



**Universidad de Cantabria
Facultad de Medicina
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y PSIQUIATRÍA**

**Factores no tradicionales de riesgo
vascular en pacientes en hemodiálisis:
metabolismo mineral, inflamación y
oxidación**

Santander 2015



Universidad de Cantabria
Facultad de Medicina
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y PSIQUIATRÍA

Tesis doctoral

**Factores no tradicionales de riesgo
vascular en pacientes en hemodiálisis:
metabolismo mineral, inflamación y
oxidación**

presentada por

María Jesús Izquierdo Ortiz

Licenciada en Medicina y Cirugía

Para optar al grado de

**DOCTOR POR LA
UNIVERSIDAD DE CANTABRIA**

Director:

Angel Martín de Francisco Hernandez

Santander 2015



**Facultad de Medicina
DEPARTAMENTO DE MEDICINA Y PSIQUIATRÍA**

D. ANGEL MARTÍN DE FRANCISCO HERNANDEZ, Catedrático de Nefrología de la Universidad de Cantabria; en su calidad de director de la tesis doctoral

CERTIFICA QUE,

El trabajo de investigación titulado **Factores no tradicionales de riesgo vascular en pacientes en hemodiálisis: metabolismo mineral, inflamación y oxidación.**

Presentado por **D. M^a JESÚS IZQUIERDO ORTIZ** para optar al grado de Doctor en Medicina y Cirugía, ha sido realizado en el Departamento de Medicina y Psiquiatría de la Universidad de Cantabria y en los servicios de Nefrología del Hospital Universitario “Marques de Valdecilla” y Hospital Universitario de Burgos bajo mi dirección.

Examinado el trabajo considero que está adecuadamente elaborado para lectura y defensa ante la Comisión que ha de juzgar la Tesis Doctoral.

Y para que conste donde convenga y surta los efectos oportunos, firmo y expido este certificado en Santander a 22 de Marzo de 2015.

Fdo. Dr. Angel Martín de Francisco Hernandez

*Dedicada a mi familia y en especial a mis hijos Nico
y Daniel, por el tiempo robado a sus juegos*

Agradecimientos

Quiero expresar mi más sincero agradecimiento a quienes de una forma u otra me han ayudado y apoyado en la realización de esta tesis y que han hecho posible la consecución de un reto profesional y personal.

Al Dr. Angel Martín de Francisco, por haberme dado la oportunidad de realizar esta tesis doctoral bajo su dirección sin ninguna objeción y depositar en mí su confianza desde el primer día. Por sus consejos y ayuda incondicional desde inicios de mi formación hasta la realización de esta tesis. Por hacerme partícipe de algunos de sus proyectos y por despertar en mí el entusiasmo de la investigación.

Al Dr. Manuel Arias Rodríguez, por haberme enseñado todo lo que un jefe debe tener y por haberme acogido de nuevo en su servicio para la realización de esta tesis.

Al Dr. Pedro Abaigar Luquin, por confiar en mí y en mi trabajo día tras día. Por su calidad humana y cercanía.

A las Dras. Pilar Muñiz y Mónica Cavia, por haberme ayudado en la elaboración de ciertas partes de esta tesis doctoral. Gracias a su trabajo en la unidad de Investigación y a la aportación de importantes resultados científicos.

A todos mis compañeros de trabajo del servicio de Nefrología del Hospital Marqués de Valdecilla y del Complejo Asistencial Universitario de Burgos, por el tiempo y dedicación compartido a la práctica clínica. Por los buenos momentos y enseñanzas compartidas.

Gracias a mis amigos, por estar ahí siempre que les he necesitado aportando su apoyo y comprensión en todo momento. Gracias a ti, Purificación, por ser una de las mejores cosas que me he encontrado en esta vida. Soy afortunada de tener tu amistad.

Por último, a mis padres y hermana por haberme enseñado a ser como soy y ayudarme a estar donde estoy. A mi marido por haber soportado con paciencia las grandes ausencias mientras realizaba esta tesis. A mis hijos, lo mejor que me ha pasado en esta vida, por darme la fuerza cada día para seguir adelante, por sus abrazos y cariño incondicionales.

A todas aquellas personas y amigos que no he citado y que de alguna forma han contribuido a que esta tesis llegue a buen término.

A todos muchas gracias.

INDICE GENERAL

1. INTRODUCCIÓN	13
1.1 MORBIMORTALIDAD CARDIOVASCULAR EN LA ENFERMEDAD RENAL CRONICA	16
1.1.1.HIPERTROFIA VENTRICULAR IZQUIERDA.....	20
1.1.2.ENFERMEDAD MACROVASCULAR O DE GRANDES ARTERIAS.....	22
1.2 ALTERACIONES EN EL METABOLISMO FOSFO-CÁLCICO. HIPERPARATIROIDISMO SECUNDARIO	25
1.2.1.CONSECUENCIAS DE LAS ALTERACIONES EN EL METABOLISMO ÓSEOMINERAL.....	38
1.3 INFLAMACIÓN EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA	47
1.3.1.FACTORES TRADICIONALES DE LA INFLAMACIÓN	47
1.3.2.FACTORES NO TRADICIONALES DE LA INFLAMACIÓN	50
1.3.3.MARCADORES GENERALES DE LA INFLAMACIÓN.....	54
1.4 MECANISMOS DE OXIDACIÓN EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRONICA	71
1.4.1.CONCEPTO	71
1.4.2.ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO Y DEL NITRÓGENO... 71	
1.4.3.EFECTOS BIOQUÍMICOS Y FISIOLÓGICOS DEL ESTRÉS OXIDATIVO	77
1.4.4.SISTEMAS ANTIOXIDANTES	80

1.4.5.EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE	85
1.4.6.ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.....	86
1.5 TRATAMIENTO DE LAS ALTERACIONES DEL METABOLISMO MINERAL Y SU EFECTO SOBRE LA INFLAMACIÓN-OXIDACIÓN EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA	91
1.5.1.RECOMENDACIONES DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NEFROLOGÍA PARA EL MANEJO DE LAS ALTERACIONES DEL METABOLISMO ÓSEO-MINERAL EN LOS PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA (S.E.N.-MM)	91
1.5.2.DISTINTAS OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA LAS ALTERACIONES DEL METABOLISMO MINERAL EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.....	97
2. JUSTIFICACIÓN GENÉRICA DEL TEMA.....	121
3. HIPÓTESIS.....	127
4. OBJETIVOS	131
5. RESULTADOS.....	135
6. DISCUSIÓN.....	151
7. CONCLUSIONES.....	159
8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS.....	163
9. PUBLICACIONES.....	203
10. ABREVIATURAS	229

1. INTRODUCCIÓN

Se define enfermedad renal crónica (ERC) como una disminución de la función renal, expresada por un filtrado glomerular estimado (FGe) o por un aclaramiento de creatinina estimados $< 60 \text{ ml/min/1,73m}^2$, o como la presencia de daño renal de forma persistente durante al menos tres meses. Daño renal, que puede ser identificado a través de marcadores séricos alterados, sedimento urinario patológico y/o alteraciones morfológicas en las pruebas de imagen.

El término de enfermedad renal crónica terminal (ERCT), se ha utilizado fundamentalmente para referirse a la situación subsidiaria de iniciar tratamiento sustitutivo de la función renal (Levey AS 2003).

La National Kidney Foundation estadounidense ha propuesto a través de las guías de práctica clínica K/DOQI (*Kidney Disease Outcomes Quality Initiative*) una definición y una clasificación de la ERC con los objetivos, entre otros, de aunar criterios y facilitar de forma sencilla y práctica el diagnóstico precoz de la enfermedad independientemente de la causa original.

Proponen estimar el grado de función renal mediante fórmulas como la ecuación modificada del estudio MDRD (Modification of Diet in Renal Disease) o la fórmula de Cockcroft-Gault (Levey AS. 2005).

En Enero del 2013, las guías KDIGO publican una actualización de las anteriores guías las cuales confirman la definición previa de ERC, pero además de considerar los estadios de filtrado glomerular (G1 a G5) añaden tres grados de albuminuria (A1 a A3) y la causa de la ERC

La causa de la ERC se establecerá según la presencia o ausencia de una enfermedad sistémica con potencial afectación renal o mediante las alteraciones anatomopatológicas observadas o presuntas (Kidney Disease 2012, 2013).

Según esto, la función renal queda clasificada en 5 estadios según se muestra en la **Tabla1**.

Categorías del FG		
Categoría	FG ^b	Descripción
G1	≥ 90	Normal o elevado
G2	60-89	Ligeramente disminuido
G3a	45-59	Ligera o moderadamente disminuido
G3b	30-44	Moderada o gravemente disminuido
G4	15-29	Gravemente disminuido
G5	< 15	Fallo renal
Categorías de albuminuria		
Categoría	Cociente A/C ^c	Descripción
A1	< 30	Normal o ligeramente elevada
A2	30-300	Moderadamente elevada
A3	> 300	Muy elevada ^d

Tabla 1. Clasificación en grados de la enfermedad renal crónica. La clasificación de la ERC se basa en la causa y en las categorías del FG y de la albuminuria. (Nefrología 2014; 34(3):302-16)

1.1.MORBIMORTALIDAD CARDIOVASCULAR EN LA ENFERMEDAD RENAL CRONICA

Al igual que en la población general, la enfermedad cardiovascular es la principal causa de muerte en pacientes con enfermedad renal en estadio terminal, representando algo más del 40% de la mortalidad total (Foley RN 1998) (**Figura 1**). La esperanza de vida se reduce drásticamente en pacientes con ERCT en comparación con la población general, lo que sugiere que la incidencia y letalidad de las enfermedades cardiovasculares es mayor en este tipo de pacientes. De hecho, se sabe que la mortalidad total por causa cardiovascular se incrementa de 20 a 30 veces más con respecto a la población general. (Foley RN 1998) (**Figuras 2 y 3**).

El riesgo de accidentes cardiovasculares no fatales, también es 10-30 veces mayor en pacientes con ERCT que en el resto de la población (Levey AS. 1998). El informe más trascendente del riesgo de muerte en pacientes renales por daño cardiovascular fue el de Foley y colaboradores en 1998, (Foley RN. 1998); donde se analizaron dos poblaciones; una en diálisis y otra control sin daño renal, en sujetos con edades que oscilaron de 25 a 85 años, tanto negros como

blancos. El riesgo de muerte aumentó entre los 25 y los 34 años de edad casi 500% en los pacientes en diálisis, sin importar la raza; a partir de esa edad, el riesgo se fue reduciendo de forma progresiva hasta después de los 85 años, en que la diferencia fue menor entre ambas poblaciones, pero todavía significativa.

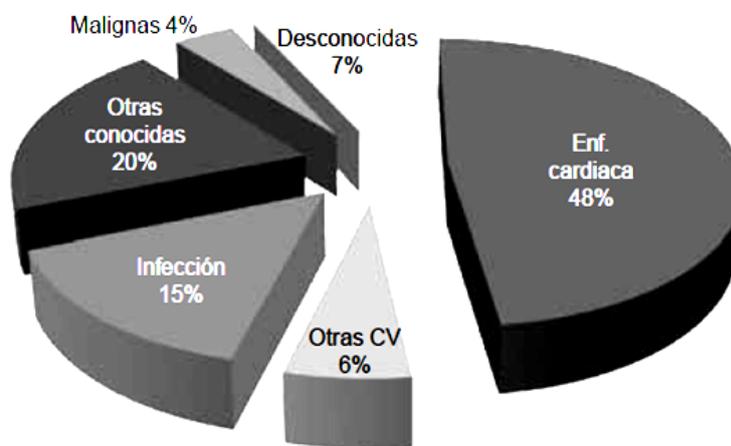


Figura 1; Diferentes causas de muerte en pacientes con Insuficiencia Renal Crónica. Destacan con cerca del 50% las enfermedades cardiacas, según el registro de los Estados Unidos de Norteamérica sobre Enfermedades Renales, del año 2005 (Foley RN. 1998)

Los pacientes con ERCT son por lo tanto más propensos a la progresión o al desarrollo de patología cardiovascular con respecto a la población general (Herzog CA. 1998).

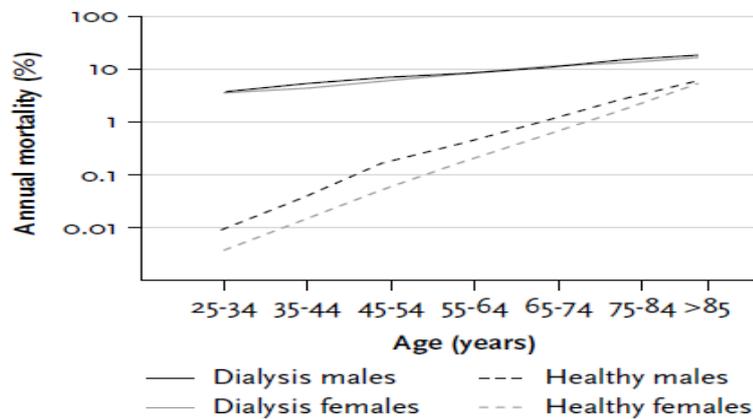


Figura 2. Epidemiología de la enfermedad cardiovascular en pacientes de hemodiálisis (Foley RN. 1998)

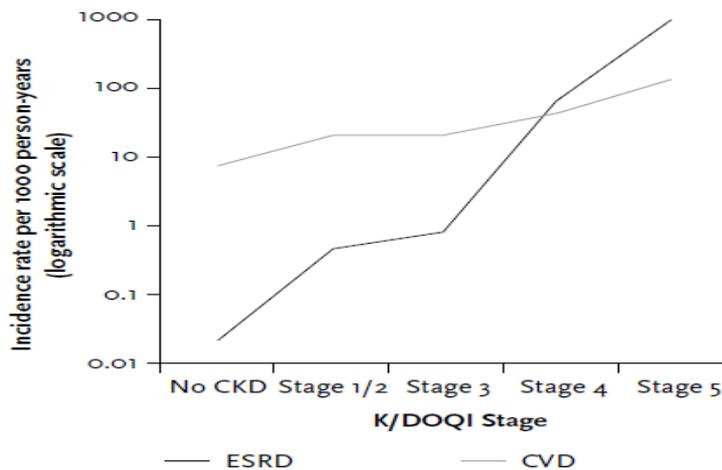


Figura 3 Incidencia de enfermedad cardiovascular a lo largo de los distintos estadios de enfermedad renal (Foley RN. 1998)

No solo la ERCT está envuelta en una mayor patología cardiovascular, esta patología está ya presente en etapas muy tempranas de enfermedad renal, con una tasa de filtración glomerular de aproximadamente 75 ml / min, incrementándose de forma continua con la disminución de la función renal (**Figura 4**) (Vanholder R. 2005). Distintos estudios han demostrado que los pacientes con enfermedad renal crónica moderada tienen ya en su mayoría patología coronaria sobreañadida (Hyre AD. 2007).

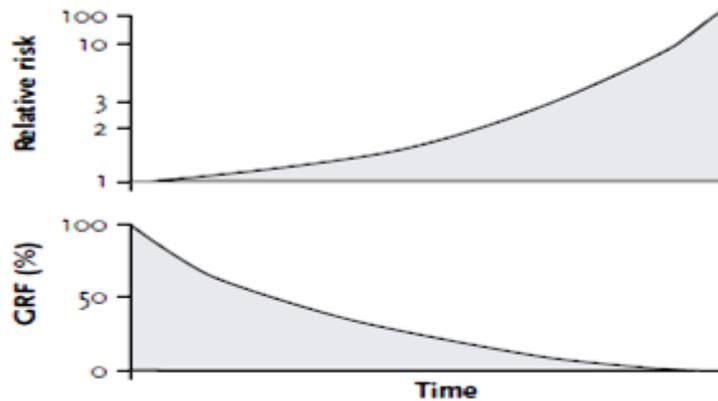


Figura 4. Relación TFG con patología cardiovascular
(Vanholder R. 2005)

La enfermedad vascular isquémica es generalmente el resultado final de la aterosclerosis. La retención de las lipoproteínas y la inflamación desempeñan un papel en la fase temprana de esta enfermedad que conduce a un estrechamiento arterial, mientras que más tarde la inflamación está implicada en la ruptura de la placa y trombosis (Fuster V 2005).

Aproximadamente el 60 % de todas las muertes cardíacas en pacientes de diálisis se atribuyen a un paro cardíaco. La enfermedad arterial coronaria desconocida o arritmia, (Herzog Ca 2008) la tolerancia disminuida a la isquemia miocárdica, la hipertrofia ventricular izquierda, la fibrosis miocárdica isquémica, cambios electrolíticos rápidos y trastornos en la función autonómica entre otros pueden contribuir a este aumento de muertes por causa cardíaca.

Las complicaciones cardiovasculares que sufren los pacientes con ERC podrían ser divididas en dos grandes bloques para un mejor entendimiento:

1.1.1 Hipertrofia ventricular izquierda, que junto con las alteraciones en el remodelado cardíaco y la fibrosis miocárdica constituye la lesión más prevalente en la enfermedad renal crónica.

1.1.2 Enfermedad macrovascular o de grandes arterias, que a su vez se divide en:

- A. Aterosclerosis caracterizada por la formación de la placa en la capa íntima arterial
- B. Arteriosclerosis o lesión de la capa media, que confiere una rigidez aumentada del árbol arterial.

1.1.1. HIPERTROFIA VENTRICULAR IZQUIERDA (HVI)

La hipertrofia miocárdica es un mecanismo de adaptación del músculo cardíaco a un exceso mantenido de trabajo por sobrecarga de presión o de volumen. Se produce un aumento del grosor de la pared y de la cavidad ventricular, así como una alteración en el remodelado cardíaco y fibrosis miocárdica (Mall G. 1988). Estas alteraciones morfológicas originan un desequilibrio entre el aumento en la demanda de oxígeno condicionado por la propia hipertrofia y el aporte reducido que las alteraciones en la microcirculación del miocardio ocasionan (London G. 1998). Los resultados clínicos más evidentes son la aparición de sintomatología isquémica, incluso sin lesiones aparentes en las arterias coronarias, la disfunción ventricular sistólica y diastólica, la aparición frecuente de arritmias e incluso la muerte súbita.

Hasta un 74% de los pacientes que comienzan a dializarse ya presentan esta alteración (Foley RN. 1995), lo que sugiere que las causas implicadas en su desarrollo juegan un papel importante en la fase prediálisis. Un estudio canadiense demostró como pacientes con aclaramiento de creatinina superior a 50 ml/minuto, la prevalencia de HVI era del 26,7%; en aquellos con valores entre 25-50 ml/minuto era del 30,8% y en pacientes con aclaramiento de creatinina inferior a 25 ml/minuto aumentaba hasta un 45,2%¹⁰, confirmando la relación inversa entre el grado de HVI y la función renal.

Como factores predictores de HVI encontramos la **hipertensión arterial (HTA)**, **anemia**, **acceso vascular**, **sobrecarga de volumen**, **hiperparatiroidismo**, **hipoalbuminemia** y la **edad**, este último mas relacionado con la disfunción sistólica (Greaves SC. 1994). La relación entre **HTA** e HVI en pacientes con ERC no queda aún bien establecida. Existen estudios clínicos y experimentales que demuestran que la HVI puede desarrollarse en pacientes normotensos (Dahan M. 1997). Otros estudios concluyen que la tensión arterial baja conlleva

un mayor riesgo de mortalidad en pacientes en hemodiálisis (Zager PG. 1997) y otros que por cada 10 mmHg de aumento en la tensión arterial media en pacientes en diálisis, el riesgo relativo de HVI concéntrica es de 1,48 veces más (Foley RN. 1996). De todos estos datos se puede concluir que la hipertensión es un factor de riesgo de HVI y de mortalidad y que la hipotensión en hemodiálisis, puede ser el resultado de una gran comorbilidad, asociándose a mayor riesgo de mortalidad (Mazzuchi N. 2000). Todo esto apoyado de que la existencia de tratamiento antihipertensivo puede inducir una regresión parcial de la HVI en pacientes con ERC y por lo tanto de la mortalidad (Dydakic AI 1997).

En cuanto a la **anemia**, se sabe que la disminución de los niveles de hemoglobina produce un estado circulatorio hiperdinámico con vasodilatación y aumento del gasto cardíaco, que contribuye al aumento del tamaño cardíaco. Varios estudios demuestran que la anemia se comporta como un factor de riesgo independiente en el desarrollo de la HVI excéntrica tanto en diálisis como en prediálisis (Foley RN. 1996) y además, es un factor de riesgo importante en la mortalidad global y cardíaca de pacientes en diálisis (Ma JZ. 1999). La corrección de la anemia con factores estimuladores de la eritropoyesis (EPO) en pacientes en hemodiálisis (Silberberg J. 1990) como en prediálisis (Portolés J. 1997) puede acompañarse de una disminución de la HVI. Sin embargo aun no existen evidencias sobre el nivel de hemoglobina recomendado para iniciar este tratamiento, ni el nivel óptimo a conseguir.

El **acceso vascular** de los pacientes en hemodiálisis es un factor que contribuye al desarrollo de la HVI (Kooman JP. 1993). Las células cardíacas disponen de receptores específicos para la hormona paratiroidea (PTH) (Ureña P. 1993) por lo que el **hiperparatiroidismo secundario** pueden ser otro factor asociado en la patogenia de la HVI (Smogorzewski M. 1997). Además, la PTH puede jugar un cierto papel en la muerte de los miocitos y en el desarrollo de la fibrosis intersticial del miocardio como se verá más adelante (Amann K. 1994). Pacientes con hiperparatiroidismo secundario, tratados con calcitriol intravenoso parece disminuir la masa del ventrículo izquierdo y en casos de hiperparatiroidismo severo, la paratiroidectomía puede acompañarse de una regresión parcial del tamaño ventricular (Pak CW. 1999). Por otro lado niveles elevados del producto calcio-fósforo pueden contribuir a generar calcificaciones

en miocardio, válvulas cardíacas y en microcirculación coronaria que puede contribuir a la miocardiopatía isquémica no aterosclerótica (Lopez-Gomez JM 1997). Por ultimo, la **hipoalbuminemia** puede asociarse a una dilatación del ventrículo izquierdo, al desarrollo de cardiopatía isquémica, insuficiencia cardíaca de novo y recurrente así como al riesgo de mortalidad (Foley RN. 1996). Sin embargo, no está claro como debe interpretarse este hallazgo, ya que puede ser un factor de malnutrición, de inflamación crónica o potencialmente cardiogénica por si sola.

1.1.2. ENFERMEDAD MACROVASCULAR O DE GRANDES ARTERIAS

A. ATEROSCLEROSIS

La aterosclerosis es una alteración caracterizada por la presencia de placas de ateroma en arterias principalmente de mediano tamaño, con una distribución irregular, que se desarrolla primariamente en la capa íntima, y que es responsable de isquemia y/o infarto distalmente a la lesión. Distintos estudios parecen demostrar que es el estado urémico el que conlleva una aterosclerosis acelerada mas que la situación de diálisis per se, que también (Jungers P. 1999 y Joki N. 1999). Alteraciones del metabolismo calcio-fósforo, el hiperparatiroidismo o la sobrecarga cálcica debida a la utilización de sales de calcio como quelantes del fósforo podrían estar implicados en la tendencia exagerada a calcificar las placas de ateroma de estos pacientes.

Entre los factores de riesgo de aterosclerosis, se incluyen los propios de la población general como la edad, la dislipemia, la diabetes o la resistencia a la insulina, la hipertensión y el estrés mecánico o el tabaquismo, y otros propios de la enfermedad renal como la uremia, inflamación, malnutrición, estrés oxidativo, hiperhomocisteinemia, la acumulación de inhibidores endógenos de la síntesis de óxido nítrico, o las alteraciones del metabolismo calcio-fósforo y el hiperparatiroidismo (Huysmans K. 1998 y Kielstein JT. 1999).

B. ARTERIOSCLEROSIS

Es una situación caracterizada por un remodelado generalizado del árbol vascular. Se desarrolla primariamente en la capa media, y su principal

consecuencia es la rigidez arterial. A medida que las arterias se hacen más rígidas, la velocidad de la onda de pulso aumenta y es responsable del retorno precoz de las ondas reflejadas desde la periferia a la aorta ascendente durante la sístole, produciendo un aumento anormal de la presión sistólica aórtica, un descenso de la presión diastólica y el aumento consiguiente de la presión de pulso. Este remodelado anormal conduce a un aumento de la postcarga del ventrículo izquierdo y una perfusión coronaria alterada (London GM. 1996). Las consecuencias principales de estos cambios son la HVI concéntrica, ya comentada anteriormente, el agravamiento de la isquemia coronaria y un aumento de la fatiga de la pared vascular arterial (Brahimi M. 2000). El remodelado vascular en los pacientes urémicos se caracteriza por dilatación e hipertrofia de la pared de las grandes arterias (London GM. 1996). Afecta principalmente a las arterias elásticas como la aorta o la carótida común (Kawagishi T. 1995), es menos pronunciado en arterias periféricas de tipo muscular, como la arteria radial (Mourad JJ. 1997). Se observa un aumento del grosor de la íntima-media a nivel de aorta, carótida común o arterias coronarias (Pannier B. 2000).

Los factores asociados con rigidez arterial más frecuentemente observados en pacientes urémicos son las alteraciones del metabolismo calcio-fósforo y de la función paratiroidea. En los pacientes urémicos se ha descrito que la velocidad de la onda de pulso aórtica se asocia con calcificación de la capa media de la aorta y un aumento del producto fofocálcico (Guerin AP. 2000). Asimismo la distensibilidad de la arteria carótida común se relaciona con los niveles de PTH o el grado de calcificación de la misma (Barenbrock M. 1994), sugiriendo que la calcificación arterial y las alteraciones del metabolismo calcio-fósforo juegan un papel importante en la rigidez arterial que presentan estos pacientes.

Se han desarrollado múltiples estrategias terapéuticas con el fin de disminuir estas enfermedades cardiovasculares, tales como el aumento de la dosis de diálisis (Eknoyan G 2002 y Paniagua R 2002) terapias de disminución de la homocisteína (Jamison RL 2007), intensificación de la nutrición (Cano NJ 2007), nuevas estatinas como tratamiento hipolipemiante (Wanner C 2005), tratamiento con inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (Zannad F 2006) y

normalización de la hemoglobina con eritropoyetina (Drueke TB 2006 y Singh AK 2006). Si bien algunas de estas intervenciones tienen significativos efectos beneficiosos sobre la incidencia de la enfermedad cardiovascular en la población general, no han mostrado un beneficio tan claro cuando son aplicadas a pacientes con ERCT. La razón de la falta de beneficio de estas intervenciones en estos pacientes es poco clara.

Se podría postular así que los factores de riesgo implicados en la aterogénesis de pacientes con enfermedad renal son marcadamente diferentes a los de la población general o que el desarrollo de la aterosclerosis en estos pacientes es tan avanzado que se ha vuelto resistente a las terapias que se han utilizado. Podríamos pensar que la reducción de la función renal y riesgo cardiovascular pueden ser explicados ambos en parte por la aterosclerosis intrarrenal (la enfermedad renal isquémica) que se genera. Sin embargo, se ve que incluso los pacientes con otro tipo de enfermedad renal primaria, como puede ser la poliquistosis, tienen también un riesgo elevado de padecer patología cardiovascular (Fick GM. 1995 y Handa SP. 2006).

Todo ello nos conduce hacia la existencia de otros factores de riesgo que podrían ser llamados los *no tradicionales*, más allá de los ya conocidos como *tradicionales* (DM, edad, dislipidemia, hipertensión, tabaquismo, sedentarismo y estilo de vida) (Shlipak MG. 2005). Distintos estudios llevados a cabo sobre amplias poblaciones, como el estudio de Framingham (Muntner P. 2005) o el de Shlipak et al, reafirman la existencia de otros factores para explicar este riesgo cardiovascular (Shlipak MG. 2005).

Dilucidar el papel que juegan los factores de riesgo *tradicionales* con respecto a los *no tradicionales* y enfermedad cardiovascular se complica aún más si tenemos en cuenta que en este tipo de población ocurre el llamado fenómeno de la epidemiología inversa . Este fenómeno se refiere a alteraciones en lo que debería ser la relación normal entre factores de riesgo y el resultado clínico. Por ejemplo, en la diálisis pacientes con alto índice de masa corporal (IMC) y niveles más altos colesterol en suero, se correlacionan con una disminución de la morbilidad y mortalidad cardiovascular mientras que en el resto de población

ocurre lo contrario (Kalantar-Zadeh K. 2003). También la asociación entre la presión arterial, homocisteína sérica, hormona paratiroidea en suero, creatinina sérica y morbilidad cardiovascular muestran este fenómeno inverso en población de diálisis. Aun mas, se sabe que no solo la población sometida a terapia renal sustitutiva presenta este fenómeno, sino que también está presente en los pacientes con ERCT en situación de prediálisis (Kovesdy CP. 2007). Este hecho hace aún más difícil, llevar a cabo un tratamiento sobre los factores de riesgo *tradicionales* de manera adecuada y eficaz, ya que la determinación de un objetivo óptimo para los factores de riesgo como la presión arterial o el colesterol LDL entre otros, es incierta, especialmente en pacientes con ERC avanzada.

1.2.ALTERACIONES EN EL METABOLISMO FOSFO-CÁLCICO. HIPERPARATIROIDISMO SECUNDARIO.

Con la progresión de la ERC tiene lugar la aparición de alteraciones del metabolismo óseo y mineral. Estas alteraciones hacen referencia a modificaciones bioquímicas, esqueléticas y calcificaciones extraesqueléticas que ocurren como consecuencia de las alteraciones del metabolismo mineral en la ERC. Esta entidad clínica se denomina «*chronic kidney disease-mineral and bone disorder*» (CKD-MBD). Se caracteriza por una, o la combinación de las siguientes manifestaciones:

1. Anormalidades del calcio (Ca), fósforo (P), hormona paratiroidea y Vitamina D
2. Alteraciones en el remodelado, mineralización, volumen, crecimiento o fragilidad del esqueleto
3. Calcificaciones cardiovasculares o de otros tejidos blandos

Las alteraciones en los parámetros bioquímicos que condicionan estas modificaciones en el metabolismo mineral, ocurren de forma progresiva y paralela al deterioro del filtrado glomerular (Felsenfeld AJ. 1999 y Slatopolsky E. 2005). Con el deterioro progresivo de la función renal se produce un trastorno del metabolismo del calcio y fósforo, con disminución de los niveles de Calcitriol y aumento de los niveles de PTH y del factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF-23) (**Figura 5**).

El HPTS se desarrolla de forma precoz en el curso de la ERC, generalmente cuando el FGe disminuye por debajo de 60 ml/min/1,73m², en ese momento los niveles de Calcitriol ya han disminuido, por lo que siempre se ha sugerido que es el estímulo inicial para el desarrollo del HPTS, sin embargo recientes estudios apuntan que es el factor de crecimiento fibroblástico 23, el primer factor que comienza a detectarse elevado en sangre, desde ya filtrados que oscilan entre 90-75 ml/min/1,73m² (López I) (**Figura 6**).

El FGF-23 es un péptido producido fundamentalmente por los osteocitos que desempeña un papel fundamental para mantener los niveles de P en rango normal, gracias a su efecto fosfatúrico (Fukumoto S). La hiperfosforemia es su principal estímulo.

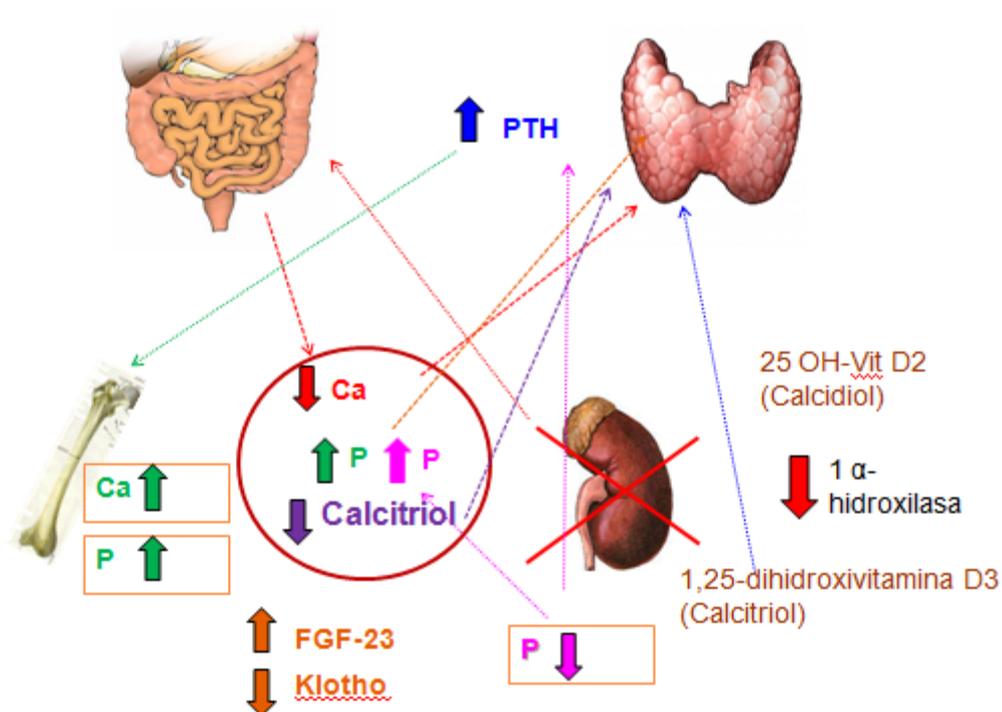


Figura 5. Interrelación y acciones sinérgicas entre la vitamina D, la PTH, el Ca, el P y el FGF-23 con su cofactor Klotho. PTH, hormona paratiroidea; Ca, calcio sérico; P, fósforo sérico; FGF-23, factor de crecimiento fibroblástico 23.

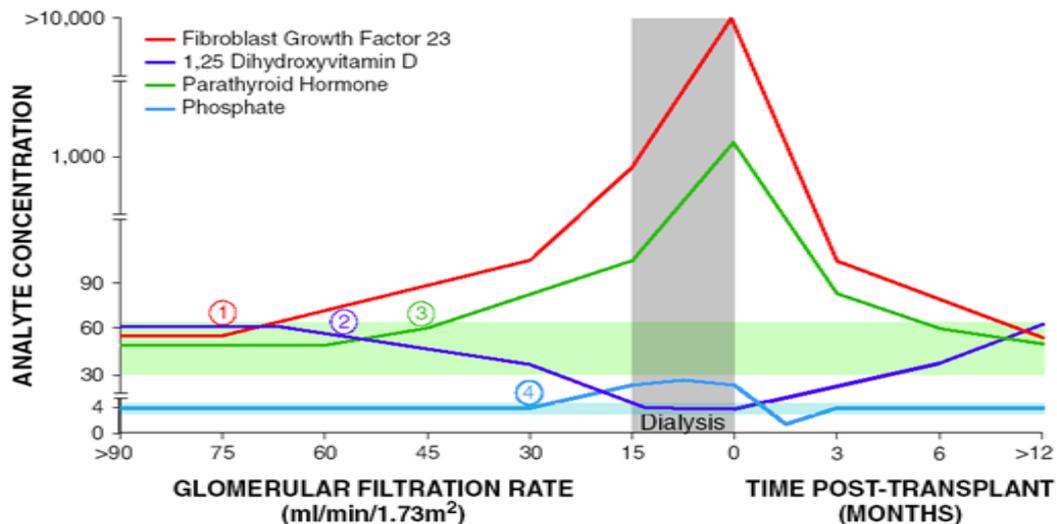


Figura 6. Modificaciones en los niveles de 1,25 dihidroxivitamina D₃ (Calcitriol), PTH, P y el FGF-23 a medida que descende el FGe. PTH, hormona paratiroidea; Ca, calcio sérico; P, fósforo sérico; FGF-23, factor de crecimiento fibroblástico 23; FGe, filtrado glomerular estimado (Cortesía de Valdivielso JM.).

Desglosaré a continuación cada uno de los factores implicados en estas alteraciones bioquímicas que tienen lugar a medida que descende el filtrado glomerular en la ERC, aunque como ya se viene apuntando cada una de ellos están interrelacionados, quedando aún muchas preguntas por resolver:

a) Retención de fósforo

Es el fósforo, uno de los principales implicados en todas las alteraciones metabólicas desencadenadas según se produce pérdida progresiva de la función renal. Cada vez son más las publicaciones que relacionan al P como causante directo del daño cardiovascular que se genera (Martínez Fernández I. 2009). En estadios precoces de la enfermedad renal, ERC estadio 3, no se observan todavía niveles séricos elevados de P, sin embargo si se objetiva un incremento en la fracción de excreción de P urinario, que no traduce otra cosa más que una sobrecarga corporal de éste. Esto nos indica que es ya desde estadios precoces de la enfermedad renal cuando estos desórdenes están teniendo lugar, como ya se ha mencionado anteriormente. No es hasta estadios más avanzados, ERC estadio 4 y 5, cuando la hiperfosforemia con elevación de la PTH queda

manifiesta. El incremento de los niveles de PTH se observa especialmente con filtrados glomerulares inferiores a 60 ml/min/1,73 m², esta hiperproducción de PTH tiene la finalidad de incrementar la excreción de P, tratando así de mantener normal la fosfatemia, resultando a largo plazo un mecanismo desadaptativo. En estadios avanzados de la ERC la PTH continua liberando fosforo del hueso, pero la merma de masa nefronal no puede excretar esta sobrecarga de P, lo que finalmente origina un balance positivo de P con el consiguiente daño vascular como se verá mas adelante (inducen la transformación de las células musculares lisas vasculares en células semejantes a osteoblastos con capacidad de formación de cristales de hidroxapatita y de otros órganos diana). Niveles elevados de P, se sabe, incrementan la expresión génica de la PTH, perpetuando el proceso. Por otro lado el P, además, disminuye los receptores de Ca (CaR) y vitamina D (VDR) (Dusso AS. 2005).

Por lo tanto, en resumen en cuanto al fósforo; cada vez son más las publicaciones que le relacionan como el causante directo del daño cardiovascular de estos pacientes; su incremento sérico solo se objetiva en estadios avanzados de enfermedad renal (ERC estadio 4 y 5), hasta entonces el poder fosfatúrico de la PTH y del FGF 23 junto con el bloqueo que genera este ultimo en su salida ósea y absorción intestinal, no permite su elevación en sangre. En consecuencia, no es un buen indicador precoz de alteración en el metabolismo fosfocálcico ni de inicio de HPTS, ya que la hiperfosforemia es infrecuente con FGe por encima de 20 ml/min. Niveles elevados de P, disminuyen los CaR y VDR favoreciendo la secreción y síntesis de PTH, perpetuando así el proceso.

b) Incremento del factor de crecimiento fibroblástico 23 y descenso de su cofactor Klotho

En los últimos tiempos está cobrando un papel fundamental el factor de crecimiento de fibroblastos 23, en todo este desequilibrio metabólico. El FGF-23 es una fosfatonina, producida por el hueso, de 251 aminoácidos, que tiene como misión mantener el fósforo sérico en niveles normales, disminuyendo su absorción tubular renal mediante la inhibición de la actividad del cotransportador

Na/P tipo II en túbulo proximal, incrementando la fosfaturia. Además, inhibe la actividad de la 1-alfa hidroxilasa reduciendo así la síntesis de 1-25 dihidroxicolecalciferol (calcitriol) a expensas del calcidiol (Perwad F. 2007), por otro lado intenta suprimir la producción de PTH, a través de receptores específicos con el fin de reducir la absorción intestinal y renal de fósforo (Dazinger J. 2008).

Por lo tanto el FGF-23 es producido como respuesta al descenso de la fosfaturia y ejerce un triple efecto:

- A) Forzando mecanismos fosfatúricos mediante la internalización del cotransportador Na/P tipo II, para desembarazarse del balance positivo de fosfato (Cunningham J. 2011).
- B) Reduciendo la síntesis de PTH, para impedir nueva entrada de fosfato procedente de intestino y hueso (Wetmore JB. 2009).
- C) Inhibiendo la producción de 1-25 (OH)₂ vitamina D₃ o calcitriol a través de la supresión de la enzima 1-alfa hidroxilasa e incrementando la actividad de la 24- hidroxilasa que degrada el calcitriol ya formado, reduciendo así el metabolito activo de la vitamina D, ambos efectos encaminados a reducir el fósforo (Saito H. 2003).

A medida que desciende la capacidad de eliminar fósforo en la insuficiencia renal, comienza a incrementarse la síntesis de FGF-23 en los osteoblastos y los osteocitos (Yoshiko Y. 2007). Si bien existe una relación directa entre la concentración de fósforo sérico y el aumento de la producción de FGF-23, algunas evidencias recientes indican que este factor se eleva en etapas tempranas de la ERC como ya se ha mencionado (**Figura 6**), cuando aún no se ha producido la hiperfosfatemia (Ketteler M. 2011) y que continúa aumentando de una manera constante a medida que va descendiendo el FG (Larsson TE. 2010).

De tal modo que el incremento del FGF-23 es la primera alteración que se detecta en sangre, con FG de 80 ml/min (Wolf M. 2010). Coincidiendo con este incremento, se inicia un descenso en los niveles de 1-25 (OH)₂ vitamina D₃ circulante, por una inhibición de la actividad 1-alfa hidroxilasa renal por el FG-23.

El incremento de la PTH no comienza a observarse hasta un FG de 60 ml/min, como consecuencia del incremento del FGF-23 y de la hipocalcemia secundaria a la hipovitaminosis D. Aunque el FGF-23 actúa en las paratiroides suprimiendo la producción de PTH, a través de receptores específicos para esta proteína conocidos recientemente (Canalejo R. 2010), la elevación de ésta última, a pesar de niveles altos de FGF-23 en pacientes con uremia, sugiere resistencia de las paratiroides al efecto supresor de PTH por parte de FGF-23 (Canalejo R. 2010 y Galitzer H. 2010).

La acción del FGF-23 precisa de un cofactor específico, el receptor de membrana tipo I alfa-Klotho, sin el cual no realiza sus funciones y que convierte al receptor FGF genérico en un receptor específico para el FGF-23. De hecho, en su ausencia, pese a niveles incrementados de FGF-23, no es activo (Urakawa I. 2006). El descenso de este cofactor se hace patente en la ERC, lo que hace inefectiva en parte la acción del FGF-23, provocando un incremento más marcado en los niveles de este.

Por lo tanto; el FGF-23 es la primera alteración que se detecta en sangre con FG 80 ml/min (Wolf M. 2010). Según desciende el FGe, el FGF-23 se va incrementando. Desciende la absorción tubular renal inhibiendo la actividad del cotransportador Na/P tipo II en el túbulo proximal, asimismo inhibe la acción de la 1- alfa hidroxilasa, descendiendo el calcitriol. En consecuencia disminuye la absorción de P y Ca intestinal. Actúa en las paratiroides suprimiendo la producción de PTH, a través de receptores específicos, para impedir nueva entrada de P del intestino y hueso. Su acción precisa de un cofactor específico, Klotho, sin su presencia FGF 23 no es activo. A medida que desciende el FG, el déficit de Klotho es más marcado.

c) Hipocalcemia

En fases iniciales de la ERC, los bajos niveles de Calcitriol así como la incipiente retención de fósforo, generan un incremento en la producción de PTH por parte de la glándula paratiroidea, produciéndose un incremento en la absorción de calcio a nivel intestinal y resorción ósea; ambos mecanismos junto con el incremento de la fosfaturia a través de los sistemas mencionados anteriormente,

consiguen mantener unos niveles de calcio y fósforo adecuados en sangre. A medida que desciende el filtrado glomerular, se genera una resistencia ósea a la acción de la PTH, produciéndose un descenso en los niveles de calcio (**Figura 7**), así como un incremento en el producto fosfocálcico acentuando éste descenso.

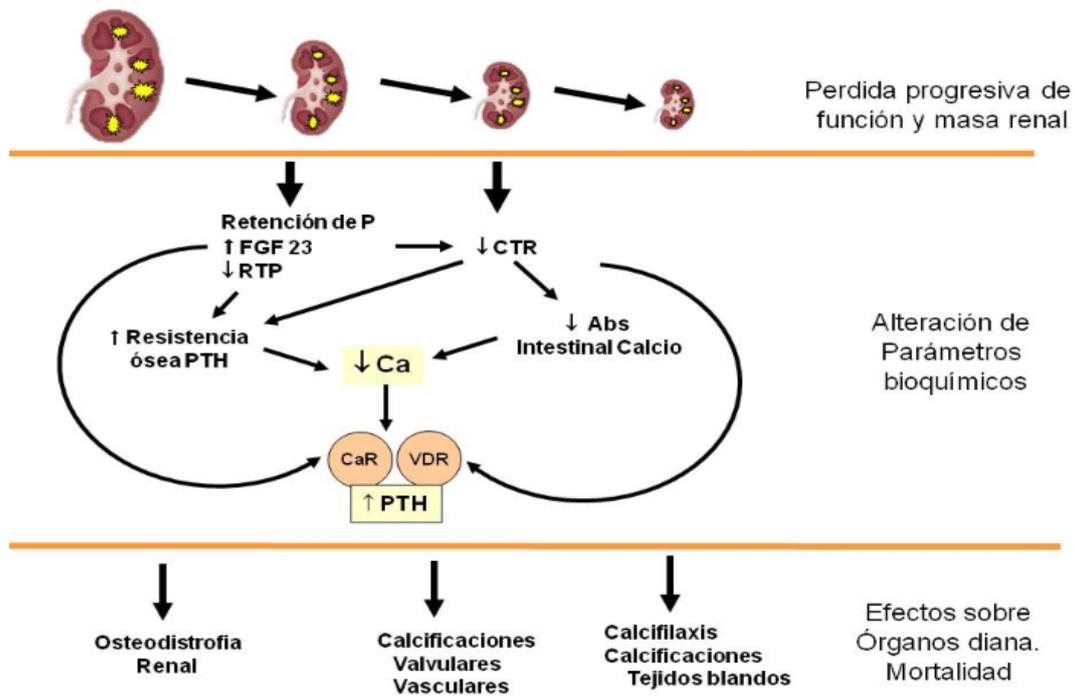


Figura 7. Alteraciones en el metabolismo mineral de la ERC (Lorenzo Sellares V. Doi: 10.3265/Nefrologia.2010)

A través de los receptores para el calcio localizados en la superficie de la glándula paratiroidea se detecta éste déficit, por lo que ello estimula aún más la producción de PTH y la proliferación de las células paratiroides generando una hiperplasia nodular de la glándula.

d) Descenso de los niveles de Calcitriol

Como ya se ha mencionado previamente también de forma precoz se observa un descenso discreto pero significativo del calcitriol en pacientes con ERC, secundario a :

1. Pérdida de masa renal, que ocasiona menor disponibilidad de 1-alfa-hidroxilasa (enzima renal encargada de convertir la vitamina D inactiva en calcitriol o vitamina D activa)
2. Descenso del filtrado glomerular, que conlleva disminución del calcifediol (25(OH) D₃) tubular. La 25(OH) D₃ debe ser filtrada por el glomérulo para alcanzar el túbulo contorneado proximal y allí penetrar por endocitosis dentro de la célula (con la intervención de la *megalina*, un receptor endocítico situado en la membrana apical). Este 25(OH) D₃, vitamina D inactiva, ha de convertirse en 1,25(OH)₂ D₃, vitamina D activa, a través de la hidroxilación por 1- alfa hidroxilasa, deficiente como ya se ha mencionado (**Figura 8**)
3. Retención de fósforo, que disminuye la síntesis renal de calcitriol, directa o indirectamente, a través del aumento del FGF-23.

A lo mencionado anteriormente se suma una pérdida de receptores para esta vitamina, bloqueados bien por el FGF 23 o por el P, a nivel de paratiroides o periférico.

La pérdida de éste receptor, VDR, produce resistencia a la acción inhibitoria de la vitamina D sobre la síntesis de PTH. Lo que se traduce en un incremento en la producción de PTH e hiperplasia de la glándula.

Asimismo la hiperplasia nodular de la glándula se acompaña de disminución en la densidad de los VDR per se (al igual que los receptores del calcio).

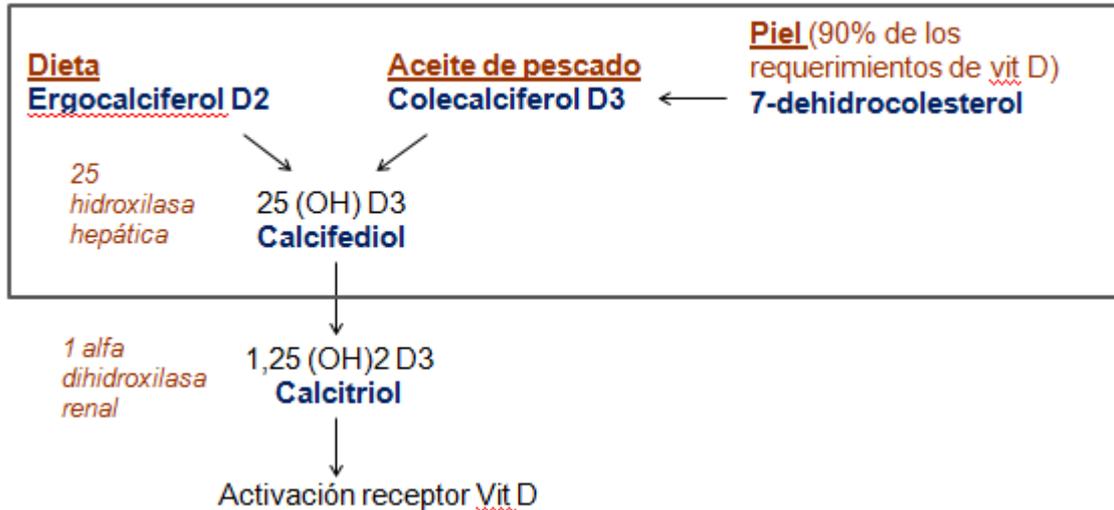


Figura 8. Formación y metabolismo de la vitamina D activa

e) Pérdida de los receptores para Ca, vitamina D y PTH

En las glándulas paratiroides existen, al menos, dos receptores clásicos conocidos a través de los que se canalizan los efectos de las moléculas y hormonas que modulan tanto la síntesis y secreción de PTH como el tamaño glandular y que serán de gran importancia para valorar las alternativas terapéuticas frente al hiperparatiroidismo secundario (HPTS) (Torregrosa JV. 2008).

Estos dos receptores de las glándulas paratiroides son:

1. Receptor de vitamina D (VDR):

- a) La acción de la vitamina D sobre la PTH es mediada por este receptor, que es un receptor citosólico.
- b) Con la progresión de la ERC el número de VDR decrece, el propio estado urémico puede disminuir la estabilidad del ARNm VDR, produciendo un descenso en los niveles de proteína del receptor. Además, «toxinas urémicas» disminuyen el paso del complejo VDR-vitamina D al núcleo y su unión al elemento de respuesta del ADN (Hsu 1997).

- c) El déficit de VDR produce resistencia a la acción inhibitoria de la vitamina D sobre la síntesis de PTH, incrementándose la producción de ésta (**figura 9**).
- d) La hiperplasia de las glándulas paratiroides se acompaña de disminución en la densidad de VDR. En estados avanzados de hiperplasia, «hiperplasia nodular», la disminución de los VDR es muy marcada.

2. Receptor-sensor de calcio (CaR).

Situado en la superficie de las células paratiroides, detecta cambios mínimos en los niveles séricos de calcio. Cuando el nivel de calcio sérico desciende, no hay suficiente calcio unido a estos receptores por lo que se deja de inhibir la secreción de PTH.

- a) Su déficit produce resistencia a la acción del Ca sérico sobre la glándula paratiroidea.
- b) El desarrollo progresivo de hiperplasia paratiroidea secundaria a la ERC está asociado a una disminución de los receptores de calcio en las células paratiroides.

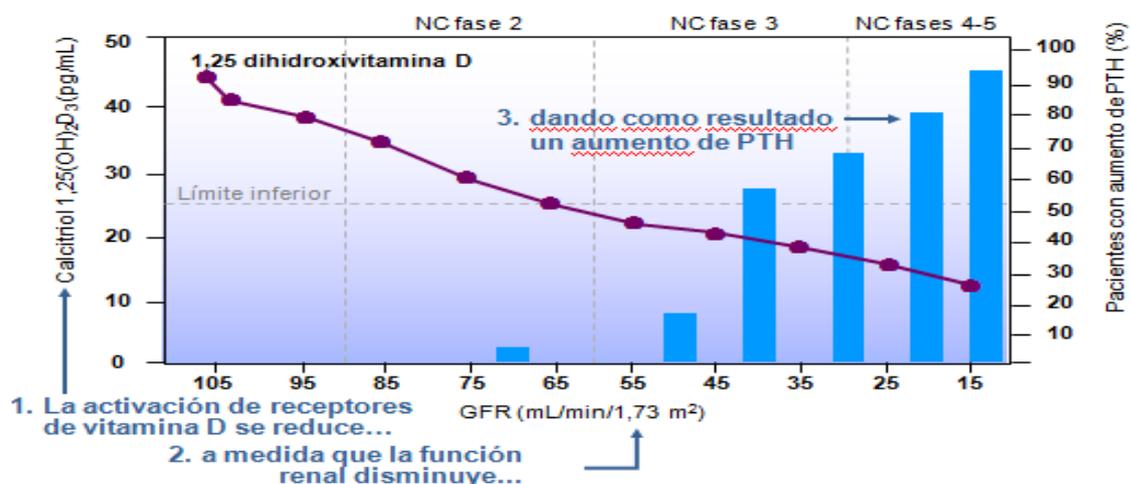


Figura 9. Descenso de los niveles de 1,25 dihidroxivitamina D₃ e incremento en la producción de PTH a medida que desciende el filtrado glomerular (Martinez I. *Nephron*. 1992; 61: 422-427)

Una vez explicada la existencia de distintos receptores y su distribución se entiende mejor porque la hiperfosforemia, hipocalcemia y déficit de calcitriol, generan hiperplasia de la glándula paratiroidea con incremento en los niveles de PTH:

1. El descenso del calcio extracelular es detectado por el receptor de calcio en la membrana citoplasmática estimulando la producción de PTH. Esta regulación se puede ver modificada con el uso de calcimiméticos como se expondrá más adelante en el apartado de tratamientos (ALM de Francisco. 2008)
2. La retención de fósforo estimula la síntesis y secreción de PTH. Además, induce la hiperplasia de las paratiroides como ya se ha mencionado, que a su vez, disminuye la expresión del CaR y del VDR, que a su vez también favorece la síntesis y secreción de PTH.
3. La vitamina D actúa sobre el VDR suprimiendo la síntesis y secreción de PTH. Su déficit disminuye éste efecto.
4. Un déficit de calcitriol provoca infrarregulación de la expresión del ARNm de VDR. Igualmente, una disminución de calcio infrarregula la expresión del CaR y del VDR. Por el contrario, se sabe que el calcitriol es capaz de sobrerregular su propio receptor en distintos tejidos. También se conoce que existen diferencias entre distintos análogos de la vitamina D (activadores selectivos de los receptores de vitamina D [AsVDR]) y también parece que los calcimiméticos podrían aumentar la expresión del receptor de vitamina D en la glándula paratiroides (Rodríguez ME. 2007).
5. El calcitriol también puede aumentar la expresión del receptor de Ca. Éste efecto se debilita cuando existe hipocalcemia y es más importante cuando los niveles de calcio son más elevados.

c) Hiperplasia de la glándula paratiroides e hiperproducción de PTH

Cuando el hiperparatiroidismo secundario se desarrolla, las células paratiroides sufren un proceso de división acelerada que causa un agrandamiento de la glándula. Esta hiperplasia es consecuencia de la hipocalcemia, la hiperfosforemia y de los niveles reducidos de $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$.

Los niveles reducidos de $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ o los niveles altos de fósforo en la dieta inducen la traslocación a la superficie celular de la enzima TACE (enzima convertidora del TNF-alfa), que produce la liberación del factor transformador de crecimiento alfa ($\text{TGF-}\alpha$) (Dusso A and Cozzolino M). Este $\text{TGF-}\alpha$ activa el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR), que se trasloca al núcleo, funcionando como señal autocrina para el crecimiento celular. Se sabe que la reducción de fosfatos en la dieta, al menos en fases iniciales, hace que los niveles de $\text{TGF-}\alpha$ vuelvan a la normalidad rápidamente, por lo que podría contrarrestar la hiperplasia paratiroidea. La restricción de fosfatos en la dieta asimismo también induce la expresión del gen P21, el cual a su vez, induce los efectos antiproliferativos que produce la $1,25(\text{OH})_2 \text{D}_3$ sobre la glándula paratiroidea independientemente de los niveles de ésta hormona (Dusso AS). Distintas son las opciones terapéuticas usadas para paliar la hiperplasia de la glándula como la terapia con calcitriol o análogos de la vitamina D tipo paricalcitol como se describirá mas adelante.

Es en estadios muy avanzados de la hiperplasia paratiroidea cuando la glándula sufre una transformación clonal con un crecimiento irregular, formando nódulos. Estas células nodulares tienen un grado de proliferación muy elevado, y muestran niveles de receptor sensor de calcio y vitamina D muy bajos, como ya se ha mencionado (Rodríguez M), por lo que no responden a los estímulos de estas dos sustancias y en menor medida a los tratamientos mencionados anteriormente (aunque con su uso se consigan otros efectos pleiotrópicos de forma independiente al control del HPTS).

A lo ya mencionado, se suma una disminución en la expresión de la proteína Klotho, por lo que el efecto inhibitor de los altos niveles de FGF-23 también se pierden (Canalejo R.).

d) Otros factores asociados

1. Acidosis metabólica: inicialmente produce la disolución físico-química del tejido mineral óseo, liberando carbonato cálcico, lo que permite tamponar parcialmente el exceso de hidrogeniones pero a costa de reducir los depósitos cálcicos en el hueso. Posteriormente, la acidosis crónica estimula la actividad osteoclástica y la resorción ósea.
2. Déficit de vitamina K: esta vitamina es esencial para la carboxilación de proteínas de la matriz ósea como la osteocalcina. Su déficit, tanto en la población general como en pacientes con ERC, puede ser una causa reversible de osteoporosis, aparición de fracturas patológicas y calcificación vascular.
3. Proteína morfogénica del hueso de tipo 7: expresada por el riñón, induce la diferenciación y crecimiento del osteoblasto. En la ERC, se ha propuesto que el déficit de esta proteína podría ser responsable del anormal desarrollo de osteoblastos en células de estirpe fibroblástica, favoreciendo el depósito de colágeno y la aparición de osteítis fibrosa.

En resumen, las alteraciones en el metabolismo mineral de los pacientes renales comienzan ya en estadios muy tempranos de enfermedad renal. Algunos autores sugieren que es el FGF-23 el primer factor que se eleva en estadios ya tempranos. Aunque el fósforo cobra también un papel fundamental en el desarrollo de todas estas alteraciones. No es hasta estadios más avanzados cuando detectamos niveles de P altos en sangre, esto debido a la capacidad renal de incrementar la excreción fraccional de P, al menos en estadios iniciales.

A medida que desciende el FGe, se observa ya hipocalcemia por descenso en la absorción intestinal, bajos niveles de 1 alfa hidroxilasa y por ende déficit de calcitriol, responsable entre otras cosas de esta falta de absorción intestinal. El HPTS queda también patente, resultado del incremento de PTH por parte de la glándula paratiroides, con el objetivo de intentar mantener unos niveles

adecuados de Ca y P en sangre. Junto a lo ya dicho, juegan un papel fundamental también la falta de respuesta de los receptores para el Ca y vitamina D localizados en la glándula paratiroidea y a nivel periférico.

1.2.1. CONSECUENCIAS DE LAS ALTERACIONES EN EL METABOLISMO ÓSEOMINERAL

Las alteraciones bioquímicas anteriormente mencionadas, tienen una evidente manifestación clínica, las cuales se incrementan a medida que desciende el FGe. Los cambios en el esqueleto se desarrollan precozmente y pueden verse asimismo influenciados por el tratamiento administrado. El hiperparatiroidismo secundario tiende a mantener la calcemia al estimular la reabsorción subperióstica, la producción renal de 1,25-dihidroxicolecalciferol y la reabsorción tubular de calcio. Aunque este mecanismo de compensación puede llegar a normalizar la calcemia y la fosfatemia temporalmente, lo hace a expensas de inducir alteraciones en el recambio óseo (Slatopolsky E. 1999). Las manifestaciones clínicas de la alteración en el metabolismo mineral en estos pacientes podrían ser clasificadas en aquellas que afectan al hueso y aquellas que son patentes en tejidos blandos y sistema cardiovascular:

A) Alteraciones en el remodelado, la mineralización, el volumen, el crecimiento o la fragilidad del esqueleto (*osteodistrofia renal*).

Las guías KDIGO restringen el término de *osteodistrofia renal* al conjunto de lesiones histológicas óseas que resultan de las alteraciones del metabolismo mineral de la ERC, diagnosticada por biopsia renal, y que incluyen: *Osteítis fibrosa quística, osteomalacia, enfermedad ósea adinámica y enfermedad mixta*. También pueden ser clasificadas como de alto remodelado u *osteítis fibrosa*, de bajo remodelado u *osteomalacia* y *hueso adinámico* y las formas mixtas (*osteoesclerosis u osteoporosis/osteopenia*).

De forma muy general, la *osteítis fibrosa quística* se caracteriza por el aumento de la actividad celular osteoclástica y osteoblástica, con incremento de áreas resortivas, aparición de fibrosis peritrabecular y

acelerado depósito de osteoide (**Imagen 1**). El grosor del osteoide no está aumentado, dado que la tasa de mineralización no suele afectarse. Su única causa en la enfermedad renal es el HPTS. Clínicamente puede manifestarse como dolores óseos, prurito, deformidades esqueléticas (tórax en tonel, genu valgo), desinserciones y roturas tendinosas, calcifilaxis y fracturas patológicas.

Radiológicamente se manifiesta como reabsorción subperióstica de las falanges distales fundamentalmente, quistes en huesos largos o planos, lesiones escleróticas en la parte superior e inferior de las vértebras, lesiones de sal y pimienta en el craneo (osteopenia y osteoesclerosis) (**Imagen 2**). Se tratan de lesiones actualmente difíciles de ver en la práctica clínica, dado el diagnóstico precoz del HPTS y el inicio de tratamiento en etapas tempranas de la ERC.

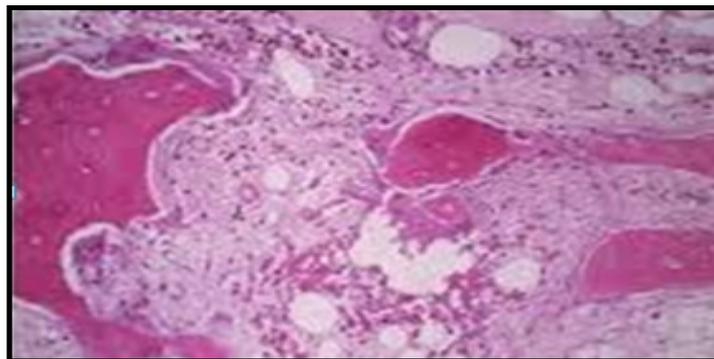


Imagen 1. Imagen de biopsia ósea correspondiente a *osteítis fibrosa quística*

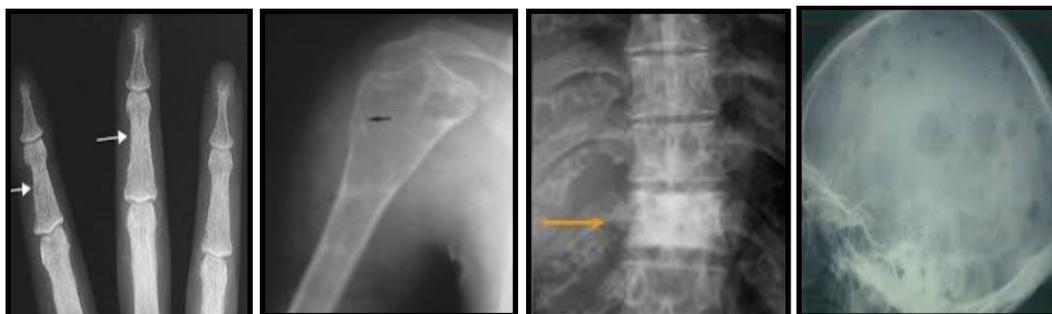


Imagen 2. Manifestaciones radiológicas de la *osteítis fibrosa quística*

La *osteomalacia* (déficit de mineralización), se caracteriza por una calcificación inadecuada de los huesos a consecuencia de la deficiencia de calcitriol. Se produce un bajo recambio óseo, disminución del número y actividad de los osteoclastos y osteoblastos e incremento del volumen del osteoide, debido a un defecto en la mineralización. Las formas más graves fueron causadas por intoxicación alumínica. Hoy en día su aparición es rara, asociándose a déficit de vitamina D y bajos niveles de calcio y/o fósforo.

El *la enfermedad ósea adinámica* (mineralización normal), es una de las lesiones más frecuentes en el anciano con ERC en estadios más tempranos. Es más prevalente en diabéticos de edad avanzada, también se puede dar en pacientes de diálisis con baños de calcio elevados, uso excesivo de quelantes cálcicos y/o calcitriol y en la acidosis metabólica. Se caracteriza por un bajo recambio óseo y a diferencia de la osteomalacia no presenta acumulación de osteoide ya que no hay un manifiesto defecto de mineralización (**Imagen 3**).

Clínicamente cursa con hipercalcemia por captación disminuida de Ca por el hueso, baja concentración sérica de PTH y fosfatasa alcalina (FA), mayor riesgo de fracturas y calcificación vascular. Las formas clínicas suelen ser por lo general asintomáticas.

Únicamente, dado que cursan con masa ósea baja, se considera que estos huesos tienen una mayor fragilidad y, en consecuencia, un mayor riesgo de fracturas. Por otro lado como en estas formas de bajo remodelado no se incorpora al hueso Ca y P, las calcificaciones extra esqueléticas suelen ser más frecuentes.

Las *formas mixtas*, suelen ser lesiones avanzadas donde coexisten signos de alto y bajo remodelado. Se definen como cambios cuantitativos de masa ósea, en función de que exista ganancia o pérdida, respectivamente. No se consideran lesiones específicas de osteodistrofia renal, sino que pueden acompañar en grado variable a las lesiones de alto y de bajo remodelado.



Imagen 3 Manifestaciones radiológicas de la *enfermedad ósea adinámica*

En la **tabla 2** quedan resumidos los tipos de *osteodistrofia renal* en pacientes con ERC.

Nombre	Remodelado	Mineralización	Factores patogénicos
<i>Osteítis fibrosa quística</i>	ALTO	Normal	Incremento PTH, sobrecarga de P, hipocalcemia, déficit de calcitriol. Frecuente en jóvenes y raza negra
<i>Osteomalacia</i>	BAJO	Alterada	Descenso vitamina D, calcio y fósforo
<i>Enfermedad ósea adinámica</i>	NORMAL	Normal	Descenso PTH. Frecuente en diabéticos, baño de diálisis con calcio elevado, quelantes cálcicos, uso excesivo de calcitriol y acidosis metabólica
<i>Formas Mixtas</i>	ALTO/BAJO	Alterada	Enfermedad renal crónica de larga evolución

Tabla 2 Tipos de *osteodistrofia renal* en pacientes con ERC

B) Calcificaciones cardiovasculares y de otros tejidos blandos

Tanto las formas de osteodistrofia de alto como de bajo remodelado pueden favorecer el depósito extra óseo de calcio y fósforo. En la *osteítis fibrosa quística*, el exceso de PTH favorece la resorción ósea, aumentando la oferta de calcio y fósforo al resto de los tejidos. En las formas de bajo remodelado, el calcio y el fósforo no pueden incorporarse al hueso, por lo que finalmente se depositan en los tejidos blandos.

Se ha hablado ya del papel que juega el fósforo en todas estas alteraciones. Diversos estudios han confirmado la relación entre el fósforo y el riesgo cardiovascular. Tonelli et al, encontraron una asociación entre niveles elevados de fósforo y eventos cardiovasculares, durante un seguimiento de cinco años, en pacientes con infarto agudo de miocardio previo, con dislipemia, pero con función renal normal. Esta relación se mantiene, incluso, cuando el filtrado glomerular está por encima de 90 ml/min, lo que sugiere un efecto directo del fósforo como causa del riesgo cardiovascular elevado (Tonelli M. 2005).

La rigidez arterial se considera como un marcador de riesgo cardiovascular. Se ha descrito una estrecha relación entre fósforo sérico y rigidez arterial. Los pacientes con fósforo superior a 4 mg/dl presentan un mayor índice tobillo-brazo (ABI), como indicador de rigidez arterial (Ix JH. 2009).

Por otro lado existen evidencias de que el fósforo puede ser un factor que contribuye a la progresión del deterioro del filtrado glomerular, en ratas cuando se les reduce la absorción intestinal de fósforo con sevelamer, mejoran la calcificación vascular, así como la progresión del FG (Tokumoto M. 2009). Por otro lado uno de los principales factores que favorecen las calcificaciones vasculares es el fósforo (Hruska KA. 2008). El hueso es el principal reservorio de fósforo.

En el paciente renal, en situaciones de alto remodelado, en que se libera inapropiadamente fosfato desde el esqueleto, o en el hueso adinámico, en que el exceso de fosfato circulante no puede incorporarse al mismo, en ambas situaciones se genera un balance positivo de P en sangre. Dado que el hueso es incapaz de mantener la homeostasis, se habilitan nuevos territorios capaces de hacer de reservorio de ese balance positivo de fosfato. Este nuevo reservorio son los tejidos blandos y los vasos, lo que da como resultado la aparición de calcifilaxis y de calcificación vascular.

El efecto del fósforo sobre la calcificación vascular ocurre a través de varios mecanismos:

- a) Por una parte, induce la formación de vesículas mineralizantes de la matriz que se cargarán de calcio y fosforo, formando, junto con los cuerpos apoptóticos de las propias células vasculares muertas, el núcleo de la calcificación.

- b) Al mismo tiempo, induce la cascada de señalización que promueve la transformación fenotípica de la célula vascular a osteoblasto-*like*, células con capacidad para expresar osteocalcina y Cbfa-1 (Jono S. 2000) y sintetizar hidroxapatita, que mineralizará las vesículas de la matriz, formándose de este modo la calcificación arterial.

- c) El aumento de los niveles de fosfato suprime tanto la expresión del gen específico 6 (Gas6) del crecimiento como de su receptor en las células vasculares de musculo liso (CLMV). Esta inhibición conduce a la supresión de la fosfatidil inositol 3-quinasa (PI3K / Akt), favoreciendo por lo tanto la apoptosis de dichas células vasculares (Jono S. 2000).

El mecanismo por el cual se produce una calcificación acelerada en los pacientes renales, va más allá de un exceso en los niveles de fósforo sérico, producto fosfocálcico o propia situación de uremia. Se sabe de la existencia de varias proteínas inhibidoras y promotoras implicadas en el proceso de calcificación vascular. Una compleja interacción entre promotores que incluyen la proteína morfogenética del hueso, el factor activador del ligando del receptor nuclear, factor kappa B (RANKL), y otros inhibidores como MGP-2 (proteína morfogénica del hueso-2), BMP-7 (proteína morfogénica del hueso-7), osteoprotegerina, fetuina-A, y la osteopontina, regulan este proceso. Actualmente también se especula sobre moléculas promotoras que pueden actuar regulando el RNAm.

Recientemente, Balderman et al mostraron que las células vasculares de musculo liso humano tratadas con BMP-2 infraregulaban la expresión de miR-30b y miR-30c, llevando esto a un incremento en la expresión de Runx2 el cual promueve la mineralización (Balderman JA. 2012).

El patrón de calcificación en la enfermedad renal crónica terminal se caracteriza por el depósito mineral en la túnica media, en tanto que en la población general las calcificaciones que predominan son las placas de ateroma. Como ya se ha mencionado el incremento del producto fosfocálcico predispone a la aparición de calcificaciones extra esqueléticas, viscerales y metastásicas, y son predictores independientes de mortalidad cardiovascular.

La *calcifilaxis* es una necrosis isquémica caracterizada por la calcificación de la media arterial e isquemia tisular secundaria. Son placas violáceas, dolorosas, que representan necrosis del tejido graso. Se localiza en la dermis, la grasa subcutánea y, más raramente, el músculo. Las áreas más afectadas son el tronco, las nalgas o la porción proximal de las extremidades. Las roturas tendinosas espontáneas o patológicas ocurren con cierta frecuencia en la población anciana en diálisis. Tienen dos factores etiológicos principales; la amiloidosis por β_2 -microglobulina y el hiperparatiroidismo secundario grave.

No solo el fosforo es el responsable de las calcificaciones vasculares o de la mineralización de las células vasculares en los pacientes renales, muchos factores se encuentran directamente implicados (de Oliveira RB. 2013).

El FGF-23 y su cofactor Klotho han demostrado también relacionarse con incrementos de la mortalidad en la ERC, de forma independiente al fósforo sérico y con una capacidad predictora de mortalidad superior a este (Gutierrez OM. 2008). Parecen estar implicados en el desarrollo de arteriosclerosis y en la calcificación vascular precoz que sufren los pacientes con estadios 2 y 3 de enfermedad renal, previo al aumento de la fosfatemia, e incluso responsables de la progresión de la enfermedad renal (Fliser D. 2007). Si bien, gracias a su poder

fosfatúrico, al menos en pacientes no renales y en estadios muy iniciales de ERC juega un papel reductor de las calcificaciones vasculares al reducir el P orgánico (Saji F. 2009). El FGF-23 se relaciona con diferentes marcadores de daño vascular, como el grosor de la arteria medido por onda de pulso o disfunción endotelial, lo que supone que está relacionado con cambios en la función vascular que incrementan el riesgo cardiovascular (Mirza MA. 2009). El FGF-23 también se asocia con un elevado *score* de aterosclerosis, acentuando su papel como marcador precoz de cambios vasculares y de calcificación vascular. El grupo de Mirza MA. et al estudió una muestra de 306 personas sanas de más de 70 años, y observó que esta asociación es superior en pacientes con FG inferiores a 60 ml/min (Mirza MA. 2009). En éste estudio se hace notar como no se conoce aún si el incremento del FGF-23 es responsable o causa de la arterosclerosis.

Asimismo se ha observado una importante correlación entre los niveles plasmáticos de FGF-23 y la hipertrofia del ventrículo izquierdo (Gutierrez OM. 2009). Esta correlación es aún mayor que otros factores clásicos como diabetes o presión arterial sistólica (Yilmaz MI. 2010). Resultados de los estudios llevados a cabo por el grupo de Yilmaz MI. et al sugieren que el FGF-23 puede ser un inhibidor endógeno de la óxido nítrico sintetasa, de manera que ésta puede ser la vía por la cual el FGF-23 deteriora la función vascular en los pacientes con insuficiencia renal (Yilmaz MI. 2010).

Cada vez se sabe más sobre el papel que desempeña el FGF-23 en la progresión del daño cardiovascular en los pacientes renales pero aún es mucho lo que queda por investigar. Como se ha mencionado previamente el FGF-23 precisa de su cofactor Klotho para ejercer su función. Se sabe que Klotho no se expresa ni en el miocardio ni en la pared vascular, por lo que queda aún por dilucidar como klotho podría afectar al sistema cardiovascular. Una posible explicación es que podría deberse a una acción endocrina a distancia, o bien que el incremento importante del FGF-23 puede tener efecto sobre el receptor FGF sin la presencia de klotho.

El receptor del calcio (CaR), se expresa en los vasos sanguíneos, tanto en las células endoteliales como en las células vasculares de musculo liso (CMLV). Alam et al. mostraron que una reducción en la expresión del CaR en las CMLV se asociaba con un incremento de la mineralización, y que los calcimiméticos podían atenuar la el deposito mineral como se verá mas adelante (Alan MU. 2009). Ivanovski et al. también demostraron un efecto protector de los calciomiméticos contra la progresión de la calcificacion y la aterosclerosis en ratones urémicos knockout apolipoproteina-E.

El estrés oxidativo también esta implicado en todo este proceso, incrementos de los radicales libres de oxigeno (ROS) pueden inducir la expresión de nitrotirosina en las células endoteliales así como la sobreexpresión de receptores para las toxinas urémicas tales como los productos finales de la glicosidacion avanzada (AGE). En el sistema cardiovascular el acúmulo de estos productos contribuye a la rigidez arterial debido a su unión al colágeno y elastina de forma desordenada

La toxicidad urémica conduce a un deterioro de la síntesis del óxido nítrico endotelial (NO), que desempeña una papel crucial en la protección vascular, inhibiendo la proliferación y migración de CMLV, la expresión de moléculas de adhesión y agregabilidad plaquetaria (Stinghen AE. 2011).

Los procesos inflamatorios han demostrado también inducir la acumulación intracelular de lípidos y la formación de células espumosas exacerbando la progresión de la aterosclerosis. El grupo de Ketteler et al. estudio un grupo de 312 pacientes estables en hemodiálisis; los autores observaron que la concentración sérica de fetuina-A era menor que en los controles sanos y que esto se asociaba inversamente con la PCR sérica, asociándose ambos factores con un incremento en la mortalidad cardiovascular (Ketteler M. 2003)

En resumen, incrementos del fósforo, calcio, PTH, FGF-23, factores de oxidación e inflamación y descenso en los niveles de 1-25 vitamina D₃, han demostrado asociarse con un incremento de mortalidad, tanto en población sana como con afectados de ERC.

1.3.INFLAMACIÓN EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

Los pacientes con ERC muestran un patrón inflamatorio más marcado que el resto de la población general. Ésta inflamación se hace más patente a medida que desciende el filtrado glomerular. Desarrollaré a continuación los factores tradicionales y no tradicionales de la inflamación en pacientes con ERC, así como de los distintos marcadores que podemos usar para medirlo.

1.3.1. FACTORES TRADICIONALES DE LA INFLAMACIÓN

Los mecanismos hasta ahora descritos que están implicados en esta respuesta inflamatoria quedan resumidos en los siguientes puntos:

- a) Disminución del aclaramiento de citoquinas proinflamatorias
- b) Sobrecarga de volumen con endotoxemia
- c) Incremento del estrés oxidativo y carbonilo
- d) Disminución en los niveles de antioxidantes
- e) Mayor presencia de condiciones comórbidas
- f) Otros factores

a) Disminución del aclaramiento de citoquinas proinflamatorias

El deterioro de la función renal puede aumentar las respuestas inflamatorias en general debido a la depuración renal disminuida de factores que están directa o indirectamente involucrados en la inflamación. A nivel experimental, en animales, se sabe que la vida media de las citocinas proinflamatorias; factor de necrosis tumoral alfa (TNF-alfa), y la interleucina-1 (IL-1) en suero es mayor con pérdida total de función renal que en aquellos con función renal conservada (Bemelmans MH and Poole S.). También en humanos la disminución de la función renal puede afectar a los niveles de moléculas inflamatorias como la proteína C reactiva en suero (PCR), o la interleucina-6 (IL-6), ambos se correlacionan de forma inversa con el aclaramiento de creatinina (Panichi V and Stenvinkel P).

Por otro lado, dentro de la propia ERCT aquellos pacientes que no muestran función renal residual presentan concentraciones de PCR en suero más altas que aquellas que preservan algo (Chung SH). También se puede observar aumento de la producción de citoquinas, acumulación de toxinas urémicas e incremento de los factores de oxidación, favoreciendo todo ello aun más un ambiente inflamatorio.

b) Sobrecarga de volumen con endotoxemia

A menudo los pacientes renales muestran una sobrecarga hídrica generando esto un incremento de la congestión vascular. El edema resultante de esta congestión a nivel gastrointestinal, provoca una traslocación a través de la luz de distintas endotoxinas, tales como lipopolisacáridos o bacterias. Estos procesos a su vez, estimulan a los monocitos circulantes los cuales provocan una liberación de citoquinas proinflamatorias (Sato Y.).

c) Incremento del estrés oxidativo y carbonilo

El estrés oxidativo, que se produce cuando hay una producción excesiva de radicales libres o bajos niveles de antioxidantes, podría ser una condición importante para el desarrollo de la disfunción endotelial, inflamación y la aterogénesis como se verá más adelante (Spittle MA). Asimismo los productos finales que resultan de estrés carbonilo también pueden iniciar claramente la inflamación en pacientes con insuficiencia renal (Miyata T.).

d) Disminución en los niveles de antioxidantes

Los niveles de antioxidantes en pacientes con enfermedad renal también son menores que en población no renal. Bien por una baja ingesta de éstos o bien por el acúmulo de reactantes de fase aguda que disminuyen sus niveles. Tal es el caso de las concentraciones de vitamina C sérica en estos pacientes, cuyos niveles son más bajos que en la población general, asociándose a su vez con una mayor morbilidad y mortalidad cardiovascular (Deicher R.).

e) Mayor presencia de condiciones comórbidas

Estos pacientes de manera independiente a su enfermedad renal muestran ya un incremento de los factores que favorecen la inflamación, debido a la asociación de otros factores comorbidos. Son pacientes que frecuentemente sufren infecciones periodontales, procesos de malnutrición, enfermedades cardiovasculares y polineuropatías sobreañadidas entre otros, así como la etiología de su enfermedad renal por ejemplo procesos autoinmunes.

f) Otros factores

Los pacientes en tratamiento renal sustitutivo tipo hemodiálisis, asocian a su vez una inflamación perpetua que viene del uso de catéter central para diálisis en caso de no tener otro acceso vascular, exposición a membranas y líquidos para diálisis, procesos de convección dialíticos con mayor posibilidad de exposición a endotoxinas así como de los tratamientos endovenosos que reciben entre otros factores. En el caso de la diálisis peritoneal, los procesos de peritonitis, el propio catéter peritoneal, la constante exposición del peritoneo al líquido dialítico y la pérdida de función renal residual entre otros, mantienen este estado proinflamatorio de forma continua.

Por otro lado estos pacientes muestran una distribución de la grasa a nivel troncular. Esta grasa intra-abdominal de distribución central es capaz de generar tres veces más IL-6 que la grasa subcutánea (Visser M). Por otro lado se ha demostrado que el adipocito es capaz de expresar ARNm de la PCR (Ouchi N) a nivel local. La resistencia a la insulina que presentan estos pacientes es otro estado que favorece la inflamación (Fliser D).

Los factores previamente mencionados, explican solo en parte el incremento en la inflamación que sufren estos pacientes. Cada vez se encuentran más citas bibliográficas que hacen referencia a la presencia de factores de riesgo *no tradicionales* como involucrados en el proceso inflamación-desnutrición que sufren estos pacientes y en consecuencia de su incremento en la morbimortalidad cardiovascular.

Estos factores son muy comunes en los pacientes renales, si bien aún queda por esclarecer el papel claro que juegan en todo este proceso.

1.3.2. FACTORES NO TRADICIONALES DE LA INFLAMACIÓN

Son los factores no descritos para la población general como causantes de inflamación, pero que sí están presentes en gran medida en los enfermos renales. Entre los más conocidos actualmente encontramos:

a) Disfuncion endotelial

La disfunción endotelial manifiesta entre otras cosas, una disminución de la biodisponibilidad del óxido nítrico (NO), esto parece preceder a los cambios estructurales y las manifestaciones clínicas de la aterosclerosis (Frick M. 2007). Se establece una interrelación entre la disfunción endotelial y la inflamación que sobrelleva este proceso donde separar el origen del trastorno es difícil en la actualidad. La dimetilarginina D asimétrica (ADMA), es un producto metilado de la L-arginina, inhibe la síntesis del óxido nítrico y por lo tanto la biodisponibilidad de este a nivel del endotelio. A altas concentraciones se asocia con mayor grosor de la carótida íntima media (GIM) y eventos CV. Ravani et al. demostraron que la ADMA representa un fuerte marcador de riesgo CV independiente para la progresión de ERC (Ravani P. 2005). Se sabe que ADMA se encuentra elevada en todos los pacientes con enfermedad renal. En los últimos años ha emergido como un biomarcador de enfermedades renales y cardiovasculares. Debido a que la ADMA se acumula en la insuficiencia renal se le considera una toxina urémica. Participa en la regulación del tono vascular además de inhibir la síntesis del ON y su acumulación reduce la circulación en diferentes territorios, condicionando así disfunción endotelial y aterosclerosis.

Por otro lado, la albuminuria es un reflejo del aumento de la permeabilidad o disfunción endotelial y ésta es un predictor fuerte de la disminución de la función renal en estadios iniciales de la enfermedad. En la ERC temprana, la albuminuria de bajo grado parece jugar un papel fisiopatológico importante en el aumento de

las enfermedades cardiovasculares por probables mecanismos de disfunción endotelial. El estudio HUNT II, realizado sobre 9000 noruegos, demostró que pequeños cambios tanto en la tasa de filtrado glomerular (TFG) como en la albuminuria se asociaban de forma independiente con un mayor riesgo CV. (Hallan S. 2007)

Cuando se produce lesión endotelial, se movilizan células progenitoras endoteliales de la médula ósea para reparar dicho endotelio. En la ERC existe deterioro de la actividad migratoria y una disminución del número de estas células progenitoras en la circulación, lo que puede desempeñar un papel en la progresión de la aterosclerosis (Hill JM 2003). De hecho, bajos niveles de estas células progenitoras predijeron la aparición de enfermedades cardiovasculares y la muerte en pacientes con enfermedad arteria coronaria (Wernwe N. 2005). A pesar de todo lo mencionado y como se comentaba al principio, la asociación causal entre la disfunción endotelial-inflamación, y en consecuencia enfermedad CV en pacientes renales queda por ser establecida.

b) Anemia

La prevalencia de la anemia llega a alrededor del 50% en estadios 4 de enfermedad renal, siendo prácticamente el 100% de los pacientes en estadio 5 los que la padecen. Clínicamente la anemia es responsable además de la sintomatología de astenia de la hipertrofia ventricular izquierda, ángor e insuficiencia cardiaca congestiva (ICC) (Gillespie BS. 2007 y Dowling TC. 2007) como se ha mencionado previamente. En estadios iniciales de enfermedad renal, la causa de la anemia es la producción deficiente de EPO, junto con una pobre respuesta a ésta. A medida que progresa la enfermedad renal se suman otros factores como el déficit de hierro, el hiperparatiroidismo y una vida acortada de las células rojas sanguíneas causada por la uremia (Gillespie BS. 2007 y Putten K van der. 2008). El proceso inflamatorio crónico que sufre los pacientes renales, provoca por otro lado un bloqueo en la utilización del hierro dificultando así la eritropoyesis, a pesar de la suplementación con EPO (Koury MJ. 2004). Sin embargo por otro lado es la propia anemia y sus consecuencias clínicas la que genera un estado de inflamación-desnutrición, donde dilucidar

cuál es el origen del trastorno es difícil al igual que ocurría con la disfunción endotelial. Por otro lado niveles elevados de hemoglobina se asocian con incremento de las trombosis y de la presión arterial.

c) Niveles elevados de fósforo sérico

La relación entre fósforo e inflamación ha quedado definida en los trabajos de Navarro, et al. Estos autores relacionan marcadores de inflamación con el fósforo, que son, por sí mismos, factores marcadores de riesgo cardiovascular y responsables de daño vascular. En 133 pacientes con FGe de 34,1 ml/min se ha visto cómo el fósforo se correlaciona de forma independiente con la PCR y con la IL-6. El fósforo parece estar implicado en la presencia de inflamación en el paciente con insuficiencia renal y posiblemente, desempeña un papel en su desarrollo (Navarro Gonzalez J. 2009).

d) Alteraciones en el metabolismo mineral

Las alteraciones en el metabolismo óseomineral mencionadas anteriormente, también parecen relacionarse con los distintos procesos inflamatorios que sufren estos pacientes. Por ejemplo en la calcifilaxis.

e) Trastornos en el ritmo circadiano

Un campo de interés abierto es el efecto que tienen las perturbaciones en los ritmos circadianos en la ERC y su efecto sobreañadido sobre la inflamación-desnutrición que sufren estos pacientes. Los ritmos circadianos están implicados en casi todas las funciones corporales con un período de 24 horas. En los pacientes renales algunos de estos ritmos circadianos están alterados. Por ejemplo, trastornos del sueño son mucho más frecuentes en los pacientes con ERCT que en la población general. Estas perturbaciones del sueño pueden tener múltiples causas, por ejemplo, apnea del sueño y síndrome de piernas inquietas (trastorno del movimiento periódico de las extremidades), tratamiento de diálisis o patología de la enfermedad renal. Un mecanismo clave que explique las alteraciones en el ritmo circadiano del enfermo renal, podría ser la perturbación

en la secreción de la hormona melatonina en la glándula pineal. El incremento nocturno de la secreción de la melatonina por encima de un cierto umbral, disminuye con el decremento de la función renal y está ausente en muchos pacientes de hemodiálisis durante el día. La ingesta de melatonina exógena en pacientes en HD condujo a una mejoría significativa de los parámetros del sueño y del ritmo circadiano.

f) Estrés Oxidativo

Se define Estrés Oxidativo (EO) como un desequilibrio entre la formación de radicales libres y agentes antioxidantes, a favor de los primeros, en el organismo. Más adelante se hablará de forma extensa sobre el EO, pero queda más que demostrada la relación que se establece entre la inflamación-oxidación en estos pacientes. Estos pacientes no solo han demostrado tener una mayor oxidación sino que según resultados de algunos estudios también parecen tener un déficit sobreañadido de sustancias antioxidantes (Cachofeiro V. 2008).

Con lo mencionado previamente, queda claro por lo tanto como la inflamación está presente de forma llamativa en los pacientes con ERC, jugando probablemente un doble papel. Por un lado la propia enfermedad renal conlleva la activación de diferentes marcadores inflamatorios como la PCR, IL-6, TNF- α o fibrinógeno con la activación de leucocitos como mediadores en todo este proceso (Sela S. 2005). Y por otro lado, la propia inflamación es responsable del deterioro de función renal. Todo esto implica a su vez que la inflamación es responsable del daño cardiovascular y desnutrición ya mencionado, bien de forma directa o indirecta a través del deterioro de función renal (Fried L. 2004). Se ha observado como en el riñón, se forma localmente PCR lo que conduce a una reducción del óxido nítrico, inducción en el reclutamiento de monocitos y formación (Jabs Wj. 2003) de células espumosas. Además, se ha demostrado que la elevación de la PCR, IL-6 y fibrinógeno son predictores independientes del riesgo CV en pacientes con ERC (Stenvinkel P. 2006). Con todo esto se podría postular por lo tanto que la inflamación promueve tanto el deterioro de la función renal como el desarrollo de las enfermedades cardiovasculares.

A pesar de todo lo mencionado, hoy en día se desconocen los mecanismos por los que el proceso inflamatorio se encuentra en tan alta prevalencia en los pacientes renales, se cree que el estrés oxidativo puede ser un potencial contribuyente así como el estado de uremia permanente en el que se encuentran. El estrés oxidativo es capaz de activar los factores de transcripción tales como NF- κ B que regula la expresión de genes mediadores de la inflamación (Li N. 1999). La presencia de sustancias antioxidantes ha demostrado prevenir la activación de los NF- κ B por los radicales libres de oxígeno (ROS) al igual que la glutatión reductasa (GSH), facilita la activación de NF- κ B (Schreck R. 1991), sin embargo en los pacientes renales estas sustancias antioxidantes son deficientes. A lo ya mencionado habría que tener en cuenta además la variación genéticas interindividual a padecer estos procesos inflamatorios.

1.3.3. MARACADORES GENERALES DE LA INFLAMACIÓN

Se define *respuesta de fase aguda* a la actividad fisiopatológica que acompaña a la inflamación (fiebre, anorexia, incremento del cortisol, anemia, leucocitosis, aumento de la lipólisis etc). Aquellas proteínas cuyas concentraciones plasmáticas cambian al menos un 25% durante los estados inflamatorios se conocen como *proteínas de fase aguda* y su misión es ayudar a la defensa del huésped. Se puede producir un incremento en sus concentraciones como es el caso de la PCR, fibrinógeno, ferritina; o bien un descenso como ocurre con la albumina o transferrina. Su medición, a menudo ayuda en la práctica clínica a determinar el grado de infección que sufre el paciente. Su síntesis es fundamentalmente hepática, en respuesta a una inducción enzimática causada por los mediadores inflamatorios tipo IL 6.

La *respuesta de fase aguda* está mediada por la liberación de citoquinas (entre ellas la IL1 y la IL6) producidas por monocitos y macrófagos en el lugar donde se produce la infección o inflamación. Se sabe que mientras que en un sujeto sano los monocitos circulantes producen un 15-20% de citoquinas, en los pacientes sometidos a HD esta producción se incrementa hasta en un 50% (Girndt M), quizá debido a la situación de uremia o al conjunto de los factores mencionados

previamente. Por otro lado, a pesar de llamarse de *fase aguda*, esta respuesta se puede perpetuar en el tiempo, incluso convertirse en crónica, como ocurre en los pacientes renales.

Como se mencionaba previamente en los procesos inflamatorios podemos encontrar:

1. Incremento de algunos reactantes de fase aguda como PCR, ferritina, velocidad de sedimentación globular (VSG) o fibrinógeno
2. Descenso de otros como la albúmina o transferrina.
3. Reactantes tipo amiloide sérico A y algunas citoquinas inflamatorias que están persistentemente elevadas en situaciones de inflamación crónica

1.3.3.1 PROTEINA C REACTIVA (PCR):

La PCR es una proteína de la familia de las pentraxinas, proteínas que se distinguen por presentar un plegamiento proteico característico. Se trata de uno de los primeros *reactantes de fase aguda* que encontramos elevados ante un proceso inflamatorio o infeccioso.

La IL-1, los glucocorticoides, y los productos de activación del complemento actúan sinérgicamente potenciando las acciones de la IL-6, citoquina principal mediadora de su activación.

La función biológica principal de la PCR es el reconocimiento de patógenos y de células dañadas del huésped (incluidos antígenos nucleares, lipoproteínas y células apoptóticas) y participar en su eliminación activando las células fagocíticas y el sistema de complemento. Su producción es hepática.

Se trata del marcador inflamatorio más utilizado en la práctica clínica. El punto de corte de PCR que define el diagnóstico de inflamación es actualmente PCR > 3 mg/L. Las concentraciones de PCR que predicen un peor pronóstico en pacientes con IRC oscilan ampliamente entre 3 y 15 mg/L (Bayes B). Estas diferencias son debidas en parte a la utilización o no de determinaciones de PCR

de alta sensibilidad. Es de prever que la utilización más generalizada de PCR de alta sensibilidad en futuros estudios nos permita conocer mejor cuáles son las cifras de PCR que tienen un significado pronóstico negativo en la evolución de los pacientes con IRC.

Cada vez son más los estudios que correlacionan la PCR con la posibilidad de desarrollar enfermedades cardiovasculares contribuyendo al desarrollo y progresión de la placa aterosclerótica y a su inestabilidad.

Distintos resultados apuntan a que se trata de un elemento activo dentro de la génesis de la placa aterosclerótica. Se ha comprobado su presencia en la íntima arterial estando la cantidad de PCR dentro de la lesión aterosclerótica directamente relacionada con la actividad del proceso inflamatorio (**Tabla 3**).

En la mayoría de las células espumosas de la placa aterosclerótica localizadas a nivel subendotelial se detecta la presencia de la PCR, complejo destructor de membrana y complemento, así como otras moléculas que indican inflamación y progresión de la placa aterosclerótica.

La compleja relación entre promotores, mediadores y activadores de inflamación y placa aterosclerótica se muestra en la **Figura 10**.

Numerosos estudios han demostrado elevaciones significativas de PCR en pacientes con ERC. La prevalencia de una PCR elevada oscila entre el 25% en los pacientes con enfermedad moderada, hasta el 35-50% en pacientes con enfermedad renal avanzada o en diálisis (Panichi V and Stenvinkel P).

Un dato destacable es que la prevalencia de inflamación no difiere sustancialmente entre los pacientes con IRC prediálisis y aquellos ya sometidos a diálisis.

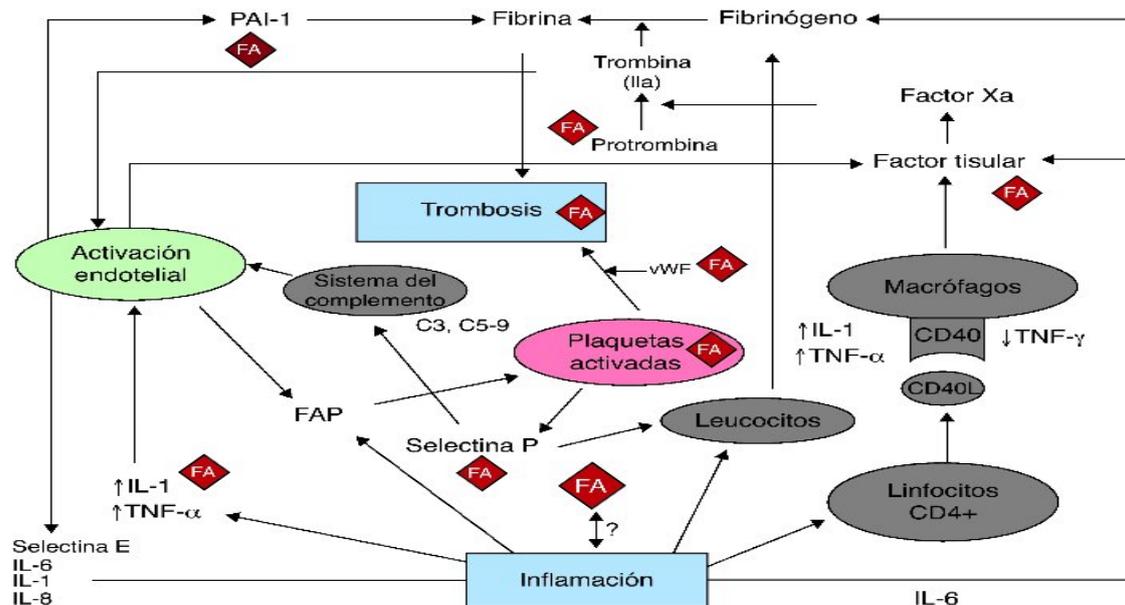


Figura 10. Promotores, mediadores y activadores de la inflamación (Kaski JC. Rev Esp Cardiol. 2011; 64:551-3. - Vol. 64 Núm.07).

Efecto pro-aterogénico
• Unión a LDL y VLDL en suero
• Unión a LDL-ox y parcialmente degradada
• Activación del Complemento
• Estímulo formación células “espumosas”
• Estímulo secreción factores tisulares por monocitos circulantes, efectos procoagulantes
• Disminución secreción Óxido Nítrico
• Estímulo secreción Endotelina-1
• Regulación al alza moléculas de adhesión y MCP-1
• Facilita apoptosis célula endotelial e inhibe angiogénesis
• Regulación al alza de receptores AT-1

Tabla 3 Mecanismos Pro-aterogénicos de la proteína C reactiva (Cortesía Goicoechea Diezhandino MA.)

La alta prevalencia con la que encontramos valores de PCR elevados en la población con enfermedad renal hace pensar en una relación causa-efecto entre la uremia e inflamación. Además de la uremia coexisten otros muchos factores presentes en estos enfermos que llevan a mantener niveles de PCR tan

elevados (**Figura 11**). Por otro lado en los pacientes en HD existe una gran variabilidad intraindividual e interindividual en la medición de PCR que tiene que ver con la comorbilidad y con los eventos clínicos intercurrentes. A pesar de esta gran variabilidad, la PCR sigue siendo un importante predictor de mortalidad, siendo más eficaz las mediciones múltiples que una sola medida (Snaedal S).

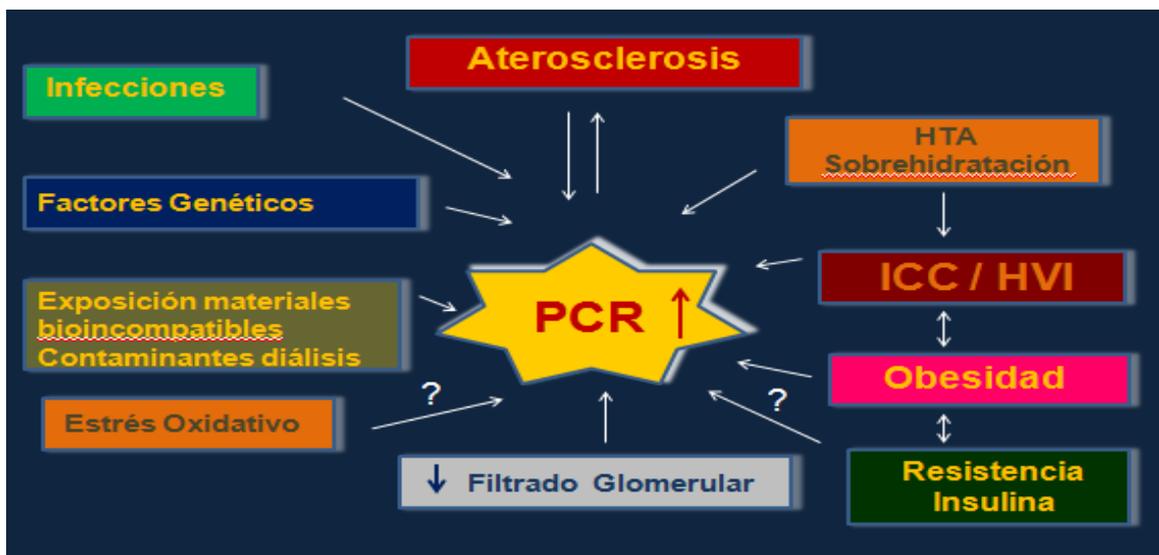


Figura 11 Esquema de las posibles causas de una elevación de Proteína C reactiva en pacientes con insuficiencia renal crónica (Caravaca F. *CIN* 2003)

En la práctica clínica, la monitorización de la PCR a nivel individual, puede contribuir a identificar complicaciones subyacentes que requieran rápido tratamiento. En esta monitorización a corto plazo, los pacientes más interesantes son quizás aquellos que presentan una elevación persistente de los niveles de PCR entre 5-50 mg/l. A estos pacientes, debería realizárseles un estudio clínico exhaustivo, independientemente de la existencia o no de sintomatología, para estudiar las posibles causas de dicha inflamación (injerto renal no funcionante, infección de catéter central, inflamación periodontal, etc). Asimismo, es recomendable una segunda determinación de la PCR dos semanas después del primer resultado para descartar procesos transitorios y reducir la variabilidad biológica de la PCR. Aquellos pacientes que presentan una rápida elevación de la PCR a valores > 50 mg/l, deberían ser estudiados en profundidad para detectar la existencia de quizás una infección activa o de procesos clínicos similares (cáncer o vasculitis).

1.3.3.2 VELOCIDAD DE SEDIMENTACION GLOBULAR (VSG)

La velocidad de sedimentación globular o eritrosedimentación consiste en medir la velocidad con la que sedimentan los eritrocitos de la sangre, provenientes de una muestra de plasma sanguíneo (tratado con solución de citrato o EDTA), en un periodo determinado de tiempo (mm/h), habitualmente una hora. Es un marcador de inflamación inespecífico, aunque se trata de una herramienta sencilla y barata de utilizar y que sirve de apoyo como otro marcador más de inflamación.

En comparación con la medición de la PCR, la VSG tiene las ventajas de la familiaridad, sencillez y una abundante literatura recopilada durante muchas décadas. Sin embargo, la VSG tiene una serie de desventajas en comparación con la determinación de PCR como que la VSG es sólo una medida indirecta de las concentraciones de proteína de fase aguda del suero, particularmente fibrinógeno o que se encuentra altamente influenciada en gran medida por el tamaño, la forma y número de células rojas de la sangre, así como por otros constituyentes, tales como inmunoglobulinas.

La VSG se encuentra elevada (superior a 25 mm / h por el método Westergren) en casi todos los pacientes con insuficiencia renal crónica terminal y/o síndrome nefrótico (Bathon J.). Dos terceras partes de los pacientes con ERC muestran una VSG por encima de 60 mm / h, y un 20 por ciento tienen elevaciones extremas por encima de 100 mm / h, este nivel tan elevado por lo general se relaciona con trastornos tales como infecciones, cánceres (especialmente si son ya metastásicos), o enfermedades del colágeno vascular como arteritis de la temporal. Es importante tener en cuenta desde el punto de vista clínico, los niveles elevados de VSG que encontramos frecuentemente en la insuficiencia renal o el síndrome nefrótico, ya que este hallazgo por sí solo no es indicador de un trastorno sistémico subyacente.

La elevación de la VSG no se ve afectada por la hemodiálisis siendo los valores pre y post-diálisis similares (Shusterman N).

1.3.3.3 FIBRINÓGENO SÉRICO

El fibrinógeno sérico es una proteína *reactante de fase aguda* que se correlaciona con PCR. El fibrinógeno ha demostrado en sujetos de población general ser un factor de riesgo cardiovascular (Danesh J.).

1.3.3.4 ALBÚMINA

La albumina es uno de esos *reactantes de fase aguda* en que se produce un descenso en sus niveles en casos de inflamación al igual que la transferrina.

Numerosos estudios apoyan la hipótesis de que es la inflamación crónica que sufren los pacientes con ERC, es la que les lleva a un estado de desnutrición-hipoalbuminemia (**A**). Sin embargo otros son los estudios que postulan el hecho contrario, que es la desnutrición crónica que sufren estos pacientes los que les provoca la inflamación (**B**). En cualquiera de ambas hipótesis, los niveles de albúmina sérica se encuentran descendidos.

A. La inflamación como origen del cuadro de desnutrición (hipoalbuminemia):

A-1 Elevaciones plasmáticas de proteínas inflamatorias y citoquinas catabólicas tisulares son comúnmente observadas en pacientes no dializados con insuficiencia renal crónica avanzada y en pacientes en diálisis. Una de tales citoquinas, factor de necrosis tumoral alfa, promueve los procesos catabólicos, provocando tanto la degradación de proteínas como la supresión de la síntesis de estas (Flores EA).

A-2 Algunos pacientes de diálisis con la inflamación crónica desarrollan pérdida de peso y un balance proteico negativo, a pesar de la administración de suplementos proteicos. Este hecho puede ser debido a un cambio en la síntesis de proteínas musculares a proteínas de fase aguda (Kaizu Y).

A-3 La síntesis de albúmina se suprime cuando la PCR en suero es elevada. En pacientes con ERC a medida que desciende el FGe, disminuye la albúmina sérica y se elevan las citoquinas proinflamatorias y *reactantes de fase aguda* (Kaysen GA).

A-4 La inflamación puede conducir a hipocolesterolemia, siendo esta un fuerte marcador de riesgo de mortalidad y de desnutrición en pacientes en diálisis (Bologa RM).

B. La inflamación no es el origen del desgaste proteico-energetico y desnutrición:

Como se ha mencionado otros autores sugieren que la inflamación no es el causante del desgaste proteico que sufren los pacientes renales. Entre otras justificaciones se apoyan en:

B-1 La albúmina sérica, los niveles de prealbúmina y otros indicadores del estado nutricional proteico-energético, obviamente, se correlacionan con la ingesta de proteínas y son independientes de la condición inflamatoria (Pupim LB). La albúmina sérica disminuye sólo ligeramente entre los individuos con desnutrición inducidos por la reducción de su consumo de nutrientes o en pacientes en HD desnutridos alimentados con dietas bajas en proteínas, lo que sugiere que la albúmina sérica es un reflejo directo de la baja ingesta proteica que hacen (Kalantar-Zadeh K).

B-2 A diferencia de los niveles de PCR en suero, las concentraciones de albúmina sérica generalmente no fluctúan en una base de mes a mes (Kaysen GA.)

B-3 En algunos estudios se ha visto como aquellos pacientes sometidos a una nutrición adecuada y sin control de la inflamación, mejora la hipoalbuminemia y el resultado clínico (Leon JB).

Estas consideraciones, aunque no concluyentes, indican que factores distintos de las consecuencias catabólicas de la inflamación también afectan a la albúmina sérica y otras medidas nutricionales. La ingesta de nutrientes es obviamente uno de esos factores.

Bien porque la inflamación permanente que sufren estos pacientes lleva a una situación de hipoalbuminemia o bien porque la baja ingesta proteica que tienen lleva igualmente a esta situación, el caso es que la hipoalbuminemia que presentan se relaciona con un incremento del riesgo cardiovascular.

Los trabajos de Owen WFJr y Kalantar-Zadeh demostraron que la hipoalbuminemia es un potente predictor de mortalidad en pacientes en diálisis. Muchos estudios recientes muestran que mediciones seriadas de albúmina pueden predecir inflamación crónica y eventos clínicos (Kaysen GA). Distintos estudios en pacientes con ERC no en diálisis demuestran que la albúmina junto con la PCR son predictores de morbilidad y mortalidad en pacientes con ERC estadios 3-5 (Foley RN). Rachit y cols demostraron en 376 pacientes con ERC estadios 2-4, que la hipoalbuminemia se asociaba con mayor riesgo cardiovascular independientemente de otros factores de riesgo cardiovascular tradicionales (Nehal Rachit Shah).

1.3.3.5 AMILOIDE SÉRICO A

Se sabe menos acerca de las acciones que cumple la proteína amiloide, otra proteína de fase aguda humana importante. Pertenece a una familia de apolipoproteínas que se asocian rápidamente con la lipoproteína de alta densidad después de su síntesis y secreción. Las proteínas de la familia amiloide tienen el potencial de influir en el metabolismo del colesterol durante los estados inflamatorios (Kisilevsky R). También pueden causar la adhesión y la quimiotaxis de los fagocitos y linfocitos (Mullan RH). En algunos pacientes con inflamación crónica, el efecto neto del aumento de la producción de esta proteína amiloidea es perjudicial, debido al depósito de fragmentos en los tejidos y al desarrollo de amiloidosis sistémica.

1.3.3.6 CITOQUINAS

Los cambios que se producen en los niveles de *reactantes de fase aguda* son el resultado en gran medida de los efectos de las distintas moléculas inflamatorias, llamadas citoquinas. Durante el proceso inflamatorio, las citoquinas son producidas principalmente por los macrófagos, monocitos, y una variedad de otras células.

Algunas de las principales citoquinas relevantes para la *respuesta de fase aguda* son la interleucina IL-6, IL-1 beta, factor de necrosis tumoral alfa y gamma interferón.

Estas citoquinas influyen en la producción de *proteínas de fase aguda* en los hepatocitos, siendo la IL-6 la principal inductora de la mayoría de los reactantes (GauldiE J.) Estas citoquinas también suprimen la síntesis de albumina como ya se ha mencionado.

En la **tabla 4** se resumen algunas de las funciones que realizan estas citoquinas.

Las citocinas involucradas en la *respuesta de fase aguda* forman parte de una red de señalización grande, complejo que consta de otras citoquinas, hormonas, antagonistas de los receptores de citoquinas y receptores circulantes como los de TNF e IL-6. Los patrones de producción de citoquinas difieren en función de los distintos procesos inflamatorios que llevan a ello (Bode JG.).

Antes de entrar en el papel que juegan las citoquinas en el proceso inflamatorio de los pacientes renales, explicaré brevemente cuales son las propiedades, clasificación y mecanismos de acción de las citoquinas.

Citoquinas proinflamatorias	Acción
Interleuquina 1 (IL-1)	Aumento del flujo sanguíneo local, fiebre, producción de otros mediadores solubles, aumento expresión de moléculas de adhesión
Factor de necrosis tumoral α (TNF-α)	Aumento expresión de moléculas de adhesión, expresión de otros mediadores solubles (quemoquinas, IL – 1), fiebre, alteraciones metabólicas de caquexia, shock séptico
Interleuquina 6 (IL-6)	Promueve diferenciación de monocitos, aumenta Número de plaquetas circulantes y proteínas de reactante de fase aguda
Interleuquina 4 (IL-4)	Relacionada con la inflamación alérgica Propiedades antiinflamatorias
Interleuquina 8 (IL-8)	Quimiotáctico de neutrófilos
Interferon – γ	Función en inmunidad celular contra microbios intracelulares
Interleuquina 12 (IL-12)	Estimula la inmunidad celular citotóxica

Tabla 4. Efectos clínicos de algunas citoquinas (Pazmiño Freddy A. Artículo de revisión. Revista de la Facultad de Medicina, Vol. 62, núm. 2; 2014)

1. PROPIEDADES GENERALES Y FUNCIONES

Como ya se ha dicho, las citoquinas son proteínas solubles con bajo peso molecular, que se producen en respuesta a un antígeno y otras señales. Funcionan como mensajeros químicos reguladores de la intensidad y duración de la respuesta inmune, estimulando o inhibiendo la proliferación de varias células, la secreción de anticuerpos o de otras citoquinas.

Las citoquinas son secretadas por varias células implicadas en la respuesta inmune como respuesta a un estímulo, y actúan sobre las células diana que expresan en su membrana receptores específicos para una citoquina dada. La unión de una citoquina a su receptor de membrana transmite una señal hacia el interior celular que conduce a cambios en la activación y expresión de genes (**Figura 12**). Además, en el suero se han detectado receptores solubles para las distintas citoquinas cuya acción es contribuir a la regulación de la actividad de las mismas.

Las citoquinas pueden actuar sobre muchos objetivos celulares diferentes, con una acción: a) autocrina, uniéndose a la misma célula que la secreta; b) paracrina, actuando sobre una célula cercana y c) en algunas ocasiones, con una acción endocrina, uniéndose a células distantes.

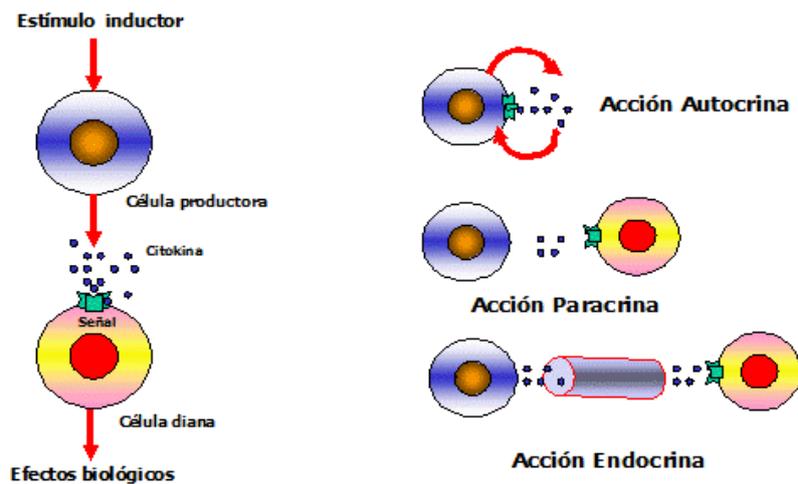


Figura 12. Mecanismo de acción de las citoquinas (Resino García Salvador. Portal de EMEI. Epidemiología molecular de enfermedades infecciosas)

2. CLASIFICACION FUNCIONAL DE LAS CITOQUINAS

Desde un punto de vista funcional las citoquinas se pueden agrupar de la siguiente manera:

- A. Mediadoras de la inmunidad adaptativa
- B. Mediadoras de la inmunidad innata y de la inflamación
- C. Mediadoras de la quimiotaxis
- D. Mediadoras de la hematopoyesis

A. Citoquinas mediadoras de la inmunidad adaptativa

La activación de los linfocitos T y B en reposo para ejercer sus acciones requiere una serie de señales, en las cuales intervienen diversas citoquinas.

Activación de Linfocitos B

La activación de un linfocito B en reposo requiere la unión del Ag al receptor celular del linfocito B (**Figura 13**). Este reconocimiento amplifica la expresión de receptores de citoquinas, entre ellas, la IL-1, producida por los macrófagos, y principalmente IL-4, IL-5, producidas por los linfocitos Th2. Las citoquinas también desempeñan una función esencial en la regulación del cambio de isotipo de las Ig producidas (ej. IL-4 induce el cambio a IgE).

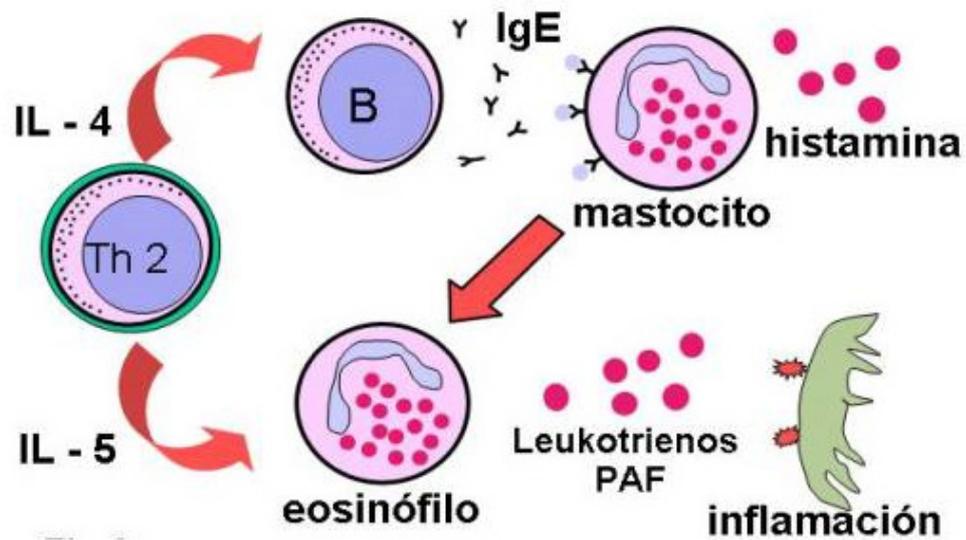


Figura 13 La apoptosis de linfocitos como mecanismo de inducción de tolerancia con extractos alergénicos. F. Guerra Pasadas. Servicio de Alergia. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Activación de Linfocitos T

Tras la interacción del complejo con el receptor celular del linfocito T, se desarrolla una señal que resulta en la transcripción de genes, incluyendo aquéllos que codifican IL-2 y IL-2R. Los linfocitos helper (CD4 o Th) se diferencian en dos subpoblaciones Th1 y Th2 dependiendo de las citoquinas que secretan las células productoras de anticuerpos (macrófagos y células dendríticas), presentando un panel de expresión de citoquinas característico (**Figura 14**).

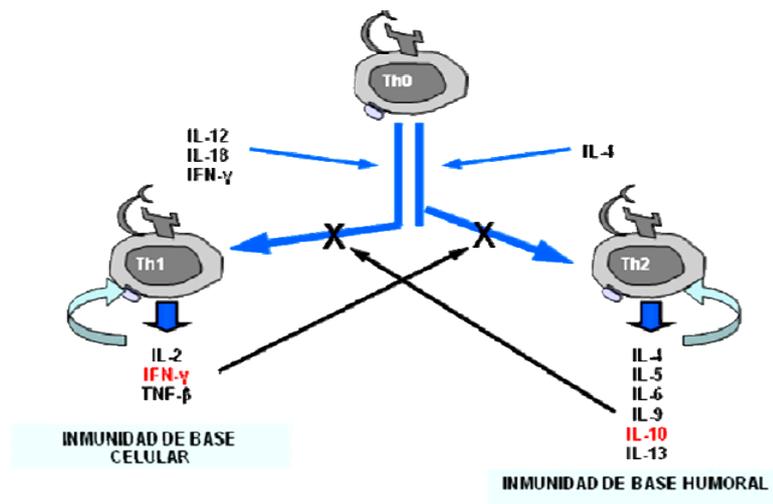


Figura 14 Citoquinas producidas por los linfocitos Th1 y Th2 (Hernandez-Ruiz J. Salud pública, Mex Vol.48 no.5 Cuernavaca sep/oct. 2006)

Los Th1 producen varias citoquinas proinflamatorias, principalmente TNF- α , IL-2 e INF- γ . Los Th2 están implicados en la inmunidad humoral produciendo citoquinas como IL-1, IL-5, IL-9, o la IL-6 teniendo por lo tanto un papel importante en la respuesta inflamatoria sistémica (**Figura 15**).

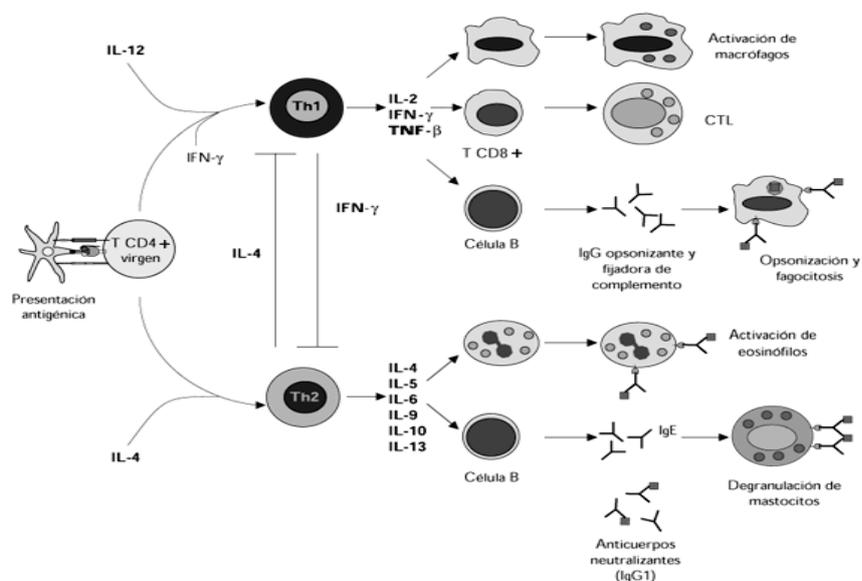


Figura 15. Función efectora de las subpoblaciones T (CD4+) Th1 y Th2 (Salud Pública Méx 2002; Vol. 44(2):145-152)

B. Citoquinas mediadores de la inmunidad innata y de la inflamación

Las citoquinas juegan un papel fundamental en la respuesta inmune innata mediante mecanismos de acción directa frente al agente invasor (el interferón sobre la replicación viral) o mediante la movilización de mecanismos inmunorreguladores (iniciadores de la inflamación, elevando la temperatura corporal (fiebre) y activando las células NK y los macrófagos). Las citoquinas que actúan en esta fase están producidas fundamentalmente por los macrófagos, las células NK, y por otras células no inmunes como fibroblastos y células endoteliales. Las principales citoquinas que intervienen en la respuesta innata son: IL-1, IL-6, IL-12, IL-16, TNF- α e Interferones (IFN α e IFN- γ).

Las citoquinas tienen la peculiaridad además de que participan como un mecanismo de autorregulación, interactuando entre sí, estableciéndose así un equilibrio entre citoquinas inflamatorias y antiinflamatorias. Por ejemplo; las citoquinas Th1 estimulan la síntesis de óxido nítrico y otros mediadores inflamatorios, la actividad de los linfocitos T citotóxicos, las células natural Killer y los macrófagos activados, ejerciendo una acción proinflamatoria. Por otro lado, las citoquinas Th2 inhiben la activación de los macrófagos, la proliferación de células T y la producción de citoquinas proinflamatorias, estando implicadas en mecanismos antiinflamatorios. Las respuestas Th1 y Th2 son mutuamente inhibidas, de tal forma que IL-12 e INF- γ inhiben la respuesta Th2, mientras que IL-10 e IL-4 inhiben la Th1. De esta forma, se establece un balance entre citoquinas pro y antiinflamatorias.

C. Citoquinas mediadoras de la quimiotaxis

Se denominan quimioquinas al conjunto de citoquinas de muy bajo peso molecular, producidas por diferentes células inmunes y no inmunes que tienen una fuerte capacidad quimiotáctica.

D. Citoquinas mediadoras de la hematopoyesis

Las citoquinas juegan un papel muy importante en la estimulación de la hematopoyesis de las células inmunes, actuando sobre las poblaciones inmaduras potenciando su maduración y proliferación. Las más importantes son: Factor Estimulador de Colonias Granulocito Macrófago (GM-CSF), Factor Estimulador de Células Precursoras, Factor Estimulador de Macrófagos (M-CSF), IL-3, IL- 7 y Eritropoyetina (Epo).

En cuanto al papel que juegan las citoquinas en los pacientes renales. Hay numerosos estudios en la literatura sobre las alteraciones de la citoquinas en pacientes con ERC con y sin diálisis. Todos ellos, informan de elevaciones aunque bastante variables de IL-6 y TNF- α (Stenvinkel P). El disbalance de citoquinas en los pacientes con ERC puede originar múltiples alteraciones: aumento de la resistencia a la eritropoyetina, aumento de resistencia a la insulina, aumento en la síntesis de adipocitoquina, disfunción endotelial o alteraciones del remodelado óseo (**Figura 16**)

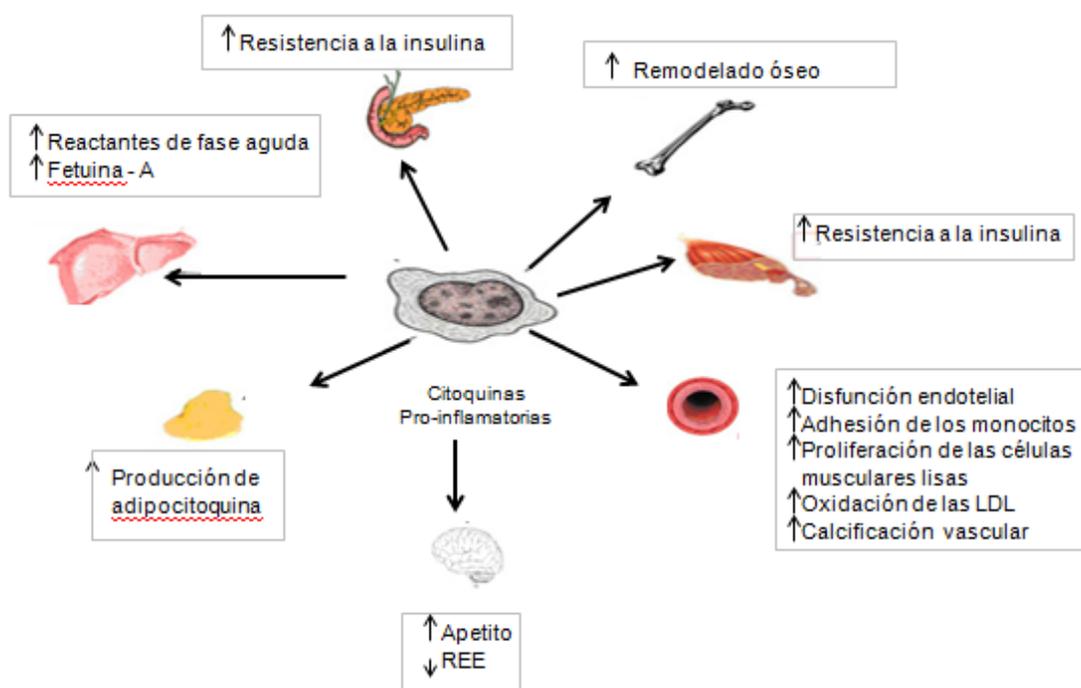


Figura 16. Acciones de algunas citoquinas en pacientes con ERC (Carrero JJ. Inflamación en diálisis. Nefrología 2010)

Por lo tanto, el estado inflamatorio es un perfil que se encuentra constante en los pacientes con enfermedad renal. Numerosos estudios han relacionado el incremento de la inflamación y de los distintos marcadores inflamatorios, como la PCR, con el riesgo incrementado de sufrir eventos cardiovasculares.

Aunque la uremia se relaciona directamente con este estado coexisten otros muchos factores que conducen a ello en estos pacientes como la HVI, ICC, calcificaciones vasculares, faltando aun estudios que aclaren el papel que juegan cada uno de ellos por separados en este estado inflamatorio y en este tipo de pacientes.

La edad por sí misma no parece ser un determinante de inflamación, sino más bien una variable que incrementa la probabilidad de padecer procesos comorbidos relacionados más directamente con el desarrollo de inflamación.

Se sabe que la obesidad troncular que sufren estos pacientes puede estar relacionada también con los niveles elevados de PCR e IL-6 que presenta. El adipocito de la grasa intra-abdominal es capaz de generar tres veces más IL-6 que el de la grasa subcutánea y como ya se ha mencionado este adipocito además es capaz de expresar ARNm de la PCR, incrementándose la producción de esta.

La reducción del filtrado glomerular podría incrementar los marcadores inflamatorios al reducir su aclaramiento, de hecho la función renal residual se relaciona negativamente con la prevalencia de inflamación.

Como se ha mencionado el exceso de producción de citoquinas proinflamatorias se intenta compensar con el incremento de otras que tienen un papel antiinflamatorio. De tal modo que también se ha visto como los pacientes en diálisis tienen una secreción espontánea de IL-10 significativamente superior a los sanos, existiendo una correlación positiva entre los niveles de IL-10 e IL-6 (Brunet P). Este aumento de IL-10 podría tratarse de un mecanismo compensador para el control del exceso de producción de otras citoquinas (Girndt M).

Por todo lo mencionado, parece lógico pensar que la monitorización de distintos marcadores inflamatorios, fundamentalmente la PCR por su fiabilidad y sencillez en la realización, podría ser útil en la práctica clínica diaria de los pacientes con ERC, fundamentalmente en aquellos que están sometidos a técnicas dialíticas, con la finalidad de identificar y monitorizar procesos inflamatorios subyacentes.

1.4 MECANISMOS DE OXIDACIÓN EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

1.4.1 CONCEPTO

Se define estrés oxidativo (EO) como el desequilibrio entre la producción de especies oxidantes como los radicales libres y las defensas antioxidantes a favor de las primeras (Sies H). Está implicado en numerosos procesos fisiopatológicos y su desregulación se asocia al desarrollo de numerosas enfermedades crónicas y al proceso de envejecimiento como resultado del daño a las diferentes biomoléculas y de las alteraciones en las vías de señalización y control redox (Jones 2008).

1.4.2 ESPECIES REACTIVAS DEL OXÍGENO Y DEL NITRÓGENO

Entre las especies reactivas encontramos los **radicales libres**; estos son átomos, por lo general de oxígeno, radicales libres de oxígeno (ROS), altamente reactivos e inestables. Esta inestabilidad se debe a la pérdida de uno de sus electrones en nivel energético superior, que intentan reponerlo tomándolo de otros átomos confiriéndole así, alta capacidad paramagnética (**Figura 17**). Esto genera una reacción en cadena que ocasiona grandes daños en las células, manifestándose entre otras cosas por el envejecimiento y enfermedades. Estos radicales libres, se forman como productos normales del metabolismo aeróbico, a bajas concentraciones, son necesarios para el buen funcionamiento celular, pudiendo actuar como segundos mensajeros, estimulando la producción celular

y/o actuando como mediadores para la activación de las células (Palmer HJ 2004).

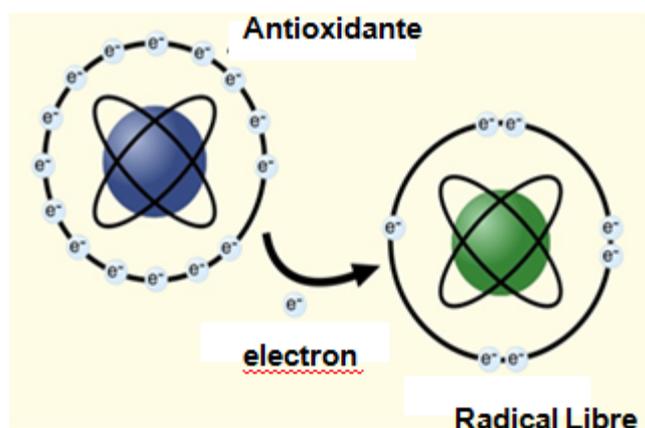


Figura 17. Mecanismo de formación de radical libre

Sin embargo, bajo determinadas condiciones fisiopatológicas, un incremento en su producción y concentración favorece el desequilibrio hacia la oxidación (Halliwell 1996). Se provocan interacciones con distintas macromoléculas biológicas, como lípidos, proteínas, ácidos nucleicos y carbohidratos y alteran los procesos celulares (funcionalidad de las membranas, producción de enzimas, respiración celular, inducción génica, etc.); produciendo reacciones en cadena de radicales libres (Valko M 2004) e induciendo daño oxidativo.

Dentro de las especies reactivas, encontramos también los **no radicales**, los cuales son especies químicas que por sí mismas no son reactivas pero en presencia de metales de transición (hierro y cobre) u otros radicales generan radicales libres altamente reactivos (Nordberg y Arner, 2001).

Todos ellos se agrupan con el nombre de especies reactivas del oxígeno (ROS) y del nitrógeno (RNS) (**Tabla 5**). De la misma forma existen especies reactivas del cloro (RCIS) y del bromo (RBrS) (Halliwell, 2006).

Radicales		No Radicales
ROS	O_2^- : Radical superóxido OH: Radical hidroxilo OOH: Radical hidroperoxilo ROO^- : Radical peroxilo	H_2O_2 : Peróxido de hidrógeno 1O_2 : Oxígeno singlete O_3 : Ozono
RNS	NO: Radical óxido nítrico	NO: Óxido nítrico $ONOO^-$: Peroxinitrito NO^- : Anión nitroxilo

Tabla 5: Especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno (Fernandez JM. Revista Andaluza de Medicina del deporte. Vol 02 Num 01 2009)

De los ROS inorgánicos los más importantes son el oxígeno molecular O_2 , el radical-anión superóxido (O_2^-), el radical hidroxilo (OH) y su precursor inmediato el peróxido de hidrógeno (H_2O_2). De los secundarios u orgánicos, el radical peroxilo (ROO^-), el radical hidroperóxilo orgánico (OOH) y los lípidos peroxidados (Veiga E 1997 y Pryor WA 1994). El peróxido de hidrógeno (H_2O_2), oxígeno singlete (1O_2) y peroxinitrito ($ONOO^-$), son especies de baja reactividad, pero en presencia de metales de transición (hierro y cobre) como ya se ha mencionado, pasan a radical hidroxilo (OH^-) especie oxigénica mas reactiva y tóxica, dada la capacidad que tiene de reaccionar con las distintas biomoléculas (lípidos, proteínas, ácidos nucleícos) (**Figura 18**).

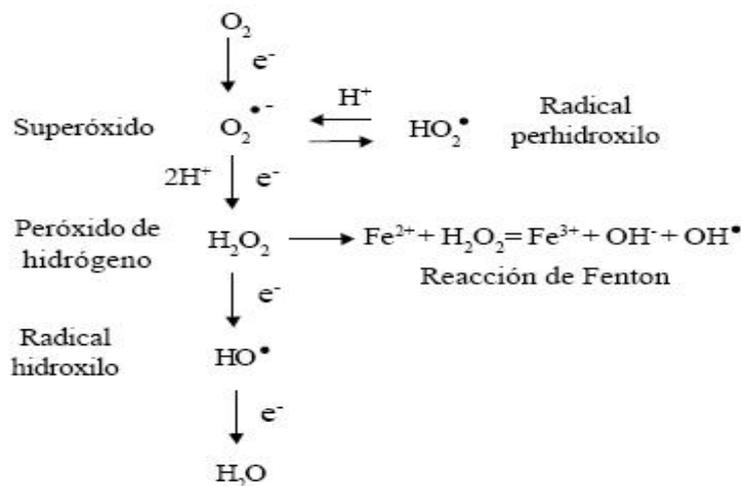
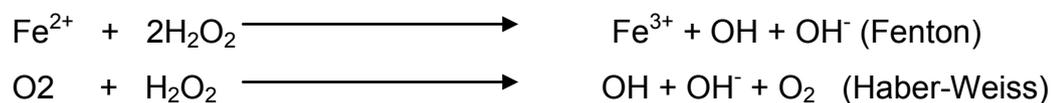


Figura 18. Radicales libres de oxígeno (Benezzer-Benezzer M. Rev. mex. fitopatol. 2008, vol.26, n.1, pp. 56-61)

El **radical superóxido (O_2^-)**, es un radical libre cargado, formado como consecuencia de una reducción monovalente del oxígeno molecular (Miller y cols; 1990). Es una especie menos reactiva que otros radicales aunque puede actuar como oxidante débil o como agente reductor de iones metálicos de transición (Valko y cols; 2005). Este radical superóxido es el mayor reductor, de tal forma que la simple adición de un protón da lugar a la formación de HO_2 , convirtiéndose en un agente oxidante muy activo, selectivo y específico. Por lo tanto su importancia fundamental radica en ser fuente de radicales hidroxilo y peróxido de hidrógeno.

El **peróxido de hidrógeno (H_2O_2)**, se le considera el principal intermediario en el metabolismo de las especies reactivas del oxígeno, no es un radical libre, pero en presencia de trazas de catalizadores metálicos como el hierro o el cobre, o en presencia de otros radicales libres puede dar lugar a la formación del radical OH, a través de la reacción de Fenton o Haber-Weiss (Andreyev y cols; 2005).



El **radical hidroxilo (OH)**, es una de las especies oxigénicas mas reactivas presentes en el organismo, está implicado en numerosos procesos fisiopatológicos como la isquemia, enfermedad renal, diabetes (Halliwell y Gutteridge, 2006). Muestra una alta reactividad, su electrón desapareado puede reaccionar inespecíficamente con casi cualquier tipo de molécula, DNA, proteínas y lípidos. Además es el responsable de la propagación del daño oxidativo entre fracciones subcelulares, ya que puede atravesar membranas celulares y producir reacciones en cadena.

El **radical óxido nítrico (NO)**, con una importante reactividad química e inestabilidad debido a su número impar de electrones. Radical fisiológico con considerable interés biológico debido a su papel como mediador vascular y puede reaccionar con iones superóxido formando especies reactivas altamente tóxicas y oxidantes, como el peroxinitrito, que se puede disociar generando otros productos como el radical hidroxilo.

Estas especies reactivas se pueden generar a través de diferentes procesos, entre los que se encuentran fuentes endógenas como la cadena de transporte mitocondrial o microsomal (**Figura 19**) (Gupta M y cols, 1997) o fuentes exógenas, como son los factores ambientales, fármacos, nutrición o técnica de hemodiálisis propiamente dicha.

En las **fuentes endógenas** la reducción parcial de la molécula de oxígeno durante la respiración aeróbica genera anión superóxido y radical hidroxilo (Turrens, 2003). Entre un 5-10% del total de oxígeno consumido en la mitocondria, se transforma el radical superóxido, que dismuta a H_2O_2 por acción de la superóxido dismutasa y en presencia de iones metálicos, a través de la reacción de Fenton y/o reacciones de Harber-Weiss se genera el radical hidroxilo, altamente reactivo, causando importantes daños en las proteínas celulares, los lípidos y el DNA (Andreyev y cols; 2005) (**Figura 20**).

Otras fuentes endógenas de ROS y RNS, son la cadena de transporte electrónico no fosforilante en el retículo endoplasmático (Gupta y cols; 1997), las células fagocitarias (neutrófilos, monocitos o macrófagos) (**Figura 21**) que utilizan el sistema NADPH oxidasa generando directamente el radical superóxido (Lambeth, 2004). O la oxido nítrico sintetasa que genera óxido nítrico a partir de la arginina intracelular. La activación catalítica de diversas enzimas del metabolismo intermediario celular, como la hipoxantina y xantina oxidasa, aldehído oxidasa, monoamino oxidasa, ciclooxigenasa, lipoxigenasa, que utilizan el O_2 como sustrato, también contribuyen al incremento endógeno de especies reactivas (Halliwell y Gutteridge, 2006)

Como **fuentes exógenas**, encontramos factores ambientales (exposición a metales, humos, radiaciones electromagnéticas), farmacológicos, nutricionales o técnica de hemodiálisis propiamente dicha.

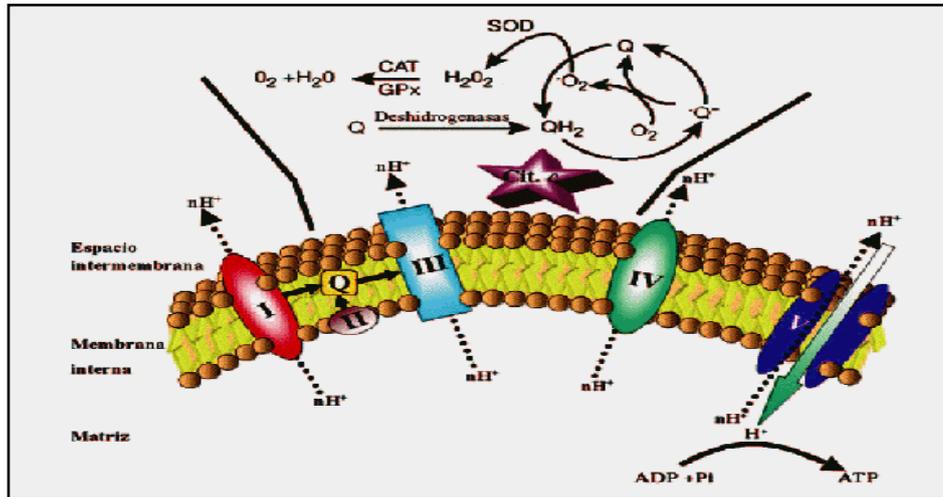


Figura 19. Reacciones de generación de radicales libres en la cadena de transporte de electrones mitocondrial (Quiles JL. Endocrinología y Nutrición Vol 51. Núm 03 2004)

Oxígeno singlete

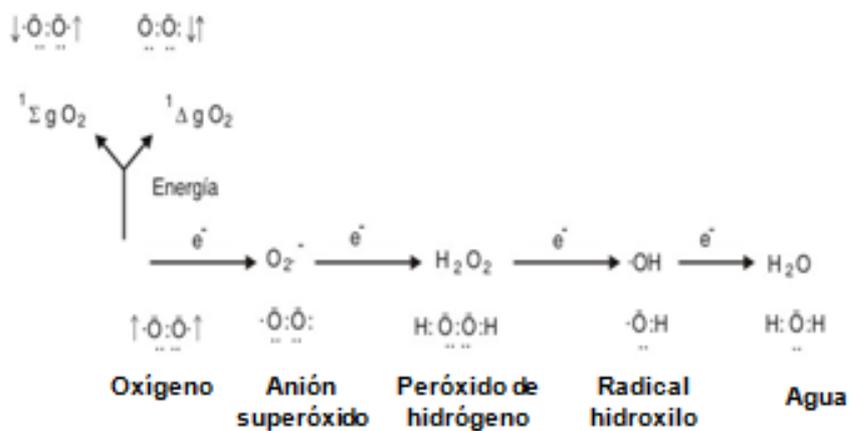


Figura 20. Reacciones de generación de radicales libres del oxígeno (Martinez Sanchez G. Rev Cubana Farm 2005; 39(3))

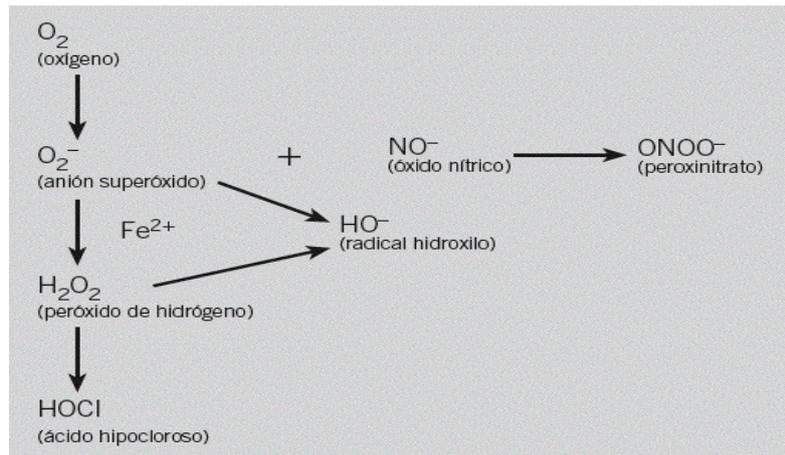


Figura 21 Generación de especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno en las células fagocitarias (Ramirez Prieto MT. Medicina Clínica Vol 127 Num 10 2006)

1.4.3 EFECTOS BIOQUÍMICOS Y FISIOLÓGICOS DEL ESTRÉS OXIDATIVO

A bajas concentraciones, los radicales libres son necesarios para el buen funcionamiento celular pudiendo actuar como segundos mensajeros, estimulando la proliferación celular y/o actuando como mediadores para la activación de las células (Weinberg y Chandel, 2009). Sin embargo, a altas concentraciones son capaces de dañar de forma reversible o irreversible todo tipo de biomoléculas, incluyendo proteínas, carbohidratos, ácidos nucleicos (Valko y cols 2007).

Como consecuencia de ello, los ROS están implicados en el control de la patogénesis de muchas enfermedades degenerativas (Kell y cols 2009) tales como cáncer, aterosclerosis acelerada, enfermedades inflamatorias (**Figura 22**).

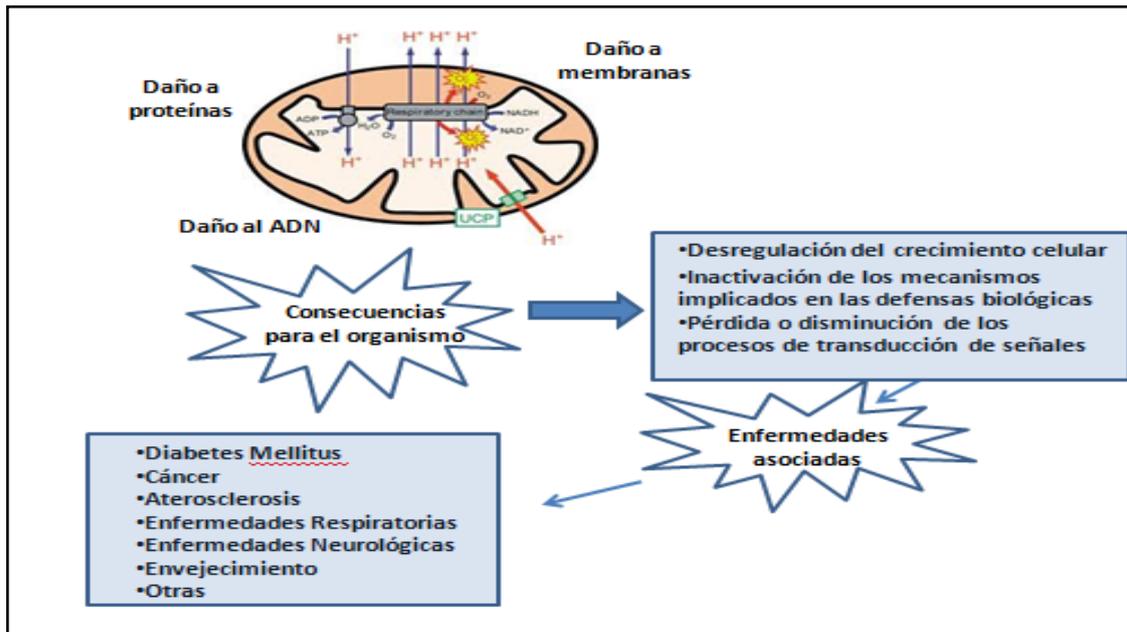


Figura 22. Daños producidos por las especies reactivas del oxígeno y del nitrógeno (Cortesía de Cavia M. y Muñiz P.)

El daño oxidativo a las biomoléculas causado por los radicales son de muy diversa naturaleza, pero en general actúan a través de uno de los siguientes mecanismos: a) captando un hidrogenión de una molécula; b) introduciéndose como tal en una molécula diana c) transfiriendo un electrón. En cualquiera de los tres casos, la reacción de un radical libre con otra molécula origina la formación de un nuevo radical que puede o no ser tan reactivo como la especie original.

Este daño oxidativo a las distintas biomoléculas causa alteraciones y disfunciones metabólicas (Valko y cols; 2007), como inactivación y desnaturalización proteica, asociado a lesiones en el citoesqueleto celular, peroxidación lipídica, que provoca la pérdida de fluidez de membrana, lisis celular, oxidación de las LDL, etc; daño a los ácidos nucleicos, con la consecuente ruptura de cadenas y la modificación de las bases nitrogenadas, relacionado con procesos de mutagénesis, carcinogénesis y modificación de las vías de señalización implicadas en el metabolismo y regulación del ciclo celular.

1.4.3.1 OXIDACIÓN PROTEÍCA

La oxidación proteica se define como una modificación covalente en una proteína inducida por especies reactivas. Los cambios oxidativos en proteínas pueden comportar diversas consecuencias en su función, como la inhibición de la actividad enzimática, un incremento a la susceptibilidad a la agregación y proteólisis, un aumento o disminución de la captación celular y una alteración de la inmunogénesis. Esta oxidación se origina por la acción de los ROS o RNS sobre las cadenas laterales de los aminoácidos, principalmente sobre la cisteína y la metionina (Stadman, 2004). Se produce así un incremento de los grupos carbonilo de las cadenas laterales de los aminoácidos, un descenso de los grupos tiol, que resulta en un incremento en el entrecruzamiento entre cadenas peptídicas o en la fragmentación de enlaces peptídicos. La concentración de los grupos carbonilos generados son los marcadores de la modificación oxidativa mas ampliamente utilizados (Mutlu-Turkoglu y cols; 2003).

1.4.3.2 OXIDACIÓN DE ÁCIDOS NUCLEÍCOS

El radical hidroxilo es el principal causante del daño oxidativo al DNA (von Sonntag, 2006). Los efectos de los radicales libres sobre el DNA incluyen la escisión monocatenaria o bicatenaria de la molécula de DNA, sitios abásicos, hidroxilación de las bases nitrogenadas y entrecruzamientos DNA-proteína (Valko y cols 2006). Estos daños persistentes sobre el DNA dan lugar a la detención o inducción de factores de transcripción, alteraciones en las vías de transducción de señal, errores de replicación e inestabilidad genómica, estando involucrados en muchos procesos relacionados con la carcinogénesis.

1.4.3.3 PEROXIDACIÓN LIPÍDICA

Los radicales libres inician y causan la peroxidación de lípidos sobre todo aquellos que componen la membrana celular y está asociado con distintas

alteraciones fisiopatológicas principalmente el daño vascular. La peroxidación lipídica puede tener diversos efectos sobre las funciones celulares ya sea directamente, al reaccionar con proteínas, ácidos nucleicos o indirectamente a través de receptores de las vías de señalización (Katsiki y Manes, 2009).

Así la peroxidación lipídica de las membranas resulta en cambios de fluidez, aumento de permeabilidad, disminución del potencial de membrana que puede conllevar a la muerte celular (Greenberg y cols, 2008). Especialmente susceptible a la peroxidación lipídica son las partículas de LDL que tienen un papel trascendental en la fisiopatología de la aterosclerosis (Steinberg y cols 2009).

1.4.3.4 OXIDACIÓN DE AZUCARES

Los azúcares reductores como la glucosa o la ADP-ribosa, provocan la alteración de proteínas mediante una reacción de glicosilación no enzimática. Estas reacciones dan lugar a unos productos muy inestables llamados productos de glicosilación avanzada (AGEs). La unión de los AGEs a distintos receptores desencadena la generación de especies reactivas del oxígeno que modulan la función celular induciendo, por ejemplo, procesos inflamatorios.

1.4.4 SISTEMAS ANTIOXIDANTES

Los organismos vivos, han desarrollado unos mecanismos de defensa antioxidantes (sustancias con capacidad para oponerse a la acción del oxígeno y de ciertas especies oxidantes, independientemente de su mecanismo) que limitan la actividad y producción de estos radicales libres oxidantes, pudiendo clasificarse según su naturaleza en antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos y en antioxidantes endógenos y exógenos según procedencia (**Figura 23**).

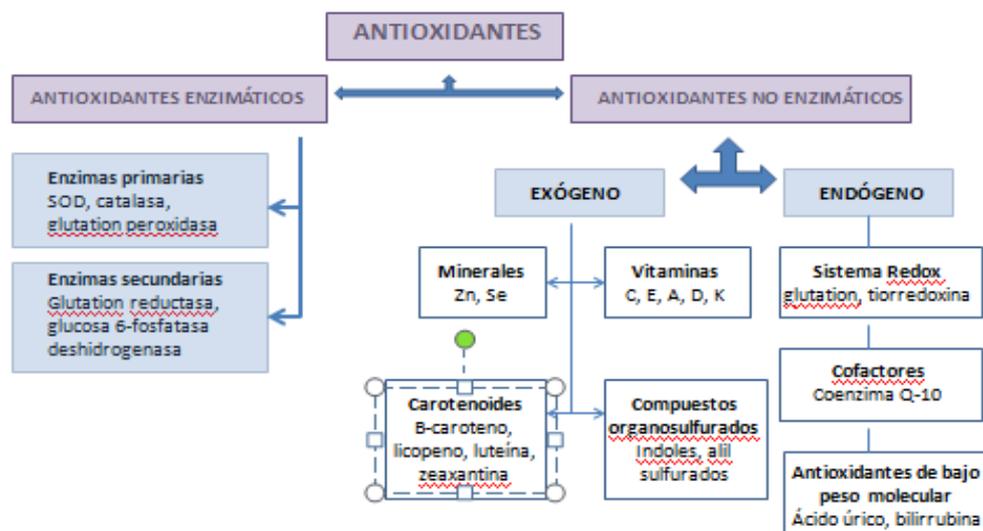
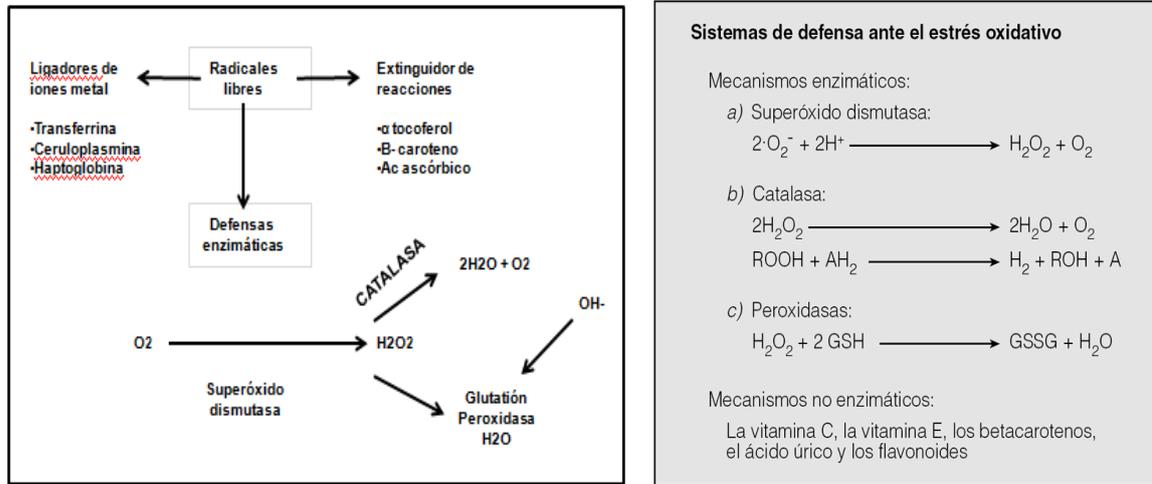


Figura 23. Clasificación sistemas de defensa antioxidantes (Cortesía Cavia M. y Muñiz P.)

Los mecanismos de acción de los antioxidantes incluyen tres niveles de actuación: prevención, estabilización de los radicales (secuestradores) y eliminación. Los **antioxidantes enzimáticos**, son capaces de metabolizar los radicales libres generados por los redox celulares. Pueden ser clasificados en enzimas primarias como la *catalasa de los peroxisomas* (CAT), la *glutatión peroxidasa* (GPx) o la *superóxido dismutasa* (SOD) y en enzimas secundarias como la *glutatión reductasa* o la *glucosa 6-fosfatasa deshidrogenasa* (G6PDH) (**Figuras 24 y 25**). Los **antioxidantes no enzimáticos**, son los también llamados rastrillos de radicales (*radical scavengers*), son especies químicas cuya posibilidad antioxidante reside en su capacidad para destruir directamente los radicales libres. Como captosres de radicales libres los estabilizan, inhibiendo la cadena de inicio y rompiendo la de propagación. Dentro de este grupo se encuentran los **antioxidantes de origen endógeno** como los sistemas redox (*Glutatión* (GSH) y *tiorredoxina* (Trx)), los cofactores (coenzima Q-10) y antioxidantes de bajo peso molecular (ácido úrico y bilirrubina). En el grupo de **antioxidantes de origen exógeno** podemos encontrar los obtenidos de la dieta como vitaminas (C,E,D,A,K), minerales (Zn, Se), carotenoides (beta-caroteno, licopeno, luteína, zeaxantina) y compuestos organosulfurados (indoles, alil sulfurados) (Figura 21). Los mecanismos de eliminación y o reparadores, actúan cuando las biomoléculas ya han sufrido el daño

eliminándolas o reparándolas (glicosidasas de DNA, las fosfolipasas y las proteasas).



Figuras 24 y 25. Antioxidantes enzimáticos primarios y secundarios (Nácher M. Arch Bronconeumol. 2007; 43(Supl 2):40-7.

1.4.4.1 ANTIOXIDANTES ENDÓGENOS

Constituyen la primera defensa de las células frente a la agresión por radicales libres y radica principalmente en la acción conjunta de **tres enzimas**; *superóxido dismutasa* (SOD), *catalasa* (CAT) y *glutión peroxidasa* (GPx). La eficacia de esta triada enzimática reside en una triple acción defensiva al disminuir la producción de estas especies oxigénicas e impedir la interacción de estas entre sí o con metales de transición para dar lugar a especies de mayor reactividad como el radical hidroxilo. La SOD cataliza la reacción de dismutación del O_2^- a H_2O_2 , que en una reacción posterior es reducido por la CAT o GPx formando H_2O y O_2 . La catalasa se encuentra principalmente en los peroxisomas y su principal función es eliminar el H_2O_2 generado en la β -oxidación de los ácidos grasos, mientras que la glutión peroxidasa degradará el H_2O_2 citoplasmático (Muñiz y cols 2000). Sus concentraciones están sujetas a regulación genética, de forma que aumentan rápidamente en respuesta a factores de transcripción, que detectan cambios a nivel de estrés oxidativo (Harris 1992).

La acción de las tres enzimas es vital para el funcionamiento normal de la célula y su estado antioxidante. Un desequilibrio entre estas tres enzimas genera un balance prooxidante frente al antioxidante que favorece la producción de ROS y el daño celular.

Además del sistema **antioxidante enzimático** los organismos vivos disponen de un sistema **antioxidante no enzimático** que constituye la segunda línea de defensa y está formado básicamente por antioxidantes de bajo peso molecular que constituyen un numeroso conjunto de compuestos capaces de prevenir el daño oxidativo por interacción directa o indirecta con los ROS. Su acción indirecta radica fundamentalmente en quelar metales de transición y su acción directa sobre las especies reactivas en transferir electrones o secuestrando radicales evitando así que ataquen a la célula diana. Estos sistemas no enzimáticos están conformados por compuestos como *glutación reducido*, la *tiorredoxina*, urato etc. que estabilizan los ROS o provocan la quelación de iones metálicos de elementos de transición que al estar en estado reducido potencian su autooxidación y generación de anión superóxido (Sies 1993). El *glutación* (GSH), es un tripéptido de γ -glutamil-cisteinil-glicina que constituye el principal tiol celular no proteico más abundante y ampliamente distribuido en los tejidos. La *tiorredoxina reductasa* es una oxireductasa que cataliza la reducción de puentes disulfuro, con lo que juega un papel importante en la regulación del estado redox de los tioles de las proteínas (Nakamura y cols; 1997). La *tiorredoxina* (Trx), posee una secuencia de aminoácidos en el sitio catalítico que incluye dos residuos de cisteína. Estos pueden ser oxidados reversiblemente formando un puente disulfuro, el cual puede ser a su vez reducido por la tiorredoxina reductasa en presencia de NADPH (Berndt y cols 2007).

La *ceruloplasmina*, *ferritina*, *urato* o la *bilirrubina* son otro grupo de antioxidantes endógenos a nivel plasmático. La *ceruloplasmina* y *ferritina* son antioxidantes preventivos in vivo al unir metales de transición y evitar auto-oxidaciones y reacciones que conllevan a la formación de radicales hidroxilo.

El *urato*, se obtiene del metabolismo de degradación de los nucleótidos xantina a ácido úrico. Es el producto final de las purinas en humanos. La *bilirrubina* es el producto final de la degradación del grupo hemo. Es un antioxidante liposoluble.

1.4.4.2 ANTIOXIDANTES EXÓGENOS

Este grupo de antioxidantes lo constituyen aquellas moléculas con capacidad antioxidante que no se pueden sintetizar endógenamente y son obtenidos a partir de la dieta, como las vitaminas o los compuestos fenólicos.

La *vitamina C* o el ácido ascórbico, está considerado uno de los antioxidantes naturales más efectivos y menos tóxicos, siendo el antioxidante extracelular más importante (Kojo, 2004). Está presente fundamentalmente en frutas como cítricos, verduras, tomates, pimientos verdes, patatas...protege del daño oxidativo fundamentalmente a lípidos de membrana y a las proteínas, actúa como un modulador enzimático en la regulación de la sintasa endotelial y de la NADPH oxidasa en la pared vascular (Sonmez y cols 2009).

La *vitamina E* o tocoferoles está considerada como la principal antioxidante secuestrador de radicales lipofílicos. Previene el daño oxidativo a membranas. Están fundamentalmente en los aceites vegetales.

Los *carotenoides* son una familia de compuestos pigmentados que son sintetizados por plantas y microorganismos. Las frutas pigmentadas, los zumos y las hortalizas son su principal fuente.

Los *compuestos fenólicos*, son los antioxidantes más abundantes en la dieta estando muy presentes en frutas, verduras y bebidas derivadas de plantas como el té, vino zumos. Su mecanismo antioxidante es doble, por un lado actúan como captadores de radicales libres y por otro lado, como quelantes (**Figura 26**).

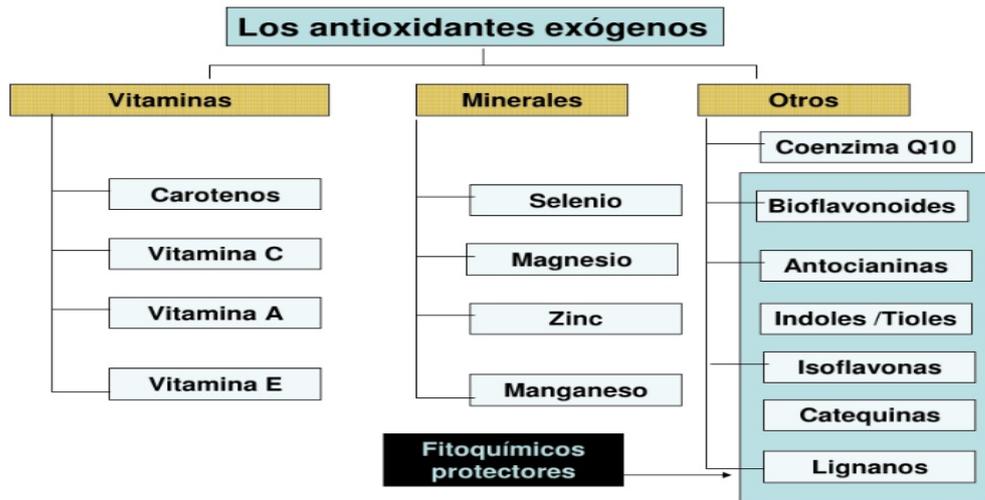


Figura 26. Resumen de algunos antioxidantes exógenos (Cortesía de Cavia M.)

1.4.5 EVALUACIÓN DE LA CAPACIDAD ANTIOXIDANTE

La determinación del estrés oxidativo medido como los niveles del estado antioxidante y del daño oxidativo es esencial para poder valorar la implicación de éste en la enfermedad. Midiendo la capacidad antioxidante total a través de la captación de radicales por compuestos presentes en el plasma y evaluando la acción de los agentes antioxidantes enzimáticos y no enzimáticos, nos podemos hacer idea del efecto que una determinada sustancia ejerce en el organismo en cuanto a oxidación-inflamación (Caimi G 2013). Sin embargo, hoy en día, no existe un parámetro único aislado definido que nos pueda medir el estado redox global humano (Roche E 1997).

Biomarcadores de la oxidación a lípidos: El proceso de peroxidación lipídica engloba una serie de reacciones en cascada entre cuyos productos se encuentran hidroperóxidos y aldehídos, para los cuales existen diferentes ensayos para su cuantificación. De los diferentes métodos para evaluar el daño oxidativo a lípidos, el más ampliamente usado es el que mide el malondialdehído (MDA) en presencia de ácido tiobarbitúrico (TBARS).

Biomarcadores del daño al DNA: La oxidación del DNA da lugar a diferentes productos de oxidación bases nitrogenadas, así como a la escisión de las hebras que componen la doble hélice. Como biomarcador del daño oxidativo a las bases nitrogenadas del DNA se utiliza la base modificada, 8-hidroxi-2-deoxiguanosina (8-OHdG) es una de las lesiones más críticas del daño oxidativo al DNA y sus niveles in vivo están relacionados con los procesos carcinogénicos.

Biomarcadores de la oxidación a proteínas: Las proteínas son susceptibles al daño oxidativo por ROS o RNS, y los productos formados como consecuencia de su oxidación son químicamente muy diversos. Entre las modificaciones originadas resultado de su oxidación una de las más comunes es la aparición de los grupos carbonilo (Levine y cols 1990) siendo su acumulación considerado un marcador de daño oxidativo a proteínas en diferentes patologías.

Estos grupos son producidos sobre las cadenas laterales de las proteínas cuando están oxidadas, dando lugar a grupos químicos estables que son fácilmente detectables. Otros métodos para cuantificar el daño a proteínas evalúan el daño oxidativo a grupos tiol, o la oxidación de aminoácidos como tirosina o triptófano, bien sea radiolítica o inducida por metales de transición (Huggins y cols 1993).

1.4.6 ESTRÉS OXIDATIVO EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

El estado prooxidante e inflamatorio está presente en los enfermos renales desde antes del inicio de la terapia renal sustitutiva en sus distintas modalidades (HD, DP o trasplante). Los propios factores de riesgo que llevan al deterioro de la función renal en estos pacientes, están implicados en su estado oxidativo, como ya se ha mencionado. Estos son la diabetes, obesidad, dislipemia, aterosclerosis y la propia uremia entre otros.

Asimismo diversas enfermedades renales, se sabe estar relacionadas directamente con la inflamación oxidación que se produce a nivel local, bien en mesangio o a nivel tubular, tales como las glomerulonefritis tipo mesangioproliferativa (Gaertner SA 2002), IgA (Kuemmerle NB 1999) o antimembrana basal glomerular (Nishimura H 1996).

También en la insuficiencia aguda post-isquémica, la inducida por fármacos o en la nefropatía obstructiva podemos encontrar dicha oxidación.

Entre los daños renales por el estrés oxidativo destaca las alteraciones en la estructura y función de los glomérulos que son más sensibles al daño por los radicales de oxidación (ROS) que otros segmentos de las nefronas.

El incremento de los ROS en las células glomerulares y epiteliales regula la expresión de genes proinflamatorios (Tak PP y Firestein G 2001). A nivel de los glomérulos, se produce la oxidación y acumulación de las LDL, la exposición de las células tubulares a las LDL-oxidadas puede resultar en daño túbulo-intersticial debido a la inducción de un ambiente prooxidante.

El incremento de ROS en las células glomerulares y epiteliales del túbulo proximal, inducen la expresión del factor nuclear kappa b (NF-κB), regulador de la expresión de genes proinflamatorios (Tak PP 2001).

La activación de este factor de transcripción incrementa la producción de citoquinas y quimioquinas que activan los leucocitos, producen ROS (**Figura 27**) incrementando el daño glomerular (Takemura T 1994).

Por otro lado se produce una acumulación de macrófagos en el espacio intersticial del cortex renal que juega un papel patogénico en el desarrollo del daño tubular y fibrosis intersticial.

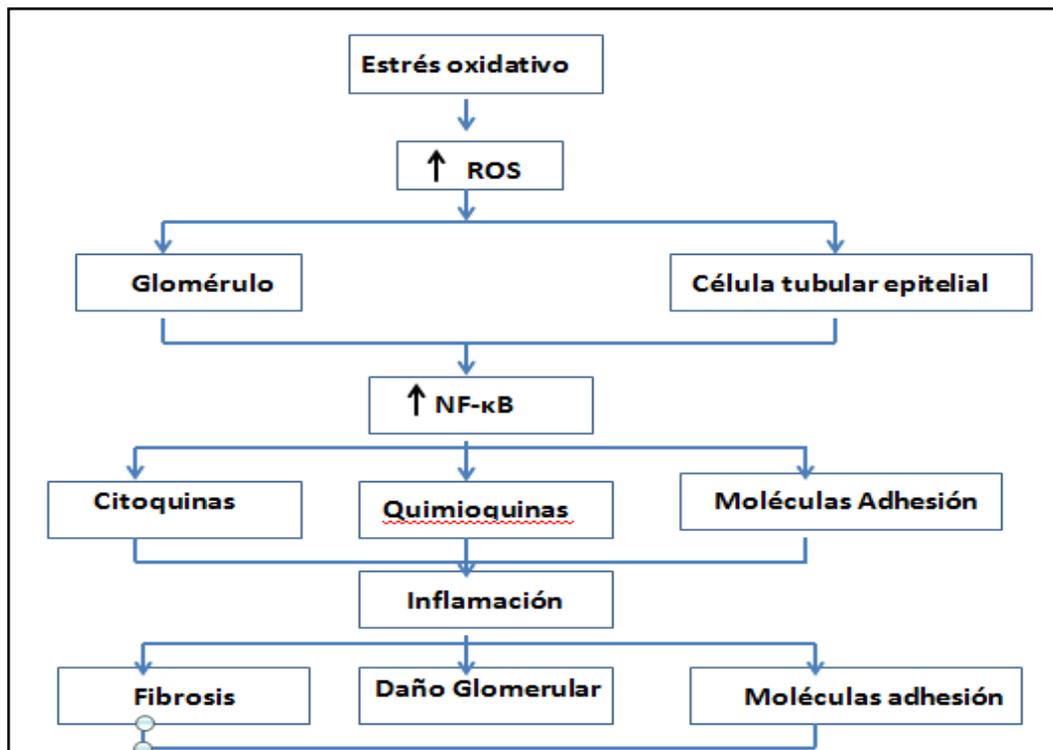


Figura 27 Estrés oxidativo en la enfermedad renal crónica

Además del incremento en la oxidación, se sabe que los enfermos renales, cuentan con una disminución de la actividad antioxidante, siendo esta una de las causas de las mayores complicaciones causadas por el estrés oxidativo como los problemas cardiovasculares, el envejecimiento, desarrollo de cataratas, anemia, hemólisis, disfunción de las plaquetas entre otros (Marx JL 1987). El estrés oxidativo puede también acelerar la apoptosis de leucocitos en los pacientes de HD (Galli F y cols 2003).

Actualmente encontramos numerosos estudios que relacionan las distintas terapias renales sustitutivas con el estado oxidativo. Las primeras evidencias de un incremento del estrés oxidativo en el proceso de diálisis datan del 1984, cuando se observaron niveles elevados de malondialdehído (MDA) en sangre de los pacientes sometidos a diálisis (Giardini O 1984). En la actualidad hay muchos trabajos que demuestran la implicación del estrés oxidativo en la diálisis y de las diferentes estrategias que disminuyen ese estrés de oxidación.

Dentro de las causas de incremento de estrés oxidativo en los pacientes con ERCT sometidos a HD encontramos:

A. Acumulación de los compuestos pro-oxidantes en sangre urémica

El estrés oxidativo ocurre en la uremia antes de iniciar la HD. Esto se puede evidenciar por la presencia de un exceso de productos de oxidación de lípidos, carbohidratos y proteínas en el plasma de los pacientes y animales urémicos (Canaud B 1999). Este estrés oxidativo se ve agravado por la presencia de diabetes, HTA, enfermedades autoinmunes o inflamatorias, que aumentan de forma independiente la producción de ROS y que tan frecuentemente se asocian a la ERC. Los ROS tienen acciones fisiológicas y patológicas sobre las células vasculares, contribuyendo a la disfunción vascular y al remodelado por mecanismos de apoptosis y estimuladores de la migración de células endoteliales entre otras.

B. Depleción de antioxidantes

La defensa antioxidante en la uremia está disminuida como consecuencia de un descenso en la actividad de enzimas antioxidantes, descenso en los niveles plasmáticos de vitaminas hidrofílicas (vitamina C) y lipofílicas (vitamina E). La restricción alimenticia a la que se ven sometidos también juega un papel fundamental, ya que se ven privados de la ingesta de alimentos con alto contenido antioxidante (Bohm 1997). A esto se une la pérdida difusiva de sustancias antioxidantes durante el tratamiento dialítico. El déficit de vitamina D presente en los enfermos renales, también contribuye en este estado de oxidación como se explicará más adelante.

C. Activación de neutrófilos y plaquetas

Los circuitos extracorpóreos que se usan en la diálisis, incrementan la producción de ROS y desencadenan estrés oxidativo (Himmelfarb 2003). La activación intradialítica de leucocitos es una de las principales causas de complicaciones asociadas a HD. La activación de plaquetas a través de la interacción con membranas de HD estimula a los neutrófilos para producir ROS vía adhesión. Asimismo como resultado del contacto de la sangre con estas superficies se activa la vía alterna del complemento lo que a su vez activa los

monocitos y granulocitos, dando lugar a la liberación de radicales libres.

La membrana de diálisis puede permitir el paso de productos bacterianos de bajo peso molecular, incluyendo el DNA, que pueden inducir la producción de interleuquina-1 en las células mononucleares. La calidad del líquido de diálisis puede contribuir al estrés oxidativo puesto que también hay evidencia de que cantidades traza de endotoxinas en los líquidos de diálisis disparan la producción de ROS a través de la activación de los leucocitos (Berland 1998).

D. El uso de tratamientos complementarios

Tipo el hierro intravenoso, un tratamiento excesivo expone a estos pacientes a una sobrecarga de hierro que aumenta el estrés oxidativo (Lim PS 1999). El aumento de los depósitos de hierro en los pacientes de diálisis, puede favorecer la oxidación del ADN, siendo los niveles de ferritina un marcador de esta condición patológica. Otros autores sin embargo niegan esta relación, consideran que la infusión lenta de hierro iv no produce un aumento significativo en la concentración plasmática de los marcadores de estrés oxidativo y se puede considerar un complemento seguro al uso de la eritropoyetina (EPO) (Michael B 2006). La misma controversia existe con el uso de la EPO. En algunos trabajos incluso se correlaciona el estrés oxidativo con el grado de anemia y no con el uso de EPO o hierro iv para su tratamiento

E. Compatibilidad de las membranas de HD

Durante la diálisis se produce una continua exposición de la sangre a una amplia área de contacto e interacción con la membrana de diálisis y el dialisate. Esta interacción paciente-sistema de diálisis es responsable de la activación de un complejo sistema en el que participan células circulantes y sistemas proteicos. La hemoincompatibilidad de las membranas de diálisis activa los granulocitos en dichas membranas y libera ROS. Hace años, se describió como las membranas de cuprofán, potenciaban la agregación de los neutrófilos derivada de una intensa activación del complemento con la consiguiente liberación de anafilotoxinas. Además de los granulocitos, este tipo de membranas también activaba los monocitos, causando la liberación de citoquinas por parte de estos.

Con la creación de membranas sintéticas, más biocompatibles, este problema ha mejorado mucho, aunque sigue existiendo. El grado de pureza del dialisate también juega papel en la activación de la oxidación.

F. Procesos infecciosos intercurrentes

Se trata de pacientes que por la edad, factores de riesgo cardiovascular sobreañadidos, situación clínica de uremia permanente o malnutrición entre otros; presentan procesos infecciosos intercurrentes de manera más frecuente que en la población general. Son frecuentes las infecciones periodontales, las cuales muchas veces pasan desapercibidas. Asimismo el uso de catéteres para diálisis o los materiales protésicos usados para fístulas no autólogas, son un foco de infección/inflamación continuo en estos pacientes. Se perpetúa así, un círculo de oxidación-inflamación-infección que conduce de forma inexorable a un aumento de daño cardiovascular y mortalidad.

Este estado oxidativo incrementado junto con la coexistencia de la inflamación anteriormente mencionada, lleva al paciente renal a un proceso de aterosclerosis acelerada con un incremento en la morbimortalidad.

1.5 TRATAMIENTO DE LAS ALTERACIONES DEL METABOLISMO MINERAL Y SU EFECTO SOBRE LA INFLAMACIÓN-OXIDACIÓN EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

1.5.1 RECOMENDACIONES DE LA SOCIEDAD ESPAÑOLA DE NEFROLOGÍA PARA EL MANEJO DE LAS ALTERACIONES DEL METABOLISMO ÓSEO-MINERAL EN LOS PACIENTES CON ENFERMEDAD *RENAL CRÓNICA* (S.E.N.-MM)

La Sociedad Española de Nefrología (S.E.N) presenta por primera vez un documento en la revista Nefrología con sus primeras recomendaciones para el

manejo de las alteraciones del metabolismo óseo-mineral en los pacientes con ERC en el 2008. Estas recomendaciones estaban basadas en las guías KDIGO-Clinical Practice Guideline for the Diagnosis, Evaluation, Prevention and Treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) las cuales fueron desarrolladas siguiendo un procedimiento de revisión exhaustivo basado en la evidencia y en revisiones sistemáticas de ensayos clínicos considerados como relevantes hasta ese momento. Fueron diseñadas con el objetivo de proporcionar información y asistir en la toma de decisiones al clínico que atiende a adultos y a niños con ERC en estadios 3-5, en diálisis o sometidos a trasplante, se trata de información como guía y no pretende establecer unos estándares de tratamiento, ya que entiende que cada clínico cuenta con determinados recursos y limitaciones. Es en el 2011 cuando la S.E.N publica de nuevo una actualización de las ya elaboradas en el 2008, sobre las recomendaciones de práctica clínica para el manejo de las alteraciones del metabolismo óseo-mineral, previamente publicadas e igualmente basadas en las KDIGO, pero incorporando recientes actualizaciones fisiopatológicas y nuevas alternativas terapéuticas aparecidas en los últimos meses.

Considera la necesidad de adaptar las guías KDIGO, dado el carácter universal que tienen éstas, de tal modo que las recomendaciones elaboradas por la S.E.N se adaptarían más a las necesidades de la población regional que estamos tratando dadas las diferencias entre los distintos sistemas de salud y las distintas disponibilidades de recursos en distintos lugares. Clasifican las recomendaciones en cuatro grados de calidad de evidencia (A, B, C y D) con fuerza de recomendación «1» o «2» si considera que debe prevalecer la preferencia del paciente u otras circunstancias. Igualmente no dejan de ser recomendaciones que ayuden al clínico de una manera rápida y sencilla a comprender y aplicar lo desarrollado en el texto, que si bien se trata de una recomendación institucional, no se trata de unas Guías de Práctica Clínica.

Los objetivos fundamentales que se tratan en estas recomendaciones son: 1) Evaluación del problema; 2) Estrategias diagnósticas; 3) Valores bioquímicos recomendados, y 4) Alternativas terapéuticas.

Serán estos dos últimos puntos, los que trataré, ya que tanto la evaluación de las alteraciones óseas y vasculares como de las estrategias diagnósticas han sido abordadas ya previamente en los otros apartados. Haré hincapié fundamentalmente en las distintas alternativas terapéuticas con la finalidad entender posteriormente los trabajos presentados en la presente tesis.

1.5.1.1 VALORES BIOQUÍMICOS DE LOS DISTINTOS MARCADORES DEL METABOLISMO ÓSEO- MINERAL

Para la correcta interpretación de los valores bioquímicos y hormonales en el diagnóstico de las alteraciones en el metabolismo mineral y óseo de los pacientes con ERC, es preciso tener en cuenta las variaciones normales de los distintos marcadores en función del estadio de enfermedad renal que nos encontremos, así como de la variabilidad diurna y estacional de cada uno de dichos marcadores. Para poder comparar valores, habría que tener en cuenta que las pruebas de laboratorio deberían medirse usando los mismos ensayos y en horas similares del día o la semana para un paciente dado. Esta variabilidad en los valores bioquímicos, deberíamos tenerla presente los clínicos a la hora de interpretar los resultados y de tratarlos.

Calcio: En individuos sanos, el calcio sérico se mantiene en el rango 8,5-10,0 o 10,5 mg/dl, con algunas, aunque mínimas variaciones diurnas. En pacientes con ERC, los niveles séricos de calcio tienen más fluctuaciones debido a las alteraciones en la homeostasis y terapias concomitantes. La concentración de calcio sérico, refleja mal la concentración de calcio corporal total. El compartimento extracelular solo contiene el 1% del calcio corporal total; el restante se almacena en los huesos. El calcio sérico ionizado, generalmente el 40-50% del calcio sérico total, es fisiológicamente activo, mientras que el calcio no ionizado esta unido a la albumina o aniones como el citrato, bicarbonato y fosfato y por lo tanto inactivo. Para un valor más exacto, sería conveniente usar las formulas de «calcio corregido por la albúmina».

Fósforo: Sus concentraciones séricas oscilan entre 2,5-4,5 mg/dl. Un componente importante del fósforo es intracelular y factores como el Ph o la glucosa pueden generar desplazamientos hacia adentro y afuera de las células y como consecuencia pueden alterar las concentraciones séricas sin por ello cambiar el fósforo corporal total. La hemólisis durante la recogida de la muestra produce niveles falsamente elevados.

En individuos sanos, existe una variación diurna, tanto en los niveles séricos como en la excreción urinaria de fósforo. Sus niveles son bajos en las primeras horas de la mañana, aumentan hasta una meseta a las 16:00 horas y se incrementan sus valores hasta un pico entre las 1:00 y 3:00 horas (Portale AA. 1987).

Vitamina D [25 (OH) D₃] o Calcidiol: Aunque se hablará más adelante de forma extensa sobre esta vitamina, decir que los valores de referencia que se toman como normales están fluctuando en los últimos tiempos. Aunque las recomendaciones de la S.E.N marcan niveles de calcidiol para todos los estadios de ERC por encima de 30 ng/ml, los últimos estudios marcan polémica en si es necesario llegar a los 30 ng/ml para conseguir los efectos óseos y extraóseos de la vitamina D sin producir efectos tóxicos (Heaney RP 2013).

Si parece existir consenso en definir como *deficiencia* unas concentraciones séricas de 25(OH) D₃ menores de 15 ng/ml y como *insuficiencia* niveles entre 15 y 30 ng/ml (**Tabla 6**). Sin embargo, dada la controversia existente hoy en día, no existe consenso respecto a la definición de niveles *adecuados* y *tóxicos* de vitamina D.

Existen datos histomorfométricos que indican que con niveles por debajo de los 30 ng/ml el volumen de osteoide sería mayor, y datos de biopsias en los que el diagnóstico de osteomalacia sería del 25% en los individuos con estos niveles de vitamina D (Priemel M. 2010). A nivel óseo, los niveles entre 24 ng/ml y 32 ng/ml parecen ser los adecuados para reducir el riesgo de fracturas e incluso de caídas al menos en población no renal (Bischoff-Ferrari HA. 2010).

25(OH) vitamina D (ng/ml)	25(OH) vitamina D (nmol/l)	Diagnóstico
< 20	< 50	Deficiencia de vitamina D
20-30	50-75	Insuficiencia de vitamina D
> 30	> 75	Niveles suficientes de vitamina D

Tabla 6 Niveles de 25 (OH) y significación clínica (S.E.N.-MM. 2011)

A lo ya mencionado añadir que la gran variabilidad en la metodología que se emplea para determinar los niveles de calcidiol entre los laboratorios (pueden realizar el análisis mediante técnicas de cromatografía líquida de alta resolución, radioinmunoanálisis o mediante análisis competitivos que utilizan distintas proteínas ligadoras) inhabilita, al menos parcialmente, la circunstancia de que un único rango de valores de calcidiol sea el que defina normalidad, deficiencia o insuficiencia, según las diferentes guías. Otro aspecto a tener en cuenta son las variaciones estacionales en los depósitos de calcidiol. A pesar de que julio es el mes con mayor exposición a la radiación ultravioleta en el hemisferio norte, el pico anual de calcidiol sérico se produce entre octubre y noviembre. Este desfase de tiempo se relaciona con el hecho de que el colecalciferol formado tras el efecto de la luz solar sobre la 7-deshidrocolesterol se almacena en la piel y se va liberando poco a poco (Devgun MS 1981). No solo existen variaciones estacionales sino que también existen diferencias en función de la hora a la que se haga la extracción sanguínea para su determinación (Itoh H 2011).

En pacientes con ERC 3-5D, se sugiere utilizar las mediciones de **PTHi** sérica o de la **fosfatasa alcalina** específica del hueso para la evaluación de enfermedad ósea, debido a que valores marcadamente altos o bajos permiten predecir el recambio óseo subyacente, sin embargo ni la PTHi ni la FA han demostrado consistentemente una correlación con los cambios histológicos de

la osteodistrofia renal. Otros marcadores específicos de recambio óseo basados en la síntesis del colágeno (como el **propéptico C-terminal de procolágeno tipo I**) y su catabolismo (tales como el **telopéptico de colágeno tipo I**, **piridinolina** o **desoxipiridinolina**) no se sugiere medirlos de forma rutinaria ya que no mejoran el poder predictivo de la PTH, aunque si sirven como marcadores de actividad osteoclástica para los diferentes estudios. Así como marcadores de actividad osteoblástica podemos contar con la medición de la FA, PTHi y propéptico C-terminal de procolágeno tipo I y como marcadores de actividad osteoclástica el telopéptico de colágeno tipo I y piridinolina.

Los valores séricos recomendados, apoyados las guías K-DOQI, K-DIGO y revisión de la literatura, son los que se muestran en la **Tabla 7**. Estas recomendaciones sobre los parámetros bioquímicos se basan en trabajos observacionales y como ya se ha mencionado los objetivos terapéuticos han de adecuarse a las características clínicas del paciente. De tal modo que se sugiere mantener los niveles de Ca y P en el rango normal de laboratorio siempre que las medidas para conseguirlo sean razonables.

Calcidiol	Todos los estadios	> 30 ng/ml (2B)
Calcio	Todos los estadios	8,4-9,5 mg/dl (2D) (Tolerancia hasta 10 mg/dl)
Fósforo	Todos los estadios	2,5-4,5 mg/dl (2C) (Tolerancia hasta 5 mg/dl en diálisis)
PTH	Estadio 3 Estadio 4-5 Estadio 5D	35-70 pg/ml (2D) 70-110 pg/ml (2C) 150-300 pg/ml (2B) (evitar <100->500)

Tabla 7 Valores bioquímicos recomendados por la S.E.N (S.E.N.-MM 2011)

Además de las recomendaciones de la S.E.N, en España también contamos con *las guías de práctica clínica de la Sociedad Española de Diálisis y Trasplante de las alteraciones del metabolismo mineral y óseo de ERC (CKD-MBD) 2010*. Los valores de referencia y su frecuencia en la medición, en cuanto al Ca, P, PTH y vitamina D; que establecen estas guías quedan reflejados en la **Tabla 8**.

Calcio	Estadio ERC	FG (ml/min)	Ca (mg/dl)	FREC. Determ
	3A	45-60	8,4-9,5	3-6 meses
	3B	30-44	8,4-9,5	3-6 meses
	4	15-29	8,4-9,5	3 meses
	5 no diálisis	< 15	8,4-9,5	mensual
	5 diálisis		8,4-9,5	mensual
Fósforo			P (mg/dl)	
	3A	45-59	2,7-4,6	3-6 meses
	3B	30-44	2,7-4,6	3-6 meses
	4	15-29	2,7-4,6	3 meses
	5 no diálisis	< 15	2,7-5	Mensual
	5 diálisis		3,5-5	Mensual
PH-i			PTH (pg/ml)	
	3A	45-59	Valor normal método	6-12 meses
	3B	30-44	Valor normal método	6-12 meses
	4	15-29	2 veces valor normal	3-6 meses
	5 no diálisis	< 15	2-5 veces valor normal	3 meses
	5 diálisis		2-5 veces valor normal	3 meses
Vit D			25 OH (ng/ml)	
	3A	45-59	Hasta 20*	6-12 meses
	3B	30-44	Hasta 20*	6-12 meses
	4	15-29	Hasta 20*	6-12 meses
	5 no diálisis	< 15	Hasta 20*	6-12 meses
	5 diálisis		Hasta 20*	6-12 meses

Tabla 8. Valores de Ca, P, PTH y vitamina D aconsejables en cada una de los estadios ERC *Valor de 25-OH superior a 20 ng/ml, según INSTITUTES OF MEDICINE (IOM) 30 Nov 2010 (CKD-MBD 2010)

1.5.2 DISTINTAS OPCIONES TERAPÉUTICAS PARA LAS ALTERACIONES DEL METABOLISMO MINERAL EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

La estrecha relación entre el descenso en los niveles de vitamina D y el desarrollo del HPTS con sus consecuentes efectos sobre el incremento de la morbimortalidad en pacientes renales, ha determinado que las guías de actuación clínica, tanto nacionales como internacionales, hayan promovido la necesidad de tratar con las distintas formas de vitamina D, con calcimiméticos o con activadores selectivos del receptor de la vitamina D (AsRVD) a los pacientes con ERC y HPTS.

La controversia surge a la hora de decidir cuál es la mejor opción de tratamiento (vitamina D nativa o nutricional, vitamina D activa selectiva o no de los VDR o calcimiméticos) y sobre qué principios se basa; siendo este uno de los debates más activos actualmente en el campo de la nefrología clínica. En este apartado, resumiré las ventajas e inconvenientes de cada uno de los tratamientos, reportando los últimos hallazgos sobre su uso en el campo de la inflamación y estrés oxidativo en pacientes renales, así como la mejor opción terapéutica en función del estadio de enfermedad renal en que nos encontremos.

1.5.2.1 TRATAMIENTO CON VITAMINA D INACTIVA Y VITAMINA D ACTIVA (CALCITRIOL)

La vitamina D es un esteroide que se sintetiza en la piel gracias a la luz solar y/o mediante la ingestión de alimentos que la contienen, y desempeña un papel fundamental en la mineralización del sistema óseo en todas las edades. La vitamina D no es solo un nutriente, sino que se considera como una verdadera hormona con diversas funciones y una principal, que es mantener el calcio sérico en un nivel fisiológicamente aceptable para que desempeñe sus funciones metabólicas, la transducción de señales y la actividad neuromuscular (Holick MF. 2003).

El proceso de síntesis y metabolización de la vitamina D es bien conocido (**Figura 28**). De manera resumida, el proceso se inicia en la transformación del 7-dihidrocolesterol a provitamina D y posteriormente a vitamina D, inicialmente inerte, que requiere dos hidroxilaciones para ser biológicamente activa. La primera hidroxilación, sea sobre la vitamina D₂ (ergocalciferol) o sobre la D₃ (colecalciferol), es llevada a cabo en el hígado, donde llega unida a la proteína fijadora de la vitamina D, que da lugar a la 25 (OH) vitamina D₃ (calcidiol), principal forma circulante y cuyos niveles sanguíneos son los utilizados para valorar el estado de déficit, normalidad o intoxicación; la segunda hidroxilación se produce principal y fundamentalmente en el riñón, aunque existen otros tejidos donde también se puede producir, como la mama, el colon, la próstata;

donde se convierte en la forma biológicamente activa, la 1,25(OH)₂ vitamina D₃ o calcitriol. El uso del ergocalciferol y colecalciferol ha recibido poca atención hasta el momento, pues se consideraba que los niveles de 25(OH) D₃ no tenían gran relevancia en los pacientes con ERC, dada su limitada conversión a calcitriol por la 1- α - hidroxilasa renal. Sin embargo, la cada vez más llamativa prevalencia de niveles deficientes o insuficientes de 25(OH) D₃ en pacientes con ERC, en todos sus estadios (LaClair RE 2005 y Kooienga L. 2009) y la demostración a través de distintos estudios sobre la hidroxilación de esta vitamina en otros tejidos, por la presencia de 1- α - hidroxilasa, independientemente de la renal; han sugerido que la suplementación con esta vitamina en pacientes renales que sufren su déficit, parece justificada. A pesar de esto, como ya se ha mencionado previamente, aun no existe consenso respecto a la definición de niveles *adecuados* y *tóxicos* de vitamina 25 (OH) D₃.

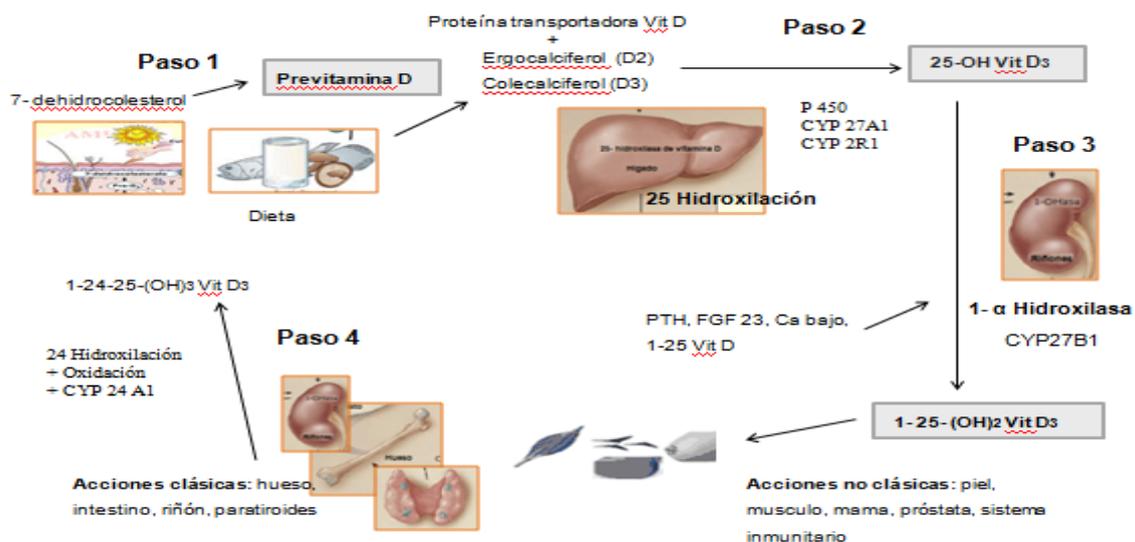


Figura 28 Esquema de los diferentes pasos en la síntesis y metabolización de la vitamina D. **Paso 1:** Conversión gracias a los rayos ultravioletas del sol del 7-dehididrocolesterol a colecalciferol. **Paso 2:** Primera hidroxilación en el átomo de carbono situado en la posición 25 en el hígado [25 (OH) D₃]. CYP2R1 es probablemente el enzima más importante en esta primera hidroxilación. **Paso 3:** Segunda hidroxilación en el riñón gracias al enzima 1 α hidroxilasa controlado por el CYP27B1. Este paso está regulado por diversos factores como FGF 23, PTH y la propia 1,25(OH)₂ vitamina D₃. **Paso 4:** Inactivación de la vitamina D mediante la 24 hidroxilasa (CYP24A1) que la convierte en metabólicamente inactiva [1, 24,25(OH)₃ vitamina D o ácido calcitroico].

La primera fuente por la que se consiguen niveles óptimos de vitamina D, como ya se ha mencionado, es la solar, de donde se obtiene hasta un 90% de esta vitamina. Se ha visto que la exposición solar de todo el cuerpo con un mínimo de eritema supone el alcance de unos niveles de vitamina D comparables a la toma de 10.000 a 25.000 UI de vitamina D orales (Holick MF. 2010). Sin embargo, la exposición solar en invierno no produce ninguna cantidad de vitamina D (Webb AR. 1988). Otros factores que influyen en la disminución de la producción de vitamina D por la exposición solar son las cremas de protección solar, la mayor pigmentación cutánea y mayor edad (fundamentalmente mayores de 65 años) (Tangpricha V. 2004). El aporte dietético ayuda a conseguir los niveles óptimos de vitamina D, pero el número de alimentos que contienen de manera natural una cantidad importante de vitamina D es limitado, lo que ha determinado en alguno de ellos, por ejemplo la leche, soda, pan o incluso cerveza, se enriquecieran con vitamina D. Esta ha sido una medida no muy bien vista, a tenor de posibles intoxicaciones por dicha vitamina en los niños en la década de los 50.

Aun a día de hoy, al igual que ocurre con los niveles óptimos a alcanzar en suero con esta vitamina, el aporte diario recomendado es objeto de polémica. Las dosis precisas de suplementación con vitamina D no están bien definidas (los ensayos clínicos en la población general han usado generalmente dosis de 300 a 800 U/día), considerándose un máximo de 2000 U/día (aproximadamente 60.000 U/mes), aunque una reciente revisión concluyó que la máxima dosis para adultos sin ERC podría ser incluso hasta 10.000U/día (Wolf M 2007).

En España no disponemos de farmacopea para vitamina D₂ (ergocalciferol) excepto en preparados multivitamínicos. Por otra parte disponemos de vitamina D₃ (colecalfiferol) en forma de gotas (en frascos de 10 ml=20.000 U/frasco =2.000 U/ml =30 gotas), recientemente se ha comercializado un vial en monodosis de colecalfiferol que contiene 25.000 U/vial. Existen asimismo preparados que contienen 200-800 U de vitamina D₃ mas diversas cantidades de calcio. Otra posibilidad más cómoda es el empleo de *calcifediol* (o calcidiol) (ampollas de 266 µg =16.000 U). La administración de calcifediol con periodicidad quincenal o mensual, con controles de los niveles de calcidiol, es

una alternativa cómoda para adecuar los aportes nutricionales en los pacientes con ERC, pero debe acompañarse de controles ocasionales de los niveles de Ca y P plasmáticos.

En cuanto al calcitriol [1-25-(OH)₂ Vit D₃] las funciones clásicamente conocidas son fundamentalmente aumentar la absorción de calcio y fósforo en el intestino, inhibir la formación de osteoclastos para la resorción ósea y reducir la producción de hormona paratiroidea (PTH) como se ha explicado previamente de forma amplia; pero además, la 1,25(OH)₂ vitamina D₃, producida localmente en tejidos no relacionados con el metabolismo del calcio, puede tener una amplia variedad de funciones biológicas, incluidas el crecimiento celular, la apoptosis, la angiogénesis, la diferenciación y la regulación del sistema inmunológico, que serían las denominadas acciones no clásicas de la vitamina D. Dada su ubicuidad en todo el organismo, su déficit se ha relacionado con muchas enfermedades agudas y crónicas, como el cáncer, la DM tipo 2, la enfermedad cardiovascular y enfermedades infecciosas (Wacker M. 2013).

Vitamina D y actividad muscular

La vitamina D a través de acciones genómicas, estimula la proliferación de las células musculares y su diferenciación a través de la transcripción, mediada por receptores específicos nucleares, de genes que expresan un aumento de la síntesis de DNA celular, seguido de la inducción de proteínas musculares específicas (proteínas de la unión de calcio y miosina). Pero también ejerce acciones no genómicas, interactuando con el receptor específico de membrana de la célula muscular, lo cual lleva a la estimulación de la adenil-ciclasa y las fosfolipasas C, D y A₂, y a la activación de vías de señalización intramusculares como la cascada MAPK (*Mitogen-activated protein kinase*), que termina actuando sobre el ADN e induciendo la división celular (Boland R 2011). Diversos estudios han demostrado como un déficit de la vitamina D se asocia a mialgia difusa, debilidad muscular (Holick MF 2007) y sarcopenia, todo causado por la atrofia muscular principalmente de fibras musculares tipo II y afectando sobre todo a la musculatura proximal (Glerup H 2000).

Vitamina D y cáncer

Una revisión sistemática recientemente realizada por Grant WB encontró una fuerte correlación inversa entre la exposición solar-vitamina D y la aparición de 15 distintos tipos de cánceres: vesical, mama, uterino, colon, endometrio, esofágico, gástrico, pulmonar, ovárico, pancreático, rectal, renal, vulvar y linfomas de Hodgkin y no-Hodgkin (Grant WB 2012). Numerosos estudios apoyan estos resultados.

La vitamina D y sus análogos inhiben la proliferación, la angiogénesis, la migración y la invasión de las líneas celulares malignas de los cánceres de colon, próstata y mama, e inducen su diferenciación y apoptosis (Krishnan AV 2010). Además, la síntesis de prostaglandinas y la vía de señalización Wnt/betacaterina están también influenciadas por la vitamina D, que suprime la expresión COX-2 y aumenta la de 15-PGDH, reduciendo de ese modo los niveles de prostaglandinas inflamatorias. Se regula de este modo la carcinogénesis mediada por las prostaglandinas (Krishnan AV 2011). La vitamina D también regula los receptores androgénicos y estrogénicos, de este modo inhibe el crecimiento tumoral de algunos tumores dependientes de estas hormonas (Godoy AS 2013).

Vitamina D y enfermedades metabólicas: diabetes y obesidad

El receptor de la vitamina D (VDR) está expresado en células beta pancreáticas y la vitamina D estimula la secreción de insulina (Pilz S 2011). Diversos estudios han demostrado que los suplementos de vitamina D llevan a una mejora de la sensibilidad a la insulina (Von Hurst RP 2010), mediados por ejemplo por un incremento en la producción de receptores insulínicos (Pilz S 2011) y modula la inflamación, la cual se piensa que juega también un papel en la diabetes tipo II. La etiopatogenia de la diabetes tipo I es distinta que la II, su relación con la vitamina D se explica a través de la acción de ésta con el sistema inmune (Badenhoop K 2012). También se ha demostrado que los obesos tienen niveles más bajos de vitamina D (Wortsman J 2000), esto se explica en parte por el almacenamiento en la grasa corporal de la vitamina D.

Vitamina D y sistema inmunitario

Los VDR están presentes en todo el sistema inmune (White JH 2012) y un gran número de genes relacionados con la inmunidad están regulados por la vitamina D. Participa tanto en la inmunidad natural o innata como en la adquirida. Mejora los efectos antimicrobianos de los macrófagos y de los monocitos, así como la quimiotaxis y la capacidad fagocitaria de estas células. La catelicidina y la $\beta 2$ defensina son péptidos antimicrobianos que actúan desestabilizando la membrana microbiana y son producidos por polimorfonucleares y macrófagos; la vitamina D a través de sus VDR (junto con los receptores X retinoides) activa directamente la transcripción de estos péptidos y su producción (Liu PT 2006). También se ha visto que la vitamina D modula la maduración de las células dendríticas (102) e inhibe citoquinas de las células T, tales como IL-2 y la 17, y los receptores tipo Toll (toll-like receptors) de los monocitos, responsables del reconocimiento de un amplio número de agentes microbianos y de estimular la respuesta inflamatoria contra ellos.

Por último se ha comprobado que dosis altas de vitamina D en sujetos sanos llevan a una reducción de la IL-6 producida por los monocitos (Muller K 1991). Respecto a la inmunidad adquirida, la vitamina D regula la diferenciación y proliferación de los linfocitos T y B, especialmente cuando estos han sido activados. En los linfocitos B, esta acción se produce de forma indirecta a través de los linfocitos T cooperadores o *helper*, que inducen la inhibición de la proliferación y diferenciación de los linfocitos B y el inicio de su apoptosis, así como una menor producción de inmunoglobulinas (Chen S 2011). En cuanto a los linfocitos T activados, la vitamina D los conduce a una situación de mayor tolerancia inmune, suprimiendo la proliferación y diferenciación de los linfocitos T cooperadores y modulando la producción de sus citoquinas inhibiendo las citoquinas proinflamatorias (IL-2, interferón γ , TNF α , IL-9, IL-22) (Palmer MT 2011) y promoviendo la producción de citoquinas antiinflamatorias (IL-3, IL-4, IL-5, IL-10) (Boonstra A 2001). Este hecho ha quedado patente también en los resultados que se presentaran a continuación de nuestros estudios y que son la base de esta tesis, en cuanto al descenso que produce el tratamiento con calcifediol (25(OH) D₃) en pacientes de HD, sobre el marcador inflamatorio IL- 8 (Piñera C. 2013)

Vitamina D y estrés oxidativo

Asimismo como se ha mencionado previamente, en los últimos tiempos se ha estudiado mucho el papel que juegan los llamados *factores de riesgo no tradicionales* en el incremento de riesgo cardiovascular de los pacientes renales y como el tratamiento con vitamina D puede descender uno de esos factores que es el estrés oxidativo y en consecuencia el beneficio cardiovascular que eso implica. Existen múltiples estudios a nivel experimental y clínico que demuestran que la suplementación con vitamina D reduce el estrés oxidativo y por ende el riesgo cardiovascular (Judd SE, Levin A, Mathew S, 2009, 2005, 2008). El tratamiento calcitriol, ha demostrado tener efecto beneficioso en cuanto a la reducción de inflamación-oxidación en pacientes sometidos a HD (Tanaka M 2011).

Para concluir esta apartado, decir que si bien la activación de los VDR es necesaria para mantener dichos receptores y conseguir los efectos beneficiosos ya mencionados, nos enfrentamos a uno de los grandes problemas asociados a los ARVD no selectivos que es el incremento en los niveles de calcio y fósforo en sangre y el complejo manejo de su administración, lo que provoca una limitación de su dosis.

Los nuevos activadores selectivos (AsRVD) muestran una similar o superior dosis-equivalencia para suprimir la PTH con una menor actividad calcémica e hiperfosfatémica. Por otro lado hay estudios que sugieren que los ARVD se asocian a una mayor supervivencia de los pacientes con ERC en HD (Teng M 2005), siendo este beneficio más favorable con los ARVD selectivos que con los no selectivos (Kalantar-Zadeh K 2006).

1.5.2.2 TRATAMIENTO CON VITAMINA D ACTIVA SELECTIVA (PARICALCITOL)

Paricalcitol es una vitamina D de origen sintético, biológicamente activa, análoga del calcitriol, que presenta modificaciones en la cadena lateral (D₂) y en el anillo A (19-nor), la 19-nor-1 α , 25-dihidroxitamina D₂ (**Figura 29**). A diferencia del calcitriol, paricalcitol es un activador selectivo de los receptores

de la vitamina D (AsRVD). Esto le confiere la capacidad de aumentar su efecto selectivo sobre los RVD en las glándulas paratiroides y menos sobre los VDR de las células de la pared intestinal, de los osteoblastos y células musculares lisas. Paricalcitol también aumenta los receptores sensibles a calcio en las glándulas paratiroides. Como resultado, paricalcitol reduce los niveles de hormona paratiroidea (PTH) inhibiendo su proliferación y disminuyendo la síntesis y secreción de PTH, con el mínimo impacto sobre los niveles de calcio y fósforo. Se cree que estas diferencias en la selectividad del RVD, son debidas al reclutamiento de diferentes coactivadores y correpresores con respecto al calcitriol, obteniendo así distintos efectos.

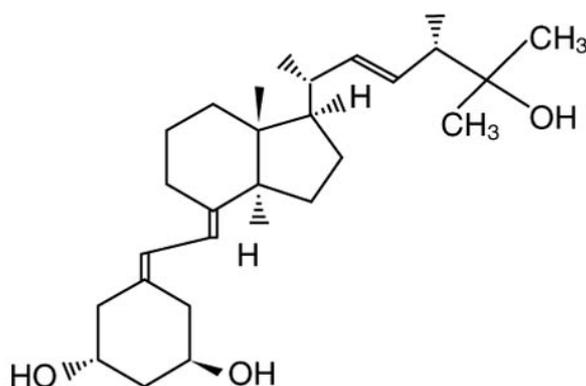


Figura 29. Modificaciones moleculares en la cadena lateral y el anillo A. 19-nor-1 α , 25- dihidroxivitamina D₂ (Drugs. Com Zemplar injection)

Como ya se ha mencionado, varios estudios han confirmado la capacidad del paricalcitol para alcanzar una reducción de los niveles de PTH de forma más rápida y sostenida que la que producen los ARVD no selectivos. Llach et al., en 2001, demostraron en un estudio prospectivo en 37 pacientes resistentes al tratamiento con calcitriol (PTH > 600) que tras 16 meses de tratamiento con paricalcitol en ratio de conversión 1:3 o 1:4 hubo una bajada significativa de PTH sin cambios estadísticamente significativos en el calcio y el fósforo (Llach F 2001). Posteriormente, en 2003, en un estudio en el que participaron 263 pacientes en diálisis, Sprage et al. mostraron que el tiempo en alcanzar los

rangos de normalidad de las guías KDOQI fue en la semana 18 en el grupo de paricalcitol y en ningún momento en el grupo de calcitriol, tras un tratamiento con los fármacos de 32 semanas, mostrando además menores episodios de hipercalcemia o elevaciones del producto calcio x fósforo con respecto a los pacientes tratados con calcitriol ($p = 0,008$) (Sprague SM 2003).

En 2010 Mittman et al., en 59 pacientes tratados con calcitriol durante al menos 12 meses, que completaron posteriormente otros 12 meses con paricalcitol, vieron que la conversión de calcitriol a paricalcitol mostraba una disminución del calcio, fósforo, producto calcio x fósforo y PTH, además de una reducción de la fosfatasa alcalina. Asimismo, se mostró una diferencia altamente significativa en el número de pérdidas de dosis durante los tratamientos a favor de paricalcitol (Mittman N 2010). Existen más estudios posteriores a este respecto, con similares resultados.

Algunas de las principales diferencias clínicas observadas con respecto al uso de otras vitaminas D, tanto a nivel clínico como experimental en los distintos tejidos serían:

Paricalcitol y absorción de calcio intestinal

Como ya se ha comentado anteriormente, uno de los grandes problemas de los ARVD es el aumento de los niveles de calcio y fósforo, debido principalmente a su absorción intestinal y a su movilización desde el hueso. A diferencia del tratamiento con paricalcitol, el tratamiento con calcitriol se ha asociado a un aumento del número de RVD intestinales. Además es necesaria una dosis diez veces superior a calcitriol para producir aumentos similares de las concentraciones séricas de calcio y fósforo, siendo al mismo tiempo necesaria una dosis tres veces superior para tener el mismo efecto sobre la PTH, lo que proporciona una ventana terapéutica de seguridad superior con paricalcitol (Takahashi F 1997).

Takahashi et al. (1997) demostraron que en ratas urémicas tratadas con paricalcitol se expresaba menos RVD en la membrana de las células

intestinales que en las ratas urémicas tratadas con calcitriol después de 8 semanas de tratamiento (Takahashi F 1997). Posteriormente, en 2002, Brown et al. demostraron que paricalcitol disminuía la expresión de las principales proteínas transportadoras de calcio en la célula intestinal (calbindina D, canal de calcio CaT1 y bomba de calcio PMCA1) en un modelo experimental frente a calcitriol, proporcionando un menor aumento de la absorción de calcio intestinal (Brown AJ 2002). Años más tarde Nakane et al.³⁷ corroboraron que paricalcitol se asociaba a una absorción de calcio inferior a calcitriol en ratas urémicas alimentadas con una dieta rica en fósforo durante 12 días, siendo menor la expresión de proteínas transportadoras en el grupo de paricalcitol (Nakane M 2007). Lund et al., en un estudio clínico y cruzado en 29 pacientes en hemodiálisis, mostraron que la absorción fraccionada de calcio intestinal fue significativamente inferior después del tratamiento con paricalcitol (0,135 +/- 0,006) frente al tratamiento con calcitriol (0,158 +/- 0,006, p = 0,022), siendo 0,023 la diferencia absoluta de absorción fraccionada de calcio. No hubo diferencias significativas en la PTH, el calcio, el fósforo o el producto calcio x fósforo (Lund RJ 2010). Muy recientemente, Martínez et al. mostraron por primera vez la menor excreción urinaria de calcio en pacientes tratados con paricalcitol frente a los tratados con calcitriol, siendo la diferencia estadísticamente significativa (p = 0,047) (Martínez I 2012).

Paricalcitol y calcificación vascular

Diferentes estudios han demostrado como paricalcitol no aumenta la expresión de algunos genes promotores de calcificación en la aorta de ratas urémicas, al contrario que otras vitaminas D (Mizobuchi M. 2007). Como se ha mencionado, la pared vascular está compuesta por células endoteliales y células de músculo liso vascular (CMLV), estas últimas contenedoras de RVD. La presencia del RVD es necesaria la salubridad de las CMLV y la deficiencia en su activación provocaría de forma prematura la senectud de las CMLV. Sin los RVD, las CMLV no crecerían y no podrían dividirse (Blacher J 2001). En los pacientes con enfermedad renal se produce calcificación tanto de la íntima relacionada con la aterosclerosis, como de la media responsable de la rigidez vascular y de la arteriosclerosis.

La vitamina D (calcitriol o alfacalcidol) incrementa la proliferación de CMLV in vitro e in vivo. Sin embargo el paricalcitol se ha demostrado a través de diferentes estudios, no incrementar la proliferación de estas células, debido a su efecto diferencial sobre el receptor del factor de crecimiento vascular endotelial. Como se ha mencionado, paricalcitol recluta diferentes coactivadores provocando la activación o inhibición de diferentes genes, en este caso reduce la expresión del receptor del factor de crecimiento endotelial vascular (Cardús A 2007).

Mizobuchi et al, en un modelo de ratas urémicas, observaron que el paricalcitol no indujo calcificación de la capa media aortica, en contraste con las calcificaciones severas del calcitriol y doxercalciferol [D₂ 1- α .(OH) vitamina D₂]. La administración de calcitriol incrementó significativamente el producto fósforo x calcio y el contenido de calcio aórtico. Las mismas dosis de doxercalciferol produjeron el mismo efecto, cosa que no ocurrió con el paricalcitol (Mizobuchi M 2007). Henley et al, administraron de forma conjunta Cinacalcet y calcitriol en ratas urémicas con HPT, este hecho no atenuó el incremento del producto fósforo x calcio ni la calcificación aortica provocada por calcitriol (Henley C 2005). También en humanos se ha demostrado el efecto beneficioso de la activación selectiva de los VDR en las células de la musculatura lisa vascular. Wu-Wong et al observó como paricalcitol modulaba la expresión del inhibidor del activador del plasminógeno-1 (PAI-1), la trombospondina 1 (THBS1) y la trombosmodulina (TM) en células de musculo liso de aorta humana, los tres están implicados en la fibrinólisis y la trombogénesis. La regulación al alza de PAI-1 y la THBS1 está asociada con el desarrollo de daño vascular, aterosclerosis y trombosis, mientras que un incremento en la expresión de TM previene la aterotrombosis. Este estudio demuestra que paricalcitol modula la expresión de PAI-1, THBS1 y TM en células de musculo liso humanas (Wu-Wong JR 2006).

Noonan et al analizando los diferentes efectos de los VDR sobre la calcificación aortica y la velocidad de onda de pulso en ratos urémicas con HPT, demostró que paricalcitol independientemente de los niveles séricos de calcio y fósforo y de su producto, reducía la calcificación aortica y la onda de pulso con respecto

al tratamiento con doxercalciferol, lo que sugiere un mecanismo de acción diferente de los VDR con respecto a los ya mencionados (Noonan W 2008). Por último Becker et al en un estudio de paricalcitol y calcitriol en la enfermedad cardiovascular en ratones Apo E deficientes nefrectomizados, han observado que paricalcitol ejerce efectos positivos sobre la calcificación y la aterosclerosis. A dosis de 0,1 µg/Kg paricalcitol fue superior a la dosis de 0,03 µg/Kg de calcitriol en la inhibición de la progresión de la enfermedad aterosclerótica sin inducir una calcificación significativa de las placas (Becker LE 2011).

Paricalcitol y el hueso

Diferentes estudios han demostrado que paricalcitol produce una menor resorción ósea y que mejora la formación ósea (síntesis de colágeno). En 1999, Finch et al. publicaron el primer estudio en medir los efectos de paricalcitol sobre el hueso (Finch JL 1999). En un modelo de ratas paratiroidectomizadas sometidas a una dieta pobre en calcio y fósforo, demostraron que los niveles plasmáticos de calcio de las ratas indicaban que paricalcitol era diez veces menos potente que calcitriol movilizando calcio del hueso (resorción ósea). Resultados muy similares se observan en cuanto al fósforo. Se midió además la excreción urinaria de calcio, observándose una excreción superior en las ratas tratadas con calcitriol. Slatopolsky et al., en 2003, hicieron por primera vez estudios en ratas urémicas y concluyeron que paricalcitol mejoraba la mineralización y prevenía la formación anormal de hueso, previniendo el HPTS sin aumentos de calcio sérico y mejorando los cambios histomorfométricos inducidos por la uremia y la dieta rica en fósforo (menor porosidad intracortical y menor erosión trabecular a nivel de hueso esponjoso) (Slatopolsky E. 2003).

Paricalcitol y proteinuria

Freundlich et al. demostraron en ratas, el efecto beneficioso del paricalcitol sobre la reducción de los niveles de angiotensinógeno, renina, receptores de renina y ARNm del factor de crecimiento endotelial vascular en un 30-50% (Freundlich M. 2008). Además los animales tratados con paricalcitol presentaron también una mejoría en las lesiones glomerulares y túbulointersticiales, en la hipertensión y en la proteinuria. Este estudio sugirió,

un efecto beneficioso del activador VDR debido, al menos en parte, a una regulación negativa de la vía de la renina-angiotensina (SRA). El papel de los inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA) y de los antagonistas del receptor de la angiotensina (ARA II) en el control de la presión arterial, reducción de la proteinuria y la prevención del remodelado ventricular izquierdo es bien conocido. La reducción que el paricalcitol produce sobre los niveles de angiotensinógeno, le confieren los mismos beneficios clínicos que los IECA y ARA II, al menos en parte del control de la proteinuria. Tan et al; por su parte demostraron también como el tratamiento con paricalcitol atenúa la fibrosis renal intersticial en ratas que sufrían nefropatía obstructiva (Tan X. 2006).

Paricalcitol y la inflamación

Ya son muchos los estudios a nivel experimental y clínico que han demostrado los efectos que ejerce el paricalcitol en la modulación de la respuesta inflamatoria en inmune. Estudios de Navarro et al demostraron un descenso marcado de los marcadores inflamatorios (PCR, TNF α , IL-6), junto con una elevación de los antiinflamatorios (IL-10) en pacientes de HD tratados con paricalcitol. Estos efectos antiinflamatorios fueron independientes de los niveles de PTH (Navarro-Gonzalez JF 2011). Similares resultados hemos obtenido en el trabajo que se mostrará a continuación en cuanto a la inflamación y el tratamiento con paricalcitol en pacientes de hemodiálisis. Tras tres meses de tratamiento con paricalcitol endovenoso, mostraron un descenso significativo de los niveles de IL-6, IL-18, PCR y TNF α junto con una elevación de la IL-10 (Izquierdo MJ. 2012).

Paricalcitol y estrés oxidativo

El tratamiento con paricalcitol también ha demostrado en ratas descender algunos marcadores de oxidación como reflejaron los resultados del estudio de Husain et al ya en 2009. En este estudio se investigaron los efectos de un IECA (enalapril) y paricalcitol, solos o en combinación, sobre el estrés oxidativo cardiaco de ratas urémicas nefrectomizadas. Los autores observaron que en las ratas urémicas, la actividad de la NADPH oxidasa estaba aumentada en un 300% en comparación con las ratas normales del grupo control. El tratamiento

con enalapril, paricalcitol o la combinación de ambos, protegió a las ratas urémicas del estrés oxidativo cardiaco mediante la inhibición de la actividad de esta enzima ($p > 0,01$), reduciendo así la producción de superóxido en el corazón. Los autores también observaron que, a diferencia de la monoterapia, el tratamiento combinado redujo un 15% los niveles de MDA ($p < 0,05$), producto final de la peroxidación lipídica cardíaca como ya se ha mencionado (Husain K 2009). La mayor parte de los estudios han sido llevados a cabo en ratas, demostrando de forma muy efectiva el descenso de algunos marcadores de oxidación de forma significativa. Sin embargo muy pocos estudios han sido llevados a cabo en humanos. Es en 2012, cuando publicamos un estudio a nivel clínico, llevado a cabo sobre pacientes que estaban recibiendo terapia renal sustitutiva tipo hemodiálisis, los cuales fueron tratados con paricalcitol endovenoso durante tres meses. En estos pacientes se observó un descenso marcado de los marcadores de oxidación estudiados (MDA, CG y nitritos) así como un ascenso también significativo de los marcadores antioxidantes estudiados (SOD, CAT, GSH, TRX) así como un descenso de la proteínaIDO (indoleamina 2,3-dioxigenasa), enzima inducible que cataliza la degradación oxidativa del triptófano, es una molécula inmunosupresora que influye en el pronóstico de determinadas enfermedades crónicas y en la respuesta a determinados fármacos. Presenta niveles elevados en procesos inflamatorios. Nuestros pacientes mostraron niveles elevados, con un descenso en estos tras tres meses de tratamiento con paricalcitol ($p 0,1674$) (Izquierdo MJ. 2012).

1.5.2.3 TRATAMIENTO CON CALCIMIMÉTICOS (CINACALCET)

La clonación del receptor de calcio (RCa) ha permitido el desarrollo posterior de los calcimiméticos, grupo complementario de fármacos que actúan como moduladores alostéricos de este receptor, incrementando la sensibilidad del receptor de calcio en la célula paratiroidea al calcio extracelular al inducir cambios en la conformación de RCa (Labriola L. 2009), esto permite reducir las concentraciones de calcio que son necesarias para facilitar el proceso de señalización de este receptor que causa la supresión de la secreción de PTH. Por lo tanto, la administración de calcimiméticos disminuye la síntesis y

secreción de PTH, reduce la proliferación de las células de la glándula paratiroidea, modula la regulación de genes involucrados en sobreexpresión de los receptores de calcio y del receptor de la vitamina D (Portale AA. 1987).

El Cinacalcet es el único calcimimético disponible para uso clínico, no aumenta la absorción de calcio y P en el intestino a diferencia de la vitamina D y sus análogos, esto le permite disminuir los niveles de PTH sin incrementar las concentraciones de calcio y P. Por lo tanto puede ser utilizado en pacientes con HPTS que cursan con hipercalcemia e hiperfosforemia (De Boer IH 2009). Los estudios llevados a cabo sobre pacientes con ERC 3-5 tratados con Cinacalcet si muestran descensos significativos de los niveles de PTHi sérica así como de calcemia y fosforemia. Algunos resultados de ensayos clínicos mostraron valores de calcio sérico por debajo de 7,5 mg/dl (Block JA. 2005 y Lindberg JS. 2005). Los episodios hipocalcémicos fueron transitorios y raramente asociados a síntomas. Otros estudios muestran su efectividad y seguridad, en su uso de 26 a 52 semanas de duración (Sterrett JR. 2007). Los efectos adversos secundarios (principalmente náuseas y vómitos) provocan la interrupción de la terapia en un 10% de los pacientes tratados con Cinacalcet. La mayor parte de los estudios con Cinacalcet tienen lugar en pacientes en diálisis.

En 2008, Fishbane et al. publicaron los resultados del estudio **ACHIEVE**. Se trataba de un estudio prospectivo, aleatorizado y abierto, en el que 173 pacientes se asignaron aleatoriamente a un tratamiento con cinacalcet y dosis bajas de vitamina D o solo análogos de vitamina D (paricalcitol o doxercalciferol). El estudio tuvo un período de 6 semanas de cribaje, incluido el período de lavado, 16 semanas de titulación de dosis y un período de evaluación de 11 semanas. El porcentaje de pacientes que presentaron una reducción de la PTH > 30 % fue mayor en el grupo de pacientes que tomaron cinacalcet que en los asignados al grupo de dosis flexibles de análogos de vitamina D (68 % frente a 36 % p < 0,001). También fue superior el porcentaje de pacientes que presentó una PTH < 300 pg/ml al final del tratamiento en el grupo de cinacalcet que en el grupo de análogos de vitamina D (44 % frente a 26 % p = 0,006). El porcentaje de sujetos que consiguieron rangos de normalidad de PTH (150-300 pg/ml) y un producto calcio x fósforo inferior a 55

mg²/dl² simultáneamente, fue del 21 % en el grupo de cinacalcet frente al 14 % en el grupo de análogos de vitamina D, no resultando esta diferencia estadísticamente significativa. Esto fue atribuido a que el 19 % de los pacientes del brazo de cinacalcet presentaban PTH por debajo del rango de normalidad de las guías KDOQI (Fishbane S 2005).

En el año 2012 se han publicado los resultados del estudio **IMPACT**. Es un ensayo clínico fase IV multicéntrico, multinacional, aleatorizado y con un seguimiento más largo de 28 semanas, en el que se compara el tratamiento con paricalcitol intravenoso (estrato IV) o paricalcitol oral (estrato oral) en monoterapia (cinacalcet de rescate) frente a cinacalcet más dosis bajas de vitamina D, en pacientes hemodializados. El análisis de eficacia mostró que la proporción de pacientes que alcanzó el objetivo de mantener los valores de PTHi entre 150-300 pg/ml durante las semanas 21-28 (período de evaluación) fue mayor en el grupo de paricalcitol que en el de cinacalcet y vitamina D. Las diferencias fueron estadísticamente significativas cuando se comparaba el estrato IV o los dos estratos combinados, pero no lo fueron cuando se comparaba el estrato oral. La heterogeneidad de los países involucrados entre los asignados al grupo oral o IV, así como potenciales diferencias entre el tipo de vitamina D usada en asociación con cinacalcet entre el grupo oral o IV (alfacalcidol oral o doxercalciferol IV, respectivamente), podrían explicar al menos parcialmente estas diferencias. Al mismo tiempo, se observó un descenso significativo de los valores de fosfatasa alcalina y de la fosfatasa alcalina específica de hueso en el grupo de paricalcitol y un aumento en el grupo de cinacalcet, siendo también esta diferencia estadísticamente significativa (Ketteler M 2012).

Tanto los resultados del estudio **ACHIEVE** como los del **IMPACT**, hay que tomarlos con cautela, ya que tienen elementos criticables desde el punto de vista del diseño, se observaron notables dificultades de inclusión, tanto en la fase de *screening* como tras el lavado, se producían pérdidas de pacientes no estimadas a priori y se desconocían o no se analizaban algunos datos potencialmente importantes, como el contenido de calcio del baño en diálisis (definido como intervalos) o del simple hecho que las propias elevaciones en

los niveles de calcio sérico, descienden por si solas los niveles de PTH, de manera independiente al tratamiento con paricalcitol.

Cinacalcet y calcificación vascular

En 2005, Henley et al. constataron que tanto cinacalcet como calcitriol fueron eficaces en la reducción de los niveles plasmáticos de PTH, pero, a diferencia de calcitriol, cinacalcet no produjo hipercalcemia, aumento del producto calcio x fósforo o calcificación vascular (Henley C 2005). Posteriormente, López et al. observaron, en ratas urémicas, que cinacalcet disminuía los niveles elevados de PTH sin inducir calcificación vascular y previniendo la calcificación vascular inducida por calcitriol (López I 2006). Ese mismo grupo, en 2009, en un ensayo experimental vio que las calcificaciones extraóseas se resolvieron parcialmente mediante una reducción de la ingesta de fósforo. El uso de un calcimimético podría acelerar este proceso a través de una estimulación directa en las células fagocíticas minerales, además de aumento de la excreción del calcio urinario (Lopez I 2009).

Recientemente, se han publicado los resultados del estudio **ADVANCE**. En él, se comparó el efecto de la administración de cinacalcet más dosis bajas de ARVD (selectivos o no selectivos) frente a la administración de dosis flexibles de vitamina D sobre la calcificación vascular y de las válvulas cardíacas. No se alcanzaron diferencias estadísticamente significativas entre grupos en el objetivo primario (cambio porcentual en la puntuación en la escala Agatston de la calcificación de las arterias coronarias), pero sí se observaron diferencias estadísticamente significativas en los *scores* de volumen de la calcificación de las arterias coronarias y de la progresión de la calcificación de la válvula aórtica (Raggi P 2011).

Cinacalcet y supervivencia

Block et al. publicaron en 2010 los resultados de un estudio observacional en el que las tasas de mortalidad cardiovascular o de cualquier causa en una cohorte de pacientes en hemodiálisis tratados con cinacalcet fueron menores que las observadas en una cohorte de pacientes que no recibían calcimiméticos (Block GA 2010).

Recientemente se han publicado los resultados del estudio **EVOLVE** (EValuation Of cinacalcet therapy to Lower cardioVascular Events) (EVOLVE Trial 2012). En él se aleatorizaron 3883 pacientes con HPS moderado-severo a recibir cinacalcet o placebo frente a terapia estándar (derivados de la vitamina D y/o quelantes del fósforo). Tras una exposición media de 21,2 meses en el grupo de cinacalcet frente a 17,5 meses en el grupo placebo, cinacalcet no redujo significativamente el objetivo primario compuesto de mortalidad o eventos cardiovasculares mayores (riesgo relativo 0,93; intervalo de confianza al 95 % 0,85-1,02; $p = 0,11$) en el análisis primario no ajustado y por intención de tratar. Sin embargo, creemos que no podemos considerar este ensayo como negativo, sino inconcluyente. Esto es así debido en gran parte a una importante pérdida de potencia estadística que se derivó de la menor incidencia de eventos a los inicialmente esperados, lo que obligó a la extensión del estudio. Por otra parte, se produjeron importantes sesgos para interpretar los resultados derivados del elevado número de pacientes que abandonaron cinacalcet en la rama de tratamiento (por los efectos secundarios habituales del fármaco) y los que recibieron cinacalcet comercial en la rama teórica del placebo (hasta un 20 % de los pacientes) (Ghertow GM 2012). En el análisis por intención de tratar, por definición, los primeros fueron analizados como si hubieran recibido cinacalcet durante toda la duración del estudio y los segundos como si nunca lo hubieran recibido. A diferencia del estudio **IMPACT**, en el **EVOLVE** los pacientes tratados con cinacalcet presentaron niveles de PTH significativamente inferiores, siendo estas diferencias explicables por las distintas características de las personas incluidas y los distintos algoritmos terapéuticos utilizados. Por otro lado en el estudio **EVOLVE**, si se observó una disminución de paratiroideomías (EVOLVE Trial 2012).

Cinacalcet y el hueso

Finch et al. publicaron el último de los estudios a nivel de hueso, utilizando el mismo modelo de Slatopolsky del año 2003, ratas nefrectomizadas 5/6 que fueron tratadas con placebo, paricalcitol o cinacalcet durante 6 semanas. Cinacalcet, pero no paricalcitol, mostró una reducción del volumen del hueso. Cinacalcet presentó una formación de hueso similar y superficie osteoide reducida, pero mayor resorción ósea (Finch JL 2010).

Actualmente se encuentra en marcha el estudio **BONAFIDE** en pacientes con ERC, de un año de seguimiento, con biopsia pre- y post- cinacalcet, en cuyos resultados preliminares se aprecia ya un descenso claro de la resorción y fibrosis ósea en los pacientes tratados con Cinacalcet.

Conocidas ya las distintas opciones terapéuticas y las recomendaciones que establece la S.E.N con respecto al tratamiento de las alteraciones en el metabolismo óseo-mineral de los pacientes renales, se muestra en la siguiente tabla una imagen gráfica de las opciones terapéuticas propuestas en función de los estadios de ERC en que nos encontremos (**Tabla 9**)

Estadio 3	Estadio 4-5
Dieta baja proteínas (0,9 g/Kg peso/día)	Dieta baja proteínas (0,9 g/Kg peso/día)
25-D₃ si requiere 32.000 U/48h	25-D₃ si requiere 32.000 U/48h
Metabolitos D Calcitriol 0,25 µg/48h Alfacalcidol 0,25 µg/24h	Captoreos Cálculos (< 1,5 g/día) Hidróxido Al Carb.Sevelamer/ Lantano
AsRVD Paricalcitol 1 µg/48h	Metabolitos D Calcitriol 0,5 µg/48h Alfacalcidol 0,5 µg/24h
	AsRVD Paricalcitol 1-2 µg/24h

Tabla 9. Alternativas terapéuticas según los estadios de enfermedad renal clínica (S.E.N.-MM 2011)

La *guía de práctica clínica de la Sociedad Española de Diálisis y Trasplante de las alteraciones del metabolismo mineral y óseo de ERC (CKD-MBD) 2010* hace sus sugerencias sobre el tratamiento con vitamina D y los niveles óptimos a alcanzar en los distintos estadios de enfermedad renal (**Tabla 10**)

Estadio 3A * 25-hidroxi-vitamina D	Hidroferol **	Hasta normalizar niveles
Estadio 3B * 1,25 OH vitamina D Análogos Activador selectivo del receptor de la vitamina D	Calcitriol Alfa-Calcidiol Paricalcitol	0,25 mcg/48h 0,5 mcg/24-48h 1 mcg/24-48h
Estadio 4 * 1,25 OH vitamina D Análogos Activador selectivo del receptor de la vitamina D	Calcitriol Alfa- Calcidiol Paricalcitol	0,5 mcg/24-48h 0,5-1mcg/24-48h 1-2 mcg/24-48h

Tabla 10. Tratamiento con vitamina D en estadios precoces de ERC *En todos los estadios normalizar los niveles de 25-hidroxi-vitamina D **Prevenir los aumentos de absorción intestinal de calcio fraccionando la ampolla. Evitar sobredosis por acumulación: dando dosis cada dos semanas o cada mes cuando se alcanza la normalidad. (SEDYT CKD-MBD 2010)

En cuanto a los puntos más relevantes, a mi juicio, a tener en cuenta en este trastorno y que servirán de sustrato para la presentación de las publicaciones que sujetan esta tesis serian:

A. En pacientes con ERC desde estadios 1-2, parece aconsejable la determinación de los niveles de 25 (OH) vitamina D₃ (2C), así como iniciar su suplementación (2C) ya que son el sustrato para la formación de 1,25 (OH)₂ D₃ o calcitriol, su déficit agrava el HPTS y con ello aseguramos los efectos pleiotrópicos de la vitamina D más allá del control del HPTS.

B. En pacientes con ERC estadios 3, la PTH aumenta por encima de los valores normales a pesar de la corrección de factores modificables (hiperfosfatemia, hipocalcemia, déficit de vitamina D), el tratamiento con metabolitos activos de la vitamina D o AsRVD podría estar indicado (2C)

C. Los AsRVD tienen menos efectos sobre la absorción de calcio intestinal y movilización del calcio y el fósforo óseos, en comparación con los ARVD no selectivos. Con el uso de activadores específicos de RVD se ayudaría a combatir los efectos indeseables de hipercalcemia e hiperfosfatemia.

D. El aumento de la calcificación vascular se ha asociado con una menor supervivencia en los pacientes en HD crónica. Estudios experimentales han demostrado que paricalcitol produce menor calcificación vascular que calcitriol.

E. La disminución de la activación del RVD se relaciona con un incremento de marcadores plasmáticos de inflamación y oxidación. Estudios experimentales y clínicos han demostrado que los AsRVD tienen capacidad potencial para modular el fenómeno inflamatorio y estrés oxidativo.

F. El Cinacalcet reduce de forma significativa los niveles de PTH, con una reducción simultánea de los valores séricos de calcio y eventualmente también de fósforo.

G. Pueden asociarse calcimiméticos y derivados activos de la vitamina D, siendo posible una acción aditiva o sinérgica de ambos.

H. Cinacalcet es el único fármaco que ha demostrado en la actualidad un descenso en el número de paratiroidectomías, necesario para un correcto tratamiento del HPTS severo. Estudio **EVOLVE**.

Si bien, estas son las últimas recomendaciones que marca la S.E.N para el manejo, prevención y tratamiento de los trastornos en el metabolismo óseo y mineral de los pacientes con ERC; a tenor de los resultados obtenidos en los últimos ensayos clínicos sobre el beneficio del tratamiento precoz con vitamina D activa selectiva o no, y sus efectos beneficiosos no solo en el control del HPTS sino también en otros órganos (los llamados efectos pleiotrópicos), probablemente en las próximas guías estas recomendaciones se vean modificadas.

Por otro lado cada vez cobra más importancia el mantenimiento de los receptores de vitamina D activos desde estadios iniciales de la enfermedad renal, por lo que probablemente salgan nuevos datos y recomendaciones sobre los niveles óptimos de 25(OH) D₃ y su suplementación.

El uso de calcimiméticos, también tiene un lugar importante en el manejo del HPTS avanzado, cuando los niveles de calcio y/o fósforo, son tan elevados que el manejo con otro tipo de quelantes o vitamina D es imposible. A este factor se suma también los efectos beneficiosos observados con su uso en cuanto a marcadores inflamatorios y del estrés oxidativo.

Los estudios que mostraré en la presente tesis tienen como objetivo aportar un poco más de luz en el tratamiento del HPTS de estos pacientes. Mostrando distintos resultados clínicos novedosos en el campo de la oxidación, inflamación (los llamados *factores de riesgo no tradicionales*) y remodelado óseo, cuando son utilizados en pacientes con ERC 5D.

2. JUSTIFICACIÓN GENÉRICA DEL TEMA

PUBLICACIONES DE LA TESIS DOCTORAL (3 publicaciones)

Índice de impacto global: 6,53

1. **De Francisco AL, Izquierdo M, Cunningham J, Piñera C, Palomar R, Fresnedo GF, Amado JA, Unzueta MG, Arias M.** Calcium-mediated parathyroid hormone release changes in patients treated with the calcimimetic agent cinacalcet. *Nephrol Dial Transplant* 2008 Sep; 23(9):2895-2901
(Índice de impacto: 3,568)

En este trabajo se hizo una valoración prospectiva de las modificaciones en los *set points* del calcio iónico (Ca^{2+}) y PTH séricos sobre 10 pacientes en hemodiálisis con HPTS severo, antes y después de ser tratados con cinacalcet.

La curva Ca^{2+} -PTH expresa la modulación de la secreción de PTH, por parte de la glándula paratiroidea, en función de los cambios de concentración de Ca^{2+} extracelular. Los pacientes con hiperparatiroidismo muestran un desplazamiento hacia la derecha de la curva Ca^{2+} -PTH en comparación con los controles (necesitan niveles de calcio más altos para descender la PTH), lo que sugiere una sensibilidad reducida de las células paratiroides al Ca^{2+} extracelular. El aumento de la sensibilidad de la glándula paratiroidea para Ca^{2+} extracelular a través de la manipulación del sensor del receptor del Ca^{2+} (CAR) podría tener importante potencial terapéutico. Los calcimiméticos, cinacalcet, modifican este CAR, haciéndole más sensible al Ca^{2+} extracelular, lo que resulta en una reducción simultánea del Ca^{2+} y PTH séricos y por lo tanto un desplazamiento a la izquierda de la curva Ca^{2+} -PTH.

En nuestro estudio, sobre los 10 pacientes se evaluó la curva Ca^{2+} -PTH en dos sesiones de hemodiálisis, uno antes y la otra después (rango, 9-22 semanas) del tratamiento con cinacalcet. En cada sesión de diálisis, se hicieron una primera fase de 2 h con baja concentración de Ca^{2+} en el baño de diálisis [$1,5 \text{ mEq / l}$ ($0,75 \text{ mmol / l}$)] con el fin de inducir hipocalcemia y estimular al

máximo la secreción de PTH, seguida inmediatamente después por otras 2 horas de diálisis con alta concentración de Ca^{2+} en el dializado [3,5 mEq / l (1,75 mmol / l)] para inducir hipercalcemia e inhibir así la secreción de PTH al máximo. La primera parte del estudio (sin tratamiento con Cinacalcet) mostró un desplazamiento de la curva Ca^{2+} -PTH hacia la derecha, mientras que la curva mostrada tras el tratamiento con Cinacalcet, reflejó un desplazamiento a la izquierda en todos los pacientes.

Estos hallazgos sugieren como el tratamiento con cinacalcet reduce los niveles de calcio Ca^{2+} y PTH séricos de manera independiente a la concentración de calcio extracelular (concentración de calcio en el baño de diálisis). Como el cinacalcet a través de modificaciones en el CAR, le hace más sensible a concentraciones más bajas de calcio en el líquido extracelular y por lo tanto descenso de los niveles de PTH sérica, de manera independiente a los niveles de calcio como ocurre en los pacientes con HPT no tratados con cinacalcet. Estos cambios quedan reflejados con un desplazamiento de la curva Ca^{2+} -PTH hacia la izquierda.

2. **Izquierdo MJ, Cavia M, Muñiz P, De Francisco AL, Arias M, Santos J, Abaigar P.** Paricalcitol reduces oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients. *BMC Nephrology* 2012, 13:159
(Índice de impacto: 1,52)

Este trabajo se centra en el estudio de la inflamación y oxidación en pacientes de hemodiálisis antes y después del tratamiento con paricalcitol endovenoso. Se trata de un estudio prospectivo sobre 9 pacientes en hemodiálisis a los que se les mide unos parámetros de inflamación (PCR, TNF- α , IL-6, IL-18, IL-10 IDO) y oxidación (SOD, CAT, GSH, TRX, MDA, CG, Nitritos). Dichos pacientes no fueron tratados con ningún tipo de vitamina D, los tres meses previos al estudio. Tras tres meses de tratamiento con paricalcitol se vuelven a medir los mismos parámetros. Se observa de forma significativa en todos los pacientes, un descenso de los parámetros inflamatorios; PCR, TNF- α , IL-6, IL-18 y de forma no significativa la IDO, así como descenso de los marcadores de oxidación; MDA, CG y Nitritos, junto con un ascenso del marcador antiinflamatorio; IL-10 y ascenso asimismo de los marcadores antioxidantes; SOD, CAT, GSH y TRX. De forma adicional, observa un descenso significativo en los niveles de PTH sin producir hipercalcemia e hiperfosforemia en ninguno de los pacientes tratados. No se objetivaron efectos secundarios del tratamiento en ningún paciente. Se traduce de estos resultados que el paricalcitol endovenoso, en esta muestra de pacientes, tiene cierto efecto antioxidante-antiinflamatorio además del control del HPTS. Nunca antes, hasta esta publicación, se había demostrado con estos marcadores de oxidación, aunque sí de inflamación, este efecto pleiotrópicos del paricalcitol en humanos.

3. **Piñera C, Izquierdo MJ, De Francisco AL, García MT, López M, Toyos C, Allende N, Quintela E, Arias M.** Tratamiento doble con calcifediol asociado a paricalcitol y biomarcadores de riesgo cardiovascular en hemodiálisis. Nefrología 2013;33(1):77-84
(Índice de impacto: 1,442)

Este trabajo analiza si existe beneficio alguno en el tratamiento combinado de 25(OH) D₃ (calcifediol oral) y un activador selectivo del receptor de la vitamina D (paricalcitol oral) sobre el metabolismo óseo-mineral y marcadores inflamatorios, respecto al tratamiento único con cada uno de ellos, en un grupo de pacientes de hemodiálisis. Se trata de un estudio prospectivo donde un grupo de pacientes fue tratado inicialmente con calcifediol durante tres meses y otro con paricalcitol durante el mismo periodo de tiempo; trascurrido este tiempo, al grupo de calcifediol se le añade paricalcitol y al de paricalcitol se le añade calcifediol. Los resultados mostraron un ascenso de los niveles de Ca en ambos grupos con cada tratamiento de forma independiente, así como una elevación de los niveles de fosforo tras asociar ambos tratamientos. La PTH mostró un descenso significativo en ambos grupos, de forma más marcada en el grupo tratado con paricalcitol. Paricalcitol parece reducir por si solo los marcadores de remodelado óseo, Pinp 1, Cross Laps y fosfatasa alcalina. Con ambos tratamiento se observó un descenso del marcador inflamatorio, IL-8. A pesar de los resultados, con esta serie, no podemos concluir que la asociación de calcifediol a un activador selectivo de la vitamina D mejore los resultados que cada producto tiene por separado.

3. HIPÓTESIS

Como se ha mencionado previamente, las alteraciones que se producen sobre el metabolismo óseomineral en los pacientes con ERC a medida de disminuye el FGe y su consecuencia en el incremento de la morbimortalidad son notorias.

Uno de los principales causantes de este incremento en la mortalidad son los niveles elevados de fósforo sérico y el desarrollo de un hiperparatiroidismo secundario.

Por otro lado, los pacientes con ERC, sobre todo los sometidos a terapia renal sustitutiva, están expuestos a otros factores de riesgo cardiovascular, los llamados, *factores no tradicionales*, como pueden ser un incremento en la inflamación y oxidación, que exacerban aun más este incremento de la morbimortalidad.

Existen muchas estrategias terapéuticas a seguir en su manejo, ninguna de ellas eficiente al cien por cien actualmente.

Distintos estudios clínicos y experimentales muestran las ventajas que se obtienen con cada uno de ellos, sin embargo a día de hoy aun existe controversia sobre cuál es el mejor esquema a seguir en la prevención y tratamiento del HPTS en estos pacientes.

Por lo tanto la hipótesis de esta tesis doctoral es avanzar datos obtenidos en nuestra clínica y laboratorio sobre el tratamiento óptimo de esta patología, mostrando nuevos resultados analíticos en cuanto a las ventajas del uso de uno u otros tratamientos, los cuales se muestran a través de tres publicaciones.

4. OBJETIVOS

1. Determinar la influencia del tratamiento con calcimiméticos sobre la curva de relación calcio iónico-PTH y sensibilidad al calcio de la glándula paratiroides en pacientes de hemodiálisis.
2. Determinar el efecto diferencial entre tratamiento con vitamina D inactiva (calcifediol) vs activa (paricalcitol), sobre distintos marcadores de inflamación y remodelado óseo, así como el beneficio del tratamiento conjunto en pacientes de hemodiálisis.
3. Valorar si el tratamiento con paricalcitol en pacientes de hemodiálisis tiene efecto alguno en cuanto a la oxidación e inflamación
4. Determinar el efecto en cuanto al control del HPTS y niveles de calcio-fósforo sérico que tienen cada uno de los tratamientos mencionados en monoterapia o combinados.
5. Analizar propuestas terapéuticas aconsejables en base a estos resultados en el control del HPTS así como el beneficio obtenido sobre los *factores de riesgo no tradicionales*, en estos pacientes

5. RESULTADOS

1. Efecto del tratamiento con calcimimético sobre la curva Ca^{2+} -PTH en pacientes de hemodiálisis con HPTS severo

Los 10 pacientes de hemodiálisis, tratados con cinacalcet oral, mostraron un desplazamiento de la curva Ca^{2+} -PTH hacia la izquierda tras tres meses de tratamiento. Todos los pacientes tenían al inicio una PTH > 300 pg/ml. Ninguno había recibido calcitriol ni ningún otro tipo de vitamina D, los tres meses previos al estudio. Todos se dializaban tres veces a la semana, durante 4 horas. A todos se les hizo la curva Ca^{2+} -PTH en dos ocasiones: antes de recibir cinacalcet y $13 \pm 1,2$ semanas tras iniciar el tratamiento (rango 9-22 semanas). Además cada paciente fue estudiado en dos sesiones de hemodiálisis. En cada sesión de HD, durante las dos primeras horas se usó un líquido de diálisis con baja concentración de calcio [1,5 mEq/l (0,75 mmol/l)] para inducir hipocalcemia y máxima secreción de PTH. En todos los pacientes, a excepción de uno (paciente 7), un mayor descenso del Ca^{2+} no influyó en la PTH, lo que confirmaba que la máxima secreción de PTH se había producido. Durante las dos siguientes horas de la diálisis, se usó un baño con alta concentración de calcio [3,5 mEq/l (1,75 mmol/l)], para inducir hipercalcemia y mínima secreción de PTH. En todos los pacientes, a pesar de incrementar más el Ca^{2+} no influyó en la inhibición de la PTH, lo que confirmaba haber llegado a una mínima secreción. La dosis media de cinacalcet usada fue de 54 ± 6 mg/día (rango 30-90 mg/día). La última dosis de cinacalcet dada para hacer la segunda curva del estudio fue el día anterior al procedimiento (16-18 h antes). Ninguno de los pacientes recibió calcitriol ni ninguna otra vitamina D, mientras estaba en tratamiento con cinacalcet. Las muestras sanguíneas fueron sacadas en intervalos regulares (basal, 30, 60, 90, 120, 150, 180, 210 y 240 min) desde el comienzo de la sesión de hemodiálisis, para medir el Ca^{2+} y la PTH intacta.

Los valores obtenidos durante las sesiones de hemodiálisis mientras se inducía hipocalcemia e hipercalcemia se muestran en la **Tabla 1**.

	Before		Difference after cinacalcet		P-value
	Mean	SD	Mean	SD	
Baseline ionized Ca ²⁺ (mmol/l)	1.24	0.10	-0.28	0.26	<0.001
Set point of Ca ²⁺ (mmol/l)	1.25	0.08	-0.22	0.13	<0.001
Baseline PTH (pg/ml)	1116	612	-414	303	0.002
Maximal PTH (pg/ml)	2108	896	-730	507	0.001
Minimal PTH (pg/ml)	496	240	-190	177	0.02
Ca ²⁺ max (mmol/l)	1.05	0.07	-0.185	0.12	<0.001
Ca ²⁺ min (mmol/l)	1.41	0.07	-0.22	0.11	<0.001
Baseline/maximal PTH (%)	54	16.0	7.4	17.8	0.63 (NS)

Tabla 1. Curva Ca²⁺-PTH antes y después del tratamiento. *Baseline ionized Ca²⁺ (mmol/l)*: concentración de calcio ionizado en situación basal (prediálisis). *Set point of Ca²⁺ (mmol/l)*: concentración de Ca²⁺ sérica a la cual la secreción máxima de PTH se redujo en un 50% (calculado por el método de Brown, según el cual el *set point del Ca²⁺* es el nivel de Ca²⁺ a mitad de rango entre la máxima y mínima concentración de PTH (Brown EM 1983). *Baseline PTH (pg/ml)*: nivel de PTH basal en prediálisis. *Maximal PTH (pg/ml)*: el mayor nivel de PTH obtenido en respuesta a hipocalcemia, la definición de máximo nivel requiere una reducción de la concentración de Ca²⁺ sérico adicional que no incremente más la PTH. *Minimal PTH (pg/ml)*: el menor nivel de PTH obtenido en respuesta a hipercalcemia, la definición de mínimo nivel requiere un incremento de la concentración de Ca²⁺ sérico adicional que no descienda más la PTH. *Ca²⁺ max (mmol/l)*: Nivel de Ca²⁺ sérico al cual se produce la máxima secreción de PTH. *Ca²⁺ min (mmol/l)*: Nivel de Ca²⁺ sérico al cual se produce la mínima secreción de PTH. *Baseline/maximal PTH (%)*: el ratio de la basal con respecto a máxima PTH fue multiplicado por 100, para calcular un porcentaje que en voluntarios normales es 20-25%; corregido la PTH actual por la producción de PTH (máxima PTH), se obtiene una medida relativa de la estimulación de la PTH.

Descensos significativos en los niveles basales, máximos, y mínimos de PTH fueron observados con el tratamiento de cinacalcet ($P= 0.002, 0.001$ y $0,02$ respectivamente). Por otro lado, descensos significativos en las concentraciones basales, máximas y mínimas de Ca²⁺ se observaron durante la terapia con cinacalcet ($P < 0.001$). El *set point del Ca²⁺* desciende de forma significativa tras la terapia con cinacalcet ($P < 0.001$).

En la **Figura 1**, se muestran las curvas Ca^{2+} -PTH individuales antes y después de la terapia con cinacalcet para cada uno de los 10 pacientes. En cada una de estas gráficas se puede ver como la terapia con cinacalcet, desplaza la curva Ca^{2+} -PTH de cada paciente, hacia la izquierda.

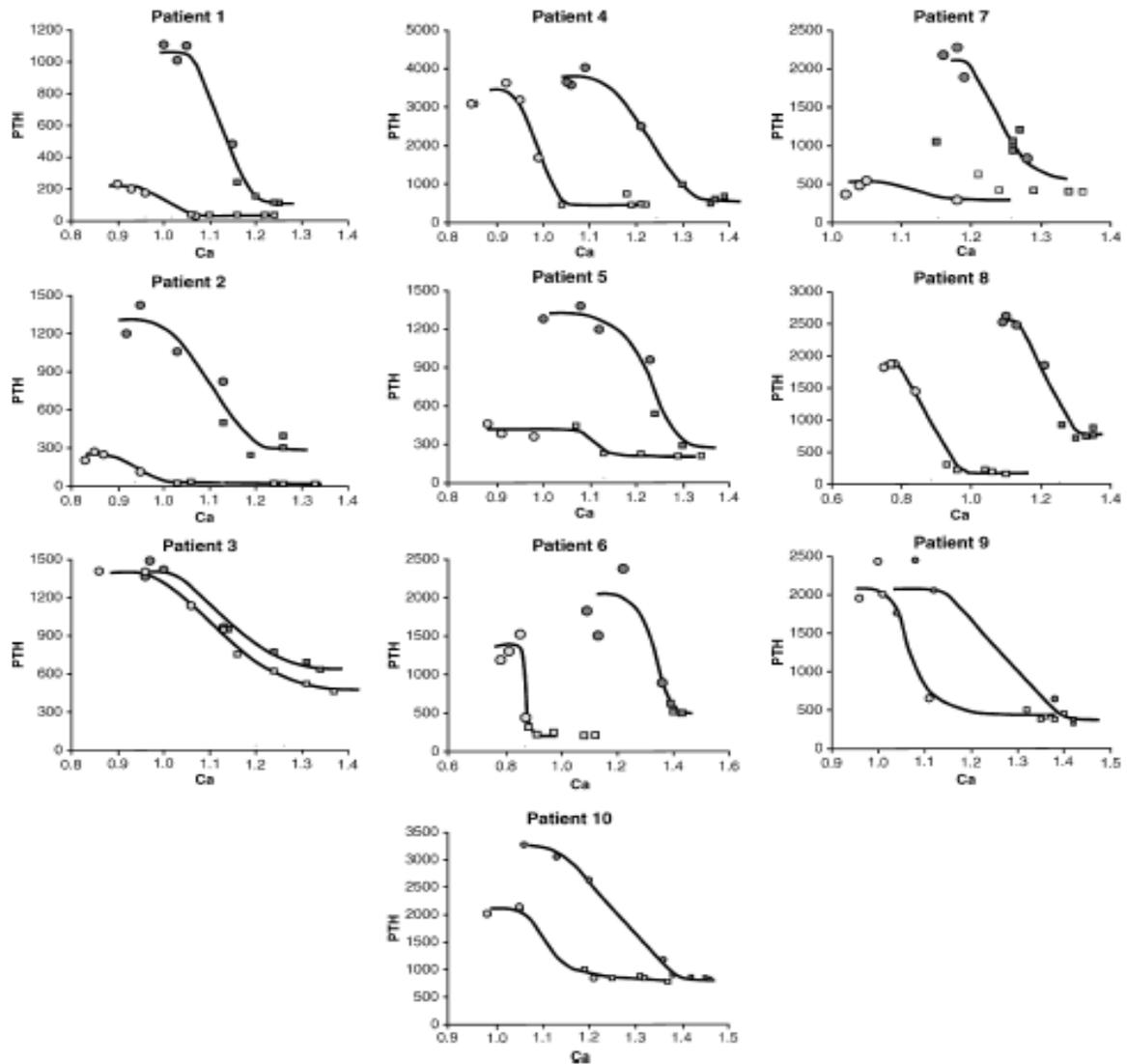


Figura 1. Curvas de Ca-PTH individuales de los 10 pacientes obtenidas durante la hemodiálisis con bajos niveles de calcio (círculo) frente a altos niveles de calcio (cuadrado), antes (en color oscuro) y después (en color claro) del tratamiento con cinacalcet.

En la **Figura 2**, se muestra la curva Ca^{2+} -PTH antes y después del tratamiento con cinacalcet, representando los valores de PTH como el porcentaje de máxima secreción. De igual manera se observa un desplazamiento de la curva hacia la izquierda durante el tratamiento con cinacalcet (*P < 0.007).

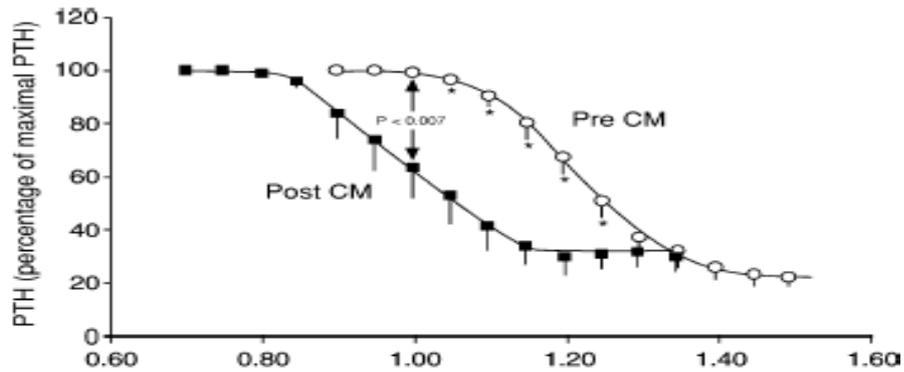


Figura 2. Curva Ca^{2+} -PTH obtenida antes (círculo) y después (cuadrado) de la terapia con calcimimético, representada como el porcentaje de máxima secreción de PTH (*P < 0.007).

En la **Figura 3**, los mismos hallazgos son representados pero mostrando los niveles de PTH intacta. De igual manera, queda reflejado un desplazamiento de la curva Ca^{2+} -PTH hacia la izquierda (*P < 0.01).

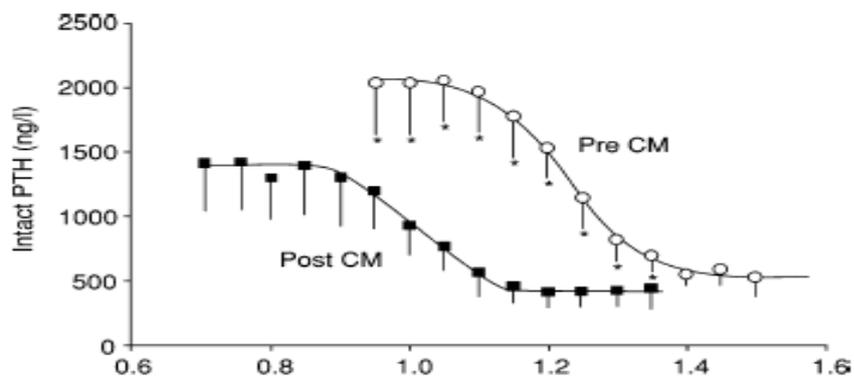


Figura 3. Curva Ca^{2+} -PTH obtenida antes (círculo) y después (cuadrado) de la terapia con calcimimético, representada con los niveles de PTH intacta (*P < 0.01)

La terapia con calcimimético lleva a un descenso en los niveles basales de Ca^{2+} sérico así como en su *set point*. En la **Figura 4**, queda representado como el *set point* del Ca^{2+} y el Ca^{2+} sérico prediálisis descienden durante la terapia con cinacalcet, de forma correlativa con los *set points* del Ca^{2+} y del Ca^{2+} prediálisis existente antes de la terapia con cinacalcet.

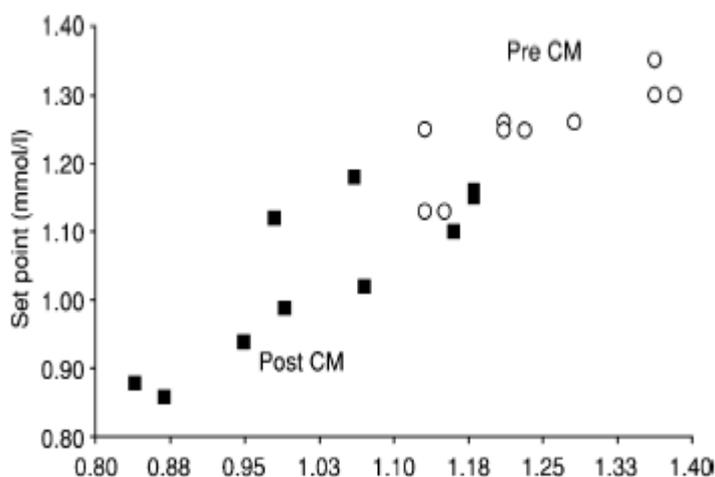


Figura 4. Correlación de los *set point* entre el Ca^{2+} sérico prediálisis [valores antes (circulo) y después (cuadrado) del tratamiento con calcimimético].

Como ya se ha mencionado, los pacientes con ERC e HPTS asociado, muestran un desplazamiento hacia la derecha de la curva Ca^{2+} -PTH en comparación con los controles, lo que sugiere una sensibilidad reducida de las células paratiroides al Ca^{2+} extracelular. Con estos resultados se demuestra como el tratamiento con cinacalcet es capaz de descender los valores séricos máximos, mínimos y basales tanto de Ca^{2+} como de PTH intacta sérica en todos los pacientes, resultando en un desplazamiento de la curva Ca^{2+} - PTH hacia la izquierda. Este efecto es debido a las modificaciones que produce el cinacalcet sobre el receptor del calcio (CAR) a nivel de la glándula paratiroidea, haciéndole más sensible al Ca^{2+} extracelular y en consecuencia descendiendo la secreción de PTH intacta de manera independiente a los niveles de Ca^{2+} extracelular.

2. Efecto del tratamiento con paricalcitol endovenoso sobre marcadores de la oxidación e inflamación

Diecinueve pacientes, sometidos a terapia renal sustitutiva tipo hemodiálisis, fueron tratados con paricalcitol endovenoso. Las dosis usadas de paricalcitol endovenoso fueron de 15 $\mu\text{g}/\text{sem}$ si los niveles de PTH eran ≥ 300 pg/ml con niveles de $\text{Ca} \leq 9,5$ mg/dl y $\text{P} \leq 4,5$ mg/dl . y 7 $\mu\text{g}/\text{sem}$, si por el contrario los niveles de PTH eran ≥ 300 pg/ml pero con niveles de $\text{Ca} >9,5$ mg/dl y $\text{P} > 4,5$ mg/dl a lo largo del estudio. Las muestras sanguíneas se determinaron de forma basal al inicio del estudio, antes de recibir tratamiento, y a los tres meses de tratamiento.

Como se muestra en la **Tabla 2**, todos los pacientes mostraron un incremento en los niveles de calcio y fósforo séricos de forma significativa tras tres meses de tratamiento ($p < 0.00026$ y $0,0248$ respectivamente), junto con un descenso también significativo de la PTH ($p < 0,00014$). En ningún paciente hubo que suspender el tratamiento con paricalcitol por presentar hipercalcemia o hiperfosforemia severas.

N 19	Paricalcitol		P value *
	Baseline Values	After 12 weeks	
Ca mg/dl	8,59 \pm 0,58	9,44 \pm 0,71	0,00026
P mg/dl	4,25 \pm 0,71	4,81 \pm 1,11	0,0248
PTH pg/ml	441 \pm 221	205 \pm 172	0,00014

Tabla 2. Efecto del paricalcitol sobre los distintos marcadores del metabolismo óseomineral. Ca, calcio; P, fósforo; PTH, paratohormona. Los datos son analizados como medias \pm SD. Prueba de Wilcoxon pareada.

Todos los pacientes mostraron un descenso de los parámetros inflamatorios medidos; PCR, TNF- α , IL-6 e IL-18 de forma significativa (p 0,0076, p 0,012, p 0,019, p 0,028 respectivamente) junto con un ascenso del marcador antiinflamatorio IL-10 también de forma significativa (p 0,019) (**Tabla 3**).

	<u>Paricalcitol</u>			P	
	n	Baseline values	After 12 weeks	value	
CRP mg/L	19	21,7 ± 20,7	11,8 ± 10,3	↓	0,0076
TNF-α pg/ml	13	6,15 ± 3,49	3,23 ± 1,96	↓	0,012
IL-6 pg/ml	13	8,96 ± 3,84	6,23 ± 1,91	↓	0,019
IL-18 pg/ml	13	276 ± 77	199 ± 98	↓	0,028
IL-10 pg/ml	13	0,39 ± 0,03	0,428 ± 0,032	↑	0,019
IDO* μM Kyn	19	3,33 ± 1,03	3,01 ± 1,14		0,167

Tabla 3. Marcadores inflamatorios séricos, antes y después del tratamiento con paricalcitol durante 12 semanas. CRP, Proteína C reactiva; TNF-α, factor de necrosis tumoral, L-6, Interleuquina 6; IL-18, Interleuquina 18; IL-10, Interleuquina 10; IDO, Indolamina 2,3-dioxigenasa. Los datos son analizados como medias ± SD. Prueba de Wilcoxon pareada.

El único valor que también mostró descenso, aunque lo hizo de forma no significativa (p 0,167) fue la indolamida 2,3-dioxygenasa (IDO), enzima inducible que cataliza la degradación oxidativa del triptófano, es una molécula inmunosupresora que influye en el pronóstico de determinadas enfermedades crónicas y en la respuesta al tratamiento con determinados fármacos. Presenta niveles elevados en procesos inflamatorios por eso pensamos que podía ser de utilidad en este estudio (**Figura 5**).

El efecto que el tratamiento con paricalcitol endovenoso consiguió sobre los marcadores de oxidación medidos (MDA, CG, Nitritos) fue llamativo en todos los pacientes, observándose un descenso de todos ellos de forma significativa (p 0,002, p 0,0007, p 0,01 de forma respectiva). No solo mostró descender estos marcadores de oxidación, sino que también como se muestra en la **Tabla 4**, se observó un ascenso de todos los marcadores antioxidantes medidos (SOD, CAT, GSH, TRX) también de forma significativa (p 0,00005, p 0,0056, p 0,0002, 0,002 respectivamente).

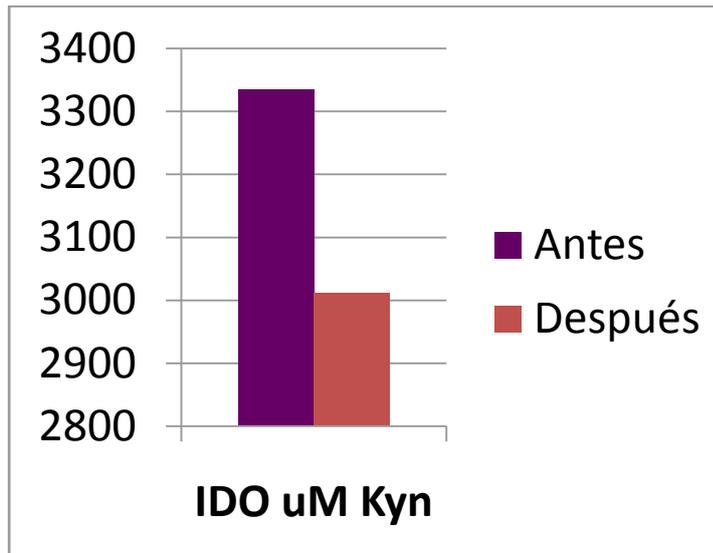


Figura 5. Valores de IDO antes ($3.33 \pm 1.03 \mu\text{M}$ Kyn) y después ($3.01 \pm 1.14 \mu\text{M}$ Kyn) del tratamiento con paricalcitol endovenoso (p 0.167).

n 19	Paricalcitol			intraCV*	interCV**	P value
	Baseline values	After 12 weeks				
Antioxidants						
SOD U/g Hb	734 ± 481	1776 ± 574	↑	4,8%	3,8%	0,00005
CAT U/g Hb	2424 ± 832	3268 ± 1363	↑	2,4%	4,03%	0,0056
GSH $\mu\text{mol/g}$ Hb	1,79 ± 0,76	2,87 ± 1,24	↑	4,4%	5,3%	0,0002
TRX ng/ml	60,2 ± 17,0	89,7 ± 22,1	↑	2,3%	3,1%	0,002
Oxidation markers						
MDA μM	1,14 ± 0,18	0,96 ± 0,14	↓	3,1%	2,8%	0,002
CG nmol/mg pro	1,78 ± 0,75	1,16 ± 0,45	↓	2,7%	3,3%	0,0007
Nitrites μM	7,09 ± 3,42	4,33 ± 3,71	↓	3,4%	3,4%	0,01

Tabla 4. Actividad de los enzimas antioxidantes y marcadores de la oxidación en los pacientes de diálisis antes y después de ser tratados con paricalcitol. SOD, superóxido dismutasa; CAT, catalasa; GSH, glutatión reductasa; TRX, Tiorredoxina; MDA, malondialdehido; CG, grupo carbonilo; Hb, hemoglobina. Los datos son analizados como medias \pm SD. *coeficiente de variación intra-ensayo, **coeficiente de variación inter-ensayo.

A pesar de que la muestra de pacientes tratados es pequeña y que el tiempo de seguimiento es corto, estos resultados son alentadores en cuanto al poder antioxidante y antiinflamatorio que ejerce el tratamiento con vitamina D activa selectiva, paricalcitol, en humanos, efecto anteriormente nunca demostrado.

3. Efecto del tratamiento calcifediol oral vs paricalcitol en monoterapia y combinado.

También se analizó el efecto que produce sobre el metabolismo óseo-mineral y control del HPTS en pacientes de hemodiálisis, cuando se les trataba con la vitamina D inactiva, calcifediol, frente a vitamina D activa selectiva, paricalcitol, o de los posibles beneficios del tratamiento asociado.

El estudio fue llevado a cabo sobre 26 pacientes en HD. Se asignaron en dos grupos de tratamiento; el G1 recibió tratamiento con paricalcitol oral a dosis de 1µg/día. El G2 fue tratado con calcifediol 1 ampolla/sem (0,266 mg/sem = 16.000 U) por vía oral. Trascurridos 3 meses al G1 se le añadió calcifediol a las mismas dosis y al G2, paricalcitol a las mismas dosis, manteniendo dichos tratamientos durante 3 meses más, hasta completar 6 meses de seguimiento (**Figura 6**). Las determinaciones analíticas se llevaron a cabo en los meses 0, 3 y 6. Los marcadores séricos medidos en cada una de las ramas de tratamiento, con los resultados a lo largo de todo el estudio, quedan reflejados en la **Tabla 4**.

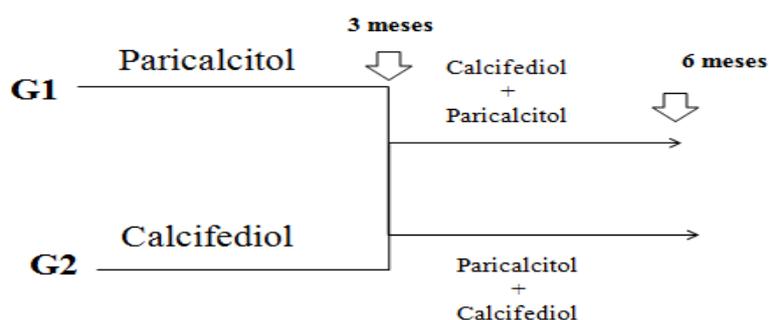


Figura 6. Representación esquemática de ambas líneas de tratamiento. El grupo 1 (G1); tratado inicialmente con paricalcitol, asociando al tercer mes tratamiento con calcifediol. Grupo 2 (G2); tratado inicialmente con calcifediol, asociándose paricalcitol al tercer mes. Ambos grupos son seguidos de forma prospectiva durante 6 meses.

Los pacientes a estudio mostraron un déficit de 25OHD con una media de $13,67 \pm 4,81$ ng/ml en situación basal. Tras ser suplementados con paricalcitol o calcifediol, ambos grupos mostraron una elevación en dichos niveles. No se encontró mayor elevación en los niveles de 25OHD en el G2 cuando se añadió tratamiento con calcifediol ($59,21 \pm 26,50$ ng/ml; en el tercer mes y $41,35 \pm 28,28$ ng/ml; al sexto mes $p < 0,05$). A tenor de estos resultados podríamos decir que la suplementación con calcifediol corrige por sí sola el déficit de 25OHD y reduce significativamente los niveles de PTH como se verá más adelante, sin evidencia de toxicidad ($p=0.03$), resultando quizá un tratamiento mejor desde el punto de vista coste-efectividad.

	Grupo 1 (Pc)			Grupo 2 (C)		
	Mes 0	Mes 3 (solo Pc)	Mes 6 (Pc + C)	Mes 0	Mes 3 (solo C)	Mes 6 (Pc + C)
Ca	$8,65 \pm 0,85$	$8,94 \pm 0,72^a$	$8,83 \pm 0,79$	$8,73 \pm 0,61$	$8,94 \pm 0,67^a$	$9,12 \pm 0,70$
P	$6,35 \pm 2,14$	$5,81 \pm 0,87$	$5,91 \pm 0,82$	$4,72 \pm 1,17$	$4,71 \pm 1,09$	$5,45 \pm 1,15^a$
PTH	$566,15 \pm 113,89$	$466,30 \pm 159,94^a$	$497 \pm 253,36$	$389,20 \pm 118,20$	$366,20 \pm 183,60$	$349,61 \pm 257,91$
25OHD	$12,27 \pm 4,45$	$16,27 \pm 12,73$	$35,36 \pm 33,68$	$15,07 \pm 5,18$	$59,21 \pm 26,50^{a,c}$	$41,35 \pm 28,28^{a,c}$
Pinp1	108 ± 56	83 ± 48^a	70 ± 40^b	118 ± 94	128 ± 112	103 ± 102
Crosslap	$2,00 \pm 0,44$	$1,62 \pm 0,63$	$1,63 \pm 0,60$	$1,63 \pm 0,69$	$1,61 \pm 0,83$	$1,77 \pm 0,91$
Fosfatasa alcalina	$126,72 \pm 46,26$	$130,90 \pm 79,96$	$124,63 \pm 56,52$	$126,86 \pm 67,46$	$120,80 \pm 80,91$	$126,26 \pm 93,07$
HOMA	2699 ± 2558	1839 ± 1505	1779 ± 1204	2604 ± 3924	3411 ± 3235	2489 ± 2519
IL-8	$856 \pm 2,10$	$73,74 \pm 85,0^b$	$77,42 \pm 93,8^b$	$1,168 \pm 2,42$	$43,83 \pm 36,39^b$	$42,77 \pm 66,81^b$
Hb	$11,77 \pm 0,96$	$12,27 \pm 1,12$	$11,77 \pm 0,91$	$11,58 \pm 1,21$	$11,79 \pm 1,57$	$12,05 \pm 1,28$
AEE	128 ± 150	116 ± 127	$99,09 \pm 95,75$	114 ± 118	102 ± 111	$111,07 \pm 119,19$
Hb/AEE	$11,10 \pm 12,87$	$9,73 \pm 10,35$	$8,76 \pm 8,50$	$9,95 \pm 10,49$	$9,66 \pm 11,26$	$9,66 \pm 11,09$

Tabla 4. Modificación de las distintas variables a estudio en ambos grupos de tratamiento a lo largo del estudio. ^a $p < 0,05$. ^b $p < 0,001$. ^c 3 meses vs. 6 meses P, no significativa. 25OHD: 25-hidroxi-vitamina D; AEE: agentes estimuladores de eritropoyesis; Hb/AEE: índice de resistencia a los agentes estimuladores de la eritropoyesis; C: calcifediol; Ca: calcio; Hb: hemoglobina; HOMA: homeostasis model assessment; IL-8: interleuquina 8; P: fósforo; Pc: paricalcitol; Pinp1: propéptido aminoterminal del procolágeno tipo 1; PTH: hormona paratiroidea.

En cuanto a los valores de PTH, ambos grupos mostraron un descenso significativo de esta, hasta el tercer mes de tratamiento (G1 $566,15 \pm 113,89$ pg/ml inicial vs. $466,30 \pm 159,94$ pg/ml a los tres meses; $p < 0,039$ y G2 $389,20$ pg/ml inicial frente a $366,60 \pm 183,60$ pg/ml a los tres meses; $p < 0,607$), sin embargo, a partir del tercer mes en que se hace doble el tratamiento, el G1 no mostró mayor descenso ($466,30 \pm 159,94$ pg/ml a los tres meses vs. $497,30 \pm 253,36$ pg/ml al sexto mes) y el G2 mínimo de forma no significativa ($366,20 \pm 183,60$ pg/ml a los tres meses vs. $349,61 \pm 257,91$ pg/ml al sexto mes). Estos resultados, al igual que ocurre con la suplementación con vitamina D, podrían indicarnos que el tratamiento único con cada uno de ellos podría ser suficiente para descender los niveles de PTH de forma significativa, no aportando nada la asociación. Se podría en este caso, usar la suplementación que resulte más coste-efectiva para el control del HPTS o por el contrario valorar otros efectos beneficiosos de la suplementación, como el efecto antioxidante- antiinflamatorio (factores de riesgo no tradicionales), como se presentará más adelante.

Ambos grupos experimentaron un incremento en los niveles de calcio sérico a lo largo de todo el estudio. Ninguno de los dos grupos mostró incrementos en los niveles de fósforo sérico al cabo de tres meses de tratamiento (G1: $6,35 \pm 2,14$ mg/dl; $p < 0,39$ inicial frente a $5,81 \pm 0,87$ mg/dl; $p < 0,39$ a los tres meses y G2: $4,72 \pm 1,17$ mg/dl; $p < 0,93$ inicial frente a $4,71 \pm 1,09$ mg/dl; $p < 0,93$ a los tres meses); sin embargo, sí se produjo un incremento en sus niveles tras asociar los dos fármacos, al sexto mes de tratamiento, de forma significativa en el G2 ($4,71 \pm 1,09$ mg/dl al tercer mes, frente a $5,45 \pm 1,15$ mg/dl; $p < 0,05$ a sexto mes) y de forma no significativa en el G1 ($5,81 \pm 0,87$ mg/dl al tercer mes, frente a $5,91 \pm 0,82$ mg/dl; $p < 0,98$ a sexto mes).

Este hecho apoya mas la idea, de que si bien la terapia combinada no aporta beneficio alguno en los parámetros descritos hasta ahora, por el contrario podría generar efectos adversos al elevar de forma considerable los niveles de fósforo séricos.

Se buscó asimismo el posible efecto beneficioso en cuanto a la inflamación, a través de mediciones en la IL-8 (**Figura 7**). Los resultados muestran un descenso significativo de esta interleuquina ($p < 0,0001$), en monoterapia, pero no un mayor descenso cuando el tratamiento se hace combinado. Por lo tanto, tampoco parece en este caso que la asociación de ambas vitaminas aporte un mayor beneficio que la terapia individualizada.

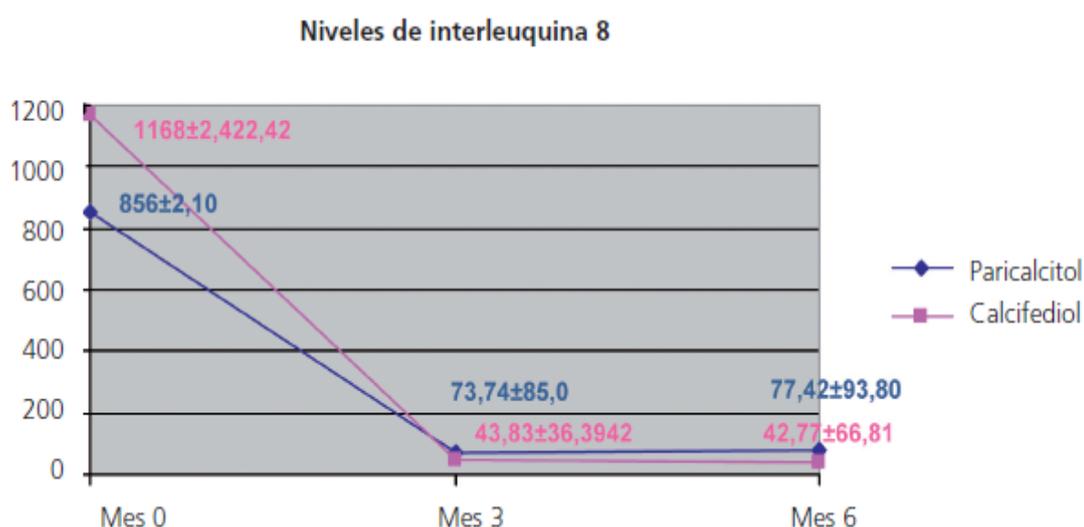


Figura 7. Variación en los niveles de IL-8 a lo largo del estudio en el grupo tratado con paricalcitol, frente al grupo tratado con calcifediol.

Otros marcadores de remodelado óseo fueron analizados, como el Pinp 1, Cross Laps y fosfatasa alcalina (FA). En este caso, el grupo tratado con paricalcitol si mostró una mayor tendencia en la disminución de los marcadores óseos con respecto al grupo tratado con calcifediol (**Tabla 4**).

Al analizar los valores de hemoglobina y la dosis de eritropoyetina (EPO) en ambos grupos, no se encontraron diferencias significativas, aunque el grupo paricalcitol si mostró un menor índice de resistencia a la EPO (Hb/Agentes estimuladores de la eritropoyesis) como se muestra en la **Figura 8**.

Por último el índice HOMA (*homeostasis model assessment*) usado como marcador de resistencia a la insulina, también fue medido. El grupo paricalcitol mostró un descenso no significativo en este marcador hecho que no ocurrió con el grupo tratado con calcifediol.

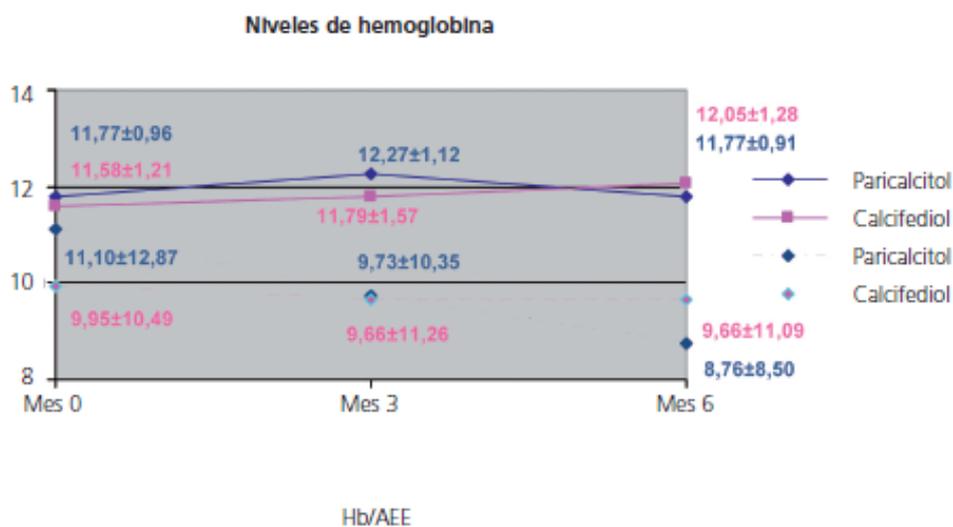


Figura 8. Correlación entre los niveles de hemoglobina e índice de resistencia a los agentes estimuladores de la eritropoyesis en ambos grupos a lo largo del estudio.

Por lo tanto, los suplementos orales de calcifediol en pacientes en HD parecen ser una medida segura y coste-efectiva que permite reducir el déficit de vitamina D con un mejor control del metabolismo mineral y disminución de la inflamación. Parece existir una acción directa del paricalcitol sobre las células óseas.

Con estos resultados no podemos afirmar que existan ventajas en la asociación de ambos fármacos a las dosis usadas.

6. DISCUSIÓN

La enfermedad cardiovascular es la principal causa de muerte en pacientes con enfermedad renal crónica. Los factores de riesgo que llevan a esta situación son los comúnmente conocidos para la población general (*factores de riesgo tradicionales*) pero además están expuestos a otros factores, no tan bien conocidos, los llamados *factores de riesgo no tradicionales*. Tanto los unos como los otros, están presentes ya desde estadios iniciales de la enfermedad renal, factor que condiciona el hecho de que el 74% de los pacientes que comienzan a dializarse presenten ya patología cardíaca entre otras (Foley RN. 1995).

Alteraciones en el metabolismo fosfocálcico y desarrollo de un HPTS están muy presentes también en los pacientes renales, haciéndose más intenso a medida que disminuye el filtrado glomerular. Este hecho es uno de los principales responsables de la patología que engloba la enfermedad renal. Niveles elevados de fósforo sérico, hipocalcemia, incrementos en el FGF-23, déficit de su cofactor Klotho, descenso de la vitamina $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ o calcitriol, pérdida de los receptores para el Ca, vitamina D y PTH a nivel periférico y en glándula paratiroidea e hiperplasia nodular de dicha glándula; son entre otros los factores alterados en este metabolismo.

Sus consecuencias no son solo a nivel del sistema cardiovascular, sino que todo ello junto con el estado de uremia permanente, entre otros factores, lleva a estos enfermos a un estado de oxidación e inflamación continuo (*factores de riesgo no tradicionales*). Esta situación desencadena un desgaste energético-proteico, con estado de malnutrición y envejecimiento precoz celular, lo que lleva a la muerte prematura de estos pacientes.

Distintas terapias han sido desarrolladas para intentar frenar este proceso; quizá las más efectivas han sido el uso de membranas más biocompatibles y mejor calidad de diálisis en estadios terminales de la enfermedad, quedando patente de hecho una mayor supervivencia de los pacientes que se encuentran en este estado.

Sin embargo, poco hemos avanzado en la prevención o tratamiento del desarrollo de HPTS con sus consecuencias ya mencionadas y en la desaparición del estado inflamatorio-oxidativo en que se encuentran estos pacientes desde estadios muy tempranos de la enfermedad. Aun son muchos los pacientes que llegan a estadios 4 de ERC con niveles muy elevados de PTH, hiperfosforemia y alta calcificación cardiovascular.

La suplementación con vitamina D tipo calcifediol, ha sido algo usado desde tiempos inmemorables. Con esto, se conseguía mantener niveles adecuados de calcio en sangre, evitar hasta cierto punto la hiperplasia de la glándula paratiroidea, activar los VRD a nivel periférico y central (sabido hoy en día) y mantener ciertos niveles de calcitriol en sangre. Sin embargo la efectividad de este tratamiento es únicamente en estadios iniciales, cuando aún queda masa nefronal con actividad de la 1α hidroxilasa que la convierta en vitamina D activa y/o cuando la hiperplasia de la glándula paratiroidea no es tan patente que escapa a todos los mecanismos reguladores, como ya se ha mencionado. A este hecho se suma, las evidencias clínicas que estamos viendo a día de hoy, en que la suplementación excesiva con vitamina D y sin un control adecuado de sus niveles séricos, ha llevado a un estado de toxicidad con hipercalciuria en algunos casos, jugando cierto papel en el mayor descenso del FGe junto con mayor calcificación vascular (incremento del producto calcio-fósforo). Es por esto que en las últimas recomendaciones de las guías SEN, se hace mucho hincapié en medir los niveles de 25 (OH) D₃ cuando se va a hacer suplementación con esta hormona y en tratar de definir cuáles son los niveles terapéuticos y cuales los tóxicos. A pesar de esto, aun hoy en día existe mucha controversia a este respecto, quedando pendiente realizar estudios para tener datos más aclarativos.

Como ya se ha expuesto en mi primer trabajo, los calcimiméticos producen modificaciones en la sensibilidad de receptor del calcio a nivel de paratiroides, con respecto a los niveles de calcio sérico extracelular. Esto conlleva que a pesar de tener niveles bajos de Ca²⁺ sérico, dada la modificación que tiene este receptor, no se produce secreción de PTH. Incluso en algunos estudios se

ha visto como es capaz de reducir el tamaño nodular de la glándula, evitando en algunos casos llegar a la paratiroidectomía. Conseguimos así desplazar la curva Ca^{2+} - PTH hacia la izquierda, con menores niveles de calcio y PTH séricos. Sin embargo, la inhibición en la secreción de PTH y la falta de respuesta de los receptores a los niveles bajos de Ca^{2+} séricos tienen sus consecuencias que marcan a su vez la limitación en el uso de los calcimiméticos; estas son la hipocalcemia e hipofosfatemia severa.

Aunque en nuestro estudio ningún paciente mostro este efecto secundario a las dosis usadas, si es un hecho ampliamente expuesto en la bibliografía. No por este hecho deja de ser un fármaco que abre muchas puertas en el tratamiento del HPTS fundamentalmente en el severo, ya que un adecuado control en los niveles de Ca y P séricos cuando se usa, pueden minimizar esta toxicidad.

La vitamina D capaz de activar sus receptores de forma selectiva, evitando entre otras cosas situaciones de hipercalcemia es el paricalcitol. Modificaciones alostéricas en la hormona, la confieren la propiedad de activar de forma selectiva los receptores de la vitamina D, al reclutar distintos coactivadores que las otras vitaminas comercializadas hasta el momento, esto le confiere distintos efectos a nivel sistémico que los conocidos hasta ese momento (*efectos pleiotrópicos*).

Si bien ya era conocido el efecto antioxidante-antiinflamatorio que en cierto modo producen las distintas vitaminas D (calcifediol o calcitriol). Paricalcitol también demostró efecto antiinflamatorio y antioxidante, este ultimo únicamente a nivel experimental. En mi segundo trabajo, quise valorar si paricalcitol también podía producir este efecto antioxidante a nivel clínico cuando se usaba en pacientes de hemodiálisis. Los resultados fueron gratamente alentadores, puesto que no solo demostró descender los marcadores de oxidación e inflamación medidos, sino que también mostró incrementar los marcadores antioxidantes y antiinflamatorios que se midieron de forma muy significativa.

Se abre aquí un nuevo campo de investigación, que puede ser la clave para evitar la inflamación-oxidación precoz que tienen los pacientes renales como se ha mencionado.

A pesar de estos resultados tan alentadores, en el tercer trabajo presentado en esta tesis se quiso valorar si el paricalcitol podía aportar algún beneficio con respecto al calcifediol, en monoterapia o combinada en cuanto al control del HPTS y marcadores de remodelado óseo en pacientes de hemodialisis. Los resultados sembraron nuevas dudas, a las expectativas que se habían creado con el nuevo fármaco activador selectivo (paricalcitol).

Aunque se puede hacer una suplementación con ambas hormonas, consiguiéndose niveles más elevados de 25OHD_3 , el doble tratamiento no consigue mejores resultados en cuanto al descenso de los niveles de PTH que por separado. Por otro lado, la suplementación con calcifediol aislado corrige por si solo este déficit y reduce significativamente los niveles de PTH sin evidencia de toxicidad ($p=0.03$). Por otro lado un tratamiento aislado mantiene niveles adecuados de calcio y fósforo séricos, sin embargo el tratamiento combinado corre el riesgo de producir niveles séricos de P por encima de la normalidad, con riesgo de toxicidad. Por lo que a tenor de estos resultados y buscando solo el efecto de suplementación, el tratamiento aislado con calcifediol sería en este caso el mejor desde el punto de vista coste-efectivo.

Las guías recomiendan mantener activos los receptores con vitamina D, a tenor de los resultados mostrados desde el punto de vista inflamatorio y de los marcadores de remodelado óseo medidos, no muestra ningún beneficio el uso combinado de vitamina D activa e inactiva. En cuanto a la vitamina D de elección, en cuanto a marcadores de remodelado, según se muestra en el segundo estudio, apenas existe diferencias entre ambas, sin embargo en cuanto al descenso de los marcadores de inflamación y oxidación, marca una gran diferencia en su beneficio el uso de los activadores selectivos del receptor de la vitamina D, como se refleja en los resultados mostrados del tercer estudio. Si bien, un posible efecto tóxico del uso de todas las vitaminas D, son la hipercalcemia e hiperfosfatemia.

Aunque en nuestros estudios ningún paciente mostró toxicidad, si es verdad que todos mostraron niveles más elevados de ambos, llegando en algún caso a rozar el límite alto de la normalidad. Quizá una prolongación en el tiempo de estos estudios, donde la terapia fuese alargada en el tiempo, si reflejarían este efecto. Es en esta circunstancia, cuando tiene cabida el uso de los calcimiméticos.

Como ha quedado patente con los resultados mostrados en el primer estudio, estos fármacos, desplazan la curva Ca-PTH hacia la izquierda, disminuyendo los niveles de Ca, PTH y fósforo. Con la terapia combinada de ambos se podría conseguir un adecuado control del HPTS, contrarrestándose los efectos secundarios de cada uno de ellos: hipocalcemia e hipofosfatemia con el cinacalcet e hipercalcemia (menor con los activadores selectivos de la vitamina D) e hiperfosforemia con el uso de la vitamina D; y beneficiándose de los otros efectos pleiotrópicos mencionados en cuanto a la oxidación, inflamación y remodelado óseo.

Hay que decir que no por estos resultados, el activador selectivo del receptor de la vitamina D, deja de tener sus ventajas con respecto al uso de las otras vitaminas, como se ha explicado ya ampliamente. Todos los resultados han de interpretarse con cautela, ya que las poblaciones sobre las que se llevaron a cabo los distintos estudios fueron reducidas y los tiempos de seguimiento cortos. Por otro lado los efectos demostrados antioxidantes y antiinflamatorios del paricalcitol se hicieron con terapia endovenosa, mientras que el estudio comparativo del tercer trabajo fue oral, suponiendo este un sesgo importante que habría que estudiar.

Con estos trabajos, se aportan más datos al ya complicado tema de prevención y tratamiento del HPTS. Son precisos más estudios que aclaren las dudas existentes aun hoy en día.

7. CONCLUSIONES

1. En los pacientes con ERC la curva Ca^{2+} -PTH expresa la modulación de la secreción de PTH, por parte de la glándula paratiroidea, en función de los cambios de concentración de Ca^{2+} extracelular. Los pacientes con hiperparatiroidismo muestran un desplazamiento hacia la derecha de la curva Ca^{2+} -PTH, lo que sugiere una sensibilidad reducida de las células paratiroides al Ca^{2+} extracelular. El tratamiento con cinacalcet provoca un desplazamiento a la izquierda de la curva Ca^{2+} -PTH lo que resulta en una reducción simultánea del Ca^{2+} y PTH séricas
2. Paricalcitol parece reducir los marcadores de inflamación (PCR, $\text{TNF } \alpha$, IL-6, IL-18) y oxidación (MDA, CG, Nitritos) medidos en nuestros pacientes de hemodiálisis de forma significativa, así como incrementar los marcadores antiinflamatorios (IL-10) y antioxidantes (SOD, CAT, GSH, TRX) también de forma significativa. Todos los pacientes mostraron descensos en los niveles de PTH.
3. Con nuestros resultados, no podemos concluir que la asociación calcifediol-paricalcitol produzca ventajas sobre el efecto de cada uno de ellos por separado en los marcadores medidos. Paricalcitol además, por sí solo, parece tener efecto directo sobre la remodelación ósea.
4. Tanto los calcimiméticos como los derivados de la vitamina D inactivos o activos influyen en la corrección de los factores de riesgo no tradicionales que se observan en la enfermedad renal crónica en pacientes en hemodiálisis.

8. REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

Alam MU, Kirton JP, Wilkinson FL, Towers E, Sinha S, Rouhi M, et al. Calcification is associated with loss of functional calcium-sensing receptor in vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* 2009; 81:260-8.

Amann, K, Ritz, E, Wiest, G y cols.: A role for parathyroid hormone in the activation of cardiac fibroblasts in uremia. *J Am Soc Nephrol* 4: 1814-1819, 1994.

Andreyev A.Y, Kushnareva Y.E, Starkov A.A. Mitochondrial metabolism of reactive oxygen species. *Biochemistry (Moscow)* 2005. 70: 200-214.

Badenhoop K, Kahles H, Penna-Martinez M. Vitamin D, immune tolerance, and prevention of type 1 diabetes. *Curr Diab rep* 2012;12:635-42

Balderman JA, Lee HY, Mahoney CE, Handy DE, White K, Annis S, et al. Bone morphogenetic protein-2 decreases microRNA-30b and microRNA-30c to promote vascular smooth muscle cell calcification. *J Am Heart Assoc* 2012

Barenbrock M, Spieker C, Laske J, Heidenreich S, Hohage H, Bachmann J, Hoecks APG, Rahn KH: Studies of the vessel wall properties in hemodialysis patients. *Kidney Int* 45: 1397- 1400, 1994.

Bathon J, Graves J, Jens P, et al. The erythrocyte sedimentation rate in end-stage renal failure. *Am J Kidney Dis* 1987; 10:34.

Bayes B, Pastor MC, Bonal J, et al. Homocysteine, C-reactive protein, lipid peroxidation and mortality in hemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2003, 18: 106-112

Becker LE, Koleganova N, Piecha G, Noronha IL, Zeier M, Geldyyev A, et al. Effect of paricalcitol and calcitriol on aortic wall remodeling in uninephrectomized ApoE knockout mice. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2011; 300:F772-F782.

Bemelmans MH, Gouma DJ, Buurman WA. Influence of nephrectomy on tumor necrosis factor clearance in a murine model. *J Immunol* 1993; 150:2007.

Benditt EP. Atherosclerosis review. Nueva York. raven Press 1978; 3:77

Berland Y. Dialysate and biocompatibility in hemodialysis. *Nephrologie* 1998; 19(6):329-34

Berndt, C.; Lillig, C.H.; Holmgren, A. Thiol-based mechanisms of the thioredoxin and glutaredoxin systems: implications for diseases in the cardiovascular system. *American Journal of Physiology*. 2007. 292(3): H1227-H1236.

Bischoff-Ferrari HA, Shao A, Dawson-Hughes B, Hathcock J, Giovannucci E, Willett WC. Benefit-risk assessment of vitamin D supplementation. *Osteoporos Int* 2010; 21:1121-32.

Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM. Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. *Hypertension*. 2001; 38:938-942.

Block GA, Martin KJ, de Francisco AI, Turner SA, Avram MM, Suranyi MG, et al. Cinacalcet for secondary hyperparathyroidism in patients receiving hemodialysis. *Kidney Int* 2005;68:1793-1800

Boaz M, Smetana S, Weinstein T, et al. Secondary prevention with antioxidants of cardiovascular disease in endstage renal disease (SPACE): randomised placebocontrolled trial. *Lancet*. 2000; 356:1213-8.

Bode JG, Albrecht U, Häussinger D, et al. Hepatic acute phase proteins--regulation by IL-6- and IL-1-type cytokines involving STAT3 and its crosstalk with NF- κ B-dependent signaling. *Eur J Cell Biol* 2012; 91:496.

Bohm V, Tiroke K, Schneider S, Sperschneider H et al. Vitamin C status of patients with chronic renal failure, dialysis patients and patients after renal transplantation. *Int J Vitam Nutr Res.* 1997; 67:262-266

Boland R. VDR activation of intracellular signaling pathways in skeletal muscle. *Mol Cell Endocrinol* 2011; 34:11-6

Bologa RM, Levine DM, Parker TS, et al. Interleukin-6 predicts hypoalbuminemia, hypocholesterolemia, and mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998; 32:107.

Boonstra A, Barrat FJ, Crain C, Heath VL, Savelkoul HFJ, Garra AO. 1 α ,25-dihydroxyvitamin d3 has a direct effect on naïve CD4+T cells to enhance the development of Th2 cells. *J Immunol* 2001; 167:4974-80.

Brahimi M, Dahan M, Dabiré H, Levy BI: Impact of pulse pressure on degree of cardiac hypertrophy in patients with chronic uremia. *J Hypertens* 18: 1645-1650, 2000.

Brown AJ, Finch J, Slatopolsky E. Differential effects of 19-nor-1,25-dihydroxyvitamin D(2) and 1,25-dihydroxyvitamin D(3) on intestinal calcium and phosphate transport. *J Lab Clin Med* 2002;139:279-84

Brown EM. Four-parameter model of the sigmoidal relationship between parathyroid hormone release and extracellular calcium concentration in normal and abnormal parathyroid tissue. *J Clin Endocrinol Metab* 1983; 56: 572–581

Brunet P, Capo C, Dellacasagrande J, et al. IL-10 synthesis and secretion by peripheral blood mononuclear cells in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 1998; 13: 1745-1751

Cachofeiro V, Goicochea M, de Vinuesa SG, Oubina P, Lahera V, Luno J. Oxidative stress and inflammation, a link between chronic kidney disease and cardiovascular disease. *Kidney Int.* 2008;111 (Suppl):S4-S9.

Caimi G, Carollo C, Hopps E, Montana M, Lo Presti R. Protein oxidation in chronic kidney disease. *Clin Hemorheol Microcirc.* 2013;54(4):409-13.

Canalejo R, Canalejo A, Martinez-Moreno JM, Rodriguez-Ortiz ME, Estepa JC, Mendoza FJ, Muñoz Castaneda JR, Shalhoub V, Almaden Y, Rodriguez M. FGF23 fails to inhibit uremic parathyroid glands. *J Am Soc Nephrol* 2010;21:1125-35.

Canaud B, Cristol J, Morena M, Leray-Moragues. Imbalance of oxidants and antioxidants in haemodialysis patients. *Blood Purif.* 1999, 17 99-106

Candus A, Panizo S, Parisi E, Fernández E, Valdivielso JM. Differential effects of vitamin D analogs on vascular calcification. *J Bone Miner Res.* 2007; 22:860-866.

Cano NJ, Fouque D, Roth H, et al. Intradialytic parenteral nutrition does not improve survival in malnourished hemodialysis patients: a 2-year multicenter, prospective, randomized study. *J Am Soc Nephrol.* 2007;18: 2583-91.

Carrillo-López N, Álvarez-Hernández D, González-Suárez I, Roman-Garcia P, Valdivielso JM, Fernandez Martin JL, Cannata-Andía JB. Simultaneous changes in the calcium-sensing receptor and the vitamin D receptor under the influence of calcium and calcitriol. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23(11):3479-84.

Chen S, Sims GP, Chen XX, Gu YY, Chen S, Lipsky PE. Modulatory effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on human B cell differentiation. *J Immunol* 2007;179:1634-47.

Chertow GM, Block GA, Correa-Rotter R, Drüeke TB, Floege J, Goodman WG, et al. Effect of cinacalcet on cardiovascular disease in patients undergoing dialysis. *N Engl J Med* 2012;367(26):2482-94.

Chung SH, Heimbürger O, Stenvinkel P, et al. Association between inflammation and changes in residual renal function and peritoneal transport rate during the first year of dialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16:2240.

Cozzolino M, Lu Y, Finch J, Slatopolsky E, Dusso AS. P21 (WAF1) and TGF- α mediate parathyroid growth arrest by vitamin D and high calcium. *Kidney Int.* 2001; 60: 2109-17.

Cunningham J, Locatelli F, Rodriguez M. Secondary Hyperparathyroidism: Pathogenesis, Disease Progression, and Therapeutic Options. *Clin J Am Soc Nephrol* 2011;6:913-21.

Dahan M, Siohan P, Viron B, Michel C, Paillole C, Gourgon R, Mignon F: Relationship between left ventricular hypertrophy, myocardial contractility and load conditions in hemodialysis patients: an echocardiographic study. *Am J Kidney Dis* 30: 780-785, 1997.

Danesh J, Collins R, Appleby P, Peto R: Association of fibrinogen, C-reactive protein, albumin, or leukocyte count with coronary heart disease: Meta-analyses of prospective studies. *JAMA* 1998, 279: 1477–1482.

Dazinger J. The bone-renal axis in early chronic kidney disease: an emerging paradigm. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23: 2733-7

De Boer IH, Rue TC, Kestenbaum B. Serum phosphorus concentrations in the Third National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III). *Am J Kidney Dis* 2009; 53: 399-407

De Francisco AL, Izquierdo M, Cunningham J, Piñera C, Palomar R, Fresnedo GF, Amado JA, Unzueta MG, Arias M. Calcium-mediated parathyroid hormone release changes in patients treated with the calcimimetic agent cinacalcet. *Nephrol Dial Transplant* 2008 Sep;23(9):2895-901

Deicher R, Ziai F, Bieglmayer C, et al. Low total vitamin C plasma level is a risk factor for cardiovascular morbidity and mortality in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:1811.

De Oliveira RB, Okazaki H, Stinghen AE, Drüeke TB, Massy ZA, Jorgetti V. Vascular calcification in chronic kidney disease: a review. *J Bras Nefrol.* 2013 Apr-Jun;35(2):147-61.

Devgun MS, Paterson CR, Johnson BE, Cohen C. Vitamin D nutrition in relation to season and occupation. *Am J Clin Nutr.* 1981; 34: 1501-4.

Díaz MN, Frei B, Vita JA, Keaney JF. Antioxidant and atherosclerotic heart disease. *N Engl J Med* 1997; 337: 408-416

Dounousi E, Papavasiliou E, Makedou A, et al. Oxidative stress is progressively enhanced with advancing stages of CKD. *Am J Kidney Dis.* 2006; 48:752-60.

Dowling TC. Prevalence, etiology, and consequences of anemia and clinical and economic benefits of anemia correction in patients with chronic kidney disease: an overview. *Am J Health Syst Pharm.* 2007;6413(Suppl 8):S3-S7.

Drueke TB, Locatelli F, Clyne N, et al. Normalization of hemoglobin level in patients with chronic kidney disease and anemia. *N Engl J Med.* 2006;355: 2071-84.

Ducloux D, Bresson-Vautrin C, Kribs M, Abdelfatah A, Chalopin JM. C-reactive protein and cardiovascular disease in peritoneal dialysis patients. *Kidney Int.* 2002;62(4):1417

Dusso A, Arcidiacono MV, Yang J, Tokumoto M. Vitamin D inhibition of TACE and prevention of renal osteodystrophy and cardiovascular mortality. *J Steroid Biochem Mol Biol.* 2010; 121:193-8

Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289: F8-28

Dusso AS, Pavlopoulos T, Naumovich L, Lu Y, Finch J, Brown AJ, et al. P21 (WAF1) and transforming growth factor- α mediate dietary phosphate regulation of parathyroid cell growth. *Kidney Int.* 2001; 59:855-65

Dydadik AI, Bagriy AE, Lebed IA, Yarovaya NF y cols.: ACE inhibitors captopril and enalapril induce regression of left ventricular hypertrophy in hypertensive patients with chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 12: 945-951, 1997.

Eknoyan G, Beck GJ, Cheung AK, et al. Effect of dialysis dose and membrane flux in maintenance hemodialysis. *N Engl J Med.* 2002; 347:2010-9.

Evans P, Halliwell B. Free radicals and hearing. Cause, consequence, and criteria. *Ann N Y Acad Sci.* 1999 Nov 28;884:19-40. Review

Felsenfeld AJ, Rodríguez M. Phosphorus, regulation of plasma calcium, and secondary hyperparathyroidism: a hypothesis to integrate a historical and modern perspective. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 878-890.

Fick GM, Johnson AM, Hammond WS, Gabow PA. Causes of death in autosomal dominant polycystic kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 1995; 5:2048-56

Finch JL, Brown AJ, Slatopolsky LE. Differential effects of 1,25-dihydroxy-vitamin D3 and 19-nor-1,25-dihydroxy-vitamin D2 on calcium and phosphorus resorption in bone. *J Am Soc Nephrol* 1999;10: 980-5.

Finch JL, Tokumoto M, Nakamura H, Yao W, Shahnazari M, Lane N, et al. Effect of paricalcitol and cinacalcet on serum phosphate, FGF-23, and bone in rats with chronic kidney disease. *Am J Physiol Renal Physiol* 2010;298: F1315-22

Fishbane S, Shapiro WB, Corry DB, Vicks SL, Roppolo M, Rappaport K, et al. Cinacalcet HCl and concurrent low-dose vitamin D improves treatment of secondary hyperparathyroidism in dialysis patients compared with vitamin D alone: the ACHIEVE study results. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3:1718-25.

Fliser D, Kollerits B, Neyer U. Fibroblast growth factor 23 (FGF-23) predicts progression of chronic kidney disease: the mild to moderate kidney disease (MMKD) study. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 2600-8.

Fliser D, Pacini G, Engelleiter R, et al. Insulin resistance and hyperinsulinemia are already present in patients with incipient renal disease. *Kidney Int* 1998; 53: 1342-1347

Flores EA, Bistrain BR, Pomposelli JJ, et al. Infusion of tumor necrosis factor/cachectin promotes muscle catabolism in the rat. A synergistic effect with interleukin 1. *J Clin Invest* 1989; 83:1614.

Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD, Kent GM, Murray DC, Barre PE: Hypoalbuminemia, cardiac morbidity, and mortality in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 7: 728-736, 1996.

Foley RN, Parfrey PS, Harnett JD. et al. Hypoalbuminemia, cardiac morbidity, and mortality in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 1996; 7: 728–736.

Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am J Kidney Dis*. 1998; 32:S112-S9.

Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 1998; 9:S16-S23.

Foley RN. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: S16-S23.

Foley, RN, Parfrey, PS, Harnett, JD y cols. Clinical and echocardiographic disease in patients starting end-stage renal disease therapy. *Kidney Int* 47: 186-192, 1995.

Foley, RN, Parfrey, PS, Harnett, JD y cols: Impact of Hypertension on cardiomyopathy, morbidity and mortality in endstage renal disease. *Kidney Int* 49: 1379-1385, 1996.

Folsom AR, Pankow JS, Tracy RP, Arnett DK, Peacock JM, Hong Y, DjousséL, Eckfeldt JH. Association of C-reactive protein with markers of prevalent atherosclerotic disease. *Am J Cardiol.* 2001; 88(2):112

Fortuno A, Beloqui O, San JG, Moreno MU, Zalba G, Diez J. Increased phagocytic nicotinamide adenine dinucleotide phosphate oxidase-dependent superoxide production in patients with early chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl.* 2005;99:S71-S5.

Freundlich M, Quiroz Y, Zhang Z, Zhang Y, Bravo Y, Weisinger JR, et al. Suppression of renin-angiotensin gene expression in the kidney by paricalcitol. *Kidney Int.* 2008; 74: 1394-1402.

Frick M, Weidinger F. Endothelial function: a surrogate endpoint in cardiovascular studies? *Curr Pharm Des.* 2007; 13: 1741-50.

Fried L, Solomon C, Shlipak M, et al. Inflammatory and prothrombotic markers and the progression of renal disease in elderly individuals. *J Am Soc Nephrol.* 2004; 15: 3184-91.

Fukumoto S, Shimizu Y. Fibroblast growth factor 23 as a phosphotropic hormone and beyond. *J Bone Miner Metab.* 2011; 29: 507-14.

Fuster V, Moreno PR, Fayad ZA, Corti R, Badimon J.J. Atherothrombosis and high-risk plaque: part I: evolving concepts. *J Am Coll Cardiol.* 2005; 46: 937-54.

Gaertner SA, Janssen U, Ostendorf T, Koch KM, Floege J, Gwinner W. Glomerular oxidative and antioxidative systems in experimental mesangioproliferative glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13(12):2930-7

Gaertner SA, Janssen U, Ostendorf T, Koch KM, Floege J, Gwinner W. Glomerular oxidative and antioxidative systems in experimental mesangioproliferative glomerulonephritis. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13(12):2930-7

Galcerán JM, Martínez A. Fenómenos oxidativos en la fisiopatología vascular. *Hipertensión* 2000; 17: 39-47

Galitzer H, Ben-Dov IZ, Silver J, Naveh-Many T. Parathyroid cell resistance to fibroblast growth factor 23 in secondary hyperparathyroidism of chronic kidney disease. *Kidney Int* 2010; 77:211-8.

Galli F, Ghibelli L, Buoncrismini U, Bordoni V, D'Intini V, Benedetti S, Canestrari F, Ronco C, Floridi A. Mononuclear leukocyte apoptosis in haemodialysis patients: the role of cell thiols and vitamin E. *Nephrol Dial Transplant.* 2003; 18: 1592-160

Gauldie J, Richards C, Harnish D, et al. Interferon beta 2/B-cell stimulatory factor type 2 shares identity with monocyte-derived hepatocyte-stimulating factor and regulates the major acute phase protein response in liver cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1987; 84:7251.

Giardini O, Taccone-Gallucci M, Lubrano R, Ricciardi-Tenore G et al. Evidence of red blood cell membrane lipid peroxidation in haemodialysis patients. *Nephron* 1984; 36:235-237

Gillespie BS, Inrig JK, Szczech LA. Anemia management in chronic kidney disease. *Hemodial Int.* 2007;11: 15-20.

Girndt M, Kohler H, Schiedhelm-Weick E, et al. Production of interleukin-6, tumor necrosis factor alpha and interleukin-10 in vitro correlates with the clinical immune defect in chronic hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1995; 47:559-565

Girndt M, Sester U, Kaul H, Köhler H. Production of proinflammatory and regulatory monokines in hemodialysis patients shown at a single cell level. *J Am Soc Nephrol* 1998, 9:1689-1696.

Glerup H, Mikkelsen K, Poulsen L, Hass E, Overbeck S, Andersen H, et al. Hypovitaminosis D myopathy without biochemical signs of osteomalacic bone involvement. *Calcif Tissue Int* 2000; 66:419-24

Godoy AS, Chung I, Montecinos VP, Buttyan R, Johnson CS, Smith GJ. Role of androgen and vitamin D receptors in endothelial cells from benign and malignant human prostate. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2013; 304:E1131-9

Goldstein JG, Ho YK, Basu SK, Brown MS. A binding site on macrophages that mediates uptake and degradation of acetylated low-density lipoproteins producing massive cholesterol deposition. *Proc Natl Acad Sci USA* 1979; 76: 333-337.

Grant WB. Ecological studies of the UVB-vitamin D-cancer hypothesis. *Anticancer Res* 2012; 32:223-36

Greaves, SC, Gamble, GD, Collins, JF y cols: Determinants of LVH and systolic dysfunction in chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 1994; 24: 768-776, 1994.

Greenberg, M.E.; Li, X-M.; Gugiu, B.G.; Gu, X.; Qin, J.; Salomon R.G., Hazen S.L. The lipid Whisker model of the structure of oxidized cell membranes. *Journal of Biological Chemistry.* 2008. 283(4): 2385-2396.

Guerin AP, London GM, Marchais SJ, Metivier F: Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 15: 1014-1021, 2000.

Gupta M, Dobashi K, Greene EL, Orak JK. Studies on hepatic injury and antioxidant enzyme activities in rat subcellular organelles following in vivo ischemia and reperfusion. *Mol Cell Biochem.* 1997; 176 337-347

Gutiérrez OM, Januzzi JL, Isakova T, Laliberte K, Smith K, et al. Fibroblast growth factor-23 and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease. *Circulation* 2009; 119:2545-52.

Gutiérrez OM, Mannstadt M, Isakova T, Andress DL, Levin A, Wolf M, et al. Fibroblast growth factor-23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 2008;359: 584-92.

Hallan S, Astor B, Romundstad S, Aasarod K, Kvenild K, Coresh J. Association of kidney function and albuminuria with cardiovascular mortality in older vs younger individuals: The HUNT II Study. *Arch Intern Med.* 2007;167:2490-6.

Halliwel B. Antioxidants in human health and disease. *Annu Rev Nutr.* 1996;16:33-50. Review.

Halliwel B. Reactive species and antioxidants. Redox biology is a fundamental theme of aerobic life. *Plant Physiology.* 2006; 1(2): 312-322

Handa SP. Cardiovascular manifestations of autosomal dominant polycystic kidney disease in young adults. *Clin Invest Med.* 2006;29: 339-46.

Harris, E.D. Regulation of antioxidant enzymes. *Journal of Nutrition.* 1992. 122(3S): 625-626.

Hazen SL. Forum: Role of oxidation in atherosclerosis. *Oxidation and Atherosclerosis.* *Free Radic Biol Med* 2000; 28: 1683-1684

Heaney RP. Health is better at serum 25(OH) D above 30 ng/ml. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2013; 136: 224-8.

Henley C, Colloton M, Cattley RC, Shatzen E, Towler DA, Lacey D, et al. 1,25-dihydroxyvitamin D3 but not Cinacalcet HCl (Sensipar/Mimpara) treatment mediates aortic calcification in a rat model of secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant*. 2005; 20: 1370-1377

Herzog CA, Ma JZ, Collins AJ. Poor long-term survival after acute myocardial infarction among patients on long-term dialysis. *N Engl J Med*. 1998; 339:799-805.

Herzog CA, Mangrum JM, Passman R. Sudden cardiac death and dialysis patients. *Semin Dial*. 2008; 21:300-7.

Hill JM, Zalos G, Halcox JP, et al. Circulating endothelial progenitor cells, vascular function, and cardiovascular risk. *N Engl J Med*. 2003; 348: 593-600.

Himmelfarb J, Stenvinkel P, Ikizler TA, Hakim RM. The elephant in uremia: oxidant stress as a unifying concept of cardiovascular disease in uremia. *Kidney Int*. 2002; 62: 1524-38.

Himmelfarb J, Hakim RM. Oxidative stress in uremia. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2003; 12:593-598

Holick MF, Chen TC, Lu Z, Sauter E. Vitamin D and skin physiology: a D-lightful story. *J. Bone Miner Res* 2007; 22: V28-33

Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357:266-81.

Holick MF. Vitamin D: A millennium perspective. *J Cell Biochem* 2003, 88: 296-307

Hruska KA, Mathew S, Lund R, Qiu P, Pratt R. Hyperphosphatemia of chronic disease. *Kidney Int* 2008; 74: 148-57

Hsu CH, Patel SR. Uremic toxins and vitamin D metabolism. *Kidney Int* 1997;62:s65-8.

Huggins, T.G.; Wells-Knecht, M.C.; Detorie, N.A.; Baynes, J.W.; Thorpe, S.R. Formation of o-tyrosine and dityrosine in proteins during radiolytic and metal-catalyzed oxidation. *Journal of Biological Chemistry*. 1993. 268(17): 12341-12347.

Husain K, Ferder L, Mizobuchi M, Finch J, Slatopolsky E. Combination therapy with paricalcitol and enalapril ameliorates cardiac oxidative injury in uremic rats. *Am J Nephrol*. 2009; 29: 465-472.

Huysmans K, Lins RL, Daelemans R, Zachée P, De Broe ME: Hypertension and accelerated atherosclerosis in end-stage renal disease. *J Nephrol* 11: 185-195, 1998.

Hyre AD, Fox CS, Astor BC, Cohen AJ, Muntner P. The impact of reclassifying moderate CKD as a coronary heart disease risk equivalent on the number of US adults recommended lipid-lowering treatment. *Am J Kidney Dis*. 2007;49:37-45.

Itoh H, Mori I, Matsumoto Y, Maki S, Ogawa Y. Vitamina D deficiency and seasonal and iner-day variation in circulating 25-hydroxivitamin D and parathyroid hormone levels in indoor daytime workers: a longitudinal study. *Int Health*. 2011; 49: 475-81.

Ivanovski O, Nikolov IG, Joki N, Caudrillier A, Phan O, Mentaverri R, et al. The calcimimetic R-568 retards uremia-enhanced vascular calcification and atherosclerosis in apolipoprotein E deficient (apoE^{-/-}) mice. *Atherosclerosis* 2009;205:55- 62.

Ix JH, De Boer IH, Peralta CA, Adeney KL, Duprez DA, Jenny NS, et al. Serum phosphorous concentrations and arterial stiffness among individuals with normal kidney function to moderate kidney disease in MESA. *Clin. J Am Soc Nephrol* 2009;4(3):609-15

Izquierdo MJ, Cavia M, Muñiz P, De Francisco AL, Arias M, Santos J, Abaigar P. Paricalcitol reduces oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients. *BMC Nephrology* 2012, 13:159

Jabs WJ, Lögering BA, Gerke P, et al. The kidney as a second site of human creatinine protein formation in vivo. *Eur J Immunol.* 2003; 33:152-61.

Jamison RL, Hartigan P, Kaufman JS, et al. Effect of homocysteine lowering on mortality and vascular disease in advanced chronic kidney disease and end-stage renal disease: a randomized controlled trial. *JAMA.* 2007; 298:1163-70.

Joki N, Hase M, Fukazawa M, Nakamura R, Ishikawa H, Tanaka Y, Inishi Y, Saijyo T, Nakamura M, Yamaguchi T: Progression of coronary atherosclerosis is accelerated in hemodialyzed patients than chronic renal insufficiency patients. *Nephrol Dial Transplant* 14: 171A, 1999.

Jones DP. Radical-free biology of oxidative stress. *American Journal of Physiology. Cell Physiology.* 2008; 295(4): 849-868.

Jono S, McKee MD, Murry CE, Shioi A, Nishizawa Y, Mori K, et al. Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification. *Circ Res* 2000; 87(7):E10-7

Judd SE, Tangpricha V et al. Vitamin D deficiency and risk for cardiovascular disease. *Am J Med Sci* 2009; 338:40-44.

Jungers P, Khoa TN, Massy ZA, Zingraff J, Labrunie M, Descamps- Latscha B, Man NK: Incidence of atherosclerotic arterial occlusive accidents in predialysis and dialysis patients. A multicentric study in the Ile de France district. *Nephrol Dial Transplant* 14: 898-902, 1999.

Kaizu Y, Kimura M, Yoneyama T, et al. Interleukin-6 may mediate malnutrition in chronic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998; 31:93.

Kalantar-Zadeh K, Block G, Humphreys MH, Kopple JD. Reverse epidemiology of cardiovascular risk factors in maintenance dialysis patients. *Kidney Int.* 2003;63:793-808.

Kalantar-Zadeh K, Ikizler TA, Block G, et al. Malnutrition-inflammation complex syndrome in dialysis patients: causes and consequences. *Am J Kidney Dis* 2003; 42:864.

Kalantar-Zadeh K, Kilpatrick RD, Kuwae N. et al. Revisiting mortality predictability of serum albumin in the dialysis population: time dependency, longitudinal changes and population-attributable fraction. *Nephrol Dial Transplant.* 2005; 20: 1880–1888.

Kalantar-Zadeh K, Kopple JD. Relative contributions of nutrition and inflammation to clinical outcome in dialysis patients. *Am J Kidney Dis.* 2001;38(6):1343.

Kalantar-Zadeh K, Kuwae N, Regidor DL, Kovesdy CP, Kilpatrick RD, Shinaberger CS, et al. Survival predictability of time-varying indicators of bone disease in maintenance hemodialysis patients. *Kidney Int* 2006;70: 771-80.

Karamouzis I, Sarafidis PA, Karamouzis M, et al. Increase in oxidative stress but not in antioxidant capacity with advancing stages of chronic kidney disease. *Am J Nephrol.* 2008; 28:397-404.

Katsiki, N.; Manes, C.H. Is there a role for supplemented antioxidants in the prevention of atherosclerosis?. *Clinical Nutrition.* 2009. 28(1): 3-9.

Kawagishi T, Nishizawa Y, Konishi T, Kawasaki K, Emoto M, Shoji T, Tabata T, Inoue T, Morii H: High-resolution B-mode ultrasonography in evaluation of atherosclerosis in uremia. *Kidney Int* 820-826, 1995.

Kaysen GA, Dubin JA, Müller HG, et al. Inflammation and reduced albumin synthesis associated with stable decline in serum albumin in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2004; 65:1408.

Kaysen GA, Dubin JA, Müller HG, et al. The acute-phase response varies with time and predicts serum albumin levels in hemodialysis patients. The HEMO Study Group. *Kidney Int* 2000; 58:346.

Kaysen GA, Dubin JA, Müller HG, Mitch WE, Rosales LM, Levin NW. Relationships among inflammation nutrition and physiologic mechanisms establishing albumin levels in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2002;61(6):2240

Kaysen GA, Dubin JA, Muller HG, Rosales L Levin NW, Mitch WE, HEMO study group. Inflammation and reduced albumin synthesis associated with stable decline in serum albumin in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2004; 65:1408–1415.

Kell D.B. Iron behaving badly: inappropriate iron chelation as a major contributor to the aetiology of vascular and other progressive inflammatory and degenerative diseases. *BMC Medical Genomics* 2009, 2:2.

Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnken AH, Böhm R, et al. Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Lancet* 2003;361:827- 33.

Ketteler M, Martin KJ, Wolf M, Amdahl M, Cozzolino M, Goldsmith D, et al. Paricalcitol versus cinacalcet plus low-dose vitamin D therapy for the treatment of secondary hyperparathyroidism in patients receiving haemodialysis: results of the IMPACT SHPT study. *Nephrol Dial Transplant* 2012; 27:3270-8

Ketteler M, Petermann AT. Phosphate and FGF23 in early CKD: on how to tackle an invisible foe. *Nephrol Dial Transplant* (2011) 26: 2430–2432

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) Blood Pressure Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the management of blood pressure in chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2012; 2:337-414.

Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD Work Group. KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl* 2013;3:1-150.

Kielstein JT, Boger RH, Bode-Boger SM, Schaffer J, Barbey M, Koch KM, Frolich JC: Asymmetric dimethylarginine plasma concentrations differ in patients with end-stage renal disease: relationship to treatment method and atherosclerotic disease. *J Am Soc Nephrol* 10: 594-600, 1999.

Kimmel PL, Phillips TM, Simmens SJ, Peterson RA, Weihs KL, Alleyne S, Cruz I, Yanovski JA, Veis JH. Immunologic function and survival in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 1998;54(1):236

Kisilevsky R, Manley PN. Acute-phase serum amyloid A: perspectives on its physiological and pathological roles. *Amyloid* 2012; 19:5.

Kojo, S. Vityamin C: basic metabolism and its function as an index of oxidative stress. *Current Medicinal Chemistry.* 2004. 11(8): 1041-1064.

Kooienga L, Fried L, Scragg R, Kendrick J, Smits G, Chonchol M. The effect of combined calcium and vitamin D3 supplementation on serum intact parathyroid hormone in moderate CKD. *Am J Kidney Dis* 2009;53:408-16

Kooman JP, Leunissen KML: Cardiovascular aspects in renal disease. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2: 791-797, 1993.

Koury MJ, Ponka P. New insights into erythropoiesis: the roles of folate, vitamin B12, and iron. *Annu Rev Nutr.* 2004;24:105-31.

Kovesdy CP, Anderson JE. Reverse epidemiology in patients with chronic kidneydisease who are not yet on dialysis. *Semin Dial.* 2007;20: 566-9.

Krishnan AV, Feldman D. Mechanism of the anti-cancer and anti-inflammatory actions of vitamin D. *Annu Rev Pharmacol Toxicol* 2011;51:311-36.

Krishnan AV, Trump DL, Johnson CS, Feldman D. The role of vitamin D in cancer prevention and treatment. *Endocrinol Metab Clin North Am* 2010;39:401-18

Kuemmerle NB, Krieg RJ Jr, Chan W, Trachtman H, Norkus EP, Chan JC. Influence of alpha-tocopherol over the time course of experimental IgA nephropathy. *Pediatr Nephrol.*1999; 13(2): 108-12

Kushner I. The phenomenon of the acute phase response. *Ann N Y Acad Sci.* 1982; 389:39

Labriola L, Wallemacq P, Gulbis B, Jadoul M. The impact of the assay for measuring albumin on corrected ('adjusted') calcium concentrations. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24:1834-8

LaClair RE, Hellman RN, Karp SL, Kraus M, Ofner S, Li Q, et al. Prevalence of calcidiol deficiency in CKD: a cross-sectional study across latitudes in the United States. *Am J Kidney Dis* 2005; 45:1026-33

Larsson TE. The role of FGF-23 in CKD-MBD and cardiovascular disease: friend of foe? *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25:1376-81.

Leon JB, Majerle AD, Soinski JA, et al. Can a nutrition intervention improve albumin levels among hemodialysis patients? A pilot study. *J Ren Nutr* 2001; 11:9.

Levey AS, Beto JA, Coronado BE, et al. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: what do we know? What do we need to learn? Where do we go from here? National Kidney Foundation Task Force on Cardiovascular Disease. *Am J Kidney Dis.* 1998;32:853-906.

Levey AS, Coresh J, Balk E, Kausz AT, Levin A, Steffes MW, Hogg RJ, Perrone RD, Lau J, Eknoyan G. National Kidney Foundation practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification and stratification. *Ann Intern Med.* 2003 Jul 15;139(2):137-47. Erratum in: *Ann Intern Med.* 2003 Oct 7;139 (7):605.

Levey AS, Eckardt K-U, Tsukamoto Y, Levin A, Coresh J, Rossert J, De Zeeuw D, Hostetter TH, Lameire N, Eknoyan G. Definition and classification of chronic kidney disease: a position statement from Kidney Disease: improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 67: 2089-2100, 2005.

Levin A, Li YC: Vitamin D and analogues: do they protect against cardiovascular disease in patients with kidney disease? *Kidney Int* 2005; 68: 1973-1981.

Levine, R.L.; Garland, D.; Oliver, C.N.; Amici, A.; Climent, I.; Lenz, A.G.; Ahn, B.W.; Shaltiel, S.; Stadtman, E.R. Determination of carbonyl content in oxidatively modified proteins. *Methods in Enzymology.* 1990. 186: 464-478.

Li N, Karin M. Is NF-kappaB the sensor of oxidative stress? *FASEB J.* 1999; 13: 1137-43.

Lim PS, Wei YH, Yu YL, Kho B. Enhanced oxidative stress in haemodialysis patients receiving intravenous iron therapy. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14:2680-2687

Lindberg JS, Culletin B, Wong G, Borah MF, Clark RV, Shapiro WB, et al. Cinacalcet HCl, an oral calcimimetic agent for the secondary hyperparathyroidism in hemodialysis and peritoneal dialysis: a randomized, double blind, multicenter study. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:800-7

Liu PT, Stenger S, Li H, Wenzel L, Tan BH, Krutzik SR, et al. Toll-like receptor triggering of a vitamin D-mediated human antimicrobial response. *Science* 2006; 311:1770-3.

Llach F, Bover J. Renal Osteodystrophies. En: Brenner BM (ed.). *The Kidney* (6th ed.). Philadelphia: W.B. Saunders Company, 2000; 2103-186.

Llach F, Yudd M. Paricalcitol in dialysis patients with calcitriol-resistant secondary hyperparathyroidism. *Am J Kidney Dis* 2001; 38(5 Suppl 5):S45-50

London G: Heterogeneity of left ventricular hypertrophy. Does it have clinical implications? *Nephrol Dial Transplant* 13: 17-19, 1998.

London GM, Guerin AP, Marchais SJ, Pannier B, Safar ME, Day M, Metivier F: Cardiac and arterial interactions in endstage renal disease. *Kidney Int* 50: 600-608, 1996.

Lopez I, Aguilera-Tejero E, Mendoza FJ, Almaden Y, Perez J, Martin D, et al. Calcimimetic R-568 decreases extraosseous calcifications in uremic rats treated with calcitriol. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: 795-804.

Lopez I, Mendoza FJ, Guerrero F, Almaden Y, Henley C, Aguilera-Tejero E, et al. The calcimimetic AMG 641 accelerates regression of extraosseous calcification in uremic rats. *Am J Physiol Renal Physiol* 2009; 296:F1376-85.

López I, Rodríguez-Ortiz ME, Almadén Y, Guerrero F, De Oca AM, Pineda C, et al. Direct and indirect effects of parathyroid hormone on circulating levels of fibroblast growth factor 23 in vivo. *Kidney Int.* 2011; 80: 475-82

López-Gómez JM, Verde E, Pérez-García R, Rodríguez M, Jofre R, Junco E, Incháustegui L, Valderrábano F, García Fernández MA: Parathyroidectomy can improve left ventricular function and hypertrophy in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 8: A1125, 1997

Lund RJ, Andress DL, Amdahl M, Williams LA, Heaney RP. Differential effects of paricalcitol and calcitriol on intestinal calcium absorption in hemodialysis patients. *Am J Nephrol*. 2010; 31: 165-170.

Ma JZ, Beben J, Xia H, Collins A: Hematocrito level and associated mortality in hemodiálisis patients. *J Am Soc Nephrol* 10: 610-619, 1999.

Mall, G, Rambansek, M, Neumeister, A y cols.: Myocardial interstitial fibrosis in experimental uremia-Implications for cardiac compliance. *Kidney Int* 33: 804-811, 1988.

Manuel Gorostidi, Rafael Santamaría, Roberto Alcázar, Gema Fernández-Fresnedo, Josep M. Galcerán, Marián Goicoechea, Anna Oliveras, José Portolés, Esther Rubio, Julián Segura, Pedro Aranda, Ángel L.M. de Francisco, M. Dolores del Pino, Francisco Fernández-Vega, José L. Górriz, José Luño, Rafael Marín, Isabel Martínez, Alberto Martínez-Castelao, Luis M. Orte, Carlos Quereda, José C. Rodríguez-Pérez, Mariano Rodríguez², Luis M. Ruilope. Documento de la Sociedad Española de Nefrología sobre las guías KDIGO para la evaluación y el tratamiento de la enfermedad renal crónica. *Nefrología* 2014; 34(3):302-16

María Dolores Prados-Garrido a, Jordi Bover a, María Teresa González-Álvarez a, José G. Hervás a, Julen Ocharan-Corcuera a, Andreu Foraster a, Antonio Llopis a, Elvira Fernández a, Adriana Dusso a, Jorge B. Cannata-Andía a. a Grupo de expertos de la Sociedad Española de Diálisis y Trasplante (SEDYT), Sociedad Española de Diálisis y Trasplante, Vitoria-Gasteiz, España. 2010 - Guía de práctica clínica de la Sociedad Española de Diálisis y Trasplante de las alteraciones del metabolismo mineral y óseo de la enfermedad renal crónica CKD-MBD. *Dial Traspl*. 2011; 32(3): 108-118.

Martínez Fernández I., Saracho Rotaache R. El fósforo, ¿héroe o villano?. *NefroPlus* 2009; 2(2):1-8.

Martínez I, Saracho R, Cornago I, García P, Gallardo I, Hernando A, et al. ¿Paricalcitol produce menos sobrecarga de calcio que calcitriol en ERC? XLII Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología; 2012 Oct 6-9; Gran Canaria, España.

Marx JL. Oxygen free radicals linked to many diseases. *Science*. 1987; 235:529-531

Mathew S, Lund RJ et al. Vitamin D receptor activators can protect against vascular calcification. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19 :1509-1519.

Mazzuchi N, Carbonell E, Fernández-Cean J: Importance of blood pressure control in hemodiálisis patient survival. *Kidney Int* 58: 2147-2154, 2000.

Michael B, Fishbane S, Coyne DW, Agarwal R, Warnock DG. Drug insight: Safety of intravenous iron supplementation with sodium ferric gluconate complex. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2006; 2(2):92-100

Miller D.M, Buettner G.R. Aust S.D. Transition-metals as catalysts of autoxidation reactions. *Free Radical Biology and Medicine* 1990. 8(1): 95-108

Mirza MA, Hansen T, Johansson L. Relationship between circulating FGF23 and total body atherosclerosis in the community. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 3125-31.

Mirza MA, Larsson A, Lind L, Larsson TE. Circulating fibroblast growth factor-23 is associated with vascular dysfunction in the community. *Atherosclerosis* 2009; 205:385-90.

Mittman N, Desiraju B, Meyer KB, Chattopadhyay J, Avram MM. Treatment of secondary hyperparathyroidism in ESRD: a 2-year, single-center crossover study. *Kidney Int Suppl* 2010; (117):S33-6.

Miyata T, Ueda Y, Horie K, et al. Renal catabolism of advanced glycation end products: the fate of pentosidine. *Kidney Int* 1998; 53:416.

Mizobuchi M, Finch JL, Martin DR, et al. Differential effects of vitamin D receptor activators on vascular calcification in uremic rats. *Kidney Int.* 2007; 72(6): 709-715.

Moe SM, drueke T. Improving global outcomes in mineral and bone disorders. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; Suppl 3:S127-30

Mourad JJ, Girerd X, Boutouyrie P, Laurent S, Safar ME, London GM: Increased stiffness of radial artery wall material in end-stage renal disease. *Hipertension* 1425-1430, 1997

Mullan RH, Bresnihan B, Golden-Mason L, et al. Acute-phase serum amyloid A stimulation of angiogenesis, leukocyte recruitment, and matrix degradation in rheumatoid arthritis through an NF-kappaB-dependent signal transduction pathway. *Arthritis Rheum* 2006; 54:105.

Muller K, Diamant M, Bendtzen K. Inhibition of production and function of interleukin-6 by 1,25-dihydroxyvitamin D3. *Immunol Lett* 1991; 28 :115-20

Muntner P, He J, Astor BC, Folsom AR, Coresh J. Traditional and nontraditional risk factors predict coronary heart disease in chronic kidney disease: results from the atherosclerosis risk in communities study. *J Am Soc Nephrol.* 2005; 16: 529-38.

Muñiz P.; Sáez, G.; Valls, V. Función y mecanismos antioxidantes. Importancia durante la transición feto-neonato. En: *Radicales libres y estrés oxidativo en biomedicina*. Ed. Fundación Valenciana de Estudios Avanzados, pp: 63-70. 2000.

Mutlu- Turkoglu, U.; Ilhan, E.; Oztezcan, S.; Kuru, A.; Aykac-Toker, G.; Uysal, M. Age-related increases in plasma malondialdehyde and protein carbonyl levels and lymphocyte DNA damage in elderly subjects. *Clinical Biochemistry*. 2003. 36(5): 397-400.

Nakamura, H.; Nakamura, K.; Yodoi, J. Redox regulation of cellular activation. *Annual review of Immunology*. 1997. 15: 351-369.

Nakane M, Ma J, Rose AE, Osinki MA, Wu-Wong JR. Differential effects of vitamin D analogs on calcium transport. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2007; 103:84-9

Nanayakkara P, Gaillard CAJM. Vascular disease and chronic renal failure: new insights. *Neth J Med*. 2010; 68:5-14.

Nanayakkara PW, van Guldener C, ter Wee PM, et al. Effect of a treatment strategy consisting of pravastatin, vitamin E, and homocysteine lowering on carotid intima-media thickness, endothelial function, and renal function in patients with mild to moderate chronic kidney disease: results from the Anti-Oxidant Therapy in Chronic Renal Insufficiency ATIC. Study. *Arch Intern Med*. 2007; 167:1262-70.

Navarro-Gonzalez JF, Mendez ML, Mora C, Muros M, Gallego E, Jarque A et al. Efectos antiinflamatorios del paricalcitol en pacientes en hemodiálisis. *World Congress of Nephrology*. 79-P. 2011

Navarro-González JF, Mora-Fernández, Muros M, Herrera H, García J. Mineral metabolism and inflammation in chronic kidney disease patients: a cross-sectional study. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4(10):1646-54.

Nehal Rachit Shah and Francis Dumler. Hypoalbuminaemia. A Marker of Cardiovascular Disease in Patients with Chronic Kidney Disease Stages II – IV. *Int J Med Sci* 2008; 5:366-370.

Nishimura H, Sanaka T, Nihei H, Nishikawa M, Aikawa E. Mechanism of elevated local oxidant stress in early anti-glomerular basement membrane nephritis: an evaluation of oxidant production and superoxide dismutase expression. *Nippon Jinzo Gakkai Shi.*1996; 38 (10): 441-8

Noonan W, Koch K, Nakane M, Ma J, Dixon D, Bolin A, et al. Differential effects of vitamin D receptor activators on aortic calcification and pulse wave velocity in uraemic rats. *Nephrol Dial Transplant.* 2008; 23: 3824-3830.

Norberg, J.; Arnér, E.S. Reactive oxygen species, antioxidants, and the mammalian thioredoxin system. *Free Radical Biology and Medicine.* 2001; 31(11): 1287-1312.

Ouchi N, Kihara S, Funahashi T, et al. Reciprocal association of C-reactive protein with adiponectin in blood stream and adipose tissue. *Circulation* 2003; 107: 671-677

Owen WFJr, Lew NL, Liu Y, Lowrie EG, Lazarus JM. The reduction ratio and serum albumin concentration as predictors of mortality in patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med.* 1993;329:1001–1006

Palmer HJ, Paulson KE Reactive oxygen species and antioxidants in signal transduction and gene expression. *Nutr Rev.* 1997; 55:353-361

Palmer MT, Lee YK, Maynard CL, Oliver JR, Bikle DD, Jetten AM, et al. Lineage-specific effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 on the development of effector CD4 T cells. *J Biol Chem* 2011; 286: 997-1004

Paniagua R, Amato D, Vonesh E, et al. Effects of increased peritoneal clearances on mortality rates in peritoneal dialysis: ADEMEX, a prospective, randomized, controlled trial. *J Am Soc Nephrol.* 2002; 13: 1307-20.

Panichi V, Maggiore U, Taccola D, Migliori M, Rizza GM, Consani C, Bertini A, Sposini S, Perez-Garcia R, Rindi P, Palla R, Tetta C. Interleukin-6 is a stronger predictor of total and cardiovascular mortality than C-reactive protein in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2004; 19 (5):1154.

Panichi V, Migliori M, De Pietro S, et al. C reactive protein in patients with chronic renal diseases. *Ren Fail* 2001; 23:551.

Pannier B, Guerin P, Marchais SJ, Metivier F, Safar ME, London GM: Postischemic vasodilation, endothelial activation and cardiovascular remodeling in end-stage renal disease. *Kidney Int* 57: 1091-1099, 2000.

Park CW, Oh YS, Shin YS y cols. Intravenous calcitriol regresses myocardial hypertrophy in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Am J Kidney Dis* 33: 73-81, 1999.

Pasceri V, Cheng JS, Willerson JT, Yeh ET. Modulation of C-reactive protein-mediated monocyte chemoattractant protein-1 induction in human endothelial cells by anti-atherosclerosis drugs. *Circulation*. 2001; 103(21):2531

Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*. 2000; 102(18):2165

Pecoits-Filho R, Bárány P, Lindholm B, Heimbürger O, Stenvinkel P. Interleukin-6 is an independent predictor of mortality in patients starting dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant*.2002;17(9):1684.

Perwad F, Zhang MY, Tenenhouse HS, Portale AA. Fibroblast growth factor 23 impairs phosphorus and vitamin D metabolism in vivo and suppresses 25-hydroxyvitamin D-1alpha-hydroxylase expression in vitro. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007;293:F1577-583.

Pilz S, Tomaschitz A, Marz W, Drechsler C, Ritz E, Zittermann A, et al. Vitamin D, cardiovascular disease and mortality. *Clin Endocrinol* 2011;75: 575-84

Piñera C, Izquierdo MJ, De Francisco AL, García MT, López M, Toyos C, Allende N, Quintela E, Arias M. Tratamiento doble con calcifediol asociado a paricalcitol y biomarcadores de riesgo cardiovascular en hemodiálisis. *Nefrología* 2013; 33(1):77-84

Poole S, Bird TA, Selkirk S, et al. Fate of injected interleukin 1 in rats: sequestration and degradation in the kidney. *Cytokine* 1990; 2:416.

Portale AA, Halloran BP, Morris Jr RC. Dietary intake of phosphorus modulates the circadian rhythm in serum concentration of phosphorus. Implications for the renal production of 1,25-dihydroxyvitamin D. *J Clin Invest* 1987;80:1147-54

Portolés J, Torralbo A, Martín P, Rodrigo J, Herrero JA, Barrientos A: Cardiovascular effects of recombinant human erythropoietin in predialysis patients. *Am J Kidney Dis* 29: 541-548, 1997.

Priemel M, von Domarus C, Klatter TO, Kessler S, Schlie J, Meier S, et al. Bone mineralization defects and vitamin D deficiency: histomorphometric analysis of iliac crest bone biopsies and circulating 25-hydroxyvitamin D in 675 patients. *J Bone Miner Res* 2010; 25: 205-12.

Pryor WA. Free radical and lipid peroxidation. En: frei B editor. *Natural antioxidant in human health and disease*. Nueva York: Academic Press, 1994; 1-24

Pupim LB, Caglar K, Hakim RM, et al. Uremic malnutrition is a predictor of death independent of inflammatory status. *Kidney Int* 2004; 66:2054.

Putten K van der, Braam B, Jie KE, Gaillard CA. Mechanisms of Disease: erythropoietin resistance in patients with both heart and kidney failure. *Nat Clin Pract Nephrol*. 2008; 4:47-57.

Qureshi AR, Alvestrand A, Divino-Filho JC, Gutierrez A, Heimbürger O, Lindholm B, Bergström J, Rambod M, Kovesdy CP, Kalantar-Zadeh K. Combined high serum ferritin and low iron saturation in hemodialysis patients: the role of inflammation. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008; 3(6):1691.

Raggi P, Chertow GM, Torres PU, Csiky B, Naso A, Nossuli K, et al. The ADVANCE study: a randomized study to evaluate the effects of cinacalcet plus low-dose vitamin D on vascular calcification in patients on hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:1327-39.

Ravani P, Tripepi G, Malberti F, Testa S, Mallamaci F, Zoccali C. Asymmetrical dimethylarginine predicts progression to dialysis and death in patients with chronic kidney disease: a competing risks modeling approach. *J Am Soc Nephrol*. 2005; 16:2449-55.

Roche E, Romero-Alvira D. Introducción a la bioquímica y citotoxicidad del desequilibrio oxidativo. III) Sistemas de defensa y reparación. En: Romero-Alvira D, Roche E. *Cardiología, estrés oxidativo, nutrición y biología molecular. Bases y aplicaciones sobre el estrés oxidativo, aspectos nutricionales y de la biología molecular en cardiología*. ENE Ediciones 1997: 105-123

Rodriguez M, Canalejo A, Garfia B, Aguilera E, Almadén Y. Pathogenesis of refractory secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int*. 2002; 61: S155-60

Rodriguez ME, et al. The calcimimetic R-568 increases vitamin D receptor expression in rat parathyroid glands. *Am J Renal Physiol* 2007; 292:390-5.

Saito H, Kusano K, Kinosaki M. Human fibroblast growth factor-23 mutants suppress Na dependent phosphate co-transport activity and 1 alfa, 25-dihidroxyvitamin D3 production. *J Biol Chem* 2003; 278:2206-11.

Saji F, Shiizaki K, Shimada S, Okada T, Kunimoto K, Sakaguchi T, et al. Regulation of fibroblast growth factor-23 production in bone in uremic rats. *Nephron Physiol* 2009; 111:59-66.

Sato Y, Takatsu Y, Kataoka K, et al. Serial circulating concentrations of C-reactive protein, interleukin (IL)-4, and IL-6 in patients with acute left heart decompensation. *Clin Cardiol* 1999; 22:811.

Schreck R, Rieber P, Baeuerle PA. Reactive oxygen intermediates as apparently widely used messengers in the activation of the NF-kappa B transcription factor and HIV-1. *EMBO J*.1991; 10:2247-58.

Schwedler SB, Amann K, Wernicke K, Krebs A, Nauck M, Wanner C, Potempa LA, Galle J. Native C-reactive protein increases whereas modified C-reactive protein reduces atherosclerosis in apolipoprotein E-knockout mice. *Circulation*. 2005; 112(7):1016

Scialla JJ, Xie H, Rahman M, Anderson AH, Isakova T, Ojo A, Zhang X, Nessel L, Hamano T, Grunwald JE, Raj DS, Yang W, He J, Lash JP, Go AS, Kusek JW, Feldman H, Wolf M. Fibroblast Growth Factor-23 and Cardiovascular Events in CKD. *J Am Soc Nephrol*.2013 Oct 24.

Scirica BM, Morrow DA. Is C-reactive protein an innocent bystander or proatherogenic culprit? The verdict is still out. *Circulation*. 2006; 113(17):2128

Sela S, Shurtz-Swirski R, Cohen-Mazor M, et al. Primed peripheral polymorphonuclear leukocyte: a culprit underlying chronic low-grade inflammation and systemic oxidative stress in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*.2005; 16:2431-8.

Shlipak MG, Fried LF, Cushman M, et al. Cardiovascular mortality risk in chronic kidney disease: comparison of traditional and novel risk factors. *JAMA*.2005; 293:1737-45.

Shusterman N, Kimmel PL, Kiechle FL, et al. Factors influencing erythrocyte sedimentation in patients with chronic renal failure. *Arch Intern Med* 1985; 145:1796.

Sies H. Strategies of antioxidant defense. Eur J Biochem. 1993; 15-215(2): 213-9

Sies, H. Strategies of antioxidant defense. European Journal of Biochemistry. 1993. 215: 213-219.

Silberberg, J, Racine, N, Barre, P, Sniderman, A: Regression of left ventricular hypertrophy in dialysis patients following correction of anemia with recombinant human erythropoietin. Can J Cardiol 6: 1-4, 1990.

Singh AK, Szczech L, Tang KL, et al. Correction of anemia with epoetin alfa in chronic kidney disease. N Engl J Med. 2006; 355:2085-98.

Slatopolsky E, Brown A, Dusso A. Calcium, phosphorus and vitamin D disorders in uremia. Contrib Nephrol 2005; 149: 261-271.

Slatopolsky E, Brown A, Dusso A. Pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. Kidney Int Suppl. 1999 Dec; 73:S14-9. Review

Slatopolsky E, Cozzolino M, Lu Y, Finch J, Dusso A, Staniforth M, et al. Efficacy of 19-nor-1,25-dihydroxyvitamin D(2) in the prevention and treatment of hyperparathyroid bone disease in experimental uremia. Kidney Int 2003;63: 2020-7

Smogorzewski, M, Massry, SG: Uremic cardiomyopathy: Role of parathyroid hormone. Kidney Int 52 (Supl. 62): s12-s14, 1997.

Snaedal S, Heimbürger O, Qureshi A et al. Comorbidity and acute clinical events as determinants of C-reactive protein variation in hemodialysis patients: implications for patient survival. Am J Kidney Dis 2009; 53:1024-1033

Sonmez, M.F.; Narin, F.; Akkus, D.; Ozdamar, S. Effect of melatonin and vitamin C on expression of endothelial NOS in heart of chronic alcoholic rats. Toxicology and Industrial Health. 2009. 25(6): 385-393.

Spittle MA, Hoenich NA, Handelman GJ, et al. Oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2001; 38:1408.

Sprague SM, Llach F, Amdahl M, Taccetta C, Battle D. Paricalcitol versus calcitriol in the treatment of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int* 2003; 63:1483-90

Stadtman, E.R. Role of oxidant species in aging. *Current Medicinal Chemistry*. 2004. 11(9): 1105-1112.

Stadtman ER, Olivero CN. Metal-catalyzed oxidation of protein. *Physiological Consequences*. *J Biol Chem* 1991; 266: 2005-2008

Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol. Modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med*. 1989; 320:915-24.

Steinberg, D. The LDL modification hypothesis of atherogenesis: an update. *Journal of Lipid Research*. 2009. 50: S376-S381.

Stenvinkel P, Barany P, Heimbürger O, Pecoits-Filho R, Lindholm B. Mortality, malnutrition, and atherosclerosis in ESRD: what is the role of interleukin-6? *Kidney Int Suppl*. 2002

Stenvinkel P, Carrero JJ, Axelsson J, Lindholm B, Heimbürger O, Massy Z. Emerging biomarkers for evaluating cardiovascular risk in the chronic kidney disease patient: how do new pieces fit into the uremic puzzle? *Clin J Am Soc Nephrol*. 2008; 3:505-21.

Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre F, et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999, 55: 1899-1911

Stenvinkel P, Heimbürger O, Wang T, et al. High serum hyaluronan indicates poor survival in renal replacement therapy. *Am J Kidney Dis* 1999; 34:1083.

Stenvinkel P, Ketteler M, Johnson R, Lindholm B, Pecoits-Filho T, Riella M. Heimbürger , Cederholm T and Girndt M. IL-10, IL-6 and TNF- α : central factors in the altered cytokine network of uremia- The good, the bad and the ugly. *Kidney Int* 2005, 67:1216-1233.

Stenvinkel P. New insights on inflammation in chronic kidney disease-genetic and nongenetic factors. *Nephrol Ther.* 2006; 2:111-9.

Sterrett JR, Strom J, Stummvoll HL, Bahner U, Disney A, Soroka SD, et al. Cinacalcet HCL (Sensipar/Mimpara) is an effective chronic therapy for hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Clin Nephrol* 2007; 68:10-7.

Stinghen AE, Pecoits-Filho R. Vascular damage in kidney disease: beyond hypertension. *Int J Hypertens* 2011;2011:232683.

Suffredini AF, Fantuzzi G, Badolato R, Oppenheim JJ, O'Grady NP. New insights into the biology of the acute phase response. *J Clin Immunol.* 1999;19(4):203. Libby P. Inflammation in atherosclerosis *Nature* 2002; 420 (6917): 868

Tak PP, Firestein GS. NF-kappaB: a key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest.* 2001; 107(1):7-1

Takahashi F, Finch JL, Denda M, Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. A new analog of 1,25-(OH)₂D₃, 19-NOR-1,25-(OH)₂D₂, suppresses serum PTH and parathyroid gland growth in uremic rats without elevation of intestinal vitamin D receptor content. *Am J Kidney Dis* 1997; 30:105-12

Takemura T, Yoshioka K, Murakami K, Akano N, Okada M, Aya N, Maki S. Cellular localization of inflammatory cytokines in human glomerulonephritis. *Virchows Arch.* 1994; 424(5): 459-64

Tan X, Li Y, Liu Y. Paricalcitol attenuates renal interstitial fibrosis in obstructive nephropathy. *J Am Soc Nephrol.* 2006; 17: 3382-3393.

Tanaka M, Tokunaga K. et al. Vitamin D Receptor Activator reduces Oxidative stress in Hemodialysis patients with secondary Hyperparathyroidism. *Therapeutic Apheresis and Dialysis* (2011) 15(2): 161-168

Tangpricha V, Turner A, Spina C, Decastro S, Chen TC, Holick MF. Tanning is associated with optimal vitamin D status (serum 25-hydroxyvitamin D concentration) and higher bone mineral density. *Am J Clin Nutr* 2004; 80:1645-9.

Teng M, Wolf M, Ofsthun MN, Lazarus JM, Hernán MA, Camargo CA, et al. Activated injectable vitamin D and hemodialysis survival: a historical cohort study. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:1115-25.

Tepel M, van der Giet M, Statz M, Jankowski J, Zidek W. The antioxidant acetylcysteine reduces cardiovascular events in patients with end-stage renal failure: a randomized, controlled trial. *Circulation.* 2003; 107:992-5.

Tokumoto M, Mizobuchi M, Finch JL, Nakamura H, Martin DR, Slatopolsky E. Blockade of the renin-angiotensin system attenuates mortality but not vascular calcification in uremic rats: sevelamer carbonate prevents vascular calcification. *Am J Nephrol* 2009; 26(6):582-91.

Tonelli M, Sacks F, Pfeffer M, Gao Z, Curhan G, Cholesterol And Recurrent Events Trial Investigators. Relation between serum phosphate level and cardiovascular event rate in people with coronary disease. *Circulation* 2005; 112:2627-33

Torregrosa JV, Cannata Andia J, Bover J, Caravaca F, Lorenzo V, Martín de Francisco AL, Martín-Malo A, Martínez I, Gonzalez Parra E, Fernandez Giráldez E, Rodríguez Portillo M; Sociedad Española de Nefrología. SEN Guidelines. Recommendations of the Spanish Society of Nephrology for managing bone-mineral metabolic alterations in chronic renal disease patients. *Nefrología* 2008; 28 Suppl 1:1-22.

Turrens J.F. Mitochondrial formation of reactive oxygen species. *The Journal of Physiology* 2003; 552(2): 335-344

Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, Iijima K, Hasegawa H, Okawa K, et al. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF-23. *Nature* 2006; 444:770-4

Ureña P, Kong XF, Abou-Samra A-B, Jüppner H, Kronenberg HM, Potts JT, Segre GV: Parathyroid hormone (PTH)/PTH-related peptide receptor messenger ribonucleic acids are widely distributed in rats tissues. *Endocrinology* 1993; 133: 617-623

Valko M, Izakovic M, Mazur M, Rhodes CJ, Telse J. Role of oxygen radicals in DNA damage and cancer incidence. *Mol Cell Biochem.* 2004; 266:37-56

Valko M, Morris H, Cronin M.T.D. Metals, toxicity and oxidative stress. *Current Medical Chemistry.* 2005; 12(10): 1161-1208.

Valko, M.; Rhodes, C.J.; Moncol, J.; Izakovic, M.; Mazur, M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer. *Chemico-Biological Interactions.* 2006. 160(1): 1-40.

Valko, M; Leibfritz, D; Moncol, J; Cronin, M.T; Mazur, M; Telser, J. Free radicals and antioxidants in normal physiological functions and human disease. *International Journal of Biochemistry and Cell Biology.* 2007; 39(1):44-84.

Vanholder R, Massy Z, Argiles A, Spasovski G, Verbeke F, Lameire N. Chronic kidney disease as cause of cardiovascular morbidity and mortality. *Nephrol Dial Transplant*. 2005; 20:1048-56.

Veiga E, Aguilar JA, Clavo B, Llanes L. Radicales libres, formación y daño celular. El sistema antioxidante como protector frente a los radicales libres. *Análisis Clínicos* 1997; 22: 201-216.

Visser M, Bouter LM, Mc Quillan GM, et al. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 1999; 282: 2131-2135

Von Hurst PR, Stonehouse W, Coad J. Vitamina D supplementation reduces insulin resistance in South asian women living in New Zealand who are insulin resistant and vitamin D deficient- a randomized, placebo-controlled trial. *Br J Nutr* 2010; 103:549-55

Von Sonntag, C. Free-radical-induced DNA damage and its repair: a chemical perspective. Springer, Berlin Heidelberg, New York, pp 523. 2006.

Wacker M, Holick MF. Vitamin D- effects on skeletal and extraskeletal health and the need for supplementation. *Nutrients* 2013; 5: 111-48

Wanner C, Krane V, Marz W, et al. Atorvastatin in patients with type 2 diabetes mellitus undergoing hemodialysis. *N Engl J Med*. 2005;353:238-48.

Webb AR, Kline L, Holick MF. Influence of season and latitude on the cutaneous synthesis of vitamin D3: exposure to winter sunlight in Boston and Edmonton will not promote vitamin D3 synthesis in human skin. *J Clin Endocrinol Metab* 1988; 67:373-8.

Weinberg, F; Chandel, N.S. Reactive oxygen species-dependent signaling regulates cáncer. *Cellular and Molecular Life Science*. 2009, 66(23): 3663-3673.

Werner N, Kosiol S, Schiegl T, et al. Circulating endothelial progenitor cells and cardiovascular outcomes. *N Engl J Med*. 2005; 353:999-1007.

Wetmore JB, Quarles LD. Calcimimetics or vitamin D analogs for suppressing parathyroid hormone in end-stage renal disease: time for a paradigm shift? *Nat Clin Pract Nephrol* 2009; 5(1):24-33.

White JH. Vitamin D metabolism and signaling in the immune system. *Rev Endocr Metab Disord* 2012; 13:21-9.

Witztum JL, Steimberg D. Role of oxidized low density lipoprotein in atherogenesis. *J Clin Invest* 1991; 88: 1785-1792

Wolf M, Shah A, Gutierrez O, et al. Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney Int* 2007.

Wolf M. Forging forward with 10 burning questions on FGF-23 in kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21(9):1427-35.

Wolff SP, Garner A, Dean RT. Free radicals, lipids and protein degradation. *Trends Biochem Sci* 1986;11: 27-31

Wortsman J, Matsuoka LY, Chen TC, Lu Z, Holick MF. Decreased bioavailability of vitamin D in obesity. *Am J Clin Nutr* 2000; 72:690-3.

Wu-Wong JR, Noonan W, Ma J, Dixon D, Bolin A, et al. Differential effects of vitamin D receptor activators on aortic calcification and pulse wave velocity in uraemic rats. *Nephrol Dial Transplant*. 2008; 23:3824-3830.

Yeun JY, Levine RA, Mantadilok V, Kaysen GA. C-Reactive protein predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 2000;35(3):469.

Yoshiko Y, Wang H, Minamizaki T, Lijuin C, Yamamoto R, Suemune s, Mineralized tissue cells are a principal source of FGF 23. Bone 2007; 40:1565-73

Zager PG, Nikolic J, Brown RH, Campbell MA, Hunt WC y cols.: «U» curve association of blood pressure and mortality in hemodialysis patients. Kidney Int 54: 561-569, 1998.

Zannad F, Kessler M, Leher P, et al. Prevention of cardiovascular events in end-stage renal disease: results of a randomized trial of fosinopril and implications for future studies. Kidney Int. 2006; 70:1318-24

9. PUBLICACIONES

A continuación se muestran las publicaciones en revistas que justifican esta tesis doctoral.

Angel L. M. de Francisco, Maria Izquierdo, John Cunningham, Celestino Piñera, Rosa Palomar, Gema Fernandez Fresnedo, Jose A. Amado, Mayte Garcia Unzueta, Manuel Arias; Calcium-mediated parathyroid hormone release changes in patients treated with the calcimimetic agent cinacalcet, *Nephrology Dialysis Transplantation*, Volume 23, Issue 9, 1 September 2008, Pages 2895–2901, <https://doi.org/10.1093/ndt/gfn191>

[Enlace a la publicación](#)

RESEARCH ARTICLE

Open Access

Paricalcitol reduces oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients

María Jesús Izquierdo^{1*}, Mónica Cavia^{2,5}, Pilar Muñoz^{3,6}, Angel LM de Francisco^{4,7}, Manuel Arias^{4,7}, Javier Santos^{1,8} and Pedro Abaigar^{1,8}

ABSTRACT

Background: Treatment with selective vitamin D receptor activators such as paricalcitol have been shown to exert an anti-inflammatory effect in patients on hemodialysis, in addition to their action on mineral metabolism and independently of parathyroid hormone (PTH) levels. The objective of this study was to evaluate the additional antioxidant capacity of paricalcitol in a clinical setting.

Methods: The study included 19 patients with renal disease on hemodialysis, of whom peripheral blood was obtained for analysis at baseline and three months after starting intravenous paricalcitol treatment. The following oxidizing and inflammatory markers were quantified: malondialdehyde (MDA), nitrites and carbonyl groups, indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO), tumor necrosis factor alfa (TNF- α), interleukin-6 (IL-6), interleukin-18 (IL-18) and C-reactive protein (CRP). Of the antioxidants and anti-inflammatory markers, superoxide dismutase (SOD), catalase, reduced glutathione (GSH), thioredoxin, and interleukin-10 (IL-10) levels were obtained.

Results: Baseline levels of oxidation markers MDA, nitric oxide and protein carbonyl groups significantly decreased after three months on paricalcitol treatment, while levels of GSH, thioredoxin, catalase and SOD activity significantly increased. After paricalcitol treatment, levels of the inflammatory markers CRP, TNF- α , IL-6 and IL-18 were significantly reduced in serum and the level of anti-inflammatory cytokine IL-10 was increased.

Conclusions: In renal patients undergoing hemodialysis, paricalcitol treatment significantly reduces oxidative stress and inflammation, two well known factors leading to cardiovascular damage.

Keywords: Oxidative Stress, Immunomodulation, Receptors, Calcitriol, Paricalcitol, 19-nor-1 α , 25-dihydroxyvitamin D2

Background

Oxidative stress is defined as the loss of balance between the generation of oxidants and the system's antioxidant activity, in favor of the former. The production of superoxide anion, a by-product of the respiratory chain from which most free radicals derive, increases with the activity of NADPH oxidase in response to certain stimuli, including proinflammatory mediators such as complement component C5a, interleukins, tumor necrosis factor, bacterial molecules, endotoxins, etc. [1]. Maintenance of this balance is crucial in biological systems, and cells are endowed with a molecular defense system, including

antioxidant enzymes such as superoxide dismutase (SOD), glutathione peroxidase and catalase, as well as vitamins (A, C, and E) and reduced glutathione (GSH). Nevertheless, some conditions or disease treatments may have an effect on this finely controlled balance, causing oxidative stress that exacerbates the patient's condition. Such is the case of renal patients on dialysis; exposed to increased levels of oxidants due to their uremia [2,3], they have an additional load on the oxidative-inflammatory arm of this balance, caused by bioincompatible systems, adjunctive treatments (erythropoiesis-stimulating agents, intravenous iron therapy) and the antioxidant depletion caused by hemodialysis *per se* [4]. Oxidative stress in these patients leads to a state of malnutrition and accelerated cardiovascular disease [5,6].

* Correspondence: mjizquierdo3@hotmail.com

¹Nephrology Service, Complejo Asistencial Universitario de Burgos, C/ Fuenteovejuna 138, Burgos 09006, Spain

Full list of author information is available at the end of the article

The oxidant-antioxidant balance in renal failure has been previously studied, and dialysis treatment has been shown to increase lipid peroxidation in cell membranes and oxidation markers in the blood of treated patients [7], leading to cardiovascular dysfunction. Likewise, the characteristic apoptosis of peripheral blood leukocytes in renal patients has been associated with oxidative stress by depletion of intracellular thiol groups [8,9]. Given the body of evidence linking pathophysiological dialysis treatment with oxidative stress, which causes progressive worsening of renal patients, including cardiovascular morbidity and mortality [5,6], some authors have indicated that antioxidant therapy should be a central pillar of the preventive and curative treatment of renal disease [10,11]. Increasing evidence shows the prevalent role of vitamin D signaling pathways in redox homeostasis and cardiovascular disease prevention [12-15]. Vitamin D receptor (VDR) is present in many organs and displays pleiotropic effects; moreover, a recent clinical report indicated that intravenous calcitriol, as a VDR agonist (VDRA), reduces oxidative stress in hemodialysis patients [13].

The purpose of this study was to assess the effects of intravenous paricalcitol, a selective VDR agonist, on redox homeostasis and antioxidant systems in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism (SHPT), as a possible added benefit of its use in these patients.

Methods

This study was approved by the Clinical Research Ethics Committee of Hospital General Yagüe (Burgos, Spain). All the patients included were fully informed and gave their written consent to participate. Eligible patients were naïve to vitamin-D analogues or derivatives, had undergone regular hemodialysis three times per week for at least 12 months before the study started, and needed treatment for SHPT, presenting PTH levels ≥ 300 pg/ml, serum calcium ≥ 8 mg/dl and serum phosphorus ≤ 5.5 mg/dl. Paricalcitol dosing depended upon the levels of calcium, phosphorus and PTH. Patients presenting with PTH levels ≥ 300 pg/ml, serum calcium ≤ 9.5 mg/dl and serum phosphorus ≤ 4.5 mg/dl received 15 μ g/week, distributed in three hemodialysis sessions. Those with PTH levels ≥ 300 pg/ml, serum calcium > 9.5 mg/dl and serum phosphorus > 4.5 mg/dl received 7.5 μ g/week, distributed in three hemodialysis sessions. Those participants who suffered infectious or inflammatory episodes during the active phase of the study period, or who had neoplasia, were excluded from data analysis, as were those who needed transfusions or replacement of their vascular access during the study. Other reasons for exclusion were adverse effects leading to a reduction in the paricalcitol dose or treatment suspension. In the case of hyperphosphatemia, patients were treated with non-

calcium binders and a controlled diet. Any concomitant treatment the patients were receiving prior to this study was maintained without variations.

Blood samples for baseline determinations were collected from each patient after inclusion and just prior to initiating paricalcitol treatment. A second sample was taken at a follow-up visit after three months of receiving paricalcitol. Extractions were performed on the day between dialysis treatments. The paricalcitol dosage for each patient was calculated according to baseline calcium, phosphorus and PTH levels. Paricalcitol doses were maintained throughout the treatment period, and were reduced only in the case of hypercalcemia or hyperphosphatemia; however they could be increased if SHPT persisted and electrolyte levels were adequate. Whole blood was used for some measurements, using heparin as anticoagulant; serum was separated following a standard protocol.

Determination of inflammation markers in serum

The serum IL-6, IL-10, IL-18 and TNF- α levels were quantified using ELISA kits (R&D Systems, Minneapolis, USA). Serum CRP was measured using a high sensitivity turbidimetric immunoassay (hs-CRP), calcium using the calcium-o-cresolphthalein complexone method and phosphorus using the phosphomolybdate method. All were analyzed on a Roche/Hitachi Modular P analyzer ACN 210 (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). IDO activity was evaluated by measuring kynurenine in plasma according to Alegre *et al.* [16]. Serum PTH was quantified by electrochemoluminescence immunoassay, using a Roche Elecsys 1010/2010 analyzer (Roche Diagnostics, Basel, Switzerland). Each sample was analyzed in triplicate.

Analysis of oxidative stress-related parameters

SOD activity was quantified with the method developed by McCord and Fridovich [17], based on the production of superoxide radicals during the conversion of xanthine to uric acid by xanthine oxidase, and the inhibition of cytochrome c reduction. One unit of SOD activity was defined as the amount of SOD that produces 50% inhibition of cytochrome c reduction. Catalase activities were assayed using the method described by Claiborne [18].

Reduced GSH levels were measured in blood using the protocol of Brigelius *et al.* [19] for glutathione-S-transferase. Plasma thioredoxin was determined with an ELISA kit (TRX ELISA Kit, Redox Bioscience Inc., Japan), and malondialdehyde (MDA) was measured by HPLC [20].

Protein oxidation was assessed with an estimation of carbonyl groups formed using the protocol described by Levine *et al.* [21]. Total protein concentration was determined by the Lowry method [22], using bovine albumin

as a standard. The Griess reaction [23], frequently used to indirectly measure nitric oxide content, was performed for nitrite quantification.

Statistical analysis

All data are reported as mean \pm SD. Comparison between parameter values obtained before treatment and three months after treatment initiation was performed using the paired Wilcoxon test for comparisons, since the sample size was too small for parametric tests. All statistical analyses were performed using software environment R, version 2.14.0 (Developed by international R project: <http://www.r-project.org>).

Results

The study included 19 renal patients on dialysis (15 male and 4 female), between 42 and 78 years of age (mean 68 ± 13.5), with two types of vascular access: arteriovenous fistula ($n = 14$) or permanent internal jugular catheter ($n = 5$). Etiology of kidney disease in our sample was diabetes mellitus ($n = 2$), nephrosclerosis ($n = 12$), polycystic kidney disease ($n = 1$), and vasculitis ($n = 4$). All patients received treatment with EPO alfa (mean dose 5842 ± 3610 U/week, SC) as an erythropoiesis-stimulating agent; 52.6% of patients were already receiving intravenous iron (5 mg/week) two months before initiating paricalcitol treatment and iron therapy was maintained at the same dose throughout the study; 63.2% of patients were taking statins to treat dyslipidemia, and 15.8% were on angiotensin-converting enzyme (ACE) inhibitors II or angiotensin receptor blockers (ARB). The dialysis vintage had a median of 43.1 months (max. 120 - min. 12 months). Dialysis was performed for all patients using a high-flux dialyzer with a polyethersulphone membrane filter (Elisio 210H), with effective surface area 2.1 m^2 and dialysis solution containing 1.25-1.5 mmol/l of calcium. This dialysis protocol was maintained throughout the study. All patients had received previous treatment for SHPT: six had received calcium-chelating agents, twelve other chelating agents and one calcimimetics. Baseline oxidation and inflammation parameters were similar in all patients.

Secondary hyperparathyroidism

The mean paricalcitol dose was 13.46 ± 3.98 $\mu\text{g}/\text{week}$ and all patients included in the final analysis received paricalcitol for 12 weeks with no variations. All the patients responded to treatment, and endpoint values were compared to their baseline parameters. The dose and treatment schedule were based on the patient's calculated requirements, as indicated in the Methods section.

Baseline PTH, calcium and phosphorus levels are shown for all the participants (Table 1). High baseline

PTH levels were significantly decreased after 12 weeks of treatment with paricalcitol, while both blood calcium and phosphorus levels were increased.

Inflammation biomarkers

Interleukins in serum were measured in 13 patients. Paricalcitol significantly increased serum IL-10 levels. On the other hand, inflammatory cytokine levels, including IL-18, IL-6, and TNF- α were reduced after twelve weeks of treatment (Table 2). The reduction rate in serum was approximately 74%, 66%, and 53% for IL-18, IL-6, and TNF- α , respectively. However, no differences were seen in IDO activity as a result of the treatment.

Oxidative stress biomarkers

Compared to baseline values, increased antioxidant concentrations were observed (Table 3), including the enzymatic participants (SOD and catalase), and non-enzymatic scavengers (GSH and thioredoxin). SOD, catalase, GSH and thioredoxin levels in blood were significantly higher: 3.74, 1.35, 1.77 and 1.65-fold the baseline values. We determined the carbonyl groups and MDA levels in plasma as parameters indicative of protein and lipid oxidative damage and nitrites. As shown in Table 3, all were found to be significantly reduced after paricalcitol therapy.

Discussion

Our results suggest that treatment with paricalcitol, a VDR selective activator, has antioxidant and anti-inflammatory effects in patients on hemodialysis. This potential effect could be very beneficial for these patients, since they suffer redox imbalance due to the uremia caused by their renal condition [2]. Many treatments also induce oxidation and inflammation in hemodialysis patients, including intravenous iron therapy, erythropoiesis-stimulating agents, failed vascular access and intercurrent infectious processes [24]. Renal patients on dialysis are at risk of cardiovascular disease, due to the link of oxidative stress and inflammation with endothelial damage and immune system dysfunction and subsequent infections, perpetuating an oxidation-inflammation-infection cycle. Furthermore, the effects of the low activation of vitamin-D receptors are enhanced by the significantly reduced

Table 1 Effects of paricalcitol on SHPT and electrolyte levels in our sample

N = 19	Paricalcitol		P value*
	Baseline values	After 12 weeks	
Ca, mg/dL	8.59 ± 0.58	9.44 ± 0.71	0.00026
P, mg/dL	4.25 ± 0.71	4.81 ± 1.11	0.0248
PTH, pg/mL	441 ± 221	205 ± 172	0.00014

Ca, calcium; P, phosphorus; PTH, parathyroid hormone. Data are mean \pm SD. Statistical significance assessed using Wilcoxon Signed Rank Test.

Table 2 Inflammation markers in serum of patients before treatment initiation with paricalcitol and after 12 weeks of treatment

	n	Paricalcitol		P value
		Baseline values	After 12 weeks	
CRP, mg/L	19	21.7 ± 20.7	11.8 ± 10.3	↓ 0.0076
TNF-α, pg/mL	13	6.15 ± 3.49	3.23 ± 1.96	↓ 0.012
IL-6, pg/mL	13	8.96 ± 3.84	6.23 ± 1.91	↓ 0.019
IL-18, pg/mL	13	276 ± 77	199 ± 98	↓ 0.028
IL-10, pg/mL	13	0.39 ± 0.03	0.428 ± 0.032	↑ 0.019
IDO*, μM Kyn	19	3.33 ± 1.03	3.01 ± 1.14	0.167

CRP, C-reactive protein; TNF-α, Tumor necrosis factor; IL-6, Interleukin 6; IL-18, Interleukin 18; IL-10, Interleukin 10; IDO, Indoleamine 2,3-dioxygenase, measured as kynurenine. Values are given as mean ± SD. Statistical significance assessed using Wilcoxon Signed Rank Test.

*IDO: intra-assay coefficient of variation = 2.8%, inter-assay coefficient of variation = 4.8%.

expression of these molecules in patients with chronic kidney disease (CKD), further contributing to endothelial dysfunction [14,15,25]. These circumstances lead inexorably to cardiovascular disease, which is a major cause of mortality in renal patients.

Therapy with vitamin D for hemodialysis patients was primarily designed to treat SHPT, regulating calcium and phosphorus absorption in the intestine and bone remodeling. This approach showed parallel benefits, as preclinical *in vitro* and observational studies found that treatment with a nonselective vitamin D activator (calcitriol) also decreased inflammatory markers [26,27] and had immunomodulatory effects [28], thus showing the potential to reduce cardiovascular damage and mortality, beyond the primarily intended control of SHPT [29]. Despite presenting excellent control of SHPT, and adding this anti-inflammatory effect, calcitriol treatment has the drawback of producing elevated serum phosphorus

and calcium levels. This effect is caused by increased intestinal absorption of both electrolytes [30,31], and limits the usefulness of calcitriol in patients with severe renal disease, since the calcium and phosphorus overload cannot be adequately excreted by a failing kidney. However, the good clinical results obtained for VDRA agonists against SHPT and the need to reduce adverse effects has prompted further research for improved VDRA. Therefore, the present study focuses on a second generation direct selective VDR agonist, 19-nor-1,25-dihydroxyvitamin D₂, or paricalcitol. This selective VDRA has already shown improved effects on calcium homeostasis and SHPT treatment [31-33], controlling SHPT without increasing serum electrolyte concentrations to the levels induced by calcitriol [34,35]. In our sample, the beneficial effects on SHPT are clear, and although our patients did experience a significant increase in calcium and phosphate, the focus of our study was on other pleiotropic effects that have been reported.

The central findings of this study are the antioxidant effects of paricalcitol in a clinical setting. Redox homeostasis is a clinical concern in dialysis patients and, although hemodialysis with on-line regeneration of the ultrafiltrate has shown some improvement over conventional polysulphone dialysis in some parameters [36,37], the treatment is still related to oxidative stress, and patients undergoing hemodialysis with any of these techniques may benefit from concomitant treatments that could contribute to redox homeostasis. The anti-inflammatory/antioxidant effect of a VDRA was recently reported by Wu *et al.* [26], who carried out a study in hemodialysis patients with SHPT receiving calcitriol for 16 weeks. Paricalcitol had shown some promise regarding redox homeostasis in preclinical studies. Husain *et al.* designed an antioxidant strategy including enalapril and paricalcitol for ApoE-deficient atherosclerotic

Table 3 Enzymatic antioxidant activity and oxidation markers in the blood of dialysis patients before and after treatment with paricalcitol

n= 19	Paricalcitol			intraCV*	interCV**	P value
	Baseline values	After 12 weeks				
Antioxidants						
SOD, U/g Hb	734 ± 481	1776 ± 574	↑	4.8 %	3.8 %	0.00005
CAT, U/g Hb	2424 ± 832	3268 ± 1363	↑	2.4 %	4.03 %	0.0056
GSH, μmol/g Hb	1.79 ± 0.76	2.87 ± 1.24	↑	4.4 %	5.3 %	0.0002
TRX, ng/mL	60.2 ± 17.0	89.7 ± 22.1	↑	2.3 %	3.1 %	0.002
Oxidation markers						
MDA, μM	1.14 ± 0.18	0.96 ± 0.14	↓	3.1 %	2.8 %	0.002
CG, nmol/mg prot	1.78 ± 0.75	1.16 ± 0.45	↓	2.7 %	3.3 %	0.0007
Nitrites, μM	7.09 ± 3.42	4.33 ± 3.71	↓	3.8 %	3.4 %	0.01

SOD, Superoxide dismutase; CAT, catalase; GSH, reduced glutathione; TRX, Thioredoxin; MDA, malondialdehyde; CG, carbonyl groups; Hb, hemoglobin. Values are mean ± SD. *intra-assay coefficient of variation, **inter-assay coefficient of variation.

mice, since ACE inhibitors, such as enalapril, prevent formation of angiotensin II, which is known to induce free-radical generation. This combination demonstrated protective efficacy in aortic inflammatory and oxidative injury in this animal model [38]. Moreover, paricalcitol has also shown protective effects against oxidative stress in the cardiac tissue of uremic rats, through inhibition of NADPH oxidase activity [39], but there was still no clinical evidence of the anti-inflammatory/antioxidant effect of this selective VDR.

The increased levels of SOD and GSH with paricalcitol treatment found in our study follow preclinical findings with this selective VDR agonist. Since both GSH and SOD are the main contributors to cellular redox homeostasis, it is rather relevant that paricalcitol treatment seemed to increase the levels of these ROS scavengers, but we also found increased thioredoxin levels. A recent study on the effects of VDRAs on the thioredoxin pathway in endothelial cells *in vitro* indicated that paricalcitol did not modify thioredoxin expression or activity, although expression of its inhibitor, thioredoxin-interacting protein, was significantly reduced [40]. However, *in vitro* environments are rather limited and the higher levels of thioredoxin after paricalcitol treatment found in our study are consistent with the increase in other components of the antioxidant arm. The induction pathway of most of these antioxidant molecules by paricalcitol remains unknown, and further exploration of their signaling pathways could provide more information on the different mechanisms of paricalcitol and calcitriol, as suggested by their different effects.

Regarding the oxidation markers, the reduction in MDA levels by paricalcitol was also reported in an animal model, and it was postulated that the reason could be downregulation of RAS by vitamin D analogues [38]. The antioxidant effect of paricalcitol is further observed with the reduction of carbonyl groups and nitrites. The latter may be due to a previously described downregulation of eNOS and iNOS activity, which would respond both to an antioxidant and anti-inflammatory effect of VDR activation [38,41]. On the other hand, the reduced production of nitrites, MDA and carbonyl groups could also be a consequence of the increased antioxidant elements, i.e. GSH, thioredoxin and SOD, scavenging excess ROS before excessive oxidation can take place.

Modulatory effects on inflammatory and immune signaling pathways *in vitro* have been previously described, with significant reduction of proinflammatory cytokines IL-8, CRP and TNF- α and increased anti-inflammatory markers [12,42]. As previous studies have suggested, our results showed significant reduction of several inflammatory markers (CRP, TNF- α , and ILs 6 and 18) in CKD patients treated with paricalcitol, while IL-10, an anti-inflammatory cytokine, was significantly increased in the

serum of our patients. No significant changes were found in IDO activity; these results have not been included in this study because IDO activity and kynurenine are increased in CKD patients and have been linked to atherosclerosis [43-45]. Permanent hemodialysis catheters are a well-known source of inflammation, and our patients had two different types of venous access, so we checked for differences in inflammatory markers between the patients with catheters and those with arteriovenous fistula, finding similar baseline and final results (data not shown), which finally allowed for a pooled analysis. Our findings are similar to those of Alborzi *et al.* [46], who observed a 20% reduction in CRP with paricalcitol. Navarro *et al.* [47] also found a significant reduction in CRP and TNF- α , while detecting higher levels of TNF- α /IL-10 and IL-6/IL-10 indices, showing an immunomodulatory effect as suggested by our own results. Our findings in this group are consistent with previous reports on clinical data and experimental studies in rats [12,42,48].

The results of this clinical study, conducted on 19 patients with hemodialysis, suggest another important effect of paricalcitol, regarding renal disease complications. This is the first report on the antioxidant effects of a VDR agonist, namely the selective agonist paricalcitol, in a clinical study involving renal patients. One limitation of this study is the absence of a placebo arm, as our study was performed in the setting of routine clinical practice and comparison with a control group was not possible. However, comparison of final values, with baseline analyses of the same patients acting as control, showed significant changes after paricalcitol treatment; these very significant changes in so many different parameters are unlikely to be observed in an untreated control group as a result of spontaneous evolution. Moreover, these improvements in redox homeostasis could be observed after a short treatment period of three months indicating that, although the study period was very short, three months was also enough to observe significant changes. Since this study was conducted in a clinical setting and the patients were receiving concomitant medication, an association between oxidative stress/inflammation and other medications commonly adopted in dialysis patients, such as ACE inhibitors, ARBs or chelating agents could be suspected [49-51]. However, the participants' concomitant medication was started before the study and maintained without modifications during the study, so the possible effects of these drugs were constant. Although the laboratory results of the three patients who were receiving ACE inhibitors were well within the range of values obtained for the rest of the patients, we performed a sensitivity analysis excluding these patients to determine any influence that this medication might have in our results, but the level of

statistical significance did not change substantially (data not shown). The main limitations are the small sample size and the lack of a control group or randomization, with possible selection bias, since the setting and circumstances in which it was performed did not allow improvements in this aspect.

Conclusions

Hemodialysis patients receiving this selective VDR agonist could benefit not only from SHPT control but also from anti-inflammatory and antioxidant effects that could improve their situation in terms of cardiovascular protection. We consider the results of this study promising, as improvements were seen in a very short follow-up period, although a larger trial comparing treatment with paricalcitol, other VDR agonists and placebo could provide conclusive data on the topic.

Competing interests

Dr de Francisco is consultant to Amgen Fresenius and has received speakers honoraria from Abbott, Roche, Rubió, Shire, and Genzyme on occasion. Dr. Izquierdo has received speaker's honoraria from Abbott on occasion. The other authors have no conflicts of interests regarding the contents of this manuscript, and the study has not received any funds from Industry.

Authors' contributions

MJI participated in the design of the study, performed patient selection, managed the data and drafted the manuscript. MC and PM carried out the biochemical analyses. AF and MA conceived the study, participated in its design and collaborated in the manuscript. JA participated in patient selection and PA in the design and coordination. All authors read and approved the final manuscript.

Acknowledgements

Medical writing assistance by Dr. Blanca Piedrafita from Medical Statistics Consulting S.L, Valencia (Spain) is acknowledged.

Author details

¹Nephrology Service, Complejo Asistencial Universitario de Burgos, C/ Fuenteovejuna 138, Burgos 09006, Spain. ²Research Unit. Complejo Asistencial Universitario de Burgos, Burgos, Spain. ³Área de Bioquímica y Biología molecular de la Universidad de Burgos, Burgos, Spain. ⁴Nephrology Service. Hospital Universitario Marques de Valdecilla, Santander, Spain. ⁵Unidad de Investigación. Hospital Universitario de Burgos, Burgos. Islas Baleares S/N, 09006, Burgos, Spain. ⁶Área de Bioquímica y Biología Molecular, Facultad de Ciencias. Universidad de Burgos, Plaza Misael Bañuelos s/n, Burgos, Spain. ⁷Servicio Nefrología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, Avda. de Valdecilla, s/n, 39008 Santander, Cantabria, Spain. ⁸Servicio de Nefrología, Hospital Universitario de Burgos, Islas Baleares S/N, 09006, Burgos, Spain.

Received: 20 July 2012 Accepted: 18 November 2012

Published: 27 November 2012

References

- Galle J: Oxidative stress in chronic renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2001, **16**(11):2135–2137.
- Himmelfarb J, McMonagle E: Manifestations of oxidant stress in uremia. *Blood Purif* 2001, **19**(2):200–205.
- Oberg BP, McMenamin E, Lucas FL, McMonagle E, Morrow J, Ikizler TA, Himmelfarb J: Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int* 2004, **65**(3):1009–1016.
- Handelman G: Evaluation of oxidant stress in dialysis patients. *Blood Purif* 2000, **18**(4):343–349.

- Dirican M, Sarandol E, Serdar Z, Ocak N, Dilek K: Oxidative status and prevalent cardiovascular disease in patients with chronic renal failure treated by hemodialysis. *Clin Nephrol* 2007, **68**(3):144–150.
- Clermont G, Lecour S, Lahet J, Siohan P, Vergely C, Chevet D, Rife G, Rochette L: Alteration in plasma antioxidant capacities in chronic renal failure and hemodialysis patients: a possible explanation for the increased cardiovascular risk in these patients. *Cardiovasc Res* 2000, **47**(3):618–623.
- Ziouzenkova O, Sevanian A: Oxidative modification of low-density lipoprotein (LDL) in HD patients: role in electronegative LDL formation. *Blood Purif* 2000, **18**(3):169–176.
- Nourooz-Zadeh J: Effect of dialysis on oxidative stress in uraemia. *Redox Rep* 1999, **4**(1–2):17–22.
- Miyazaki H, Matsuoka H, Itabe H, Usui M, Ueda S, Okuda S, Imaizumi T: Hemodialysis impairs endothelial function via oxidative stress: effects of vitamin E-coated dialyzer. *Circulation* 2000, **101**(9):1002–1006.
- Chugh SN, Jain S, Agrawal N, Sharma A: Evaluation of oxidative stress before and after haemodialysis in chronic renal failure. *J Assoc Physicians India* 2000, **48**(10):981–984.
- Locatelli F, Canaud B, Eckardt KU, Stenvinkel P, Wanner C, Zoccali C: Oxidative stress in end-stage renal disease: an emerging threat to patient outcome. *Nephrol Dial Transplant* 2003, **18**(7):1272–1280.
- Baeke F, Takiishi T, Korf H, Gysemans C, Mathieu C: Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol* 2010, **10**(4):482–496.
- Tanaka M, Tokunaga K, Komaba H, Itoh K, Matsushita K, Watanabe H, Kadowaki D, Maruyama T, Otagiri M, Fukagawa M: Vitamin D receptor activator reduces oxidative stress in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Ther Apher Dial* 2011, **15**(2):161–168.
- Judd SE, Tangpricha V: Vitamin D deficiency and risk for cardiovascular disease. *Am J Med Sci* 2009, **338**(1):40–44.
- Mathew S, Lund RJ, Chaudhary LR, Geurs T, Hruska KA: Vitamin D receptor activators can protect against vascular calcification. *J Am Soc Nephrol* 2008, **19**(8):1509–1519.
- Alegre E, Lopez AS, Gonzalez A: Tryptophan metabolites interfere with the Ehrlich reaction used for the measurement of kynurenine. *Anal Biochem* 2005, **339**(1):188–189.
- McCord JM, Fridovich I: Superoxide dismutase. An enzymic function for erythrocyte (hemocuprein). *J Biol Chem* 1969, **244**(22):6049–6055.
- Claiborne AJ: Catalase activity. In *CRC Handbook of methods for oxygen radicals research*. Edited by Greenwald RA. Boca Raton, FL: (EEUU): CRC Press; 1985:283–284.
- Brigelius R, Muckel C, Akerboom TP, Sies H: Identification and quantitation of glutathione in hepatic protein mixed disulfides and its relationship to glutathione disulfide. *Biochem Pharmacol* 1983, **32**(17):2529–2534.
- Grotto D, Santa Maria LD, Boeira S, Valentini J, Charao MF, Moro AM, Nascimento PC, Pomblum VJ, Garcia SC: Rapid quantification of malondialdehyde in plasma by high performance liquid chromatography-visible detection. *J Pharm Biomed Anal* 2007, **43**(2):619–624.
- Levine RL, Stadtman ER: Oxidative modification of proteins during aging. *Exp Gerontol* 2001, **36**(9):1495–1502.
- Lowry OH, Rosebrough NJ, Farr AL, Randall RJ: Protein measurement with the Folin phenol reagent. *J Biol Chem* 1951, **193**(1):265–275.
- Moshage H, Kok B, Huizenga JR, Jansen PL: Nitrite and nitrate determinations in plasma: a critical evaluation. *Clin Chem* 1995, **41**(6 Pt 1):892–896.
- Morena M, Cristol JP, Canaud B: Why hemodialysis patients are in a prooxidant state? What could be done to correct the pro/antioxidant imbalance. *Blood Purif* 2000, **18**(3):191–199.
- Levin A, Li YC: Vitamin D and its analogues: do they protect against cardiovascular disease in patients with kidney disease? *Kidney Int* 2005, **68**(5):1973–1981.
- Wu CC, Chang JH, Chen CC, Su SB, Yang LK, Ma WY, Zheng CM, Diang LK, Lu KC: Calcitriol treatment attenuates inflammation and oxidative stress in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Tohoku J Exp Med* 2011, **223**(3):153–159.
- Guillot X, Semerano L, Saldenber-Kermanach N, Falgarone G, Boissier MC: Vitamin D and inflammation. *Joint Bone Spine* 2010, **77**(6):552–557.
- Takeda M, Yamashita T, Sasaki N, Nakajima K, Kita T, Shinohara M, Ishida T, Hirata K: Oral administration of an active form of vitamin D3 (calcitriol)

- decreases atherosclerosis in mice by inducing regulatory T cells and immature dendritic cells with tolerogenic functions. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2010, **30**(12):2495–2503.
29. Judd SE, Tangpricha V: **Vitamin D therapy and cardiovascular health.** *Curr Hypertens Rep* 2011, **13**(3):187–191.
 30. Andress DL, Coyne DW, Kalantar-Zadeh K, Molitch ME, Zangeneh F, Sprague SM: **Management of secondary hyperparathyroidism in stages 3 and 4 chronic kidney disease.** *Endocr Pract* 2008, **14**(1):18–27.
 31. Lund RJ, Andress DL, Amdahl M, Williams LA, Heaney RP: **Differential effects of paricalcitol and calcitriol on intestinal calcium absorption in hemodialysis patients.** *Am J Nephrol* 2010, **31**(2):165–170.
 32. Coyne D, Acharya M, Qiu P, Abboud H, Battle D, Rosansky S, Fadem S, Levine B, Williams L, Andress DL, *et al*: **Paricalcitol capsule for the treatment of secondary hyperparathyroidism in stages 3 and 4 CKD.** *Am J Kidney Dis* 2006, **47**(2):263–276.
 33. Mittman N, Desiraju B, Meyer KB, Chattopadhyay J, Avram MM: **Treatment of secondary hyperparathyroidism in ESRD: a 2-year, single-center crossover study.** *Kidney Int Suppl* 2010, **117**:S33–S36.
 34. Sprague SM, Llach F, Amdahl M, Taccetta C, Battle D: **Paricalcitol versus calcitriol in the treatment of secondary hyperparathyroidism.** *Kidney Int* 2003, **63**(4):1483–1490.
 35. Lindberg J, Martin KJ, Gonzalez EA, Acchiardo SR, Valdin JR, Soltanek C: **A long-term, multicenter study of the efficacy and safety of paricalcitol in end-stage renal disease.** *Clin Nephrol* 2001, **56**(4):315–323.
 36. Gonzalez-Diez B, Cavia M, Torres G, Abaigar P, Muniz P: **Effect of a hemodiafiltration session with on-line regeneration of the ultrafiltrate on oxidative stress, Comparative study with conventional hemodialysis with polysulfone.** *Blood Purif* 2008, **26**(6):505–510.
 37. Gonzalez-Diez B, Cavia M, Torres G, Abaigar P, Camarero V, Muniz P: **The effects of 1-year treatment with a haemodiafiltration with on-line regeneration of ultrafiltrate (HFR) dialysis on biomarkers of oxidative stress in patients with chronic renal failure.** *Mol Biol Rep* 2012, **39**(1):629–634.
 38. Husain K, Suarez E, Isidro A, Ferder L: **Effects of paricalcitol and enalapril on atherosclerotic injury in mouse aortas.** *Am J Nephrol* 2010, **32**(4):296–304.
 39. Husain K, Ferder L, Mizobuchi M, Finch J, Slatopolsky E: **Combination therapy with paricalcitol and enalapril ameliorates cardiac oxidative injury in uremic rats.** *Am J Nephrol* 2009, **29**(5):465–472.
 40. Zitman-Gal T, Golan E, Green J, Bernheim J, Benchetrit S: **Vitamin D receptor activation in a diabetic-like environment: Potential role in the activity of the endothelial pro-inflammatory and thioredoxin pathways.** *J Steroid Biochem Mol Biol* 2012, **132**(1–2):1–7.
 41. Finch JL, Suarez EB, Husain K, Ferder L, Cardema MC, Glenn DJ, Gardner DG, Liapis H, Slatopolsky E: **Effect of combining an ACE inhibitor and a VDR activator on glomerulosclerosis, proteinuria, and renal oxidative stress in uremic rats.** *Am J Physiol Renal Physiol* 2012, **302**(1):F141–F149.
 42. Eleftheriadis T, Antoniadis G, Liakopoulos V, Kartsios C, Stefanidis I, Galaktidou G: **Paricalcitol reduces basal and lipopolysaccharide-induced (LPS) TNF-alpha and IL-8 production by human peripheral blood mononuclear cells.** *Int Urol Nephrol* 2010, **42**(1):181–185.
 43. Pawlak K, Domaniewski T, Mysliwiec M, Pawlak D: **The kynurenines are associated with oxidative stress, inflammation and the prevalence of cardiovascular disease in patients with end-stage renal disease.** *Atherosclerosis* 2009, **204**(1):309–314.
 44. Pawlak K, Brzosko S, Mysliwiec M, Pawlak D: **Kynurenine, quinolinic acid—the new factors linked to carotid atherosclerosis in patients with end-stage renal disease.** *Atherosclerosis* 2009, **204**(2):561–566.
 45. Schefold JC, Zeden JP, Fotopoulou C, von Haehling S, Pschowski R, Hasper D, Volk HD, Schuett C, Reinke P: **Increased indoleamine 2,3-dioxygenase (IDO) activity and elevated serum levels of tryptophan catabolites in patients with chronic kidney disease: a possible link between chronic inflammation and uraemic symptoms.** *Nephrol Dial Transplant* 2009, **24**(6):1901–1908.
 46. Alborzi P, Patel NA, Peterson C, Bills JE, Bekele DM, Bunaye Z, Light RP, Agarwal R: **Paricalcitol reduces albuminuria and inflammation in chronic kidney disease: a randomized double-blind pilot trial.** *Hypertension* 2008, **52**(2):249–255.
 47. Juan Navarro-González J, Méndez ML, Mora C, Donate J, García J: **Oral Paricalcitol improves inflammatory profile in Haemodialysis Patients.** In *Abstract SU424. World Congress of Nephrology.* Canada: Vancouver; 2011.
 48. Tan X, Wen X, Liu Y: **Paricalcitol inhibits renal inflammation by promoting vitamin D receptor-mediated sequestration of NF-kappaB signaling.** *J Am Soc Nephrol* 2008, **19**(9):1741–1752.
 49. Gamboa JL, Pretorius M, Todd-Tzanetos DR, Luther JM, Yu C, Ikizler TA, Brown NJ: **Comparative effects of angiotensin-converting enzyme inhibition and angiotensin-receptor blockade on inflammation during hemodialysis.** *J Am Soc Nephrol* 2012, **23**(2):334–342.
 50. Antoniadis C, Bakogiannis C, Leeson P, Guzik TJ, Zhang MH, Tousoulis D, Antonopoulos AS, Demosthenous M, Marinou K, Hale A, Paschalis A, Psarros C, Triantafyllou C, Bendall J, Casadei B, Stefanadis C, Channon KM: **Rapid, direct effects of statin treatment on arterial redox state and nitric oxide bioavailability in human atherosclerosis via tetrahydrobiopterin-mediated endothelial nitric oxide synthase coupling.** *Circulation* 2011, **124**(3):335–345.
 51. Peres AT, Dalboni MA, Canziani ME, Manfredi SR, Carvalho JT, Batista MC, Cuppari L, Carvalho AB, Moyses RM, Guimarães N, Jorgetti V, Andreoli MC, Draibe SA, Cendoroglo M: **Effect of phosphate binders on oxidative stress and inflammation markers in hemodialysis patients.** *Hemodial Int* 2009, **13**(3):271–277.

doi:10.1186/1471-2369-13-159

Cite this article as: Izquierdo *et al*: Paricalcitol reduces oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients. *BMC Nephrology* 2012 **13**:159.

Submit your next manuscript to BioMed Central and take full advantage of:

- Convenient online submission
- Thorough peer review
- No space constraints or color figure charges
- Immediate publication on acceptance
- Inclusion in PubMed, CAS, Scopus and Google Scholar
- Research which is freely available for redistribution

Submit your manuscript at
www.biomedcentral.com/submit



Tratamiento doble con calcifediol asociado a paricalcitol y biomarcadores de riesgo cardiovascular en hemodiálisis

Celestino Piñera-Haces¹, María J. Izquierdo-Ortiz², Ángel L. Martín-de Francisco¹, M. Teresa García-Unzueta³, Marcos López-Hoyos⁴, Carmen Toyos¹, Natalia Allende¹, Estrella Quintela¹, Manuel Arias¹

¹ Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Universidad de Cantabria. Santander

² Servicio de Nefrología. Complejo Asistencial de Burgos

³ Servicio de Endocrinología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Universidad de Cantabria. Santander

⁴ Servicio de Inmunología. Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. Universidad de Cantabria. Santander

Nefrología 2013;33(1):77-84

doi:10.3265/Nefrologia.pre2012.Sep.11533

RESUMEN

Introducción: El déficit de 25-hidroxivitamina D (25OHD) asociado a un hiperparatiroidismo secundario son hallazgos frecuentes en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) en hemodiálisis (HD). Estos hechos se asocian con un incremento de la morbimortalidad de origen cardiovascular (CV). Niveles séricos adecuados de 25OHD, así como el uso de activadores selectivos del receptor de vitamina D (AsRVD), han demostrado tener efectos beneficiosos sobre el metabolismo óseo-mineral y el riesgo CV de manera independiente. Actualmente aún existe controversia respecto al tipo de suplementación que precisan los pacientes con ERC en HD. **Objetivo:** El objetivo de nuestro estudio fue evaluar si existe beneficio alguno en el tratamiento combinado de 25OHD, calcifediol oral y AsRVD, paricalcitol oral sobre el metabolismo óseo-mineral y marcadores inflamatorios, respecto al tratamiento único con cada uno de ellos, en un grupo de pacientes de HD. **Material y métodos:** Realizamos un estudio prospectivo de 6 meses de duración sobre 26 pacientes de nuestra unidad en HD. Aleatorizamos a los pacientes en dos grupos; el grupo 1 (G1) recibió tratamiento con paricalcitol oral a dosis de 1 µg/día. El grupo 2 (G2) fue tratado con calcifediol 1 ampolla/sem (0,266 mg/sem = 16.000 U) por vía oral. Transcurridos 3 meses de tratamiento, al G1 se le añadió calcifediol y al G2, paricalcitol a las mismas dosis, manteniendo dichos tratamientos durante 3 meses más, hasta completar los 6 meses de seguimiento. Las determinaciones analíticas se llevaron a cabo en los meses 0, 3 y 6, midiéndose en todos los pacientes los marcadores séricos de 25OHD, calcio,

fósforo y hormona paratiroidea (PTH); como marcadores de remodelado óseo se midió la fosfatasa alcalina, propéptido aminoterminal del procolágeno tipo 1 (P1np1) y el telopéptido carboxilo-terminal del colágeno tipo I (Cross Laps); marcadores inflamatorios (interleuquina 8 [IL-8]). Asimismo se recogieron datos de niveles de insulina, glucosa, hemoglobina, agentes eritropoyéticos (AEE) e índices de resistencia a la eritropoyetina y HOMA (homeostasis model assessment). **Resultados:** Se detecta un déficit de 25OHD en todos los pacientes a estudio, con una media de 13,67 ± 4,81 ng/ml. La suplementación con calcifediol oral aislado corrige este déficit sin evidencia de toxicidad (35,36 ± 33,68 ng/ml en el G1 a los 6 meses y 59,21 ± 26,50 ng/ml en el G2 a los 3 meses). El tratamiento con paricalcitol reduce de forma significativa los niveles de PTH en el G1 a los 3 meses (p < 0,039) no observándose esta significación, aunque sí descenso de la PTH, en el G2 tras su introducción a partir del tercer mes. Asimismo, observamos una disminución del marcador óseo P1np1, con paricalcitol sin otros cambios, apuntando a un posible efecto directo sobre las células óseas (p < 0,001). Tanto el tratamiento con calcifediol como con paricalcitol producen una significativa disminución en los niveles de IL-8 (p < 0,001), conocido marcador inflamatorio, llamando la atención una tendencia a mejor respuesta a los AEE, en posible relación con este descenso de la inflamación. El índice HOMA no cambió de forma significativa. **Conclusión:** Con nuestros resultados, no podemos concluir que la asociación calcifediol-paricalcitol produzca ventajas sobre el efecto de cada uno de ellos por separado en los marcadores medidos. Paricalcitol además, por sí solo, parece tener efecto directo sobre la remodelación ósea.

Correspondencia: María J. Izquierdo Ortiz

Servicio de Nefrología.

Complejo Asistencial de Burgos. Fuenteovejuna, 138. 09006 Burgos.

mjizquierdo3@hotmail.com

maridetrespa@hotmail.com

Palabras clave: 25-hidroxivitamina D. Paricalcitol. Inflamación. Metabolismo óseo-mineral.

Double treatment with paricalcitol-associated calcifediol and cardiovascular risk biomarkers in haemodialysis

ABSTRACT

Background: The deficit of 25-hydroxyvitamin D (25OHD) associated with secondary hyperparathyroidism (SHPT) are frequent findings in patients with chronic kidney disease (CKD) on hemodialysis (HD). These events are associated with increased morbidity and mortality of cardiovascular (CV). 25OHD adequate serum levels as well as the use of selective activators of the vitamin D receptor (AsRVD) have been shown to have beneficial effects on bone metabolism and mineral and cardiovascular risk independently. Currently there is still controversy regarding the type of supplementation needed by patients with CKD on HD. **Aims:** The aim of our study was to evaluate whether there is benefit in combination therapy with 25OHD, calcifediol and a AsRVD, oral paricalcitol on bone-mineral metabolism and inflammatory markers, compared to single treatment with each of them in a group HD patients. **Material and methods:** A prospective study of 6 months, over 26 patients in our HD unit. We randomized patients into two groups: group 1 (G1) received oral paricalcitol treatment at doses of 1mcg/day. Group 2 (G2) was treated with 1 ampoule calcifediol/wk (0.266mg/wk=16.000U) orally. After 3 months of treatment, was added to the G1 and G2 calcifediol and paricalcitol respectively at the same doses, keeping these treatments together for 3 months to complete the 6 months follow up. Laboratory tests were performed at months 0, 3 and 6, measuring in all patients serum markers of 25OHD, calcium (Ca), phosphorus (P) and PTH Bone turnover markers were: alkaline phosphatase (FA), aminoterminal propeptide of procollagen type 1 (Pinp1) and carboxyl-terminal telopeptide of type I collagen (CrossLaps) and inflammatory markers : IL-8. WE also collected data on levels of insulin, glucose, hemoglobin, erythropoietic agents (ESAs) and rates of resistance to EPO and HOMA (homeostasis model assessment). **Results:** We detected a deficit of 25-hydroxyvitamin D in all patients studied, with a mean of 13.67±4.81ng/ml. Supplementation with oral calcifediol significantly corrects this deficit without evidence of toxicity (35.36±33.68ng/ml in G1 at 6 months and 59.21±26.50ng/ml in G2 at 3 months). Paricalcitol treatment significantly reduces PTH levels in G1 at 3 months (P<.039). We also noted a decrease in bone marker Pinp1 with paricalcitol, pointing to a possible direct effect on bone cells (P<.001). Both treatment with paricalcitol calcifediol produced a significant decrease in levels of IL-8 (P<.001), known inflammatory marker, drawing attention to a trend towards better response to erythropoiesis-stimulating agents (ESAs), possible related to the decrease in inflammation. The HOMA index did not change significantly. **Conclusion:** Based on our results, we cannot conclude that the association calcifediol and paricalcitol produces advantages over the effect of each marker separately Paricalcitol also by itself appears to have a direct cellular bone action.

Keywords: 25-hydroxyvitamin D. Paricalcitol. Inflammation. Bone-mineral metabolism.

INTRODUCCIÓN

Existe una tendencia creciente en el uso de la vitamina D, desde la población general a los pacientes en hemodiálisis (HD), por los potenciales efectos pleiotrópicos, más allá de sus acciones sobre el metabolismo óseo-mineral¹⁻⁴.

Valores séricos bajos de 25-hidroxivitamina D (25OHD) se han relacionado con una mayor mortalidad en pacientes incidentes en HD⁵⁻⁶. Las actuales guías de la Sociedad Española de Nefrología (S.E.N.) para el manejo de las alteraciones del metabolismo óseo-mineral en los pacientes con enfermedad renal crónica (S.E.N.-MM) aconsejan la medición de los niveles de vitamina D (calcidiol) para prevenir y tratar su frecuente insuficiencia o deficiencia. Valores séricos de calcidiol < 30 ng/l son considerados insuficientes, y < 15 ng/l, deficientes. Asimismo, existe una falta de estudios en población general que demuestren que valores superiores a 40 ng/l tendrían algún beneficio⁷.

La activación selectiva de los receptores de la vitamina D con paricalcitol también ha demostrado tener efectos beneficiosos no solo en el control del hiperparatiroidismo secundario (HPTS), sino también reduciendo la inflamación y el riesgo cardiovascular^{1,2,8-12}.

Existen muy pocos estudios que asocien una terapia dual –suplemento de vitamina D y activación selectiva de receptores de la vitamina D–, pero apuntan a un efecto beneficioso asociativo¹³⁻¹⁵. Con el presente estudio queremos evaluar el posible beneficio del tratamiento combinado de 25OHD o calcifediol y un activador selectivo del receptor de vitamina D, el paricalcitol, sobre el metabolismo óseo-mineral y marcadores inflamatorios, respecto al tratamiento único con cada uno de ellos, en un grupo de pacientes de HD tratados en nuestro hospital.

MATERIAL Y MÉTODOS

Se trata de un estudio prospectivo sobre 26 pacientes con enfermedad renal crónica en HD tratados en nuestro hospital en el año 2011. Aleatorizamos los pacientes en dos ramas de tratamiento; el grupo 1 (G1) incluye un total de 11 pacientes y el grupo 2 (G2), 15 pacientes. El G1 recibe tratamiento con paricalcitol oral a dosis de 1 µg/día. El G2 se trata con calcifediol 1 ampolla/sem (0,266 mg/sem = 16.000 U) por vía oral. Trascorridos 3 meses de tratamiento, al G1 se le añadió calcifediol y al G2, paricalcitol a las mismas dosis que las prescritas durante los tres primeros meses, manteniendo dichos tratamientos durante 3 meses más, hasta completar los 6 meses de seguimiento. La concentración de calcio en el baño de diálisis para todos los pacientes fue de 1,25 mmol/l (2,5 mEq/l; 5 mg/dl). Previo a la inclusión, 2 pacientes del G1 estuvieron en tratamiento con vitamina D durante 14 meses, y en 4 pacientes del mismo grupo se man-

tuvo este tratamiento durante 16 meses, respetando un período de lavado de 1 mes, antes del inicio del estudio. Las determinaciones analíticas se llevaron a cabo a los 0, 3 y 6 meses del estudio.

Pacientes

De los 26 pacientes estudiados, el 77 % eran hombres, con edad media de $62,3 \pm 10,1$ años. El 72 % de los pacientes del G1 eran varones, con edad media de $73,6 \pm 9,8$ años, frente al 73 % del G2, con edad media de $67,9 \pm 13,5$ años. Todos los pacientes se encontraban en programa crónico de HD, tres veces por semana, 4 horas/día. El 54 y el 66 % de los pacientes del G1 y G2, respectivamente, se encontraban en tratamiento con quelantes cálcicos, frente al 46 y el 34 % de los pacientes, respectivamente, que lo hacían con no cálcicos. A lo largo del estudio no se modificaron las dosis de quelantes en ningún momento. Tan solo uno y tres pacientes del G1 y G2 estaban tomando calcimiméticos. Nueve pacientes del G1 (81 %) se trataban con antihipertensivos, frente a doce (80 %) del G2. En cuanto a los agentes estimuladores de la eritropoyesis (AEE), el 81 y el 73 % del G1 y G2 los tenían prescritos, respectivamente. Ninguno mostró inestabilidad clínica y/o analítica los 6 meses previos a inclusión del estudio, no existiendo ningún proceso intercurrente durante el seguimiento que pudiese alterar los resultados. Como criterios de inclusión, se valoraron hormona paratiroidea (PTH) > 300 ng/ml, Calcio < 10 mg/dl, no existiendo criterio para los niveles de fósforo. Ambos grupos incluían pacientes diabéticos (G1, 1 paciente; G2, 2 pacientes), no estableciéndose ningún criterio de exclusión, salvo la estabilidad clínica y analítica ya mencionada.

Análisis de laboratorio

Extracción de muestras

La toma de sangre se realizó de manera sistemática en todos los pacientes en ayunas entre las 08.00 y 09.00 horas de la mañana. A cada paciente se le extrajeron 10 ml de sangre en tubos de vacío siliconados con filtro de gel de sílice sin anticoagulante para la obtención de suero, así como una muestra de 5 ml en tubo con ácido etilendiaminotetraacético (EDTA) (1 mg/ml), para la obtención de plasma. Los tubos de vacío fueron tubos Vacutainer® (Becton-Dickinson, Meylan, Cedex-France).

Todas las muestras se procesaron antes de que transcurriera una hora desde la extracción. Los tubos para la obtención de suero se dejaron coagular durante 20-30 minutos y posteriormente se centrifugaron a 2000 g a temperatura ambiente. El plasma obtenido del tubo EDTA se alícuotó en tubos Eppendorf® debidamente identificados y se congeló a -80 °C hasta su posterior procesamiento.

Parámetros bioquímicos

A todos los pacientes se les midió los niveles séricos de 25OHD mediante inmunoensayo específico quimioluminiscente automatizado en un iSYS® (IDS-iSYS Multi-Discipline Automated Analyser, Pouilly-en Auxois, France); la extracción del metabolito 25OHD se realizó con acetónitrilo intraequipo y posteriormente se detectó la vitamina D libre por quimioluminiscencia. La sensibilidad fue de 5 ng/ml con una reproductibilidad intraensayo menor de 10 % e interensayo menor del 15 %. La normalidad en suero de vitamina D se consideró entre 20-60 ng/ml. Las últimas guías americanas marcan como valor de insuficiencia 20 ng/ml.

El calcio y el fósforo séricos se midieron de manera automatizada en un ADVIA 1650 Analyzer® (Siemens HealthCare Diagnostics, Mannheim, Germany), rango de normalidad entre 8,1-10,7 mg/dl y 2,7-4,5 mg/dl, respectivamente.

Medimos la PTH mediante ensayo inmunológico específico tipo sándwich automatizado en un analizador Liaison de DiaSorin® (Deutschland, Dietzenbach) con la utilización de 2 anticuerpos monoclonales específicos: uno contra el fragmento 39-84 y otro contra el fragmento amino terminal 1-34 (Ensayo LIAISON® N-TACT® PTH, DiaSorin). Este ensayo reconoce la PTH intacta 1-84, pero tiene reacción cruzada con el fragmento 7-84 de reciente identificación y de significado clínico desconocido. Sensibilidad: 1 pg/ml. La reproductibilidad intraensayo e interensayo es de 2,6 y 5,8 %, respectivamente. Los valores normales en nuestra población son < 45 pg/ml.

La hemoglobina se cuantificó en un Gen-S Analyzer® (Beckman Coulter TM, Hialeah, FL USA), Coulter S+ Counter® (Coulter, Hialeah, FL USA). La insulina fue analizada mediante ensayo inmunológico específico tipo sándwich automatizado en un analizador Liaison de DiaSorin® (Deutschland, Dietzenbach) con la utilización de 2 anticuerpos monoclonales específicos. La sensibilidad de la prueba es de 0,2 mU/ml. Los coeficientes de variación intra e interensayo de la técnica son menores de un 4 y un 10 % respectivamente, asignándole como valores normales los comprendidos entre 2 y 17 mU/ml. La glucosa fue determinada de la misma manera que el calcio y el fósforo séricos.

También se tuvieron en cuenta los agentes eritropoyéticos, el índice de resistencia a los agentes estimuladores de la eritropoyesis (Hb/AEE) y el índice HOMA (*homeostasis model assessment*) como marcador de resistencia a la insulina.

Marcadores de remodelado óseo

La fosfatasa alcalina ósea se determinó mediante inmunoensayo en placa (EIA®) (Alkphase B kit, Metra Biosystems, Mountain View, CA, USA). La sensibilidad fue de 0,7 U/l.

Las variaciones intra e interensayo fueron de 3,5 y 6,2 %. Especificidad: ósea 100 %; hepática 3-8 %; placentaria: 0 %; intestinal: 0,4 %. Valores normales: 12-23 U/l.

El análisis del Pimp1 tuvo lugar mediante inmunoensayo específico quimioluminiscente automatizado en un iSYS® (IDS-iSYS® Multi-Discipline Automated Analyser, Pouilly-en Auxois, France); sensibilidad de 2 µg/l y reproductibilidad intraensayo e interensayo menor de 5 y 8 %, respectivamente.

Los Cross Laps se determinaron mediante ELISA (Nordic Bioscience Diagnostics, Herlev Hovedgade, Demark). Sensibilidad de 0,010 ng/ml; variabilidad intra e interensayo de 5,1 y 6,6 %, respectivamente. Los rangos de normalidad se estiman entre 0,142-0,522 ng/ml en hombre y 0,166-0,567 en mujer premenopáusica, encontrándose entre 0,251-0,761 en mujer posmenopáusica, aunque este último valor es más discutible.

Marcador de inflamación

A todos los pacientes se les midieron los niveles séricos de interleuquina 8 (IL-8) como marcador inflamatorio; se analizó usando un Kit R&D Systems® (Minneapolis, MN, USA).

Análisis estadístico

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico IBM SPSS® Statistics 19. Se realizó un estudio descriptivo y comparativo de los fármacos de las variables de la muestra aportando la media y la desviación típica. Se evaluaron las posibles diferencias estadísticas entre ambos fármacos en cada intervalo de tiempo, y también se estudió la evolución en el tiempo de cada uno de los fármacos; todo ello mediante la prueba *t* de Student. El nivel de significación a utilizar fue de 0,05.

RESULTADOS

La determinación de los niveles séricos de 25OHD en los pacientes a estudio, tanto en el G1 como en el G2, reflejan un déficit marcado de esta vitamina con una media de 13,67 ± 4,81 ng/ml en situación basal (G1: 12,27 ± 4,45 ng/ml, rango 10,50-21,34; G2: 15,07 ± 5,18 ng/ml, rango 9,45-24,90). La suplementación con calcifediol aislado permite corregir este déficit. El G1, tratado con paricalcitol hasta los 3 meses, muestra niveles de 25OHD de 12,27 ± 4,45 ng/ml inicial y 16,27 ± 12,73 ng/ml a los 3 meses, P no significativa. Tras suplementar durante los 3 meses siguientes con calcifediol oral a dosis de 16.000 U/sem, se consiguieron niveles de 35,36 ± 33,68 ng/ml en el sexto mes de su determinación. El G2, tratado con calcifediol desde el inicio, mostró niveles de

25OHD de 15,07 ± 5,18 ng/ml inicial, con ascenso marcado al tercer mes de tratamiento, siendo estos de 59,21 ± 26,50 ng/ml; *p* < 0,05. No se observó continuidad en la elevación de estos niveles cuando al tercer mes se añadió al tratamiento paricalcitol (41,35 ± 28,28 ng/ml) P no significativa. No se evidenció toxicidad ni efectos adversos tras recibir suplementos de vitamina D en ningún paciente a lo largo del estudio.

El G1 mostró diferencias significativas en los valores basales de PTH con respecto al G2 (566,15 ± 113,89 pg/ml frente a 389,20 pg/ml; *p* < 0,003). El G1, tratado con paricalcitol desde el inicio y hasta los tres meses, mostró un descenso significativo en los valores de PTH (566,15 ± 113,89 pg/ml inicial vs. 466,30 ± 159,94 pg/ml a los tres meses; *p* < 0,039) frente al G2, tratado durante este período con calcifediol, en el cual también se mostró descenso en los niveles de PTH, aunque de forma no significativa (389,20 pg/ml inicial frente a 366,60 ± 183,60 pg/ml a los tres meses; *p* < 0,607). A partir del tercer mes, cuando al G1 se le añade tratamiento con calcifediol, no se ve una continuidad en el descenso de la PTH (466,30 ± 159,94 pg/ml a los tres meses vs. 497,30 ± 253,36 pg/ml al sexto mes). El G2, tras incorporar tratamiento con paricalcitol a partir del tercer mes, no mostró cambios en los niveles de PTH (tabla 1).

Cuando se comparan los niveles de calcio sérico, en ambos grupos se observa un ascenso de estos a lo largo de todo el estudio. El G1 parte de niveles séricos de calcio de 8,65 ± 0,85 mg/dl siendo a los tres meses de 8,94 ± 0,72 mg/dl; *p* < 0,003. El G2 muestra niveles séricos basales de calcio de 8,73 ± 0,61 mg/dl y a los 3 meses de 8,94 ± 0,67 mg/dl; *p* < 0,004. A los 6 meses ambos muestran un ascenso en los niveles de calcio sérico, con respecto a los valores del tercer mes, aunque de forma no significativa (G1: 8,83 ± 0,79 mg/dl; *p* < 0,55 y G2: 9,12 ± 0,70 mg/dl; *p* < 0,15). Ninguno de los dos grupos mostró incrementos en los niveles de fósforo sérico al cabo de tres meses de tratamiento, con las dosis de fármaco usadas; G1: 6,35 ± 2,14 mg/dl; *p* < 0,39 inicial frente a 5,81 ± 0,87 mg/dl; *p* < 0,39 a los tres meses y G2: 4,72 ± 1,17 mg/dl; *p* < 0,93 inicial frente a 4,71 ± 1,09 mg/dl; *p* < 0,93 a los tres meses; sin embargo, sí se produjo un incremento en sus niveles tras asociar los dos fármacos, al sexto mes de tratamiento, de forma significativa en el G2 (4,71 ± 1,09 mg/dl al tercer mes, frente a 5,45 ± 1,15 mg/dl; *p* < 0,05 a sexto mes) y de forma no significativa en el G1 (5,81 ± 0,87 mg/dl al tercer mes, frente a 5,91 ± 0,82 mg/dl; *p* < 0,98 a sexto mes).

En cuanto a los marcadores de remodelado óseo, se midieron el Pimp 1, Cross Laps y fosfatasa alcalina (FA). Se observó una tendencia hacia una disminución en los marcadores óseos en el grupo del paricalcitol. El G1 muestra un descenso del Pimp 1 de 108 ± 56 µg/l al inicio, frente a 70 ± 40 µg/l al final del seguimiento; *p* < 0,001. El Cross Laps mostró un descenso no significativo, al igual que con la FA. En el G2, tratados inicialmente con calcifediol, solo se observa descenso

en el marcador Pinp de forma no significativa, no observándose cambios en el Cross Laps ($1,63 \pm 0,69$ pg/ml inicial frente a $1,77 \pm 0,91$ pg/ml, ni en la FA ($126,86 \pm 67,46$ U/l inicial frente a $126,26 \pm 93,07$ U/l) (tabla 1).

En la figura 1 queda reflejado el descenso muy significativo ($p < 0,0001$), tanto con paricalcitol como con calcifediol, del marcador inflamatorio IL-8, conocido biomarcador de riesgo cardiovascular. La asociación de ambos no mejora el descenso producido con cada fármaco aisladamente.

No encontramos diferencias significativas con la administración de paricalcitol ni calcifediol ni ambos asociados, en los valores de hemoglobina y en la dosis de eritropoyetina (EPO), si bien, y especialmente en el grupo que inicia tratamiento con paricalcitol, hay una mejoría de la sensibilidad a la EPO con un descenso en el índice de resistencia (figura 2). Una serie de pacientes más amplia probablemente hubiera encontrado diferencias significativas, quizás debidas a una mejoría de los parámetros inflamatorios.

El índice HOMA permite realizar estimaciones de resistencia insulínica y función de las células beta mediante las concentraciones de la glucosa y la insulina plasmáticas en ayunas¹³⁻¹⁵. Tras analizar este índice, vemos un descenso no significativo en los pacientes tratados con paricalcitol; no se ve este descenso, sin embargo, cuando el tratamiento es con calcifediol.

DISCUSIÓN

Como ya es sabido, los pacientes sometidos a terapia renal sustitutiva presentan frecuentemente niveles deficientes de 25OHD en sangre. Bajos aportes en la dieta, sumados a la disminución en la absorción intestinal y una situación de uremia, entre otros, contribuyen a este déficit^{13,14,16,17}. Las últimas recomendaciones de la S.E.N. para el manejo de las alteraciones del metabolismo óseo-mineral en pacientes con enfermedad renal crónica aconsejan la medición de niveles de vitamina D (calcidiol) para prevenir y tratar su frecuente insuficiencia o deficiencia. Marcan como niveles deficientes valores séricos por debajo de 15 ng/l; insuficientes, < 30 ng/l, y no está demostrado que valores por encima de 40 ng/l aporten algún beneficio.

En el presente estudio, nuestros pacientes reflejan esta situación. Los resultados descritos anteriormente muestran valores medios séricos de 25OHD de $13,67 \pm 4,81$ ng/ml. La falta de esta vitamina contribuye a una mayor progresión del HPTS^{18,19} y trastornos de la mineralización, por lo que su suplementación parece estar justificada, no existiendo consenso en la actualidad sobre su aporte a pacientes en programa crónico de diálisis, carentes en un alto porcentaje de esta vitamina. Los pacientes de nuestro estudio recibieron 1 ampolla/sem (16.000 U/sem) por vía oral de calcifediol; con esto, los niveles de vitamina D en el G1, tratado desde el tercer mes hasta el sexto, alcanzan niveles

Tabla 1. Modificación de las distintas variables a estudio en ambos grupos de tratamiento a lo largo del estudio

	Grupo 1 (Pc)			Grupo 2 (C)		
	Mes 0	Mes 3 (solo Pc)	Mes 6 (Pc + C)	Mes 0	Mes 3 (solo C)	Mes 6 (Pc + C)
Ca	$8,65 \pm 0,85$	$8,94 \pm 0,72^a$	$8,83 \pm 0,79$	$8,73 \pm 0,61$	$8,94 \pm 0,67^a$	$9,12 \pm 0,70$
P	$6,35 \pm 2,14$	$5,81 \pm 0,87$	$5,91 \pm 0,82$	$4,72 \pm 1,17$	$4,71 \pm 1,09$	$5,45 \pm 1,15^a$
PTH	$566,15 \pm 113,89$	$466,30 \pm 159,94^a$	$497 \pm 253,36$	$389,20 \pm 118,20$	$366,20 \pm 183,60$	$349,61 \pm 257,91$
25OHD	$12,27 \pm 4,45$	$16,27 \pm 12,73$	$35,36 \pm 33,68$	$15,07 \pm 5,18$	$59,21 \pm 26,50^{bc}$	$41,35 \pm 28,28^{bc}$
Pinp1	108 ± 56	83 ± 48^a	70 ± 40^b	118 ± 94	128 ± 112	103 ± 102
Crosslap	$2,00 \pm 0,44$	$1,62 \pm 0,63$	$1,63 \pm 0,60$	$1,63 \pm 0,69$	$1,61 \pm 0,83$	$1,77 \pm 0,91$
Fosfatasa alcalina	$126,72 \pm 46,26$	$130,90 \pm 79,96$	$124,63 \pm 56,52$	$126,86 \pm 67,46$	$120,80 \pm 80,91$	$126,26 \pm 93,07$
HOMA	2699 ± 2558	1839 ± 1505	1779 ± 1204	2604 ± 3924	3411 ± 3235	2489 ± 2519
IL-8	$856 \pm 2,10$	$73,74 \pm 85,0^b$	$77,42 \pm 93,8^b$	$1,168 \pm 2,42$	$43,83 \pm 36,39^b$	$42,77 \pm 66,81^b$
Hb	$11,77 \pm 0,96$	$12,27 \pm 1,12$	$11,77 \pm 0,91$	$11,58 \pm 1,21$	$11,79 \pm 1,57$	$12,05 \pm 1,28$
AEE	128 ± 150	116 ± 127	$99,09 \pm 95,75$	114 ± 118	102 ± 111	$111,07 \pm 119,19$
Hb/AEE	$11,10 \pm 12,87$	$9,73 \pm 10,35$	$8,76 \pm 8,50$	$9,95 \pm 10,49$	$9,66 \pm 11,26$	$9,66 \pm 11,09$

^a $p < 0,05$. ^b $p < 0,001$. ^c 3 meses vs. 6 meses P, no significativa.

25OHD: 25-hidroxi-vitamina D; AEE: agentes estimuladores de eritropoyesis; Hb/AEE: índice de resistencia a los agentes estimuladores de la eritropoyesis; C: calcifediol; Ca: calcio; Hb: hemoglobina; HOMA: *homeostasis model assessment*; IL-8: interleuquina 8; P: fósforo; Pc: paricalcitol; Pinp1: propéptido aminoterminal del procolágeno tipo 1; PTH: hormona paratiroidea.

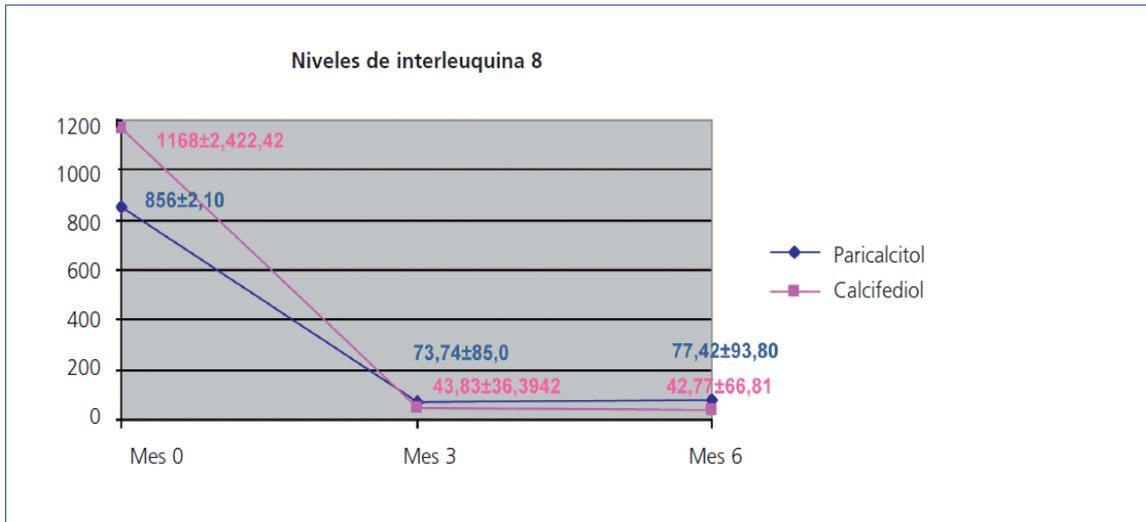


Figura 1. Variación en los niveles de interleuquina 8 a lo largo del estudio en el grupo paricalcitol con respecto al grupo tratado con calcifediol.

adecuados ($35,36 \pm 33,68$ ng/ml), y el G2, tratado desde el inicio con calcifediol al tercer mes, ya muestra niveles de $59,21 \pm 26,50$ ng/ml. Ninguno presentó toxicidad o efectos adversos por esta suplementación.

Sin embargo, la 25OHD no deja de ser una vitamina inactiva, precisando de la 25-hidroxilación y α hidroxilación a nivel hepático y renal respectivamente para poder ser activa, ambas deficientes en el enfermo renal, como es sabido. Este

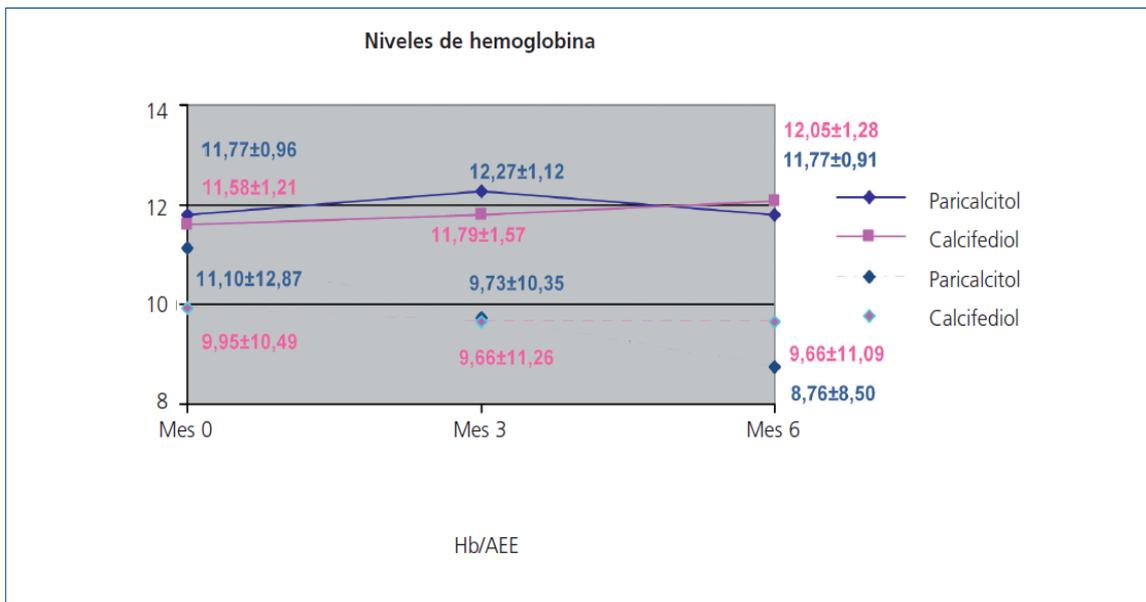


Figura 2. Correlación entre los niveles de hemoglobina e índice de resistencia a los agentes estimuladores de la eritropoyesis en el grupo tratado con paricalcitol y calcifediol a lo largo del estudio. Hb/AEE: índice de resistencia a los agentes estimuladores de la eritropoyesis.

hecho hace que el planteamiento de suplementar con una vitamina D activa a nuestros pacientes quede justificado. Estudios experimentales han demostrado que la combinación de calcidiol con paricalcitol proporciona mejores resultados antiinflamatorios y antifibróticos¹⁹. Valores bajos de 25OHD se han relacionado con una mayor mortalidad en pacientes incidentes de HD, describiéndose que el uso de derivados activos de la vitamina D parece hacer desaparecer dicha asociación^{3,5,13,14,16}.

Con los planteamientos descritos anteriormente, se realiza el presente estudio, cuyo objetivo fue determinar el posible efecto sobre el metabolismo óseo-mineral y marcadores inflamatorios que podía ejercer la asociación calcifediol, paricalcitol en pacientes de HD.

Nuestros pacientes reflejan un descenso en los niveles de PTH sérica tras tres meses de tratamiento con paricalcitol, si bien en nuestro estudio, al igual que en otros, se observa un ascenso en los niveles de calcio sérico en ambos grupos, siendo este más llamativo en el G2 a partir de la incorporación del paricalcitol. El descenso de PTH y P sérico fue más llamativo en el G1 al iniciar tratamiento con paricalcitol, diferencia que se puede explicar con respecto al G2 quizás por partir de un aparente grado más avanzado de HPTS. Es difícil separar, por lo tanto, a raíz de nuestros resultados el efecto directo que ejerce el paricalcitol sobre el control directo del HPTS de manera independiente a los niveles de calcio. Sin embargo, basándonos en las distintas publicaciones y a tenor de nuestros resultados, sí podemos decir que en nuestros pacientes el paricalcitol parece reducir los niveles de PTH. En ninguno de los grupos se produjeron niveles excesivamente altos de P, aunque sí se vio un ligero incremento en ambos grupos a partir del tercer mes de tratamiento.

Muchos son los estudios que asocian la enfermedad renal crónica con el aumento de riesgo cardiovascular. Addabbo et al.²⁰ demostraron una estrecha relación entre el incremento del grosor íntima-media, el número de placas y el diámetro interior de las arterias carotídeas con respecto a la elevación de los marcadores inflamatorios interleuquina 6 (IL-6), *matrix metalloproteinase-9* (MMP-9), *total plasminogen activator inhibitor-1* (tPAI) y *vascular endothelial growth factor* (VEGF). Actualmente contamos con distintos biomarcadores que pueden medir dicho riesgo en este tipo de pacientes, considerados a su vez como posibles mediadores directos en la patogénesis de la aterosclerosis; tal es el caso de IL-8, IL-6 y factor de necrosis tumoral alfa (TNF α) como marcadores inflamatorios, o la interleuquina 10 como antiinflamatoria^{8,11}. Asimismo, alteraciones en los monocitos y citoquinas derivadas de estos han sido implicadas en la patología inflamatoria existente en esta enfermedad. Múltiples estudios sugieren que la elevación de la IL-8, IL-6 y los niveles de TNF α se asocian con una mayor morbilidad y mortalidad en estos. Reducciones observadas en los perfiles de citoquinas séricas, que se producen tras la reposición con 25OHD en estos pacientes, apoyan nuestra hipó-

tesis de que la corrección de la deficiencia de vitamina D nutricional puede mejorar el fenotipo inflamatorio de los pacientes con enfermedad renal terminal a través de efectos no clásicos en los monocitos circulantes y posiblemente otros tejidos. Este hecho queda reflejado en un trabajo de Stubbs et al.¹⁵, donde tras suplementar con colecalciferol a siete pacientes en HD con niveles deficientes de 25OHD, además de incrementar en suero los niveles de esta hormona, los monocitos mostraron un aumento en la expresión del receptor para la vitamina D, disminución en las niveles de 1 alfa hidroxilasa y reducción en los niveles circulantes de citoquinas inflamatorias (IL-8, IL-6, TNF). Estos datos sugieren que la terapia con vitamina D tiene un efecto biológico en los monocitos circulantes y marcadores inflamatorios sobreañadidos, en los pacientes sometidos a terapia renal sustitutiva. Nuestros pacientes mostraron un descenso en los valores de la IL-8 con ambos tratamientos, marcador inflamatorio conocido y relacionado con un incremento de la calcificación vascular y morbimortalidad, como ya se ha mencionado. Asimismo, estos resultados también parecen asociarse a una mejor respuesta a los AEE y al índice de resistencia a la EPO, en probable relación con el descenso de la inflamación.

En una revisión sistemática y metanálisis, llevado a cabo por George et al.²¹, sobre el efecto de la suplementación con vitamina D sobre la glucemia, resistencia a la insulina, progresión de la diabetes y sus complicaciones, no se vio una mejoría significativa en la glucosa en ayunas, la hemoglobina glicosilada o resistencia a la insulina en los pacientes tratados con vitamina D, en comparación con el placebo. Estos resultados son superponibles a nuestros hallazgos en cuanto al beneficio de tratar con 25OHD o paricalcitol en ambos grupos y la resistencia a la insulina e índice HOMA^{22,23}.

Varias son las debilidades del presente trabajo. En primer lugar, el número de pacientes estudiados (11 + 15) es escaso y probablemente con series más amplias algunos resultados que no alcanzan significación estadística podrían ser significativos. La población, si bien es homogénea en cuanto a pertenecer a un solo centro y de edades similares, presenta sin embargo diferencias con desviaciones estándar elevadas en algunos parámetros. Como ventaja de este trabajo, hallamos que, después de observar el efecto aislado de cada fármaco durante tres meses, se incluye el mismo esquema de tratamiento en los tres meses finales del estudio. Por otra parte, no hay ningún trabajo clínico en la literatura que asocie ambos tratamientos midiendo los efectos sobre marcadores del metabolismo mineral, inflamación y anemia.

A tenor de nuestros resultados, concluimos por lo tanto que los suplementos orales de calcifediol en pacientes en HD parecen ser una medida segura que permite reducir el déficit de vitamina D. El aporte suplementario de un activador selectivo del receptor de la vitamina D, en este caso el paricalcitol, parece lograr un mejor control del HPTS en comparación con el calcifediol, reduciendo por sí solo los marcadores de remo-

delado óseo. No podemos concluir con esta serie que la asociación de calcifediol a activador selectivo de la vitamina D mejore los resultados que cada producto tiene por separado. Es evidente que un estudio prospectivo, con más número de pacientes, es necesario para responder a esta pregunta.

Conflictos de interés

Los autores declaran que no tienen conflictos de interés potenciales relacionados con los contenidos de este artículo.

REFERENCIAS BIBLIOGRÁFICAS

1. Baeke F, Takiishi T, Korf H, Gysemans C, Mathieu C. Vitamin D: modulator of the immune system. *Curr Opin Pharmacol* 2010;10:482-96.
2. Tanaka M, Tokunaga K, Komaba H, Itoh K, Matsushita K, Watanabe H, et al. Vitamin D receptor activator reduces oxidative stress in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Ther Apher Dial* 2011;15(2):161-8.
3. Levin A, Li YC. Vitamin D and analogues: do they protect against cardiovascular disease in patients with kidney disease? *Kidney Int* 2005;68:1973-81.
4. Mathew S, Lund RJ, Chaudhary LR, Geurs T, Hruska KA. Vitamin D receptor activators can protect against vascular calcification. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:1509-19.
5. Wolf M, Shah A, Gutierrez O, Ankers E, Monroy M, Tamez H, et al. Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney Int* 2007;72(8):1004-13.
6. Gómez-Alonso C, Naves-Díaz ML, Fernández-Martín JL, Díaz-López JB, Fernández-Coto MT, Cannata-Andía JB. Vitamin D status and secondary hyperparathyroidism: the importance of 25-hydroxyvitamin D cut-off levels. *Kidney Int Suppl* 2003;(85):S44-8.
7. Torregrosa JV, Bover J, Cannata J. Guías S.E.N. Recomendaciones de la Sociedad Española de Nefrología para el manejo de las alteraciones del metabolismo óseo-mineral en los pacientes con enfermedad renal crónica (S.E.N.-MM). *Nefrología* 2011;31 Suppl 1:3-32.
8. Eleftheriadis T, Antoniadis G, Liakopoulos V, Kartsios C, Stefanidis I, Galaktidou G. Paricalcitol reduces basal and lipopolysaccharide-induced (LPS) TNF- α and IL-8 production by human peripheral blood mononuclear cells. *Int Urol Nephrol* 2010;42:181-5.
9. Husain K, Suarez E, Isidro A, Ferder L. Effects of paricalcitol and enalapril on atherosclerotic injury in mouse aortas. *Am J Nephrol* 2010;32:296-304.

10. Kovesdy CP, Lu JL, Malakauskas SM, Andress DL, Kalantar-Zadeh K, Ahmadzadeh S. Paricalcitol versus ergocalciferol for secondary hyperparathyroidism in CKD stages 3 and 4: a randomized controlled trial. *Am J Kidney Dis* 2012;59(1):58-66.
11. Panichi V, Maggiore U, Taccola D, Migliori M, Rizza GM, Consani C, et al. Interleukin-6 a stronger predictor of total and cardiovascular mortality than C-reactive protein in haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:1154-60.
12. Alborzi P, Patel NA, Peterson C, Bills JE, Bekele DM, Bunaye Z, et al. Paricalcitol reduces albuminuria and inflammation in chronic kidney disease: a randomized double-blind pilot trial. *Hypertension* 2008;52(2):249-55.
13. Melamed ML, Michos ED, Post W, Astor B. 25-Hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. *Arch Intern Med* 2008;168:1629-37.
14. Zittermann A, Gummert JF, Börgermann JB. Vitamin D deficiency and mortality. *Curr Opin Clin Nutr Metab Care* 2009;12(6):634-9.
15. Stubbs JR, Idiculla A, Slusser J, Menard R, Quarles LD. Cholecalciferol supplementation alters calcitriol-responsive monocyte proteins and decreases inflammatory cytokines in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 2010;21(2):353-61.
16. Andress DL. Vitamin D in chronic kidney disease: a systemic role for selective vitamin D receptor activation. *Kidney Int* 2006;69(1):33-43.
17. Mehrotra R, Kermah D, Salusky IB, Wolg MS, Thadhani RI, Chiu YW, et al. Chronic kidney disease, hypovitaminosis D and mortality in the United States. *Kidney Int* 2009;76:977-83.
18. Sprague SM, Coyne D. Control of secondary hyperparathyroidism by vitamin D receptor agonists in chronic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5:512-8.
19. Dusso A, Arcidiacono MV, Yang J, Tokumoto M. Vitamin D inhibition of TACE and prevention of renal osteodystrophy and cardiovascular mortality. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2010;121(1-2):193-8.
20. Addabbo F, Mallamaci F, Leonardis D, Tripepi R, Tripepi G, Goligorsky MS, et al. Searching for biomarker patterns characterizing carotid atherosclerotic burden in patients with reduced renal function. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22(12):3521-6.
21. George PS, Pearson ER, Witham MD. Effect of vitamin D supplementation on glycaemic control and insulin resistance: a systematic review and meta-analysis. *Diabet Med* 2012;29(8):e142-50.
22. Matthews D, Hosker J, Rudenski A, Naylor B, Treacher D, Turner R. Homeostasis model assessment: insulin resistance and B-cell function from fasting plasma glucose and insulin concentrations in man. *Diabetologia* 1985;28:412-9.
23. Haffner S, González C, Miettinen H, Kennedy E, Stern M. A prospective analysis of the HOMA model. The Mexico City Diabetes Study. *Diabetes Care* 1996;10:1138-41.

Enviado a Revisar: 25 May. 2012 | Aceptado el: 13 Sep. 2012

10. ABREVIATURAS

ADMA	Dimetilarginina D asimétrica
AGEs	Productos de glicosilación avanzada
ARVD	Activador del receptor de la vitamina D
AsVDR	Activadores selectivos de los receptores de vitamina D
Ca	Calcio
CaR	Receptor del calcio
CAT	Catalasa de los peroxisomas
CMLV	Células de musculo liso vascular
DP	Dialisis Peritoneal
ECV	Enfermedad Cardiovascular
EO	Estrés Oxidativo
EPO	Factores estimuladores de la Eritropoyesis
ERC	Enfermedad renal cronica
ERCT	Enfermedad renal cronica terminal
FA	Fosfatasa Alcalina
FGe	Filtrado glomerular estimado
FGF-23	Factor de crecimiento de fibroblastico 23
G6PDH	Glucosa 6-fosfatasa deshidrogenasa
GPx	Glutación peroxidasa
GSH	Glutation Reductasa
HD	Hemodialisis
HPTS	Hiperparatiroidismo secundario
HVI	Hipertrofia ventricular izquierda
ICC	Insuficiencia cardíaca congestiva
IDO	Indolamida 2,3-dioxygenasa
IL-1	Interleuquina 1
IL-2	Interleuquina 2
IL-4	Interleuquina 4
IL-6	Interleuquina 6
IL-8	Interleuquina 8
IL-10	Interleuquina 10
IL-12	Interleuquina 12
IL-16	Interleuquina 16

IMC	Índice de masa corporal
INF- γ	Interferon gamma
Linfocito Th	Linfocito T helper
MDA	Malondialdehido
MM	Metabolismo mineral
N	Óxido nítrico
NO	Óxido Nítrico
NO-	Anión nitroxilo
$^1\text{O}_2$	Oxígeno singlete
O$_2$-	Radical superóxido
O$_3$	Ozono
OH	Radical hidroxilo
25(OH) D$_3$	Calcifediol
1,25(OH)$_2$ D$_3$	Calcitriol
ONOO-	Peroxinitrito
OOH	Radical hidroperoxilo
P	Fosforo
PCR	Proteína C reactiva
PTH	Hormona Paratiroidea
RL	Radicales Libres
RNS	Especies reactivas de Nitrogeno
ROO-	Radical peroxilo
ROS	Radicales libres de oxígeno
RRX	Receptor retinoide X
SOD	Superóxido dismutasa
TBARS	Ácido tiobarbitúrico
TFG	Tasa de Filtrado Glomerular
TGF- α	Factor transformador de crecimiento alfa
TMO	Trastorno Mineral y Óseo
TNF- α	Factor de necrosis tumoral alfa
VDR	Receptor para la vitamina D
Vitamina D$_2$	Ergocalciferol
Vitamina D$_3$	Colecalciferol
VSG	Velocidad de sedimentación globular