimulador de colonias o CSF-M y GM-CSF. Los factores estimuladores de colonias de la línea monocito-macrófago y de los precursores de los osteoclastos son producidos por las células estromales de la médula ósea y resultan indispensables para la diferenciación de la línea celular osteoclástica. [1,7,9]

Prostaglandina E o PGE. Se asocia a hipercalcemia por activación de los osteoclastos; incrementa la reabsorción ósea, sobre todo en enfermedades hematológicas malignas y en procesos inflamatorios crónicos [1,5,11]

Factor transformador del crecimiento beta o TGF- $\beta$ . Es un polipéptido producido por las células estromales, osteoblastos y linfocitos B. Inhibe la diferenciación y la activación de los osteoclastos y estimula la apoptosis del osteoclasto, disminuye la resorción ósea y se relaciona con mayor formación o síntesis ósea [1,3,9].

RANK L. El ligando del factor nuclear kB (NF-kB), es un factor secretado por las células estromales, osteoblasto y células linfoides. Los precursores osteoclásticos y el osteoclasto maduro expresan el receptor (RANK); una vez que se une a su ligando, estimula la proliferación y la diferenciación del osteoclasto [1, 3, 9, 12].

## **Papel de las citocinas inflamatorias en el remodelamiento óseo.**

Interleucina 1. La interleucina 1 (IL-1) es una citocina proinflamatoria prototípica que regula una amplia variedad de funciones celulares y tisulares. Las dos formas de IL-1, IL-1 $\alpha$  e IL-1 $\beta$ , transducen señales al unirse al receptor de IL-1 tipo I (IL-1RI) con una afinidad igual, sin embargo, sus funciones son diferentes. El hueso es muy sensible a IL-1 $\beta$ , la cual regula tanto la formación ósea como la resorción. La IL-1 $\beta$ , también es conocida como “factor activador de osteoclastos”. IL-1 $\beta$  estimula la formación de osteoclastos tanto directa como indirectamente. De manera indirecta, estimula la síntesis de prostaglandina E2 en osteoblastos y células estromales (potente estímulo para la resorción ósea), aumenta la expresión de RANKL en osteoblastos y disminuye la producción de osteoprotegerina; de forma directa, estimula la producción de factor estimulante de colonias de macrófagos (M-CSF), promueve la diferenciación y maduración del osteoclasto e inhibe su apoptosis. IL-1 $\beta$  tiene un papel importante en la destrucción ósea evidenciada en condiciones patológicas como artritis reumatoide, osteoporosis e hipercalcemia maligna, sin embargo, en dichas circunstancias, se ha evidenciado un aumento tanto en las concentraciones de la misma, en la señalización de su vía o polimorfismos en su receptor, continuando sin estar claro si IL-1 es necesaria para la remodelación ósea en condiciones fisiológicas. Se ha evidenciado que IL-1 $\beta$  inhibe la osteoblastogénesis, disminuyendo así la formación ósea. Esta inhibición está modulada por MAPK, STAT, SMAD 1 (SMURF1) y SMURF2. IL-1 $\beta$  también regula positivamente la proteína 1 relacionada con Dickkop (DKK1) y la esclerostina (SOST) que regulan a la baja los osteoblastos. [1,21-23]

Interleucina 6. La interleucina 6 (IL-6) influye en la diferenciación y las actividades de los osteoblastos y los osteoclastos a través de una variedad de mecanismos complejos, a menudo contradictorios. La IL-6 se secreta en respuesta a PTH, vitamina D e IL-1. La IL-6 se une a su receptor de superficie celular (IL-6R) que consiste en una cadena  $\alpha$  de unión a IL-6 (gp80) y un transductor de señal, gp130, que se comparte entre los receptores de citocinas. Esta unión activa los miembros de la familia Janus kinasas (JAKs). [1,21].

Los osteoblastos expresan niveles bajos de IL-6R y, por lo tanto, se requiere la presencia de sIL-6R para los efectos máximos de IL-6 en estas células. Desde el punto de vista de formación ósea, IL-6 promueve la diferenciación in vitro de osteoblastos y sus

precursores, aumentar la expresión de los marcadores de osteoblastos, como la fosfatasa alcalina (ALP), la osteocalcina o la sialoproteína ósea, y mejorar la formación de nódulos óseos y la mineralización de la matriz extracelular. La activación de STAT3 mediada por IL-6 es necesaria para la proliferación y diferenciación de osteoblastos. Se ha reportado que IL-6 puede proteger ciertas células osteoblásticas de la apoptosis. Paradójicamente, también se ha demostrado un efecto inhibitorio de las citocinas de tipo IL-6, especialmente IL-6 + sIL-6R, IL-11, LIF y OSM, sobre la formación ósea y efectos pro-apoptóticos del osteoblasto. Es posible que estos efectos duales dependan de la etapa de diferenciación del osteoblasto: en las células precursoras, IL-6 estimula las primeras etapas de la diferenciación, pero en las células más maduras evita una mayor estimulación, incluso, IL-6 podría inducir un fenotipo osteocítico. Desde el punto de vista de resorción ósea, IL-6 estimula la diferenciación de los osteoclastos y la reabsorción ósea por un mecanismo indirecto al promover las interacciones entre los osteoblastos y los osteoclastos. IL-6 induce la producción osteoblástica de efectores que activan la diferenciación o actividad de los osteoclastos, como RANKL, IL-1, PTHrP y prostaglandina E2 (PGE2). Así mismo, TNF- $\alpha$ , IL-1, PTH/PTHrP y PGE2 estimulan la producción de IL-6, IL-11 y LIF por los osteoblastos, lo cual amplificar aún más la producción de factores que activan los osteoclastos. La inducción de RANKL en los osteoblastos por IL-6 es el evento clave que conduce a su acción pro-resorción [24].

Factor de necrosis tumoral alfa. IL-1 $\beta$  tiene una relación íntima con el factor de necrosis tumoral alfa (TNF- $\alpha$ ), y por ello, muchos efectos de TNF- $\alpha$  sobre la osteoclastogénesis están regulados por IL-1 $\beta$ . Por lo tanto, al igual que IL-1 $\beta$ , TNF- $\alpha$  es un potente estímulo para la resorción ósea. Se ha evidenciado de manera experimental que el bloqueo de IL-1 $\beta$  y TNF- $\alpha$  produce una inhibición total de la resorción ósea [1,21-23].

Interleucina 10. La IL-10 es una potente citocina antiinflamatoria que suprime tanto las respuestas inmunoproliferativas como las inflamatorias. Se produce principalmente a partir de células T y macrófagos activados y actúa sobre el linaje de los macrófagos. IL-10 forma parte del circuito de retroalimentación negativa, en el que suprime la liberación de citocinas inflamatorias y amortigua la respuesta inflamatoria aguda.

IL-10 tiene potentes efectos inhibitorios sobre la osteoclastogénesis, sin embargo, la base molecular de su acción es poco conocida. La IL-10 inhibe las etapas tempranas de la osteoclastogénesis, impidiendo la diferenciación de los progenitores de osteoclastos a

preosteoclastos. IL-10 inhibe indirectamente la reabsorción ósea al aumentar la expresión de la osteoprotegerina, mientras que disminuye la expresión del RANKL y el factor estimulante de colonias de macrófagos. IL-10 también inhibe directamente la formación de osteoclastos. La IL-10 es un importante supresor endógeno de la resorción ósea estimulada por la infección in vivo, y parece que los mecanismos anti-osteoclásticos inducidos por la IL-10 en el hueso son más efectivos que los mediados por la IL-4, incluso, se han reportado polimorfismos del gen promotor de IL-10 asociados con disminución de la densidad mineral ósea y osteoporosis [1,21,25].

### **MATRIZ EXTRACELULAR INORGÁNICA.**

Las proteínas colágena y no colágena constituyen 98% de la matriz orgánica. La colágena tipo I es la más abundante en el tejido óseo y la colágena tipo II lo es en el cartílago. La colágena tipo I tiene una conformación helicoidal de triple cadena unida por enlaces disulfuro. Posee una gran cantidad de aminoácidos como glicina, prolina e hidroxiprolina, que le proporcionan mayor rigidez a la triple hélice. Las proteínas no colágenas, como osteocalcina, osteonectina, osteopontina y sialoproteína ósea, participan en el proceso de mineralización de la matriz ósea. La proteína GLA u osteocalcina (proteína que contiene el ácido carboxiglutámico) es un componente de la matriz ósea y de otros tejidos no óseos que también regula la mineralización ósea. Los proteoglicanos son proteínas de bajo peso molecular presentes en el tejido óseo, los cuales pueden formar complejos con el fosfato de calcio, y probablemente participan en la mineralización ósea. Los proteoglicanos están en forma abundante en los cartílagos, y son de mayor peso molecular. Existen otras proteínas como fosfatasa alcalina, la cual es sintetizada por los fibroblastos y se relaciona positivamente con la velocidad de formación de hueso y participa iniciando la mineralización por incremento de las concentraciones de fosfato. [1,3-9].

### **MATRIZ EXTRACELULAR ORGÁNICA.**

El principal y más abundante constituyente de la matriz inorgánica es la hidroxiapatita  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$ . Los cristales de hidroxiapatita en la fase de mineralización se depositan íntimamente unidos a las fibrillas de colágena. Esta disposición estructural del

mineral y la matriz orgánica determina un producto bifásico con capacidad de resistir las fuerzas mecánicas.

Otros minerales presentes en la matriz inorgánica son carbonato, magnesio, sodio y, en menor proporción, aluminio, flúor y estroncio. En el esqueleto se encuentra 99% del calcio, 90% del fósforo, 80% del carbonato, 80% del magnesio, 60% del citrato y 35% del sodio corporal. Estos iones pueden ser almacenados y removidos del tejido óseo por efecto de las hormonas sistémicas o el pH y conservan la homeostasis intracelular y extracelular de estos iones [1,3,9].

### **METABOLISMO MINERAL ÓSEO Y HOMEOSTASIS DEL CALCIO Y FÓSFORO.**

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

### **PTH, FGF23, KLOTHO Y SU PAPEL EN EL METABOLISMO MINERAL ÓSEO**

#### **PAPEL DE LA HORMONA PARATIROIDEA EN EL METABOLISMO MINERAL ÓSEO.**

La PTH es una hormona polipeptídica de 84 aminoácidos, con un peso molecular de 9500 KDa, compuesta por un fragmento amino-terminal (1-34 aa) y otro carboxi-terminal (50-84 aa). Está codificada por un sólo gen (11p15) y es secretada por la glándula paratiroides en respuesta a la disminución de las concentraciones de calcio iónico extracelular, con una vida media “in vivo” muy corta, de 2 a 4 minutos.

La PTH es sintetizada a nivel ribosomal a partir de una molécula precursora de 115 aa, la pre-proPTH, de vida media corta (< 1 min); posteriormente es transportada al retículo endoplásmico rugoso, donde sufre la pérdida de un segmento de 25 aa en su extremo N-terminal (péptido señal) para formar la prohormona (proPTH) de 90 aa. La proPTH se dirige al aparato de Golgi, donde tiene lugar una nueva hidrólisis, generándose la hormona PTH. La PTH sintetizada se almacena en vesículas y gránulos secretorios que se



fundan con la membrana celular para su secreción en respuesta a la hipocalcemia, y es a este nivel y por la acción de las proteasas captasinas B y H, que segmentan la molécula de PTH en fragmentos más pequeños (N-truncadas y C-terminales) que pasan a la circulación. La porción C-terminal de la PTH es necesaria para un eficiente procesamiento y transporte de la hormona por el aparato secretor de la célula, y cuando falta hace que la hormona se degrade intracelularmente. En los sujetos sanos el 80 % de la PTH circulante corresponde a los fragmentos C-terminales y sólo un 20 % a PTH intacta, debido principalmente a su vida media corta. De este 20%, el 70% corresponde a la molécula completa 1-84, y el resto a fragmentos no 1-84 PTH (22 %) y a los amino-PTH (8 %).

La PTH ejerce su acción mediante la unión a receptores específicos. El PTHR1 ha sido el receptor más estudiado. Se trata de una glicoproteína de membrana con un peso molecular de 60 a 80 KDa y pertenece al grupo de receptores de membrana ligados a las proteínas G. Se expresa fundamentalmente en riñón y hueso, aunque también esta presente en tejidos como pulmón, hígado y vasos sanguíneos. Su activación es la responsable de las acciones biológicas clásicas de la PTH, además presenta gran afinidad por 1-84 PTH, 1-34 PTH y la PTHrP. El PTHR1, una vez activado, inicia una serie de procesos de transducción de señal intracelular a través de las proteincinasas A y C, que implica la activación de fosfolipasa C y adenilciclase.

La regulación de la PTH es un mecanismo complejo de retroalimentación, en el que intervienen diversos factores, siendo los más importantes calcio, fosforo y vitamina D o calcitriol. También se han descrito otros factores que modifican la síntesis y/o secreción de la PTH, como aluminio, magnesio, PTHrP, fármacos calciomiméticos, estrógenos, corticoides, citocinas (IL1, IL2, IL6), factor de crecimiento fibroblástico factores de necrosis tumoral y la osteoprotegerina.

Para la regulación de PTH mediada por la concentración de calcio iónico es indispensable la presencia del receptor sensor de calcio (CaSR), un receptor de membrana acoplado a proteínas G, el cual se expresa en diversos tejidos como paratiroides, riñón, tracto gastrointestinal, osteoblastos, cerebro y monocitos-macrófagos. Posee una región extracelular amino-terminal con gran sensibilidad a los cambios de la calcemia, que le permite modular la secreción de PTH con gran rapidez. La relación entre la secreción PTH y la concentración de calcio extracelular sigue una función sigmoidea. Un descenso en la

calcemia dentro del rango fisiológico se traduce en una gran estimulación de la secreción de PTH. Si la hipocalcemia es prolongada, además se produce un aumento de su RNA mensajero, mecanismo estimulador de la proliferación celular.

Por otra parte, a nivel de las paratiroides, la estimulación del receptor de vitamina D (VDR) por 1,25 (OH)<sub>2</sub>D regula la expresión del gen de la PTH, inhibiendo la transcripción y síntesis del RNAm del gen de la pre-proPTH. Como resultado, se produce una inhibición en la síntesis de PTH, de la proliferación de las células paratiroides e inhibición de la expresión CaSR. 1,25 (OH)<sub>2</sub>D es capaz de inhibir indirectamente la secreción de PTH aumentando la absorción de calcio en el intestino y estimulando la resorción de los depósitos óseos de calcio.

El fósforo puede regular la síntesis y secreción de PTH de manera independiente a calcio y calcitriol. La hiperfosfatemia es un potente estimulador de PTH, actuando sobre su RNAm, favoreciendo la proliferación de las células paratiroides e inhibiendo la expresión de los receptores CaSR y VDR. La restricción de fósforo disminuye las concentraciones de PTH y reduce los niveles de RNAm de la pre-proPTH.

Entre otros factores que intervienen en la regulación de la secreción de PTH se encuentra el aluminio, capaz de inhibir PTH e intervenir en la regulación de los receptores CaSR y VDR. Los fármacos calciomiméticos aumentan la sensibilidad del CaSR a calcio, disminuyendo con ello la secreción de PTH, además, ejercen un efecto directo sobre VDR, aumentando su expresión y disminuyendo por tanto la síntesis de PTH.

La PTH cuenta con acciones clásicas y no clásicas. Dentro de sus acciones clásicas, destacan las relacionadas con la regulación a nivel renal y óseo. A nivel del hueso, la PTH estimula la resorción ósea tras su unión a los receptores PTHR1 en osteoblastos y células estromales, lo que genera un aumento en la producción del RANKL (Ligando del Receptor del Activador del Factor Nuclear Kappa-B), factor de estimulación de colonias de macrófagos (M-CSF) y citocinas calciotrópicas (IL-1, IL-6, y TNF- $\alpha$ ), cuyo objetivo es reducir la producción osteoprotegerina (OPG o factor de inhibición de la osteoclastogénesis). El receptor RANK (Receptor Activador de NF-kB) se expresa en células de la estirpe macrófago-monocítica, preosteoclastos, células T y B, células dendríticas, fibroblastos y osteoclastos maduros. Su activación promueve la diferenciación

de los precursores del osteoclasto y estimulan la actividad resorptiva de los osteoclastos diferenciados maduros (osteoclastogénesis).

A nivel renal, la PTH aumenta la reabsorción de calcio y magnesio en el túbulo contorneado distal. A nivel del túbulo contorneado proximal aumenta la excreción renal de fósforo reduciendo su co-transportador Na-P (NaPi2) al aumentar su internalización y degradación lisosomal, así como disminuir su síntesis. Además, PTH activa la 1- $\alpha$  hidroxilasa que transforma a 25OHD en su forma activa, 1,25 OHVD, incrementando la reabsorción intestinal de calcio y fósforo.

Las acciones de la PTH consideradas como “no clásicas” se deben a la activación del receptor CPTHr por los fragmentos C-PTH, los cuales ejerce efectos biológicos antagónicos a los que se les atribuye a la 1-84 PTH. A nivel óseo, inhiben la resorción ósea, promueven la apoptosis del osteocito e inhiben la velocidad de remodelación ósea. Esto sugiere la posibilidad de un mecanismo fisiológico de feed-back negativo que podría frenar la salida de calcio del hueso cuando no es necesario, ejerciendo un efecto protector y regulador fisiológico de la reserva esquelética del calcio, evitando la resorción y favoreciendo la formación ósea en situación de hiper o normocalcemia, que es cuando los fragmentos C- PTH están en mayor proporción [26-30].

## **PAPEL DE FGF 23 Y LA PROTEÍNA KLOTHO EN EL METABOLISMO MINERAL ÓSEO.**

Uno de los avances más relevantes sobre metabolismo mineral fue el descubrimiento de la hormona reguladora del fosfato o factor de crecimiento fibroblástico: FGF23 (año 2000). FGF23 actúa sobre el túbulo proximal renal para disminuir la reabsorción de fosfato y suprimir la actividad de la 25-hidroxivitamina D 1- $\alpha$  hidroxilasa. FGF23 es producido principalmente por los osteocitos y pertenece a la gran familia de factores de crecimiento fibroblástico (FGF), caracterizados por sus diversos papeles biológicos en la regulación de la función, proliferación y diferenciación celular mediante la activación de receptores FGF 1-4. Aunque algunos FGF se consideran factores paracrinos, FGF23 es considerado una hormona por su mecanismo de acción.

El gen FGF23, situado en el brazo corto del cromosoma 12 (12p13.3), codifica una proteína de 251 aminoácidos que incluye un péptido señal de 24 aminoácidos. FGF23 contiene una región de homología FGF como otros miembros de la familia FGF en la porción N-terminal [31].

FGF23 produce su efecto biológico a través de su unión al complejo/receptor Klotho-FGF receptor 1c (FGFR1c). La interacción entre FGF23 y FGFR1c está mediada por la región de homología FGF de FGF23, sin embargo, es una unión débil, que requiere de la interacción FGF23, a través de una secuencia única en su extremo C, con la proteína Klotho, lo cual da especificidad por el receptor y permite llevar a cabo la acción biológica del complejo/receptor/ligando [32].

La proteína Klotho se encuentra en el cromosoma 13q12 en el ratón y el hombre. Consta de 5 exones y 4 intrones y mide más de 50 Kb. El transcrito del gen tiene un tamaño de 5.2 Kb; por splicing alternativo se obtienen 2 transcritos: la proteína transmembrana de 1012 aminoácidos y la proteína secretada de 549 aminoácidos. La proteína Klotho transmembrana funciona como un co-receptor obligado para FGF23, mientras que Klotho secretada funciona como un factor humoral independientemente de FGF23, siendo susceptible a ser detectada y medida a nivel sérico, urinario y en líquido cerebroespinal. [33,34].

La proteína Klotho secretada regula la actividad de varios canales iónicos y transportadores, de los cuales destaca el aumento de la actividad del canal de potasio ROMK1 (renal outer medullary potassium channel 1) y la inactivación del canal de calcio TRPC6 (Transient receptor potential cation channel, subfamily C, member 6) y Npt2a/c, independientemente de FGF23. Klotho secretada tiene actividad sialidasa que hidroliza el enlace  $\alpha$ -glicosídico entre ácido siálico y galactosa en los transportadores TRPV5. Los transportadores TRPV5 se expresa en la membrana apical de los túbulos distales y funcionan como la principal puerta de entrada de la reabsorción de calcio transcelular, por ello, el Klotho secretado incrementa la captación celular de calcio a través de TRPV5. Klotho secretada, también inhibe la actividad de varios factores de crecimiento, incluyendo IGF1 (insulin-like growth factor-1), Wnt y TGF $\beta$ 1 [35,36].

El gen Klotho se expresa predominantemente en riñón, principalmente a nivel de las células del túbulo distal, y en menor proporción, en células endoteliales del plexo coroideo cerebral, hipófisis, glándula paratiroidea, músculo esquelético, placenta, vejiga, colon, oído interno, nodo sinoauricular, páncreas, testículo y ovario. La activación del complejo/receptor FGF 23/Klotho permite la activación a su vez de múltiples vías de transducción de señal como PI3K/AKT, JAK/ STAT y MAPK. Este complejo receptor se expresa en tejidos como riñón, paratiroides, cerebro, músculo estriado, pulmón, mama y próstata, entre otros. Aunque los fragmentos N-terminales y C-terminales procesados no muestran actividad biológica, el FGF23 no escindido es activo [31].

Las concentraciones de fosfato se relacionan proporcionalmente con FGF23, sin embargo, los cambios en las concentraciones de FGF23 en respuesta a cambios agudos del fosfato sérico ocurren lentamente. FGF23 suprime la expresión de los cotransportadores de sodio-fosfato tipo 2a y 2c que median la reabsorción de fosfato en los túbulos proximales. FGF23 no sólo regula los niveles de fosfato y los niveles de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D a través de acciones en el túbulo proximal, sino que también aumenta la reabsorción de calcio y sodio mediante la activación del canal TRPV5 y aumentando la abundancia del cotransportador sodio-cloruro en túbulo distal. Así mismo, FGF23 disminuye la expresión de la 25-hidroxivitamina D-1a-hidroxilasa y al mismo tiempo aumenta la expresión de la 25-hidroxivitamina D-24-hidroxilasa. Por lo tanto, FGF23 reduce el fosfato sérico inhibiendo tanto la reabsorción de fosfato tubular proximal como la absorción intestinal de fosfato. Además de las concentraciones de fósforo y vitamina D, la producción de FGF23 está regulada por los genes PHEX, DMP-1 y ENPP1 [31].

No todas las acciones del FGF23 requieren la presencia de klotho. Cuando klotho se elimina de las células paratiroides in vivo, FGF23 puede disminuir la secreción de PTH [32]. Estrictamente, altas concentraciones de FGF23, como las observadas en la enfermedad renal crónica, pueden aumentar la hipertrofia cardíaca de una manera independiente de Klotho [37].

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

### **Generalidades de Vitamina D**

La vitamina D es una hormona esteroidea con un papel fundamental en la regulación del calcio, fósforo y metabolismo óseo (acciones clásicas), así mismo, es un componente importante en la regulación del sistema inmunitario (acciones no clásicas) [38].

La vitamina D<sub>2</sub> (ergocalciferol) y la vitamina D<sub>3</sub> (colecalfiferol o 25OHD) son las dos principales formas fisiológicas de la vitamina D. El término “vitamina D” generalmente hace referencia a la vitamina D<sub>3</sub> en la literatura internacional, ya sea la producida de manera endógena por la acción de la luz solar sobre la piel en la vía 7-dihidrocolesterol o a la obtenida de la dieta o suplementos de vitamina D<sub>3</sub>. Las concentraciones circulantes de 25OHD reflejan directamente el status de la vitamina D. La forma biológicamente activa de la Vitamina D es el calcitriol, 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> o 1,25OH<sub>2</sub>D, cuyas acciones dependen de su unión a VDR. La vitamina D se absorbe en el intestino delgado, siendo la bilis esencial para su absorción. La principal vía de excreción de D<sub>3</sub> es a través de la bilis. La vida media de la vitamina D es de 20 a 30 hrs, pero se almacena en depósitos adiposos por periodos prolongados [39].

### **Transporte de la Vitamina D.**

Los metabolitos de la vitamina D se transportan en la sangre ligados a la proteína de unión a la vitamina D (DBP) en un 85-88% y a albúmina en un 12-15%. Las concentraciones de DBP son normalmente 4-8mM por encima de las concentraciones de los metabolitos de la vitamina D, de tal manera que la DBP es solamente saturada en 2%. La DBP tiene alta afinidad por los metabolitos de vitamina D ( $pK_a = 5 \times 10^8 M^{-1}$  por 25OHD y 24,25OHD,  $4 \times 10^7 M^{-1}$  por 1,25 OH<sub>2</sub>D y vitamina D), de tal forma que en circunstancias normales sólo aproximadamente 0.03% de 25OHD y 24,25OHD y 0.4% de 1,25 OH<sub>2</sub>D son libres. Condiciones tales como la enfermedad hepática y el síndrome nefrótico, en las que disminuyen los niveles de DBP y albúmina, conducirán a una reducción de los niveles totales de 25OHD y 1,25 OH<sub>2</sub>D sin afectar necesariamente las concentraciones libres. Puede haber variaciones en DBP a través de polimorfismos en diversas poblaciones. DBP es una proteína de 58 kDa con 458 aminoácidos que es homóloga a albúmina y  $\alpha$ -

fetoproteína ( $\alpha$ FP) (40% de homología a nivel de nucleótidos, 23% a nivel de aminoácidos). Estos tres genes se agrupan en el cromosoma 4q11-13. Tanto la DBP como la albúmina y  $\alpha$ FP son sintetizadas principalmente, pero no exclusivamente, en el hígado, incluyendo otros sitios como riñón, testículos y tejido adiposo. Los glucocorticoides y citocinas como EGF, IL-6 y TGF- $\beta$  han demostrado que aumentan (glucocorticoides, EGF, IL-6) o disminuyen (TGF- $\beta$ ) la producción de DBP [38,39].

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

#### **Producción Cutánea de Vitamina D3.**

La irradiación de 7-dihidroxicolesterol produce pre-D3, el cual posteriormente se somete a un reordenamiento estructural dependiente de temperatura para formar D3, lumisterol y taquisterol. La formación de pre-D3 se encuentra bajo la influencia de la radiación solar o UV (máxima longitud de onda efectiva entre 290-310), siendo un proceso relativamente rápido que alcanza un máximo en cuestión de horas. Tanto el grado de pigmentación epidérmica como la intensidad de exposición se correlacionan con el tiempo requerido para alcanzar la concentración máxima de pre-D3, sin alterar el nivel máximo alcanzado. La formación de lumisterol es reversible y puede convertirse de nuevo en pre-D3. A 0° C, no se forma D3, sin embargo, a 37 ° C, pre-D3 se convierte lentamente en D3. Por lo tanto, se espera que una exposición corta a la luz solar conduzca a una producción prolongada de D3 en la piel expuesta debido a la conversión térmica lenta de pre-D3 a D3 y a la conversión de lumisterol a pre-D3. La exposición prolongada a la luz solar no produce cantidades tóxicas de D3 debido a la fotoconversión de pre-D3 a lumisterol y taquisterol, así como a la fotoconversión de D3 a los suprasteroles I y II y 5, 6 a la transvitamina D3.

La melanina en la epidermis, al absorber la irradiación UV, puede reducir la efectividad de la luz solar en la producción de D3 en la piel. Esta puede ser una razón importante para las concentraciones disminuidas de 25OHD en personal de piel oscura e hispanos que viven en latitudes templadas. La exposición a la luz solar aumenta la producción de melanina y, por tanto, proporciona otro mecanismo mediante el cual se puede prevenir el exceso de producción de D3. La intensidad de la irradiación UV también es importante para la producción eficaz de D3. La variación estacional de los niveles de 25OHD puede

ser bastante pronunciada con niveles más altos durante los meses de verano y niveles más bajos durante el invierno. La extensión de esta variación estacional depende de la latitud, y por lo tanto de la intensidad de la luz solar que incide sobre la piel expuesta. La producción pico de D3 es alrededor del mediodía y durante el verano. La ropa y protectores solares previenen la producción de D3 en las áreas cubiertas. [1,38-40]

#### Producción hepática de 25OHD.

El siguiente paso en la bioactivación de D2 y D3 es la hidroxilación a 25OHD, la cual tiene lugar en el hígado, aunque una serie de otros tejidos también expresan esta actividad enzimática. La 25 OHD proporciona el marcador clínicamente útil para determinar el estado de la vitamina D. La actividad de la 25-hidroxilasa se ha encontrado tanto en las mitocondrias hepáticas (CYP27A1 mitocondrial) como en el retículo endoplásmico (CYP2R1 microsomal).

La 25-hidroxilasa mitocondrial se conoce como CYP27A1, enzima identificada como paso crítico en la síntesis de ácidos biliares. La CYP27A1 es una enzima de alta capacidad y baja afinidad, la cual se distribuye ampliamente en diferentes tejidos, con niveles más altos en hígado y músculo, sin embargo, también localizada en riñón, intestino, pulmones, piel y hueso. CYP27A1 hidroliza la vitamina D y los compuestos relacionados en las posiciones 24, 25 y 27. D2 parece ser preferentemente 24-hidroxilada, mientras que D3 es preferentemente 25-hidroxilada. Los derivados  $1\alpha\text{OH}$  de vitamina D son más rápidamente hidroxilados que los compuestos progenitores. Estas diferencias entre D2, D3 y sus derivados pueden explicar las diferencias en la actividad biológica entre D2 y D3 o entre  $1\alpha\text{OHD}_2$  y  $1\alpha\text{OHD}_3$ . CYP2R1 25-hidroxila D2 y D3 por igual. La acción de CYP2R1 y CYP27A1 representa alrededor del 70% de la 25-hidroxilación, por lo cual existen otras 25-hidroxilasas aún no descritas [39, 40].

En general, la 25-hidroxilación en el hígado es poco afectada por el estado de vitamina D, sin embargo, la expresión de CYP27A1 en intestino y el riñón se reduce ante la presencia de  $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ . Los ácidos biliares y la insulina disminuyen la expresión de CYP27A1 a través de un mecanismo desconocido. La dexametasona aumenta la expresión de CYP27A1. La regulación de CYP2R1 ha sido menos estudiada.



### Producción renal de 1,25 (OH)2D.

La 1,25 (OH)2D es el metabolito más potente de la vitamina D y media la mayoría de sus acciones hormonales. 1,25 (OH)2D se produce a partir de la 25OHD mediante la 25OHD-1 $\alpha$  hidroxilasa (CYP27B1). La CYP27B1 posee una función mixta oxidasa mitocondrial con una homología significativa con otras hidroxilasas mitocondriales, incluyendo CYP27A1 (39%), CYP24A1 (30%), CYP11A1 (32%) y CYP11 $\beta$  (33%), sin embargo, dentro del dominio de unión a hemo la homología es mucho mayor con 73% y 65% de identidad de secuencia con CYP27A1 y CYP24A1. CYP27B1 se localizan en la membrana interna de la mitocondria y sirven como aceptor terminal de electrones transferidos de NADPH a través de ferredoxina reductasa y ferredoxina. La expresión de CYP27B1 es más alta en los queratinocitos epidérmicos, sin embargo, el riñón también expresa esta enzima en los túbulos renales, además del cerebro, placenta, testículos, intestino, pulmón, mama, macrófagos, linfocitos, glándula paratiroides, osteoblastos y condrocitos.

Los principales reguladores de la actividad del CYP27B1 en el riñón son PTH, FGF23, calcio, fosfato y 1,25 (OH)2D. La producción extrarrenal tiende a ser estimulada por citocinas como IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$  de manera más eficaz que PTH y puede ser menos inhibida por calcio, fosfato y 1,25 (OH)2D dependiendo del tejido. Aunque el promotor de CYP27B1 contiene varios elementos de respuesta AP-1 (PKC activado) y cAMP, aún no está claro cómo PTH regula la expresión génica de CYP27B1.

El calcio modula la capacidad de la PTH para aumentar la producción de 1,25 (OH)2D, además, el calcio por sí mismo puede disminuir la actividad CYP27B1 y bloquear la estimulación por PTH. La disminución de fosfato puede estimular la actividad CYP27B1 in vivo e in vitro, siendo parcialmente inhibida por GH e IGF-I. Al igual que PTH, el mecanismo exacto por el cual GH e IGF-I media los efectos del fosfato sobre la expresión de CYP27B1 no está claro. FGF23 inhibe la actividad de CYP27B1 in vivo e in vitro por mecanismo independientes del receptor de FGF 1 y 3. La regulación de la actividad de CYP27B1 por 1,25 (OH)2D parece ser debida a la estimulación de CYP24A1 y no a un efecto directo sobre CYP27B1. El complejo de remodelación de la cromatina (WINAC) media la capacidad del VDR para regular la expresión del gen CYP27B1 de una manera no clásica, permitiendo así la supresión de este gen en 1,25 (OH)2D. En este mecanismo

1,25 (OH)<sub>2</sub>D se une a VDR, estimulando a su vez otros VDR y el reclutamiento de correpresores como las metil transferasas que bloquean la transcripción de CYP27B1. Por lo tanto, la regulación renal y extrarrenal de CYP27B1 difieren [38,39,41-44].

#### Producción renal de 24,25 (OH)<sub>2</sub>D.

El riñón es el principal productor de un segundo metabolito importante de 25OHD, la 24,25 (OH)<sub>2</sub>D, 25OHD-24 hidroxilasa (CYP24A1) siendo la enzima responsable de este proceso. CYP24A1 y CYP27B1 son enzimas homólogas que coexisten en la mitocondria de los tejidos, como el túbulo renal, y se codifican en cromosomas diferentes (cromosoma 20q13 y cromosoma 12q14 para CYP24A1 y CYP27B1, respectivamente), compartiendo los mismos componentes de ferredoxina y ferredoxina reductasa, sin embargo, mientras que CYP27B1 activa la molécula madre, 25OHD, CYP24A1 inicia una serie de pasos catabólicos que conducen a su inactivación. La 24-hidroxilación de 25OHD y 1,25 (OH)<sub>2</sub>D es seguida por oxidación de 24OH a un grupo 24-ceto, 23-hidroxilación, escisión entre C23-24, y la eventual producción de ácido calcitróico, un metabolito sin actividad biológica. CYP24A1 también tiene actividad 23-hidroxilasa, iniciando etapas que conducen a la formación de lactona 23/26. Aunque CYP24A1 está altamente expresada en el túbulo renal, su distribución tisular es bastante amplia. En general, CYP24A1 se puede encontrar doquiera que se encuentre el VDR. La afinidad por 1,25 (OH)<sub>2</sub>D es mayor que la de 25OHD, haciendo de esta enzima un medio eficaz para eliminar 1,25 (OH)<sub>2</sub>D. Por lo tanto, CYP24A1 es probable que desempeñe el importante papel de proteger el cuerpo contra el exceso de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D. La regulación de CYP24A1 en el riñón es casi la imagen especular de la de CYP27B1. PTH y 1,25 (OH)<sub>2</sub>D son los reguladores dominantes, pero calcio, fosfato, insulina, FGF23, IGF-I, GH y esteroides sexuales también pueden desempeñar un papel regulador. La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D induce la expresión de CYP24A1 a través de su unión a elementos de respuesta a hormona en el promotor de CYP24A1. PTH inhibe la expresión de CYP24A1 en el riñón a diferencia de FGF23 que induce su expresión. GH e IGF-I pueden reducir la expresión de CYP24A1 [44-53].

En resumen, el metabolismo de la vitamina D incluye: 1) La producción endógena de vitamina D<sub>3</sub> por la acción de la luz solar y la vía 7-dihidrocolesterol en piel (o en su defecto, la administración exógena de D<sub>3</sub>/D<sub>2</sub> en la dieta o suplementos). 2) La conversión

de vitamina D3 a 25OHD en el hígado por la 25  $\alpha$ -hidroxilasa. 3) El transporte de vitamina D3 al túbulo contorneado proximal en riñón y su hidroxilación a 1,25 (OH)2D por la 25-hidroxitamina D3 1  $\alpha$ -hidroxilasa (CYP27B1), en un mecanismo regulado por PTH. 4) El metabolismo de la 1,25 (OH)2D a formas inactivas como 24,25 (OH)2D por la 24-hidroxilasa (CYP24) dentro de un mecanismo de contrarregulación negativo [38-53].

#### Mecanismo de acción de la vitamina D.

La vitamina D lleva a cabo sus acciones biológicas a través de vías genómicas (mediadas por receptor) y acciones no genómicas (no mediadas por receptor).

El VDR pertenece a la superfamilia de receptores nucleares (más de 150 miembros) que incluye los receptores de las hormonas esteroideas, tiroideas, vitamina A (retinoides) y una variedad de metabolitos del colesterol, ácidos biliares, isoprenoides, ácidos grasos y eicosanoides. El VDR actúa como un ligando-factor de transcripción activado, siendo 1,25 (OH)2D su ligando principal. El complejo 1,25 (OH)2D-RVD forma un heterodímero con el receptor retinoide (RXR) e induce la expresión génica dirigida al unirse a los elementos de respuesta a hormona (VDRE) en las regiones promotoras de los genes blanco. El VDR se descubrió en 1969, siendo posteriormente, clonado y secuenciado en 1987. El VDR es una molécula de aproximadamente 50-60 kDa, la cual posee un dominio N-terminal muy corto antes del dominio de unión al ADN, un dominio de unión a hormona, así como un dominio C terminal con un factor de activación [54-57].

El dominio N-terminal posee el factor activador 1 (AF-1), así como una región de unión al ADN con 2 dedos de zinc; el dedo proximal le confiere especificidad para la unión del ADN al elemento de respuesta a vitamina D mientras que el segundo dedo de zinc facilita la heterodimerización del VDR con el receptor retinoide X (RXR). La segunda mitad de la molécula contiene el dominio de unión al ligando, la región responsable de la unión de 1,25 (OH)2D al receptor, además de regiones necesarias para la heterodimerización a RXR. En el extremo C-terminal está el principal dominio de activación, AF-2, que es crítico para la unión a coactivadores y correpresores. La parte terminal del dominio AF-2 está bloqueada por la hélice 12 en presencia de ligando [58, 59]. El dominio de unión al ligando muestra un alto grado de homología estructural con otros receptores hormonales nucleares. Esta formado por un haz de 12 hélices y, tras la unión de 1,25 (OH)2D al VDR,

desencadena un movimiento sustancial de la hélice 12 permitiendo la unión de coactivadores y con ello la activación del complejo de receptor/DNA. La ausencia de la hélice 12 promueve la unión de los corepresores y evita la unión de los coactivadores.

VDR forma heterodímeros con otros receptores nucleares, en particular RXR. A diferencia del VDR, existen tres isoformas de RXR,  $\alpha$ ,  $\beta$ ,  $\gamma$ , todas con la misma capacidad de unión al VDR. RXR parece ser responsable de mantener VDR en el núcleo en ausencia de ligando. VDR también puede asociarse con otros receptores, incluyendo el receptor tiroideo (TR) y el receptor de ácido retinoico (RAR). Los heterodímeros VDR/RXR se unen a los VDRE en el DNA, en sitios conocidos como DR3 (repeticiones directas con espaciamiento de tres nucleótidos). La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D se requiere para la unión de alta afinidad y la activación de la transcripción génica.

Dentro de la regulación del VDR, los coactivadores son fundamentales para llevar a cabo las funciones del ligando receptor. Dentro de los coactivadores destaca la familia SRC conformada por tres miembros, SRC 1-3, todos los cuales pueden unirse al VDR en presencia de ligando [54-59]. Estos coactivadores reclutan coactivadores adicionales como CBP/p300 y p/CAF que tienen actividad histona acetil transferasa (HAT), enzima encargada de la activación de la cromatina permitiendo que la maquinaria transcripcional haga su trabajo. El dominio para la unión de los coactivadores al VDR y otros receptores de hormonas nucleares se denomina caja NR y tiene como motivo central LxxLL donde L representa leucina y x cualquier aminoácido. Otro grupo de coactivadores son el complejo DRIP [60]. La fosforilación del VDR también puede controlar la función VDR, además, se ha demostrado que el VDR suprime la actividad transcripcional de la  $\beta$ -catenina, mientras que la  $\beta$ -catenina mejora la del VDR. Por lo tanto, el control de la actividad VDR puede implicar diafonía entre vías de señalización que se originan en receptores en la membrana plasmática así como dentro del núcleo [61,62].

Dentro de las acciones no genómicas de la vitamina D, se ha descrito el papel de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D en la regulación de la actividad del canal de calcio y cloruro, la activación y distribución de la proteína quinasa C y la actividad de la fosfolipasa C a nivel de osteoblastos, hígado, músculo e intestino [61-66].

Un receptor de membrana putativo para 1,25 (OH)<sub>2</sub>D, conocido como 1,25 D-MARRSBP o ERp57, se ha purificado del intestino y posteriormente clonado y secuenciado, demostrándose una molécula de aproximadamente 66kDa capaz de estimular la captación de calcio y estimular la actividad de la proteína quinasa C en los condrocitos de la zona de reposo. Actualmente se apoya la existencia de otros receptor de membrana para 1,25 (OH)<sub>2</sub>D en investigación [67,68].

#### Acciones de la vitamina D.

Las acciones genómicas y no genómicas de la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D incluyen la capacidad de estimular el transporte de calcio y fósforo a través de la membrana plasmática. La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D, a nivel intestinal, estimula la entrada de calcio en la membrana del borde de cepillo a través de un gradiente electroquímico y, en gran medida a través del canal de calcio TRPV6. El transporte de calcio a través de la célula está regulado por una clase de proteínas llamadas calbindinas. La eliminación del calcio a través de la membrana basolateral requiere energía, siendo fundamental la presencia de ATP para la acción de la bomba de calcio Ca<sup>+</sup>ATPasa. La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D induce TRPV6, calbindinas, y CaATPasa ya sea por medio de acciones dependientes o no de receptor nuclear. Mecanismos similares regulan la reabsorción de calcio en el túbulo distal del riñón. Las proteínas implicadas son homólogas pero no idénticas. A nivel de hueso, el VDR se encuentran en los osteoblastos. La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D promueve la diferenciación de osteoblastos y regula la producción de proteínas como el colágeno, la fosfatasa alcalina y la osteocalcina que se considera importantes en la formación ósea. Así mismo, 1,25 (OH)<sub>2</sub>D induce RANKL, lo que permite a los osteoblastos estimular la formación y actividad de los osteoclastos. Por lo tanto, la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D regula tanto la formación ósea como la resorción ósea. Algunas pruebas sugieren que el efecto principal de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D en el hueso es proporcionar niveles adecuados de calcio y fosfato del intestino.

Las acciones no clásicas de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D incluyen la regulación de la proliferación y diferenciación celular, la regulación de la secreción hormonal y la regulación de la función inmunitaria. La capacidad de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D para inhibir la proliferación y estimular la diferenciación ha llevado al desarrollo de una serie de análogos con la esperanza de tratar trastornos proliferativos e inflamatorios sin elevar el calcio sérico. Diversos estudios sobre

enfermedades inmunológicas, inflamatorias, cáncer y crónico-degenerativas han demostrado los beneficios de la vitamina D en su evolución clínica [44,45,68,69].

## **VITAMINA D Y SISTEMA INMUNITARIO.**

El sistema inmunológico, innato y adaptativo, es una red altamente evolucionada y compleja, esencial para promover la supervivencia en un entorno lleno de patógenos potenciales, mientras mantiene la auto-tolerancia. La vitamina D<sub>3</sub>, además de sus efectos clásicos sobre la homeostasis del calcio y el hueso, desempeña un papel importante en la salud inmunológica [70].

La influencia de los metabolitos de vitamina D en el sistema inmunológico, particularmente de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D, han sido estudiados desde hace más de 30 años, con estudios iniciales de Lemire, et al y Rigby, et al [71,72]. La expresión generalizada del VDR y las enzimas metabolizadoras de vitamina D en prácticamente todas las células del sistema inmunitario innato y adaptativo, como los macrófagos, las células dendríticas y las células B y T activadas, indican un importante papel inmunomodulador de la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D. A través de la producción local de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D, estas células pueden obtener concentraciones suprafisiológicas del metabolito activo, necesarias para la modulación de la respuesta inmunitaria. Los efectos moduladores de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D se evidencian en diferentes subconjuntos celulares de los sistemas inmunitarios innatos y adaptativos [70,73]. El papel de la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D en los diferentes grupos celulares se describe a continuación.

### Neutrófilos.

Los neutrófilos representan la primera línea de defensa contra patógenos microbianos a través de mecanismos como la fagocitosis, generación de especies reactivas de oxígeno, producción de moléculas antimicrobianas biológicamente activas a partir de gránulos y liberación de trampas extracelulares de neutrófilos (NET). Los neutrófilos expresan VDR funcional, sin embargo, no parecen expresar CYP27B1 y, por lo tanto, no están sujetos a la activación autocrina de la respuesta innata mediada por 1,25 (OH)<sub>2</sub>D. Se ha demostrado que 1,25 (OH)<sub>2</sub>D exógena reduce la producción de mediadores inflamatorios y la formación de especies reactivas de oxígeno en los neutrófilos mediante la inducción del gen de la lipoxigenasa 5 y la supresión del gen de la ciclooxigenasa 2. La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D

también puede disminuir la actividad de los neutrófilos, inclusive, la actividad de NET, lo que podría tener implicaciones en la respuesta contra infecciones, desarrollo de enfermedades autoinmunes y daño tisular, así mismo, puede afectar la activación de fosfo-p38 mitógeno activado proteína cinasa (Phospho-p38 MAPK) y conducir a una disminución de la apoptosis de neutrófilos [70,73,74].

### Macrófagos.

Los macrófagos son células presentadoras de antígeno altamente fagocíticas (APC), que se suman a la primera línea de defensa innata contra patógenos. Durante las infecciones microbianas, los macrófagos son activados por moléculas asociadas a patógenos, como el lipopolisacárido, para convertirse en macrófagos M1 inflamatorios, caracterizados por la secreción de citocinas proinflamatorias e inducción de actividades antimicrobianas (proinflamatorias). Los macrófagos M2 son activados por la IL-4 e IL-13 para promover la homeostasis tisular y las actividades inmunomoduladoras (antiinflamatorios). Los macrófagos poseen la capacidad de expresión de CYP27B1, misma que no se encuentra regulada por PTH ni por FGF23. El INF- $\gamma$ , los receptores tipo Toll 1,2,4 y el correceptor CD14 pueden estimular la expresión de CYP27B1, permitiendo que el macrófago produzca localmente el metabolito bioactivo 1,25 (OH) $_2$ D. La actividad de la 1,25 (OH) $_2$ D tiene un rol importante en la diferenciación y activación de macrófagos. La IL-15, que se produce después de la activación de los monocitos humanos por TLR, regula positivamente la expresión de CYP27B1 y el VDR, lo que permite la bioconversión de 25OHD a 1,25 (OH) $_2$ D. La ausencia enzimática para la inactivación de vitamina D permitir la producción local de altas concentraciones de 1,25 (OH) $_2$ D necesarias para la modulación autoinmunitaria, hormona que induce autofagia, maduración fagosómica y producción de péptidos antimicrobianos tales como catelicidinas (por ejemplo: hCAP18/LL-37/FALL39 en humanos y CRAMP/CNLN/MCLP en ratones) y defensinas (por ejemplo, DEFB-4 y 7).

La 1,25 (OH) $_2$ D también regula la señalización de TLR, estimulando al supresor de la señalización de citocina 1 mediante la inhibición de miR-155 en macrófagos, lo que proporciona un nuevo mecanismo de retroalimentación negativa para el control de la inmunidad innata mediado por vitamina D.

La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D puede reducir la expresión superficial de moléculas coestimuladoras (como CD80 y CD86) y la producción de la citocina proinflamatoria IL-12, reduciendo con ello la capacidad del macrófago para estimular la célula T. La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D puede inhibir las funciones efectoras de los macrófagos activados por IFN- $\gamma$ , incluso, reducir la producción de mediadores proinflamatorios de M1, incluidas las citocinas proinflamatorias (IL-1 $\beta$ , IL-6, IL12p40 y TNF- $\alpha$ ) y quimiocinas (CXCL9, CXCL10, CXCL11 y CCL2). La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D puede mejorar la fagocitosis y la producción de CCL22, una quimiocina capaz de promover la tolerancia inmunitaria, sin embargo, aún no se ha demostrado que 1,25 (OH)<sub>2</sub>D module completamente la polarización de macrófagos al fenotipo M2 antiinflamatorio [70,73,74].

#### Células dendríticas.

Las células dendríticas (CD) son células presentadoras de antígenos (CPA) que examinan permanentemente el microambiente periférico y están especializados en la captación y el procesamiento de antígenos. Tras la exposición a señales inflamatorias, las CD maduran, migran a los ganglios linfáticos y presentan los antígenos capturados a las células T, activando así una respuesta inmunitaria adaptativa específica del antígeno. Las CD son cruciales para el equilibrio entre la inmunogenicidad y la tolerancia inmunitaria.

La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D es capaz de inhibir la diferenciación, maduración y capacidad inmunoestimuladora de las CD [75]. Esto resulta en una morfología, fenotipo y función alterados que se corresponden con un estado semimaduro o tolerogénico. El fenotipo tolerogénico se caracteriza por una expresión reducida de moléculas presentadoras de antígenos (p.ej.: MHC-II, CD1a) y moléculas coestimuladoras (p.ej.: CD40, CD80, CD86), una disminución considerable de citocinas proinflamatorias (p.ej.: IL-12, IL-23) y un aumento en la producción de IL-10 y TNF- $\alpha$  [70,73].

La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D promueve la expresión de varias moléculas inhibitorias de células T en la superficie de la CD, lo cual reduce la respuesta de la célula T y permite la polarización de una respuesta inflamatoria mediada por T helper (Th) 1 y Th17 (IFN- $\gamma$  e IL-17) hacia una respuesta más tolerogénica mediada por Th2 (IL-4) y células T reguladoras (Tregs; IL-10 y TGF) [70,73,74]. La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D, al disminuir la síntesis de IL-2, simultáneamente aumenta la producción de IL-10 en CD. El resultado neto es una disminución en la



respuesta celular TH1 y, probablemente, la inducción de células T reguladoras tipo 1 (Tr1) productoras de IL-10 [75]. Por último, la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D promueve la expresión del ligando 1 de muerte programada (PD-1), el cual es crucial para establecer el fenotipo de las Treg y la producción de IL-10 [70].

### Células B.

Las células B reconocen epítopos antigénicos específicos y son particularmente conocidos por la producción de anticuerpos, formación de folículos de células B con actividad del centro germinal, presentación de antígenos, producción de citocinas proinflamatorias y actividades inmunomoduladoras (Bregs). Las células B expresan VDR y CYP27B1, demostrándose un efecto directo de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D. Existe un aumento en la expresión de VDR en presencia de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D (contrarregulación positiva), no conocido aún para CYP27B1 [70,73,74].

La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D es capaz de inducir la apoptosis de la célula B, disminuir su proliferación y evitar la diferenciación a células plasmáticas productoras de Ig; así mismo, influye en la producción de anticuerpos específicos. Los efectos de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D en las células B están mediados tanto directa como indirectamente por su efecto sobre la función de las CPA y/o las células T colaboradoras (T-helper) [70,75].

La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D influye en la producción de anticuerpos específicos. Se ha evidenciado que 1,25 (OH)<sub>2</sub>D inhibe la producción de IgG estimulada por mitógenos en células B de pacientes con lupus eritematoso sistémico (LES) inactivo, sin embargo, no inhibe la producción espontánea de IgG en pacientes con LES activo. En vista de ello, es posible que las células B de memoria completamente diferenciadas y las células productoras de anticuerpos sean refractarias a la inhibición mediada por 1,25 (OH)<sub>2</sub>D. La disminución en las concentraciones de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D podría tener un papel desencadenante en la patogénesis de enfermedades autoinmunes, como LES, al liberar un freno fisiológico basal o "tónico" en la inmunidad humoral [75].

La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D inhibe la activación del linfocito T mediada por célula B, a través de mecanismos como la disminución en la expresión de CD40/CD40L. Así mismo, promueve

la expresión de CCR10, la formación de Bregs y la producción de IL-10. Las células Bregs resultan importantes en la tolerancia de la célula T autorreactiva [70,73,74].

#### Células T.

La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D es capaz de modular el comportamiento de las células T tanto de manera directa (presencia del VDR en las células T activadas) como indirecta (a través de los efectos sobre el fenotipo y la función APC). Sus efectos pueden ser vistos tanto en células T CD4<sup>+</sup> como en CD8<sup>+</sup>.

#### Células T CD4<sup>+</sup>.

Durante la activación del receptor de células T (TCR), las células T CD4<sup>+</sup> se diferencian hacia uno de los linajes de células Th, incluidas Th1, Th2, Th9, Th17 y Treg, adquiriendo funciones específicas. Tras la exposición a los diferentes estímulos de activación, se evidencia un aumento en la expresión génica de VDR y CYP27B1. Tras ello, la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D es capaz de disminuir la producción de múltiples citocinas inflamatorias como IFN- $\gamma$ , IL-9 e IL-17 por células CD4<sup>+</sup> Th1, Th9 y Th17, respectivamente, modificando así el fenotipo de la célula T y su función. [70,73,74]

En las células Th1, la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D suprime la transcripción génica de IFN- $\gamma$  e IL-2 a través de la unión de VDR-RXR a secuencias silenciadoras ubicadas en regiones promotoras [6]. Los efectos inhibitorios de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D son más pronunciados en las células T de memoria debido a una mayor expresión de VDR. [75]. En cuando a células Th17, la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D evita su diferenciación así como la producción IL-17 [70]. Este efecto probablemente está relacionado con la inhibición de la producción de IL-6 e IL-23 o la diferenciación recíproca y/o expansión de células T reguladoras (Treg) (FOXP3) + [75].

Los efectos directos de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D en células Th2 son contradictorios. Algunos informan un aumento en la producción de citocinas Th2 como IL-4 e IL5, no evidenciada en otros estudios. Así mismo, se ha evidenciado un aumento expresión de CTLA-4 al revertir los efectos inhibidores de las citocinas Th17 [70,73,74]. El resultado neto de la acción de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D en las células T es bloquear la inducción de las citocinas de células T-helper-1 (TH1), particularmente IFN- $\gamma$ , al tiempo que promueve la respuesta de las células TH2, un efecto mediado indirectamente por la disminución en la producción de IFN- $\gamma$  y directamente por el aumento en la producción de IL-4 [75].

A nivel Th9, la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D es capaz de inhibir la producción de las citocinas IL-8 e IL-9. En cuanto a Treg, la 1,25 (OH)<sub>2</sub>D puede estimular la formación de los mismos, así como el aumento en la producción de IL-10. La 1,25 (OH)<sub>2</sub>D puede regular la expresión de CCR9, CCR10, CCR5, CXCR3 y CXCR6 asociados con la inflamación, así como CD62L, CCR7 y CXCR4 (nivel ganglionar), modulando el tropismo celular para tejidos específicos. Los Treg modulados por 1,25 (OH)<sub>2</sub>D expresan niveles más altos de CTLA-4, PD-1 y CD25, con una capacidad supresora mejorada [70,73,74].

#### Células T CD8+.

Tras su activación, las células T CD8+ proliferan rápidamente y destruyen las células infectadas mediante la inducción de la apoptosis. Estas células T citotóxicas secretan citocinas como perforina, granzima B, IFN- $\gamma$  y TNF- $\alpha$ . Las células T citotóxicas CD8+ expresan niveles más altos de VDR, siendo necesaria la señalización a través de VDR para mantener la quiescencia de dicha célula. La ausencia de VDR se ha relacionado con células T citotóxicas patológicas [70,73,74].

Con lo anterior, no es sorprendente que la hipovitaminosis D aumente la susceptibilidad a infecciones bacterianas y virales y, en individuos genéticamente susceptibles, a la autoinmunidad.

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

La hipovitaminosis D se define como la disminución en las concentraciones de vitamina D en sangre, incluyendo tanto la insuficiencia como la deficiencia de vitamina D. No existe un consenso universal para la definición de hipovitaminosis D o de las concentraciones óptimas de 25OHD (la forma circulante más abundante en el organismo). Dependiendo del punto de corte (<20 o <30 ng/mL [ $<50$  o  $<75$  nmol/L]), algunos estudios demuestran que las concentraciones bajas de vitamina D se relacionan con un riesgo elevado de fracturas, limitación funcional, cáncer, diabetes, enfermedad cardiovascular, depresión, enfermedades autoinmunes y muerte [76].

La Endocrine Society define la deficiencia de vitamina D como una concentración total de 25OHD menor a 50 nmol/L (<20 ng/mL) e insuficiencia como una concentración total de 25OHD entre 52.5 y 72.5 nmol/L (21 a 29 ng/mL) [77].

El colecalciferol o vitamina D<sub>3</sub>, es la fórmula de elección para el tratamiento de pacientes con hipovitaminosis D. Diversas guías internacionales establecen la dosis de colecalciferol de acuerdo a grupos de edad, determinándose una dosis de 600 UI a 4000 UI/día en niños y menores de 18 años de edad con hipovitaminosis D y una dosis de 1500 a 10000UI/día en mayores de 18 años de edad con hipovitaminosis D, sin embargo, no existe una dosis establecida y/o estandarizada para determinada población, ya sea sana o con alguna patología relacionada.

En individuos hipovitaminosis D, se ha evidenciado un aumento en las citocinas proinflamatorias y disminución de citocinas antiinflamatorias, relacionándose estas con manifestaciones clínicas y subclínicas. Khoo et al, demostró que la disminución en las concentraciones de 25OHD durante el invierno, se correlaciona con un aumento en TNF- $\alpha$ , IL-1 $\beta$  e IFN- $\gamma$  [78].

Wortsman et al., evidenció la relación entre hipovitaminosis D y aumento en las concentraciones séricas de TNF- $\alpha$  en sujetos obesos. Estos datos indican que las citocinas pro-inflamatorias aumentan con concentraciones bajas de 25OHD durante el invierno y con la obesidad y, lo que es más importante, establecen la relevancia del tratamiento con vitamina D en sujetos con deficiencia para protección contra el daño proinflamatorio [79].

El tratamiento con vitamina D permite la normalización de las concentraciones séricas de 25OHD. A pesar de esta eficacia, existen pocos estudios que investiguen la influencia del tratamiento con vitamina D sobre las citocinas inflamatorias. En condiciones fisiopatológicas, tales como insuficiencia cardíaca congestiva, esclerosis múltiple, osteoporosis en mujeres posmenopáusicas y enfermedad renal terminal, el tratamiento con vitamina D (que oscila entre 1.000 UI/día y 50.000 UI tres veces por semana de colecalciferol o 0.5 mcg de calcitriol) aumenta las concentraciones séricas de 25OHD, disminuye la IL-1, y disminuye o permanece sin cambios TNF- $\alpha$ . En adultos sanos y con sobrepeso, el aporte de vitamina D (aproximadamente 3.332 UI/día de colecalciferol)

aumenta las concentraciones de 25OHD y disminuye las concentraciones de TNF- $\alpha$  [80,81].

A pesar de estos datos, otros estudios no han demostrado una reducción significativa en citocinas inflamatorias como TNF- $\alpha$  e INF $\gamma$  posterior al tratamiento con vitamina D, tal es el caso de Barker et al, quien demostró que las concentraciones de 25OHD con la administración de 200 y 4,000 UI/día de colecalciferol durante el invierno no influyeron en las concentraciones séricas de INF- $\gamma$ . Así mismo, Carrillo et al y Jorde et al, demostraron que el aumento de la concentración de 25OHD después de la administración de 800 y 4,000 UI/día o 20,000 y 40,000 UI/semana de colecalciferol, en sujetos con sobrepeso u obesidad, respectivamente, no disminuyó las concentraciones de TNF- $\alpha$  e INF- $\gamma$ . Estos resultados hacen necesario el aumentar el número de investigaciones en este ámbito [82,83].

### **ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA Y ALTERACIONES EN LA HOMEOSTASIS DEL CALCIO, FÓSFORO, VITAMINA D Y METABOLISMO ÓSEO.**

La enfermedad renal crónica se define de manera general como la pérdida progresiva e irreversible de la función renal por un periodo de 3 o más meses, con la consecuente disminución de la tasa de filtrado glomerular (TFG) por debajo de <60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup>.

El paciente con enfermedad renal crónica (ERC) presenta un conjunto de cambios en el metabolismo mineral óseo que tiene repercusión sistémica, dando lugar al complejo enfermedad ósea metabólica-enfermedad renal crónica (EOM-ERC) que incluye los cambios bioquímicos a nivel del eje calcitrópico, las alteraciones estructurales óseas (como la osteodistrofia renal) así como la presencia de calcificaciones vasculares o heterotópicas, condicionando un aumento en la morbimortalidad, mayor riesgo cardiovascular, disminución en la calidad de vida y empeorando el pronóstico [84].

#### Deficiencia e insuficiencia de Vitamina D en enfermedad renal crónica.

individuos con TFG menor a 30 ml/min/1.73m<sup>2</sup> presentan disminución en las concentraciones de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D debido a la disminución de la actividad de la 1- $\alpha$  hidroxilasa renal (CYP27B1). Recientemente, se ha demostrado que, además de las

células renales tubulares, CYP27B1 está presente en numerosos sitios extrarrenales, lo que permite la producción local de 1,25 (OH)D<sub>2</sub>, misma que se une a su receptor (VDR) desencadenando respuestas autocrinas y parácrinas. Se estima que aproximadamente el 85% de las concentraciones séricas de 25OHD se utilizan como sustrato para la síntesis extrarenal de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D.

La hipovitaminosis D se han relacionado con un aumento en el riesgo cardiovascular, alteraciones en la inmunidad (aumento de factores proinflamatorios y disminución de antiinflamatorios) y aumento en la morbimortalidad. Se estima que el 17% de los pacientes con ERC tienen insuficiencia de vitamina D, y aproximadamente el 80%, deficiencia. Este mismo patrón de hipovitaminosis D es observado en pacientes con trasplante renal, lo que repercute en los beneficios del mismo y aumenta la morbimortalidad [85].

Un estado inflamatorio crónico y una concentración sérica disminuida de 25OHD son muy frecuentes entre los pacientes con ERC. Existen múltiples causas relacionadas con el aumento del estado proinflamatorio en ERC, siendo la hipovitaminosis, un factor importante. El complejo EOM-ERC, aunado al estado proinflamatorio, condicionan un aumento en la morbimortalidad y empeoran el pronóstico [86].

#### FGF 23 y enfermedad renal crónica.

Los pacientes con estadios avanzados de ERC tienen concentraciones séricas elevadas de FGF23, mismas que aumentan progresivamente a medida que disminuye la función renal. La principal forma circulante esta dada por FGF23 intacta, sin embargo, algunos estudios también han informado la presencia del fragmento C-terminal de FGF23. A pesar del aumento de los niveles séricos de FGF23, los pacientes con ERC desarrollan hiperfosfatemia. FGF23, con el fin de reducir o normalizar los niveles de fosfato sérico en pacientes con ERC, puede perpetuar el desarrollo de hiperparatiroidismo secundario.

Los mecanismos del aumento en las concentraciones séricas de FGF23 en los pacientes con ERC no están claros. Se propone principalmente la disminución de la depuración renal de FGF23 y el aumento de la producción de FGF23 para contrarrestan la hiperfosfatemia. Así mismo, se propone que una elevada carga de fósforo en la dieta

eleva las concentraciones séricas de FGF23, además, la terapia con calcitriol en pacientes con ERC también podría contribuir al aumento de los niveles séricos de FGF23. Se ha evidenciado un aumento de la síntesis de FGF23 por osteocitos en etapas tempranas de ERC (Estadio K/DOQI II), tal vez en un intento de mantener la excreción de fosfato renal en el contexto de disminución de la masa renal [86]. El aumento de FGF23 en pacientes con ERC reducen la actividad de la vitamina D y, finalmente, facilitan el desarrollo de hiperparatiroidismo secundario compensatorio. En este grupo de pacientes, aunque las concentraciones de PTH son elevadas, la hormona paratiroidea no logra reducir las concentraciones de fosfato sérico; por ello, se sugiere que la elevación en las concentraciones de FGF23 sérico es un importante predictor de hiperparatiroidismo secundario en pacientes sometidos a tratamiento con diálisis.

La hiperfosfatemia es un determinante importante de la mortalidad en pacientes con ERC, independientemente de otros cambios bioquímicos asociados. Sin embargo algunos estudios han sugerido que en condiciones normofosfatémicas, la concentración de FGF23 podría ser un mejor marcador biológico para la evaluación del riesgo en pacientes con ERC. Diversos estudios han sugerido una asociación entre el aumento de FGF23 y el aumento de la mortalidad en pacientes con ERC, particularmente en aquellos que se someten a hemodiálisis. Así mismo, FGF23 se considera un factor predictor de la progresión de la ERC y desarrollo de hipertrofia ventricular izquierda [87]. La causa de esta asociación no está clara, pero algunos estudios han encontrado una correlación entre FGF23 y la alteración directa de los componentes estructurales cardiovasculares, mismos que influyen en las función cardíaca y, finalmente, en la mortalidad. Modelos animales demuestran muerte temprana y súbita vinculada a la disfunción cardíaca del nódulo sinoauricular, además, cabe mencionar las acciones de FGF23 sobre el miocardio a través de mecanismo independientes de Klotho [88].

### **ENFERMEDAD ÓSEA METABÓLICA EN PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL.**

A pesar de los múltiples efectos benéficos del trasplante, se ha evidenciado la persistencia de la enfermedad mineral ósea en receptores de trasplante renal. Se ha observado que la pérdida ósea es mayor dentro de los primeros 6 meses post trasplante, con una tasa de 14.5%, seguido de una disminución paulatina hasta los 2 años post trasplante [84]. Así mismo, se ha evidenciado la restauración de la densidad mineral ósea

dentro de los rangos pre trasplante a los 8 años post trasplante [89]. La presencia de osteoporosis se reporta en 11 a 56% de pacientes post trasplante renal a largo plazo, con un riesgo paralelo de fractura entre 5 y 44% [90]. A pesar de ello, el riesgo de fractura es menor al de pacientes con ERC en tratamiento con diálisis [91].

En el paciente post trasplante renal existe una reducción en la osteoblastogénesis, una alteración en la función y aumento en la apoptosis del osteoblasto y una alteración en la formación y mineralización ósea. Estos cambios están relacionados con: 1) la alteración del eje FGF23-PTH-Vitamina D, 2) la terapia de inmunosupresión, 3) el status óseo pre trasplante, 4) la función del injerto y 5) la hipofosfatemia. Dentro de estos factores, la hipovitaminosis D, el hiperparatiroidismo persistente y los fármacos inmunosupresores son los principales relacionados [84].

#### **PERFIL INFLAMATORIO EN PACIENTES CON TRASPLANTE RENAL.**

Las células T CD4, que desempeñan un papel fundamental en la inducción del rechazo del aloinjerto, se han clasificado según su patrón fenotípico de producción de citocinas: las células Th1 producen interleucina IL-2, IL-12 e  $INF\gamma$  y las células Th2 producen IL-4, IL-5, IL-6 e IL-10. Los perfiles de citocinas en la sangre del receptor antes del trasplante se asocian con el resultado del trasplante; se ha evidenciado que el patrón de citocinas Th1 (niveles aumentados de  $INF\gamma$ ) puede predecir el rechazo del injerto. [92]

El control inmunológico de la alorreactividad después del trasplante de órganos es de gran importancia en la práctica clínica. El paradigma Th1/Th-2, ha sido utilizado para evaluar la relación entre la respuesta celular T con el rechazo del aloinjerto o la inducción de tolerancia. Posterior al trasplante, se espera un equilibrio entre la respuesta Th-2 y la Th-1, sin embargo, diversos estudios han reportado hallazgos contradictorios. Las citocinas Th-1 han estado implicadas en el proceso de rechazo agudo. Se ha reportado un aumento en IL-2, IL-12 e  $INF\gamma$  en estados patológicos como el rechazo del aloinjerto, sin embargo, existen estudios que demuestran una reducción paradójica de IL-2, probablemente relacionado con secuestro de células productoras de Th1 en el aloinjerto renal e incluso, estados de rechazo celular agudo no relacionado con estas citocinas, por lo que los datos no son concluyentes. La IL-10 es importante para tolerancia del injerto y puede ser considerado como un marcador de la idoneidad de la inmunosupresión. En



vista de lo anterior, la inmunosupresión en los pacientes con trasplante renal tiene como meta una regulación negativa en la expresión de los genes IFN- $\gamma$ , IL-2, IL-4, IL-5 e IL-13. [92]

Tan et al, evaluó el perfil inflamatorio TH1 y TH2 antes y después del trasplante renal. Para la respuesta Th-1, no evidenciaron cambios en el patrón de expresión de IL-2 e INF $\gamma$  antes y de forma inmediata al trasplante, sin embargo, en paciente con rechazo del injerto, evidenciaron una caída significativa en la expresión de ambas citocinas en la primer semana después del trasplante, incluso, durante la terapia inmunosupresora. En cuanto a Th-2, no se evidenciaron cambios en la expresión de IL-5 e IL-13 antes y después del trasplante exitoso, sin embargo, en pacientes con rechazo agudo, IL-5 y IL-13 aumentaron significativamente con respecto al pre-trasplante. A pesar de ello, la terapia inmunosupresora revirtió el patrón. En cuanto a IL-10, en pacientes sin rechazo, se evidenció un aumento en su expresión, mostrándose sin cambios antes o después del trasplante en pacientes con rechazo [92]. El papel de las citocinas inflamatorias ha sido preferentemente evaluado en el contexto de rechazo del injerto, sin embargo, aún continúa siendo nula la información de su relación con el metabolismo mineral óseo.

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

La hipovitaminosis D, al igual que en la población general, es común en pacientes post trasplante renal, con una prevalencia de deficiencia de vitamina D del 30% e insuficiencia del 81 a 85% [93,94]. Posterior al trasplante, las concentraciones de 1,25 (OH) $_2$ D tienden a normalizarse dentro de los primeros 3 a 6 meses, sin embargo, se ha evidenciado una persistencia tanto de insuficiencia como deficiencia de 25OHD durante el seguimiento, misma que se ha relacionado con deterioro clínico y reducción de los efectos benéficos del trasplante renal [94].

Diversos estudios, como el reportado por Stavroulopoulos et al, han evidenciado la deficiencia de Vitamina D hasta en un 97% de pacientes post trasplantados de riñón antes del primer año y 94% en pacientes con más de 1 año de trasplante renal [95].

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

Diversos mecanismos se han propuesto sobre la etiopatogenia de la hipovitaminosis D, dentro de los que destacan: 1) La deficiente administración con vitamina D3 antes y después del trasplante renal. 2) Aumento del catabolismo de la 25OHD inducido por los fármacos inmunosupresores. En el caso de los glucocorticoides, existe un aumento en la expresión 25 $\alpha$ -hidroxilasa y CYP27B1, así mismo un incremento en las concentraciones de FGF23 y PTH. Los inhibidores de calcineurina (tacrolimus) y los inhibidores de mTOR tienen efectos discrepantes, con reportes de resistencia a vitamina D hasta estudios donde no se observa alteraciones en el metabolismo óseo. Otros inmunosupresores pueden aumentar el metabolismo de 25OHD por la misma vía de estimulación enzimática vista en el uso de corticoesteroides. La ciclosporina, al igual que tacrolimus, ha mostrado resistencia a vitamina D [84]. 3) Conversión acelerada de 25OHD a 1,25 (OH)<sub>2</sub>D ante elevación de PTH y FGF23, así como hipofosfatemia. Las concentraciones de FGF23 tienden a disminuir 3 meses post trasplante y normalizar a los 1-3 años [96,97]. 4) Reducción a la exposición solar para prevención de cáncer de piel [94].

### Efectos inmunológicos de la vitamina D relevantes en el paciente post trasplante renal.

Diversos estudios han demostrado que la vitamina D se relaciona con la inhibición de la proliferación de linfocito T CD4, disminución de la IL 2 e IFN- $\gamma$ , así mismo, reducción en la citotoxicidad del linfocito T CD8. Se ha evidenciado que la vitamina D mejora la producción de IL4 por CD4, siendo particularmente importante su habilidad sobre la diferenciación de Treg. [98]

La vitamina D tiene un papel definido en la producción de IL 10 y Tr1, considerándose un factor antiinflamatorio. Por otra parte, inhibe la diferenciación y la función de la célula presentadora de antígenos, induciendo "tolerogenicidad", además de permitir la maduración de células Tr1 y Treg FOXP3+, y con ello, potencializar su actividad inmunosupresora. [99]

En pacientes post trasplante, se ha evidenciado que la vitamina D disminuye la producción de IL 12, principal mediador para la diferenciación de Th1, célula asociada a rechazo del injerto. Así mismo, disminuye las concentraciones de la IL 2, una interleucina

proinflamatoria estimulada por TNF- $\alpha$ , e IL6, la cual ha sido relacionada con rechazo del injerto en pacientes con trasplante renal, utilizada inclusive como marcador pronóstico de rechazo del injerto. [100,101]

La interacción quimiocina-quimiocina receptor CXCL10-CXCR3, punto clave en la migración de la célula inflamatoria, resulta importante en el rechazo del injerto. La vitamina D disminuye la producción de CXCL 10 por la célula epitelial tubular, inhibiendo con ello la infiltración celular en el injerto y resultando un factor protector contra rechazo. [102]

En resumen, la vitamina D aumenta en diferentes proporciones la producción de citocinas Th2 (IL-4, IL-5, IL-10, IL-13), la eficacia de linfocitos Treg y disminuye la secreción de citocinas Th1 (IFN- $\gamma$ , IL-2), IL1, IL12, IL 23 y Th17 (IL 17, IL 21), mostrando un patrón de efecto antiinflamatorio.

En cuanto a sus efectos antimicrobianos, la unión de la vitamina D a VDR resulta en la secreción de péptidos antimicrobianos naturales como la catelicidina y la B-defensina 4, involucradas en la respuesta inmunitaria innata contra patógenos. [103]

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

Diversos estudios han demostrado el papel de la vitamina D en el paciente post trasplante renal, destacando la mejoría de la función cardiovascular, el efecto positivo sobre función del injerto, la prevención de infecciones, mejoría del metabolismo mineral óseo, disminución del riesgo de fracturas, control de T.A., antiproteinuria, disminución en la aparición de cáncer de novo así como disminución de la mortalidad. [104]

La enfermedad cardiovascular y la disfunción del injerto son las principales causas de mortalidad en los pacientes post trasplante renal en un 36-55% y 42% respectivamente [105]. La vitamina D se ha considerado un factor protector contra la enfermedad cardiovascular y el rechazo del injerto por sus efectos pleiotrópicos.

Keyzer et al, demostró la asociación independiente entre las concentraciones de 25OHD menores a 12 ng/dL con mortalidad en pacientes post trasplante renal [106]. Así mismo,

la hipovitaminosis D se ha asociado a disfunción del injerto y disminución acelerada de la TGF anual. No se ha evidenciado asociación entre las concentraciones de 1,25 (OH)2D y la disminución de la TFG anual post trasplante. [84]

Tomando en cuenta que la proteinuria es un parámetro importante para determinar disfunción del injerto, presentándose entre 7.5 y 45% de pacientes post trasplante, algunos estudios demuestran que la administración de vitamina D puede mejorar la supervivencia del injerto por un efecto antiproteinúrico directo. [84]

La vitamina D regula negativamente el sistema renina-angiotensina-aldosterona (RAAS) y se ha demostrado que reduce la fibrogénesis renal mediada por RAAS en un modelo de rata de nefropatía obstructiva [107,108]. Considerando estos hallazgos, la inhibición del RAAS y la reducción de la proteinuria son dos mecanismos por los cuales la vitamina D podría modificar positivamente la función del injerto.

Por otra parte, la hipovitaminosis D, se ha relacionado con un aumento en el riesgo de desarrollo de infecciones post trasplante renal, principalmente de etiología bacteriana, con una alta frecuencia de peritonitis, otitis media, colitis infecciosa, endocarditis, sinusitis, desarrollo de abscesos, infección de herida quirúrgica, celulitis y sobre todo, infección de vías urinarias. [109]

#### Tratamiento con vitamina D en el paciente post trasplante renal.

En el paciente post trasplante renal, la administración de 1,25 (OH)2D o sus análogos ha sido utilizada para la prevención de la pérdida ósea y tratamiento del hiperparatiroidismo secundario normocalcémico, sin embargo, su administración no compensa las concentraciones bajas de la 25OHD, sustrato importante de la 1 $\alpha$ -hidroxilasa (CYP27B1) a nivel renal y otros tejidos extrarrenales. [84]

El tratamiento con vitamina D aún es un tema que requiere importancia en el seguimiento del paciente post trasplante renal ya que, a pesar de la alta prevalencia de hipovitaminosis D en este grupo, no existe consenso sobre la administración de vitamina D3, siendo inclusive controversial en algunos estudios. [84, 94] Algunas guías internacionales como

KDIGO, recomiendan la repleción de 25OHD en caso de concentraciones menores a 30 ng/ml en pacientes post trasplante renal.

La dosis de administración de colecalciferol varia de acuerdo a diversos estudios y criterios. En 2005, Wissing et al, demostró que la administración de 25,000 IU de colecalciferol una vez al mes era insuficiente para la normalización de 25OHD, requiriéndose dosis más elevadas para lograr la suficiencia de vitamina D en pacientes post trasplante renal. [110]

Courbebaisse et al, en 2009, reportó que el tratamiento con dosis altas de vitamina D3 a base de 100,000 IU de colecalciferol cada 2 semanas, durante 2 meses (equivalente a 6,600 IU/día), fueron capaces de normalizar las concentraciones de 25OHD y PTH. [111]

En 2014, el mismo grupo demostró en el estudio VITALE que tanto la dosis alta (colecalciferol 100,000 UI cada 2 semanas durante 2 meses, equivalente a 6600 UI/día, con dosis de mantenimiento de 100,000UI mensuales, equivalentes a 3300UI/día) como la dosis baja (12,000 IU semanales, equivalentes a 800 IU/día durante 2 semanas, con dosis de mantenimiento de 12,000 IU mensual, equivalente a 400 IU/día) de vitamina D3, lograron la normalización de 25OHD, relacionándose con beneficios a nivel óseo, cardiovascular, disminución de rechazo a trasplante, infección pos trasplante y cáncer de novo. [112]

Benaboud S et al, estimó que la dosis de 100,000 UI una vez al mes de colecalciferol permitió la normalización de 25OHD entre 30 y 80 ng/ml durante el primer año postrasplante. [113]

Dado que el paciente post trasplante renal presenta condiciones como uso de medicamentos que modifican el metabolismo de la vitamina D, de acuerdo a las recomendaciones de la Endocrine Society, en este grupo se sugiere la administración de 6000 a 10 000 UI/día en caso de hipovitaminosis D, debiéndose continuar el monitoreo para ajustar dosis al lograr concentraciones de 25OHD >30 ng/dL. Así mismo, se recomienda la administración de 50, 000UI una vez por semana por 8 semanas, manteniendo 25OHD entre 35 y 50 ng/dL. [77]

La intoxicación por Vitamina D no ocurre si las concentraciones de 25OHD permanecen por debajo de 150 ng/ml. No hay evidencia de variación en el margen de seguridad entre los pacientes con enfermedad renal y la población general [114]. La dosis diaria de colecalciferol recomendada en la dieta es de 4,000 IU a 10,000 IU/día, misma que no afecta la concentración de calcio sérico ni urinario. [115,116]

Algunos estudios han evaluado el efecto del tratamiento con análogos de vitamina D sobre el eje calcitrópico y citocinas inflamatorias en el paciente con trasplante renal. Donate-Correa et al, demostraron que la administración de paricalcitol en pacientes con trasplante renal e hiperparatiroidismo secundario, se relacionó con una disminución significativa en las concentraciones de PTH, sin condicionar cambios en las concentraciones de calcio y fósforo. Así mismo, se demostró la reducción en las concentraciones sérica IL-6 y TNF- $\alpha$  con respecto al estado basal [29% ( $p < 0.05$ ) y 9.5% ( $p < 0.05$ ), respectivamente], así como la disminución en la expresión génica de dichas citocinas [14.1% ( $p < 0.001$ ) para IL-6 y 34.1% ( $p < 0.001$ ) para TNF- $\alpha$ ]. Al analizar la relación entre citocina proinflamatoria (IL6 y TNF- $\alpha$ ) y antiinflamatoria (IL-10), se corroboró una disminución significativa en este patrón. Estos datos orientan a que el tratamiento con análogos de vitamina D muestra un efecto favorable sobre el estado inflamatorio. [117]

## **TRASPLANTE RENAL EN MÉXICO.**

En México existen cerca de 9 millones de personas con enfermedad renal crónica en estadio K/DOQI I-IV y cerca de 130,000 con enfermedad renal crónica en estadio avanzado (K/DOQI V) bajo tratamiento sustitutivo de la función renal, ya sea diálisis peritoneal o en hemodiálisis. El tratamiento sustitutivo de la función renal puede prolongar la vida de los pacientes, sin embargo, los costos relacionados pueden llegar a ser elevados a largo plazo. El trasplante renal se considera el tratamiento de elección para los pacientes con enfermedad renal crónica avanzada debido a que ofrece una mejor evolución de la enfermedad y un menor costo dentro del ámbito de la salud.

México es uno de los países en donde más trasplantes se realizan. De acuerdo al Centro Nacional de Trasplantes (CENATRA), en México el órgano más demandado para un trasplante es el riñón.

El reporte nacional de la donación y trasplante del CENATRA publica el total de trasplantes realizados en determinado año, incluyendo el trasplante renal. Los primeros registros en México sobre trasplante renal datan de 1963, con un total de 3 trasplantes renales en dicho año. Para 1980, se reportó un total de 98 trasplantes renales/año. En 1990, se reportaron 329 trasplantes de riñón, con un aumento progresivo del número de trasplantes por año. En el 2000, se realizaron un total de 1,460 trasplantes renales; en 2010 el total fue de 2,440; en 2011, un total de 2,648; en 2012, un total de 2,729; para 2013, el total fue de 2,773; en 2014 un total de 2,697; en 2015, un total de 2,854; en 2016 un total de 3,035 y en 2017 un total de 3,175 trasplantes renales al año. En 2018, el último reporte por CENATRA al momento, se realizó un total de 3,048 trasplantes renales.

A pesar del aumento en el número de trasplantes, la cantidad de pacientes en espera de trasplante renal continúa en crecimiento, representando un desafío para el sistema de salud [118]. En 2007 existían 4 mil 584 pacientes en espera trasplante renal. En 2016, se reportó un total de 12,871 pacientes, cifra casi 3 veces mayor a la observada en la última década. En 2017 se reportó un total de 13,634 pacientes en espera de trasplante renal. Actualmente, existen más de 15 mil personas en espera de trasplante renal.

La mayoría de trasplantes renales realizados son derivados de donador vivo, siendo en menor proporción los derivados de donador fallecido. Existen diferentes establecimientos vigentes para trasplante, procuración o banco de órganos, sin embargo, el mayor número de trasplantes practicados son en instituciones de salud pública. Para 2018, los principales establecimientos para trasplante renal fueron hospitales pertenecientes al Instituto Mexicano del Seguro Social (IMSS).

El Hospital de Especialidades, CMN SXXI, representa el segundo establecimiento donde más se realizan trasplantes renales, con un total de 172 trasplantes de riñón en 2018. [118]

#### Trasplante renal y alteración del metabolismo óseo en México.

Diversos estudios han demostrado que los pacientes que han recibido un trasplante renal presentan mejoría en la sobrevida general, disminución en la frecuencia de enfermedades cardiovasculares y mejoría en la calidad de vida comparado con pacientes en tratamiento sustitutivo de la función renal [119].

Existen diversos factores que pueden alterar los beneficios sobre el riesgo cardiovascular y disminución de la morbimortalidad post trasplante, siendo los trastornos del metabolismo mineral y la hipovitaminosis D un ejemplo de ello.

En México, es conocida la hipovitaminosis D en la población general, sin embargo, existen escasos estudios epidemiológicos sobre hipovitaminosis D en pacientes con enfermedad renal crónica y nulos reportes de hipovitaminosis D en pacientes con trasplante renal. Al conjuntarse los mecanismos fisiopatológicos previamente comentados y ubicar a los pacientes post trasplantados dentro de una población con alta prevalencia de deficiencia e insuficiencia de vitamina D, se esperaría que las alteraciones del metabolismo de la vitamina D fueran frecuentes en este grupo, sin embargo, aún no se encuentran reportes en la literatura sobre aspectos epidemiológicos de la enfermedad ósea metabólica en el paciente con trasplante renal ni de los efectos del tratamiento de vitamina D sobre la misma.

## **PLANTEAMIENTO DEL PROBLEMA**

La frecuencia de enfermedad renal crónica ha ido en aumento, y con ello, el número de pacientes en espera de trasplante renal, la opción terapéutica de elección que ofrece una disminución en la morbimortalidad y mejora la sobrevida. Los pacientes con ERC, incluidos los candidatos a trasplante renal, presentan múltiples alteraciones en el metabolismo mineral óseo, incluyendo la hipovitaminosis D, así como un aumento en el estado proinflamatorio, lo cual condiciona un aumento en la morbimortalidad. La hipovitaminosis D es un trastorno metabólico frecuente en la población mexicana, esperándose por ello una alta prevalencia en pacientes con ERC y receptores de trasplante renal. El tratamiento con vitamina D3 ha demostrado disminución en la morbimortalidad, riesgo cardiovascular y estado proinflamatorio tanto en individuos aparentemente sanos como en poblaciones con patologías específicas (inmunológicas, neoplásicas, crónico-degenerativas). En la literatura universal, el tratamiento con análogos de 1,25 (OH)<sub>2</sub>D ha sido ampliamente estudiado en pacientes con nefropatía crónica, sin embargo, existen pocos estudios sobre los efectos del tratamiento con vitamina D3 en este grupo de pacientes, siendo aún más escasos en receptores de trasplante renal. En México, no existen estudios sobre deficiencia e insuficiencia de vitamina D en pacientes



post operados de trasplante renal, así mismo, no existen estudios que describan el efecto de la normalización de vitamina D sobre el metabolismo mineral óseo y citocinas inflamatorias calciotrópicas tras el tratamiento con colecalciferol.

## **PREGUNTAS DE INVESTIGACIÓN**

### **Pregunta principal**

¿Cuál es el efecto de la normalización de vitamina D sobre citocinas inflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-10) y hormonas calciotrópicas en pacientes receptores de trasplante renal tratados con colecalciferol por hipovitaminosis D?

### **Preguntas secundarias**

- ¿Cuáles son los cambios en el eje calciotrópico después del trasplante renal con respecto al estado pre trasplante.
- ¿Cuál es la dosis de colecalciferol requerida para la normalización de vitamina D en pacientes receptores de trasplante renal con hipovitaminosis D?
- ¿Existe relación entre hormonas y citocinas inflamatorias calciotrópicas antes y después de la normalización de vitamina D?
- ¿Cuál es la frecuencia de reacciones adversas medicamentosas o sospecha de las mismas durante el tratamiento con colecalciferol en pacientes receptores de trasplante renal?

## **JUSTIFICACIÓN DEL PROYECTO**

En la clínica de metabolismo óseo y mineral del Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, se atiende a más de 100 pacientes receptores de trasplante renal. La mayoría de pacientes atendidos en la clínica presentan alteraciones en el metabolismo mineral óseo tales como hiperparatiroidismo secundario y terciario, osteopenia u osteoporosis, osteomalacia, así como hipovitaminosis D, relacionándose con una alta morbilidad, lo cual aumenta los costos en salud y limita los beneficios del trasplante renal. El tratamiento con colecalciferol es de bajo costo, accesible e ideal para la normalización en las concentraciones de 25OHD. El uso de calcitriol es un recurso disponible en la institución y es el principal aporte de vitamina D en pacientes con ERC debido a la disminución en la alfa hidroxilación renal, sin embargo, posterior al trasplante,

se evidencia una mejoría de la función renal y optimización de la alfa hidroxilación, por lo que, en este grupo, el tratamiento más conveniente es colecalciferol. Se ha demostrado que el tratamiento con colecalciferol mejora la calidad del hueso y promueve la disminución de citocinas proinflamatorias en paciente no nefrópatas y nefrópatas, incluyendo aquellas citocinas calciotrópicas como TNF- $\alpha$ , IL-1 e IL-6, además del aumento de citocinas antiinflamatorias, como IL10. En nuestra población no existen estudios relacionados con este tema. El conocer los efectos de la normalización de Vitamina D sobre citocinas proinflamatorias y hormonas calciotrópicas en pacientes receptores trasplante renal tratados con colecalciferol, permitirá emplear los recursos en materia de salud de manera más adecuada, optimizar el manejo del paciente con trasplante renal y mejorar su pronóstico.

## **HIPÓTESIS DE INVESTIGACIÓN**

La normalización de la vitamina D:

- Disminuye las concentraciones de citocinas calciotrópicas proinflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6) y PTH
- Normaliza las concentraciones de calcio y
- Aumenta las concentraciones de IL10

en pacientes receptores de trasplante renal tratados con colecalciferol por hipovitaminosis D.

## **OBJETIVOS**

### **OBJETIVO GENERAL**

Identificar el efecto de la normalización de la vitamina D sobre citocinas inflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-10) y hormonas calciotrópicas en pacientes receptores trasplante renal tratados con colecalciferol por hipovitaminosis D

### **OBJETIVOS ESPECÍFICOS**

- Identificar los cambios en el eje calciotrópico después trasplante renal con respecto al estado pre trasplante.
- Describir la dosis de colecalciferol requerida para la normalización de vitamina D en pacientes receptores de trasplante renal con hipovitaminosis D.

- Identificar la relación entre hormonas y citocinas inflamatorias calciotrópicas antes y después de la normalización de vitamina D.
- Identificar la frecuencia de reacciones adversas medicamentosas o sospecha de las mismas durante el tratamiento con colecalciferol en pacientes receptores trasplante renal.

## **METODOLOGÍA.**

### **TAMAÑO DE LA MUESTRA.**

Tamaño de muestra estimado de acuerdo a comparación de proporciones:

$p_1 = 0.68$ ,  $p_2 = 0.14$ , donde  $p$  es la proporción de la población asumida.

$\alpha = 0.0500$  (dos colas)

poder = 0.9000                       $p$  alterna = 0.1500

Tamaño de muestra estimado:       $n = 19$

Nefrología 2017;37(6):622–629

### **CRITERIOS DE SELECCIÓN**

Criterios de inclusión:

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

Criterios de no inclusión:

- Pacientes en los que no se pueda realizar la supervisión del tratamiento con colecalciferol

- Pacientes post operados de trasplante renal por nefropatía crónica de causa secundaria (enfermedad autoinmune, nefropatía diabética, nefropatía hipertensiva)
- Pacientes con diabetes mellitus, hepatopatía, enfermedad reumatológica, cardiopatía isquémica, insuficiencia cardiaca, procesos infecciosos activos, enfermedades linfoproliferativas, infiltrativas o neoplasias conocidas previamente al inicio del estudio
- Pacientes con hipersensibilidad al fármaco.
- Pacientes con hipercalcemia y/o hiperfosfatemia

Criterios de eliminación:

- Pacientes que no cumplan con el tratamiento con colecalciferol (inadecuado apego al tratamiento)
- Pacientes que no normalicen las concentraciones de 25OHD a pesar de adecuado apego al tratamiento
- Pacientes cuyas muestras sanguíneas no sean útiles para la determinación de las citocinas y hormonas calciotrópicas.
- Pacientes que decidan abandonar el estudio.
- Pacientes que presenten reacciones adversas o sospecha de las mismas.

## DEFINICIÓN DE LAS VARIABLES

Variable	Tipo	Definición conceptual	Definición operacional	Escala medición	Fuente de información
Edad	Cuantitativa continua	Tiempo en años a partir del nacimiento	Tiempo en años a partir del nacimiento	Años	Expediente clínico
Género	Cualitativa Nominal dicotómica	Característica biológica que permite clasificar a los seres humanos en hombres o mujeres	sexo: masculino o femenino	0=hombre 1= mujer	Expediente clínico
TNF- $\alpha$	Cuantitativa Continua	Citocina proinflamatoria perteneciente a la superfamilia de factores de necrosis tumoral,	Cantidad de citocina proinflamatoria TNF- $\alpha$ medida en suero antes y después del	pg/mL	Expediente clínico

		<p>involucrada en la regulación de la proliferación celular, diferenciación, apoptosis, metabolismo óseo, metabolismo de lípidos y coagulación, cuya acción es mediada por receptores TNFRSF1A/TNFR1 y TNFRSF1B/TNFR2.</p>	<p>tratamiento con colecalciferol en receptores de trasplante renal.</p>		
IL-1	Cuantitativa Continua	<p>Es una citocina producida por múltiples estirpes celulares, principalmente por macrófagos activados. Se produce en grandes cantidades como respuesta a infecciones o cualquier tipo de lesión o estrés.</p>	<p>Cantidad de citocina proinflamatoria IL-1 medida en suero antes y después del tratamiento con colecalciferol en receptores de trasplante renal.</p>	pg/mL	Expediente clínico
IL-6	Cuantitativa Continua	<p>Es una glucoproteína secretada por los macrófagos, células T, células endoteliales y fibroblastos. Localizado en el cromosoma 7, su liberación está inducida por la IL-1 y se incrementa en respuesta a TNF-<math>\alpha</math>. Es una citocina con actividad antiinflamatoria y proinflamatoria.</p>	<p>Cantidad de citocina proinflamatoria IL-6 medida en suero antes y después del tratamiento con colecalciferol en receptores de trasplante renal.</p>	pg/mL	Expediente clínico

IL-10	Cuantitativa Continua	La IL-10 es una importante citocina inmunorreguladora que actúa en las células presentadoras de antígeno mediante la inhibición tanto de la síntesis de citocinas como de moléculas co-estimuladoras y moléculas HLA clase II.	Cantidad de citocina antiinflamatoria IL-10 medida en suero antes y después del tratamiento con colecalciferol en receptores de trasplante renal.	pg/mL	Expediente clínico
PTH	Cuantitativa Continua	Hormona peptídica producida por la glándula paratiroides, la cual, tras la unión a su receptor, PTH1R principalmente, promueve la resorción ósea, la reabsorción de calcio a nivel renal y la 1- $\alpha$ hidroxilación con el fin de mantener la homeostasis del calcio	Cifra de hormona paratiroidea sérica biológicamente activa de 48 aminoácidos, con amino y carboxiterminal, medida antes del trasplante renal, después del trasplante y después del tratamiento con colecalciferol	pg/mL	Expediente clínico
25OHD (Vitamina D3)	Cuantitativa Continua	Hormona esteroidea importante en el metabolismo óseo y acciones pleiotrópicas sistémicas que condicionan funciones no clásicas. En el riñón, la 25-hidroxi vitamina D se transforma en una forma activa de la vitamina, la cual ayuda a controlar los niveles de fosfato y de	Concentración sérica de vitamina D medida en suero antes y después del tratamiento con colecalciferol en receptores de trasplante renal. Se determina su status en: 0=suficiente o normal (>30 ng/mL)	ng/mL	Expediente clínico

		calcio en el cuerpo.	1=insuficiente (<30->20 ng/mL) 2=deficiente (<20 ng/dL)		
Calcio	Cuantitativa Continua	Elemento químico o ión, metal blando, presente de manera libre o precipitado, que actúa como cofactor u hormona (unión a su receptor CaSR), necesario para el metabolismo mineral óseo, coagulación, metabolismo de hidratos de carbono, lípidos, proteínas, neurotransmisión y contracción muscular, entre otras funciones.	Cantidad de ión calcio medida antes del trasplante renal, después del trasplante y después del tratamiento con colecalciferol	mg/dL	Expediente clínico
Fósforo	Cuantitativa Continua	Macromineral, importante para la formación ósea, , metabolismo de lípidos, proteínas e hidratos de carbono, formación de membranas, contracción muscular, función cardiovascular, neurotransmisión, entre otras funciones.	Cantidad de ión medida antes del trasplante renal, después del trasplante y después del tratamiento con colecalciferol	mg/dL	Expediente clínico
Magnesio	Cuantitativa Continua	Elemento químico o ión, mineral, importante en la inhibición de la secreción de PTH, contracción	Cantidad de ión medida antes del trasplante renal, después del trasplante	mg/dL	Expediente clínico

		muscular, neurotransmisión, sistema inmunitario, cardiovascular, entre otras funciones	y después del tratamiento con colecalciferol		
Fosfatasa alcalina	Cuantitativa Continua	Proteína sintetizada por fibroblastos, relacionada con la velocidad de formación ósea. Promueve el inicio de la mineralización por incremento de las concentraciones de fosfato.	Cantidad en sangre de fosfatasa alcalina total utilizada como marcador de recambio óseo, medida antes del trasplante renal, después del trasplante y después del tratamiento con colecalciferol	U/dL	Expediente clínico
Esquema de inmunosupresión	Cuantitativa Continua	Combinación de fármacos utilizados para lograr la inmunomodulación e inmunosupresión en pacientes receptores de trasplante renal	Dosis administrada de prednisona, tacrolimus y micofenolato durante el seguimiento de los pacientes receptores de trasplante renal	mg/día	Expediente clínico
Dosis para normalización	Cuantitativa Continua	Dosis de colecalciferol administrada a pacientes receptores de trasplante renal con hipovitaminosis D para lograr la normalización de las concentraciones de vitamina D en sangre	Dosis de colecalciferol administrada al paciente con la que se logran concentraciones de 25OHD >30 ng/mL	UI/día	Expediente clínico

## MATERIAL Y MÉTODOS.

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

- Por finalidad del estudio: Analítico



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

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

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

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

#### DESCRIPCIÓN DEL ESTUDIO

Al inicio del estudio, se derivó a la clínica de metabolismo mineral óseo del servicio de Endocrinología a todos los pacientes post operados de trasplante renal con evolución mayor a 1 mes y menor a 1 año para valoración del eje calcitropic. Se invitó a participar a aquellos que cumplieron con los criterios de inclusión, previa explicación clara y precisa de aspectos generales, objetivos, beneficios y riesgos del estudio. Previo consentimiento informado, se realizó la evaluación clínica y toma de muestra de sangre para obtención del suero requerido para medición de citocinas inflamatorias y eje calcitropic. Las características clínica y bioquímicas obtenidas se determinaron como “estado basal post trasplante renal” (tiempo 0). Posteriormente, se administró colecalciferol a dosis inicial de 4000UI /día, de acuerdo a recomendaciones internacionales. Se realizó la medición del eje calcitropic mensualmente hasta corroborarse la normalización de 25OHD (>30 ng/mL). Al momento de la normalización, se realizó nueva toma de muestra sanguínea para obtención del suero requerido para medición de citocinas inflamatorias, así mismo, se realizó la medición del eje calcitropic. Las características clínica y bioquímicas obtenidas en dicho momento se determinaron como “estado a la normalización de vitamina D” (tiempo 1).

## MÉTODO DE MEDICIÓN.

### Obtención de material biológico

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

### Análisis bioquímico.

La determinación de calcio, fósforo, magnesio, urea, creatinina, fosfatasa alcalina y albúmina se realizó en un analizador automatizado Architect-ci8200 (Abbott Diagnostics, Abbott Park, Illinois). La medición de las concentraciones de PTH intacta se llevó a cabo por medio de quimioluminiscencia específica (DiaSorin Inc., Stillwater, Minesota) con una sensibilidad de 1 pg / mL, coeficientes de variación (CV) inter e intraensayo de 5.3% y 3.5%, respectivamente, con un rango de referencia de 15-65 pg/mL). Para la medición de 25OHD en suero se utilizó quimioluminiscencia (DiaSorin Inc., Stillwater, Minnesota) con una sensibilidad de 4 ng/ml y CV inter e intraensayos de 5.1% y 8.6%, respectivamente. La medición de las citocinas inflamatorias (TNF- $\alpha$ , IL-1, IL-6, IL-10) se llevo a cabo por citometría de flujo, utilizándose el citómetro FACS ARIA IIu (BD TM Biosciences, San Jose, CA, EEUU) y el kit BDTM Cytometric Bead Array (CBA) Human Inflammatory Cytokines Kit. La biopreservación de las muestras fue de 6 meses después de finalizar el estudio, esto en caso de requerirse mediciones subsecuentes.

## ANÁLISIS ESTADÍSTICO.

En el análisis descriptivo, se utilizaron frecuencias y proporciones para las variables cualitativas y medidas de tendencia central y dispersión para variables cuantitativas (de acuerdo a la distribución de las variables: media  $\pm$  desviación estándar en paramétricas o mediana y rango intercuantílico en no paramétricas). Se utilizó la prueba de shapiro wilk para contraste de normalidad. Para la comparación antes y después, se utilizó prueba t o prueba de wilcoxon de acuerdo a la distribución de las variables. Para establecer correlación entre las variables, se utilizó el coeficiente de correlación de pearson o spearman, de acuerdo al tipo de variable. Se utilizó regresión lineal para evaluar la

relación entre las variables; se realizó transformación logarítmica de variables no paramétricas para inclusión en el modelo de regresión lineal. Se consideró un valor de  $p < 0.05$  como estadísticamente significativo. Se utilizó el paquete estadístico SPSS v.20 y STATA v.13 para el análisis.

## **ASPECTOS ÉTICOS**

El presente estudio requirió la administración de un medicamento a los pacientes (colecalfiferol), por lo que se consideró una intervención con riesgo mayor al mínimo. El estudio se realizó según los estatutos internos del comité de Ética del HECMNSXXI, la Ley General de Salud y las recomendaciones de la Declaración de Helsinki, así como las recomendaciones internacionales para la realización de ensayos clínicos (CONSORT). Se mantuvo estrecho apego a lo establecido en la NOM-012-SSA3-2012 para la ejecución de proyectos de investigación en seres humanos y NOM-220-SSA1-2016 para la instalación y operación de la farmacovigilancia.

Antes de cualquier maniobra de investigación, a todos los pacientes se les solicitó su autorización para participar en el estudio mediante una carta de consentimiento informado, de la cual recibieron una copia original. Se explicó a cada uno de los pacientes la relevancia del estudio, las expectativas y los beneficios del protocolo. Se mantuvo completa discreción sobre la identidad de los participantes así como la confidencialidad de los resultados con la libertad de retirarse del estudio en cuanto el participante lo deseó. El tratamiento y atención en el instituto no se vieron afectados en casos de NO aceptación a participar en el estudio. Se informó sobre datos de alarma relacionados con reacciones adversas medicamentosas o sospecha de las mismas por la administración de colecalfiferol, fármacos del esquema de inmunosupresión y tratamiento sintomático, con cita abierta a atención hospitalaria. Se mantuvo estrecha vigilancia y contacto paciente-investigador.

El estudio se sometió a revisión por el Comité Local de Investigación y Ética en Investigación en Salud 3601 con número de registro 17 CI09015034 ante COFEPRIS, Hospital de Especialidades CMN SXXI, Dr. Bernardo Sepúlveda Gutiérrez, Instituto Mexicano del Seguro Social. El presente protocolo fue aprobado con número de registro: R-2017-3601-204. No hubo remuneración económica para los participantes.

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

En el Hospital de Especialidades del Centro Médico Nacional Siglo XXI, IMSS se tiene un registro de más de 200 pacientes con trasplante renal en seguimiento. Frecuentemente estos pacientes son enviados para valoración metabólica ósea o cardiovascular al servicio de endocrinología, donde se cuenta con la clínica de metabolismo mineral óseo, constituida por médicos especialistas y residentes en formación. En el Hospital de Especialidades CMNSXXI se contó con recursos humanos y de infraestructura para realizar todos los procedimientos diagnósticos, terapéuticos y de vigilancia requeridos para el desarrollo de este protocolo de investigación.

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

El colecalciferol o Vitamina D3 se ha utilizado desde hace más de 10 años en la Clínica de Metabolismo óseo y calcio para el tratamiento de pacientes con hipovitaminosis D. Colecalciferol es considerado en la Ley General de Salud como un medicamento del grupo IV (medicamentos que para adquirirse requieren receta médica, pero que pueden resurtirse tantas veces como lo indique el médico que prescriba) con número de registro 001V2015 SSA IV.

La dosis utilizada fue una dosis estándar cuya tolerancia ha sido estudiada y reportada en otros estudios. De acuerdo a guías de práctica clínica internacionales, se estableció la administración de 4000 a 5000 UI/día de colecalciferol. Se ha referido una baja frecuencia de reacciones adversas en la literatura tras la administración de vitamina D3 (hipercalcemia, anorexia, cefalea, vómitos y diarrea en pacientes con administración excesiva y prolongada), sin embargo, como en cualquier terapéutica farmacológica, se establecieron las medidas de farmacovigilancia de acuerdo a las leyes establecidas en nuestro país. Se consideró el uso algoritmos de causalidad (naranja), así como los necesarios para la clasificación del grado de intensidad en caso de eventos adversos, sospechas y reacciones adversas medicamentosas. Todo procedimiento, así como posibles ventajas y probables efectos secundarios de los tratamientos fueron informados por el investigador ante el comité de ética. Los resultados y la evolución del paciente fueron comentados ante solicitud del paciente.

El desarrollo del protocolo se llevó a cabo en estricto apego a la NOM-220-SSA1-2016 para la instalación y operación de la farmacovigilancia.

## RESULTADOS

Se incluyó un total de 22 pacientes receptores de trasplante renal e hipovitaminosis D que lograron la normalización de 25 OHD. El 50% (n=11) fueron mujeres; la edad fue de 30.31±8.21 años. Las características generales de los pacientes incluidos en el estudio se resumen en la Tabla 1.

Tabla 1. Características generales de los pacientes receptores de trasplante renal con hipovitaminosis D	
Género; %(n=)	Mujer: 50 (11) Hombres: 50 (11)
Edad (años); X±DS	30.31±8.21
Etnia; (n=)	Latinos (24)
IMC (kg/m <sup>2</sup> ); M(RIC)	21.98 (19.95-24.65)
Tabaquismo; %(n=)	Antes del trasplante renal: 22.7 (5) Después del trasplante renal: 0
Consumo de alcohol; %(n=)	Antes del trasplante renal: 22.7 (5) Después del trasplante renal: 0
Etiología de Enfermedad Renal Crónica; %(n=)	Hipoplasia renal: 50 (11) Idiopática: 31.8 (7) Glomerulonefritis (Membranosa, proliferativa, focal y segmentaria): 13 (3) Cistinosis: 4.5 (1)
Estadio según clasificación KDIGO; %(n=)	Estadio 4: 4.5 (1) Estadio 5: 95.5 (21)
Tratamiento sustitutivo de la función renal antes del trasplante; %(n=)	95.5 (21)
Tipo de tratamiento sustitutivo de la función renal antes del trasplante; %(n=)	Diálisis peritoneal: 52.4 (11) Hemodiálisis: 14.3 (3) Diálisis peritoneal antes previa a hemodiálisis: 33.3 (7)
Tiempo de evolución de ERC pre trasplante renal (años); M(RIC)	3 (1-9)

Tipo de trasplante renal; %(n=)	Donador vivo relacionado: 50 (11) Donador vivo no relacionado: 27.3 (6) Donador fallecido: 22.7 (5)
Terapia de inducción; %(n=)	Basiliximab: 77.3 (17) Timoglobulina: 22.7 (5)

IMC= índice de masa corporal; X= media; M= mediana; DS= desviación estándar; RIC= rango intercuantílico

### **Características del eje calcitrópico posterior al trasplante renal**

Las concentraciones de vitamina D después del trasplante renal fueron de 13.04 (9.2-16.7) ng/mL; el 90.9% (n=20) de los pacientes tuvo deficiencia de vitamina D y el 9.1% (n=2) insuficiencia. El tiempo transcurrido entre el trasplante renal y el diagnóstico de hipovitaminosis D fue de 45 días (30-120). No se contó con determinaciones de 25OHD antes del trasplante renal.

En cuanto a las concentraciones de PTH, se evidenció una reducción del 84% después del trasplante renal. El 59% (n=13) de los pacientes presentaron hiperparatiroidismo secundario y 41% (n=9) PTH normal-baja.

Las concentraciones de calcio sérico mostraron un aumento del 11% después del trasplante, sin evidenciarse casos de hipercalcemia o hipocalcemia post trasplante.

Se evidenció una reducción del 45% en las concentraciones de fósforo después del trasplante, con la presencia de hipofosfatemia en 31.8% (n=7) de los pacientes. En cuanto a las concentraciones de Mg, se demostró una reducción del 30% y la presencia de hipomagnesemia en 27.3% (n=6).

Posterior al trasplante, no se evidenciaron casos de hipercalciuria, sin embargo, 91% (n=20) de los receptores presentó hiperfosfaturia. Por último, las concentraciones del marcador de recambio óseo fosfatasa alcalina disminuyeron en un 25% posterior al trasplante renal. En la tabla 2 se resumen las características bioquímicas del eje calcitrópico, pruebas de función renal y tasa estimada de filtrado glomerular antes y después del trasplante renal.

En el análisis uni y multivariado, se demostró una relación negativa entre PTH y calcio sérico corregido después del trasplante renal ( $r=-0.52$ ;  $p=0.011$ ; regresión lineal:  $\beta=-0.446$ ;  $p=0.039$ ). El resto de las variables del eje calcitropic antes y después del trasplante renal no demostraron correlación entre si.

Posterior al trasplante, el esquema de inmunosupresión administrado incluyó tacrolimus 6 mg/día (5-8), prednisona 20 mg/día (20-20) y micofenolato 1500 mg/día(1000-2000)

Tabla 2. Características del eje calcitropic antes y después del trasplante renal			
	Antes del trasplante renal (n=22)	Después del trasplante renal (n=22)	p
PTH (Referencia: 15-65 pg/mL) M(RIC)	559 (392-713)	91.4 (56.9-123.9)	0.001
Calcio (Referencia: 8.4-10.2 mg/dL) M(RIC)	8.65 (7.9-9)	9.70 (9.3-10)	0.001
Calcio corregido (Referencia: 8.4-10.2 mg/dL) M(RIC)	8.55 (7.9-8.7)	9.20 (8.9-9.5)	0.001
Fósforo (Referencia: 2.7-4.5 mg/dL) M(RIC)	5.6 (4.8-6.1)	3.10 (2-3.6)	0.001
Magnesio (Referencia: 1.6-2.6 mg/dL) X±DS	2.45±0.29	1.71±0.24	0.001
Albúmina (Referencia: 3.5-5.2 g/dL) X±DS	4.14±0.65	4.57±0.40	0.018
Fosfatasa alcalina	109.0 (84-135)	81.5 (71-96)	0.001

(Referencia: 40-129 U/L) M(RIC)			
Calcio urinario de 24 hrs (Referencia: <250mg/día en mujeres <300 mg/día en hombres) M(RIC)	-	94.6 (55-130)	-
Índice calcio/Kg peso (Referencia: < 4 mg/kg por día) M(RIC)	-	1.56±0.88	-
Fósforo urinario de 24 hrs (Referencia: 4-13g/24 hrs) M(RIC)	-	50.70 (36.5-56.4)	-
Urea (Referencia: 10-50 mg/dL) M(RIC)	133.5 (109-158)	36.5 (28.2-45.6)	0.001
Creatinina (Referencia: 0.40-1.2 mg/dL) M(RIC)	11.80 (10.51-13.87)	0.99 (0.8-1.2)	0.001
Tasa Estimada de Filtrado Glomerular (ml/min): M(RIC) MDRD	4.8 (3.9-6.2)	76 (62-100)	0.001
CKD-EPI	4.5 (3.6-5.6)	81.85 (67.2-110)	0.001

X= media; M= mediana; DS= desviación estándar; RIC= rango intercuantílico



### **Características de las citocinas inflamatorias calciotrópicas después del trasplante renal.**

Posterior al trasplante renal, las concentraciones de IL-6 fueron de 5.75 pg/mL (4.45-7.16), IL-10 de 5.39 pg/mL (4.96-7.13), TNF- $\alpha$  de 9.64 pg/mL (9.64-9.64), y por debajo del límite mínimo de detección para IL-1 (Tabla 3). No se evidenció correlación entre citocinas inflamatorias calciotrópicas post trasplante, eje calciotrópico o esquema de inmunosupresión

### **Características del eje calciotrópico después de la normalización de vitamina D.**

Posterior al tratamiento con colecalciferol, el tiempo para lograr la normalización de 25OHD fue de 12 semanas (4-12). La dosis de colecalciferol requerida para lograr la normalización fue de 5000 UI/día (4000-6000). Las concentraciones de 25OHD fueron de 37.50 ng/mL (31.8-43.8).

A la normalización de vitamina D, las concentraciones de PTH presentaron una reducción del 55%, persistiendo con hiperparatiroidismo secundario un 27.3% (n=6) de los receptores; el resto normalizó PTH. Se evidenció un aumento en las concentraciones de fósforo sérico e hipofosfatemia en 16.6% (n=3). Ningún paciente presentó hiperfosfatemia.

No se evidenciaron cambios en las concentraciones de calcio sérico, calcio sérico corregido, magnesio, fosfatasa alcalina, calcio urinario de 24 hrs, índice calcio/kg peso, fosforo urinario. Ningún paciente presentó hipercalcemia ni hipercalciuria durante su seguimiento. Así mismo, no se evidenciaron modificaciones en los parámetros de función renal ni tasa estimada de filtrado glomerular. En la Tabla 3 se resumen los cambios en el eje calciotrópico y función renal antes y después de la normalización de vitamina D.

En el análisis uni y multivariado, la PTH a la normalización mostró una relación negativa con la dosis de vitamina D [r=-0.43; p=0.044; regresión lineal ( $\beta$ = -0.508; p=0.016]

La concentraciones de calcio sérico a la normalización mostraron una relación positiva con calcio sérico [r=0.71; p=0.000; regresión lineal:  $\beta$ = 0.040; R=0.46, p=0.000] y calcio corregido pretrasplante [r=0.55; p=0.007; regresión lineal:  $\beta$ = 0.28; R=0.32, p=0.003], así como con calcio sérico postrasplante (pretratamiento) [r=0.41; p=0.055; regresión lineal:

$\beta= 0.030$ ;  $R=0.15$ ,  $p=0.039$ ]. No se evidenció correlación entre el resto variables del eje calciotrópico, tasa de filtrado glomerular o inmunosupresión

### Citocina inflamatorias calciotrópicas después de la normalización de vitamina D.

Después de la normalización de 25OHD, no se evidenciaron cambios en las concentraciones de citocinas inflamatorias calciotrópicas (Tabla 3).

Tabla 3. Eje hormonal calciotrópico y citocinas inflamatorias en hipovitaminosis D y al momento normalización de 25OHD durante el tratamiento con colecalciferol posterior al trasplante renal.			
	Hipovitaminosis D post trasplante renal (n=22)	A la normalización de vitamina D post trasplante renal (n=22)	p
PTH (Referencia: 15-65 pg/mL) M(RIC)	91.4 (56.9-123.9)	40.30 (29.7-73.6)	0.001
25OHD Suficiencia: $\geq 30$ ng/mL Insuficiencia: 20-29 ng/mL Deficiencia: $< 20$ ng/mL Toxicidad: $> 100$ ng/mL M(RIC)	13.04 (9.2-16.7)	37.50 (31.8-43.8)	0.001
Calcio (Referencia: 8.4-10.2 mg/dL) M(RIC)	9.70 (9.3-10)	9.8 (9.4-10)	0.305
Calcio corregido (Referencia: 8.4-10.2 mg/dL) M(RIC)	9.20 (8.9-9.5)	9.25 (9.1-9.6)	0.435
Fósforo (Referencia: 2.7-4.5 mg/dL) M(RIC)	3.10 (2-3.6)	3.32 (3-3.7)	0.014
Magnesio (Referencia: 1.6-2.6 mg/dL)	1.71 $\pm$ 0.24	1.68 $\pm$ 0.21	0.400

X±DS			
Albúmina (Referencia: 35-5.2 g/dL)	4.57±0.40	4.69±0.35	0.252
Fosfatasa alcalina (Referencia: 40-129 U/L) M(RIC)	81.5 (71-96)	75 (66-86)	0.298
Calcio urinario de 24 hrs (Referencia: <250mg/día en mujeres <300 mg/día en hombres) M(RIC)	94.6 (55-130)	110.00 (80-160)	0.283
Índice calcio/Kg peso (Referencia: < 4 mg/kg por día) X±DS	1.56±0.88	2.08±0.99	0.080
Fósforo urinario de 24 hrs (Referencia: 4-13g/24 hrs) M(RIC)	50.70 (36.5-56.4)	56.45 (43.4-60)	0.354
Creatinina (Referencia: 0.40-1.2 mg/dL) M(RIC)	0.99 (0.8-1.2)	1.09 (0.85-1.35)	0.088
Tasa Estimada de Filtrado Glomerular (ml/min): M(RIC) MDRD CKD-EPI	76 (62-100) 81.85 (67.2-110)	72.65 (56.8-85.8) 77.30 (60.2-94.6)	0.091 0.108
Interleucina 6 Limite de detección: <4.13 pg/mL M(RIC)	5.75 (4.45-7.16)	4.37 (4.37-6.42)	0.093
Interleucina 1 Limite mínimo de detección: <6.13 pg/mL	<6.13	<6.13	1.000
TNF-α	9.64 (9.64-9.64)	9.64 (9-64-9.64)	0.527

Limite mínimo de detección: <9.64 pg/mL M(RIC)			
Interleucina 10 Limite mínimo de detección: <4.96 pg/mL M(RIC)	5.39 (4.96-7.13)	4.96 (4.96-5.43)	0.437
Micofenolato (mg/día)	1500 (1000-2000)	1720 (1000-2000)	0.001
Prednisona (mg/día) M(RIC)	20 (20-20)	15 (10-15)	0.001
Tacrolimus (mg/día) M(RIC)	6 (5-8)	6.5 (5-8)	0.448

X= media; M= mediana; DS= desviación estándar; RIC= rango intercuantílico

En el análisis uni y multivariado, las concentraciones de vitamina D a la normalización se correlacionaron con IL-6 ( $r=0.46$ ,  $p=0.028$ ), sin embargo no se corroboró en regresión lineal ( $p=0.165$ ). Para el resto de las variables, no se evidenció relación entre citocinas inflamatorias calciotrópicas y eje calciotrópico o esquema de inmunosupresión.

En cuanto a inmunosupresión, las concentraciones de IL-6 mostraron tendencia a correlación negativa con la dosis de prednisona ( $r=-0.42$ ,  $p=0.514$ ), corroborándose en el modelo de regresión lineal dicha relación ( $\beta= -0.41$ ;  $R=0.24$ ,  $p=0.012$ ).

## DISCUSIÓN

La ERC condiciona una serie de cambios en el metabolismo mineral óseo que dan lugar al complejo enfermedad ósea metabólica-enfermedad renal crónica (EOM-ERC), el cual no sólo incluye las alteraciones bioquímicas y estructurales a nivel óseo, sino también las alteraciones cardiovasculares que condicionan una mayor morbimortalidad en estos pacientes. El trasplante renal representa el tratamiento de elección en el paciente con ERC y se ha relacionado con una reducción en la mortalidad, riesgo cardiovascular y mejoría en la calidad de vida [84]; sin embargo, estudios recientes han evidenciado la persistencia de enfermedad ósea metabólica (EOM) en receptores de trasplante renal.

La EOM post trasplante condiciona una pérdida de la densidad mineral, disminución de la calidad ósea y aumento del riesgo de fracturas. El espectro de la EOM en el receptor de trasplante renal incluye al hiperparatiroidismo secundario persistente, hipovitaminosis D, osteoporosis y osteopenia, osteomalacia, hiperparatiroidismo terciario y fracturas patológicas, principalmente. Estos cambios están relacionados con: 1) las alteraciones del eje FGF23-PTH-Vitamina D, 2) el tratamiento inmunosupresor y otras terapias coadyuvantes, 3) el status óseo pre-trasplante, 4) la función del injerto y 6) la hipofosfatemia. [84]

La hipovitaminosis D es frecuente en pacientes con trasplante renal, guardando relación con aspectos tales como la reanudación de la  $1\alpha$  hidroxilación renal, el requerimiento de la disminución a exposición a luz solar para prevención de cáncer de piel, la terapia inmunosupresora, el inadecuado aporte de vitamina D antes y después del trasplante y la alta prevalencia de hipovitaminosis D en la población de la que forman parte [93-97].

En el presente estudio, después del trasplante renal, se corroboró la persistencia de alteraciones del metabolismo mineral óseo, ubicadas dentro del espectro de Enfermedad ósea metabólica. Al evaluar a los receptores de trasplante renal con hipovitaminosis D, se corroboró la presencia de hiperparatiroidismo secundario esperado, sin embargo, cabe destacar que la mitad de la población presentó una PTH normal-baja, misma que, si bien no ha sido descrita y explicada en receptores de trasplante renal, en pacientes con ERC se ha atribuido a deficiencia de Mg, inadecuado aporte de calcio, inadecuado tratamiento dialítico y enfermedad ósea de recambio bajo. En nuestro estudio, no se corroboró relación entre la presencia de PTH normal-baja y otros parámetros antes o después del trasplante, sin embargo, evidenciamos la relación negativa entre PTH y calcio corregido después del trasplante renal, misma que tiene fundamento en la regulación fisiológica conocida, en la cual, la disminución en las concentraciones de calcio es el principal estímulo para la secreción de PTH. En la práctica clínica, este dato nos orienta a la importancia de la valoración del eje calciotrópico pre y post trasplante renal, con la búsqueda de la optimización de las concentraciones de calcio como uno de las intervenciones para la búsqueda de la normalización de PTH.

La mejoría en las concentraciones de calcio, la reducción de fosfatasa alcalina, e incluso la reducción en las concentraciones de fósforo, son un beneficio del trasplante renal que debemos destacar.

La hipovitaminosis D, espectro de la enfermedad ósea metabólica, se ha relacionado con alteraciones no sólo a nivel óseo, sino también inmunológico. En pacientes con trasplante renal, diversos estudios han demostrado un aumento en el patrón de citocinas proinflamatorias y reducción de antiinflamatorias, estado conocido como el paradigma Th-1/Th-2. Dentro de éste, destaca el aumento de IL-1, TNF- $\alpha$  e IL6 séricas, citocinas relacionadas con la activación de la vía RANK-L (activación de la osteoclastogénesis), así como disminución de IL-10 (relacionada con la disminución en la activación de esta vía), con la subsecuente promoción de la resorción ósea. La hipovitaminosis D se relaciona con la exacerbación de dicho estado proinflamatorio [92,100-103].

En paciente con enfermedades crónicas, se ha evidenciado una disminución del estado pro-inflamatorio y aumento en citocinas antiinflamatorias tras el tratamiento con colecalciferol, sin embargo, el efecto de las modificaciones en citocinas calciotrópicas sobre parámetros del metabolismo mineral óseo no ha sido reportado.

En pacientes con trasplante renal, se ha reportado el efecto del tratamiento con vitamina D o sus análogos sobre el eje calciotrópico y el estado inflamatorio. La mayoría de los estudios tienen como objetivo evaluar las modificaciones del eje calciotrópico después de la administración de colecalciferol, sin embargo, ningún estudio se ha centrado en el efecto de la normalización de 25OHD. Para la salud ósea, se ha recomendado el logro de concentraciones de vitamina D por arriba de 20 ng/mL, sin embargo, para la optimización de la respuesta inmune se especifican concentraciones mayores de 30 ng/mL, consideradas por las guías internacionales como rangos de suficiencia (Endocrine society) y como cifras meta para guías KDIGO. En base a ello, evaluamos el efecto de la normalización de vitamina D sobre las hormonas y citocinas inflamatorias calciotrópicas.

En nuestro estudio, evidenciamos que el tiempo para el logro de la normalización es prolongado, así mismo, la dosis requerida para la misma fue elevada (5,000UI/día), tal como se ha reportado en la literatura [111-113].

Después del tratamiento y normalización de vitamina D, se evidenció una reducción significativa de PTH, con una disminución en la frecuencia de hiperparatiroidismo, un punto importante a considerar en la práctica clínica como medida de prevención de hiperparatiroidismo persistente; el tratamiento con colecalciferol no condicionó hipercalcemia ni hipercalciuria y mejoró las concentraciones de fósforo sin causar hiperfosfatemia ni exacerbación de la hiperfosfaturia. En este grupo, el tratamiento fue seguro y no se relacionó con reacciones adversas medicamentosas ni sospecha de las mismas. En nuestro estudio, corroboramos la relación entre la dosis de vitamina D y las concentraciones de PTH, hecho que nuevamente apoya a la relación y efecto del tratamiento con colecalciferol en la búsqueda de normalización de PTH.

Así mismo, destaca la relación entre las concentraciones de calcio sérico antes del trasplante, antes del tratamiento y después del mismo, lo que demuestra la importancia de diagnosticar trastornos del calcio antes del trasplante, establecer medidas para normalización del mismo en pacientes con ERC, mantener un adecuado aporte y vigilancia de sus concentraciones después del trasplante y establecer el tratamiento con colecalciferol de manera segura en aquellos con calcio normal, es decir la búsqueda de una adecuada concentración de calcio post-trasplante implica una intervención adecuada desde el manejo del paciente con ERC.

Algunos estudios han evidenciado una reducción en las concentraciones de citocinas inflamatorias después del tratamiento con colecalciferol, principalmente en pacientes con tratamiento sustitutivo de la función renal. En pacientes con trasplante renal, este resultado fue evidenciado por Donate-Correa et al, tras la administración de paricalcitol, un análogos de vitamina D [117]. En nuestro estudio, no evidenciamos modificaciones en el patrón de citocinas inflamatorias calciotrópicas después de la normalización de las concentraciones de 25OHD, sin embargo, se evidenció una relación negativa entre la dosis de prednisona en IL-6, interleucina importante en la activación de la vía RANK-L.

A diferencia de otros estudios, una de las ventajas del presente es la inclusión de pacientes con antecedente de ERC por nefropatía primaria, adultos jóvenes, con peso normal, sin comorbilidades como diabetes, enfermedades inmunológicas o neoplásicas, sin consumo post trasplante de tabaco, alcohol u otras toxicomanías, con el objetivo de

disminuir el sesgo de los efectos deletéreos sobre hueso y aumento de citocinas inflamatorias relacionados a estos factores de riesgo.

Dentro de las limitaciones encontradas destacan la falta de determinación de 2OHD dentro del protocolo de evaluación de eje calcitrópico antes del trasplante renal, la falta de abasto institucional de colecalciferol para el tratamiento de hipovitaminosis D y la falta del recurso para medición de citocinas inflamatorias con un método más específico. Con fines de reducción de estas limitaciones en futuras investigaciones, se propone el establecimiento de protocolos de evaluación, prevención, diagnóstico y tratamiento de la enfermedad ósea metabólica antes y después del trasplante renal, el seguimiento a largo plazo de los pacientes y la promoción de programas relacionados con el manejo integral del paciente con trasplante renal con fines de optimización de recursos en salud así como mejoría de su pronóstico.

## **CONCLUSIONES**

A pesar de los efectos benéficos del trasplante renal, las alteraciones en el metabolismo mineral óseo, incluyendo la hipovitaminosis D, son frecuentes en pacientes receptores de trasplante renal. La hipovitaminosis D tiene efectos deletéreos sobre el metabolismo mineral óseo así como el sistema inmunológico, siendo importante el tratamiento con colecalciferol para su optimización. La normalización de 25OHD en receptores de trasplante renal mejora el metabolismo mineral óseo y, si bien requiere la administración de dosis altas de colecalciferol, es seguro. La normalización de 25OHD no demostró modificación en el patrón de citocinas inflamatorias calcitrópicas en nuestra población.



## REFERENCIAS.

1. Laurence GR. Physiology of bone. En: Kenneth LB (ed.). Principles and practice of endocrinology and metabolism. 3a ed. Filadelfia, Lippincott William & Wilkins, 2001:489-497.
2. Teitelbaum S.L. Osteoclasts: what do they do and how do they do it?. The American Journal of Pathology 2007,170, 2: 427–435.
3. Bonewald L. F. The amazing osteocyte. Journal of Bone and Mineral Research, 2011, 26, 2: 229–238.
4. V. Everts, J. M. Delaissié, W. Korper et al. The bone lining cell: its role in cleaning Howship's lacunae and initiating bone formation. Journal of Bone and Mineral Research 2002, 17, 1: 77–90.
5. Sims N.A., J. H. Gooi. Bone remodeling: Multiple cellular interactions required for coupling of bone formation and resorption, Seminars in Cell and Developmental Biology 2008, 19, 5: 444–451.
6. Matsuo K., Irie M. Osteoclast-osteoblast communication. Archives of Biochemistry and Biophysics 2008, 473, 2: 201– 209.
7. Dallas S. L., Prideaux M., Bonewald L. F. The osteocyte: an endocrine cell... and more. Endocrine reviews 2013, 34(5): 658-690.
8. Crockett J. C., Mellis D. J., Scott D. I., Helfrich M. H. New knowledge on critical osteoclast formation and activation pathways from study of rare genetic diseases of osteoclasts: focus on the RANK/RANKL axis. Osteoporosis International 2011, 22, 1: 1–20.
9. Fukumoto S. Martin T. J., Bone as an endocrine organ. Trends in Endocrinology and Metabolism 2009, 20, 5: 230-236.
10. Aarden E.M., Burger E. H., Nijweide P. J. Function of osteocytes in bone. Journal of Cellular Biochemistry 1994, 55, 3 :287–299.
11. Miller S.C., L. de Saint-Georges, Bowman B.M., Jee W. S. S. Bone lining cells: structure and function. Scanning Microscopy 1989, 3, 3: 953–961.
12. Donahue H. J., McLeod K. J., Rubin C. T. et al. Cell-to-cell communication in osteoblastic networks: cell line-dependent hormonal regulation of gap junction function. Journal of Bone and Mineral Research 1995, 10, 6:881–889.
13. Mosley J. R. Osteoporosis and bone functional adaptation: mechanobiological regulation of bone architecture in growing and adult bone, a review. Journal of Rehabilitation Research and Development 2000, 37, 2: 189–199

14. Everts V, Delaissié J. M., Korper W, et al. The bone lining cell: its role in cleaning Howship's lacunae and initiating bone formation. *Journal of Bone and Mineral Research* 2002, 17, 1: 77–90.
15. Lupsa, B. C., Insogna, K. Bone health and osteoporosis. *Endocrinology and metabolism clinics of North America*, 2015, 44(3): 517-530.
16. Mirza, F., Canalis, E. Management of endocrine disease: secondary osteoporosis: pathophysiology and management. *European Journal of Endocrinology* 2015, 173(3):131-151.
17. Cooper, M. S., Seibel, M. J., Zhou, H. Glucocorticoids, bone and energy metabolism. *Bone*, 2016, 82: 64-68.
18. Seeman E. Delmas P.D. Bone quality—the material and structural basis of bone strength and fragility,” *The New England Journal of Medicine*, 2006, 354, 21: 2250–2261.
19. Khosla S, Oursler M. J., Monroe D.G. Estrogen and the skeleton. *Trends in Endocrinology and Metabolism* 2012, 23, 1: 576–581
20. Perrini, S., Laviola, L., Carreira, M. C., Cignarelli, A., Natalicchio, A., Giorgino, F. The GH/IGF1 axis and signaling pathways in the muscle and bone: mechanisms underlying age-related skeletal muscle wasting and osteoporosis. *Journal of Endocrinology* 2010, 205(3):201-210.
21. Hendy G. N., Canaff L. Calcium-sensing receptor, proinflammatory cytokines and calcium homeostasis. In *Seminars in cell & developmental biology* 2016, 49: 37-43. Academic Press.
22. Lee YM, Fujikado N, Manaka H, Yasuda H, Iwakura Y. IL-1 plays an important role in the bone metabolism under physiological conditions. *International immunology*. 2010 Aug 2;22(10):805-16.
23. Ruscitti P, Cipriani P, Carubbi F, Liakouli V, Zazzeroni F, Di Benedetto P, Berardicurti O, Alesse E, Giacomelli R. The role of IL-1 $\beta$  in the bone loss during rheumatic diseases. *Mediators of inflammation*. 2015;2015.
24. Blanchard F, Duplomb L, Baud'huin M, Brounais B. The dual role of IL-6-type cytokines on bone remodeling and bone tumors. *Cytokine & growth factor reviews*. 2009; 1;20(1):19-28.
25. Evans KE, Fox SW. Interleukin-10 inhibits osteoclastogenesis by reducing NFATc1 expression and preventing its translocation to the nucleus. *BMC cell biology*. 2007 Dec;8(1):4.

26. Cole D, Webb S, Chan P. Update on parathyroid hormone: New tests and new challenges for external quality assessment. *Clinical Biochemistry* 2007; 40: 585-590
27. D'Amour P., Brossard J.H. Carboxyl-terminal parathyroid hormone fragments: role in parathyroid hormone physiopathology. *Current Opinion in Nephrology and Hypertension* 2005; 14 :330-336
28. D'Amour P. Circulating PTH molecular forms: What we know and what we don't. *Kidney International* 2006; 70: S29–S33
29. Kevin J, Martin IA, Esther A. Gonzalez EA. Parathyroid Hormone: New Assays, New Receptors. *Seminars in Nephrology*, 2004;24:3-9
30. Murray T.M., Rao L.G., Divieti P., Bringham F.R. Parathyroid Hormone Secretion and Action: Evidence for Discrete Receptors for the Carboxyl-Terminal Region and Related Biological Actions of Carboxyl-Terminal Ligands. *Endocrine Rev* 2005; 26 (1): 78-113.
31. Hori, M., Shimizu, Y., Fukumoto, S. Minireview: fibroblast growth factor 23 in phosphate homeostasis and bone metabolism. *Endocrinology*, 2011, 152(1), 4-10.
32. Kuro-O M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, et al. Mutation of the mouse *klotho* gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature* 1997; 390 (6655):45-51.
33. Kuro-O M. *Klotho*. *Pflugers Arch* 2010; 459: 333-43.
34. Wang Y, Sun Z. Current understanding of *Klotho*. *Ageing Research Reviews* 2009;8:43- 51.
35. Kuro-O, M. The FGF23 and *Klotho* system beyond mineral metabolism. *Clinical and Experimental Nephrology* 2017: 1-6.
36. Olauson H, Lindberg K, AminR, et al. Parathyroid specific deletion of *Klotho* unravels a novel calcineurin dependent FGF23 signaling pathway that regulates PTH secretion. *PLoS Genet* 2013;9(12)
37. Faul C, Amaral AP, Oskouei B, et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest* 2011;121(11):4393–4408.
38. Di Rosa M, Malaguarnera M, Nicoletti F, Malaguarnera L. Vitamin D3: a helpful immunomodulator. *Immunology* 2011;134: 123-139.
39. Hewison, M. An update on vitamin D and human immunity. *Clinical endocrinology* 2012, 76(3) :315-325.

40. Cheng, J.B., et al., Genetic evidence that the human CYP2R1 enzyme is a key vitamin D 25-hydroxylase. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004. 101(20): 7711-5.
41. Zehnder, D., et al., Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin D(3)-1 alpha-hydroxylase. *J Clin Endocrinol Metab* 2001. 86(2): 888-94.
42. Bikle, D.D., Extra renal synthesis of 1,25 dihydroxyvitamin D and its Health Implications. *Clin Rev in Bone and Min Metab* 2009. 7: 114-125.
43. Sun J. Vitamin D and mucosal immune function. *Curr Opin Gastroenterol* 2010; 26: 591–5.
44. White JH. Vitamin D metabolism and signaling in the immune system. *Rev Endocr Metab Disord* 2012;13:21-9.
45. Hewison M. Vitamin D and immune function: autocrine, paracrine or endocrine? *Scand J Clin Lab Investig Suppl* 2012; 243:92–102.
46. Hewison M. Vitamin D and the immune system: new perspectives on an old theme. *Rheum Dis Clin N Am* 2012;38:125–39.
47. Lang PO, Samaras D. Aging adults and seasonal influenza: does the vitamin d status (h)arm the body?. *J Aging Res* 2012;2012:806198.
48. Bischoff-Ferrari HA, Dawson-Hughes B, Platz A et al. Effect of high-dosage cholecalciferol and extended physiotherapy on complications after hip fracture: a randomized controlled trial. *Arch Intern Med* 2010;170: 813–20.
49. Lang PO, Aspinall R. Can we translate vitamin D immunomodulating effect on innate and adaptive immunity to vaccine response? *Nutrients* 2015;7: 2044–60.
50. Wang Y, Zhu J, De Luca HF. Where is the vitamin D receptor? *Arch Biochem Biophys* 2012;523: 123–33.
51. Haussler MR, Haussler CA, Jurutka PW et al. The vitamin D hormone and its nuclear receptor: molecular actions and disease states. *J Endocrinol* 1997;154 (3 Suppl):S57–73.
52. Yasmin R, Williams RM, Xu M, Noy N. Nuclear import of the retinoid X receptor, the vitamin D receptor, and their mutual heterodimer. *J Biol Chem* 2005;280:40152–60.
53. Christakos, S., Dhawan, P., Verstuyf, A., Verlinden, L., Carmeliet, G. Vitamin D: metabolism, molecular mechanism of action, and pleiotropic effects. *Physiological reviews* 2016, 96(1), 365-408.
54. Haussler, M.R. Norman A.W. Chromosomal receptor for a vitamin D metabolite. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1969. 62(1): p. 155-62.

55. McDonnell, D.P., et al., Molecular cloning of complementary DNA encoding the avian receptor for vitamin D. *Science* 1987. 235(4793): p. 1214-7.
56. Baker, A.R., et al., Cloning and expression of full-length cDNA encoding human vitamin D receptor. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1988. 85(10): p. 3294-8.
57. Makowski, A., et al., Determination of nuclear receptor corepressor interactions with the thyroid hormone receptor. *Mol Endocrinol* 2003. 17(2): p. 273-86.
58. Leo, C., Chen J.D. The SRC family of nuclear receptor coactivators. *Genes* 2000. 245: p. 1-11.
59. Rachez, C., et al., Ligand-dependent transcription activation by nuclear receptors requires the DRIP complex. *Nature* 1999. 398(6730): p. 824-8.
60. Rachez, C., et al., The DRIP complex and SRC-1/p160 coactivators share similar nuclear receptor binding determinants but constitute functionally distinct complexes. *Mol Cell Biol* 2000. 20(8): p. 2718-26.
61. Palmer, H.G., et al., Vitamin D(3) promotes the differentiation of colon carcinoma cells by the induction of E-cadherin and the inhibition of beta-catenin signaling. *J Cell Biol* 2001. 154(2): p. 369-87.
62. Hill, C. S. Transcriptional control by the SMADs. *Cold Spring Harbor Perspectives in Biology* 2016, 8(10), a022079.
63. Caffrey, J.M. and M.C. Farach-Carson, Vitamin D3 metabolites modulate dihydropyridine-sensitive calcium currents in clonal rat osteosarcoma cells. *J Biol Chem* 1989. 264(34): p. 20265-74.
64. Baran, D.T., et al., 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3-induced increments in hepatocyte cytosolic calcium and lysophosphatidylinositol: inhibition by pertussis toxin and 1 beta,25-dihydroxyvitamin D3. *J Bone Miner Res* 1990. 5(5): p. 517-24.
65. Morelli, S., Boland A.R., Boland R.L. Generation of inositol phosphates, diacylglycerol and calcium fluxes in myoblasts treated with 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Biochem J* 1993. 289(Pt 3): p. 675-9.
66. Wali, R.K., et al., 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D3 stimulates membrane phosphoinositide turnover, activates protein kinase C, and increases cytosolic calcium in rat colonic epithelium. *J Clin Invest* 1990. 85(4): p. 1296-303.
67. Khanal, R.C., et al., Membrane receptor-initiated signaling in 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>-stimulated calcium uptake in intestinal epithelial cells. *J Cell Biochem* 2008. 105(4): p. 1109-16.
68. Boland R.L. VDR activation of intracellular signaling pathways in skeletal muscle.

- Mol Cell Endocrinol 2011, 347:11–16
69. Bikle, D. D. Extraskeletal actions of vitamin D. *Annals of the New York Academy of Sciences* 2016, 1376(1), 29-52.
  70. Vanherwegen AS, Gysemans C, Mathieu C. Regulation of immune function by vitamin D and its use in diseases of immunity. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2017;46:1061–1094
  71. Lemire, J. M., Adams, J. S., Sakai, R. Jordan, S. C. 1,25-dihydroxyvitamin D3 suppresses proliferation and immunoglobulin production by normal human peripheral blood mononuclear cells. *J. Clin. Invest* 1984. 74, 657–661.
  72. Rigby, W. F., Stacy, T. Fanger, M. W. Inhibition of T lymphocyte mitogenesis by 1,25-dihydroxyvitamin D3 (calcitriol). *J. Clin. Invest* 1984. 74, 1451–1455.
  73. Hewison. Vitamin D and the Immune System: New Perspectives on an Old Theme. *Endocrinol Metab Clin N Am* 2010; 39:365–379.
  74. Mathieu C. Vitamin D and the immune system: getting it right. *IBMS BoneKey* 2011;8(4):178-86.
  75. Mora, J. R., Iwata, M., Von Andrian, U. H. Vitamin effects on the immune system: vitamins A and D take centre stage. *Nature Reviews Immunology* 2008, 8(9), 685.
  76. LeBlanc E, Zakher B, Daeges M, Pappas M, Chou R. Screening for vitamin D deficiency: a systematic review for the U.S. Preventive Services Task Force. *Ann Intern Med* 2014;162:109-22.
  77. Holick, M. F., Binkley, N. C., Bischoff-Ferrari, H. A., Gordon, C. M., Hanley, D. A., Heaney, R.P., Murad H., Weaver, C. M. Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society clinical practice guideline. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2011, 96(7), 1911-1930.
  78. Khoo AL, Chai LY, Koenen HJ, Sweep FC, Joosten I, Netea MG, van der Ven AJ. Regulation of cytokine responses by seasonality of vitamin D status in healthy individuals. *Clin Exp Immunol* 2011, 164:72–79
  79. Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000, 72:690–693
  80. Mahon BD, Gordon SA, Cruz J, Cosman F, Cantorna MT. Cytokine profile in patients with multiple sclerosis following vitamin D supplementation. *J Neuroimmunol* 2003, 134:128–132
  81. Zittermann A, Frisch S, Berthold HK, Gotting C, Kuhn J, Kleesiek K, Stehle P, Koertke H, Koerfer R. Vitamin D supplementation enhances the beneficial effects

- of weight loss on cardio-vascular disease risk markers. *Am J Clin Nutr* 2009, 89:1321–1327
82. Carrillo AE, Flynn MG, Pinkston C, Markofski MM, Jiang Y, Donkin SS, Teegarden D. Vitamin D supplementation during exercise training does not alter inflammatory biomarkers in overweight and obese subjects. *Eur J Appl Physiol*, 2012, 112(8):3045–3052
  83. Jorde R, Sneve M, Torjesen PA, Figenschau Y, Goransson LG, Omdal R. No effect of supplementation with cholecalciferol on cytokines and markers of inflammation in overweight and obese subjects. *Cytokine* 2010, 50:175–180
  84. Cianciolo, G., Galassi, A., Capelli, I., Angelini, M. L., La Manna, G., Cozzolino, M. Vitamin D in kidney transplant recipients: mechanisms and therapy. *American journal of nephrology* 2016, 43(6), 397-407.
  85. Gonzalez EA, Sachdeva A, Oliver DA, Martin KJ: Vitamin D insufficiency and deficiency in chronic kidney disease: a single center observational study. *Am J Nephrol* 2004, 24(5):503–510.
  86. Bacchetta, J., Salusky, I. B., & Hewison, M. Beyond mineral metabolism, is there an interplay between FGF23 and vitamin D in innate immunity?. *Pediatric Nephrology* 2013, 28(4), 577-582.
  87. Fliser, D. et al. Fibroblast growth factor 23 predicts progression of chronic kidney disease: the Mild to Moderate Kidney Disease (MMKD) Study. *J. Am. Soc. Nephrol* 2007, 18, 2600–2608.
  88. Razzaque, M. S. The FGF23–Klotho axis: endocrine regulation of phosphate homeostasis. *Nature Reviews Endocrinology* 2009, 5(11), 611-619.
  89. Carlini RG, Rojas E, Weisinger JR, et al: Bone disease in patients with long-term renal trans-plantation and normal renal function. *Am J Kidney Dis* 2000;36:160–166.
  90. Alshayeb HM, Josephson MA, Sprague SM: CKD-mineral and bone disorder management in kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 2013;61:310–325.
  91. Ball AM, Gillen DL, Sherrard D, Weiss NS, et al: Risk of hip fracture among dialysis and re-nal transplant recipients. *JAMA* 2002;288: 3014–3018.
  92. Tan L, Howell WM, Smith, JL, Sadek, SA. Sequential Monitoring Of Peripheral T-lymphocyte Cytokine Gene Expression In The Early Post Renal Allograft Period. *Transplantation*, 71(6), 751-759.

93. Boudville NC, Hodsman AB: Renal function and 25-hydroxyvitamin D concentrations predict parathyroid hormone levels in renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2621–2624.
94. Bienaimé F, Girard D, Anglicheau D, et al: Vitamin D status and outcomes after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 2013;24: 831–841
95. Stavroulopoulos A, Cassidy MJ, Porter CJ, Hosking DJ, Roe SD: Vitamin D status in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2007, 7(11):2546–2552.
96. Economidou D, Dovas S, Papagianni A, et al: FGF-23 Levels before and after renal trans-plantation. *J Transplant* 2009;2009:379082.
97. Evenepoel P, Meijers BK, de Jonge H, et al: Recovery of hyperphosphatoniism and renal phosphorus wasting one year after successful renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3:1829–1836.
98. McGregor, R., Li, G., Penny, H., Lombardi, G., Afzali, B., Goldsmith, D. J. Vitamin D in Renal Transplantation—from Biological Mechanisms to Clinical Benefits. *American Journal of Transplantation* 2014, 14(6), 1259-1270.
99. Farias A S, Spagnol G S, Bordeaux-Rego P, et al. Vitamin D3 induces tolerogenic DCs and enhances Treg, reducing the severity of EAE. *CNS Neurosci Ther* 2013; 19: 269–277.
100. Alwahaibi, N., Alissaei, H., Al-Kalbani, A., Alabri, N., Allawati, Z., Albalooshi, M. Evaluation of interleukin-2, interleukin-8, and tumor necrosis factor-like weak inducer of apoptosis in hemodialysis and renal transplant patients and healthy controls. *Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation* 2016, 27(6), 1123.
101. Akoglu, B., Lafferton, B., Kalb, S., Yosuf, S. E., Herrmann, E., et al. Rejection quantity in kidney transplant recipients is associated with increasing intracellular interleukin-2 in CD8+ T-cells. *Transplant immunology* 2014, 31(1), 17-21.
102. Romagnani P, Crescioli C. CXCL10: A candidate biomarker in transplantation. *Clin Chim Acta* 2012; 413: 1364–1373.
103. Wang T-T, Nestel FP, Bourdeau V, et al. Cutting edge: 1,25-dihydroxyvitamin D3 is a direct inducer of antimicrobial peptide gene expression. *J Immunol* 2004; 173: 2909–2912.
104. Courbebaisse et al. VITamin D supplementation in renAL transplant recipients (VITALE): a prospective, multicentre, double-blind, randomized trial of vitamin D estimating the benefit and safety of vitamin D3 treatment at a dose of



- 100,000 UI compared with a dose of 12,000 UI in renal transplant recipients: study protocol for a double-blind, randomized, controlled trial. *Trials* 2014 15:430
105. Kahwaji J, Bunnapradist S, Hsu JW, et al: Cause of death with graft function among renal transplant recipients in an integrated healthcare system. *Transplantation* 2011;91: 225–230.
106. Keyzer CA, Riphagen IJ, Joosten MM, et al: Associations of 25(OH) and 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D with long-term outcomes in stable renal transplant recipients. *J Clin Endocrinol Metab* 2015;100:81–89.
107. Li YC, Kong J, Wei M, Chen ZF, Liu SQ, Cao LP: 1,25-dihydroxyvitamin D(3) is a negative endocrine regulator of the renin-angiotensin system. *J Clin Invest* 2002, 110(2):229–238.
108. Zhang Y, Kong J, Deb DK, Chang A, Li YC: Vitamin D receptor attenuates renal fibrosis by suppressing the renin-angiotensin system. *J Am Soc Nephrol* 2010, 21(6):966–973.
109. Park, Y. J., Kim, S. U., Lee, K. H., Lee, J. H., Kwon, E., et al. Vitamin D deficiency is associated with increased risk of bacterial infections after kidney transplantation. *The Korean journal of internal medicine* 2017, 32(3), 505.
110. Wissing KM, Broeders N, Moreno-Reyes R, Gervy C, Stallenberg B, Abramowicz D: A controlled study of vitamin D<sub>3</sub> to prevent bone loss in renal-transplant patients receiving low doses of steroids. *Transplantation* 2005, 79:108–115.
111. Courbebaisse M, Thervet E, Souberbielle JC, Zuber J, Eladari D, Martinez F, Mamzer-Bruneel MF, Urena P, Legendre C, Friedlander G, Prié D: Effects of vitamin D supplementation on the calcium-phosphate balance in renal transplant patients. *Kidney Int* 2009, 75:646–651.
112. Courbebaisse et al. VITamin D supplementation in renAL transplant recipients (VITALE): a prospective, multicentre, double-blind, randomized trial of vitamin D estimating the benefit and safety of vitamin D<sub>3</sub> treatment at a dose of 100,000 UI compared with a dose of 12,000 UI in renal transplant recipients: study protocol for a double-blind, randomized, controlled trial. *Trials* 2014 15:430.
113. Benaboud S, Urien S, Thervet E, Prié D, Legendre C, Souberbielle JC, Hirt D, Friedlander G, Treluyer JM, Courbebaisse M: Determination of optimal cholecalciferol treatment in renal transplant recipients using a population pharmacokinetic approach. *Eur J Clin Pharmacol* 2013, 69:499–506.

114. Vieth R: Vitamin D toxicity, policy, and science. *J Bone Miner Res* 2007, 22:64–68.
115. serum 25-hydroxyvitamin D and calcium absorption. *J Clin Endocrinol Metab* 2002, 87:4952–4956.
116. Heaney RP, Davies KM, Chen TC, Holick MF, Barger-Lux MJ: Human serum 25-hydroxycholecalciferol response to extended oral dosing with cholecalciferol. *Am J Clin Nutr* 2003, 77:204–210.
117. Donate-Correa, J., Henríquez-Palop, F., Martín-Núñez, E., Hernández-Carballo, C., Ferri, C., et al. Anti-inflammatory profile of paricalcitol in kidney transplant recipients. *Nefrología* 2017; 37(6):622-629.
118. Sistema Informativo del Sistema Nacional de Trasplantes. Reporte anual 2018 de la donación y trasplantes en México. México: Secretaría de Salud/Centro Nacional de Trasplantes (2018). [https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/427652/Presentacion\\_anual\\_2018.pdf](https://www.gob.mx/cms/uploads/attachment/file/427652/Presentacion_anual_2018.pdf)
119. Hesketh, C. C., Knoll, G. A., Molnar, A. O., Tsampalieros, A., & Zimmerman, D. L. Vitamin D and kidney transplant outcomes: a protocol for a systematic review and meta-analysis. *Systematic reviews* 2014, 3(1), 64.

**ANEXOS:**

**CARTA DE ANUENCIA CON IMPLICACIONES DE BIOSEGURIDAD.**

Quien suscribe, VICTORIA MENDOZA ZUBIETA, JEFE DE SERVICIO DE ENDOCRINOLOGIA, con número de matrícula 9950699, adscrito(a) a SERVICIO DE ENDOCRINOLOGIA, HOSPITAL DE ESPECIALIDADES CMN SXXI, hace constar que el protocolo titulado EFECTOS DE LA NORMALIZACIÓN DE VITAMINA D SOBRE CITOCINAS INFLAMATORIAS Y HORMONAS CALCITRÓPICAS EN EL PACIENTE CON TRASPLANTE RENAL, del cual es responsable, TIENE IMPLICACIONES DE BIOSEGURIDAD debido a que se trabajará con:

- ( X ) Material biológico infecto-contagioso: sangre periférica y sus derivados
- ( ) Cepas patógenas de bacterias o parásitos:
- ( ) Virus
- ( ) Material radiactivo
- ( ) Animales y/o células y/o vegetales genéticamente modificados
- ( ) Sustancias tóxicas, peligrosas o explosivas
- ( x ) Material que puede poner en riesgo la salud o la integridad física del personal de salud o los derecho-habientes del IMSS o afectar al medio ambiente. Administración de cápsulas de vitamina D, colecalciferol, dosis de 5000 UI al día.
- ( ) Animales (de laboratorio, granja o vida silvestre)
- ( ) Trasplante de células, tejidos u órganos
- ( ) Terapia celular

Asimismo, declara que conoce, ha leído y cumplirá las normas, reglamentos y manuales de bioseguridad que apliquen al proyecto:

- a) NOM-087-ECOL-SSA1-2002, Protección ambiental. Salud ambiental. Residuos peligrosos biológico-infecciosos. Clasificación y especificaciones de manejo.
- b) NOM-052-SEMARNAT-2005, Que establece las características, el procedimiento de identificación, clasificación y los listados de los residuos peligrosos.
- c) NOM-012-SSA3-2012: Que Establece los Criterios para la Ejecución de Proyectos de Investigación para la Salud en Seres Humanos.
- d) REGLAMENTO de la Ley General de Salud en Materia de Investigación para la Salud.
- e) Título quinto, Investigación para la Salud, artículos 95, 96, 97,98, 99, 100, 101, 102, 103 y demás relativos en la Ley General de Salud.
- f) Manual de Procedimientos para el manejo y control de residuos Biológico-infecciosos Toxico-peligrosos en Unidades de atención médica del IMSS
- g) Lineamientos generales para la utilización de sustancias químicas y peligrosas.

También manifiesta que existe evidencia documental auditable de que:

- a) Se cuenta con los permisos y/o licencias oficiales que se requieran para llevar a cabo el trabajo propuesto.
- b) Las instalaciones de los laboratorios involucrados se encuentran en estado satisfactorio de operación y son adecuadas para llevar a cabo el trabajo propuesto.
- c) El equipo a utilizar se encuentra en estado satisfactorio de operación.
- d) Existen dispositivos personales de protección que se encuentran en estado satisfactorio de operación.
- e) Los involucrados en el proyecto, incluyendo a los estudiantes que participen en el mismo, han recibido la capacitación necesaria para trabajar con el material señalado anteriormente.
- f) Se mantendrán las condiciones adecuadas de instalaciones, equipo y personal durante el desarrollo del proyecto y que el protocolo se suspenderá en caso de haber alguna irregularidad.

---

DRA. VICTORIA MENDOZA ZUBIETA



**HOJA DE RECOLECCIÓN DE DATOS**  
**EFFECTOS DE LA NORMALIZACIÓN DE VITAMINA D SOBRE CITOCINAS INFLAMATORIAS Y HORMONAS**  
**CALCIOTRÓPICAS EN EL PACIENTE CON TRASPLANTE RENAL**

Folio: \_\_\_\_\_ Fecha de captura: \_\_\_\_\_

**Ficha de identificación del paciente**

Nombre: \_\_\_\_\_ Afiliación: \_\_\_\_\_

Sexo: M  F  Ocupación: \_\_\_\_\_

Teléfono: ( ) \_\_\_\_\_

Edad: \_\_\_\_\_ Peso: \_\_\_\_\_ Talla: \_\_\_\_\_ IMC: \_\_\_\_\_ Cintura: \_\_\_\_\_ Cadera: \_\_\_\_\_

**Antecedentes familiares**

Diabetes mellitus Sí  No  Hipertensión Sí  No  Dislipidemia Sí  No   
 Litiasis Sí  No  Osteoporosis Sí  No  Cardiopatía Sí  No   
 Enfermedad autoinmune Sí  No  Cáncer Sí  No  Tumor endocrino Sí  No   
 Hiperparatiroidismo Sí  No   
 Enfermedad renal Sí  No  ¿cuál y en quiénes? \_\_\_\_\_  
 Enfermedad tiroidea Sí  No  ¿cuál y en quiénes? \_\_\_\_\_  
 Otras Sí  No  \_\_\_\_\_

**Antecedentes personales**

Diabetes mellitus Sí  No  Hipertensión Sí  No  Dislipidemia Sí  No   
 Cardiopatía Sí  No  Peso bajo Sí  No  Obesidad Sí  No   
 Enfermedad autoinmune Sí  No  Cáncer Sí  No  Tumor endocrino Sí  No   
 Insuficiencia renal Sí  No  Radiación Sí  No   
 Medicamentos que alteren metabolismo óseo Sí  No   
 ¿Cuáles medicamentos, dosis y tiempo? \_\_\_\_\_  
 Tabaquismo Sí  No  tiempo \_\_\_\_\_ # cigarros/día \_\_\_\_\_  
 Consumo de alcohol Sí  No  tiempo \_\_\_\_\_ # bebidas/día \_\_\_\_\_  
 Cancerígenos Sí  No  ¿cuáles? \_\_\_\_\_ IVU repetición Sí  No   
 Litiasis Sí  No  ¿cuántas ocasiones? \_\_\_\_\_  
 Hiperparatiroidismo Sí  No  ¿1°, 2° o 3°? \_\_\_\_\_  
 En caso de ser positivo: Fecha de diagnóstico \_\_\_\_\_, Tratamiento y fecha \_\_\_\_\_  
 ¿Alérgicos o reacciones adversas medicamentosas? Sí  No   
 Otros Sí  No  \_\_\_\_\_

**ENFERMEDAD RENAL Y TRASPLANTE**

Fecha de diagnóstico de ERC (no KDOQI V): \_\_\_\_\_ Edad al Dx: \_\_\_\_\_

Fecha de diagnóstico de ERC KDOQI V: \_\_\_\_\_

Etiología de ERC: \_\_\_\_\_

Tratamiento sustitutivo de la función renal: Sí  No

Diálisis peritoneal: Sí  No  Modalidad: \_\_\_\_\_ Tiempo: \_\_\_\_\_

Hemodiálisis: Sí  No  Tiempo: \_\_\_\_\_

**DATOS SOBRE TRASPLANTE:**

Fecha de evaluación por clínica de trasplante: \_\_\_\_\_

Fecha de evaluación por clínica de metabolismo óseo endocrinología: \_\_\_\_\_

Fecha de trasplante renal: \_\_\_\_\_

Donador vivo relacionado  Donador vivo NO relacionado  Donador cadavérico  Otro

¿Cuál? \_\_\_\_\_

Medicamentos pre trasplante (nombre y dosis):

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

\_\_\_\_\_

Medicamentos post trasplante (nombre y dosis): \_\_\_\_\_

Complicaciones durante la cirugía de trasplante: Sí  No  ¿Cuál?: \_\_\_\_\_

Complicaciones durante el post trasplante: Sí  No  ¿Cuál?: \_\_\_\_\_

Presentó rechazo renal: Sí  No  ¿Cuál?: \_\_\_\_\_

Resultados de laboratorio más relevantes pre trasplante renal.

Urea		Potasio		LDL		TSH	
Creatinina		Cloro		Ac. úrico		T4libre	
Glucosa		Triglicéridos		Hemoglobina		FSH	
Albúmina		Colesterol total		Leucocitos		LH	
Sodio		HDL		Plaquetas		E2/T	

Resultados de laboratorio más relevantes post trasplante renal.

Urea		Potasio		LDL		TSH	
Creatinina		Cloro		Ac. úrico		T4libre	
Glucosa		Triglicéridos		Hemoglobina		FSH	
Albúmina		Colesterol total		Leucocitos		LH	
Sodio		HDL		Plaquetas		E2/T	

### METABOLISMO MINERAL ÓSEO Y VITAMINA D.

Antecedente de deficiencia/insuficiencia de Vitamina D antes del trasplante: Sí  No

Fecha de diagnóstico: \_\_\_\_\_ Tratamiento: Sí  No  Tipo de tratamiento:

**Post trasplante renal:**

Presenta deficiencia/insuficiencia de Vitamina D: Sí  No

Fecha de diagnóstico: \_\_\_\_\_ Tratamiento: Sí  No

Fecha de inicio de tx: \_\_\_\_\_ Tipo de tratamiento y dosis:

Fecha de normalización de Vitamina D: \_\_\_\_\_ Tiempo de logro de normalización:

\_\_\_\_\_ Dosis a la que normalizó 25OHD: \_\_\_\_\_

Laboratorios post trasplante renal (antes de sustitución con vitamina D3).

Urea		Fosforo		Interleucina 10			
Creatinina		Magnesio		TNF- $\alpha$		25OHD	
Albúmina		PTHi		Fosfatasa alcalina		Calcio u	
Calcio		Interleucina 1		PTH		Fosforo u	
Calcio corr		Interleucina 6		IL 2			

Laboratorios post normalización de vitamina D

Urea		Fosforo		Interleucina 10			
Creatinina		Magnesio		TNF- $\alpha$		25OHD	
Albúmina		PTHi		Fosfatasa alcalina		Calcio u	
Calcio		Interleucina 1		PTH		Fosforo u	
Calcio corr		Interleucina 6					