

TESIS DOCTORAL

VALORACIÓN DE HIPOFOSFATEMIA EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA DE CANTABRIA

PhD THESIS

ANALYSIS OF HYPOPHOSPHATEMIA IN PEDIATRIC POPULATION IN CANTABRIA

AUTOR

Pablo Docio Pérez

DIRECTORES

Dr José Antonio Riancho Moral

Dr Domingo González-Lamuño Leguina

UNIVERSIDAD DE CANTABRIA

Escuela de Doctorado de la Universidad de Cantabria

Santander, mayo 2023

AGRADECIMIENTOS

Quisiera expresar mi más sincero agradecimiento a los Directores de esta Tesis, los Doctores Domingo González-Lamuño Leguina y José Antonio Riancho Moral, por su dedicación en la elaboración de este proyecto.

A los compañeros del Departamento de Bioquímica del Hospital de Valdecilla, los Doctores María Teresa García Unzueta y Bernardo Alio Lavín Gómez.

A los compañeros y amigos Carolina Sañudo y Álvaro del Real, que colaboraron de forma desinteresada en mis inicios en la labor de investigación, así como a Sandra Llorente, compañera de profesión y amiga, y que ha constituido un apoyo fundamental para poder realizar este trabajo.

A mi familia, especialmente a mis padres y mi hermano, por haberme inculcado el valor del esfuerzo.

Y, por último, a todas aquellas personas de una manera u otra han colaborado en la elaboración de esta Tesis.

ÍNDICE

VALORACIÓN DE HIPOFOSFATEMIA EN POBLACIÓN PEDIÁTRICA DE CANTABRIA	1
1. Introducción	6
1.1 Estructura	7
1.2 Distribución.....	7
1.3 Fuentes alimentarias y requerimientos	8
1.4 Funciones.....	15
1.4.1 Papel del fósforo en la mineralización ósea	16
1.4.2 Papel del fósforo en el desarrollo de funciones celulares.....	20
1.4.3 Papel del fósforo como sistema tampón urinario	23
1.5 Regulación de la fosfatemia	25
1.5.1 Absorción intestinal	25
1.5.2 Regulación renal	30
1.5.3 Regulación ósea.....	38
1.5.4 Resumen de la homeostasis del fósforo	41
1.6 Trastornos en la regulación del fósforo	43
1.6.1 Hiperfosfatemia.....	43
1.6.2 Hipofosfatemia.....	46
1.6.3 Hipofosfatemia en población pediátrica.....	51
2. Justificación, Hipótesis y Objetivos.....	53
2.1 Justificación del estudio.....	53
2.2 Hipótesis.....	54
2.3 Objetivos.....	54
3. Material y métodos	55
3.1 Población estudiada	55
3.2 Determinaciones analíticas.....	55
3.2.1 Calcio, Albúmina, Fósforo, Urea, Creatinina, Fosfatasa Alcalina	56
3.2.2 25-hidroxicolecalciferol, 1- α ,25-dihidroxicolecalciferol	56
3.2.3 Urea, Creatinina, Fósforo y Calcio en orina.....	57
3.2.4 FGF-23.....	57
3.3 Fases de estudio y definiciones	57
3.3.1 Estudio observacional retrospectivo	57
3.3.2 Estudio prospectivo	58

3.3.3 Definiciones.....	59
3.4 <i>Análisis estadístico</i>	59
4. Resultados	61
4.1 <i>Distribución de los casos y de la fosfatemia</i>	61
4.2 <i>Determinaciones analíticas</i>	64
4.3 <i>Categorización de los pacientes</i>	65
4.3.1 <i>Enfermedad tumoral. Tratamiento con quimioterápicos</i>	67
4.3.2 <i>Hipofosfatemia por fármacos</i>	68
4.3.3 <i>Enfermedad metabólica ósea de la prematuridad</i>	68
4.3.4 <i>Endocrinopatías</i>	69
4.4 <i>Candidatos con hipofosfatemia de causa oculta</i>	76
5. Discusión	77
5.1 <i>Límites de normalidad de fosfatemia en Pediatría</i>	77
5.2 <i>Hipofosfatemia en pediatría</i>	79
5.3 <i>Endocrinopatías</i>	88
5.4 <i>Hipofosfatemia de causa oculta</i>	97
6. Conclusiones.....	98
7. Bibliografía	99
8. Anexos.....	127

1. Introducción

El fosfato es un elemento esencial para el funcionamiento celular. Es el responsable de un grupo considerable de funciones cruciales, entre ellas, la formación de membranas celulares y hueso, el almacenamiento y formación de moléculas energéticas, así como la generación de nucleótidos necesarios para el depósito de información genética y la señalización celular.

Su concentración normal en plasma es de 2,5 a 4,5 mg/dl (0,8-1,45 mmol/l; 1 mg/dl = 0,32 mmol/l). Esta estrecha regulación se puede ver modificada en función de una serie de parámetros: a) edad (es más alto en niños que en adultos), b) momento del día (concentraciones más bajas cerca de mediodía), c) estación del año, d) hormonas (fundamentalmente calcitriol, parathormona y FGF-23) y e) otras condiciones, como el pH (la ingesta de carbohidratos o el aporte de soluciones con glucosa en sujetos en ayunas puede disminuir la fosfatemia al inducir la entrada de P a la célula).

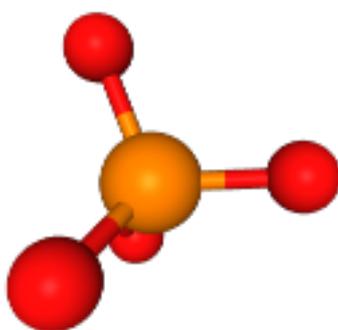
Si nos centramos en la concentración considerada como normal en niños, no existen puntos de corte precisos establecidos, motivado fundamentalmente por los cambios en la velocidad de crecimiento que experimentan éstos durante los primeros años de vida. Siguiendo esta misma línea, se ha tratado de establecer diferentes límites de normalidad en función de la edad, pero existen discrepancias en los estudios publicados.

Por otro lado, aunque la etiología de la hipofosfatemia es múltiple, en muchas ocasiones es desconocida, especialmente cuando la hipofosfatemia es leve. Un porcentaje importante se deben a trastornos adquiridos no catalogados, pero los desórdenes genéticos también constituyen una causa significativa de hipofosfatemia leve de origen desconocido.

Estos argumentos han estimulado nuestra idea de realizar un estudio retrospectivo en los niños de nuestra Comunidad en los últimos 20 años, para tratar de identificar aquéllos con cifras de fósforo significativamente bajas, catalogar las principales causas de hipofosfatemia en nuestra cohorte, así como intentar detectar sujetos con hipofosfatemia mantenida en el tiempo que pudiera obedecer a una causa genética.

1.1 Estructura

En los organismos vivos, el fósforo se encuentra asociado a otros elementos componiendo aniones, puesto que en su forma libre constituye un mineral altamente reactivo. De este modo, se agrupa con otras moléculas, como puede ser el oxígeno¹, y ello le permite ser estable cuando se encuentra diluido en un medio acuoso como la sangre, mediante la formación de aniones fosfato. Esto le posibilita ser soluble a temperatura estándar y transportarse a lo largo de los tejidos. En condiciones de pH fisiológico (7,40), el fosfato se encuentra en forma de iones libres de fosfato inorgánico, llamados también ortofosfatos, fundamentalmente como HPO_4^{2-} y H_2PO_4^- , en un ratio de 4:1^{2,3}, y cambia en condiciones de acidificación o alcalinización en el suero, siempre buscando un equilibrio³.



Anión fosfato (PO_4^{3-})

1.2 Distribución

El fósforo supone aproximadamente el 0,6% de la composición por peso de animales y plantas⁴. En el cuerpo humano se considera el segundo mineral más abundante, representando aproximadamente un 0,5% del peso en recién nacidos^{5,6}, y un 1% del peso corporal de adultos (700 gr)⁷. Si atendemos a su distribución en el organismo, se trata de un anión predominantemente intracelular, con una concentración dentro de las células 100 veces superior a la presente en plasma⁸. Aproximadamente un 85% se encuentra en el esqueleto en forma de cristales de hidroxiapatita, un 14% en el interior de las células y el 1% restante en el espacio extracelular⁹. En el espacio intracelular está presente fundamentalmente en forma de ácidos nucleicos y nucleoproteínas², mientras que en los fluidos extracelulares lo podemos encontrar unido a proteínas, formando complejos junto con el sodio, magnesio y calcio, o bien en forma de fosfato inorgánico libre, siendo esta última forma en la que más frecuentemente se encuentra^{8,10}. De

hecho, aproximadamente el 85-90% del fosfato sérico está en su forma libre y puede ser filtrado en los riñones, mientras que el 10-15% está unido a proteínas¹⁰.

En la práctica clínica habitual, los procedimientos que se emplean en laboratorio para evaluar los niveles de fosfatemia se encargan de medir los niveles de fosfato inorgánico presente en suero¹¹. Por otro lado, los valores de fosfatemia se expresan a menudo en forma de miligramos por decilitro (mg/dl), en lugar de en miliequivalentes por litro (mEq/L), a diferencia de lo que ocurre con otros electrolitos, como el sodio o el potasio¹¹. Esto se debe a que sus cargas eléctricas pueden variar mucho en función del pH en el que se encuentre el medio líquido en el que se encuentran, como se ha mencionado previamente, y por tanto su medición en miliequivalentes se ve seriamente afectada^{10,11}.

1.3 Fuentes alimentarias y requerimientos

Se conoce que el fósforo está presente en prácticamente todos los organismos vivos, por lo que forma parte de muchos de los alimentos que ingerimos en nuestra dieta. En general, la principal vía de obtención del mismo es a través de las proteínas. Las dos principales fuentes son la ingesta de proteínas vegetales y animales para la adquisición de fosfato orgánico, y los aditivos empleados para la conservación de los alimentos para obtener fosfato inorgánico¹².

Habitualmente, los alimentos con mayor cantidad de fósforo son aquellos con alto contenido proteico, como la leche y otros productos lácteos, la carne, incluyendo las aves de corral, el pescado y las legumbres. De hecho, en una dieta occidental, aproximadamente el 50% de los requerimientos de fósforo se obtienen a través de proteínas de origen animal. En las sociedades occidentales, aproximadamente el 20-30% del fósforo en la dieta procede de productos lácteos, y otro 20-30% del resto de proteínas de origen animal (carne roja, pollo, pescado, etc)¹³.

Por otro lado, el fósforo es uno de los principales elementos de los conservantes empleados para la preservación de los alimentos¹². Así, fuentes comunes de fosfato inorgánico son los cereales, las bebidas o los congelados.

Es importante remarcar que en los últimos 20 años hubo una modificación en la manera de que los organismos internacionales establecieran recomendaciones nutricionales de diferentes elementos. En el pasado, se usaba el término Cantidad Diaria Recomendada (*Recommended Dietary Allowance, RDA*) para estimar el consumo diario de los alimentos. Sin embargo, en la actualidad se emplea el concepto Valores de Referencia Nutricionales (*Dietary Reference Intakes, DRI*), en los que no sólo se engloba la noción de la cantidad recomendada, sino que introduce tres nuevos términos: el nivel máximo de tolerancia (*Tolerable Upper Intake Level, UL*), que indica el nivel a partir del cual los potenciales efectos adversos del alimento ingerido pueden aparecer; los requerimientos medios calculados (*Estimated Average Requirement, EAR*), que indica la cantidad de un alimento mínima necesaria para cumplir los requerimientos del 50% de una población sana; y por último, la ingesta adecuada (*Adequate Intake, AI*), que hace referencia al nivel que los expertos consideran adecuados para los requerimientos de un alimento determinado. Este término suele emplearse en situaciones en las que los datos

conocidos hasta el momento sobre un determinado elemento son insuficientes por no haber estudios que lo analicen. Por ejemplo, es frecuente que las organizaciones reguladoras empleen este último concepto en el caso de los lactantes, un grupo de edad en el cual las recomendaciones de los expertos se basan en estimaciones observadas, y no en datos concretos.

A partir de lo mencionado previamente, Allison et al¹⁴ en 1998 comenzaron a postular la necesidad de emplear el concepto de DRI y no de RDA para establecer recomendaciones dietéticas adecuadas, en base a criterios más específicos que permitan el uso de análisis estadísticos más potentes, que los utilizados hasta entonces, considerando que sólo con los valores de RDA no era suficiente. Entre otras cosas, incluyen la necesidad de establecer recomendaciones específicas para situaciones que pudieran aumentar el riesgo de enfermedades renales, óseas o cardiovasculares, así como tener en cuenta la biodisponibilidad de cada nutriente en función de la edad o determinadas condiciones médicas (embarazo, lactancia, etc.). En cuanto al empleo individual del término AI, en los últimos años la gran mayoría de organizaciones, como la European Food Society Authority (EFSA), usan este concepto para analizar y proponer los requerimientos nutricionales de los alimentos en el grupo de edad inferior a 1 año.

En cuanto a las necesidades nutricionales de fósforo, existen variaciones en función de los países y sociedades que analicemos, así como dependiendo de otras variables, como el sexo. Las asociaciones internacionales encargadas de establecer estas recomendaciones reconocen que resulta difícil establecer los valores de referencia en la dieta, debido a la existencia de una amplia variabilidad de la absorción del fósforo, así como de las pérdidas que tienen lugar por vía urinaria y fecal.

Si nos centramos en el continente europeo, los países nórdicos definen un valor de referencia de 600 mg al día en población adulta, sin establecer diferencias entre hombres y mujeres¹⁵. Este valor se ajusta al de otros países europeos, como Alemania, Francia u Holanda, en los cuales se sitúa en torno a los 700 mg diarios; en estos últimos países tampoco se marcan diferencias significativas para el consumo de fósforo entre hombres y mujeres¹⁶⁻¹⁸.

En el caso de la población infantil, por el contrario, existe cierta controversia. En los primeros 4-6 meses de vida no existen recomendaciones estrictas publicadas, lo cual dificulta el manejo de este grupo de edad. El aspecto fundamental tiene que ver con que las cantidades de fósforo difieren en función del tipo de leche (leche materna, leche de fórmula, leche de vaca, leche de soja). En el caso de la leche de soja, al estar el fósforo presente en forma de fitatos, la biodisponibilidad es menor que en otros productos¹⁹. Además, a medida que la lactancia materna se va consolidando, las concentraciones de fósforo en la misma van decreciendo²⁰.

Otro dato esencial a tener en cuenta es que la cantidad de fósforo presente en la leche materna dependerá de la ingesta de este elemento por parte de la madre. Jones et al²¹ y Yin et al²², en dos análisis diferentes, evaluaron la asociación entre la ingesta materna de fósforo y la densidad mineral ósea en niños en una población de Tasmania. Concluyeron que existía una diferencia estadísticamente significativa en la densidad mineral del cuello femoral y de las vértebras lumbares en función de la ingesta materna de fósforo, aunque esas diferencias no se observaban al evaluar la densidad mineral corporal total.

Cuando se inicia la alimentación complementaria, resulta más asequible el cálculo de las cantidades ingeridas de fósforo, y es por este motivo por el que las recomendaciones se hacen a partir de los 4-6 meses de edad, momento en el cual se introducen los alimentos complementarios. Si nos centramos en los países nórdicos, han implantado cuatro rangos de edad: 6-12 meses, 1-5 años, 5-10 años y de 10 a 17 años. Otros países europeos, sin embargo, introducen un quinto rango de edad entre los 4 y 6 años. Por lo general, todos ellos coinciden en que los requerimientos de fósforo son superiores a medida que se incrementa la edad de los niños, debido al crecimiento óseo progresivo que experimentan, así como por el crecimiento de otros tejidos, cuya formación depende de las cantidades de fósforo del organismo.

Incluso algunos de ellos sugieren que durante la adolescencia los requerimientos deben ser superiores a los de la población adulta. De este modo, Alemania, Austria y Suiza proponen unos requerimientos de 800 mg diarios en el rango de 7 a 10 años, y de hasta 1250 mg en la población adolescente, muy por encima de los 700 mg recomendados en población adulta¹⁸. Los franceses, sin embargo, determinan requerimientos similares en adolescentes y en adultos¹⁶.

Es por ello que no existe consenso para establecer recomendaciones al respecto. EFSA²³, a raíz de los datos mencionados previamente, propone una ingesta de fósforo de 160 mg al día entre los 7 y 11 meses; 250 mg entre los 1-3 años; 440 mg entre los 4-10 años; 640 mg entre los 11-17 años, y 550 mg en población adulta. En Estados Unidos, las autoridades proponen un consumo en adultos de aproximadamente 700 mg al día²⁴.

Sin embargo, si nos centramos en las cantidades de fósforo que se ingieren de media, EFSA, a raíz de la recogida de datos en encuestas realizadas en países europeos, estima que la ingesta media de fósforo en estos países varía entre 265 y 531 mg/día en lactantes, entre 641 y 973 mg/día en niños 1-3 años, entre 750 y 1202 mg/día en niños 3-10 años, 990-1601 en aquellos de edades comprendidas entre 10 y 18 años, y entre 1000 y 1767 en población adulta. Esto significa que las cantidades ingeridas son superiores a las recomendadas. Asimismo, en las últimas décadas se ha incrementado llamativamente el uso de aditivos con fósforo presentes en alimentos procesados. Incluso las principales fuentes de datos que recogen los contenidos de los alimentos de la dieta, como el Departamento de Agricultura de los Estados Unidos, no reflejan de forma precisa las cantidades de fósforo presentes en algunos de los alimentos más procesados, debido a cambios continuos en las formulaciones de los aditivos que se

emplean¹³. En la misma línea, y en clave de población americana, hay un incremento superior al 30% en las últimas tres décadas en las visitas a restaurantes y establecimientos de comida rápida, y con ello un aumento significativo en el consumo de alimentos procesados y con elevado contenido de aditivos fosfóricos²⁵.

Es por ello que en los últimos años algunos trabajos han postulado que las cantidades de fósforo ingeridas por la población general están siendo infraestimadas. Oening et al²⁶ diseñaron un estudio para comparar las ingestas de calcio y fósforo a partir de 20 voluntarios que ingerían la misma dieta durante 24 horas, y examinándose con un software de análisis químico. Demostraron que mientras el contenido de calcio ingerido que se estimaba era similar al analizado por el software, las cantidades de fósforo que se calculan como presentes en los alimentos infraestimaban en más de un 20% el contenido real evaluado por el análisis químico. En la misma línea, existen estudios que postulan que las cantidades de fósforo ingeridas se han incrementado entre un 10 y un 15% en los últimos 20 años, y que esto está provocado fundamentalmente por el aumento en el uso diario de aditivos. Vorland et al,²⁷ en un estudio en el que analizaba los niveles de fosfatemia en función de los suplementos de calcio empleados en niñas adolescentes, demostró que había hasta un 40% de diferencia entre las cantidades de fósforo que se presumía que se ingerían a partir de bases de datos nacionales y las cantidades reales examinadas por maquinaria química. Bell et al²⁸ demostraron que el uso de determinados conservantes en la dieta podría aumentar la ingesta de fósforo diario entre 979 y 2124 mg al día, y otros autores, como Greger et al²⁹, sugieren que los aditivos alimentarios suponen un incremento medio diario en la ingesta de fósforo de aproximadamente 500 mg, tanto en Estados Unidos como en países occidentales.

Calvo et al³⁰, en otra de sus publicaciones, indica que una de las principales razones de esta falta de conocimiento radica en que la propia *Food and Drug Administration (FDA)* no obliga a incluir en el etiquetado las cantidades de fósforo, sino solamente la presencia o no de aditivos con fosfato, mientras que sí obliga a la inclusión de las cantidades de sodio o calcio presentes en cada alimento. Además, en los últimos años las cantidades de aditivos fosfóricos presentes en los alimentos procesados son cada vez mayores, puesto que este tipo de conservantes permiten almacenar más tiempo los alimentos, o dotarlos de un mejor sabor o tiempos de preparación más cortos.

En el caso de los niños, este ascenso ha sido más tardío, aumentando exponencialmente en los últimos años. En Estados Unidos, la ingesta de este elemento es recogida, junto con muchos otros, en la Encuesta Nacional de Salud y Nutrición, comparando las cantidades ingeridas diariamente con las recomendaciones dietéticas. En la publicación realizada en 2006³¹, demostraron que estas cantidades son superiores a las requeridas en todos los grupos de edad en la población pediátrica estadounidense.

Desde hace varios años, se ha propuesto el fosfato inorgánico sérico como marcador para evaluar la adecuación de las necesidades de fósforo diarias, y por tanto poder establecer los requerimientos nutricionales del mismo en la dieta³². Sin embargo, también se conoce que existen múltiples mecanismos que controlan la homeostasis del fósforo en la sangre, y que lo mantienen en rangos estrechos. A raíz de ello, se ha intentado establecer si existe una relación significativa entre las cantidades ingeridas de fósforo y los niveles de fosfato inorgánico en la sangre. De Boer et al³³, a través de los datos recogidos en la encuesta nutricional nacional en Estados Unidos, demostraron que, si bien existe una relación significativa, ésta es mínima, pues concluyen que por cada 500 mg de fósforo que se incorporan a la dieta, esto se traduce en un incremento de 0,03 mg/dl en los niveles de fosfato inorgánico. Es decir, por cada 500 mg de fósforo ingeridos, la fosfatemia se modifica en aproximadamente un 1%. En otros análisis, sólo se han visto incrementos de 0,05 mg/dl por cada 1000 mg de fósforo ingeridos, y únicamente cuando estos resultados se ajustan por edad, sexo y raza³⁴. Existen estudios en los que, sin embargo, no encontraron relación alguna, como el desarrollado por Mataix et al³⁵. A través de un análisis realizado a pacientes entre 25-60 años, y evaluando su dieta durante un período de 48 horas, postularon que no existía relación entre los niveles de fosfatemia y las cantidades de fósforo ingeridas.

Es por ello que organizaciones como la EFSA no recomiendan el empleo del fosfato inorgánico sérico como marcador de los requerimientos nutricionales de fósforo. Otros órganos reguladores, como la Academia Americana de Ciencias, a través de un comité evaluador de las necesidades nutricionales de diversos alimentos, emitieron un documento en 1997 en el cual sugieren que los niveles de fosfatemia sí podrían emplearse como marcador de ingesta de fósforo, pero sólo en la población adulta, y que resulta difícil establecer el rango de normalidad de los requerimientos del mismo para mantener unos niveles adecuados de fosfatemia en sangre²⁴.

La razón de esta falta de consenso probablemente se deba no sólo a la estricta regulación a la que se ve sometido el fósforo sérico para mantener su homeostasis, sino también al momento del día en el que se realice la extracción de sus niveles.

Sin embargo, el fósforo, como ocurre con otras sustancias en el organismo, sufre modificaciones en sus niveles en sangre que siguen un ritmo circadiano³⁶.

Así, se ha demostrado que sujetos sanos que ingieren cantidades normales de fósforo, exhiben cambios en los niveles de fosfatemia caracterizados por un descenso durante las primeras horas de la mañana, que alcanzan un valle aproximadamente a las 11 horas, seguidos de un aumento progresivo de éstos hasta alcanzar un nivel de normalidad aproximadamente a las 16 horas, y un pico a las 0,30 horas respectivamente^{37,38}. Sin embargo, esta rutina puede verse modificada en función de los niveles de fósforo ingeridos en la dieta. Así, Jubiz et al³⁹ demostraron que en aquellos sujetos en los cuales se realiza ayuno durante 24 horas, el pico nocturno de fosfatemia se ve abolido.

Por otro lado, Portale et al³⁶ realizaron un análisis en el cual evaluaron a seis adultos con edades comprendidas entre los 26 y 40 años, modificando las cantidades de fósforo administradas en la dieta. Los nueve primeros días mantuvieron ingestas de aproximadamente 1500 mg de fósforo, seguidos de 10 días con una restricción del

mismo a 500 mg diarios, y finalmente otros 10 días ingiriendo cantidades superiores a la normalidad (3000 mg diarios). Extrajeron analíticas con intervalos de una hora el último día de la ingesta normofosfórica, así como el primer y último día de restricción, y el último día de sobreingesta. A partir de los valores de fosfatemia registrados, concluyeron que la restricción de la ingesta de fósforo durante 10 días produce una disminución de aproximadamente el 40% en los valores medios de fosfatemia obtenidos durante 24 horas, así como una supresión del primer pico circadiano de fosfatemia, y un retraso del segundo pico en 3 horas. De forma contraria, la suplementación con fósforo por encima de los valores considerados normales también modifica su ritmo circadiano, incrementando un 14% los valores medios de fosfatemia, sin producir cambios en la caída matutina de la misma, y adelantando el pico nocturno de fosfatemia en 9 horas.

Además, el pico de fosfatemia nocturno es independiente de los niveles de otros elementos que participan en la homeostasis del fósforo, como son la hipercalcemia, el hiperparatiroidismo primario o la deficiencia de hormona de crecimiento³⁹. Portale et al postularon que este pico nocturno es dependiente de una falta de regulación entre los niveles de fósforo en sangre y en los tejidos, particularmente en el hueso.

Más recientemente, Takeda et al⁴⁰ proponen que no sólo es importante el momento de la determinación de la fosfatemia, sino que también existe con otros marcadores, como la parathormona (PTH) o el factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF-23). En el caso de la PTH, se ha visto que sus niveles en sangre siguen también un ritmo circadiano, muy paralelo al seguido por la fosfatemia, esto es, picos a primera hora de la tarde y de madrugada, y un descenso máximo a media mañana. Este descenso progresivo durante las primeras horas de la mañana también se ha comprobado en el caso del FGF-23^{13,41,42}.

Teniendo en cuenta estos ritmos circadianos, algunos autores han intentado establecer relaciones entre las cantidades ingeridas de fósforo y los niveles de fosfatemia, calcemia o PTH, pero no sólo recogiendo una única determinación, sino monitorizando los niveles en suero a lo largo de todo el día.

Los primeros estudios, como los de Smith y Nordin⁴², concluyeron que no era posible objetivar cambios en la calcemia o en la fosfatemia a partir de modificaciones del fósforo en la dieta si solamente se recogía una única determinación diaria de estos elementos. Sin embargo, sí que manifestaron cambios en estos valores cuando se monitorizaba la extracción sanguínea a lo largo del día. Otros autores han podido demostrar cambios significativos en los niveles de calcio, PTH y fósforo en función de las cantidades ingeridas de este último, cuando realizaban extracciones más allá de la que recogían a primera hora de la mañana⁴³⁻⁴⁵ (Calvo, Redmond, Braithwaite).

Por tanto, diversos estudios permiten establecer que el momento de la extracción sanguínea es crítico para evaluar los cambios de la fosfatemia y de otros elementos (PTH, FGF-23), y que con una única determinación matinal puede no ser suficiente para establecer conclusiones firmes respecto a su homeostasis. El nivel de fosfato inorgánico

en sangre podría ser un buen marcador de la suficiencia de la ingesta de fósforo, pero para ello sería necesario un análisis amplio en el que se monitorizaran sus niveles a lo largo del día, y no solamente emplear la fosfatemia determinada en ayunas como marcador. En cambio, en el momento actual carecemos de estudios de esta índole.

Existen otros marcadores que se han explorado para establecer los requerimientos nutricionales, como la excreción urinaria de fósforo. Se conocen las cantidades de este elemento que se reabsorben a nivel tubular, y qué porcentaje se acaba eliminando vía urinaria en condiciones normales. En general, la recogida de una orina de 24 horas en un adulto es una forma de establecer con relativa precisión la cantidad diaria de fósforo ingerida, asumiendo una situación de equilibrio. Sin embargo, en niños, por el hecho de estar en continuo proceso de crecimiento, este marcador podría no ser tan útil. De hecho, hasta que no alcanzan el crecimiento completo, no hay diferencias entre sexos en la cantidad urinaria de fósforo, diferencias que sí comienzan a objetivarse en la época adulta, siendo los varones los que tienen valores más elevados⁴.

El comité de expertos de la EFSA, sin embargo, propuso usar el ratio calcio-fósforo (Ca:P) para intentar aproximar los requerimientos de fósforo. A partir de los datos de adultos de población caucásica, en los cuales se ha calculado un ratio que oscila entre 1,48-1,69:1 en mujeres y entre 1,57-1,89:1 en varones, proponían un ratio Ca:P entre 1,4-1,9:1 para mantener una homeostasis fosfocálcica adecuada.

La estimación de estos valores procede del ratio Ca:P necesario para un adecuado desarrollo óseo. En la hidroxapatita, componente del organismo donde más frecuentemente se encuentra el fósforo, estos elementos se encuentran en forma de cristales en una proporción de 1,67:1⁴⁶. Sin embargo, nos referimos a una situación de equilibrio homeostático. Durante el crecimiento, existen otros órganos y tejidos que precisan del fósforo para su desarrollo. Por otra parte, la capacidad de absorción del calcio y del fósforo no es constante, y depende de la biodisponibilidad y los mecanismos de regulación presentes en cada momento para ambos elementos. Estas afirmaciones han provocado que diferentes autores propongan ratios Ca:P diferentes para mantener un equilibrio adecuado.

Por ejemplo, Diem et al⁴⁷ aproximaron un consumo de 31 mg de fósforo para el desarrollo de tejidos blandos por cada 155 mg empleados para el hueso; es decir, de cada 6 mg de fósforo, 1 mg se destina para otros tejidos diferentes de la hidroxapatita. Es por ello que sugirieron un ratio más próximo a 1,3:1 para poder hacer frente al desarrollo de todos los tejidos del organismo, no sólo al componente óseo. Otros colegas consideran que esta proporción debería ser superior, especialmente a partir de los 2 años de edad, momento en el cual la capacidad de absorción del calcio se ve más reducida que la del fósforo, proponiendo ratios superiores a 2:1^{48,49}.

Sin embargo, el uso de esta ratio tiene muchas limitaciones. La primera, que se asume que por el hecho de presentar una ratio Ca:P adecuado las ingestas de ambos nutrientes son también adecuadas, pero podemos encontrarnos con la situación de tener una ratio dentro del intervalo correcto, y sin embargo la ingesta de ambos elementos sea muy inferior a la necesaria para un correcto crecimiento.

Aún con esto, existen autores que abogan por el empleo de esta ratio, apoyándose en la evidencia de que desórdenes en la misma pueden provocar alteraciones en otros elementos importantes para mantener la homeostasis fosfocálcica. Así, Kemi et al⁵⁰ realizaron un estudio transversal en mujeres finlandesas, en el que observaron que la ingesta tanto de calcio como de fósforo era superior que las cantidades diarias recomendadas. En estas condiciones, demostraron que, en aquellas mujeres con las ingestas más reducidas de calcio, y por tanto con un ratio Ca:P menor, los niveles de PTH eran significativamente más altos, y por lo tanto tenían un riesgo aumentado de osteoporosis en el futuro.

Braithwaite et al⁴⁵, sin embargo, analizaron una población infantil de Gambia y demostraron que aquellos niños con raquitismo conocido compartían dietas con una cantidad de fósforo similar a la recomendada de forma diaria, pero con una ingesta deficiente de calcio, y por tanto con un ratio Ca:P muy bajo (0,26-0,27).

En otro orden, diversos estudios han demostrado que un exceso de fósforo en la dieta se asocia con un mayor riesgo de aparición de enfermedades. Así, Calvo y Uribarri⁴³ proponen que elevadas cantidades de fósforo en la dieta de individuos sanos provocan alteraciones en la regulación del calcio y de la vitamina D3, y con ello un mayor riesgo de aparición de trastornos en la función renal, calcificación vascular y pérdida de masa ósea. En cuanto a la mortalidad cardiovascular, existe algún estudio que ha tratado de analizar una posible relación con ingestas elevadas de fósforo, sin demostrar significación estadística³⁴. También se han intentado relacionar con la aparición de determinados cánceres (próstata, vejiga, colorrectal) en poblaciones con una ingesta de fósforo más elevada de lo normal, sin encontrar vínculo estadísticamente significativo entre ellos^{34,51-54}.

Por tanto, en la actualidad los organismos internacionales no han dado una respuesta inequívoca al respecto, debido a las múltiples incógnitas en cuanto a la ingesta real y la capacidad absorbente del fósforo que se mantienen en la actualidad. Abogan por considerar que los datos disponibles en la actualidad son inconsistentes, y que no deben ser empleados como criterio para establecer las recomendaciones dietéticas del mismo.

1.4 Funciones

El fósforo es un elemento que desempeña una gran variedad de funciones que son consideradas como indispensables para nuestro organismo. Entre ellas se encuentran la formación del esqueleto, la producción de moléculas para el almacenamiento de energía como el trifosfato de adenosina (ATP), el mantenimiento de la integridad de las membranas celulares, la transmisión de información genética (ADN, ARN), así como el control de la señalización intracelular a través de la activación o inhibición enzimática y de la actividad de otras proteínas^{4,55}.

1.4.1 Papel del fósforo en la mineralización ósea

El fósforo, al igual que el calcio, se deposita en unas estructuras, las vesículas de la matriz extracelular, que se consideran los lugares en los que se inicia el proceso de calcificación, y que se encuentran presentes en cartílago, hueso y predentina^{3,56}. De esta forma, se van generando los cristales de hidroxiapatita que, una vez formada, se va desplazando a través de las fibrillas de colágeno para mineralizar la matriz extracelular. Por tanto, resulta crucial mantener unos niveles adecuados de fosfatemia para permitir un adecuado proceso de mineralización⁵⁷.

Cuando se profundiza más en este proceso, se observa que esta mineralización sigue un curso bifásico^{56,58}. En una primera fase, el fósforo se introduce en las vesículas con el fin de generar los cristales de hidroxiapatita. El acúmulo de fósforo el interior de estas vesículas es debido a que éstas tienen una gran afinidad por una de las isoenzimas de la fosfatasa alcalina, la isoenzima no específica de tejido (*Tissue nonspecific alkaline phosphatase, TNAP*), que se encarga de hidrolizar pirofosfatos, ATP y otras moléculas que contienen fósforo, generando ortofosfatos^{57,59}. TNAP está presente en la membrana celular de los osteoblastos y las vesículas de la matriz. Como es bien conocido, la fosfatasa alcalina es un biomarcador comúnmente medido en suero⁵⁹. Estos ortofosfatos son transportados hacia el interior de las vesículas vía transportadores dependientes de sodio, entre los que se encuentran los $\text{PiT}^{3,59-64}$. Por tanto, existen reguladores, como la TNAP, que en función del ratio de ortofosfatos y pirofosfatos (ratio Pi:PPi) se activan o inhiben su función para mantener la biodisponibilidad de fósforo. Tan crucial resulta su función, que existen entidades como la hipofosfatasa, debida a una mutación inactivadora del gen que codifica TNAP y en consecuencia caracterizada por una actividad deficiente de la fosfatasa alcalina, que resulta en una pobre mineralización ósea^{56,65}.

También se han descrito otras moléculas con actividad hidrolítica sobre estructuras con grupos fosfato y que facilitan el desarrollo del esqueleto óseo, como la adenosina monofosfoesterasa (AMPasa), con una función similar a la TNAP y también presente junto con las vesículas de la matriz (Ali). Su importancia radica en que existen autores, como Garimella et al⁶⁶, que sugieren que la adenosina monofosfato (AMP) resulta aún más eficaz que el ATP como sustrato de fosfato para la matriz extracelular. Estos mismos análisis, y otros, han demostrado que el AMP también puede ser sustrato de la TNAP, y realmente no se conoce en la actualidad cuál de las dos enzimas (TNAP o AMPasa) supera en actividad a la otra⁵⁶. No obstante, el papel de TNAP en la patología humana está mucho mejor establecido.

Ali et al también postularon la pirofosfatasa inorgánica (PPiase) como otro elemento a tener en cuenta en la liberación de fosfato inorgánico en la matriz extracelular. Esta enzima, además, tiene la propiedad de facilitar la mineralización ósea al evitar el efecto inhibidor de PPi sobre la misma⁶⁷.

Por último, otra molécula destacada en los últimos años es la PHOSPHO1, presente en osteoblastos y condrocitos, y que obtiene fósforo al adherirse a membranas fosfolipídicas⁶⁸, generalmente a partir de la fosfocolina, un derivado de la esfingomielina⁶⁹. Se ha visto que está altamente concentrada en la capa hipertrófica de los condrocitos presente al borde del cartílago de crecimiento, lugar en el que se inicia la mineralización de las vesículas de la matriz cartilaginosa⁷⁰.

Todas las enzimas previamente tienen una actividad intrínseca sobre los compuestos que contienen grupos fosfato, sobre los que, como se ha explicado, ejercen una acción hidrolítica para liberar el fosfato inorgánico. En cambio, hay que tener presente que el fósforo no es el único sustrato necesario para el proceso de mineralización, y que existen también proteínas que ejercen su función sobre el calcio, y con ello regulan el crecimiento óseo, como la osteonectina, la osteocalcina, la sialoproteína ósea o la anexina V. Por tanto, debemos atender que tanto la función del calcio como la del fósforo son esenciales para la homeostasis ósea, y que los elementos encargados de su regulación desempeñan su oficio sobre una u otra sustancia, pero que en último término acaban modificando la actividad de ambos iones.

Una vez formados los cristales de hidroxiapatita, entra en juego una segunda fase, caracterizada por la ruptura de las vesículas y la interacción de los cristales con la propia matriz extracelular^{56,71-73}. Para Howell et al⁷⁴, esta segunda fase va a depender de muchos de los elementos que están presentes en la matriz, como el pH del medio, la cantidad de calcio y fósforo presente, y la presencia de reguladores que controlen este proceso. Dentro de estos últimos nos encontramos al colágeno tipo I y II, así como otras moléculas con actividad fosfatasa que se encuentran también presentes externamente a las vesículas^{56,66}. Inicialmente los cristales se agrupan en torno a la superficie de las vesículas, hasta que entran en contacto con las fibrillas de colágeno que se encargarán de orientar la hidroxiapatita hacia lugares en los que se pretenda mineralizar^{56,75,76}.

Además de intervenir directamente en el proceso de mineralización de la matriz, el fósforo es un elemento importante para la regulación de los condrocitos, puesto que se encarga de iniciar el proceso de apoptosis de éstos, un paso fundamental para la osificación endocondral^{3,59,77,78}. Es por ello que en entidades como el raquitismo se produce una hipertrofia del cartílago de crecimiento, provocada por unos niveles de fósforo insuficientes.

Lo que resulta más interesante de esta función, es que en los últimos años se ha propuesto un solapamiento entre el proceso de apoptosis condrocitaria y la génesis de las vesículas de la matriz. Es decir, se ha sugerido por algunos autores que las vesículas podrían surgir de la apoptosis de los condrocitos. Aunque en la actualidad todavía existen controversias sobre las teorías que explican su formación, cada vez tiene más peso la que sostiene que son los condrocitos, concretamente aquellos situados en la capa más hipertrófica, los precursores de las vesículas de la matriz. Uno de los primeros en asumir esta presunción fueron Kardos et al⁷⁹, pero posteriormente se han unido otros

miembros de la comunidad científica. Así, se sugiere que en la capa más hipertrófica de los condrocitos, éstos están rodeados de una alta densidad de fibrillas de colágeno, así como otras sustancias que dificultan el paso de oxígeno y nutrientes, y por tanto favorecen la apoptosis de los condrocitos. En cambio, no hay que entender que la formación de la vesícula de la matriz procede literalmente del cuerpo apoptótico del condrocito, sino que se trata quizás de estructuras presentes en el interior de los mismos y que se liberan al producirse la destrucción programada de la célula^{58,80,81}. Otros autores, como Bottini et al⁶⁹, sugieren que una actividad elevada en la TNAP es uno de los pasos iniciales para la diferenciación hipertrófica de los condrocitos, y la posterior apoptosis de los mismos.

Otra función importante ejercida por el fósforo es la de modular la actividad de los osteoclastos. Siguiendo la línea del resto de acciones de este elemento, se ha demostrado que la presencia de niveles elevados de fósforo en la matriz extracelular inhibe la resorción ósea realizada por estas células, así como la génesis de nuevos osteoclastos^{3,82-84}. Existe una molécula, con el nombre de ligando del receptor activador del factor nuclear kappa B (RANKL), cuya función, a través de su receptor RANK, consiste en activar tanto a los precursores de osteoclastos como a los osteoclastos maduros, para estimular su desarrollo y su actividad resorptiva sobre el hueso. La importancia del sistema RANKL-RANK en la resorción ósea se pone claramente de manifiesto por el potente efecto antiresorptivo que ejercen los anticuerpos bloqueantes de RANKL, lo que ha llevado a su empleo en el tratamiento de la osteoporosis y otros procesos que cursan con un aumento de la resorción. Mozar et al⁸⁴, realizando estudios in vitro, demostraron que en aquellos osteoclastos sometidos a altas concentraciones de fósforo, las concentraciones de RANKL se ven reducidas hasta en un 30%. De alguna manera, el fósforo obtenido del proceso de resorción ósea ejerce de regulador sobre el mismo, inhibiendo la actividad de los osteoclastos, impidiendo de alguna manera que estos sigan ejerciendo su acción de forma permanente.

Sin embargo, quizás la función más importante del fósforo en la homeostasis ósea sea la de actuar como regulador de genes que participan en la misma^{59,60,85}. Además de la regulación per se que lleva a cabo sobre las moléculas con capacidad de hidrólisis de grupo fosfato, diversos autores han demostrado su implicación directa en genes que participan en la actividad de osteoblastos, osteocitos y condrocitos. Uno de los primeros autores en sugerir este papel fueron Beck et al⁸⁵. Éstos constataron que la osteopontina (Opn), una glucoproteína presente en los osteoblastos y que favorece la mineralización ósea, depende en gran medida de los niveles de fosfato presentes a nivel intracelular. De este modo, evidenciaron que Opn se activa de forma directa y dependiente de estos niveles, y que la presencia de inhibidores del transporte del fósforo como el foscamet bloquean su actividad. Sin embargo, también son necesarios los transportadores de fósforo al interior de las células para que realice su función. Además, demostraron que la función de la Opn, presente en otros tejidos además del hueso, también es dependiente de los niveles de fósforo. El mismo Beck et al⁸⁶, en otro estudio realizado pocos años después, comenzó a analizar otros posibles genes objetivo. Encontró que el Nrf2, otro de los participantes en la mineralización ósea, incrementa su actividad en respuesta a altas concentraciones de fósforo.

Más adelante, Conrads et al⁸⁷ trabajaron sobre la hipótesis de que el fósforo modificaba la expresión genética, y por tanto las funciones celulares, de múltiples tipos celulares presentes en riñón, sistema nervioso central o el propio hueso. Proponían que el proceso de diferenciación de osteoblastos para la formación de hueso era una ruta coordinada con una participación evidente del fósforo. De este modo, determinaron el efecto que tiene este elemento sobre el conjunto de aquellas proteínas de las que se sabía previamente su implicación en la diferenciación de osteoblastos, obteniendo más de 400 proteínas diferentes cuya función se veía modificada de forma relevante, ya fuera con aumento o en disminución de su actividad.

A partir de estos análisis, en los últimos años se ha evidenciado el papel del fosfato sérico sobre la actividad de otros genes, como la proteína de la matriz dentina (Dmp1) o la ciclina D1. En el caso del Dmp1, se ha postulado que la presencia de unos niveles elevados de fósforo en sangre activan este gen, y con ello la diferenciación de osteoblastos a osteocitos^{3,88,89}.

Por otro lado, en los últimos años se ha puesto de manifiesto el importante papel del FGF-23, un producto de las células de linaje osteoblástico, sobre los niveles de fósforo, así como, inversamente, los efectos del fósforo sobre los niveles y expresión de FGF-23. Sin embargo, algunos estudios publicados muestran resultados un tanto contradictorios. Trautvetter et al⁹⁰ realizaron un estudio en el cual se demostró que los niveles de FGF-23 se elevaban en suero de forma transitoria en las 4 primeras semanas tras el empleo de una dieta rica en fósforo, pero que sin embargo volvían de nuevo a los valores previos a pesar de mantener la misma dieta. Ito et al⁹¹, sin embargo, concluyeron que cambios rápidos en los niveles de fosfatemia no se acompañaban de modificaciones en los niveles de FGF-23. Tampoco resulta tan evidente que los cambios de fósforo en la dieta induzcan cambios en FGF-23, aunque también existan muchas publicaciones al respecto. Miyagawa et al⁸⁸ consideraron que, si bien cambios agudos en la fosfatemia no se sigan de cambios en FGF-23, una exposición prolongada a concentraciones elevadas de fósforo sí que puedan ir asociadas con elevaciones en los niveles de FGF-23. Michigami et al⁶⁰, por otro lado, reflexionaron que quizás la producción de FGF-23 se realizaba de forma indirecta a través de señalizadores presentes a nivel intestinal y que son activados por el fósforo ingerido en la dieta.

Otros autores han intentado evaluar los niveles de FGF-23 a partir de tratar in vitro con niveles altos de fósforo osteoblastos y osteocitos, sugiriendo que el fosfato incrementa los niveles de FGF-23 a través de la activación de Dmp1, y con ello de la diferenciación de osteoblastos a osteocitos⁹². Lo cierto es que el aumento en la actividad de FGF-23 induce hipofosfatemia y es una causa reconocida de raquitismo u osteomalacia.

1.4.2 Papel del fósforo en el desarrollo de funciones celulares

Una de las principales funciones ejercidas por el fósforo es la de modificar la acción de moléculas a través de sufrir variaciones en su estructura, mediante la adición o la retirada de grupos fosfato. Por ejemplo, un cometido esencial para la supervivencia de los seres vivos consiste en actuar sobre el mecanismo de fosforilación oxidativa. La fosforilación oxidativa es un proceso en el cual se obtiene la energía necesaria para llevar a cabo las acciones celulares mediante la síntesis de ATP. Este proceso, que tiene lugar en el interior de las mitocondrias presentes en todas las células del organismo, implica diversas moléculas orgánicas que, a través de la cadena de transporte de electrones, liberan energía en reacciones de oxidación, generando un gradiente con el que se acaban sintetizando moléculas de ATP⁹³. El ATP se considera una molécula muy estable en condiciones normales de pH y temperatura, así como con una alta solubilidad, por lo que aúna unas características inigualables para ser considerada como fuente energética⁹⁴. Estructuralmente consta, como su propio nombre indica, de tres grupos fosfato, cuyos nombres, en orden de cercanía al azúcar central, son alfa (α), beta (β) y gamma (γ). Cada uno de estos enlaces genera energía tras su hidrólisis, y por tanto aportarla en diferentes procesos necesarios para preservar la integridad celular y llevar a cabo diferentes funciones especializadas⁹⁴. Además, presentan otra propiedad importante, y es la reversibilidad de las reacciones que sufren. En todas y cada una de las células existe un equilibrio entre la ratio ATP:ADP, de forma que para que se produzca la fosforilación es necesaria una alto ratio ATP:ADP⁹⁵⁻⁹⁷.

Erecinska et al⁹⁸ fueron unos de los primeros autores en analizar el papel del fósforo en la cadena de transporte de electrones in vitro, empleando células fúngicas de la especie *Candida* para este cometido. Demostraron que las concentraciones de fósforo intracelular eran superiores conforme se aumentaba la cantidad de fosfato en el medio que rodeaba estas células, y que esto se traducía en un incremento en los niveles de ATP intracelular.

Asociado de alguna manera a esto último, el fósforo constituye un elemento indispensable para regular la capacidad de la hemoglobina de transportar oxígeno. Así, la presencia de 2-3-bifosfoglicerato (2-3-BPG), un metabolito intermediario de la glucólisis del eritrocito, constituye una de los factores que inducen un desplazamiento hacia la derecha de la curva de disociación de la hemoglobina, provocando por tanto una menor afinidad de ésta por el oxígeno, y favoreciendo así la liberación de este último a los tejidos. Como indica su propio nombre, este elemento presenta en su estructura dos grupos fosfato. Desde que Greenwald et al⁹⁹ demostraron su presencia en el interior de los glóbulos rojos, muchos autores trataron de estudiar la importancia del fósforo en su actividad. Uno de los primeros en describirlo fueron Benesch et al¹⁰⁰, quienes postularon que la oxigenación de la hemoglobina es un proceso en el cual el fósforo juega un papel decisivo, al ser uno de los elementos que conforman la molécula de 2-3-BPG, por lo que incrementos en su concentración intraeritrocitaria permiten la génesis de 2-3-BPG, y por tanto facilitan la liberación de oxígeno a los tejidos. Tan importante es considerada su actividad, que posteriormente otros investigadores han tratado de analizar si existe una relación entre la cantidad de fósforo ingerida en la dieta y el aumento en el rendimiento deportivo¹⁰¹⁻¹⁰³. Sin embargo, esto último no ha sido

demostrado, y existen resultados contradictorios al respecto. En uno de los estudios realizados, se estableció una comparativa en sujetos sanos entre los niveles de fosfatemia en suero, los niveles a nivel intraeritrocitario y la concentración de 2-3-BPG intraeritrocitaria. Demostraron que existía una correlación estadísticamente significativa entre los niveles de fosfato intraeritrocitario y los de 2-3-BPG, así como entre los valores de fosfatemia y los niveles de fósforo presentes en el interior de la célula¹⁰¹. Sin embargo, no lograron resultados significativos comparando directamente los niveles de fósforo en suero con los obtenidos de 2-3-BPG en el eritrocito. Por lo tanto, parece que el aumento en el fosfato sérico incrementa de forma indirecta la concentración de 2-3-BPG, pero aún no se ha demostrado una relación directa.

El fósforo se erige como un elemento fundamental para la formación de la capa lipídica de las membranas celulares. Forma parte de los fosfolípidos, estructuras compuestas por una o más cadenas de ácidos grasos y al menos un grupo fosfato, y que constituyen el elemento principal de las membranas celulares. Éstas últimas presentan una composición conocida como bicapa lipídica, en la que dos fosfolípidos están interconectados entre sí. La razón que permite esta relación es que mientras que los ácidos grasos son elementos hidrofóbicos, los grupos fosfato son hidrofílicos, por lo que ambos fosfolípidos se sitúan con ambos grupos fosfato en los extremos, e interconectados por las colas de los ácidos grasos, permitiendo que los primeros interactúen con el entorno acuoso, y los ácidos grasos apuntando entre sí. Esta disposición de la membrana también está presente en la cubierta del núcleo celular, así como en la membrana de las mitocondrias. Gracias a esta distribución, las membranas celulares se comportan como barreras selectivamente permeables, permitiendo el paso solamente de algunas moléculas a su través.

La mayoría de fosfolípidos presentes en seres humanos están en forma de fosfatidilcolina (aproximadamente 70%) o de esfingomielina (aproximadamente 20%). Otros fosfolípidos son la fosfatidilserina o la fosfatidiletanolamina, pero en mucha menor medida¹⁰⁴.

Además de esta función, los fosfolípidos se encargan de la génesis de lipoproteínas, elementos necesarios para el transporte a través de la sangre de sustancias hidrófobas. También forman parte de la mielina presente en el sistema nervioso central a través de la esfingomielina, o de permitir el proceso de coagulación formando parte de la tromboplastina.

Aunque pueden ser sintetizados en prácticamente cualquier célula del organismo, aproximadamente el 90% de los fosfolípidos son generados en los hepatocitos, y otro porcentaje importante es sintetizado en las células intestinales, una vez son ingeridos y absorbidos los elementos necesarios para este cometido. Además del fósforo y de los ácidos grasos, existen otras sustancias que son precisas para la estructura de los fosfolípidos, como son la colina, que puede ser sintetizada por el propio organismo o proceder directamente de la dieta, u ocasionalmente el inositol.

En las décadas de los 30 a los 50 se fue estableciendo la importancia del fósforo en la estructura de las proteínas. Los primeros autores en proponer dicha conexión fueron Lipmann y Mecham^{105,106}, cuyas investigaciones se centraron en demostrar la existencia de múltiples átomos de fósforo en algunas proteínas, como caseína, actualmente considerada dentro del grupo de las fosfoproteínas. Los investigadores fueron capaces de aislar la fosfoserina, y posteriormente otros muchos autores aislaron elementos del grupo fosfato en otras proteínas^{107,108}. Sin embargo, el interés se fue incrementando al analizar las enzimas que de alguna manera actuaban sobre el propio metabolismo fosfórico, cuando se detectó que uno de los elementos presentes en la estructura de estas enzimas no era otro que el propio fósforo. Flavin et al¹⁰⁹ analizaron la ovoalbúmina y encontraron también la presencia de grupos fosfato, y postularon que el proceso de fosforilación sufrido por esta proteína de alguna manera reducía su capacidad de hidrólisis en ambientes ácidos.

Años más tarde se han podido establecer vías a partir de las cuales se sintetizan proteínas, en las cuales el fósforo forma parte del engranaje básico. Basados en la teoría de que en situaciones de hipoxia en las células musculares la caída de los niveles de ATP intracelular provoca un desequilibrio entre la síntesis y la destrucción de proteínas, desnivelando la balanza hacia este último¹¹⁰, algunos autores siguieron sus estudios en esta línea. De este modo, Hearse et al¹¹¹ propusieron que en las células del miocardio sometidas a hipoxia-anoxia, la entrada de glucosa en las mismas restituía el desequilibrio proteico en favor de nueva síntesis de proteínas. Este efecto fue inicialmente atribuido al hecho de que la entrada de glucosa en el interior de la célula mantenía unos niveles adecuados de ATP. Sin embargo, debería existir algún proceso por el cual la entrada de glucosa permitiera en último término la génesis de nuevas proteínas. Comenzaron entonces a analizarse células musculares cultivadas in vitro, y se objetivó que algunas sustancias sometidas previamente a fosforilación eran capaces de iniciar y construir cadenas de polipéptidos¹¹². Ravid et al¹¹³, analizando células de miocardio en ratones, demostraron una relación entre la ruta de las pentosas fosfato y la síntesis de nuevas proteínas, así como la disposición necesaria de azúcares fosforilados para dicha función. Subrayaron la importancia de una enzima, la nicotinamida adenina dinucleótido fosfato (NADP), así como su equilibrio con su forma reducida NADPH, como un elemento indispensable para la regulación de la síntesis proteica. Ernst et al¹¹² añadieron a esto último que existe otra molécula, la glucosa-6-fosfato, que también ejerce un papel importante en el proceso de formación de nuevas proteínas.

Probablemente, existen dos causas que justifiquen la importancia del fósforo para la síntesis de proteínas. Una de ellas se debe a su ubicuidad, es decir, a su abundancia como elemento en la naturaleza. La otra se debe a sus propiedades estructurales, que le permiten formar hasta cinco enlaces covalentes. Todo ello, unido a su carácter hidrofílico, permite al fósforo generar sustancias éster y anhídridos que son estables a temperatura y condiciones normales, y que constituyen las bases de una amplia variedad de moléculas biológicas, entre ellas las proteínas^{114,115}. Sus características estructurales y químicas permiten no sólo la síntesis de proteínas, sino la interacción con otras generando lugares específicos de unión. De alguna forma, estas interacciones

entre distintas proteínas también permiten la transducción de señales a nivel celular, lo que incrementa más si cabe la capacidad del fósforo dentro de sus funciones intracelulares¹¹⁴.

Sin embargo, los ésteres de fosfato también son elementos básicos importantes para la generación de ácidos nucleicos. La enorme estabilidad de estos ésteres en contacto con pH 7 (el fisiológico a nivel intracelular), permite la construcción de largas cadenas de nucleótidos manteniendo la estructura sin cambios, lo que posibilita el almacenamiento de información genética. En todos los organismos vivos, el proceso de formación de ácido ribonucleico (ARN) y de ácido desoxirribonucleico (ADN) tiene una primera etapa en la que se generan los ribonucleótidos de purina y pirimidina. Esta síntesis puede tener lugar por dos vías, una dependiente de precursores de ribosa, con gran consumo energético, y otra menos derrochadora de energía, que tiene como precursor al ácido fólico.

En general, las células de los seres vivos contienen mayor cantidad de ARN que de ADN, de 5 a 10 veces más en función del tipo celular. Sin embargo, la síntesis del ADN es fundamental para la replicación del genoma. En estos procesos de síntesis de ADN y ARN tienen lugar reacciones de fosforilación. Es por ello que el fósforo no sólo es esencial para la síntesis de la estructura de los ribonucleótidos, sino que lo es también para la conversión de uno a otro. De hecho, en la actualidad se están modificando químicamente oligonucleótidos que sirven como herramientas terapéuticas, al actuar de vectores con información genética, como pueden ser las vacunas de ARN mensajero. En estos procesos, los grupos fosfato juegan un papel muy importante para estabilizar las estructuras¹¹⁶. Otros autores han analizado el papel del fósforo como elemento de anclaje de señalizadores, en este caso moléculas fluorescentes, permitiendo la identificación y el seguimiento de nucleótidos; por ejemplo, su incorporación a polimerasas de ADN y con ello su posible empleo en diversas aplicaciones genómicas¹¹⁷.

1.4.3 Papel del fósforo como sistema tampón urinario

Otra de las funciones que realiza el fósforo en los seres vivos es la de actuar como un tampón químico. Un tampón químico es una solución compuesta por un ácido débil en concentraciones elevadas, acompañada de su base conjugada, o al revés. Ambos componentes son activos desde el punto de vista de la hidrólisis. Su principal propiedad reside en mantener un pH estable ante la adición al medio de ácidos o bases fuertes.

Junto al bicarbonato, el tampón fosfato es uno de los tampones urinarios predominantes en los seres humanos. De hecho, la capacidad de acidificación de la orina depende en gran medida de la cantidad de fósforo excretada en la misma^{118,119}. Se ha demostrado que la administración externa de fósforo aumenta la excreción de ácido vía renal al eliminarse concentraciones más elevadas de fósforo, y que incluso el incremento en la excreción de fósforo influye más en la capacidad de eliminación de ácido que el propio descenso en el pH urinario¹¹⁹⁻¹²¹. La capacidad del tampón fosfato de ejercer su función

depende fundamentalmente de dos factores: de la cantidad de fósforo ingerida por la dieta, y de la acción de la PTH¹¹⁸. Sin embargo, la presencia de trastornos en el equilibrio ácido-base, fundamentalmente la acidosis metabólica, también ejerce influencia en la actividad de este tampón¹²². Sartorius et al¹²⁰, así como Simpson et al¹²¹, demostraron en sus trabajos que la existencia de acidosis metabólica incrementa en 2 o 3 veces la eliminación urinaria de ácido, debido en gran medida al incremento en la excreción de fosfato. Otros autores, como Quamme et al¹²³, no encontraron dicha asociación. Al analizar situaciones cronificadas de acidosis metabólica sí que existía más unanimidad al respecto. Cuando profundizaban más en este aspecto, algunos investigadores^{124,125} propusieron que estas alteraciones metabólicas también ejercían modificaciones en la respuesta a la PTH, reduciendo su capacidad de actuación. Investigaciones posteriores incluyeron otras situaciones en el organismo en las que se alteraba la actividad excretora urinaria de fósforo, como la presencia de alcalosis respiratoria, que provocaba una disminución en la eliminación de este elemento^{122,125}.

En años posteriores, algunos investigadores realizaron estudios para relacionar directamente los efectos del pH sobre la excreción de fósforo. Se centraron en el análisis de estos efectos a nivel del túbulo proximal, pues constituye el lugar en el que el fósforo presenta la mayoría de transportadores. De este modo, demostraron que el transporte de fósforo se incrementaba cuando aumentaba el pH del medio¹²⁶⁻¹²⁹. Esto podía explicarse por dos motivos: en primer lugar, por el propio efecto per se del pH sobre los transportadores de fósforo, regulando su trasiego a su través. En segundo lugar, porque en situaciones de alcalosis, la molécula predominante del sistema tampón es el HPO_4^- , que por otro lado constituye la forma en la que el fósforo suele ser transportado a través de la célula^{118,126}. Quamme et al¹³⁰, en un trabajo más completo, analizaron en ratones los efectos de los cambios en el pH sobre el fósforo, pero también introduciendo en el mismo análisis los posibles cambios en la dieta y los cambios en los niveles séricos de PTH. En general, el empleo de una perfusión alcalina favorecía la reabsorción de fósforo, resultando en una disminución en su excreción, comparándolo con la introducción de una perfusión ácida. Por otro lado, esta estimulación en el transporte de fósforo hacia el interior de las células del túbulo se veía afectada de forma negativa en los animales en los que se realizaba una paratiroidectomía, provocando incluso un efecto inverso, incrementándose los niveles de fósforo eliminados aún en una situación de alcalosis. Estos cambios también se veían cuando se realizaban modificaciones en la dieta, por lo que postularon que el pH es un factor esencial como regulador de la excreción de fósforo, y que éste de algún modo regula la capacidad de acidificación urinaria a través de su eliminación, pero que existen otros agentes que pueden variar esta expulsión, como pueden ser la PTH y los cambios en la dieta.

1.5 Regulación de la fosfatemia

1.5.1 Absorción intestinal

La principal fuente del fósforo, como ya se ha mencionado previamente, es la dieta. Se estima que un adulto medio consume aproximadamente 1.000-1.600 mg, de los cuales se absorbe en torno a un 65-75%⁴. Aunque pueden existir variaciones, se dice que aproximadamente el 60% de la absorción del fósforo tiene lugar en duodeno y en yeyuno, particularmente en este último, aunque existen otros autores que proponen que es más alta en duodeno. Sin embargo, y debido a las grandes diferencias en la velocidad de paso del alimento ingerido a través de estos dos primeros segmentos, en el íleon, aunque se trata de un lugar menos preparado para la absorción de fósforo, se asimila un porcentaje bastante llamativo (40%). Esto se debe, como hemos dicho, a que la velocidad de paso que sufre el alimento a su paso por el íleon es mucho menor que en los dos segmentos previos, favoreciendo con esto el trasiego de fósforo y otros elementos al interior celular¹³¹. La absorción en el colon es fisiológicamente irrelevante, siendo significativa en situaciones exógenas de alto aporte de fósforo, como pudiera ser la administración de enemas^{132,133}.

Para que el fósforo sea absorbido por las células intestinales, se necesitan una serie de transportadores en su superficie. Puesto que en el interior de la célula predomina un ambiente con carga eléctrica negativa, el paso del anión fosfato al interior de la célula no tendrá lugar vía difusión¹³⁴⁻¹³⁷. Es por ello que existen transportadores específicos, pertenecientes a la familia de los cotransportadores sodio-fósforo (Na/Pi). A partir de la observación de que la reabsorción de fósforo a nivel renal era dependiente de cotransportadores Na/Pi, y que éstos existían en otro tipo de membranas en otros tejidos, se analizó si era posible que estos mismos cotransportadores ejercieran una función similar a nivel intestinal. Previamente ya se habían descrito tres tipos de cotransportadores Na/Pi, conocidos como tipos I, II y III.

Hilfiker et al^{138,139} fueron los primeros investigadores en caracterizar en células intestinales un cotransportador Na/Pi tipo II, similar a los existentes en el túbulo renal proximal, y que recibía el nombre de Na/Pi II-b (el II-a es el de localización renal). Nishimura y Naito¹⁴⁰ posteriormente aislaron este mismo transportador en otros tejidos, como pulmones, tiroides, hígado, etc. Tienen una característica especial, y es que la capacidad de transporte de los tres tipos está fuertemente influida por el pH¹³⁷.

Por otro lado, otros autores describieron que también coexistían cotransportadores tipo III en membranas celulares de duodeno y yeyuno, recibiendo el nombre de PiT^{141,142}. Son transportadores que se han aislado en muchos tejidos del organismo, y una de las grandes diferencias con respecto a los previos es que son llamativamente menos sensibles a los cambios del pH. Años después se ha descrito que los específicos de intestino son los PiT-1, y los presentes a nivel renal son los PiT-2, y que ambos juegan un papel esencial en la homeostasis fosfórica^{142,143}. Sin embargo, la capacidad de absorción de fósforo es superior en los II-b en comparación con los PiT^{135,136,144}. Algunos autores hablan de hasta un 90% del fósforo transportado, a partir de observaciones

realizadas en ratones a los que se bloqueaba este transportador¹³². También se ha demostrado en los últimos años que la densidad de los transportadores II-b se incrementa en situaciones de dieta pobre en fósforo o en vitamina D^{144,145}, y esto es debido a la alta afinidad que tiene este elemento por el transportador, situación que hace que Na/Pi II-b se sature rápidamente cuando las concentraciones de fósforo son altas¹⁴⁴.

Existen artículos que propugnan que los cotransportadores tipo II y III no son los únicos que se encargan de la absorción de fósforo a nivel intestinal. Candeal et al¹⁴⁶ realizaron una serie de experimentos en diferentes condiciones en los que sugerían que estos cotransportadores no satisfacían las necesidades totales de fósforo, y que eran necesarios otros transportadores para ello. Por una parte, se escudaban fundamentalmente en la dependencia de los cambios en el pH y los efectos que provocaba en los transportadores de sodio. Referían que mientras las concentraciones de HPO_4^{2-} se incrementaban a medida que el pH aumentaba, la absorción intestinal de fósforo descendía, y viceversa. Aunque para ello empleaban pH fuera de los parámetros en los que se mueve éste desde el punto de vista biológico, argumentaban que si en situaciones en las que la absorción de fósforo era más alta (pH ácido) la molécula predominante era el H_2PO_4^- , mientras que el principal sustrato de los transportadores Na/Pi II-b era el HPO_4^{2-} , deberían existir otros transportadores que se encargaran de su asimilación. Además, demostraron que en situaciones de deprivación de fósforo, los procesos en los que se intenta llevar a cabo una mayor eficiencia en la absorción de este elemento tienen lugar en un ambiente con pH ácido, por lo que sostenían que el H_2PO_4^- predominaba también en estos estados. Usaron para este cometido el foscarnet, que específicamente inhibe la acción de los Na/Pi tipo II, y de forma parcial los tipo III, por lo que impedía de alguna forma la capacidad de estos transportadores de ejercer su acción. Sin embargo, no fueron capaces de establecer qué molécula podía coexistir como transportador junto con los de la familia NaPi, y estudios posteriores no han añadido más información al tema. Uno de los aspectos asociados a esta asunción es la diferente preferencia de los transportadores por los ortofosfatos. Marks et al¹⁴² sostenían que mientras que la familia Na/Pi tienen prioridad por la forma HPO_4^{2-} , como se mencionó con anterioridad, la familia PiT tenía más afinidad por el ortofosfato H_2PO_4^- . Sin embargo, la capacidad de éstos últimos por absorber esta forma de fosfato no podría justificar plenamente lo descrito por Candeal et al en su análisis.

En las últimas décadas también se habla de una ruta de absorción paralela, conocida con el nombre de absorción paracelular^{4,147}. Aunque fue la ruta que inicialmente se propuso como vía de absorción del fósforo, a partir de los experimentos realizados hace varias décadas por McHardy y Parsons¹⁴⁸, tras la aparición de los cotransportadores Na/Pi esta vía perdió fuerza. La absorción paracelular es una ruta de absorción pasiva que depende del gradiente electroquímico del fósforo a lo largo del intestino. Dicha absorción se llevaría a cabo a través de las uniones estrechas presentes entre las células intestinales, con la ayuda de una serie de proteínas que aún no se conocen con exactitud, pero entre las que destaca un intercambiador de sodio e hidrógeno (Na/H), conocido como NHE3^{4,132}. Otras proteínas que estarían relacionadas con esta vía de absorción son las claudinas y las ocludinas¹³².

Lo que sí está claro es que esta ruta cada vez está adquiriendo más importancia, especialmente a raíz de las investigaciones de Labonte et al, cuyo trabajo consistía en el empleo de Tenapanor, un inhibidor selectivo de NHE3, reduciendo el paso de sodio al interior del enterocito, e incrementando por tanto el pH intracelular. Este incremento en el pH se traducía en un aumento en la resistencia de las uniones estrechas inter-enterocitarias, y con ello una disminución en la absorción de fósforo y un descenso significativo en la fosfatemia.

Otro dato a tener en cuenta es la modificación del número de transportadores asociado a la edad. Se ha visto que durante la época infantil y la adolescencia el número de transportadores es elevado, para permitir un adecuado desarrollo del esqueleto óseo y un rápido crecimiento. A partir de la edad adulta, la expresión de transportadores Na/Pi tipo II se ve reducida¹⁴². Esto explicaría que en niños exista un balance de fósforo positivo de aproximadamente 2-3 mmol/día, mientras que en adultos este balance se torna negativo, en paralelo a la pérdida de masa ósea¹⁴⁹.

Por otro lado, el proceso de absorción no es constante para todos los alimentos, sino que se ve modificado en función de si lo que se ingiere es fósforo orgánico o fósforo inorgánico. El fósforo orgánico requiere para su absorción un proceso de hidrólisis previa para convertirlo en inorgánico, puesto que el fósforo siempre va a ser asimilado en su forma inorgánica¹². De este modo, no todo el fósforo orgánico ingerido se absorbe; Noori et al estiman que se absorbe entre un 30 y un 60%, dependiendo de diversos factores, como son la biodisponibilidad y la capacidad de digestión de los nutrientes, el grado de activación de la vitamina D y sus receptores o la posibilidad de interacción con otros compuestos que dificultan su absorción, como el aluminio o la nicotina¹⁵⁰. Dentro del fósforo orgánico, encontramos alimentos de origen animal y otros de origen vegetal. Los alimentos de origen animal tienen una mejor biodisponibilidad y capacidad de digestión que aquellos de origen vegetal, lo que permite que los porcentajes de fósforo absorbidos sean superiores en el primer grupo^{12,30}. Dentro del grupo de alimentos vegetales, encontramos no sólo frutas y verduras, sino también semillas y frutos secos. En estos últimos dos alimentos es donde se encuentra una discrepancia sustancial que es la que explica la menor tasa de absorción de fósforo a partir de estos nutrientes.

El fósforo que está presente en nueces, semillas, cereales, etc. se encuentra almacenado en forma de moléculas conocidas como fitatos^{151,152}. Los fitatos son compuestos orgánicos que precisan de una enzima conocida como fitasa para ser degradada, elemento que no está presente en los humanos. Esto explica que, a pesar de que este grupo de nutrientes están extendidos en la pirámide nutricional de las dietas occidentales, la biodisponibilidad del fósforo presente en ellos es muy baja, con tasas de absorción de en torno a un 20%^{12,43,151}.

Por el contrario, el fósforo inorgánico procedente de la dieta no precisa de reacciones previas para ser asimilado, ni se encuentra unido a proteínas, por lo que sus tasas de absorción se encuentran próximas al 100%^{12,30}. Este es el fósforo que, como hemos descrito previamente, se encuentra en grandes cantidades en alimentos procesados³⁰.

En el proceso de absorción, además del tipo de fósforo ingerido, juega un papel esencial el pH del tubo digestivo. Fallinborg et al¹⁵³ analizaron los cambios en el pH existentes desde el estómago hasta el recto, encontrando que existe un cambio rápido y llamativo entre el estómago y el segmento más proximal del duodeno. En el duodeno encontramos un pH en torno a 6, que rápidamente sigue subiendo hasta cerca de 7.4 en el íleon. Estos cambios intraluminales también modifican la capacidad de absorción no sólo del fósforo, sino también de otros elementos.

Sin embargo, el principal determinante para la absorción de fósforo es el calcitriol, también conocido como 1- α ,25-dihidroxicolecalciferol, que es la forma activa de la vitamina D. Uno de los primeros autores en establecer una relación directa entre el calcitriol y la absorción de fósforo fueron Tanaka et al¹⁵⁴. Estos investigadores partían de la presunción de que los niveles de fósforo se elevaban en sangre a partir de los efectos en el hueso de una serie de moléculas, entre ellas el calcitriol, y que este incremento también se traducía en una elevación de la calcemia. Sin embargo, hipotetizaron que existían individuos con diagnóstico de raquitismo, en los que los niveles séricos tanto de vitamina D como de fósforo eran bajos, y sin embargo los de calcio eran normales o incluso elevados. Por lo tanto, debía existir algún otro tipo de regulación que afectara al fósforo, independiente de la homeostasis ósea. De este modo, realizaron experimentos in vitro en ratones, en los que infundían de manera exógena calcitriol, y observaban que los niveles séricos de fósforo rápidamente se incrementaban, y que este efecto era independiente de la calcemia y del proceso de resorción ósea, por lo que postularon que el calcitriol de algún modo tenía un efecto regulador directo sobre la fosfatemia, y que éste podía tener lugar en varios lugares.

Estos mismos investigadores, en otro de sus trabajos mostraron que en los individuos en los que se mantenía una dieta pobre en fósforo, los niveles de calcitriol eran elevados, manteniendo sin embargo una calcemia normal. Concluyeron que el fósforo tanto a nivel plasmático como a nivel renal ejercía un efecto regulador sobre el metabolismo de la 25-hidroxicolecalciferol, incrementando la conversión a calcitriol en situaciones de hipofosfatemia.

A partir de estos trabajos, se presumía que tanto la hipofosfatemia como aquellas situaciones en las que existía concentraciones elevadas de calcitriol en sangre activaban el receptor de vitamina D presente en los enterocitos (VDR), y que esto último facilitaba la génesis de nuevos receptores Na/Pi II-b para potenciar la absorción de fósforo. Sin embargo, comenzaron a salir análisis que postulaban otras ideas. Hattenhauer et al¹⁴⁵ estudiaron in vitro ratones en los cuales se habían inhibido los VDR, y demostraron que en situaciones de hipofosfatemia los receptores Na/Pi II-b incrementaban su número. Posteriormente salieron a la luz investigaciones similares, llegando a la conclusión de que la adaptación de los cotransportadores a situaciones de

hipofosfatemia era independiente de la presencia de calcitriol, y que la regulación de estos cotransportadores seguía diferentes mecanismos en función de si era activada por el calcitriol o por una dieta pobre en fósforo^{132,142,145,155}. Por lo tanto, el calcitriol sigue siendo considerado uno de los factores más importantes para la absorción intestinal de fósforo, pero existen otros elementos a tener en cuenta. Algunos investigadores se han atrevido a insinuar que la absorción de fósforo dependiente del calcitriol corresponde a aproximadamente el 30% de la absorción total diaria¹⁵⁶.

1.5.1.1 Otros elementos que intervienen en la absorción intestinal

Uno de los elementos que actúan sobre la absorción intestinal de fósforo es la hormona paratiroidea (PTH). Se trata de un polipéptido de 84 aminoácidos sintetizado en las glándulas paratiroides. Sus receptores se encuentran fundamentalmente en los tejidos óseo y renal, pero ejerce también un efecto indirecto sobre la absorción intestinal de calcio y fósforo, al actuar a través del calcitriol^{134,157}. Aunque generalmente la PTH se secreta en respuesta a cambios en los niveles de calcemia y fosfatemia, así como de calcitriol o de FGF-23, también se ha demostrado que esta secreción puede ser independiente de éstos; la introducción exógena de grandes cantidades de fósforo a través de la dieta produce cambios rápidos en la secreción de la PTH (en los primeros 15 minutos), sin que los valores de calcemia y fosfatemia se hayan visto modificados^{134,158,159}. De alguna manera, el fósforo procedente directamente de la dieta puede considerarse un regulador más de la secreción de PTH. Algunos autores, como Martin et al, postularon que podría deberse a que el fósforo module la expresión del receptor del sensor de calcio, y de esta manera pudiera influir directamente en la secreción de PTH. Sin embargo, otros estudios han mostrado que la modulación del sensor de calcio es más tardío, y probablemente una respuesta a un cambio que ya se hubiese producido en la PTH¹⁶⁰. Los mismos autores mencionados previamente experimentaron que in vitro, los cambios producidos por el fósforo en los niveles de PTH tardaban más de una hora en realizarse frente a los 15 minutos en los que se producía con la infusión directa vía intravenosa o intraduodenal, y que la administración de inhibidores intestinales en el transporte de fósforo generaba cambios en los niveles de PTH sin que la fosfatemia o la calcemia fuera modificada¹⁵⁸. Estos descubrimientos daban pie a pensar que podría existir un mecanismo regulador paralelo al que actualmente conocemos. Por todo esto, se argumenta que existen señales a nivel intestinal que permiten actuar a otros niveles para regular la homeostasis, en este caso, del fósforo.

En cambio, en las últimas dos décadas la aparición de una serie de moléculas conocidas como fosfatoninas han modificado de alguna manera la concepción de la homeostasis del fósforo. Las fosfatoninas son un conjunto de factores cuyo principal efecto es ejercer un efecto fosfatúrico, es decir, su principal función consiste en eliminar el fósforo a través de la orina^{7,12,134}. Sin embargo, en los últimos años se ha añadido a estas actividades la de inhibir su absorción intestinal. La fosfatonina mejor conocida en la actualidad es el FGF-23, uno de cuyos efectos es la inhibición de la síntesis del calcitriol a nivel renal por bloqueo de la α -hidroxilasa renal. Para realizar sus funciones, precisa de una proteína conocida como Klotho, que interactúa con los receptores de FGF-23 y ejerce un efecto "permisivo" para que FGF-23 desempeñe su actividad^{142,159}.

Recientemente, se ha descrito que existe una variante de Klotho, β -klotho, que se encuentra en la porción proximal del intestino delgado, y que interactúa con otro factor de crecimiento (FGF-15) para inhibir el transporte de ácidos biliares a través de transportadores dependientes del sodio¹⁶¹. Por el momento no se ha establecido una relación entre Klotho y los transportadores intestinales de fósforo, pero la presencia de una variante de klotho en el intestino delgado y la demostración de que ésta misma interacciona con transportadores dependientes de sodio, hace que se sostenga que FGF-23 pueda tener algún efecto directo sobre la absorción intestinal de fósforo. Sin embargo, otros investigadores han demostrado que FGF-23 interacciona con α -klotho, sin que quede claro por el momento si tiene afinidad también por la subunidad β ¹⁵⁸.

Algunos autores, como Miyamoto et al¹⁶², a través de la infusión directa de un derivado del FGF-23 (FGF-23-M), objetivaron un descenso en el número de los transportadores Na/Pi tipo IIb, un efecto supuestamente secundario a su interacción con el receptor del calcitriol VDR. Es por ello que argumentaron que esta fosfatona no sólo actúa frente al calcitriol inhibiendo la enzima α -hidroxilasa renal, sino también sobre su receptor intestinal.

Otra de las fosfatonas de las que se ha argumentado un posible efecto a nivel intestinal es la fosfoglicoproteína de la matriz extracelular (MEPE), que se ha detectado en el duodeno¹⁴². Sea como fuere, existen argumentos para pensar que estas y otras fosfatonas puedan ejercer un efecto, bien paracrino o bien a distancia, sobre los enterocitos, a través de rutas de señalización que aún no son bien conocidas.

1.5.2 Regulación renal

Una de las ideas centrales respecto a la homeostasis del fósforo es que el riñón constituye el órgano regulador fundamental por su capacidad para incrementar o disminuir la reabsorción en función de las necesidades^{163,164}. En condiciones normales, diariamente se filtran aproximadamente 5 gramos de fósforo, de los cuales se reabsorbe aproximadamente un 70-75% en el túbulo proximal, seguido de un 10% en la porción más distal. El 15-20% restante se elimina por la orina, para mantener un equilibrio adecuado^{4,8,12,163}. Diversos autores fueron argumentando que a medida que la cantidad de fósforo filtrada se va incrementando, la reabsorción del mismo va aumentando hasta un punto máximo, conocido con el nombre de umbral de reabsorción tubular máxima para el fósforo (*maximum tubular reabsorption rate*, TmP en sus siglas en inglés). Una vez alcanzado este punto, la excreción urinaria va aumentando en proporción a la cantidad filtrada. Este TmP varía en función del individuo, y dentro del mismo individuo en función de las condiciones que presenta, fundamentalmente dependientes del filtrado glomerular (FG) existente en cada momento. De hecho, la ratio TmP/FG es considerado el parámetro más fiable para valorar la capacidad reabsortiva renal de fósforo¹⁶⁴. Los niños tienen un TmP más alto, es por ello que las concentraciones séricas de fósforo son superiores a las del adulto⁴.

En cuanto al proceso de reabsorción, la gran mayoría, como se ha mencionado previamente, tiene lugar en el túbulo proximal. Es aquí donde se encuentran los cotransportadores de la familia Na/Pi. Inicialmente se le dieron importancia a los tipos I y II, pero posteriormente se ha ido sosteniendo que los primeros no juegan un papel esencial como reguladores del fósforo. Dentro de los tipo II, en el riñón se ha demostrado la presencia de los IIa y IIc, siendo el primero el más abundante, en base a estudios realizados en ratones¹⁶³. Además de estos, existen otros cotransportadores Na/Pi presentes a nivel tubular, como son los tipo III, también conocidos con el nombre de PiT, y donde PiT-2 es el más importante¹⁶⁴. Estos últimos, a diferencia de los tipo II, se encuentran de forma más uniforme a lo largo de la nefrona. De forma general, y en base a los estudios de expresión génica, se estima que en el riñón la presencia de los transportadores tipo I corresponde a un 15% del total, un 84% pertenecen a los tipo II, y los tipo III se aproximan a un 1% del total¹⁶³. Los mecanismos involucrados en la expresión de los transportadores Na/Pi precisan de la colaboración de factores que se agrupan en una familia con el nombre de factor regulador del intercambiador Na⁺/H⁺ (*Sodium Hydrogen Exchanger Regulatory Factor*, NHERF en sus siglas en inglés), aunque se sostiene que otras moléculas podrían tener una función similar^{136,137,165}. Weinman et al¹⁶⁶, sin embargo, fueron capaces de demostrar claramente que la actividad de NHERF era fundamental para permitir la expresión de Na/Pi en la membrana de las células tubulares renales, puesto que la inhibición de NHERF-1 en ratones con una dieta baja en fósforo conducía a un aumento en la excreción del mismo, así como una reducción en la expresión de Na/Pi IIa. Otros investigadores posteriormente también demostraron una reducción en Na/Pi IIc¹⁶⁷ (Cunningham). Biber et al¹³⁶, años más tarde, descubrieron otra proteína de la familia que tenía actividad en estas situaciones, NHERF-3.

A nivel funcional, diversos estudios han sugerido que los transportadores tipo II son cruciales para la homeostasis renal del fósforo, y dentro de ellos destacan los IIa^{86,164,168}. Beck et al⁸⁵ realizaron análisis en ratones a los que se inhibía este transportador, demostrando que la reabsorción de fósforo se veía reducida aproximadamente en un 70%, con el incremento correspondiente en la fosfaturia. Como ocurriera con los IIb a nivel intestinal, son receptores muy sensibles a cambios en el pH, modificando su comportamiento de forma evidente cuando existen modificaciones en el mismo. Murer et al¹⁶⁹, en otra de sus investigaciones, demostraron el potencial de los Na/Pi IIb a través del uso de inhibidores competitivos, como el ácido fosfonofórmico (Foscarnet); observaron una reducción en la capacidad reabsortiva tubular. Del mismo modo, a partir de establecer modificaciones en el pH, sostuvieron al igual que otros autores que los incrementos de pH aumentaban la reabsorción del fósforo a través de diferentes mecanismos, pero siendo uno de los más importantes el hecho de que los iones H⁺ interfieren con los sitios de interacción del Na⁺ en los transportadores, compitiendo con ellos y alterando su afinidad.

La familia de transportadores Na/Pi IIa están presentes en su mayoría en el segmento más inicial (S1) del túbulo proximal^{137,170}. Estudios más dirigidos han demostrado que estas moléculas incrementan o disminuyen su exposición en la membrana respondiendo a diferentes factores, algunos de ellos ya comentados. Además, diversos autores han

demostrado que estos cambios son relativamente rápidos, puesto que se han desarrollado experimentos en los cuales cambios en la dieta inducían en pocas horas modificaciones en el número de transportadores expresados^{171,172} a través de cambios en los procesos de endocitosis^{168,169,173}. Sin embargo, en aquellas situaciones en las que se precisa de un mayor número de transportadores para aumentar la capacidad absorbente del fósforo, éstos no se reciclan, o al menos lo hacen de forma muy poco significativa^{163,168}. Pfister et al¹⁷³, mediante el empleo de células OK, una línea celular que se asemeja macro y microscópicamente a las células del túbulo proximal, demostraron que en situaciones en las que se aumenta el fósforo en la dieta, o bien cuando la concentración sérica de PTH es alta, los transportadores Na/Pi ven reducida su expresión en la membrana y se dirigen directamente a los lisosomas, donde son degradados. Otros investigadores incluso han postulado que existe una síntesis proteica de novo de este tipo de moléculas¹⁷⁴. Sin embargo, hasta hace unos años esta presunción no se había demostrado in vivo. Keusch et al¹⁶⁸ realizaron análisis en ratas en las que suprimían el proceso de degradación lisosomal. De esta forma, coincidieron por una parte con los resultados obtenidos en estudios previos, confirmando que en situaciones que favorecen la excreción de fósforo (PTH, dieta rica en fósforo), los transportadores Na/Pi II se internalizan y son dirigidos a los lisosomas. En otro orden de cosas, evidenciaron también que al inyectar la leupeptina, un inhibidor de los procesos de degradación lisosomal, los transportadores se mantienen intactos. Postularon también, como en investigaciones previas, que al seguir la ruta de degradación lisosomal, los transportadores no eran por tanto internalizados en otras estructuras que pudieran ser externalizadas a posteriori, por lo que la hipótesis de que se reciclaban cuando volvían a ser necesarios era desechada.

En cuanto a los transportadores Na/Pi IIc, se argumenta que siguen un proceso por el cual ven reducido su número a medida que se incrementa la edad. Investigaciones en animales han demostrado que el papel de este transportador en la regulación del fósforo es muy pequeño en adultos, mientras que la abundancia del mismo en candidatos jóvenes es significativa, deduciendo que quizás este transportador tenga un papel esencial en la homeostasis fosfórica durante el crecimiento^{144,164,169,175,176}. Las investigaciones han demostrado que, al contrario de lo que ocurría con los Na/Pi IIa, los Na/Pi IIc ven modificado su número de forma más paulatina, incluso en días¹⁶⁵.

1.5.2.1 Parathormona (PTH)

Si hablamos de los factores reguladores, fundamentalmente nos encontramos la dieta, la PTH y el FGF-23^{8,168}. En primer lugar, si nos centramos en la dieta, se ha demostrado ampliamente que una ingesta rica en fósforo implica un descenso en la reabsorción tubular renal del mismo, mientras que una dieta pobre en fósforo incrementa su reabsorción, en algunas ocasiones reabsorbiendo prácticamente todo lo filtrado. Otro dato a tener en cuenta es que estos efectos son independientes de las concentraciones en plasma de otros factores modificadores de la reabsorción^{163,165}. Algunos investigadores, sin embargo, sí que han incidido en la posible influencia de la insulina en estas situaciones, ejerciendo un efecto antifosfatúrico¹⁷⁷.

La PTH ejerce su acción fosfatúrica a través de los transportadores tubulares de fósforo, estimulando mecanismos que favorecen la internalización, el traslado a los lisosomas y su posterior degradación¹⁶⁴. La interacción de la PTH con receptores presentes en la membrana del túbulo proximal renal conduce a la activación de una serie de proteínas, fundamentalmente las quinasas A y C, y con ello sus rutas de señalización, que finalizan con los productos de degradación previamente mencionados^{173,178-180}. De la misma manera que ocurriera con la dieta, los cambios inducidos en los diferentes transportadores no tienen lugar a la vez, sino que parece que la PTH actúa rápidamente en la reducción de la expresión de los Na/Pi IIa y los PiT-2, mientras que la regulación de los Na/Pi IIc es más progresiva¹⁶⁵. Además, otros han evidenciado que las proteínas NHERF no sólo actúan favoreciendo la expresión de los transportadores, sino que también participan en los procesos de internalización que conducen a estas moléculas hacia los lisosomas^{155,157,167}. Estos autores han observado que en ratones en los que se inhiben las proteínas NHERF, la PTH no es capaz de llevar a cabo el proceso de internalización de los transportadores.

Entre las alteraciones metabólicas que presentan los pacientes con hipersecreción de PTH por un hiperparatiroidismo primario se encuentran la hipercalcemia, la hipercalcúria, la hiperfosfaturia y la hipofosfatemia. Las investigaciones no han arrojado resultados claros acerca de los posibles efectos de la calciuria sobre la eliminación urinaria de fósforo. De hecho, no todos los pacientes con hiperparatiroidismo primario tienen hipofosfatemia, por lo que algunos autores han defendido que la hipercalcúria de alguna manera altera la reabsorción tubular de fósforo actuando a través de su sensor. Otros autores, por otro lado, han sostenido que la hipercalcúria provoca una disminución de los transportadores Na/Pi tubulares, y con ello un incremento de las pérdidas urinarias de fósforo^{181,182}.

Actualmente lo que se propone son dos procesos bien diferenciados en función del tiempo de evolución del hiperparatiroidismo primario. En una fase precoz, la PTH estimula la liberación de calcio y fósforo del hueso, así como su absorción a nivel intestinal a través del calcitriol, y por último induce un aumento en la reabsorción de calcio en el riñón, disminuyendo sin embargo la recaptación de fósforo. En esta etapa, las pérdidas urinarias de fósforo se compensan con las cantidades obtenidas desde el intestino y el riñón, por lo que la fosfatemia se mantiene prácticamente invariable. A medida que la situación avanza, la calcemia va incrementándose, por lo que se postula que ésta activa el sensor presente a nivel tubular, y con ello se reduce el número de transportadores Na/Pi IIa presentes, disminuyendo por tanto la reabsorción de fósforo aún más. También describen que este sensor inhibe la producción de calcitriol, por lo que se reduce la cantidad absorbida de estos elementos. Todo ello conduce a la hipofosfatemia descrita en este tipo de pacientes, así como al control del incremento de la calcemia^{157,183}. De hecho, en los últimos años se han comenzado a emplear fármacos cuya diana sea este sensor en pacientes con niveles elevados de PTH, para reducir su concentración sin provocar de forma secundaria una elevación en las concentraciones séricas de fósforo y calcio. Inicialmente comenzó a emplearse el cinacalcet, y en los últimos años han salido a la luz otras moléculas como el velcalcetide^{184,185}.

1.5.2.2 FGF-23

Con relación a esto último, las investigaciones apuntan a que existe otro factor que contribuye a regular la homeostasis renal del fósforo, y no es otro que el FGF-23. Como habíamos mencionado con anterioridad, pertenece a un grupo de moléculas conocidas como fosfatoninas, con funciones a diferentes niveles, pero cuya principal actividad reside en el riñón, favoreciendo la eliminación renal de fósforo^{7,12,132,134,157}. Este factor se sintetiza fundamentalmente en osteoblastos y osteocitos, y a nivel renal interacciona con la proteína Klotho para realizar sus funciones, que consisten en reducir la expresión de los transportadores Na/Pi IIa y IIc. Lo que resulta llamativo es que estos efectos, añadidos a los que provoca a nivel intestinal, resultan en una disminución de la fosfatemia más evidente que la que genera la PTH per se, y quizás esto se deba a que la PTH ejerce un efecto permisivo para su actividad, lo cual podría justificar que potencie los efectos de FGF-23^{2,157,186,187}.

La aparición del FGF-23, y el hecho de que su génesis tenga lugar en el hueso, ha cambiado la percepción de este último, que ha pasado de ser considerado un mero órgano de reserva de calcio y fósforo, a formar parte de un complejo sistema cuya principal función es la regulación de estos minerales. En la actualidad se concibe que esta molécula tiene dos funciones principales: la primera es aportar una señal con efecto fosfatúrico para permitir una correcta regulación del fósforo y mantener un equilibrio entre las pérdidas sufridas por la resorción ósea, y la segunda es ejercer una actividad contrarreguladora sobre el calcitriol, evitando los efectos de una excesiva exposición al mismo¹⁵⁸.

Los investigadores han demostrado que FGF-23 actúa en los túbulos proximales activando la enzima 1,25-dihidroxivitamina D 24-hidrolasa, e inhibiendo los efectos de la 25-hidroxivitamina D 1- α -hidroxilasa. De este modo, inhibe la producción del calcitriol, evitando sus efectos¹⁸⁸. Asimismo, y al igual que ocurría con algunos reguladores intestinales, los efectos de FGF-23 en el metabolismo del calcitriol no son dependientes de VDR, puesto que estudios en ratones a los que se inhibieron los VDR y se infundieron grandes cantidades de FGF-23 objetivaron un descenso en la fosfatemia con elevación de la excreción urinaria de fósforo^{162,189}.

Aunque los mecanismos precisos mediante los cuales FGF-23 actúa a nivel tubular no se conocen con precisión, se ha advertido que ejerce su actividad a través de su receptor FGFR1¹³⁶, activando la vía de señalización de la proteína quinasa activada por mitógeno (*Mitogen-Activated Protein Kinase*, MAPK en sus siglas en inglés). Sin embargo, también se han descubierto otros receptores sobre los que FGF-23 puede actuar. De este modo, y aunque algunos autores han considerado que FGFR1 es el receptor sobre el que α -klotho tiene mayor afinidad^{190,191}, otros han valorado la posibilidad de que FGF-23 interaccione con FGFR3 y FGFR4^{192,193}. Así, tras la realización de múltiples experimentos in vivo con ratones^{190,194,195}, se ha llegado a la conclusión de que, si bien FGFR1 es el principal receptor sobre el que FGF-23 realiza su efecto fosfatúrico a nivel renal, FGFR3 y FGFR4 parecen tener también un rol en esta actividad. Por último, FGFR3 y FGFR4 son más sustanciales en el impacto que FGF-23 tiene sobre el metabolismo del calcitriol que el propio FGFR1¹⁵⁸. Weinman et

al¹⁶⁶ postularon que NHERF1 también resulta necesario para que FGF-23 realice sus actividades, al igual que ocurre con la PTH.

Es interesante considerar que, por un lado, se ha constatado que MAPK se activa en los túbulos distales, y por otra parte Klotho se expresa esencialmente también en esta localización, aunque también se ha demostrado a posteriori su expresión en la zona más proximal de los túbulos renales, aunque de forma débil^{134,136,195-197}. Por lo tanto, parece que el efecto regulador de FGF-23 en los túbulos proximales podría ser indirecto, y que existiese un mecanismo mediante el cual esta molécula facilitase la liberación de algún elemento que actuara de forma paracrina, activando en último término todos aquellos procesos que hemos mencionado previamente. Aunque inicialmente podría ser α -klotho uno de los principales implicados, liberándose en los túbulos distales a partir de la activación de FGF-23 y actuando por un mecanismo de feedback en los proximales, análisis en ratones llevados a cabo por Nakatani et al¹⁹⁸, y en los que se inhibió la actividad de ambas moléculas, concluyeron que no existe una actividad independiente de α -klotho en la regulación del fósforo y el calcitriol. Por lo tanto, si se sigue defendiendo que es un proceso de feedback distal-proximal el que explica las acciones renales llevadas a cabo por FGF-23, no parece que sea α -klotho el responsable de modular los efectos paracrin¹⁵⁸.

El principal regulador de FGF-23 no es otro que el calcitriol. Saito et al¹⁹⁹, así como otros investigadores, demostraron que el calcitriol incrementa los niveles de FGF-23, y que un descenso en los niveles del mismo se acompaña de una caída en la concentración de FGF-23 en suero.

En cuanto a la participación de la PTH, parece que depende de mecanismos que involucran al calcitriol. Inoue y Samadfam et al^{188,200} realizaron estudios en ratones en los que inhibieron los receptores de calcitriol, demostrando que a pesar de tener niveles elevados de PTH, la concentración sérica de FGF-23 era desproporcionadamente baja. En otra investigación, Liu et al¹⁹⁰ emplearon ratones que presentaban niveles deficientes de PTH, y demostraron que la inyección exógena de calcitriol elevaba los niveles de FGF-23. Por lo tanto, los efectos de la PTH sobre esta hormona dependen de los niveles de calcitriol en suero.

1.5.2.3 Otras hormonas

El calcitriol, como se ha mencionado previamente, es una hormona que se produce a nivel renal a partir de la α -hidroxilasa, que a su vez se ve regulada por diferentes elementos, entre los que se incluyen la PTH, el FGF-23, el calcio, el fósforo y el equilibrio ácido-base^{157,164,201,202}. Sin embargo, sus efectos sobre el fósforo a nivel de este órgano resultan cuanto menos controvertidos^{157,169}. Se asume que estimula la reabsorción tubular de fósforo, pero se desconoce si se trata de un efecto directo o indirecto de esta hormona^{169,203}.

Por un lado, se ha demostrado que los genes que codifican para los correceptores Na/Pi Ila y Ilc expresan elementos relacionados con los receptores de la vitamina D (VDR), pero no hay evidencias de que el calcitriol per se participe en la génesis de estas proteínas²⁰⁴. Capuano et al¹⁵⁵ manifestaron en sus investigaciones que en ratones a los que se suprimían los efectos de VDR, la expresión de Na/Pi Ila y Ilc se veía francamente afectada; sin embargo, este defecto se veía compensado cuando se les ofrecía una dieta rica en calcio, sugiriendo que el calcitriol no era el principal responsable de la expresión de estos transportadores. Hipotetizaban que en situaciones en las que VDR se veía inhibido los niveles de PTH eran elevados, lo que podía explicar la reducción del número de cotransportadores, y que una dieta rica en calcio normalizaba la concentración de PTH, y con ello la expresión de los Na/Pi.

Otras hormonas también contribuyen a la regulación renal del fósforo. Entre ellas, podemos destacar la hormona del crecimiento (GH) y la IGF-1 (*Insulin-like Growth Factor 1*), la insulina y la hormona tiroidea. Todas ellas se caracterizan por incrementar la reabsorción de fósforo¹⁶⁴. En el caso de la GH y la IGF-1, ambas actúan activando la reabsorción vía transportadores Na/Pi en los túbulos proximales renales. De hecho, autores como Mulroney et al²⁰⁵ demostraron que el uso de antagonistas de GH en ratas inhiben tanto el crecimiento como la reabsorción renal de fósforo. Experimentos en perros y ratones han demostrado que la acción de la GH es probablemente indirecta, y que la principal actividad la lleva a cabo la IGF-1^{179,206-209}. Lo que no se conoce con exactitud es si solamente facilitan el transporte de fósforo, o si también incrementan el número de transportadores.

En el caso de la insulina, Defronzo et al²¹⁰ fueron uno de los primeros grupos de trabajo que demostraron que, en perros con niveles de glucemia en rango, si se les inyectaba exógenamente insulina aumentaba la reabsorción de fósforo. Sin embargo, no fueron capaces de demostrar si esto se debía a un efecto directo de la insulina a nivel tubular, o si podía ser una acción indirecta a través de otros mediadores. Posteriormente, Hammerman et al²⁰⁷, realizando también investigaciones en perros, confirmaron que la insulina actuaba a nivel tubular, favoreciendo la aparición de un mayor número de transportadores Na/Pi, y con ello un incremento de la reabsorción de fósforo.

Más adelante, se postuló que esta hormona también participaba en el incremento de la reabsorción de este elemento en situaciones de privación del mismo, a partir de que investigadores demostraron que los niveles de insulina en sangre aumentaban en animales a los que se les ofrecía una dieta baja en fósforo¹⁷⁷. Sin embargo, esta suposición no se cumplía en aquellos animales que cumplían condición de diabéticos. Abraham et al²¹¹ argumentaron que el incremento en el número de transportadores no tenía lugar en el estado de hipofosfatemia de candidatos diabéticos, sino que se producía cuando se administraba en estos mismos animales insulina exógena. Por lo tanto, parece que la insulina no se comporta del mismo modo a nivel renal si se incrementan endógenamente sus niveles de forma secundaria para prevenir la hiperglucemia generada por la diabetes¹⁷⁹.

La hormona tiroidea estimula la reabsorción renal de fósforo al incrementar el número de transportadores Na/Pi en el túbulo proximal. Hace aproximadamente tres décadas, análisis en ratones demostraron que tanto la triyodotironina (T_3) como la tiroxina (T_4) estimulaban el transporte de fósforo a nivel tubular, un efecto directo y no dependiente de la acción de otros reguladores como la PTH^{212,213}. Además, se demostró que estas hormonas estimulaban la síntesis proteica de los transportadores Na/Pi, lo que conducía a un incremento en su número. Alcalde et al²¹⁴, años más tarde, argumentaron que la T_3 tenía un efecto fisiológico a nivel tubular. De hecho; los ratones con hipotiroidismo mostraban unos niveles de fosfatemia disminuidos, así como una inhibición en el transporte tubular, situación que se revertía al administrar exógenamente T_3 . Yusufi et al²¹⁵, de forma similar, también demostraron un efecto similar mediante el empleo de T_4 . Además, analizaron si los efectos de T_4 eran similares a los que se observaban con la T_3 , o si por el contrario la actividad de la T_4 dependía de su conversión previa a triyodotironina. Basándose en los conocimientos previos de que existe una enzima capaz de convertir T_4 a T_3 en el túbulo proximal renal, la desyodasa tipo I, emplearon inhibidores de la misma para ver los efectos directos de la tiroxina a nivel renal. Mediante el uso de ipodato, bloqueaban la actividad de la enzima, y demostraron que la reabsorción tubular de fósforo se mantenía. Es decir, postularon que los efectos de T_4 y de T_3 eran similares, y no precisaban de una transformación previa de T_4 en T_3 .

1.5.2.4 Fósforo

Además de estas hormonas, el propio fósforo también es considerado como uno de sus reguladores, aunque su importancia no se conoce con exactitud. Por el momento no está descrito un sensor regulador del fósforo, tal y como sí lo está en el caso del calcio. Perwad et al²¹⁶ manifestaron un incremento de los niveles de FGF-23 con el incremento de la ingesta de fósforo, argumento que también apoyaron otros autores^{12,216}. Por el contrario, investigadores como Larsson²¹⁷ o Berndt¹³⁴ han propuesto que las concentraciones de FGF-23 en suero no se modifican sustancialmente con la dieta, y que esto podría explicar en parte que cambios rápidos en la dieta no modifiquen la excreción urinaria de fósforo. Otros estudios apoyaron que la dieta ejerce una actividad menor que el calcitriol en la homeostasis renal de FGF-23. En la actualidad se defiende que para la regulación de FGF-23 los cambios en la dieta, y no en la propia fosfatemia, son los que de verdad inciden. Es decir, los cambios en la ingesta de fósforo inducen modificaciones en FGF-23 de forma independiente a los niveles en sangre de este elemento¹⁸⁴.

Sommer et al²¹⁸ plantearon que quizás los cambios en la excreción de fósforo dependan de mecanismos que involucren al intestino, y que éste tenga de alguna forma sensores que envíen señales al riñón para regular su reabsorción, lo cual es considerado como en efecto tardío, y que éste se produzca en horas. De algún modo, existen factores intestinales que actúan como señalizadores renales, y modifican la actividad de los transportadores tubulares sin que se vean modificadas las concentraciones séricas de los reguladores.

Existen investigaciones más recientes que han confirmado que la infusión duodenal directa de fósforo provoca cambios en la excreción del mismo, sin que se vean modificados los niveles de PTH o FGF-23 en suero^{134,219}. Siguiendo este argumento, Berndt et al¹³⁴ en una de sus investigaciones demostró una rápida relación entre cambios bruscos en la dieta y modificaciones evidentes en la excreción de fósforo. Defendieron que existen señalizadores intestinales que de alguna manera evitan cambios bruscos en la fosfatemia, y con ello los efectos deletéreos que pudieran acarrear. Por otro lado, argumentaron que estas mismas señales no sólo ejercen su actividad en situaciones bruscas, sino que también actúan cuando existen cambios prolongados en el tiempo. Para ello infundieron fósforo directamente en el duodeno y yeyuno de ratas, como hicieran previamente otros autores, manifestando cambios en la fracción excrecional de fósforo. Asimismo, realizaron el mismo experimento en otras ratas a las que se las había paratiroidectomizado, obteniendo los mismos resultados que en el anterior grupo. Tampoco evidenciaron cambios en las concentraciones en sangre de PTH, FGF-23 u otras fosfatinas ya conocidas.

Una vez confirmado el argumento de que los cambios en la dieta acarrearían cambios en la excreción de fósforo, este mismo grupo investigador trató de buscar el causante de dichas modificaciones. En uno de sus primeros experimentos trató de mostrar si era el sistema simpático el factor involucrado, pero evidenciaron que en ratones a los que se denervaban los riñones, la excreción se mantenía más alta cuando se administraba fósforo exógeno. Fueron más lejos, y demostraron que en la mucosa duodenal existía algún factor con actividad fosfatúrica, pero no lograron aislar el responsable. Por tanto, parecen existir sensores de fósforo a nivel duodenal, que señalizan cambios en la ingesta del mismo, y que provocan respuestas a nivel renal. Sin embargo, la naturaleza de la molécula y del tipo de señal responsable aún no se conoce con exactitud^{134,136,219}.

1.5.3 Regulación ósea

Como se ha mencionado con anterioridad, el hueso constituye el principal reservorio de calcio y fósforo en el organismo; asimismo, desde el descubrimiento de las fosfatinas y la síntesis de FGF-23 en osteoblastos y osteocitos, se ha establecido también el hueso como un regulador esencial de estos minerales. Podemos distinguir dos rutas fundamentales de transporte de fósforo en el hueso. La primera corresponde al intercambio de este elemento entre el suero y el hueso, y la segunda tiene lugar en el propio hueso, y consiste en el traslado del fósforo del osteoblasto a los cristales de hidroxiapatita.

Si nos centramos en el proceso de intercambio de fósforo entre el suero y el tejido óseo, diariamente existe un trasiego de aproximadamente 200 mg, a partir del cual se internaliza nuevo mineral en el hueso, y se reabsorbe una cantidad similar para que exista un equilibrio. Este reemplazo continuo, de alguna manera, regula la formación de nuevo tejido óseo, y controla la resorción de aquel hueso dañado o no deseado⁴. Existen situaciones en las que se rompe este equilibrio, y se seguirán de una ganancia o de una pérdida de este mineral en el hueso, como puede ser el crecimiento o la inmovilización respectivamente.

Por otra parte, un determinante esencial para la formación de nuevo hueso es la concentración sérica de fósforo, que determinará la biodisponibilidad de este elemento para la mineralización de la matriz osteoide. No se conocen con exactitud los sensores que se encargan de recoger la señal para la síntesis de FGF-23, pero se sabe que esta hormona, una vez liberada al torrente sanguíneo, realiza una serie de procesos ya descritos que determinan un descenso en los niveles de fosfatemia. Por lo tanto, se considera el FGF-23 el principal regulador de la homeostasis del fósforo, estableciendo un mecanismo de feedback entre ambos, y activando una serie de procesos que llevan a la estimulación o la inhibición de uno sobre otro⁴.

Otro de los pilares en la regulación de la homeostasis ósea del fósforo es la PTH. Como se ha mencionado previamente, esta hormona facilita la liberación ósea de este elemento, incrementando los niveles de fosfatemia¹⁵⁷. Para ello, se une a sus receptores presentes en células de linaje osteoblástico (PTHr1), entre las que se incluyen las células osteoprogenitoras, osteoblastos maduros e inmaduros y osteocitos. De este modo, estimulan la producción de nueva matriz extracelular y con ello contribuyen al proceso de mineralización ósea. Sin embargo, las mismas células osteoblásticas que estimula producen una serie de moléculas, como citoquinas relacionadas con el factor de necrosis celular, RANK o RANKL, favoreciendo el proceso de osteoclastogénesis, y liberando calcio y fósforo al torrente sanguíneo^{220,221}. Por lo tanto, la PTH puede inducir tanto la formación como la resorción ósea, y se postula que uno u otro efecto depende del tiempo durante el cual sus niveles se vean alterados.

Siguiendo esta línea argumentativa, algunos autores^{221,222} postularon que la acción de la PTH sobre el hueso depende de si esta hormona ejerce un efecto continuado o intermitente en dicho órgano. Es decir, a partir de sus experimentos manifestaron que la administración continua de PTH estimula un alto nivel de recambio óseo, produciendo por tanto una pérdida de hueso, en tanto que la administración intermitente de la hormona favorece el aumento de masa ósea^{221,223}. Asimismo, en las últimas dos décadas se ha podido demostrar que en este proceso participa un gen conocido como SOST, que codifica para una proteína conocida como esclerostina. Esta proteína está presente en los osteocitos e impide la proliferación y diferenciación de osteoblastos. Keller et al²²¹ determinaron que la administración intermitente de la PTH induce una inhibición residual de SOST, favoreciendo con ello la aparición de nuevo hueso.

Al igual que ocurre con la regulación renal de la fosfatemia, existen diversas hormonas que interactúan en la homeostasis ósea del organismo. Destacamos fundamentalmente las funciones de la GH y la IGF-1, y también la regulación que ejercen las hormonas tiroideas.

Como es sabido, tanto la GH como la IGF-1 son esenciales en el crecimiento y desarrollo del organismo desde las primeras etapas de la vida. Entre otras funciones, se encargan de que los huesos adquieran el tamaño y la densidad mineral adecuada²²⁴. Se ha demostrado ampliamente que el déficit de GH se relaciona con una disminución de la

densidad mineral ósea, y que el tratamiento exógeno con esta hormona incrementa la misma^{225,226}, así como que induce una mejoría en los parámetros de formación y remodelación ósea²²⁷⁻²²⁹. Por otro lado, diversos autores han demostrado la existencia de una correlación entre los niveles de IGF-1 y la densidad mineral ósea tanto en hombres como en mujeres²³⁰⁻²³³, así como que el déficit de IGF-1 incrementa el riesgo de fractura en mujeres^{234,235}.

La GH realiza sus acciones a través de su receptor transmembrana (GHR) presente en múltiples tejidos, incluyendo el hueso. De este modo, ejerce su acción sobre los órganos diana de dos formas, por una parte a través de este receptor, y por otro lado mediante la síntesis de IGF-1, que tiene lugar fundamentalmente en el hígado^{226,236}. Sin embargo, la GH también estimula la producción local de IGF-1 en los diferentes tejidos sobre los que ejerce su acción, y de hecho se ha demostrado que el efecto paracrino de IGF-1 sobre estos órganos para su crecimiento y desarrollo es significativamente superior al ejercido por el IGF-1 sintetizado en el hígado²³⁷, a diferencia de lo postulado años atrás por Salmon et al²³⁸. Estudios in vitro han exhibido que la GH desempeña su función en etapas muy tempranas de la génesis ósea, actuando sobre los precondrocitos^{235,239}. De igual manera, tanto osteoblastos como condrocitos tienen receptores para GH, por lo que ésta también participa en la proliferación y diferenciación ósea^{235,240}.

También tiene un papel crucial en el proceso de resorción ósea, puesto que se ha demostrado que la GH estimula la producción en osteoblastos de diversas citoquinas proinflamatorias que promueven la osteoclastogénesis, como son la TNF- α , IL-1 o IL-6^{241,242}.

En cuanto a la IGF-1, esta hormona lleva a cabo diferentes funciones en el tejido óseo, pero fundamentalmente promueve la osteoblastogénesis a partir de la estabilización de la β -catenina, incrementando con ello la actividad de la vía Wnt. Como se ha mencionado previamente, la síntesis de IGF-1 también tiene lugar en el propio hueso, a partir del estímulo de diversos agentes, pero fundamentalmente la GH²²⁶. Laviola et al²⁴³ manifestaron en sus estudios que ratones con déficit de IGF-1 presentaban diferentes malformaciones esqueléticas, con retardo de la mineralización ósea, así como disminución de la proliferación condrocitaria e incremento de la apoptosis de estos últimos. Aunque su efecto sobre el hueso lo ejerce de forma independiente, se ha demostrado que en individuos que padecen síndromes relacionados con resistencia a la acción de la GH, el IGF-1 promueve el crecimiento de manera similar a sujetos sanos, pero de forma menos efectiva^{244,245}. Por tanto, tanto la GH como IGF-1 participan en la génesis ósea de forma independiente, pero con efecto sinérgico²⁴⁶.

Hace varias décadas se demostró que los niveles de calcemia ejercían un rol importante en el proceso de osteoblastogénesis, puesto que el aumento en los niveles de calcio estimulaban la síntesis de ADN de los osteoblastos a partir del incremento en las concentraciones de IGF-1²³⁴. Posteriormente, Kanatani et al⁸² demostraron este mismo hecho, pero en este caso con el fósforo como elemento regulador. Por lo tanto, la síntesis local de IGF-1 en los osteoblastos no sólo depende de estímulos hormonales, sino que en ella también participan tanto el calcio como el fósforo. Estos mismos autores

postularon que los cambios en los niveles séricos de fósforo modulan de alguna manera la proliferación de los osteoblastos, y que este efecto es en parte dependiente del efecto de este elemento sobre la síntesis local de IGF-1.

Las hormonas tiroideas también juegan un papel destacado en el desarrollo del esqueleto, así como en el incremento de la densidad mineral ósea y su mantenimiento. Los trastornos en el eje hipotálamo-hipófisis-tiroides han demostrado interferir en el crecimiento de los pacientes que lo sufren, así como provocar el desarrollo de sintomatología músculo-esquelética. De todas ellas, la T_3 es la responsable de la mayor parte de acciones en hueso, actuando a través de los receptores α y β ($TR\alpha$ y $TR\beta$). Se ha demostrado que esta hormona participa activamente en la génesis de condrocitos, así como en la formación y mineralización de la matriz ósea²⁴⁷.

Sin embargo, otra hormona como es la TSH también participa de alguna forma en la regulación ósea. Además de su principal acción de estimular la producción de hormona tiroidea, ejerce acciones sobre el hueso de manera independiente a la T_4 y T_3 , induciendo un efecto negativo sobre los procesos de osteoblasto y osteoclastogénesis, aunque las vías exactas sobre las que actúa no son conocidas del todo en la actualidad. De alguna manera, por tanto, aquellas situaciones en las que existe un incremento en la actividad de la glándula tiroidea inducen una aceleración en el proceso de remodelado óseo, y con ello un incremento en las concentraciones de calcio y fósforo en sangre, mientras que los individuos con hipotiroidismo presentan un enlentecimiento del proceso de resorción ósea, y parece que esto se corresponde con niveles reducidos de fosfatemia^{248,249}.

1.5.4 Resumen de la homeostasis del fósforo

Como ya se ha descrito con anterioridad, la dieta constituye la principal fuente de adquisición del fósforo. Una vez ingerido, el intestino delgado es el encargado del proceso de absorción de este elemento, fundamentalmente en duodeno y yeyuno, con una eficacia de aproximadamente el 80%^{4,164}. Este proceso se ve profundamente afectado en función del tipo de dieta que siga el individuo^{30,151}. De este modo, mientras que el fósforo inorgánico (alimentos procesados) tiene una tasa de absorción de aproximadamente el 100%, el que está presente en los alimentos como fósforo orgánico (nueces, cereales, etc.) tiene una capacidad absorptiva menor de un 30%.

Los principales mecanismos que se encargan del paso de este elemento al torrente sanguíneo son el transporte activo dependiente de cotransportadores y la difusión paracelular^{4,134,135}. En la primera de ellas, participan en mayor medida los cotransportadores de la familia Na/Pi, aunque también ejercen una función importante otro tipo de moléculas, como los transportadores PiT. La difusión paracelular, en cambio, está creciendo en importancia en los últimos años, aunque ya se había descrito hace varias décadas. Esta vía de absorción tiene lugar a través de las uniones estrechas presentes entre las células intestinales, con la ayuda de una serie de proteínas como NH3, las claudinas o las ocludinas^{4,132}.

Sin embargo, la absorción del fósforo es dependiente de una serie de factores que actúan en el intestino. El principal determinante para el paso de este elemento a través de las células intestinales lo constituye el calcitriol, mediante el incremento de los transportadores Na/Pi en los enterocitos^{132,145,155}. Otras hormonas a tener en cuenta son la PTH o FGF-23, ésta última actuando a través de β -klotho, que se encuentra en la porción proximal del intestino delgado, y que se postula que puede inhibir la absorción de fósforo¹⁸⁴.

El riñón es considerado el principal regulador de la homeostasis del fósforo, puesto que se encarga de manipular una gran cantidad diaria del mismo, filtrando aproximadamente 5 gramos al día y reabsorbiendo en torno a un 80-85% del mismo^{8,12,164,169}. Esta reabsorción ocurre fundamentalmente en la porción proximal de los túbulos, y depende en gran medida de los transportadores Na/Pi, especialmente los tipo II-a^{85,168}

Si nos atenemos a los reguladores renales de este elemento, destacan la dieta, la PTH y el FGF-23. Por un lado, la relación entre la dieta y la reabsorción tubular es inversamente proporcional, con una mayor reabsorción en aquellos individuos con una dieta pobre en fósforo. En cuanto a la PTH, se ha demostrado ampliamente su acción fosfatúrica actuando sobre los receptores Na/PI, favoreciendo su internalización celular y su ulterior inactivación.

FGF-23 también provoca una pérdida urinaria de fósforo a través de su interacción con la proteína Klotho, provocando una reducción en la expresión de los transportadores Na/Pi IIa y IIc.

Los efectos de otras hormonas como el calcitriol en el riñón son menos evidentes, y a día de hoy no demostrados con claridad^{157,203}. Sin embargo, no hay que olvidar que el calcitriol se sintetiza en este órgano, y que también se ve regulado por diversos factores, entre los que destaca FGF-23. Así, FGF-23 inhibe la producción de calcitriol, por lo que disminuye también la absorción intestinal de fósforo. Este constituye uno de los principales ejemplos de que la homeostasis del fósforo no sólo tiene lugar a nivel local, sino que su regulación también se produce por señalizadores situados en otros órganos.

Una situación similar se puede describir en el hueso. De este modo, este órgano no sólo se considera como el principal reservorio de fósforo en el organismo, sino que es el encargado de la síntesis de FGF-23, una hormona con actividad en diferentes órganos⁴. Aunque el trasiego de fósforo no es tan evidente como en el riñón, se trata de un elemento esencial en el control de la producción y reemplazo óseo, a través de la vía RANKL/Wnt, y ayudado por otros señalizadores como la PTH²⁵⁰.

Por todo ello, en la regulación corporal del fósforo tenemos este elemento como pilar central, ejerciendo su función como estructura de membranas celulares, componente para el procesamiento de nucleótidos, etc. Por otro lado, existen una serie de hormonas que se encargan de controlar su actividad eminentemente en intestino, riñón y hueso, entre las que destacan la PTH, el calcitriol y FGF-23.

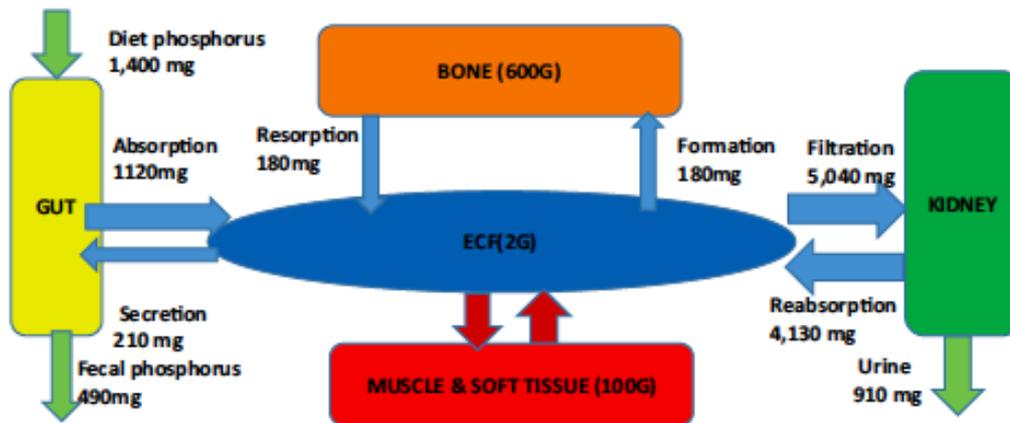


Imagen tomada de Peacock M. Phosphate metabolism in health and disease.

1.6 Trastornos en la regulación del fósforo

1.6.1 Hiperfosfatemia

A pesar de que el fósforo se considera un elemento fundamental para el funcionamiento del organismo, cantidades excesivas del mismo pueden conducir a daños severos a nivel celular^{3,251}. Se han publicado experimentos en ratones a los que se les ha inhibido selectivamente la acción de hormonas contrarreguladoras como FGF-23 para mantener niveles elevados de fosfatemia, en los cuales se han observado efectos deletéreos como envejecimiento prematuro con calcificaciones vasculares, así como hipogonadismo y atrofia tisular generalizada, conduciendo todo ello a la muerte precoz^{43,192,198}. Para confirmar que es el fósforo el causante de estas alteraciones, se realizaron experimentos similares pero bloqueando también la actividad de los transportadores renales, y demostrando que éstos últimos no se acompañaban de una aceleración del envejecimiento o aumento de calcificación ectópica²⁵². Incluso existen autores, como Kurosu et al¹⁹³, que postularon que una sobreexpresión de la molécula Klotho se asocia con un descenso en los niveles de fósforo, y con ello un incremento de la esperanza de vida comparado con ratones con niveles de fósforo y Klotho normales.

Estos estudios han sido realizados en animales, pero en seres humanos la información disponible es más escasa. El principal grupo de pacientes que presentan hiperfosfatemia son aquellos con un fracaso renal crónico, en los que se manifiestan una serie de características como pérdida de masa muscular, calcificaciones vasculares y un incremento de la mortalidad. En estos casos, multitud de estudios han objetivado una evolución renal más favorable en relación con niveles de fosfatemia más reducidos²⁵³⁻²⁵⁶.

También se ha postulado la hiperfosfatemia como un factor de riesgo cardiovascular, incrementando el riesgo de mortalidad no sólo en pacientes con fracaso renal crónico, sino también en aquéllos con una función renal preservada^{3,256}. En el caso de Li et al²⁵⁶, sin embargo, la relación entre la hiperfosfatemia y el incremento de la mortalidad no era tan revelador en los sujetos con un funcionalismo renal normal. Si nos centramos en el riesgo cardiovascular y la mortalidad, diversos autores han establecido una relación lineal entre la fosfatemia y el incremento de éstos²⁵⁷. Tonelli et al²⁵⁸ postularon que, incluso en aquellos pacientes con una fosfatemia dentro del rango considerado como normal, existía un 70% más de probabilidades de fallecer en el grupo de pacientes con fosfatemia >4 mg/dl que aquellos con una fosfatemia <2.5mg/dl. Otros autores encontraron relación entre la fosfatemia y el riesgo cardiovascular a determinados niveles, no objetivando asociación con algunos trastornos como los accidentes cerebrovasculares²⁵⁶. Aún con todo, aunque diversos estudios revelan una relación entre fosfatemia y mortalidad, existen dudas respecto a si se trata de una influencia directa o mediada por otros factores. Por ejemplo, la hiperfosfatemia presente en pacientes con fracaso renal crónico se acompaña de un incremento progresivo de la PTH, y ésta última también se ha asociado con un aumento del riesgo cardiovascular²⁵⁹. Por otra parte, tampoco existe un valor de fosfatemia considerado de riesgo, y el empleo de quelantes de fosfato arroja resultados inconsistentes²⁵¹.

Algunos autores han tratado de profundizar en estos aspectos, y han manifestado que el estrés oxidativo puede ser uno de los mecanismos que explique los efectos de la hiperfosfatemia. De este modo, se ha visto que el fósforo, en condiciones normales, controla la producción de radicales libres de oxígeno a nivel mitocondrial. En situaciones de hiperfosfatemia tienen un papel destacado los transportadores de la familia PiT. Así, la presencia de altas concentraciones de fósforo en sangre desencadena la activación de los transportadores, lo que permite el paso intracelular de fósforo. En estudios con células musculares lisas cultivadas in vitro, al añadir al medio altas cantidades de fósforo se ha objetivado un incremento sustancial de la producción de radicales libres, favoreciendo el estrés oxidativo, que conduce a la inflamación de un gran número de tejidos, y con ello disfunción y apoptosis celular^{3,260}. Di Marco et al²⁶¹, además de demostrar el efecto de la hiperfosfatemia sobre la alteración de la función mitocondrial y el impulso de la apoptosis de las células endoteliales, objetivaron que con el uso de ácido fosfonofórmico (inhibidor) todos estos procesos se interrumpían.

Otros trabajos han demostrado ampliamente que la persistencia de estrés oxidativo impide una correcta reparación del ADN, y es por ello por lo que, en último término, la hiperfosfatemia se asocia con una aceleración del envejecimiento.

En cuanto al proceso de calcificación vascular, uno de los principales mecanismos por el que el fósforo genera toxicidad tisular es a través de la calcificación de las paredes vasculares. Algunos estudios observacionales han demostrado un incremento de aterosclerosis y calcificación vascular en pacientes con niveles elevados de fosfatemia, tanto en individuos con fracaso renal como en el grupo con función renal normal²⁶²⁻²⁶⁴. De alguna manera, el exceso de fósforo genera calcificaciones en tejidos en los que normalmente no se deposita, fundamentalmente en los vasos sanguíneos. De hecho, se considera el fósforo como el elemento clave en la patogénesis de la mineralización de los vasos sanguíneos. Asimismo, algunas investigaciones han mostrado que los niveles elevados de fósforo pueden provocar la transformación de células de músculo liso vascular puede diferenciarse a osteoblastos, facilitando el proceso de calcificación vascular.

En estos procesos, la familia PiT también juega un rol esencial. Así, estos transportadores se encargan no sólo del paso de fósforo al interior de las vesículas de la matriz en el tejido óseo, sino que en aquellas situaciones con fosfatemia elevada sirven de señalizadores para activar determinados genes en la membrana plasmática de las células de músculo liso, y con ello facilitar la transformación de dichas células en osteoblastos, lo que conduce a la calcificación vascular patológica³. Entre los efectos de la hiperfosfatemia a nivel vascular se ha descrito favorecer la apoptosis celular, proporcionando material para la formación de cristales, y facilitar la expresión de proteínas relacionadas con la génesis ósea²⁵¹. De nuevo, y para confirmar que se trata de efectos de la fosfatemia, se han realizado experimentos en los cuales, al reducir los niveles de este elemento, la calcificación disminuía, aún manteniendo niveles elevados de calcemia²⁶⁵.

Otro de los mecanismos que se han asociado en los últimos años a la presencia de hiperfosfatemia es la inducción del proceso de tumorigénesis, tanto en experimentos *in vitro* como *in vivo*. Dhar et al²⁶⁶, mediante el empleo de una línea celular epidérmica, objetivó que el fósforo participa en múltiples etapas de la carcinogénesis. En cuanto a los análisis *in vivo*, ratones a los que se sometió a una dieta rica en fósforo experimentaron una transformación celular con proliferación de células de la piel. En aquellos ratones que sufrían de tumoración de la piel, la presencia de una dieta rica en fósforo incrementaba hasta en un 50% el número de papilomas²⁶⁷. Por otro lado, se ha demostrado también que la incidencia de quistes y carcinomas renales es superior en pacientes con fracaso renal crónico acompañados de hiperfosfatemia que en la población general^{268,269}. Asimismo, Cho et al²⁷⁰ manifestaron que un incremento de la fosfatemia se asociaba con tumorigénesis pulmonar al activar la ruta de señalización Akt. De alguna forma, la hiperfosfatemia modifica la expresión genética involucrada en el ciclo celular, y parece que potencia los efectos carcinogénicos en animales, aunque

todavía está por dilucidar el efecto que puede tener el fósforo en la tumorigénesis humana.

1.6.2 Hipofosfatemia

La hipofosfatemia se define por una concentración anormalmente baja de fósforo en suero o plasma, lo que no siempre implica una verdadera depleción corporal. De forma genérica, en adultos la hipofosfatemia se define como una concentración sérica de fósforo inferior a 2,5 mg/dl^{149,271}. A su vez, se puede clasificar en leve (2-2,5 mg/dl), moderada (1-2 mg/dl) y grave (<1 mg/dl). En primer lugar, resulta interesante destacar que la presencia de hipofosfatemia no implica siempre la existencia de una disminución del fósforo corporal total; es decir, la hipofosfatemia puede coexistir con un fósforo corporal total bajo, normal o alto, puesto que como hemos mencionado previamente, únicamente un 1% del fósforo total está presente a nivel extracelular^{149,272}. Aunque se trate de una condición rara en la población general, la hipofosfatemia está presente en un porcentaje superior al 5% de los pacientes hospitalizados²⁷³, y en las unidades de cuidados intensivos este porcentaje puede incrementarse significativamente hasta un 25-30% de los pacientes^{274,275}.

1.6.2.1 Causas de hipofosfatemia

Desde el punto de vista fisiopatológico, la hipofosfatemia puede deberse a tres situaciones, que en ocasiones pueden confluir entre ellas: a) una disminución en la absorción intestinal; b) un incremento en las pérdidas renales, o c) una redistribución del fósforo del compartimento extracelular al intracelular²⁷¹.

Es raro que una disminución aislada del fósforo en la se acompañe de una disminución aguda en la fosfatemia, puesto que el organismo activa mecanismos de compensación que tratan de evitar este supuesto, por lo que si aparece por este motivo, se deberá a una situación de malnutrición severa. Otras situaciones, como puede ser el empleo de quelantes de fósforo, pueden generar hipofosfatemia en un período de tiempo significativamente menor²⁷⁶. En algunos estudios, se ha objetivado que una reducción de la ingesta de fósforo precisa de hasta tres meses para reducir la fosfatemia en 1 mg/dl²⁷⁷. Como se ha descrito con anterioridad, uno de los mecanismos por los que tiene lugar la absorción de fósforo es dependiente del calcitriol, por lo que cualquier condición que genere un descenso en sus niveles, o bien una resistencia a la acción de este metabolito de la vitamina D acaba generando hipofosfatemia. Por otra parte, trastornos malabsortivos que afecten a la zona más proximal del intestino delgado también se acompañan de un descenso de la fosfatemia, al ser la localización donde tiene lugar el proceso de absorción de este elemento. Esta situación puede objetivarse en condiciones como la resección quirúrgica o la diarrea crónica⁹.

El incremento en las pérdidas urinarias puede ser debido a un gran número de causas, pero una de las más frecuentes es el hiperparatiroidismo. Tanto el hiperparatiroidismo primario como el secundario generan una pérdida rápida de fósforo a través de la orina, acompañándose de una hipofosfatemia de moderada cuantía si el trastorno no se

corrige. Otro de los grandes grupos de trastornos que inducen una hipofosfatemia por pérdidas renales son las tubulopatías. El síndrome de Fanconi, que consiste en un trastorno en los túbulos renales proximales, constituye uno de los ejemplos más característicos. Otra afectación mucho menos frecuente es la enfermedad de Dent, que también es consecuencia de un defecto a nivel tubular.

Múltiples fármacos también afectan a la reabsorción tubular de los elementos, y alteran la diuresis de una variedad de electrolitos y otros elementos. En el caso del fósforo, como ejemplos existen los diuréticos que afectan al segmento proximal de los túbulos (acetazolamida), antibióticos como los aminoglucósidos, los quimioterápicos o los esteroides, que en algunas investigaciones han demostrado incrementar la reabsorción tubular¹⁶³. Por último, existen una serie de condiciones que se caracterizan por la génesis de un exceso de FGF-23, y que por lo tanto inducen hipofosfatemia por pérdidas urinarias. Entre ellas destaca la osteomalacia inducida por tumor, un trastorno hipofosfatémico secundario a la producción excesiva de FGF-23 de forma ectópica; otra situación similar a la descrita previamente es la hipofosfatemia post-trasplante renal, condición en la que el FGF-23 se mantiene elevado de forma transitoria para luego recuperar los niveles normales²⁷⁸.

En la mayoría de los casos, sin embargo, la hipofosfatemia suele deberse al paso intracelular de este elemento²⁷⁹. Situaciones como la alcalosis respiratoria, o la recuperación de una acidosis metabólica, trastornos que se encuentran con relativa frecuencia en pacientes hospitalizados, provocan el trasiego del fósforo del compartimento extracelular al interior de la misma²⁷¹. Los estudios han demostrado que el efecto de la alcalosis respiratoria es más significativo que el de la alcalosis metabólica^{280,281}. En ella, lo que se produce es un descenso en la concentración de pCO₂ intracelular, y con ello un incremento del pH. Este proceso estimula la ruta glicolítica, en la que resulta crucial el empleo de fósforo, por lo que es captado al interior de la célula, generando un descenso en sus niveles en sangre^{149,282}. Otras condiciones que causan un paso intracelular del fósforo es la administración de insulina, que induce el trasiego tanto de este elemento como de potasio^{278,279}. Es por ello que en el manejo de un debut diabético, es importante tener en cuenta el fósforo y no sólo el potasio. Asimismo, las crisis blásticas que ocurren en pacientes con leucemia inducen este trasiego²⁷¹. Otras entidades menos frecuentes son la conocida como síndrome de hueso hambriento, y que tiene lugar generalmente en aquellos pacientes que son sometidos a una paratiroidectomía, o que tienen metástasis osteoblásticas extensas, en los cuales existe una formación exagerada de hueso nuevo y, por tanto, de depósito de calcio y fósforo en el osteoide recién formado^{271,278}.

Existen también determinados grupos de riesgo de desarrollar hipofosfatemia. Por ejemplo, el empleo de forma crónica de antiácidos, como ocurre en aquellos pacientes con úlcus gastroduodenal, se ha asociado con niveles reducidos de fosfatemia^{276,277,283}. Esto se debe a que estos fármacos contienen elementos como el aluminio, que actúa como quelante y evita de este modo la absorción de fósforo procedente de la dieta¹⁴⁹. Otro grupo de pacientes en los que se puede desarrollar hipofosfatemia es en grandes

quemados. El estrés secundario a estas situaciones, con un incremento en las necesidades de ATP, unido a una pérdida de fósforo vía diuresis y transdérmica parecen las causas que propician esta situación. En el síndrome de realimentación, un cuadro clínico caracterizado por un trastorno hidroelectrolítico severo, y que se desarrolla tras la suplementación alimentaria en aquellos pacientes con importante deprivación nutricional de base, la hipofosfatemia es una alteración que se objetiva con frecuencia, en este caso debido al paso intracelular del mismo²⁷¹.

<u>PASO INTRACELULAR</u>	<u>↓ ABSORCIÓN INTESTINAL</u>	<u>↑ PÉRDIDAS RENALES</u>
Alcalosis respiratoria	Malnutrición	Hiperparatiroidismo 1º y 2º
Recuperación de acidosis metabólica	Uso de quelantes de fósforo	Trastornos tubulares renales (Fanconi)
Uso de insulina	Uso de antiácidos	Cetoacidosis diabética
Síndrome de hueso hambriento	Procesos malabsortivos (cirugía intestinal, diarrea)	Exceso de FGF-23 (osteomalacia oncogénica)
Síndrome de realimentación	Alcoholismo	Fármacos: diuréticos, bicarbonato, QT, antirretrovirales, hierro parenteral, anticonvulsivantes
Uso de insulina		
↑ catecolaminas		

Tabla 1. Causas de hipofosfatemia adquirida

<u>↓ TmP/FG mediado por FGF-23</u>	<u>↓ TmP/FG no mediado por FGF-23</u>
Raquitismo hipofosfatémico ligado al X (XLHR)	Raquitismo hipofosfatémico hereditario con hipercalciuria
Raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante (ADHR)	Raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante por mutaciones en SGK3
Raquitismo hipofosfatémico autosómico recesivo (ARHR)	Mutaciones en transportador Na/Pi IIa
Displasia fibrosa	Otros: enfermedad de Dent, cistinosis

Tabla 2. Causas de hipofosfatemia congénita

Todas las situaciones que hemos descrito con anterioridad se consideran causas de hipofosfatemia adquirida. Sin embargo, también existen causas de hipofosfatemia congénita, aunque menos frecuentes. Antes de describir las principales enfermedades que se encuadran en este grupo, es esencial destacar que aunque estas condiciones se han categorizado clásicamente en aquellas que cursan con un TmP/FG reducido (y por tanto generan hipofosfatemia por pérdidas renales) y otras en las que encontramos un TmP/FG elevado, en la práctica clínica sólo se describen entidades genéticas con TmP/FG bajo. Sin embargo, en los últimos años ha emergido la figura de FGF-23, pudiendo discernir condiciones congénitas mediadas por efecto de FGF-23 y otras no dependientes de esta hormona²⁸⁴.

Las dos entidades que en la actualidad se consideran las causas más frecuentes de hipofosfatemia de origen genético son el raquitismo hipofosfatémico ligado al cromosoma X (*X-linked Hypophosphatemic Rickets*, XLHR en sus siglas en inglés) y el raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante (*Autosomal Dominant Hypophosphatemic Rickets*, ADHR en sus siglas en inglés). Ambas están encuadradas dentro de los trastornos mediados por FGF-23. La primera de ellas (XLHR) constituye el trastorno hereditario más frecuente, y se debe a una acción excesiva de FGF-23 causada por mutaciones que inactivan el gen regulador de fosfato con similitudes a las endopeptidasas en el cromosoma X, o PHEX en sus siglas en inglés³. Tiene una prevalencia aproximada de 1 de cada 20.000-25.000 recién nacidos²⁸⁴. Aunque la fisiopatología de XLHR aún no es muy bien conocida, se sabe que este gen codifica una proteína de membrana que se localiza en osteoblastos, osteocitos, células musculares o dientes, entre otros tejidos²⁸⁵. Por otro lado, la ADHR está causada por una mutación en el gen de FGF-23, en la cual se induce una escisión incorrecta de esta molécula, fomentando un acúmulo de la misma. Lo que resulta interesante de esta entidad es que constituye la única causa de hipofosfatemia congénita en la que la mutación per se no es responsable del fenotipo que induce en los portadores de este defecto, sino que debe

asociarse a una condición adquirida para que éste se manifieste, y que generalmente es una deficiencia de hierro²⁸⁴. De hecho, varios autores han manifestado que la ADHR puede o no expresarse fenotípicamente en función de las reservas de hierro del portador de la mutación. Modelos animales han demostrado que en el contexto de déficit de hierro, los niveles de FGF-23 se ven incrementados en el caso de la existencia de la mutación¹⁹⁷. Cuando la proteína de escisión funciona correctamente, aunque la presencia de déficit férrico condiciona un incremento de FGF-23, éste se fragmenta correctamente y no se acumula en sangre^{45,286}.

Existe otra forma de hipofosfatemia congénita similar a las anteriores, con una prevalencia desconocida aunque menos frecuente, y un patrón de herencia autosómico recesivo. El raquitismo hipofosfatémico autosómico recesivo (ARHR en sus siglas en inglés) es un trastorno motivado por mutaciones en varios genes, siendo el más frecuente la proteína de la matriz dentina (Dmp1), aunque existen otros como ENPP1.

Por último, subrayamos la displasia fibrosa, una condición que, aunque se considera congénita en su naturaleza, no suele manifestarse en los primeros meses de vida²⁸⁴. Está producida por mutaciones en el gen GNAS, y puede exhibirse de forma aislada o bien asociada a determinados síndromes, como el McCune-Albright²⁸⁷. Sin embargo, mutaciones en genes similares (HRAS, KRAS y NRAS) causan el síndrome del nevus sebáceo lineal, que se encuadra dentro de los síndromes neurocutáneos. Esta entidad rara se caracteriza por la presencia de trastornos a nivel neurológico, junto con anomalías en el tejido óseo que desembocan en raquitismo^{288,289}.

Si nos centramos en aquellas entidades no dependientes de la actividad de FGF-23, cabe destacar una forma de hipofosfatemia autosómica dominante inducida por una mutación distinta. Mutaciones en el gen de la quinasa 3 inducible por glucocorticoides (SGK3 en sus siglas en inglés) han sido descritas recientemente como causantes de una forma de hipofosfatemia por incremento en las pérdidas renales²⁹⁰. Sin embargo, se diferencia de la anterior porque en este caso es un trastorno no dependiente de FGF-23, puesto que estudios en ratones con esta mutación han objetivado niveles reducidos de esta molécula²⁹¹.

Otra condición incluida en este grupo de trastornos es el raquitismo hipofosfatémico con hipercalciuria (HHRH en inglés), de carácter autosómico recesivo. En este caso se ven afectados los transportadores Na/Pi tipo IIc, razón por la cual se trata de una entidad que no depende de FGF-23. Mutaciones en los transportadores Na/Pi tipo IIa también son causa de hipofosfatemia congénita, y descrita en la literatura como un síndrome de Fanconi autosómico recesivo, en la que los trastornos en estos transportadores inducen pérdida no sólo de fósforo, sino también de aminoácidos y glucosa^{284,292}.

La enfermedad de Dent es un trastorno ligado al cromosoma X que se caracteriza por presentar muy frecuentemente datos de raquitismo y osteomalacia, así como nefrocalcinosis y deterioro de la función renal²⁸⁴. Tiene como origen la presencia de mutaciones en el gen del canal de cloro 5, así como mutaciones en el gen OCRL1; en

ambos casos se produce un trastorno en el funcionamiento de los lisosomas de los túbulos renales²⁹³.

La cistinosis, sin embargo, es un defecto autosómico recesivo por mutaciones en el gen CTNS, causando un acúmulo de cistina en los lisosomas, y con ello daño tisular a diferentes niveles²⁹⁴. Se manifiesta en los primeros días de vida con una pérdida renal de diferentes elementos (fósforo, calcio, glucosa, aminoácidos y agua), y consecuentemente fallo de medro y raquitismo²⁸⁴.

1.6.2.2 Manifestaciones de la hipofosfatemia

Si nos centramos en las manifestaciones clínicas de la hipofosfatemia, estas son muy variadas y dependen fundamentalmente del tiempo de instauración de la misma²⁷³. Esto tiene que ver con el hecho de que la hipofosfatemia se acompañe o no de una depleción de fósforo corporal total. Es decir, se han analizado pacientes que habían sufrido una hipofosfatemia aguda severa sin acompañarse ésta de una pérdida de fósforo total, y se ha objetivado que las manifestaciones clínicas eran mínimas, y no mejoraban con la recuperación de la fosfatemia²⁹⁵.

Por lo general, la hipofosfatemia leve e incluso la moderada se acompaña de escasa sintomatología, y suele aparecer en situaciones de cronicidad. En estas condiciones, las manifestaciones musculoesqueléticas son las dominantes, y los pacientes presentan alteraciones en el crecimiento, debilidad muscular, deformidades y dolor en los miembros, e incluso rabdomiolisis.

Por otro lado, la hipofosfatemia se acompaña de un gran número de síntomas, como alteraciones hematológicas (hemólisis, disfunción leucocitaria), cardiovasculares (trastornos en la contractilidad miocárdica con reducción del gasto cardíaco) o incluso respiratorias (insuficiencia respiratoria), aunque aparecen con mucha menor frecuencia^{149,273,279}.

1.6.3 Hipofosfatemia en población pediátrica

Hay que tener en cuenta que la fosfatemia en población pediátrica sufre cambios con la edad en mayor medida que la de otros electrolitos, y sigue una relación inversamente proporcional con la misma (Tabla 3). Como se ha explicado con anterioridad, la principal razón de la necesidad de altas concentraciones durante la infancia es el requerimiento de fósforo para posibilitar el crecimiento²⁹⁶. Es por ello que la definición de hipofosfatemia es dependiente de la edad, lo cual dificulta en muchos casos la interpretación de los valores obtenidos. Además, no se conocen con exactitud las cifras para subdividir los grados de hipofosfatemia, ya que al ser más elevadas las cifras en este grupo de pacientes, la subdivisión realizada en adultos no resulta válida²⁹⁷. Por otro lado, y como se objetiva en la tabla, los rangos de normalidad durante los primeros meses de vida no se conocen con total exactitud, y en gran parte esto se debe a la diferente alimentación que pueden llevar los lactantes, ya que existen diferencias entre la leche materna, que dependerá de las reservas de la madre, y las diferentes fórmulas presentes en el mercado, en cuanto a cantidad de fósforo se refiere.

En esta población ocurre lo mismo que en los adultos, y es que la fosfatemia no siempre reflejará la reserva corporal total, lo cual es importante a tener en cuenta de cara a la aparición de manifestaciones clínicas, fundamentalmente en aquellas situaciones clínicas que condicionen el paso intracelular del mismo. Desde el punto de vista fisiopatológico, la aparición de hipofosfatemia se explica del mismo modo que lo descrito previamente, aunque los casos de hipofosfatemia congénita son más frecuentes en niños por la propia naturaleza del origen genético, aunque ocasionalmente estas condiciones se diagnostican en época adulta, como ocurre con relativa frecuencia en el raquitismo autosómico dominante²⁸⁴.

En cuanto a la clínica, existen manifestaciones agudas y crónicas de hipofosfatemia. La hipofosfatemia grave puede acabar afectando a cualquier órgano corporal debido a las funciones que este elemento tiene sobre la totalidad del organismo. Las manifestaciones agudas generalmente aparecen en el contexto de pacientes hospitalizados. En población pediátrica, la prevalencia de hipofosfatemia en unidades de cuidados intensivos se sitúa en torno a un 60-70%^{117,297}, siendo más elevada que en adultos. En estos casos, encontramos sintomatología florida, a nivel cardiológico (disfunción cardíaca), renal (rabdomiólisis), hematológica (hemólisis), etc.

En el caso de las causas crónicas, la sintomatología suele ser musculoesquelética, o en ocasiones incluso puede haber ausencia de clínica, y la enfermedad se detecta a partir de un screening realizado por antecedentes familiares²⁸⁴. La alteración del proceso de mineralización provoca un retraso en el crecimiento, debilidad muscular, deformidades en los miembros, dolor en el esqueleto óseo, y a largo plazo aparece sintomatología propia del raquitismo, como fracturas o ensanchamiento de muñecas y tobillos²⁹⁶. Algunas formas hereditarias también cursan con craneosinostosis, hipoplasia facial o malformación de Chiari tipo I.

EDAD	NIVEL DE FOSFATEMIA (mg/dl)
0-5 días	4,8-8,2
1-3 años	3,8-6,5
4-11 años	3,7-5,6
12-15 años	2,9-5,4
16-19 años	2,7-4,7

Tabla 3. Valores de fosfatemia en población pediátrica. Tomada de Kliegman R, St Gerne J. Nelson Textbook of Pediatrics⁶.

2. Justificación, Hipótesis y Objetivos

2.1 Justificación del estudio

La determinación de la fosfatemia en la población pediátrica no se considera imprescindible en la práctica clínica habitual. Sin embargo, en nuestro estudio hemos objetivado que algo más de un 1% de los pacientes a los cuales se determinó este elemento presentaban valores por debajo de la normalidad, una condición que debería ser tomada en cuenta. Por otra parte, uno de los datos más interesantes manifestados en nuestra cohorte es el relativo a la evaluación de la hipofosfatemia en aquellos candidatos que la tenían. Así, prácticamente un tercio de los sujetos de la muestra presentaban una determinación con hipofosfatemia que no fue adecuadamente evaluada en el contexto clínico del paciente, tomada en consideración o confirmada en un estudio posterior. En aquellos pacientes con dos o más determinaciones de fosfatemia, casi la mitad de ellos tenían más de un 50% de sus valores por debajo del rango de la normalidad. En el caso de nuestra cohorte destacamos los pacientes con endocrinopatías, fundamentalmente aquellos con diabetes mellitus, tiroidopatías y talla baja.

Otro aspecto importante a destacar es que la homeostasis del fósforo depende en gran medida de diversas hormonas y otros elementos celulares situados en diferentes órganos, por lo que establecer la causa de la hipofosfatemia es una tarea ardua, a pesar de que existen numerosas pautas de evaluación descritas en la literatura. En nuestro análisis menos de un 10% de los candidatos fueron encuadrados en una posible causa que justificara la hipofosfatemia, aunque en algunos pacientes hubiese sido posible establecer una situación que la justificase. Este grupo de individuos generalmente presentan dos o más condiciones que podrían por sí acreditar los niveles reducidos de fósforo; sin embargo, la ausencia de otras determinaciones analíticas han impedido agrupar a más individuos dentro de una determinada causa de hipofosfatemia.

Siguiendo con esta idea, en el estudio básico de la fosfatemia es imprescindible el análisis de este elemento en la orina, puesto que uno de los mayores reguladores del fósforo lo constituye el riñón. Así, mientras que en la evaluación de alteraciones en otros iones la recogida de orina se considera esencial para averiguar el origen del desorden (por ejemplo, el sodio), resulta sorprendente que en nuestra cohorte muy pocos candidatos (menos de un 3%) tenían analizada la fosfaturia. Asimismo, el análisis del eje calcio-fósforo tampoco se realiza con regularidad, con menos de un 20% de valores de vitamina D y menos de un 10% de cifras de PTH solicitadas.

Por lo tanto, el fósforo es un elemento que no se solicita con relativa asiduidad en los perfiles analíticos de los pacientes pediátricos, y en aquellas condiciones en la que se obtienen valores por debajo de los límites considerados normales, o bien no se estudia y contextualiza o se hace de forma incompleta. El objetivo de nuestro estudio es analizar la importancia que puede tener una adecuada evaluación de los valores de fósforo

plasmático en la valoración clínica y metabólica de la población pediátrica, así como correlacionar la situación clínica de determinados grupos de pacientes en los que se observa una mayor incidencia de trastornos de la fosfatemia, como pueden ser los pacientes con endocrinopatías. De este modo, consideramos que los desórdenes del fósforo en sangre y orina pueden ejercer un valor significativo como predictores del grado de control de individuos con diabetes mellitus, déficit de GH y sujetos con trastornos tiroideos.

2.2 Hipótesis

El fósforo es un elemento esencial que está presente en las células de nuestro organismo; cuando existe disminución del mismo, nos encontramos ante una hipofosfatemia. Los rangos de normalidad de este elemento son bien conocidos en la edad adulta; sin embargo, no existe consenso para determinar puntos de corte en población pediátrica.

Por otro lado, dentro de las causas de hipofosfatemia, conocemos trastornos adquiridos y trastornos de origen genético. De este último grupo, el más frecuente es la Hipofosfatemia Ligada al Cromosoma X (XLH), que representa más del 90% de los raquitismos hereditarios, y una incidencia en Europa situada en aproximadamente 5 casos por cada 100.000 habitantes.

2.3 Objetivos

Nos planteamos este trabajo con los siguientes objetivos:

- A. Conocer la frecuencia de la hipofosfatemia en nuestro medio en población pediátrica.
- B. Analizar las causas de hipofosfatemia y su evolución.
- C. Identificar posibles casos ocultos de hipofosfatemia hereditaria que pudieran existir en nuestro medio.

3. Material y métodos

3.1 Población estudiada

La población de estudio fueron los pacientes pediátricos de la comunidad autónoma de Cantabria, con edades comprendidas entre los 0 y los 16 años, cuyas muestras habían sido analizadas en el Laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla, en Santander, que constituye el hospital de referencia de la comunidad. Para ello se revisaron las bases de datos del laboratorio. La recogida de las analíticas tuvo lugar desde Octubre de 2002 hasta Marzo de 2021 incluido, esto es, durante 16 años y 6 meses. En el año 2021, y según fuentes del Instituto Nacional de Estadística, la comunidad autónoma de Cantabria presentaba 101.728 sujetos por debajo de los 19 años. Las extracciones analíticas habían tenido lugar tanto a nivel extrahospitalario (niños sanos que acudían a sus Centros de Salud de la comunidad), como hospitalario (pacientes ingresados en Planta de Hospitalización o en la Unidad de Cuidados Intensivos Pediátricos, niños que acudían a Urgencias por diferentes motivos, pacientes que acudían a Consultas Externas de las diferentes subespecialidades pediátricas: Neuropediatría, Neumología infantil, Endocrinología infantil, Nefrología y Metabolismo, Neuropediatría, Digestivo infantil, Cardiología infantil, Alergología, Anestesiología). En total, se han evaluado 29.279 analíticas de 21.398 pacientes.

Como criterio de inclusión, y siguiendo con los criterios establecidos en la actualidad para población pediátrica, se aceptaron aquellas analíticas en las que el fósforo tuviera un valor inferior a 4 mg/dl en menores de 12 años, y por debajo de 3 mg/dl en aquellos pacientes con edades comprendidas entre los 12 y 16 años. Por otro lado, se excluyeron del estudio los niños con edad menor de 6 meses, por la variabilidad de los valores de referencia asumidos.

Esta fase, al no implicar ninguna intervención directa sobre los pacientes, ni la recogida de información potencialmente sensible, se consideró que no precisaba consentimiento previo de los padres o tutores legales.

Se revisaron las historias clínicas de los pacientes con hipofosfatemia. En una segunda fase, se citaron a consulta y se realizó una nueva revisión reglada de los pacientes con hipofosfatemia repetida sin encontrar una causa que lo justificase. En este caso, los padres o tutores legales del sujeto firmaron el consentimiento informado. El conjunto del estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica de Cantabria.

3.2 Determinaciones analíticas

En el proceso asistencial del paciente se obtuvieron muestras de sangre de forma sistemática, entre las 8 y 9 horas de la mañana. Se extrajeron muestras de sangre en tubos de vacío siliconados con filtro de gel de sílice sin anticoagulante para obtener el suero y determinar la bioquímica general (en relación con su proceso asistencial) y

parámetros hormonales específicos del estudio. Los tubos se mantuvieron antes, durante y después de la extracción, a una temperatura comprendida entre los 12 y 20 °C. Todas las muestras se procesaron antes de que transcurriera una hora desde su extracción. Para la obtención del suero las muestras se dejaron coagular durante 20-30 minutos, posteriormente se centrifugaron a 2000 g y a temperatura ambiente.

Los tubos con EDTA, para la obtención del plasma, se centrifugaron inmediatamente a 2000 g. Las determinaciones bioquímicas generales se analizaron el mismo día de la extracción. Por otro lado, el excedente de suero y plasma se congeló a -80 °C para el posterior procesamiento.

3.2.1 Calcio, Albúmina, Fósforo, Urea, Creatinina, Fosfatasa Alcalina

Dichas determinaciones se realizaron de manera automatizada mediante espectrofotometría (Calcio, Albúmina, Fósforo, Urea, Fosfatasa Alcalina), determinación enzimática (Creatinina) e inmunoensayo quimioluminiscente (PTH) en un equipo Atellica® CH&IM (Siemens Healthcare Diagnostics, Malvern, PA, USA),

3.2.2 25-hidroxicolecalciferol, 1- α ,25-dihidroxicolecalciferol

El análisis de la 25-hidroxicolecalciferol se realizó mediante quimioluminiscencia automatizada (inmunoensayo competitivo directo) para la determinación cuantitativa del total de 25-hidroxicolecalciferol en suero (D2 + D3) en un Liaison® XL Analyzer (DiaSorin, Stillwater, Minnesota, USA). Las muestras de suero son sometidas a una fase de pretratamiento para desnaturalizar la VDBP (*Vitamin D Binding Protein*). Estas muestras tratadas se neutralizan después con un tampón y se añade un anticuerpo (Ac) policlonal de oveja anti-25-hidroxicolecalciferol marcado con un derivado del éster de acridinio. En una primera fase de incubación se añaden partículas magnéticas enlazadas a la hormona. Después de una nueva fase de incubación las partículas magnéticas se capturan utilizando un imán. Tras una fase de lavado y la adición de reactivos desencadenantes, la luz emitida por el acridinio está inversamente relacionada con la concentración de 25-hidroxicolecalciferol de la muestra. La sensibilidad es de 4 ng/ml; especificidad: 100% reacción cruzada con 25-hidroxicolecalciferol, 8% con calcitriol, 1,3% con el 3-epímero. Reproducibilidad intra e interensayo <8 y <12 % respectivamente. Se considera suficiencia de vitamina D un valor >20 ng/ml y se recomienda así mismo no superar 60 ng/ml.

Asimismo, la metodología utilizada se encuentra estandarizada frente al material de referencia estándar certificado SRM 972a.

El laboratorio de Bioquímica del HUMV dónde se han medido los niveles de 25(OH) D participa en el programa de control externo de calidad DEQAS y posee el sello de calidad de dicha entidad.

En cuanto a la determinación del calcitriol, ésta fue realizada mediante inmunoensayo específico de tipo competitivo en placa recubierta (KAP 1921 de DiaSource, DiaSource Immunoassays, Belgium). En una primera fase del ensayo, previo a la incubación en

placa, existe una fase de extracción en fase sólida (columna) con solventes orgánicos para eliminar interferencias del inmunoensayo y otros metabolitos de la Vitamina D. Tras la elución de la muestra pretratada se procede a la incubación en placa recubierta de anticuerpos específicos anti-1,25-dihidroxi vitamina D para la reacción competitiva con un concentrado de 1,25 vitamina D conjugado. La cantidad se determina espectrofotométricamente (absorbancia de los puntos de la curva y de las muestras) siendo la absorbancia inversamente proporcional a la concentración en la muestra. Sensibilidad < 1 pg/ml; <0,1 % de reactividad cruzada con otras isoformas de vitamina D (25-OH-Vitamina D y 24-25-dihidroxitamina D); reproductibilidad intra e interensayo: <15 %.

3.2.3 Urea, Creatinina, Fósforo y Calcio en orina

En orina de micción aislada se determinó también urea, creatinina, calcio y fósforo con las mismas técnicas y equipo detallados más arriba corrigiendo la concentración de los parámetros por los niveles de creatinina en la micción aislada para estandarización.

3.2.4 FGF-23

El FGF23 en su forma intacta se determinó en plasma EDTA mediante inmunoensayo tipo sándwich (ELISA), Human FGF23 (intact) ELISA kit (Immunotopics Inc, San Clemente, CA, USA). Durante la primera incubación, el FGF23 se une al Ac monoclonal anti-FGF23. El Ac no unido se elimina mediante lavado. Después del lavado, se añade biotina conjugada. La biotina no unida se elimina mediante lavado. En el siguiente paso, se añade la solución de estreptavidina-HRP, se vuelve a lavar y se añade el sustrato cromogénico TMB. Finalmente, la reacción se detiene mediante la adición de un reactivo de parada y se mide la absorbancia a 450 nm. La concentración de FGF23 es directamente proporcional a la absorbancia en cada pocillo de muestra. El CV% intraensayo y el interensayo es inferior al 10 y al 12%, respectivamente. La linealidad es de 0,3-75 pg/mL.

3.3 Fases de estudio y definiciones

El estudio incluyó dos fases, una retrospectiva y otra prospectiva.

3.3.1 Estudio observacional retrospectivo

Se ha efectuado un estudio observacional analítico y retrospectivo de los pacientes pediátricos de la comunidad de Cantabria en un período comprendido entre octubre de 2002 y enero de 2020, analizando ambos sexos y en edades comprendidas entre los 6 meses y 16 años. Para ello se revisaron las bases de datos electrónicas del laboratorio de Análisis Clínicos del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla con los datos de los candidatos, incluyendo número de Historia Clínica, lugar en el que se realizó la extracción, edad, sexo, así como las determinaciones analíticas, que abarcaban la calcemia, la fosfatemia, la albúmina, la urea, la creatinina, la PTH, la 25-

hidroxicolecalciferol, la 1- α ,25-dihidroxicolecalciferol. También se incorporaban los parámetros urinarios (calcio, fósforo, urea, creatinina). Se realizaban las valoraciones pertinentes, y se evaluaban los antecedentes personales de cada uno de los pacientes que se incluían en el estudio, en base a enfermedades o trastornos que pudieran explicar los datos encontrados en las analíticas.

3.3.2 Estudio prospectivo

En el período comprendido entre enero de 2020 y marzo de 2021, se llevó a cabo un análisis prospectivo. Este consistía en que durante estos meses, el fósforo iba a ser añadido por defecto a todas las analíticas realizadas a los niños con edad comprendida entre 0 y 16 años. En esta etapa, los laboratorios de toda la región de Cantabria participaban en dicho estudio, incluyendo de este modo los Laboratorios de Análisis Clínicos del Hospital Sierrallana (Torrelavega) y Hospital de Laredo (Laredo). Los criterios de inclusión eran los mismos que para el análisis retrospectivo previamente descrito.

Aquellos pacientes recolectados en cualquiera de los dos estudios, y que presentasen alguna muestra de fosfatemia por debajo del rango de normalidad sin una causa conocida que lo justificase, eran candidatos a participar en otra fase del estudio. En este caso, los candidatos debían cumplir unos requisitos más estrictos, y que consistían en presentar uno o varios valores de fosfatemia por debajo de 3,2 mg/dl, sin una causa conocida que lo explicara.

Tras contactar con ellos, se citaban en Consultas Externas del Hospital Universitario Marqués de Valdecilla para una entrevista con ellos. En la consulta tenía lugar una entrevista clínica, en la cual se preguntaban los siguientes aspectos:

- A. Edad
- B. Sexo
- C. Antecedentes personales
 1. Embarazo y parto: edad gestacional, peso de recién nacido, ingreso o no en Unidad de Neonatología.
 2. Alimentación: lactancia materna o no; en caso positivo, tiempo de duración. Diversificación alimentaria posterior.
 3. Desarrollo psicomotor; edad de escolarización.
 4. Enfermedades o tratamientos habituales.
- D. Antecedentes familiares de interés: enfermedades del metabolismo óseo, u otras.
- E. Antropometría en el momento de la entrevista
- F. Exploración física

Asimismo, se entregaban una serie de consentimientos informados para su firma previa, en los que se incluían el consentimiento del estudio, el consentimiento del estudio genético y el consentimiento del biobanco para la conservación y el tratamiento de las muestras recogidas.

Posteriormente, se realizaban las pruebas analíticas adicionales necesarias para confirmar la sospecha de hipofosfatemia mantenida. Para ello se extraían cuatro tubos en total, así como una muestra de orina para la determinación de urea, creatinina, calcio y fósforo. Los dos primeros tubos de sangre se empleaban para el análisis de urea, creatinina, fósforo, calcio, albúmina, fosfatasa alcalina, PTH y 25-hidroxivitamina D. En caso de confirmación de hipofosfatemia, se excluían en un primer momento las causas potenciales adquiridas, incluyendo en la evaluación el análisis de FGF-23 y 1,25-dihidroxivitamina D, que se establecían a partir de una muestra de suero reservada para este fin. En caso de normalidad analítica, el cuarto tubo consistía en una muestra de sangre para proceder al análisis genético.

3.3.3 Definiciones

Todos aquellos pacientes pediátricos que cumplían con el criterio de hipofosfatemia eran agrupados en tres conjuntos en función de sus características clínicas y analíticas:

- Un primer grupo estaba compuesto por aquellos individuos que presentaban una única determinación de fosfatemia reducida sin una evaluación posterior, y fueron catalogados como **hipofosfatemia aislada**.
- En un segundo grupo estaban todos aquellos candidatos en los que se había objetivado dos o más valores de fósforo <4 mg/dl (o menor de 3 mg/dl en población comprendida entre 12-16 años), en dos muestras separadas al menos dos meses, sin evidenciar normalización posterior; este grupo era conocido como **hipofosfatemia mantenida**.
- Por último, el tercer conjunto estaba constituido por pacientes en los que los valores de fosfatemia oscilaban entre la normalidad y los niveles por debajo del rango, y fueron catalogados como **hipofosfatemia intermitente**.

Asimismo, estos pacientes eran catalogados en otros dos grupos, en función de si los antecedentes personales podían justificar la hipofosfatemia o no, en **causa conocida** o **causa desconocida**.

3.4 Análisis estadístico

En la evaluación de los datos se llevó a cabo en primer lugar un análisis descriptivo retrospectivo. En el caso de las variables cuantitativas los resultados fueron presentados como medidas de tendencia central y de dispersión. Para el análisis de las variables categóricas, sin embargo, los resultados fueron expuestos como números absolutos y porcentajes.

Para el contraste de las variables continuas fueron empleados los test de T de Student, U de Mann-Whitney y ANOVA, según fuera la distribución de la variable. El test de Chi Cuadrado se usó para el análisis de las variables categóricas, en los casos que resultara necesario.

Además, se realizó un análisis de correlación de Pearson para exhibir la relación entre los marcadores séricos.

4. Resultados

4.1 Distribución de los casos y de la fosfatemia

En el registro de 29.279 analíticas evaluadas, 268 pacientes de 0 a 16 años fueron identificados con al menos un valor de hipofosfatemia (fosfatemia en ayunas inferior a 4 mg/dl en menores de 12 años, o inferior a 3 mg/dl en pacientes de 12-16 años). De todos ellos, 36 niños no pudieron ser valorados: 29 de ellos por presentar una historia clínica incompleta y 7 por haber fallecido en el momento del estudio.

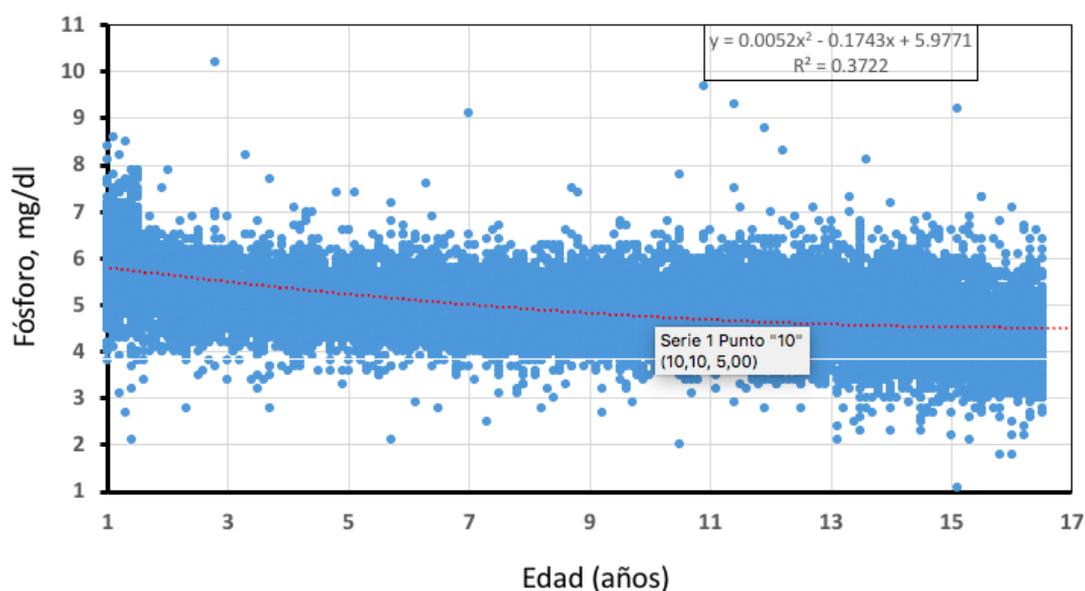


Imagen 1. Distribución de la fosfatemia en la población pediátrica de Cantabria

De los 232 pacientes incluidos finalmente en el estudio, 192 correspondían al estudio retrospectivo (octubre 2002-enero 2021), y 40 al registro prospectivo (enero 2020-marzo 2021). De la muestra general, 107 individuos eran varones (46,1%) y 125 (53,9%) eran mujeres.

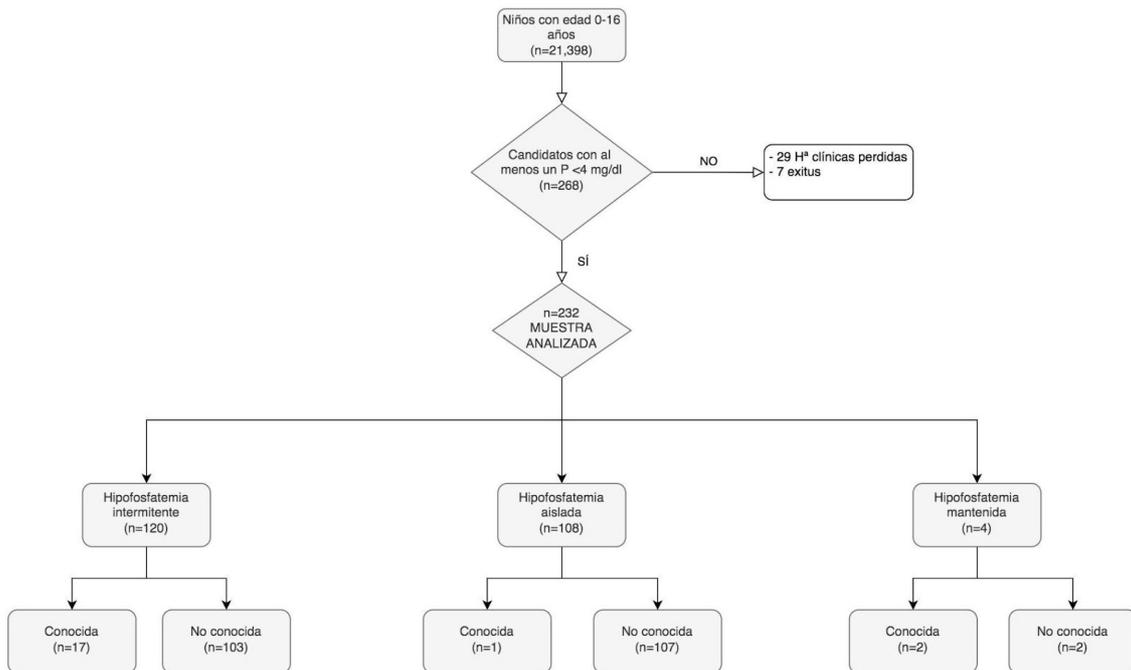


Imagen 2. Diagrama de flujo de la muestra analizada en la primera fase del estudio

Se recogieron tanto la edad en la que se realizó la primera analítica con un valor de fosfatemia como la edad a la cual presentaban el valor más bajo de este elemento. La media global de la edad a la cual se realizaba el primer análisis incluyendo fosfatemia era de 5,8 años, con una mediana de 6. Por otra parte, al calcular la media de la edad a la cual la fosfatemia era más baja, ésta resultó ser de 6,8 años, con una mediana de 8. Sin embargo, las diferencias eran sustanciales cuando comparábamos los dos estudios realizados. En la rama retrospectiva, la media de edad con el valor de fosfatemia más bajo era de 7,0 años, a diferencia del estudio prospectivo, en el cual la media era de 5,9 años ($p 0,0275$). Además, al investigar la primera analítica que incluía fósforo, la diferencia de edad era de 6,0 años en la rama retrospectiva frente a 5,2 años en la prospectiva, aunque esta diferencia no era estadísticamente significativa.

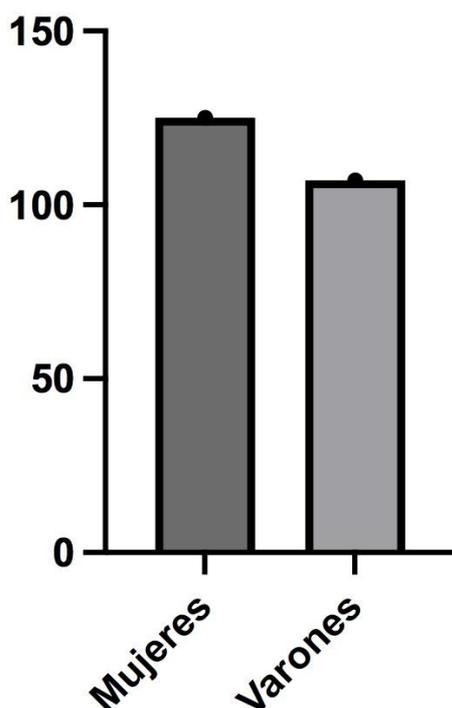
El número total de determinaciones de fósforo fue de 777, lo que significaban 3,35 muestras por paciente, con una mediana de 2 (Rango Intercuartílico o RIC 1-4). Al analizar las muestras que estaban por debajo de los puntos de corte establecidos, se recogieron un total de 308 determinaciones, lo que implica que un 39,6% de los análisis presentaba un nivel de fosfatemia por debajo de la normalidad. Si se comparaban los registros retrospectivo y prospectivo, en el primero la media de muestras con hipofosfatemia era de 13,6 por año analizado, lo que contrasta con las 63 determinaciones con hipofosfatemia recogidas en los últimos 15 meses del estudio.

Por otra parte, un total de 77 pacientes (33,2%) presentaban una única determinación de fosfatemia sin otro análisis posterior, 61 de ellos en la rama retrospectiva (79,2%) y 16 en la prospectiva (20,8%). Además, un 65,1% de los pacientes presentaban hipofosfatemia en su primera determinación.

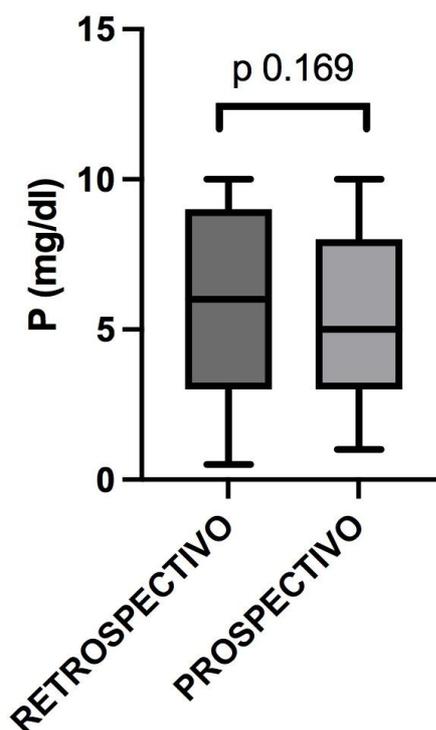
Si nos centramos en aquellos pacientes que exhibían dos o más muestras con fosfatemia, un 44,5% de los pacientes presentaban valores de hipofosfatemia en al menos el 50% de sus muestras.

En cuanto a la distribución de la fosfatemia por la muestra, recogimos en cada individuo el valor de fosfato en sangre más bajo, encontrando una media de 3.59 mg/dl y una mediana de 3.8 mg/dl (RIQ 3.5-3.9), con un valor mínimo de 1.4 mg/dl.

Distribución por sexo



Edad 1ª determinación fosfatemia



Imágenes 3a y 3b. Distribución de la muestra. Distribución por sexo e hipofosfatemia en 1ª determinación

Edad con fosfatemia más baja

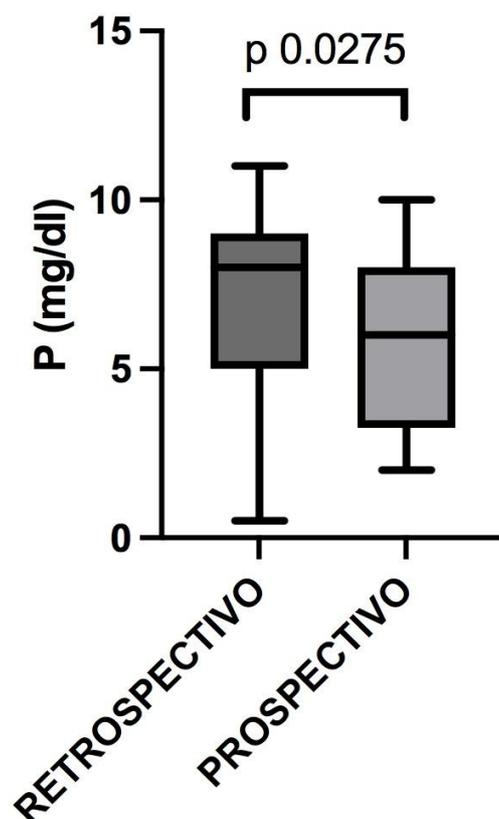


Imagen 4. Distribución de la muestra. Edades

4.2 Determinaciones analíticas

Además de la fosfatemia, otras determinaciones que se obtuvieron en los pacientes de la muestra fueron la calcemia, la función renal, la fosfatasa alcalina, la vitamina D o la PTH, cuyas características se recogen en la Tabla 4. Es importante destacar que se recogieron los valores más bajos de cada variable clínica salvo en el caso de la fosfatasa alcalina y la PTH, en el cual se registró el valor más alto.

Mientras tanto, la recogida de orina para el cálculo de los parámetros en la misma sólo se llevó a cabo en menos de un 3% de los candidatos de la cohorte.

Determinación	Número de muestras	% muestra	% muestras por debajo normalidad*	Valor más bajo*	Media	Mediana (RIQ)
Fósforo (mg/dl)	232	100	100	1,4	3,59	3,8 (3,5-3,9)
Albúmina (g/dl)	173	74,6	17,3	1,8	4,27	4,4 (4,02-4,7)
Calcio corregido por albúmina (mg/dl)	173	74,6	12,1	7,1	9,16	9,2 (8,83-9,4)
Fosfatasa alcalina (U/l)	197	85	3*	11.325*	328,06	218 (166,5-288,5)
Filtrado Glomerular (ml/min/1.73 m ²)	199	85,8	3,6	15	103,86	105 (95-120)
25-OHD (ng/ml)	36	15,5	52,8	8	19,72	19 (15-25,5)
PTH (pg/ml)	15	6,5	26,7*	108*	49,1	33 (17-35)

*Porcentaje de muestras con valor por encima de la normalidad, y valor más alto recogido.

Tabla 4. Determinaciones analíticas de la cohorte

4.3 Categorización de los pacientes

Al categorizar a los pacientes en función de sus parámetros analíticos, encontramos que 120 individuos cumplían criterios de hipofosfatemia intermitente, lo que constituía un 51,7% de la muestra. Los pacientes con hipofosfatemia aislada eran 108 (46,5%) y los 4 sujetos restantes correspondían al grupo de hipofosfatemia mantenida (1,7%).

En cuanto a la naturaleza de la hipofosfatemia, 20 individuos (8,6% del registro) presentaban alguna característica que podía justificar la presencia de hipofosfatemia, por lo que fueron englobados en el grupo de hipofosfatemia conocida. Ocho de estos sujetos sufrían una enfermedad tumoral y recibían tratamiento quimioterápico, uno de cuyos efectos secundarios es la reducción de los niveles de fosfatemia por incrementar las pérdidas urinarias. Además, 3 de ellos presentaban hipovitaminosis D. Existían otras 4 condiciones médicas causantes de hipofosfatemia, cada una de las cuales afectaba a dos pacientes: tratamiento anticonvulsivante, tratamiento corticoideo, tratamiento con bifosfonatos, y por último una entidad relativamente frecuente en los recién nacidos prematuros, y que se conoce con el nombre de Enfermedad Metabólica Ósea de la Prematuridad. Por último, uno de los pacientes sufría un síndrome de realimentación, que justificaba también niveles reducidos de fósforo, en este caso por paso intracelular del mismo, como ya se ha descrito con anterioridad.

Si analizamos las causas conocidas en función del mecanismo fisiopatológico que las explica, se constata que 9 de las causas se debían a un paso intracelular del fósforo, 6 de ellas a un incremento de las pérdidas urinarias, y 3 por un proceso de disminución de la absorción intestinal. Las dos causas restantes, que constituyen la Enfermedad Metabólica de la Prematuridad, presentan un mecanismo no del todo conocido.

Condición médica	Pacientes	% de la muestra
Enfermedad tumoral	8	3,4
Hipovitaminosis D	3	1,3
Enfermedad metabólica ósea de la prematuridad	2	0,9
Tratamiento anticonvulsivante	2	0,9
Tratamiento corticoideo	2	0,9
Tratamiento con bifosfonatos	2	0,9
Síndrome de realimentación	1	0,4

Tabla 5. Causas de hipofosfatemia conocida

4.3.1 Enfermedad tumoral. Tratamiento con quimioterápicos

Encontramos 8 pacientes, de los cuales 7 eran varones y uno de ellos mujer. Todos ellos cumplían las características de hipofosfatemia intermitente, con una media de muestras de 7 por sujeto, y una mediana de 5. En la Tabla 6 se muestran las principales características de estos individuos.

Condición médica	Número de pacientes	Fosfatemia más baja (mg/dl)
Leucemia linfoblástica aguda tipo B	5	3,4
Linfoma Hodgkin	1	3,5
Neuroblastoma	1	3,8
Granuloma eosinófilo	1	3,2

Tabla 6. Hipofosfatemia por enfermedad tumoral

4.3.2 Hipofosfatemia por fármacos

Seis pacientes de la muestra recibían tratamiento con fármacos que pueden causar hipofosfatemia, además de los quimioterápicos (Tabla 7).

Condición médica	Fármaco empleado	Nº determinaciones	Fosfatemia más baja (mg/dl)
Convulsiones (antecedente de E. hipóxico-isquémica)	Carbamazepina	2	3,4
Epilepsia focal criptogénica	Ácido valproico	5	3,6
Hiperplasia suprarrenal congénita clásica	Hidrocortisona	13	3,6
Hiperplasia suprarrenal congénita tardía	Hidrocortisona	7	3,9
Osteoporosis	Zoledronato	11	3,7
Osteogénesis imperfecta tipo III	Zoledronato	7	3,3

Tabla 7. Hipofosfatemia secundaria a fármacos

4.3.3 Enfermedad metabólica ósea de la prematuridad

En el estudio se encontraron 9 pacientes que cumplían criterios de Enfermedad Metabólica Ósea de la Prematuridad. Sin embargo, sólo 2 de ellos mantuvieron la hipofosfatemia por encima de los 6 meses de edad, por lo que fueron los que se incorporaron al registro. Uno de ellos nunca recibió tratamiento con fósforo oral, y presentó un valor de fosfatemia de 2,8 mg/dl a los 3 años y medio, con otros 2 valores de fosfatemia en rango de normalidad. El segundo paciente recibió tratamiento con fósforo desde los 6 hasta los 13 meses, y presentó 2 muestras con hipofosfatemia, con un valor mínimo de 2,9 mg/dl. Este sujeto mostró 5 valores de fosfatemia normales.

4.3.4 Endocrinopatías

Al analizar las principales afecciones que sufrían los candidatos de la muestra, se vio que el 25,4% presentaban endocrinopatías. Fundamentalmente se registraron pacientes con Diabetes Mellitus tipo I (21 individuos), así como sujetos con talla baja (14 pacientes) o trastornos tiroideos (13 pacientes). Sin embargo, también se identificaron pacientes con otras afecciones, como pubertad precoz, insulinoresistencia o hiperplasia suprarrenal. Considerando la importancia de este grupo de individuos, se evaluaron los valores de fosfatemia de los pacientes que padecían las endocrinopatías más frecuentes, comparándolos entre los diferentes grupos. La tabla 8 muestra las principales endocrinopatías presentes en nuestro registro, así como la frecuencia de cada una de ellas.

Condición médica	Pacientes	% de la muestra	Media de fósforo (mg/dl)
Diabetes Mellitus I	21	9,0	3,4
Trastornos tiroideos	13	5,6	3,7
Talla baja	14	6,0	3,7

Tabla 8. Distribución de las principales endocrinopatías

En los pacientes con Diabetes Mellitus tipo I, se realizaron un total de 112 determinaciones, mientras que en aquellos con desórdenes tiroideos el número de analíticas fue de 83, y 100 muestras en el caso de los pacientes con talla baja. Por lo tanto, se extrajeron una media de 5,3 analíticas por cada sujeto con diabetes, 6,4 muestras por paciente con trastorno tiroideo, y 7,1 analíticas por cada individuo con talla baja. Esto supone un incremento superior a 1,5 veces la media presente en el total del registro, e incluso en alguno de los grupos (talla baja) esta media se duplica. Todos los individuos de estos tres grupos se encontraban encuadrados en el registro de hipofosfatemia intermitente, salvo dos de ellos.

Por otro lado, se confirmó que la Diabetes Mellitus tipo I presentaba un fósforo medio de 3,4 mg/dl, menor que el fósforo en los otros dos grupos de endocrinopatías más comunes (desórdenes tiroideos y talla baja), con unos valores de 3,736 mg/dl y 3,711 mg/dl respectivamente. (Figuras 6a-6c).

Diabetes vs trastornos tiroideos vs talla baja

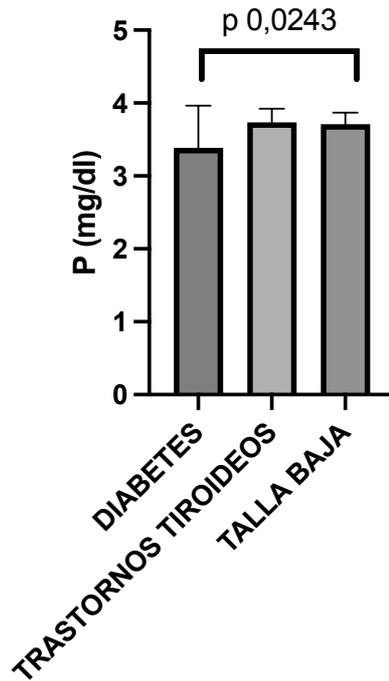
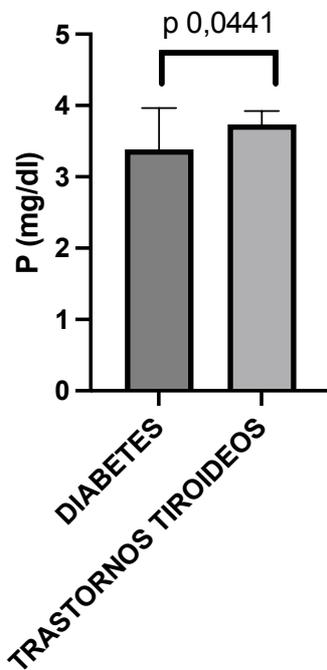
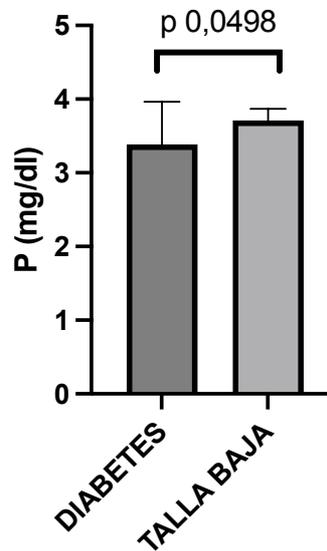


Imagen 5a. Media de fosfatemia más baja en las principales endocrinopatías

Diabetes vs trastornos tiroideos



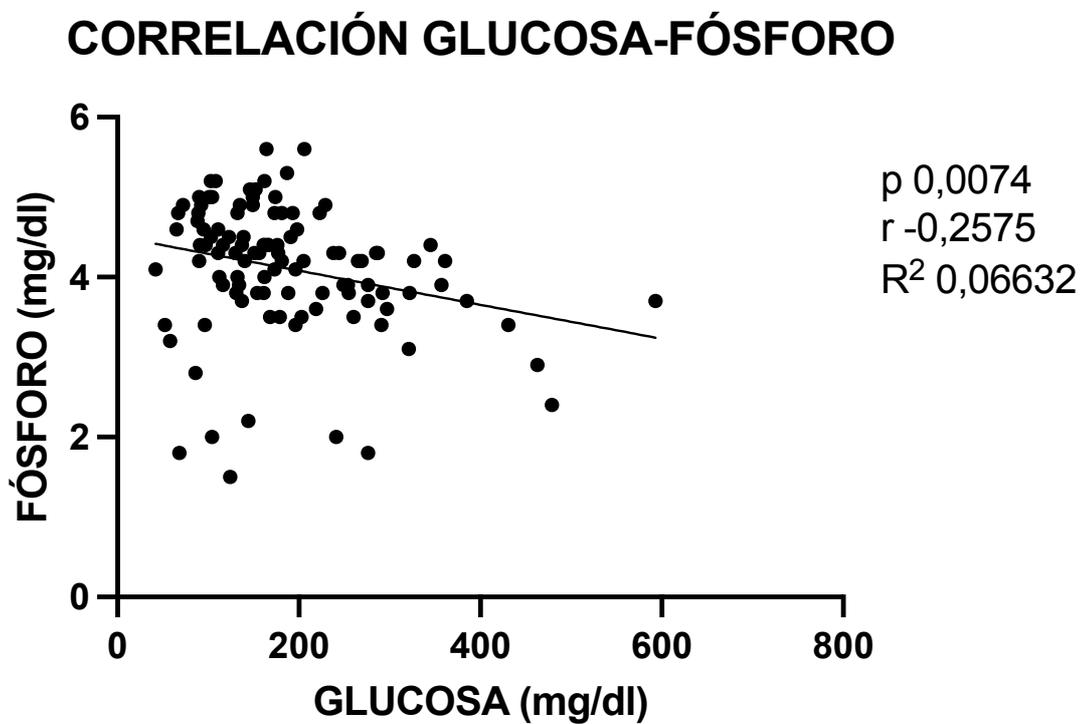
Diabetes vs talla baja



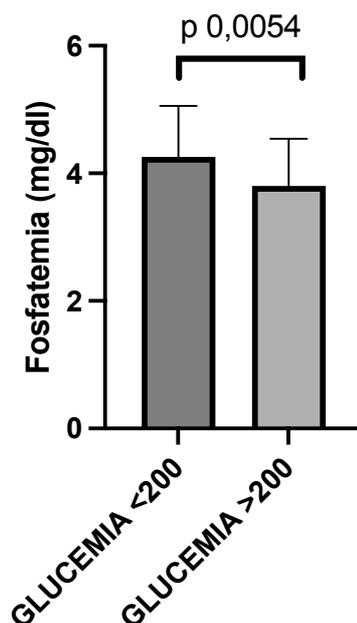
Imágenes 5b y 5c. Media de fosfatemia más baja en las principales endocrinopatías

4.3.4.1 Diabetes Mellitus

De las 112 determinaciones recogidas en los pacientes con diabetes, en 107 hubo un análisis concomitante de glucemia y fosfatemia (95,5%). De estas, un 27,1% se encontraban por debajo de los límites considerados normales. Al realizar un estudio comparativo para correlacionar los niveles de fosfatemia en función de la glucemia coexistente, se objetivó que existe una correlación negativa significativa entre ambas variables ($r = -0.2575$, $p 0.0074$), tal y como se muestra en la Figura 7a. Por otra parte, eligiendo un punto de corte de glucemia de 200 mg/dl, existe una diferencia considerable en los valores de fosfatemia. Es decir, la media de fosfatemia en las muestras de pacientes con glucemia superior a 200 mg/dl es menor (3,8 mg/dl) que aquella encontrada en los análisis que presentaban una glucemia inferior a 200 mg/dl (4,3 mg/dl), siendo esta diferencia estadísticamente significativa ($p 0,0054$), como aparece en la Figura 7b.



FOSFATEMIA EN FUNCIÓN DE GLUCEMIA



Imágenes 6a y 6b. Comparativa glucemia-fosfatemia

También se examinó si existía correlación alguna entre los niveles de fosfatemia y la hemoglobina glicosilada (HbA1c), que se extrae a los pacientes para valorar el control de su trastorno en las últimas semanas. Se encontraron 21 análisis en los cuales se habían extraído de forma concomitante estas variables clínicas (9.05%). De esta forma, se encontró que existe una correlación fuerte negativa entre ambos parámetros, con una diferencia estadísticamente significativa ($r = -0,6217$, $p 0,0026$; Figura 8). Asimismo, en aquellos individuos con una HbA1c inferior a 9 en algún momento de su control de la diabetes, la media de fosfatemia era de 4,4 mg/dl, a diferencia de lo encontrado en los sujetos con una HbA1c superior a 9, en los cuales la media de fósforo era de 3,08 mg/dl ($p 0,0004$).

Siguiendo con este argumento, sólo encontramos cinco casos en los cuales se analizó la hemoglobina glicosilada al diagnóstico, en los cuales se encontró una media de HbA1c de 12.5, con una fosfatemia media de 3,0 mg/dl. Al retirar estas mediciones del análisis correlativo entre la fosfatemia y la HbA1c, no se observaba correlación entre ambas variables.

CORRELACIÓN FÓSFORO-HbA1c

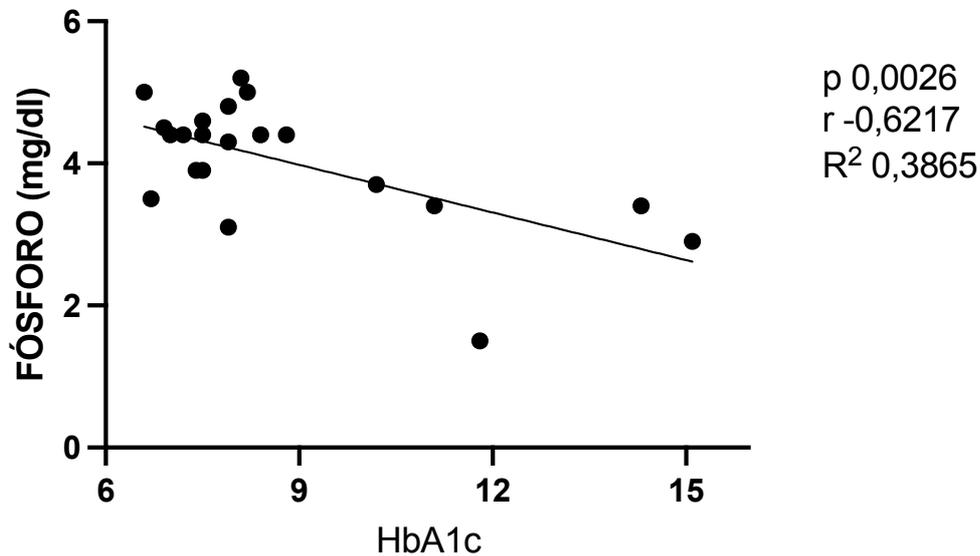


Imagen 7. Comparativa HbA1c-fosfatemia

Analizando la determinación más baja de fósforo, se vio que en 8 de ellos ésta coincidía con el momento del debut de la enfermedad. Sin embargo, 5 de ellos corresponden al análisis prospectivo de los últimos 15 meses, y suponen el total de los pacientes diagnosticados en esta franja de tiempo. Ninguno de estos individuos sufrió descompensaciones posteriores que pudieran justificar situaciones de cetoacidosis, ni constaba en su historia que exhibieran cambios bruscos significativos en las dosis de insulina administradas.

Asimismo, 5 de estos sujetos presentaba una única determinación de hipofosfatemia, siendo ésta la del diagnóstico del debut diabético, con valores posteriores de fosfatemia en el rango de normalidad; 3 de ellos corresponden al estudio prospectivo.

Variables clínicas	Valor más bajo	Media	Mediana (RIQ)	% de la muestra
P (mg/dl)	1,5	3,31	3,6 (3,05-3,8)	100
Albúmina (g/dl)	2,9	4,0667	4,2 (3,6-4,4)	100
Ca corregido por albúmina (mg/dl)	8	8,96	9,08 (8,7-9,25)	100
25-OHD (ng/ml)	8	17,27	17 (14-20)	71,4
PTH (pg/ml)	33*	33	33	4,8

*Valor más alto recogido.

Tabla 9. Valores fosfatemia, albúmina, calcio, vitamina D y PTH

4.3.4.2 Talla baja

El subgrupo de pacientes con talla baja incluía un individuo con craneofaringioma con afectación hipotálamo-hipofisaria, y otro sujeto con un granuloma eosinófilo que afectaba al sistema nervioso central. De todos ellos, el 50% (7/14) presentaron pruebas de estimulación que confirmaban un déficit de GH. Seis de ellos recibieron terapia con hormona de crecimiento. Un total de 100 determinaciones de fósforo fueron recogidas en este grupo, 61 de ellas con recogida simultánea de fósforo y factor de crecimiento insulínico tipo 1 (IGF-1), así como 27 con análisis de fósforo y la proteína transportadora de IGF-1 (IGBP3). Entre estas muestras, 29 presentaban valores de fosfatemia por debajo de la normalidad (29%). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al intentar correlacionar los niveles de IGF-1 o IGBP3 y los de fosfatemia (p 0,2033 y p 0,8543 respectivamente).

Al evaluar los pacientes que habían recibido terapia sustitutiva con hormona de crecimiento (6), se compararon los niveles de fosfatemia que presentaban estos individuos antes y después del tratamiento. De este modo, se calculó la media de fosfatemia de cada sujeto pre y post-terapia. Se objetivó que la media de fosfatemia era mayor mientras recibían tratamiento con GH que cuando estaban sin tratamiento (4,1 frente a 4,7 mg/dl, p 0,033; Figura 9).

Individuos de la muestra	Media P pre-GH (mg/dl)	Media P post-GH (mg/dl)
Paciente 1	4	4
Paciente 2	4,7	5
Paciente 3	3,7	4,6
Paciente 4	4,2	4,3
Paciente 5	4,1	5,3
Paciente 6	3,8	5,1
Global	4,1	4,7

Tabla 10. Valores de fosfatemia antes y después de tratamiento con GH

Pre terapia vs post terapia GH

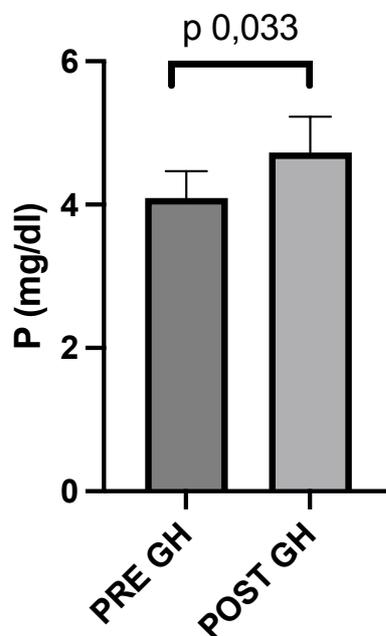


Imagen 8. Comparativa fosfatemia antes y después del tratamiento con GH

4.3.4.3 Trastornos tiroideos

De las 83 determinaciones disponibles en el grupo de pacientes con trastornos tiroideos, en 63 de ellas (75,9%) se realizó un análisis concomitante de los valores de fosfatemia y de TSH, y en 67 se analizaron fosfatemia y T4L a la vez (80,7%). En 15 ocasiones el valor de fosfatemia se encontraba por debajo de los límites considerados normales (19,7%).

Examinando este grupo de individuos en detalle, 5 de los sujetos presentaba tiroiditis; otro de ellos hipotiroidismo primario (congénito); 4 de los sujetos, hipotiroidismo subclínico secundario, y 3 hipotiroidismo terciario. Dentro de ellos, hasta 4 pacientes presentaban otra endocrinopatía asociada (3 diabetes y 1 talla baja). No se encontraron diferencias estadísticamente significativas al intentar establecer una correlación entre valores de T4L y TSH y los niveles de fosfatemia (p 0,1 y p 0,579 respectivamente).

4.4 Candidatos con hipofosfatemia de causa oculta

Tras los análisis pertinentes, se encontraron 10 individuos presentaban un nivel de fosfatemia igual o inferior a 3,2 mg/dl en alguna de sus determinaciones. Estos pacientes fueron revisados en consulta y se hicieron otros análisis. Tras las determinaciones bioquímicas pertinentes que se realizaban, 7 candidatos normalizaron fosfatemia en la analítica, y 2 de ellos sufrían de hipovitaminosis D, por lo que no se realizaron más estudios. El individuo restante se encuentra pendiente de estudio genético.

5. Discusión

5.1 Límites de normalidad de fosfatemia en Pediatría

Los niveles de fosfatemia, como ya se ha explicado con anterioridad, son más elevados en niños que en los adultos, e incluso existen diferencias dentro de la población pediátrica, teniendo los neonatos y lactantes valores superiores a los niños de más edad. Entre los factores que explican esta particularidad, se encuentra el hecho de que la principal fuente de alimentación en los niños es la leche, que contiene grandes cantidades de fósforo libre absorbible, así como la mayor capacidad de absorción intestinal del mismo, con una disminución de la excreción renal²⁹⁸⁻³⁰⁰. A medida que el niño va creciendo, los niveles de fósforo van descendiendo, hasta alcanzar los límites conocidos para la población adulta.

Sin embargo, existen discrepancias a la hora de estimar los valores de referencia de fosfatemia en esta población, motivadas fundamentalmente por las diferencias en el desarrollo corporal en función de la edad, y que dependen de múltiples factores (genéticos, hormonales, alimentarios, etc.). Aunque la complejidad ocurre tanto para delimitar los límites inferiores como los superiores, en la práctica clínica tiene más peso e importancia la implantación de los valores a partir de los cuales considerar hipofosfatemia. Lo descrito en la literatura hasta el momento muestra diferencias no solamente en los límites establecidos, sino también a la hora de elección de los rangos de edad^{296,301}. Del mismo modo, se han tratado de establecer consensos con grupos de trabajo con la idea de recoger mayor volumen de niños y proponer unos rangos más precisos³⁰². Algunos, como es el caso del Pathology Harmony Group³⁰³, una agrupación constituida en el Reino Unido, han abogado por implantar un rango fijo para las edades comprendidas entre los 1-16 años, e independiente del sexo (2,8 a 5,6 mg/dl). Un procedimiento similar ha seguido la Asociación Australiana y Asiática de Bioquímicos. No obstante, hay que remarcar que, en el caso de estas dos últimas sociedades, sus rangos se basan en el estudio retrospectivo de historias clínicas de niños, tanto sanos como enfermos.

En nuestro trabajo hemos distinguido fundamentalmente dos grupos de pacientes, por una parte niños entre los 6 meses y 11 años, y el otro grupo corresponde a las edades comprendidas entre 12 y 16 años. Hay que tener en cuenta, además, que en el territorio nacional el seguimiento del niño no se realiza de la misma manera en todas las autonomías, puesto que algunas consideran al paciente pediátrico hasta los 14 años de edad, mientras que en otras, como ocurre en Cantabria, este acompañamiento tiene lugar hasta los 16 años. Los límites establecidos para este estudio fueron de 4 mg/dl para el primer grupo de pacientes, y de 3 mg/dl para el segundo grupo, límites por otro lado muy similares a los propuestos por Florenzano^{296,304}, que situaban los puntos de corte de hipofosfatemia para rangos de 1-3 años y de 4-11 años en 3,8 y 3,7 mg/dl respectivamente, así como 2,9 mg/dl para aquellos niños con edades 12-15 años. Al igual que en estos estudios previos, no hemos establecido diferencias con respecto al sexo.

Considerando esta última variable, otros estudios sí que han mostrado que existen diferencias entre niños y niñas. Hilsted et al³⁰⁴, realizando un análisis para establecer un rango de fosfatemia apropiado en la población pediátrica de Dinamarca, recolectó 1429 muestras y propusieron que existen diferencias entre los rangos de normalidad existentes entre sexos, fundamentalmente en la época adolescente (2,2 mg/dl en mujeres y 2,6 mg/dl en varones), siendo ésta mínima por debajo de los 13 años. Incluso postularon que el límite inferior de la normalidad es más bajo que el exhibido por la población adulta en el caso de las mujeres (2,2 frente a 2,6 mg/dl).

Ridefelt et al³⁰⁵, en un estudio similar llevado a cabo en pacientes suecos, plantearon diferencias sustanciales en el rango de los 8-12 años, y no durante el período de adolescencia.

Además de todo esto, en la literatura existen resultados heterogéneos a partir de poblaciones recogidas en el mismo territorio. Este es el ejemplo de Canadá, que en los últimos años ha tratado de establecer los puntos de corte de diferentes variables clínicas en población pediátrica, entre ellas el fósforo^{301,306-308}. En este caso, se encuentran discrepancias entre los diferentes análisis publicados, puesto que mientras algunos estudios no vieron diferencias en cuanto al sexo en el límite de hipofosfatemia en ningún rango de edad³⁰¹, otros sí que mostraron disparidad de resultados en la época adolescente, con menor fosfatemia en mujeres^{306,307}. En este caso, el factor modificador es el uso de diferentes analizadores de las muestras. La diferencia con las agrupaciones clínicas antes descritas es que en estos casos, la población pediátrica escogida es de individuos sanos, descartando pacientes hospitalizados que pudieran modificar estos rangos propuestos.

Por todo ello, y debido a la gran discordancia entre los resultados publicados en los últimos años, en nuestro estudio hemos abogado por no fijar diferentes puntos de corte en función del sexo para no introducir una variable de posible confusión, así como elegir un límite más bajo para los candidatos en edad adolescente.

Por otro lado, en el caso del fosfato, y según lo publicado en algunos estudios³⁰⁷, no existen diferencias étnicas representativas. Debido a este motivo, así como al hecho de que en nuestra población la diversidad étnica no corresponde a la existente en otros territorios, no hemos establecido diferencias en este sentido en nuestro análisis.

En cuanto a la edad de inicio recogida de nuestro registro, hemos decidido recolectar los valores de fósforo a partir de los 6 meses de edad. Como se ha mencionado previamente, uno de los principales factores modificadores de la fosfatemia es la alimentación, especialmente la leche, que constituye la base de la misma en los primeros seis meses de vida. Ya se ha expuesto con anterioridad la presencia de diferencias significativas en función del tipo de fórmula¹⁹, así como las diferentes concentraciones de fósforo en la leche materna a medida que la lactancia se va consolidando²⁰. Asimismo, el manejo de muchas de las sustancias en el organismo varía en gran medida durante los primeros meses de vida, fundamentalmente por el establecimiento de la función tubular renal. Diversos autores han estudiado el papel del

riñón en la regulación de los niveles de fósforo en la edad pediátrica^{46,299,300,309,310}. En este aspecto, algunos de estos estudios mostraron que la capacidad de regulación renal del fósforo depende de múltiples variables, pero concluyeron que la excreción de este elemento se incrementaba a partir de los 3 meses de edad, acompañándose por tanto de una menor capacidad reabsortiva. Esto se traducía en la presencia de niveles de fosfatemia superiores en los tres primeros meses de edad²⁹⁹. Postularon que la cantidad de fósforo excretada por el sistema renal es muy baja en las primeras semanas de vida, y se incrementa a partir de los 6 meses, pero generalmente sin alcanzar la tasa objetivada en población adulta.

Resulta sorprendente el hecho de que la capacidad reabsortiva del fósforo sea superior en las primeras semanas, cuando persiste una inmadurez estructural de los túbulos renales, que no se desarrollan completamente hasta el tercer o cuarto mes de vida. Algunos autores han reflexionado sobre este hecho, y parece que esta inmadurez de los túbulos se traduce en un incremento de la superficie de éstos, que permite una mayor reabsorción²¹. Otros autores, sin embargo, han manifestado que existe una mayor actividad de los cotransportadores presentes a ese nivel, incrementando el paso intracelular de fósforo^{208,311}.

Otros estudios también encontraron que existe una correlación positiva entre el grado de reabsorción tubular de fósforo y la fosfatemia, y que por tanto uno de los principales determinantes de la concentración sérica de fósforo era la reabsorción renal^{300,309}. Esta es la razón por la que probablemente las concentraciones de fósforo sean más altas en los primeros meses de vida y luego desciendan progresivamente hasta alcanzar las cifras que se postulan normales a partir del año de edad. Aunque es cierto que nosotros hemos considerado el mismo punto de corte para diagnosticar hipofosfatemia a los pacientes entre 6-12 meses que aquellos que alcanzaban los 11 años, pocos de los estudios previamente expuestos establecen rangos diferenciales en este segundo semestre de vida con respecto al paciente preescolar. De ellos, sólo uno³⁰⁵ establece un punto de corte superior a 4 mg/dl para este grupo de edad.

Teniendo en cuenta la múltiple variabilidad en las fórmulas escogidas para la alimentación de los lactantes, el diferente manejo del fósforo por parte de los túbulos renales, así como la falta de estudios que permitan discernir las concentraciones de fósforo entre los 6-12 meses con respecto a niños más mayores, hemos decidido no implantar un tercer rango de fosfatemia para este grupo de edad.

5.2 Hipofosfatemia en pediatría

No existen estudios que indiquen la prevalencia de hipofosfatemia en población pediátrica, probablemente debido, entre otros factores, a que no están bien establecidos los límites normales de la fosfatemia. Sí que se ha analizado la prevalencia de hipofosfatemia en determinados subgrupos de pacientes, como aquellos que ingresan en unidades de cuidados intensivos^{297,312-314}, así como en grandes prematuros³¹⁵⁻³¹⁷. En nuestro registro hemos encontrado una prevalencia del 1,2%, una cifra que, aunque no resulta llamativa, no debe dejar de ser tomada en cuenta. En los individuos adultos,

aunque más frecuente, tampoco es bien conocida su frecuencia en la población general; se habla de una prevalencia en torno al 5% en el paciente hospitalizado²⁷³.

Uno de los principales problemas que se han encontrado los laboratorios de análisis clínicos es la falta de recursos para reclutar una población de niños y niñas lo suficientemente amplia para establecer unos límites de referencia adecuados. Años atrás se empleaban métodos indirectos, mediante el empleo de poblaciones adultas e infiriendo los límites a partir de estas, con métodos estadísticos^{318,319}. En la actualidad se aboga más por métodos directos, a través del reclutamiento de población pediátrica sana de cada territorio, pero con la problemática de encontrar un número lo suficientemente significativo.

En cuanto a la distribución de la hipofosfatemia en nuestra población de estudio, el descenso progresivo del valor de fosfatemia objetivado en la gráfica de dispersión es similar al que obtuvieron otros autores al analizar su población^{306,307}, con un valor de media cercano a 6 mg/dl durante el primer año de vida, y una reducción del mismo hasta alcanzar la edad adulta.

A pesar de que en nuestro estudio no hemos establecido diferencias entre sexos a la hora de catalogar a los individuos como “hipofosfatemia”, existe una ligera tendencia de niveles bajos de fósforo hacia el sexo femenino (53,9% frente al 46,1% en varones), lo que va a favor de lo publicado en diversos artículos, en los que las mujeres han exhibido valores más reducidos de fosfatemia, especialmente a partir de la adolescencia y durante toda su vida adulta³⁰⁶.

La edad media de la primera muestra con hipofosfatemia en nuestra muestra fue de 5,8 años, valor que difería con respecto a la analítica con la fosfatemia más baja, que era de 6,8 años, con una mediana de 8 años. Quizás a estas edades el consumo de lácteos sea inferior a los primeros años de vida, y esto pueda justificar una menor ingesta de fósforo, junto con una mayor demanda metabólica para hacer frente al proceso de crecimiento. Sin embargo, en los últimos años varios estudios han encontrado que la ingesta de productos lácteos, y por tanto de fósforo, está por encima de las cantidades recomendadas^{34,43}. Dalmau et al³²⁰ realizaron un estudio cuantitativo de la ingesta de nutrientes en niños preescolares (menores de 3 años, estudio ALSALMA), y observaron que la ingesta media de fósforo en las diferentes franjas de edad analizadas (0-6, 7-12, 13-24 y 25-36 meses) al menos duplicaban las recomendaciones para cada grupo. Por otra parte, el porcentaje de análisis llevados a cabo antes de los 5 años de edad en nuestra población suele ser mucho menor que en el resto de edades, ya que en muchos casos el hecho de realizar analíticas en el contexto de revisiones de niño sano suelen postergarse a edades más avanzadas. En el caso de nuestro registro, sólo un 35% de los niños presentaban una analítica con un valor de fosfatemia en la misma, y únicamente en un 25% de la muestra el valor de fosfatemia más bajo tenía lugar en menores de 5 años. Probablemente se hayan efectuado más análisis que los

identificados en nuestro estudio, pero sin añadir fósforo a los mismos. Este hecho puede desvirtuar los resultados obtenidos en relación con la media de edad de hipofosfatemia.

Podría pensarse también que los valores más reducidos de fosfatemia puedan tener lugar en los momentos más críticos de crecimiento, como suele ser la adolescencia. Sin embargo, ninguno de los pacientes de nuestro registro presentó su valor más acusado de hipofosfatemia a partir de los 12 años de edad, y sólo dos individuos lo tuvieron a los 11 años. Hablamos de valor más bajo de hipofosfatemia y no de muestra con el fósforo más bajo, puesto que los pacientes del segundo grupo de edad en nuestro estudio (>11 años) tenían un punto de corte inferior a los del primer rango, por lo que han podido tener valores más bajos que éstos, aunque dentro de los valores considerados de normalidad.

En la práctica clínica habitual, el fósforo no es un valor que sea solicitado con frecuencia en nuestro medio, y menos aún en la población pediátrica. Como ya se ha mencionado con anterioridad, constituye uno de los minerales más abundantes en nuestro organismo^{4,8}, así como un elemento esencial para el funcionamiento de los organismos vivos, tanto a nivel de mineralización ósea como de señalización intracelular y homeostasis energética^{3,271,278,321}. Su déficit puede provocar diversos desórdenes en multitud de sistemas, no sólo a nivel musculoesquelético, sino a nivel cardíaco, respiratorio, etc. Sin embargo, no es una variable analítica que se solicite con la misma asiduidad que otras, como el sodio, el potasio o incluso el calcio.

Del mismo modo, en aquellas situaciones en las que se objetiva hipofosfatemia, no siempre se confirma su normalización o persistencia en una analítica posterior. Nuestro estudio ha revelado que hasta un tercio de los pacientes recogidos (33.2%) han presentado una muestra de fósforo con niveles por debajo de la normalidad, pero sin evaluación posterior. Además de esto, el análisis realizado ha manifestado que casi la mitad de los pacientes (45%) con dos o más muestras de fosfatemia recogidas presenta valores por debajo de la normalidad en al menos el 50% de las determinaciones. Esto resulta particularmente importante durante la edad pediátrica, en la que los niveles de fosfatemia pueden verse modificados con frecuencia debido al proceso de crecimiento. No sólo eso, sino que la propia regulación a la que se ve sometida el fósforo a diferentes niveles (óseo, intestinal y renal) puede generar variaciones en sus niveles. Por este motivo, una de las hipótesis de nuestra investigación consistía en evaluar qué tipo de hipofosfatemia manifestaban nuestros pacientes. De este modo, más de la mitad de la cohorte (51.7%) exhibían un patrón de hipofosfatemia intermitente, es decir, intercalando valores de normalidad con valores por debajo del rango considerado como normal. Por otro lado, menos de un 2% de los casos de nuestro estudio ha presentado datos de hipofosfatemia mantenida, y sólo uno de los individuos de la cohorte ha manifestado más de dos determinaciones seguidas con fosfatemia por debajo de la normalidad sin normalización ulterior. Este hecho, de alguna manera, parece apoyar el comportamiento del fósforo en nuestro organismo, cuya concentración en suero supone una pequeña cuantía en comparación con la fosfatemia corporal total^{149,272}. Esto es, a pesar de la estrecha regulación a la que se ve sometido este elemento, pequeños

cambios en la reserva corporal total secundarios a diferentes situaciones clínicas (ingesta diaria, acidosis, fármacos, etc.) podrían provocar cambios significativos en los niveles séricos. Especialmente importantes son aquellas condiciones que implican el desplazamiento intracelular de este elemento, que tiene lugar de forma rápida. Por lo tanto, a la vista de estos datos resulta complejo estimar si la normalización aislada o intermitente de los valores de fosfatemia puedan descartar per se alguna condición clínica o incluso hereditaria que pudiera acompañarse de una reducción de los niveles de fósforo en sangre.

Sin embargo, resulta ciertamente sorprendente que casi la mitad de los pacientes del registro (46.5%) han presentado en algún momento una muestra con hipofosfatemia, lo que hemos recogido como un patrón de hipofosfatemia aislada. Probablemente un porcentaje de estos sujetos podrían haber normalizado los niveles de fósforo en un análisis subsecuente, y comportarse con una pauta intermitente, pero el hecho de que, como se ha mencionado con anterioridad, el fósforo no sea un elemento que se analice con frecuencia, hace que estos casos sean dificultosos de evaluar.

Las causas que provocan hipofosfatemia son múltiples, y muchos autores han tratado de establecerlas^{164,271,273,278}. Desde el punto de vista fisiopatológico, se han dividido en tres grandes situaciones clínicas: aquellas en las que tiene lugar una disminución en la absorción intestinal, situaciones en las que se produce el paso intracelular de este elemento, y aquellas condiciones en las que la hipofosfatemia se origina a partir de una pérdida excesiva urinaria de fósforo. En general, las situaciones más frecuentes son las que generan un trasiego de este elemento hacia el interior de la célula, como en la sepsis o en el tratamiento con insulina^{278,279}.

En el caso de nuestro registro, hemos podido identificar en un 8.5% de los pacientes una causa potencialmente justificable de la hipofosfatemia. Dos de los individuos sufrían la enfermedad metabólica ósea de la prematuridad, una condición clínica en la que aún no se conoce con exactitud la causa que la origina, y cuya historia natural no es asunto de este trabajo. De los 18 candidatos restantes, el 50% habían manifestado alguna condición que justificaba el paso del fósforo al interior de la célula, lo que refuerza lo sugerido en los trabajos publicados. Hay que tener presente también que en ciertas ocasiones la aparición de hipofosfatemia puede deberse a una combinación de factores, y no sólo a uno en concreto, especialmente en el contexto de hipofosfatemia de curso agudo.

En cuanto al consumo de fármacos, se han descrito en la literatura múltiples sustancias que podrían provocar una alteración en los niveles de fósforo. Megapanou et al³²² realizaron un análisis en el que evaluaban los distintos fármacos que inducían cambios en los valores de fósforo en la sangre. Por un lado, existen medicamentos que generan elevación de la bilirrubina o de los lípidos, y éstos a su vez pueden incrementar los valores de fósforo en sangre per se, induciendo una situación de pseudohiperfosfatemia, a raíz de interferencias en los analizadores del laboratorio. Entre estos fármacos

encontramos antibióticos como la isoniacida o la amoxicilina-clavulánico (inductores de hiperbilirrubinemia), así como antirretrovirales o inmunomoduladores como el interferón (que generan aumento de los lípidos). Por el contrario, y ya evaluando las medicaciones que provocaban disminución de la fosfatemia, fármacos como el manitol provocan el efecto opuesto, es decir, pseudohipofosfatemia.

Estos mismos autores, además, establecieron una clasificación de los fármacos causantes de hipofosfatemia en función del mecanismo fisiopatológico que la justificaba. Así, describieron medicaciones que generaban hipofosfatemia al favorecer el paso intracelular de este elemento, como son aquellos que estimulan la producción de estirpes celulares (eritropoyetina, factor estimulante de colonias de granulocitos), que disminuyen la fosfatemia al inducir la entrada de este elemento a las nuevas células para permitir los procesos intracelulares en los que el fósforo interviene³²²⁻³²⁴. Las drogas con efecto catecolaminérgico (dopamina, adrenalina) también facilitan el paso intracelular de fósforo, con el objeto de permitir la síntesis de factores que participan en los procesos de glicólisis intracelular. Entre ellas se encuentra también el salbutamol, al ejercer un efecto β -adrenérgico intracelular³²².

Los fármacos que inducen un descenso en la absorción de fósforo intestinal ya han sido mencionados previamente, siendo los antiácidos los medicamentos más frecuentemente asociados a este trastorno.

En el caso de aquellos que generan un incremento en la pérdida urinaria de fósforo, probablemente éste sea el grupo que aúne un número más grande de medicaciones³²³. Entre ellos destacan los diuréticos, fundamentalmente la acetazolamida. Agentes antimicrobianos como los aminoglucósidos o los antirretrovirales (tenofovir, efavirenz) ejercen un potente efecto fosfatúrico, así como algunas terapias anticancerígenas (inhibidores de mTOR o de tirosin quinasa).

Los bifosfonatos y otros fármacos anti-resortivos reducen la liberación de fósforo desde el hueso. Por último, existen también medicamentos que tienen efectos a diferentes niveles, como puede ocurrir con determinados anticonvulsivantes (fenobarbital, carbamazepina) o los propios corticosteroides, que actúan tanto disminuyendo la absorción intestinal como incrementando las pérdidas urinarias³²².

En el caso de nuestro estudio, fundamentalmente nos hemos centrado en medicaciones crónicas que pudieran generar desórdenes del fósforo, y que nos permitieran por tanto evaluar una tendencia de los niveles de este elemento al introducir y/o suspender el fármaco. Por la frecuencia de nuestra cohorte, los fármacos más frecuentemente implicados han sido los corticoides, los bifosfonatos, los quimioterápicos y los anticonvulsivantes.

Si nos focalizamos en los procesos oncogénicos, también existen múltiples trabajos en la literatura que asocian la hipofosfatemia con diversas neoplasias. Algunas publicaciones han denominado a este conjunto "osteomalacia oncogénica"³²⁵, englobando tanto los fármacos que pueden inducir hipofosfatemia, cada vez más numerosos, así como diferentes tipos de tumores, entre los que nos encontramos los

fibromas osificantes, los tumores mesenquimales, los condrosarcomas o los osteosarcomas. Es necesario destacar, asimismo, todos aquellos trastornos hematológicos que sufren procesos de crisis blástica, en la cual la rápida génesis de nuevas células inducen el paso intracelular de fósforo a éstas para que lleven a cabo sus diferentes funciones, una fase en la cual se produce un descenso acelerado de los niveles de fósforo en sangre. Trastornos como el linfoma de Burkitt, la leucemia mieloblástica o linfoblástica aguda o la agudización de una leucemia crónica pueden sufrir este suceso³²⁶, y que debe diferenciarse del síndrome de lisis tumoral que también puede suceder en estos casos, y que produce la situación contraria, es decir, hiperfosfatemia³²⁷. No obstante, en un sentido restringido, se entiende por osteomalacia oncogénica un raro trastorno en relación con la producción ectópica de FGF23 por algunos tumores³²⁸.

En nuestra cohorte, la afección más frecuentemente implicada son los trastornos hematológicos, constituyendo hasta un 75% de los procesos tumorales encontrados.

Sin embargo, salvo situaciones concretas, en ocasiones no resulta fácil etiquetar la causa determinada que motiva la hipofosfatemia. Tampoco existen estudios que expongan con precisión el porcentaje de individuos con hipofosfatemia que se mantienen sin una causa conocida. En nuestro estudio, al tratarse de un análisis a posteriori de los pacientes, establecer la causa va a depender en gran medida del estudio analítico realizado. En primer lugar, conocer la situación de otros iones, como el sodio, el potasio o el calcio, del mismo modo que variables como el bicarbonato o la función renal, van a permitir valorar la existencia de causas renales (por ejemplo, acidosis tubular) o extrarrenales (diarrea, uso de fármacos, etc) que puedan justificar los niveles reducidos de fósforo en sangre. Hemos registrado que al menos el 75% de los pacientes tenían un estudio iónico correcto, incluyendo calcio y albúmina, así como una función renal asociada en el momento de solicitar el fósforo. Por lo general, la gran mayoría de alteraciones en estos parámetros se encontraban en los pacientes que estaban ingresados en el hospital (planta de hospitalización o unidad de cuidados intensivos), y en los que por tanto, salvo situaciones específicas (cetoacidosis diabética, tratamiento con quimioterapia, etc.), el hallazgo de hipofosfatemia podía deberse a una combinación de factores, sin poder etiquetar una causa específica. Para Glendenning³²⁹, en el caso de que estas variables clínicas se encuentren en rango de normalidad, o cuya alteración no explique convenientemente las modificaciones en la fosfatemia, el segundo escalón analítico implica la evaluación de la vitamina D y la PTH. Al realizar la evaluación de estas dos últimas variables en nuestro registro, solamente en un 15.5 y en un 6.5% de las mismas respectivamente se efectuó una valoración en al menos una ocasión. Si hacemos referencia a aquellos individuos con hipofosfatemia aislada, los porcentajes se ven reducidos a un 5.5% en el caso de la vitamina D, y un 2% para la PTH.

El hiperparatiroidismo primario es un trastorno frecuente en población adulta, con una incidencia aproximada de 30 casos por cada 100.000 personas; en población pediátrica, sin embargo, se trata de una rara condición, con una frecuencia 10 veces menor que en los adultos. Hasta en un 10-20% de los casos es debido a alteraciones genéticas, incluso ligadas a síndromes de naturaleza familiar, mientras que el resto de las

situaciones suelen deberse a la presencia de adenomas, bien solitarios o múltiples, apareciendo por lo general en la etapa escolar o la adolescencia³³⁰⁻³³².

En cuanto a la patogenia de la vitamina D, en los últimos años varios estudios han revelado un nuevo repunte en la aparición de raquitismo en niños a nivel mundial³³³⁻³³⁵. Esto se debe, probablemente, a la globalización y al incremento de la inmigración en países occidentales. Las causas que proponen las diferentes publicaciones son el mayor empleo de cremas de protección solar o los cambios en el uso de vestuario. Sin embargo, no todos los autores apuntan a que esto se deba únicamente a un descenso en los niveles de vitamina D en esta población. Elder et al publicaron que en determinadas circunstancias una dieta baja en calcio y rica en fitatos puede desembocar en un cuadro clínico similar al del raquitismo, aún con niveles normales de vitamina D, a partir de análisis realizados en población pediátrica en la India³³⁶. También se apoyaron en que otros autores han postulado que las madres que amamantaban a hijos que posteriormente desarrollaban raquitismo presentaban niveles reducidos de calcio³³⁷, así como que la administración de calcio en este grupo de pacientes mejoraba los cambios radiológicos de raquitismo. No obstante, también manifestaron que estos cambios se producían de forma más efectiva si a la dieta rica en calcio se añadían suplementos de vitamina D, por lo que se inclinaron por no separar este elemento del repunte objetivado de raquitismo en estos últimos años.

Sea como fuere, la 25-hidroxivitamina D vuelve a recobrar importancia a partir de estudios realizados sobre diferentes poblaciones, los cuales han demostrado que los niveles de la misma son insuficientes en un porcentaje amplio de los individuos. A pesar de que en las últimas décadas ha habido mucha discusión sobre los niveles considerados aceptables, muchos autores coinciden en que el límite de 20 ng/ml puede ser apto para pacientes tanto pediátricos como adultos. Los principales grupos de riesgo son ancianos, embarazadas y colectivos con piel oscura. En la actualidad, se considera que en países occidentales hasta un 40% de los adultos presentan niveles insuficientes de este elemento³³⁸⁻³⁴¹. Este porcentaje puede ser incluso superior en poblaciones con menos recursos^{334,342}.

Asimismo, otros estudios han mostrado una problemática similar en niños y adolescentes, con porcentajes que se han situado entre un 30 y un 50%³⁴³⁻³⁴⁵. En el caso de nuestro país, también existen publicaciones al respecto, en las que se ha manifestado la presencia de hipovitaminosis en un rango situado entre el 25 y el 75%, variable en función de la zona en la que se realizara el estudio.

A pesar de la elevada prevalencia de hipovitaminosis en nuestro medio que pudiera justificar la presencia de hipofosfatemia en nuestra población, y más aún considerando la latitud en la que se encuentra, la muestra obtenida para la evaluación de vitamina D es muy reducida, con un 15% de individuos analizados. Pese a ello, este hecho no se considera aislado, puesto que si se apartan los estudios que explícitamente intentan evaluar la prevalencia de hipovitaminosis, la determinación de este metabolito no es

frecuente en la práctica clínica habitual. Existen registros publicados de cohortes grandes de pacientes para evaluar la frecuencia de determinaciones de vitamina D realizadas en la práctica clínica, en los que se ha objetivado que en menos de un 50% de los casos estas determinaciones se veían acompañadas por la evaluación del calcio, menos de un 2% incluían el fósforo y menos de un 1% la determinación de la PTH³⁴⁶.

Otro aspecto a tener en cuenta es el metabolito que ha de determinarse para valorar de forma adecuada la actividad de la vitamina D. Por una parte se encuentra el calcifediol (25-hidroxicolecalciferol), que es el metabolito de la vitamina D que circula de forma más abundante en nuestro organismo. Los valores normales se sitúan en un rango de 20-60 ng/ml. Por otro lado, el calcitriol (1- α ,25-dihidroxicolecalciferol), que se considera la forma metabólicamente activa de la vitamina D, y que se encarga por tanto de ejercer sus efectos en intestino y hueso³⁴¹, pero con una concentración en suero aproximadamente 1000 veces inferior a la del calcifediol (16-60 pg/ml). Hay que tener en cuenta, en primer término, la vida media de ambos metabolitos. Mientras que la vida media del calcifediol es de aproximadamente 3 semanas, la del calcitriol es marcadamente inferior (aproximadamente 4-6 horas). Por otro lado, es importante también la diferente concentración en sangre de ambos elementos. Por lo general, el calcifediol constituye una buena determinación de la actividad de la vitamina D en el organismo, tanto por vida media como por su abundancia en suero, y es especialmente empleada en la práctica clínica habitual para evaluar la hipovitaminosis, bien por déficit de ingesta o por malabsorción.

El calcitriol, sin embargo, no es considerado un buen metabolito para valorar la dotación de vitamina D. Cuando los niveles de calcifediol comienzan a ser bajos, el organismo responde incrementando los niveles de PTH, que se encarga de activar el proceso de conversión del calcifediol en calcitriol. Como las concentraciones en suero son marcadamente diferentes, aunque los niveles de calcifediol sean deficientes, existe suficiente precursor como para permitir el paso de éste a la forma metabólicamente activa de la vitamina D. Es decir, aunque los niveles de calcifediol sean bajos, la conversión a calcitriol no cesa, y podemos encontrarnos individuos con niveles reducidos de calcifediol, y sin embargo niveles normales o incluso elevados de calcitriol^{341,347}. Es por ello que el calcitriol no constituye un buen elemento para valorar la función de la vitamina D en el organismo.

Sin embargo, el calcitriol sí que constituye un elemento importante para analizar en determinadas circunstancias^{341,348}. Como hemos mencionado previamente, sus niveles se ven modificados a partir de cambios en la PTH, por lo que condiciones clínicas como el hipoparatiroidismo o el hiperparatiroidismo presentarán niveles bajos o elevados de calcitriol, respectivamente. Del mismo modo, otras alteraciones genéticas también pueden ser diagnosticadas a partir de la determinación de este metabolito. Por un lado tenemos el raquitismo vitamina D dependiente tipo I, una condición genética en la que se produce una disminución de la conversión de calcifediol a calcitriol, se acompaña por tanto de niveles bajos de éste último. Existe otra enfermedad, conocida como raquitismo vitamina D dependiente tipo II, en la cual el problema radica en un error en el

reconocimiento del calcitriol en sus tejidos diana, y que provoca por tanto niveles séricos elevados de calcitriol. De hecho, algunos autores también incluyen este metabolito en la evaluación de la hipofosfatemia de causa desconocida. Por lo tanto, aunque el calcifediol sea empleado con más frecuencia en la práctica clínica, el calcitriol ha de tenerse en cuenta como elemento a determinar en situaciones en las que la hipofosfatemia no esté claramente justificada.

Por otro lado, existen otros autores como Tebben²⁷⁸ que inciden en la importancia de hacer una recogida de la orina para descartar en una primera etapa si la causa de la hipofosfatemia se debe a una pérdida renal excesiva de fósforo. Como se ha mencionado con anterioridad, el riñón es considerado como el órgano regulador central de la fosfatemia. Este proceso depende fundamentalmente de la capacidad que tenga el riñón de filtrar este elemento a su través, es decir, de la tasa de filtración glomerular (FG), así como de la actividad reabsortiva que tenga lugar en los túbulos. En cuanto a este último proceso, inicialmente se consideraba que para su cálculo era necesario establecer el umbral de reabsorción tubular máxima para el fósforo, o TmP. Para su deducción debe realizarse una administración previa de fósforo, y posteriormente extraer determinaciones simultáneas en sangre y orina³⁴⁹. De hecho, la fórmula TmP/FG se considera el mejor parámetro para establecer la capacidad de reabsorción tubular de fósforo⁴. A partir del cálculo de TmP, y con la obtención de la tasa de filtrado, se desarrollaron nomogramas para poder establecer la TmP/FG a partir de la extracción de fosfatemia y creatinina^{350,351}. Años más adelante, autores como Stark y Brodehl³⁵² demostraron que el proceso de reabsorción tubular en niños no precisaba de una “carga” exógena previa de fósforo, ni de una recogida de orina durante 24 horas. La simple medida de fósforo y creatinina en sangre y en orina era suficiente para determinar la tasa de reabsorción tubular, tanto en ayuno como en otras situaciones. Además de todo esto, indicaron que, en caso de utilizar estas determinaciones, no se podía inferir la tasa de reabsorción utilizando los nomogramas previamente mencionados, puesto que los umbrales son distintos en población pediátrica que en adultos (inferiores en éstos últimos), y que esto podría sobreestimar el TmP/FG en estos pacientes. De hecho, se ha demostrado que la tasa de reabsorción es más alta durante los primeros días de vida, y posteriormente va descendiendo de forma progresiva hasta la adolescencia, cuando adquiere valores similares a los de la población adulta⁴.

La importancia de la tasa de reabsorción de fósforo en la práctica habitual radica en el hecho de que permite distinguir la fisiopatología que explica la hipofosfatemia en el individuo. De este modo, mientras que en las situaciones de hipofosfatemia inducidas por una ingesta o absorción intestinal deficitarias la fosfatemia en baja, en las condiciones provocadas por el paso intracelular del fósforo la fosfatemia es normal, siendo elevada cuando la hipofosfatemia tiene lugar en el contexto de pérdidas renales²⁷⁸. Hablamos de fosfatemia reducida o elevada en función de la tasa de reabsorción obtenida; una tasa de reabsorción superior al 95% en general se considera como una respuesta renal apropiada a una situación de hipofosfatemia. Sin embargo, en nuestro estudio se recogió la orina en menos de un 3% de los individuos, por lo que tampoco se ha podido establecer si alguno de los sujetos se veían afectados por una causa renal.

La determinación del fósforo en orina, del mismo modo que ocurre en la interpretación de los trastornos de otros iones (por ejemplo, el sodio), debería ser uno de los pilares para la evaluación de la hipofosfatemia en cualquier individuo. Además, parece más razonable el análisis de la fosfaturia en las primeras etapas para poder discernir entre las diferentes causas que motivan la hipofosfatemia, y en función de los hallazgos, completar el estudio con otros marcadores, en este caso la PTH o la vitamina D. En realidad, una fosfaturia reducida podría orientarnos hacia una causa no renal, y quizá no fuera necesario realizar un análisis ulterior de otros parámetros. Sin embargo, en otros supuestos en los que la sospecha es de una causa renal, diversas publicaciones han abogado por distinguir si son mediados por PTH, debidos a un trastorno renal por se o mediados por FGF-23^{271,278,353}. En el primer grupo de individuos tenemos los hiperparatiroidismos, tanto primarios como secundarios (deficiencia de calcifediol, hipocalcemia, etc.). En el caso de las pérdidas renales intrínsecas, fundamentalmente aquellos fármacos que inducen fosfaturia, así como el síndrome de Fanconi. Por último, la hipofosfatemia por pérdidas renales mediada por FGF-23 incluye aquellas situaciones que se deben a un exceso del mismo, en las que destacan los raquitismos hipofosfatémicos (AD, AR y XR). Es por ello que si identificamos una hipofosfatemia con sospecha de origen renal, está indicada la determinación de PTH para descartar hiperparatiroidismo, y en caso de desechar esta opción, extraer FGF-23 para valorar si se trata de una situación debida a un exceso del mismo.

Así pues, independientemente de que se determine en un primer término el eje PTH-calcifediol o se priorice la recogida de la orina con la fosfaturia y la creatinuria, este último examen debe realizarse y está recogido en todos los protocolos de evaluación de la hipofosfatemia, mientras que en la práctica clínica habitual, al menos en nuestro medio, raramente se realiza.

5.3 Endocrinopatías

Resulta interesante que hasta una cuarta parte de los pacientes de nuestro registro presentaban algún tipo de endocrinopatía. No sólo eso, sino que cerca de la mitad de las determinaciones totales de fósforo de la cohorte (47%) tienen lugar en individuos que presentan alguna endocrinopatía. No existen publicaciones que relacionen la presencia de endocrinopatías con una mayor incidencia de hipofosfatemia, pero resulta evidente que algunas de las más frecuentes, como la diabetes mellitus, se vincula de forma específica con trastornos en la homeostasis de fósforo. Otra de las razones por las que estos trastornos destacan en nuestro análisis se debe al número de analíticas realizadas a estos pacientes, en los que por lo general se tiene más en cuenta el fósforo como elemento esencial para la regulación de estas condiciones. Es decir, en pacientes con endocrinopatías se realizan un mayor número de análisis, y se pide la fosfatemia con mayor frecuencia que en otras muestras.

Dentro de la diversidad de endocrinopatías encontradas en nuestra cohorte, aparecen tres que destacan sobre el resto, como son la mencionada diabetes mellitus, los trastornos tiroideos y la talla baja. Al igual que ocurría con el resto de trastornos, los individuos que sufrían estas condiciones presentaban una media de determinaciones de fosfatemia significativamente superior a la media del registro. Sin embargo, no sólo destacan por tener un mayor número de determinaciones, sino que, juntando estos tres trastornos, el número total de muestras con hipofosfatemia supone un 25% de las determinaciones con hipofosfatemia presentes en la cohorte. Por lo tanto, tenemos que destacar que en estos trastornos se solicita más frecuentemente la fosfatemia, pero también se encuentran valores por debajo de la normalidad con regularidad. Otra referencia a tener en cuenta es que todos los pacientes que sufrían alguno de estos tres trastornos se encuentran en el grupo de hipofosfatemia intermitente, salvo dos de ellos. Esto lleva a pensar en dos posibles teorías: por una parte, la posibilidad de que para el control de estas situaciones clínicas el fósforo juegue un papel importante, y que alteraciones en la concentración del mismo induzcan modificaciones en la regulación de estas endocrinopatías, o bien que desajustes en estos trastornos clínicos condicionen variaciones en la homeostasis de este elemento.

Si analizamos el valor de fosfatemia más bajo de cada trastorno y lo comparamos con la muestra general, hemos obtenido que la media de los pacientes con diabetes se sitúa en 3,3 mg/dl, mientras que tanto en los pacientes con trastornos tiroideos como en aquellos con talla baja, la media es de 3,7 y 3,6 mg/dl respectivamente; asimismo, la media de la cohorte también se encuentra en 3,6 mg/dl. Por lo tanto, los pacientes diabéticos sobresalen sobre el resto de individuos.

En la fisiopatología de la diabetes confluyen varios desórdenes que pueden explicar per se la disminución de la fosfatemia. En primer lugar, hay que destacar las situaciones de debut de la enfermedad. En la población pediátrica la gran mayoría de pacientes con diabetes son de tipo 1, y en estas situaciones la enfermedad suele presentarse como cetoacidosis diabética. De este modo, los individuos al debut se caracterizan por presentar un déficit significativo de insulina, y por lo tanto niveles elevados de glucemia en sangre, así como de cuerpos cetónicos. La presencia de cuerpos cetónicos es la que induce la existencia de una situación de acidosis metabólica.

Por lo general, la presencia de concentraciones altas de glucosa en sangre provoca una situación de diuresis osmótica, como se demuestra con la presencia de glucosuria en pacientes que debutan con diabetes. En nuestro caso no tenemos registrada la presencia y/o cuantificación de glucosuria de los pacientes afectos.

Se ha demostrado que los pacientes al debut de la enfermedad presentan cambios en la función glomerular desde etapas muy tempranas. Stalder³⁵⁴ y Brochner-Mortensen et al³⁵⁵ mostraron en sus estudios que la tasa de filtración glomerular podría incrementarse hasta un 30% en los individuos diabéticos comparándolos con niños sanos, y que revertía a una situación normal cuando se regulaban las concentraciones de glucosa. Además, se ha observado también que el TmP/FG se ve reducido de forma significativa. Este hecho parece ser secundario a que tanto la reabsorción de glucosa como la de

fósforo son dependientes de canales de sodio, provocando que el proceso de reabsorción de la primera dificulte el del fósforo, disminuyendo la fijación de éste a los receptores tubulares^{356,357}. Además, se trata de un proceso independiente de las acciones de la PTH y de la GH³⁵⁸.

Además del proceso de diuresis osmótica inducido por la hiperglucemia, existen otros mecanismos que favorecen la eliminación urinaria de fósforo en el contexto del debut diabético. Uno de ellos es el déficit de insulina. Como se ha explicado con anterioridad, la insulina ejerce acciones a nivel tubular proximal, favoreciendo la reabsorción de este elemento^{179,207,210}. También la acidosis metabólica presente en el contexto del debut induce un aumento en la excreción renal de fósforo. No debemos olvidar la función de tampón urinario que tiene el fósforo, con una gran capacidad de acidificación urinaria mediante su eliminación vía renal. El pH constituye un elemento esencial como regulador de la excreción de fósforo. En relación con la cetoacidosis diabética, en los últimos años algunas publicaciones han demostrado una mayor tasa de eliminación urinaria de fósforo en relación con el grado de acidosis presente al diagnóstico^{359,360}.

Todas estos mecanismos favorecerían que los niveles de fósforo al debut de la diabetes fueran reducidos. En el caso de nuestro estudio, tenemos limitaciones, al ser en su mayoría de tipo retrospectivo, por lo que en tres de cada cuatro pacientes afectados de diabetes de nuestra cohorte carecemos de un valor de fosfatemia y glucemia simultáneos al debut. En los cinco pacientes en los que tenemos estos datos, todos salvo uno exhibían hipofosfatemia al debut. Sin embargo, no todas los estudios realizados reflejan resultados similares. Análisis realizados por Shen et al³⁶⁰ mostraron que hasta dos tercios de los individuos presentan hiperfosfatemia al debut, y otras publicaciones han expuesto datos similares, con tasas de hiperfosfatemia que oscilan entre el 65-95%^{359,361}. Consideran que algunas de las causas que inducen una situación de hiperfosfaturia generan también un trasiego de fósforo del espacio intracelular al espacio vascular, entre ellas el propio déficit de insulina o la coexistencia de la acidosis metabólica. Otros factores, como la hiperosmolaridad secundaria a la hiperglucemia, podrían favorecer el paso de fósforo a la sangre. Kebler et al³⁶¹, por ejemplo, demostraron una correlación positiva entre el anion gap y los niveles de fosfatemia en los pacientes al debut de la diabetes. Shen et al³⁶⁰, por otro lado, postularon que la depleción de volumen intravascular existente por efecto de la diuresis osmótica podría transformarse en una situación de insuficiencia renal prerrenal que en último término acabase por afectar la función de excreción renal, y con ello causar la retención de fósforo.

Sea como fuere, estos autores demuestran la existencia de hiperfosfatemia al debut en su grupo de pacientes, y defienden que aunque la hiperfosfaturia existe, el desplazamiento del fósforo desde el interior de la célula al espacio vascular es significativamente superior, explicando por tanto los niveles aumentados de fosfatemia.

Asimismo, los trabajos previamente citados postulan que los sujetos a medida que van recibiendo el tratamiento reducen sus niveles de fosfatemia hasta alcanzar valores mínimos a las 16-24 horas de iniciado el mismo^{359,360}, a partir de la recuperación de la acidosis metabólica y el restablecimiento del volumen vascular, así como de los niveles

de glucemia e insulina en sangre. De este modo, el desplazamiento del fósforo tiene lugar de nuevo hacia el interior de la célula. Shen et al³⁶⁰ analizaron que durante los períodos con valores de fosfatemia más bajos, la media de bicarbonato era de 22 mMol/L, cifra considerada como normal. En nuestro estudio, de los cinco candidatos de los que tenemos valores de glucemia y fosfatemia al debut, sólo dos de ellos presentan muestras posteriores de fosfatemia durante el transcurso del tratamiento. En ambos individuos el valor más reducido de fosfatemia tiene lugar tras empezar el tratamiento con sueroterapia e insulino terapia. Estos datos resultan insuficientes para extraer conclusiones al respecto, pero parecen acompañar a los resultados obtenidos en dichas publicaciones.

Nuestro análisis, a pesar de las limitaciones, no sólo presenta resultados diferentes en cuanto a los datos al debut, sino que manifiesta que existe una correlación negativa entre los valores de fosfatemia y de glucemia cuando establecemos el punto de corte de ésta última en 200 mg/dl. Estos resultados de alguna manera también son opuestos a los publicados con anterioridad, si bien es cierto que a la hora de analizar esta correlación hemos recogido las glucemias de todos los individuos con diabetes, tanto al debut como posteriormente, siempre y cuando hubiese una recogida simultánea de glucosa y fósforo en la muestra. En el resto de estudios, los análisis se realizaban durante los primeros días de debut de la enfermedad.

Otras investigaciones que valoraron a los pacientes durante períodos más prolongados, por el contrario, mostraron resultados similares a los de nuestra cohorte. Barrett et al³⁶² evaluaron individuos basalmente y tras 2 semanas de insulino terapia, y demostraron que mientras que los niveles de glucosa descendían de forma significativa hasta valores considerados de normalidad, los niveles de fosfatemia se incrementaban en un punto, a partir de un incremento de la reabsorción tubular (por aumento de TmP/FG), y de forma independiente a la acción de la PTH o del calcitriol. Publicaciones realizadas en individuos diagnosticados de diabetes, tanto de tipo 1 como de tipo 2, pero con un regular control de la misma, exhibieron incremento en las concentraciones de fósforo cuando mejoraba el control de la enfermedad^{358,363}.

En línea con estas consideraciones, se ha asociado la presencia de hipofosfatemia con una mayor incidencia de complicaciones de la diabetes, entre ellas se destaca la nefropatía y la retinopatía diabética^{358,364}. Ditzel et al³⁵⁸, hace varias décadas, postularon que existe una relación entre los niveles de 2-3-bifosfoglicerato (2-3-BPG) y de fósforo, y que por tanto la presencia de niveles reducidos de fosfatemia se asociaba a concentraciones menores de 2-3-BPG. Este hecho favorecía una situación de hipoxia tisular, y con ello cambios en la microcirculación que en último término inducían las complicaciones previamente mencionadas. De hecho, este mismo autor y otros demostraron que el incremento de fósforo en la dieta mejoraba los niveles de 2-3-BPG, y con ello prevenían la aparición de complicaciones.

Por lo tanto, los datos obtenidos en nuestro estudio presentan diferencias significativas con respecto a otras investigaciones en cuanto a los niveles de fosfatemia al debut de la enfermedad, pero comparten resultados similares con aquellos autores que han evaluado el grado de control de la diabetes una vez pasada la fase inicial, sin tener en cuenta individuos con descompensaciones graves. Al debut de la diabetes existen dos principales factores que ejercen un efecto notable en la homeostasis de la fosfatemia. Por un lado, el efecto fosfatúrico y por otra parte el desplazamiento vascular del fósforo desde el interior de la célula, procesos que tienen un efecto opuesto sobre el nivel de fósforo en sangre, pero que curiosamente están provocados por las mismas situaciones. Es decir, la hiperglucemia, el déficit insulínico y la acidosis metabólica favorecen tanto la pérdida urinaria de fósforo como su trasiego vascular. Los resultados publicados en otros estudios defienden la presencia de hiperfosfatemia al debut, por lo que deslizan que hay un predominio en la salida de fósforo de la célula sobre su pérdida renal, y posteriormente un descenso progresivo de los niveles de fósforo en sangre que puede provocar una situación de hipofosfatemia significativa. La recuperación posterior de estas cifras aparece días más tarde, incluso se puede prolongar hasta una semana³⁵⁸. Autores como Riley et al³⁶⁵ han postulado que el efecto de la insulina sobre las cifras de fosfatemia es relativamente rápido, del orden de 30-40 minutos. Por otro lado, la recuperación de la acidosis metabólica en general tiene lugar en las primeras 24-48 horas del debut. También se ha publicado que cuando las cifras de glucemia son suficientemente elevadas, la reabsorción tubular de fósforo se ve impedida, favoreciendo con ello una mayor eliminación urinaria^{356,357}. Esto apoya el hecho de que la regulación del riñón ejerce un papel esencial en la normalización de las cifras de fósforo.

En las publicaciones que evalúan el control de los sujetos con diabetes sin cetoacidosis aparente asociada, un mejor cumplimiento terapéutico incrementa los niveles de fosfatemia a partir de una mejor tasa de reabsorción tubular. La principal diferencia entre este perfil de paciente y el individuo al debut es que en estas situaciones clínicas, si no existe una descompensación evidente, la acidosis en principio no tendría que estar presente. Probablemente los niveles de glucemia tampoco sean tan elevados como al debut, y quizás los niveles de insulina no sean tan reducidos. Esto es, parece que una de las principales claves del incremento de las cifras de fosfatemia sea la reabsorción del fósforo que tiene lugar en los túbulos proximales, y esto podría desempeñar un rol fundamental tanto en la recuperación de la fosfatemia al debut como en el aumento de los niveles de fósforo cuando existe un mejor control de la enfermedad. Creemos por tanto que la determinación del fósforo en orina puede constituir un marcador muy importante para evaluar la capacidad de reabsorción de este elemento, y por tanto de sus niveles en sangre, en los pacientes con diabetes.

El principal marcador de control de los pacientes es la hemoglobina glicosilada (HbA1c). Esta molécula permite evaluar con cierta precisión el nivel medio de glucemia presente en el organismo en los últimos 3 meses, y por lo tanto ofrecer información sobre el grado de control de la enfermedad en los pacientes durante ese período de tiempo. Sin embargo, uno de los principales inconvenientes que tiene este marcador es precisamente que posibilita una estimación de control subagudo-crónico, pero no se

puede considerar un marcador de control agudo. En nuestro análisis, decidimos intentar establecer si existía una correlación entre los niveles de fósforo y los valores de HbA1c. De nuevo, una de las limitaciones del estudio fue el escaso número de determinaciones simultáneas de fósforo-HbA1c que se pudieron recoger, pues menos de una quinta parte de las muestras con fósforo (18.7%) tenían asociado un valor de HbA1c. A pesar de ello, encontramos una correlación negativa entre los valores de fosfatemia y HbA1c. También encontramos una diferencia en los valores de fosfatemia en función del punto de corte, una vez categorizada la HbA1c, siendo la media de fosfatemia significativa menor en los pacientes con HbA1c superior a 9%. Sin embargo, un porcentaje no despreciable de los valores de HbA1c habían sido recogidos en el momento del debut. Al analizar únicamente los valores de fosfatemia y HbA1c en los pacientes durante el período de control de la enfermedad, no encontrábamos correlación entre los mismos.

No es éste el único estudio que ha explorado la correlación entre fosfatemia y HbA1c. Lo expuesto en la literatura hasta el momento muestra resultados controvertidos. Autores como Vorum et al³⁶⁶ encontraron correlación entre ambos valores, mientras que otros como Dalili³⁶⁴ o Galli-Tsinopoulou et al³⁶⁷ no hallaron relación entre estos parámetros. Sin embargo, y conforme a lo publicado hasta el momento, quizás resulte complicado establecer una relación entre el fósforo y la HbA1c, cuando la homeostasis del fósforo está estrechamente regulada y los niveles se pueden ver alterados de forma mucho más rápida que los de HbA1c.

La idea del fósforo como elemento regulador de estos pacientes en una fase aguda sí que podría tener un valor importante, y podría ayudar a un manejo más estrecho del paciente diabético a partir de la obtención de muestras simultáneas de este elemento tanto en sangre como en orina. Nuestra hipótesis consiste en que si la HbA1c es un marcador tardío para valorar el control del paciente diabético, y teniendo en cuenta que los valores aislados de glucemia en sangre podrían considerarse como marcadores “intermedios” para el control, el fósforo podría ser considerado como regulador agudo, y que sus modificaciones (especialmente en orina) podrían ayudar a predecir los cambios en los niveles de HbA1c.

La hormona tiroidea es considerada un regulador importante en la homeostasis renal y ósea del fósforo. Ejerce su actividad sobre los cotransportadores Na/Pi en los túbulos proximales renales, favoreciendo la reabsorción del fósforo, en una acción independiente de otras hormonas como la PTH o la GH^{213-215,368}. Además, se ha demostrado que la enzima que se encarga de inducir la transformación de T₄ en T₃ se sintetiza también en los túbulos renales. Sin embargo, autores como Yusufi et al²¹⁵ manifestaron tras sus investigaciones que tanto una como otra forma de hormona tiroidea desempeñan su papel sobre la reabsorción del fósforo de forma independiente, y de una forma equivalente. Por otra parte, ejerce su función en el hueso fundamentalmente a través de la T₃, aunque la TSH parece que participa también de forma independiente en este tejido. La T₃, a través de sus receptores, estimula la producción de osteoide y la mineralización ósea, mientras que la TSH desempeña un papel opuesto. Unos niveles adecuados de hormona tiroidea son esenciales para el desarrollo normal del esqueleto. No en vano, el enanismo es una consecuencia del

hipotiroidismo neonatal no tratado. Por otro lado, el exceso de hormona tiroidea tiende a aumentar la resorción ósea.

En cuanto a la literatura, los resultados que han arrojado las diferentes publicaciones han sido conflictivos. Mientras que algunos autores han demostrado que en situación de hipotiroidismo los niveles de fosfatemia eran superiores que en individuos eutiroideos³⁶⁹⁻³⁷⁴, otras publicaciones han defendido que los pacientes con hipotiroidismo presentaban valores de fósforo significativamente inferiores que sujetos con función tiroidea normal^{248,249,375-380}. Esto resulta cuanto menos llamativo, puesto que todos los efectos conocidos de la hormona tiroidea, en principio, favorecen el incremento de los niveles de fosfatemia en sangre.

Mosekilde et al³⁷⁶, por ejemplo, manifestaron que la prevalencia de hiperfosfatemia en sujetos con hipertiroidismo se sitúa en torno a un 16%, y que existe una correlación positiva entre los parámetros de función tiroidea y la fosfatemia. Ellos y otros autores^{378,381} postularon que gran parte de este hecho se debe a la supresión de la PTH. En situación de hipertiroidismo, los niveles de calcio también se encuentran elevados, y éstos últimos son los que inhiben en último término la PTH³⁸². Por lo tanto, defendieron que en esta condición clínica, la influencia de la PTH sobre la reabsorción renal de fósforo es superior que lo que induce la T_3 sobre el hueso, aunque también refirieron que el incremento de la movilización de minerales provocados por una mayor actividad de la hormona tiroidea influye en el incremento de la fosfatemia. También demostraron la situación contraria, y es que en pacientes con hipotiroidismo los valores de fosfatemia también se ven disminuidos. Cuando los pacientes con hipertiroidismo inician tratamiento antitiroideo, los niveles de fosfatemia se ven reducidos, en parte por un incremento en la excreción urinaria de fósforo³⁸⁰. Este aumento en la eliminación renal se ve favorecido por una parte por el nivel de fosfatemia presente, y por otro lado por el incremento en los valores de PTH, que dificultan la reabsorción de este elemento. Lo que hay que resaltar es que en la acción de las hormonas tiroideas sobre el riñón existen dos vías. La primera viene representada por el efecto directo de T_3 y T_4 sobre los túbulos renales proximales. En segundo lugar, el efecto que ejerce indirectamente las concentraciones elevadas de estas hormonas en sangre, que incrementan los niveles de calcemia y con ellos suprimen la acción de la PTH. Por lo tanto, existe una vía independiente de la PTH y otra que depende de su actividad.

Dada la importancia de estas hormonas en la homeostasis de la fosfatemia, en nuestro estudio tratamos de correlacionar los niveles de las diferentes hormonas que participan en la regulación de la glándula tiroidea y el fósforo. Seleccionamos la TSH y la T_4 libre al ser las hormonas que se solicitan fundamentalmente para la valoración del tiroides; la T_3 se mide con mucha menor frecuencia. No encontramos correlación entre ninguna de estas hormonas y el fósforo. Es cierto que la presencia de hipertiroidismo en población pediátrica es muy baja, con una incidencia de aproximadamente de 1-3 pacientes por cada 100.000 habitantes en nuestro país^{383,384}. En el caso de nuestro registro, no encontramos ningún caso de hipertiroidismo, por lo que su ausencia dificultaba la comparativa entre este trastorno y el hipotiroidismo de cara a objetivar

cambios en la regulación del fósforo. Hasta una tercera parte de los pacientes con hipotiroidismo de la muestra tenían un hipotiroidismo subclínico, y no recibían tratamiento sustitutivo. Otros sujetos habían recibido tratamiento de forma un tanto intermitente (prueba terapéutica). Es por ello que nuestra cohorte de pacientes con trastornos tiroideos no era suficiente como para realizar una comparación entre las situaciones de pre-tratamiento sustitutivo y los períodos en los que recibían dicho tratamiento.

Otro factor a considerar es el que propusieron en sus trabajos Alcalde et al²¹⁴. Estos investigadores defendieron que la hormona tiroidea es un regulador renal que actúa a medio-largo plazo, no de forma aguda. Para ello emplearon en sus experimentos animales tiroidectomizados y paratiroidectomizados. Demostraron que los cambios en los niveles de PTH ejercían modificaciones en la fosfatemia de forma más significativa y rápida que los inducidos por alteraciones en las hormonas tiroideas. En línea con esta teoría, en la práctica clínica habitual no debemos esperar cambios rápidos en los niveles de fósforo secundarios a desórdenes tiroideos, y esto puede limitar también la posición de este elemento como marcador de variaciones en el comportamiento del eje hipotálamo-hipófisis-tiroides.

La GH y el IGF-1 juegan un papel importante en el crecimiento desde etapas tempranas, a través de sus efectos sobre el desarrollo y la maduración óseos. En cuanto a su rol como regulador del fósforo, actúan fundamentalmente a nivel renal y óseo, al igual que las hormonas tiroideas. A nivel renal, estimulan la reabsorción de fósforo en los túbulos renales, fundamentalmente a través de IGF-1, incrementando el TmP/FG^{164,179,206-209}. En el tejido óseo estimulan la producción de osteoide y la remodelación ósea, posiblemente de forma independiente, aunque sinérgica^{226,244-246}. Sin embargo, la GH también estimula indirectamente la absorción intestinal, aunque existen dos teorías que lo justifican: una defiende un incremento de la producción de calcitriol dependiente de la GH²²⁴, y la otra postula que la presencia de GH induce la sensibilización del epitelio intestinal al calcitriol para que incremente la absorción de fósforo³⁸⁵.

Autores como Saggese et al³⁸⁶ analizaron una cohorte de niños con déficit de GH, y evaluaron la fosfatemia a los 3, 6, 9 y 12 meses tras iniciar el tratamiento sustitutivo. Encontraron que entre los 3 y 6 meses de iniciada la terapia sustitutiva, los niveles de fosfatemia se incrementaban significativamente en comparación con los valores presentes antes de comenzar la GH. Por el contrario, a partir de los 9 meses estos niveles comenzaban a descender, aunque se mantenían por encima de los valores pre-terapia, pero a los 12 meses los valores de fosfatemia eran comparables a los analizados antes de comenzar el tratamiento.

Siguiendo con esta línea, analizaron también muestras urinarias en este período de tiempo. Mientras que no encontraron variación en el cociente calcio/creatinina a lo largo de todo el año, hallaron que el cociente fósforo/creatinina sí se veía modificado; a los 3 meses, observaron un descenso significativo de los valores, y a partir de entonces comenzaba a incrementarse progresivamente, aunque a los 12 meses el cociente persistía por debajo del valor antes del tratamiento. El TmP/FG seguía la misma línea,

pero de forma inversa. Por último, el incremento significativo de densidad ósea tenía lugar a partir de los 12 meses de tratamiento con GH. Establecieron que existía una correlación positiva significativa entre la velocidad de crecimiento y el TmP/FG, al igual que demostraron Sugimoto et al²³⁴. Éstos últimos propusieron que el TmP/FG podría emplearse como predictor de la velocidad de crecimiento pasado un año de iniciada la terapia sustitutiva con GH.

En nuestro estudio, recogimos los valores de IGF-1 e IBPB3 de todos los individuos que habían sido etiquetados como talla baja. La mitad de ellos habían evidenciado un déficit de GH en las pruebas de estimulación, y todos salvo uno habían recibido terapia sustitutiva. En primer lugar, intentamos correlacionar los valores de IGF-1 e IBPB3 con la fosfatemia, sin encontrar asociación significativa. Hay que remarcar sin embargo las limitaciones del estudio, puesto que menos de tres cuartas partes de los candidatos tenían un valor simultáneo de fosfatemia e IGF-1, y ninguno tenía recogida la orina. Por otra parte, sólo en tres sujetos tenemos un valor de fosfatemia durante el primer año de iniciada la misma. Por ello, no podemos inferir si existe un incremento significativo durante el primer año de terapia, como indicaba en sus resultados Saggese et al³⁸⁶. Sin embargo, en los pacientes que recibieron GH se estableció una comparativa entre los valores de fosfatemia pre-GH y aquellos post-GH, exhibiendo una diferencia significativa entre estos datos (4,1 vs 4,7 mg/dl) a favor del grupo post-terapia. En nuestra muestra, por tanto, podemos decir que los pacientes muestran una mejoría significativa en los valores de fosfatemia tras iniciar el tratamiento con GH, independientemente del tiempo de duración de la terapia. También se trató de valorar si existía una diferencia significativa en los valores de fósforo entre los pacientes que tenían talla baja por déficit de GH con respecto a los que habían estado en seguimiento en consulta especializada, pero con una prueba de estimulación normal. Saggese³⁸⁶ en sus investigaciones también recogió valores analíticos en grupos de pacientes que presentaban talla baja, pero con pruebas de provocación normales, y los comparó con individuos que tenían déficit clásico de GH. No encontró diferencias en los valores de fosfatemia ni fosfatemia antes de iniciar el tratamiento, y halló incremento en los datos de fosfatemia en ambos grupos de pacientes. En nuestro análisis tampoco encontramos diferencias estadísticamente significativas al comparar este subgrupo de individuos.

Por ello, parece que el mayor regulador de la homeostasis del fósforo es el riñón, y que es el causante de que los valores de fosfatemia se vean en un principio incrementados. Los efectos de la GH sobre el hueso parecen ser más tardíos, puesto que el aumento significativo de la densidad mineral aparecía a partir de los 12 meses de iniciada la terapia. Eso podría explicar también por qué la fosfatemia volvía a los valores pre-tratamiento a los 12 meses, a pesar de que la reabsorción de este elemento persistiese por encima de la situación pre-terapia. Sin embargo, son necesarios más estudios para dilucidar los efectos de la GH a medio-largo plazo en la fosfatemia.

5.4 Hipofosfatemia de causa oculta

Como se ha mencionado con anterioridad, además de las causas de hipofosfatemia adquirida, existen determinados trastornos de origen genético que pueden ser causa de hipofosfatemia, y que en muchos casos dan escasa sintomatología, por lo que su diagnóstico supone un auténtico reto en nuestro medio. Aunque se conocen multitud de enfermedades congénitas causantes de hipofosfatemia, el trastorno más frecuente lo constituye el raquitismo hipofosfatémico ligado al cromosoma X (*X-linked Hypophosphatemic Rickets*, XLHR en sus siglas en inglés). En esta entidad, existe una acción excesiva de FGF-23 secundaria a mutaciones inactivadoras del gen regulador de fosfato PHEX³. Su prevalencia aproximada es de 1 de cada 20.000-25.000 pacientes, por lo que en una Comunidad Autónoma como la nuestra, con aproximadamente 580.000 habitantes, el número teórico de pacientes se situaría en torno a 25-30 sujetos. Si nos atenemos a la población pediátrica, este número se posiciona alrededor de los 80.000 individuos, por lo que la XLHR afectaría teóricamente a unos 3-4 niños. Uno de los objetivos del presente estudio consistía en evaluar si alguno de los candidatos con valores repetidos de fosfatemia por debajo del rango de normalidad podía padecer un trastorno genético subyacente, fundamentalmente una XLHR.

Para ello, tras la evaluación pertinente de las analíticas de los pacientes en los períodos comprendidos entre octubre 2002-enero 2020 y enero 2020-marzo 2021, se recogieron los datos de aquellos individuos que padecían con más probabilidad un trastorno de posible origen genético. El criterio de inclusión consistía en la presencia de un valor de fosfatemia igual o inferior a 3,2 mg/dl en alguna de las determinaciones analizadas. De alguna manera, los únicos puntos de corte establecidos hasta la fecha en la literatura⁶ hablan de un límite inferior de 3,7 mg/dl hasta los 12 años de edad, y consideramos que dar un margen de al menos 0,5 mg/dl en la determinación de fosfatemia era lo suficientemente significativo para justificar un estudio más profundo de estos individuos. Sin embargo, elegir este punto de corte podría generar confusión en la población comprendida entre los 12-16 años, cuyos límites inferiores fijados en la literatura eran de alrededor de 2,8 mg/dl; por ello, para no elegir de nuevo diferentes valores en función de la edad de nuestra muestra, se mantuvo el corte en 3,2 mg/dl, y aquellos pacientes que presentaban este valor en determinaciones realizadas más allá de los 12 años, sólo eran incluidos en esta evaluación si previamente habían tenido otros valores de hipofosfatemia antes de los 12 años. Es decir, solamente se incorporaban al análisis de la causa oculta los pacientes de 12 o más años con valores inferiores a 3,2 mg/dl cuando tenían alguna otra analítica antes de los 12 años con datos de hipofosfatemia (<4 mg/dl).

Finalmente, se encontraron 10 individuos con los criterios previamente establecidos, de los cuales 9 pacientes normalizaron o tenían una justificación de la presencia de hipofosfatemia (hipovitaminosis D). Sólo uno de ellos está pendiente de estudio genético, aunque en el momento de la evaluación carecía de manifestaciones clínicas osteoarticulares. Por lo tanto, podemos decir que en nuestro análisis no se cumple la incidencia establecida de XLHR a nivel europeo.

6. Conclusiones

- A. El fósforo es un elemento al que se presta poca atención en la práctica clínica habitual en nuestro medio.
- B. La hipofosfatemia detectada casualmente parece tener una escasa trascendencia clínica, puesto que hasta en un tercio de los pacientes la presencia de niveles reducidos de hipofosfatemia no se acompaña de manifestaciones que lleven a un análisis confirmatorio posterior.
- C. En los casos de la cohorte en los que se realiza una evaluación de la hipofosfatemia, menos de un 3% tiene recogida una muestra de orina para estudio de iones, y menos de un 20% un estudio del eje PTH-vitamina D, lo cual demuestra un análisis inadecuado de los factores implicados en la homeostasis del fósforo.
- D. La gran mayoría de individuos con valores repetidos de hipofosfatemia siguen un patrón de hipofosfatemia intermitente, probablemente secundario al proceso de crecimiento, con períodos en los que normaliza la fosfatemia y momentos con valores por debajo de la normalidad.
- E. Aproximadamente uno de cada 10 pacientes del registro tiene una causa potencialmente justificable de la hipofosfatemia, siendo el paso intracelular de este elemento la situación que más frecuentemente reduce los niveles de fósforo en sangre.
- F. La presencia de endocrinopatías favorece la existencia de cambios en la homeostasis del fósforo, puesto que hasta una cuarta parte de los pacientes del análisis presentaba algún trastorno endocrino, fundamentalmente diabetes mellitus, desórdenes tiroideos y talla baja.
- G. Los pacientes con diabetes mellitus presentan valores de hipofosfatemia más acusados que el resto de individuos, probablemente debido al efecto de la glucosa y la insulina a diversos niveles.
- H. El fósforo se comporta como marcador del grado de control de los pacientes con diabetes mellitus, puesto que existe una correlación negativa entre los valores del fósforo y los niveles de glucosa o de HbA1c en sangre.
- I. Los pacientes con déficit de GH presentan niveles de fósforo por debajo de la normalidad, y el tratamiento con GH incrementa los niveles de fosfatemia, por lo que el fósforo podría ser considerado un marcador más para evaluar la necesidad de terapia con GH en individuos con talla baja y para el seguimiento posterior.
- J. La frecuencia de hipofosfatemia hereditaria en nuestro medio parece ser inferior a la encontrada en otras regiones.

7. Bibliografía

1. Kalantar-Zadeh K, Gutekunst L, Mehrotra R, et al. Understanding sources of dietary phosphorus in the treatment of patients with chronic kidney disease. *Clin J. Am. Soc. Nephrol.* 2010;5(3):519-530.
2. Bhadada SK, Rao SD. Role of Phosphate in Biomineralization. *Calcif. Tissue Int.* 2021;108(1):32-40.
3. Michigami T, Ozono K. Roles of phosphate in skeleton. *Front. Endocrinol.* 2019;10:1-8.
4. Peacock M. Phosphate Metabolism in Health and Disease. *Calcif. Tissue Int.* 2021;108(1):3-15.
5. Institute of Medicine (US) Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride. Washington (DC): National Academies Press (US); 1997.
6. Kliegman R. *Nelson. Textbook of Pediatrics.* 18° ed. Elsevier; 2016.
7. Allgrove J. Physiology of Calcium, Phosphate, Magnesium and Vitamin D. *Endocr. Dev.* 2015;28:7-32.
8. Penido MG, Alon US. Phosphate homeostasis and its role in bone health. *Pediatr. Nephrol.* 2012;27(11):2039-2048.
9. García Ospina C. Importance of hyperphosphatemia in chronic kidney disease, how to avoid it and treat it by nutritional measures. *Rev. Colomb. Nefrol.* 2017;4:38-56.
10. Bansal VK. Serum Inorganic Phosphorus. *Clinical Methods: The History, Physical, and Laboratory Examinations.* 3rd ed. Butterworths; 1990.
11. Iheagwara OS, Ing TS, Kjellstrand CM, Lew SQ. Phosphorus, phosphorous, and phosphate. *Hemodial. Int.* 2013;17(4):479-482.
12. Noori N, Kopple JD, Shah A, et al. Organic and inorganic dietary phosphorus and its management in chronic kidney disease. *Iran J. Kidney Dis.* 2010;4(2):89-100.
13. Calvo MS, Moshfegh AJ, Tucker KL. Assessing the health impact of phosphorus in the food supply: Issues and considerations. *Adv. Nutr.* 2014;5(1):104-113.
14. Yates AA, Schlicker SA, Suitor CW. Dietary Reference Intakes: The new basis for recommendations for calcium and related nutrients, B vitamins, and choline. *J Am. Diet. Assoc.* 1998;98(6):699-706.

15. Sandstrom B, Lyhne N, Pedersen JI, Aro A, Thorsdottir I, Becker W. *Nordic Nutrition: Recommendations 2012*. 5^o ed; 2012.
16. AFFSA. *Apports nutritionnels conseillés pour la population française*. 3^o ed. Editions Tec&Doc; 2018.
17. Health council of the Netherlands. *Recommended dietary allowances 1989 in the Netherlands*. The council; 1992.
18. Nahrungserg L, Lebensmittel S. <https://www.bfr.bund.de>. Accessed October 22, 2022.
19. De Vizia B, Mansi A. Calcium and phosphorus metabolism in full-term infants. *Monatsschr. Kinderh.* 1992;140:8-12.
20. Atkinson SA, Radde IC, Chance GW, Bryan MH, Anderson GH. Macro-mineral content of milk obtained during early lactation from mothers of premature infants. *Early Hum. Dev.* 1980;4(1):5-14.
21. Jones G. Early life nutrition and bone development in children. *Nestle Nutr. Workshop Ser. Pediatr. Program.* 2011;68:227-236.
22. Yin J, Dwyer T, Riley M, Cochrane J, Jones G. The association between maternal diet during pregnancy and bone mass of the children at age 16. *Eur. J. Clin. Nutr.* 2010;64(2):131-137.
23. Panel E, Nda A. Scientific Opinion on Dietary Reference Values for phosphorus. *EFSA Journal.* 2015;13(7):1-54.
24. Standing Committee on the Scientific Evaluation of Dietary Reference Intakes. *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride*. Washington (DC): National Academies Press (US); 1997.
25. Stewart H, Blisard N, Jolliffe D. USDA Economic Research Service Economic Information Bulletin. *Let's eat out: Americans weigh taste, convenience, and nutrition*. 2006. Accessed October 27, 2022. <https://www.ers.usda.gov/publications/pub-details/?pubid=44119>
26. Oenning L, Vogel J, Calvo M. Accuracy of methods estimating calcium and phosphorus intake in daily diets. *J. Am. Diet. Assoc.* 1988;88:1076-1080.
27. Vorland CJ, Martin BR, Weaver CM, Peacock M, Hill Gallant KM. Phosphorus Balance in Adolescent Girls and the Effect of Supplemental Dietary Calcium. *JBMR Plus.* 2018;2(2):103-108.
28. Bell RR, Draper HH, Tzeng DYM, Shin HK, Schmidt GR. Physiological responses of human adults to foods containing phosphate additives. *J. Nutr.* 1977;107(1):42-50.
29. Greger J, Smith S, Snedeker S. Effect of dietary calcium and phosphorus levels on the utilization of calcium, phosphorus, magnesium, manganese, and selenium by adult males. *Nutr. Res.* 1981;1(4):315-325.

30. Calvo MS, Uribarri J. Contributions to Total Phosphorus Intake: All Sources Considered. *Semin. Dial.* 2013;26(1):54-61.
31. Moshfegh A, Goldman J, Ahuja J, Rhodes D, LaComb R. US department of agriculture, agricultural reserach service. *What we eat in America, NHANES 2005-2006: Usual nutrient intakes from food and water compared to 1997 dietary reference intakes for Vitamin D, alcium, phosphorus, and magnesium.* 2009. Accessed October 27, 2022.
<https://efaidnbmnnnibpcajpcglclefindmkaj/https://www.ars.usda.gov/ARUserFiles/80400530>
32. Calvo MS, Lamberg-Allardt CJ. Phosphorus. *Adv. Nutr.* 2015;6(6):2012-2014.
33. 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(3):399-407.
34. Chang AR, Lazo M, Appel LJ, Gutiérrez OM, Grams ME. High dietary phosphorus intake is associated with all-cause mortality: Results from NHANES III1-3. *Am. J. Clin. Nutr.* 2014;99(2):320-327.
35. Mataix J, Aranda P, López-Jurado M, Sánchez C, Planells E, Llopis J. Factors influencing the intake and plasma levels of calcium, phosphorus and magnesium in southern Spain. *Eur. J. Nutr.* 2006;45(6):349-354.
36. Portale AA, Halloran BP, Morris 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. Investig.* 1987;80(4):1147-1154.
37. Markowitz M, Rotkin L, Rosen J. Circadian Rhythms of Blood Minerals in Humans. *Science.* 1981;213:672-674.
38. Stanbury S. Some aspects of disordered renal tubular function. *Adv. Intern. Med.* 1958;9:231-282.
39. Jubiz W, Canterbury J, Reiss E, Tyler F. Circadian rhythm in serum parathyroid hormone concentration in human subjects: correlation with serum calcium, phosphate, albumin, and growth hormone levels. *J. Clin. Investig.* 1972;51:2040-2046.
40. Takeda E, Yamamoto H, Nashiki K, Sato T, Arai H, Taketani Y. Inorganic phosphate homeostasis and the role of dietary phosphorus. *J. Cell Mol. Med.* 2004;8(2):191-200.
41. Vervloet MG, van Ittersum FJ, Büttler RM, Heijboer AC, Blankenstein MA, Ter Wee PM. Effects of dietary phosphate and calcium intake on fibroblast growth factor-23. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2011;6(2):383-389.
42. Smith D, Nordin B. The effect of high phosphorus intake on total and ultra-filtrable plasma calcium and phosphate clearance. *Clin. Sci.* 1964;26:479-486.

43. Calvo MS, Uribarri J. Public health impact of dietary phosphorus excess on bone and cardiovascular health in the general population. *Am. J. Clin. Nutr.* 2013;98(1):6-15.
44. Redmond J, Jarjou LMA, Zhou B, Prentice A, Schoenmakers I. Ethnic differences in calcium, phosphate and bone metabolism. *Proc. Nutr. Soc.* 2014;73(2):340-351.
45. Braithwaite V, Jarjou LMA, Goldberg GR, Jones H, Pettifor JM, Prentice A. Follow-up study of Gambian children with rickets-like bone deformities and elevated plasma FGF23: Possible aetiological factors. *Bone.* 2012;50(1):218-225.
46. Nordin B. Phosphorus. *J. Food. Nutr. Res.* 1989;45:62-75.
47. Diem K. *Documenta Geigy: scientific tables.* 6^o ed. Geigy Pharmaceuticals; 1970.
48. Abrams A, Grusak MA, Stuff J, Brien K. Calcium and magnesium balance in 9-14-y-old children. *Am. J. Clin. Nutr.* 1997;66:1172-1177.
49. Fomon S, Nelson S. *Calcium, Phosphorus, Magnesium, and Sulfur.* Mosby-Year Book; 1993.
50. Kemi VE, Kärkkäinen MU, Lamberg-Allardt CJ. High phosphorus intakes acutely and negatively affect Ca and bone metabolism in a dose-dependent manner in healthy young females. *Br. J. Nutr.* 2006;96:545-552.
51. Tseng M, Breslow RA, Graubard BI, Ziegler RG. Dairy, calcium, and vitamin D intakes and prostate cancer risk in the National Health and Nutrition Examination Epidemiologic Follow-up Study cohort. *Am. J. Clin. Nutr.* 2005;81(5):1147-1154.
52. Michaud DS, Spiegelman D, Clinton SK, Rimm EB, Willett WC, Giovannucci E. Prospective study of dietary supplements, macronutrients, micronutrients, and risk of bladder cancer in US men. *Am. J. Epidemiol.* 2000;152(12):1145-1153.
53. Kesse E, Bertrais S, Astorg P, et al. Dairy products, calcium and phosphorus intake, and the risk of prostate cancer: results of the French prospective SU.VI.MAX (Supplémentation en Vitamines et Minéraux Antioxydants) study. *Br. J. Nutr.* 2006;95(3):539-545.
54. Kesse E, Boutron-Ruault MC, Norat T, Riboli E, Clavel-Chapelon F. Dietary calcium, phosphorus, vitamin D, dairy products and the risk of colorectal adenoma and cancer among French women of the E3N-EPIC prospective study. *Int. J. Cancer.* 2005;117(1):137-144.
55. Martínez I, Saracho R. El fósforo y sus implicaciones clínicas. *Nefrología.* 2009;29:41-50.
56. Anderson HC. Matrix vesicles and calcification. *Curr. Rheumatol. Rep.* 2003;5(3):222-226.

57. Murshed M, Schinke T, McKee MD, Karsenty G. Extracellular matrix mineralization is regulated locally; different roles of two gla-containing proteins. *J. Cell. Biol.* 2004;165(5):625-630.
58. Cui L, Houston DA, Farquharson C, MacRae VE. Characterisation of matrix vesicles in skeletal and soft tissue mineralisation. *Bone.* 2016;87:147-158.
59. Foster BL, Tompkins KA, Rutherford RB, Zhang H, Dkk. Phosphate: Know and potential roles during development and regeneration of teeth and supporting structures. *Physiol. Behav.* 2015;176(10):139-148.
60. Michigami T, Kawai M, Yamazaki M, Ozono K. Phosphate as a signaling molecule and its sensing mechanism. *Physiol. Rev.* 2018;98(4):2317-2348.
61. Guicheux J, Palmer G, Shukunami C, Hiraki Y, Bonjour JP, Caverzasio J. A novel in vitro culture system for analysis of functional role of phosphate transport in endochondral ossification. *Bone.* 2000;27(1):69-74.
62. Nielsen LB, Pedersen FS, Pedersen L. Expression of type III sodium-dependent phosphate transporters/retroviral receptors mRNAs during osteoblast differentiation. *Bone.* 2001;28(2):160-166.
63. Palmer G, Zhao J, Bonjour J, Hofstetter W, Caverzasio J. In vivo expression of transcripts encoding the glvr-1 phosphate transporter/retrovirus receptor during bone development. *Bone.* 1999;24(1):1-7.
64. Suzuki A, Ghayor C, Guicheux J, et al. Enhanced expression of the inorganic phosphate transporter Pit-1 is involved in BMP-2-induced matrix mineralization in osteoblast-like cells. *J. Bone Miner. Res.* 2006;21(5):674-683.
65. Whyte MP. Hypophosphatasia-aetiology, nosology, pathogenesis, diagnosis and treatment. *Nat. Rev. Endocrinol.* 2016;12(4):233-246.
66. Garimella R, Sipe JB, Anderson HC. A simple and non-radioactive technique to study the effect of monophosphoesters on matrix vesicle-mediated calcification. *Biol. Proced. Online.* 2004;6(1):263-267.
67. Fleisch H, Bisaz S. The inhibitory role of pyrophosphate in calcification. *J. Physiol.* 1962;54(4844):340-341.
68. Roberts S, Narisawa S, Harmey D, Millán JL, Farquharson C. Functional involvement of PHOSPHO1 in matrix vesicle-mediated skeletal mineralization. *J. Bone Miner. Res.* 2007;22(4):617-627.
69. Bottini M, Mebarek S, Anderson K. Matrix vesicles from chondrocytes and osteoblasts: their biogenesis, properties, functions and biomimetic models. *Biochim. Biophys. Acta.* 2018;1862(3):532-546.
70. Houston B, Stewart AJ, Farquharson C. PHOSPHO1 - A novel phosphatase specifically expressed at sites of mineralisation in bone and cartilage. *Bone.* 2004;34(4):629-637.

71. Wuthier RE. Lipid composition of isolated epiphyseal cartilage cells, membranes and matrix vesicles. *Biochim. Biophys. Acta.* 1975;409(1):128-143.
72. Dean DD, Schwartz Z, Muniz OE, et al. Matrix vesicles are enriched in metalloproteinases that degrade proteoglycans. *Calcif. Tissue Int.* 1992;50(4):342-349.
73. Katsura N, Yamada K. Isolation and characterization of a metalloprotease associated with chicken epiphyseal cartilage matrix vesicles. *Nippon Seikeigeka Gakkai zasshi.* 1986;60(4):429-437.
74. Howell D. Current concepts of calcification. *J. Bone Joint Surg.* 1971;53:250-257.
75. Kirsch T, Nah HD, Shapiro IM, Pacifici M. Regulated production of mineralization-competent matrix vesicles in hypertrophic chondrocytes. *J. Cell Biol.* 1997;137(5):1149-1160.
76. Wu LNY, Genge BR, Kang MW, Arsenault AL, Wuthier RE. Changes in phospholipid extractability and composition accompany mineralization of chicken growth plate cartilage matrix vesicles. *J. Biol. Chem.* 2002;277(7):5126-5133.
77. Shapiro IM, Landis WJ, Risbud M V. Matrix vesicles: Are they anchored exosomes? *Bone.* 2015;79:29-36.
78. Mansfield K, Teixeira CC, Adams CS, Shapiro IM. Phosphate ions mediate chondrocyte apoptosis through a plasma membrane transporter mechanism. *Bone.* 2001;28(1):1-8.
79. Kardos T, Hubbard M. Are matrix vesicles apoptotic bodies? *Prog. Clin. Biol. Res.* 1982;101:45-60.
80. Kim JK, Haselgrove JC, Shapiro IM. Measurement of metabolic events in the avian epiphyseal growth cartilage using a bioluminescence technique. *J. Histochem. Cytochem.* 1993;41(5):693-702.
81. Rajpurohit R, Koch CJ, Tao Z, Teixeira CM, Shapiro IM. Adaptation of chondrocytes to low oxygen tension: Relationship between hypoxia and cellular metabolism. *J. Cell Physiol.* 1996;168(2):424-432.
82. Kanatani M, Sugimoto T, Kano J, Kanzawa M, Chihara K. Effect of high phosphate concentration on osteoclast differentiation as well as bone-resorbing activity. *J. Cell Physiol.* 2003;196(1):180-189.
83. Yates AJ, Oreffo ROC, Mayor K, Mundy GR. Inhibition of bone resorption by inorganic phosphate is mediated by both reduced osteoclast formation and decreased activity of mature osteoclasts. *J. Bone Miner. Res.* 1991;6(5):473-478.
84. Mozar A, Haren N, Chasseraud M, et al. High extracellular inorganic phosphate concentration inhibits RANK-RANKL signaling in osteoclast-like cells. *J. Cell Physiol.* 2008;215(1):47-54.

85. Beck GR, Zerler B, Moran E. Phosphate is a specific signal for induction of osteopontin gene expression. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 2000;97(15):8352-8357.
86. Beck GR, Moran E, Knecht N. Inorganic phosphate regulates multiple genes during osteoblast differentiation, including Nrf2. *Exp. Cell Res.* 2003;288(2):288-300.
87. Conrads KA, Yi M, Simpson KA, et al. A combined proteome and microarray investigation of inorganic phosphate-induced pre-osteoblast cells. *Mol. Cell. Proteomics.* 2005;4(9):1284-1296.
88. Miyagawa K, Yamazaki M, Kawai M, et al. Dysregulated gene expression in the primary osteoblasts and osteocytes isolated from hypophosphatemic Hyp mice. *PLoS One.* 2014;9(4):e93840.
89. Nishino J, Yamazaki M, Kawai M, et al. Extracellular Phosphate Induces the Expression of Dentin Matrix Protein 1 Through the FGF Receptor in Osteoblasts. *J. Cell. Biochem.* 2017;118:1151-1163.
90. Trautvetter U, Jahreis G, Kiehntopf M, Gleit M. Consequences of a high phosphorus intake on mineral metabolism and bone remodeling in dependence of calcium intake in healthy subjects - A randomized placebo-controlled human intervention study. *Nutr. J.* 2016;15(1):1-11.
91. Ito N, Findlay DM, Anderson PH, Bonewald LF, Atkins GJ. Extracellular phosphate modulates the effect of 1 α ,25-dihydroxy vitamin D3 (1,25D) on osteocyte like cells. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2013;136(1):183-186.
92. Hori M, Kinoshita Y, Taguchi M, Fukumoto S. Phosphate enhances Fgf23 expression through reactive oxygen species in UMR-106 cells. *J. Bone Miner. Metab.* 2016;34(2):132-139.
93. Cardol P, González-Halphen D, Sourcebook C. Oxidative Phosphorylation Organellar and Metabolic Processes. In Stern D ed. *The Chlamydomonas Sourcebook*. 2^o ed. Academic Press; 2008:521-547.
94. Hunter T. Why nature chose phosphate to modify proteins. *Philos. Trans. R. Soc. B: Biol. Sci.* 2012;367(1602):2513-2516.
95. Rosen OM, Herrera R, Olowe Y, Petruzzelli LM, Cobb MH. Phosphorylation activates the insulin receptor tyrosine protein kinase. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1983;80:3237-3240.
96. Fukami Y, Lipmann F. Reversal of Rous sarcoma-specific immunoglobulin phosphorylation on tyrosine (ADP as phosphate acceptor) catalyzed by the src gene kinase (tumor-bearing rabbit serum/protein-bound tyrosine 0-phosphate-ADP equilibrium constant/AG0' of hydrolysis). *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1983;80:1872-1876.

97. Kole HK, Abdel-Ghany M, Racker E. Specific dephosphorylation of phosphoproteins by protein-serine and -tyrosine kinases. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1988;85(16):5849-5853.
98. Erecinska M, Stubbs M, Miyata Y, Ditre C. Regulation of cellular metabolism by intracellular phosphate. *Biochim. Biophys Acta.* 1977;462:20-35.
99. Greenwald I, Redish J, Kibrick AC. The Dissociation of Calcium and Magnesium Phosphates. *J. Biol. Chem.* 1940;135(1):65-76.
100. Benesch R. Intracellular organic phosphates as regulators of oxygen release by haemoglobin. *Nature.* 1969;221:177-178.
101. Bremner K, Bubb WA, Kemp GJ, Trenell MI, Thompson CH. The effect of phosphate loading on erythrocyte 2,3-bisphosphoglycerate levels. *Clin. Chim. Acta.* 2002;323:111-114.
102. Cade R, Conte M, Zauner C. Effects of phosphate loading on 2,3-diphosphoglycerate and maximal oxygen uptake. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1984;18:263-268.
103. Kreider R, Miller G, Williams M. Effects of phosphate loading on oxygen uptake, ventilatory anaerobic threshold, and run performance. *Med. Sci. Sports Exerc.* 1990;22:250-256.
104. Niemelä P, Hyvönen MT, Vattulainen I. Structure and dynamics of sphingomyelin bilayer: Insight gained through systematic comparison to phosphatidylcholine. *Biophys. J.* 2004;87(5):2976-2989.
105. Lipmann F, Levene P. Serinephosphoric acid obtained on hydrolysis of vitellinic acid. *J. Biol. Chem.* 1932;98:109-114.
106. Mecham D, Olcott H. An egg yolk protein containing 10% phosphorus. *Fed. Proc.* 1948;7:173.
107. Agren G, De Verdier C. On the Migration of the Phosphoryl Group in Phosphoproteins. *Acta Chem. Scand.* 1957;11:1089.
108. Schaffer N, May S, Summerson W. Serine phosphoric acid from diisopropylphosphoryl chymotrypsin. *J. Biol. Chem.* 1953;202:67-76.
109. Flavin M. The linkage of phosphate to protein in pepsin and ovalbumin. *J. Biol. Chem.* 1954;210(2):771-784.
110. Wollenberger A, Onnen K, Hinterberger U. Myocardial protein synthesis in acute myocardial hypoxia and ischemia. *Cardiology.* 1971;56:48-64.
111. Hearse D. Glucose and the Survival and Recovery of the Anoxic Myocardium. *Biochem. J.* 1972;127(2):1972.
112. Ernst V, Levin D, Irving M. Inhibition of Protein Synthesis Initiation by Oxidized Glutathione: Activation of a Protein Kinase that Phosphorylates the α

- Subunit of Eukaryotic Initiation Factor 2. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*. 1978;75:4110-4114.
113. Ravid K, Diamant P, Avi-Dor Y. Glucose-dependent stimulation of protein synthesis in cultured heart muscle cells: Possible involvement of the pentose phosphate pathway. *FEBS Lett*. 1980;119(1):20-24.
 114. Hunter T, Cooper JA. Protein-tyrosine kinases 1. *Ann. Rev. Biochem*. 1985;54:897-930.
 115. Westheimer FH. Nature Chose Phosphates The Role of Phosphates The Importance of Being Ionized. *Science*. 1987;235(1):1173-1178.
 116. Flamme M, Figazzolo C, Gasser G, Hollenstein M. Enzymatic construction of metal-mediated nucleic acid base pairs. *Metallomics*. 2021;13(4):1-20.
 117. Kumar P, Caruthers MH. DNA Analogues Modified at the Nonlinking Positions of Phosphorus. *Acc. Chem. Res*. 2020;53(10):2152-2166.
 118. Lee Hamm L, Simon EE. Roles and mechanisms of urinary buffer excretion. *Am. J. Physiol. Renal Physiol*. 1987;253(4):595-605.
 119. Wrong O, Davies H. The excretion of acid in renal disease. *QJ.M*. 1969;28(110):259-313.
 120. Sartorius O, Roemmelt J, Pitts R. The renal regulation of acid-base balance in man. IV. The nature of the renal compensations in ammonium chloride acidosis. *J. Clin. Investig*. 1949;28:423-439.
 121. Simpson D. Control of hydrogen ion homeostasis and renal acidosis. *Medicine*. 1971;50:503-541.
 122. Mizgala C. Renal handling of Phosphate. *Physiol. Rev*. 1985;65(2):431-466.
 123. Quamme GA, Wong NLM. Phosphate transport in the proximal convoluted tubule: effect of intraluminal pH. *Am. J. Physiol*. 1984;246:323-333.
 124. Guntupalli J, Eby B, Lau K. Mechanism for the phosphaturia of NH₄Cl: Dependence on acidemia but not on diet PO₄ or PTH. *Am. J. Physiol. Renal Physiol*. 1982;242(5):552-560.
 125. Jacobson H, Knochel J. Renal Handling of Phosphate in Health and Disease. *Am. J. Physiol. Renal Physiol*. 1986;249:445-451.
 126. Brunette M, Taleb L, Carriere S. The effect of parathyroid hormone on phosphate reabsorption along the nephron of the rat. *Am. J. Physiol. Renal Physiol*. 1973;225:1076-1081.
 127. Cheng L, Sacktor B. Sodium gradient-dependent phosphate transport in renal brush border membrane vesicles. *J. Biol. Chem*. 1981;256:1556-1564.
 128. Burekhardt G, Stern H, Murer H. The influence of pH on phosphate transport into renal brush border membrane vesicles. *Pflugers Arch*. 1981;390:191-197.

129. Cheng L, Liang CT, Sacktor B. Phosphate uptake by renal membrane vesicles of rabbits adapted to high and low phosphorus diets. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 1983;245(2):175-180.
130. Quamme GA. Effects of metabolic acidosis, alkalosis, and dietary hydrogen ion intake on phosphate transport in the proximal convoluted tubule. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 1985;249(5):769-779.
131. Kayne LH, D'Argenio DZ, Meyer JH, Ming Shu Hu, Jamgotchian N, Lee DBN. Analysis of segmental phosphate absorption in intact rats. A compartmental analysis approach. *J. Clin. Investig.* 1993;91(3):915-922.
132. Sabbagh Y, Giral H, Caldas Y, Levi M, Schiavi SC. Intestinal Phosphate Transport. *Adv. Chronic Kidney Dis.* 2011;18(2):85-90.
133. Lee DBN, Walling MW, Gafter U, Silis V, Coburn JW. Calcium and inorganic phosphate transport in rat colon. Dissociated response to 1,25-dihydroxyvitamin D3. *J. Clin. Investig.* 1980;65(6):1326-1331.
134. Berndt T, Kumar R. Phosphatonins and the regulation of phosphate homeostasis. *Annu. Rev. Physiol.* 2007;69:341-359.
135. Werner A, Kinne RKH. Evolution of the Na-Pi cotransport systems. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 2001;280(2):301-312.
136. Biber J, Hernando N, Forster I. Phosphate transporters and their function. *Annu. Rev. Physiol.* 2013;75:535-550.
137. Forster IC, Hernando N, Biber J, Murer H. Phosphate transporters of the SLC20 and SLC34 families. *Mol. Aspects Med.* 2013;34:386-395.
138. Hilfiker H, Kvietikova I, Hartmann CM, Stange G, Murer H. Characterization of the human type II Na/P(i)-cotransporter promoter. *Pflugers Arch.* 1998;436(4):591-598.
139. Hilfiker H, Hattenhauer O, Traebert M, Forster I, Murer H, Biber J. Characterization of a murine type II sodium-phosphate cotransporter expressed in mammalian small intestine. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998;95(24):14564-14569.
140. Nishimura M, Naito S. Tissue-specific mRNA expression profiles of human solute carrier transporter superfamilies. *Drug Metab. Pharmacokinet.* 2008;23(1):22-44.
141. Olah Z. The cellular receptor for gibbon ape leukemia virus is a novel high affinity sodium-dependent phosphate transporter. *J. Biol. Chem.* 1994;269(41):25426-25431.
142. Marks J, Debnam ES, Unwin RJ. Phosphate homeostasis and the renal-gastrointestinal axis. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2010;299(2):285-296.

143. Giral-Arnal H, Caldas Y, Sutherland E, et al. Regulation of rat intestinal Na-dependent phosphate transporters by dietary phosphate. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2009;297(5):1466-1475.
144. Segawa H, Kaneko I, Yamanaka S, et al. Intestinal Na-Pi cotransporter adaptation to dietary Pi content in vitamin D receptor null mice. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2004;287(1):39-47.
145. Hattenhauer O, Traebert M, Murer H, Biber J. Regulation of small intestinal Na-P(i) type IIb cotransporter by dietary phosphate intake. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 1999;277(4):756-762.
146. Candéal E, Caldas YA, Guillén N, Levi M, Sorribas V. Intestinal phosphate absorption is mediated by multiple transport systems in rats. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2017;312(4):355-366.
147. González-Mariscal L, Betanzos A, Nava P, Jaramillo BE. Tight junction proteins. *Prog. Biophys. Mol. Biol.* 2003;81(1):1-44.
148. McHardy G, Parsons D. The absorption of inorganic phosphate from the small intestine of the rat. *Exp. Physiol.* 1956;41:398-409.
149. Crook M, Swaminathan R. Disorders of plasma phosphate and indications for its measurement. *Ann. Clin. Biochem.* 1996;33(5):376-396.
150. Sampathkumar K, Selvam M, Sooraj YS, Gowthaman S, Ajeshkumar RNP. Extended release nicotinic acid - A novel oral agent for phosphate control. *Int. Urol. Nephrol.* 2006;38(1):171-174.
151. Bohn L, Meyer AS, Rasmussen SK. Phytate: Impact on environment and human nutrition. A challenge for molecular breeding. *J. Zhejiang Univ. Sci. B.* 2008;9(3):165-191.
152. Sandberg a S, Andersson H, Kivistö B, Sandström B. Extrusion cooking of a high-fibre cereal product. 1. Effects on digestibility and absorption of protein, fat, starch, dietary fibre and phytate in the small intestine. *Br. J. Nutr.* 1986;55(2):245-254.
153. Fallingborg J, Christensen LA, Ingeman-Nielsen M, Jacobsen BA, Abildgaard K, Rasmussen HH. pH-Profile and regional transit times of the normal gut measured by a radiotelemetry device. *Aliment. Pharmacol. Ther.* 1989;3(6):605-614.
154. Tanaka Y, Deluca HF. The control of 25-hydroxyvitamin D metabolism by inorganic phosphorus. *Arch. Biochem. Biophys.* 1973;154(2):566-574.
155. Capuano P, Radanovic T, Wagner CA, et al. Intestinal and renal adaptation to a low-Pi diet of type II NaPi cotransporters in vitamin D receptor- and 1 α OHase-deficient mice. *Am. J. Physiol. Cell Physiol.* 2005;288(2):429-435.
156. Wilz D, Gray R, Dominguez J. Plasma 1,25 (OH)-vitamin D concentrations net intestinal calcium , phosphate , and magnesium absorption in humans. *Am. J. Clin. Nutr.* 1979;32:2052-2060.

157. Lederer E. Regulation of serum phosphate. *J. Physiol.* 2014;592(18):3985-3995.
158. Martin DR, Ritter CS, Slatopolsky E, Brown AJ. Acute regulation of parathyroid hormone by dietary phosphate. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* 2005;289(4):729-734.
159. Brown AJ, Dusso A. Vitamin D. *Am. Physiol. Soc.* 1999;277(2):157-175.
160. Ritter CS, Martin DR, Lu Y, Slatopolsky E, Brown AJ. Reversal of secondary hyperparathyroidism by phosphate restriction restores parathyroid calcium-sensing receptor expression and function. *J. Bone Miner. Res.* 2002;17(12):2206-2213.
161. Sinha J, Chen F, Miloh T, Burns RC, Yu Z, Shneider BL. β -Klotho and FGF-15/19 inhibit the apical sodium-dependent bile acid transporter in enterocytes and cholangiocytes. *Am. J. Physiol. Gastrointest. Liver Physiol.* 2008;295(5):996-1003.
162. Miyamoto KI, Ito M, Kuwahata M, Kato S, Segawa H. Inhibition of intestinal sodium-dependent inorganic phosphate transport by fibroblast growth factor 23. *Ther. Apher. Dial.* 2005;9(4):331-335.
163. Murer H, Hernando N, Forster I, Biber J. Proximal tubular phosphate reabsorption: Molecular mechanisms. *Physiol. Rev.* 2000;80(4):1373-1409.
164. Tenenhouse HS. Regulation of phosphorus homeostasis by the type IIA Na/phosphate cotransporter. *Annu. Rev. Nutr.* 2005;25:197-214.
165. Blaine J, Weinman EJ, Cunningham R. The Regulation of Renal Phosphate Transport. *Adv. Chronic Kidney Dis.* 2011;18(2):77-84.
166. Weinman EJ, Boddeti A, Cunningham R, et al. NHERF-1 is required for renal adaptation to a low-phosphate diet. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2003;285(6):1225-1232.
167. Cunningham R, Xiaofei E, Steplock D, Shenolikar S, Weinman EJ. Defective PTH regulation of sodium-dependent phosphate transport in NHERF-1^{-/-} renal proximal tubule cells and wild-type cells adapted to low-phosphate media. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2005;289(4):933-939.
168. Keusch I, Traebert M, Löttscher M, Kaissling B, Murer H, Biber J. Parathyroid hormone and dietary phosphate provoke a lysosomal routing of the proximal tubular Na/Pi-cotransporter type II. *Kidney Int.* 1998;54(4):1224-1232.
169. Murer H, Hernando N, Forster I, Biber J. Regulation of Na/Pi Transporter in the Proximal Tubule. *Annu. Rev. Physiol.* 2003;65:531-542.
170. Custer M, Lotscher M, Biber J, Murer H, Kaissling B. Expression of Na-P(i) cotransport in rat kidney: Localization by RT-PCR and immunohistochemistry. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 1994;266(5):767-774.

171. Levi M, Kempson SA, Lötscher M, Biber J, Murer H. Molecular regulation of renal phosphate transport. *J. Membr. Biol.* 1996;154(1):1-9.
172. Levine B, Ho K. Early renal brush border membrane adaptation to dietary phosphorus. *Miner. Electrol. Metab.* 1984;10:222-227.
173. Pfister M, Ruf I. Parathyroid hormone leads to the lysosomal degradation of the renal type II Na/Pi cotransporter. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 1998;95:1909-1914.
174. Malmström K, Murer H. Parathyroid hormone regulates phosphate transport in OK cells via an irreversible inactivation of a membrane protein. *FEBS Lett.* 1987;216(2):257-260.
175. Traebert M. Internalization of proximal tubular type II Na-Pi cotransporter by PTH: Immunogold electron microscopy. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2000;278(1):148-154.
176. Taufiq S, Collins JR, Ghishan FK. Posttranscriptional mechanisms regulate ontogenic changes in rat renal sodium-phosphate transporter. *Am. J. Physiol. Regul. Integr. Comp. Physiol.* 1997;272(1):134-141.
177. Allon M, Hruska KA. Renal adaptation to dietary phosphate restriction in rats: Interactions with insulin and calcitriol. *Diabetes.* 1991;40(9):1134-1140.
178. Bacic D, Hernando N, Traebert M, et al. Regulation of the renal type IIa Na/Pi cotransporter by cGMP. *Pflugers Arch.* 2001;443(2):306-313.
179. Kempson SA. Peptide hormone action on renal phosphate handling. *Kidney Int.* 1996;49(4):1005-1009.
180. Jankowski M, Hilfiker H, Biber J, Murer H. The opossum kidney cell type IIa Na/Pi cotransporter is a phosphoprotein. *Kidney Blood Press Res.* 2001;24(1):1-4.
181. Riccardi D, Hall AE, Chattopadhyay N, Xu JZ, Brown EM, Hebert SC. Localization of the extracellular Ca²⁺/polyvalent cation-sensing protein in rat kidney. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 1998;274(3):611-622.
182. Capasso G, Geibel PJ, Damiano S, Jaeger P, Richards WG, Geibel JP. The calcium sensing receptor modulates fluid reabsorption and acid secretion in the proximal tubule. *Kidney Int.* 2013;84(2):277-284.
183. Murray RD, Holthouser K, Clark BJ, et al. Parathyroid hormone (PTH) decreases sodium-phosphate cotransporter type IIa (NpT2a) mRNA stability. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2013;304(8):1076-1085.
184. Martin KJ, Bell G, Pickthorn K, et al. Velcalctide (AMG 416), a novel peptide agonist of the calcium-sensing receptor, reduces serum parathyroid hormone and FGF23 levels in healthy male subjects. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2014;29(2):385-392.

185. Walter S, Baruch A, Dong J, et al. Pharmacology of AMG 416 (velcalctide), a novel peptide agonist of the calcium-sensing receptor, for the treatment of secondary hyperparathyroidism in hemodialysis patients. *J. Pharmacol. Exp. Ther.* 2013;346(2):229-240.
186. Yuan Q, Sato T, Densmore M, et al. FGF-23/Klotho signaling is not essential for the phosphaturic and anabolic functions of PTH. *J. Bone Miner. Res.* 2011;26(9):2026-2035.
187. Kuro-o M. *Endocrine FGFs and Klothos*. 1^o ed. Springer; 2012.
188. Inoue Y, Segawa H, Kaneko I, et al. Role of the vitamin D receptor in FGF23 action on phosphate metabolism. *Biochem. J.* 2005;390(1):325-331.
189. Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y, et al. Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J. Clin. Investig.* 2004;113(4):561-568.
190. Liu S, Tang W, Zhou J, et al. Fibroblast growth factor 23 is a counter-regulatory phosphaturic hormone for vitamin D. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006;17(5):1305-1315.
191. Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, et al. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature.* 2006;444(7120):770-774.
192. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature.* 1997;390:45-51.
193. Kurosu H, Ogawa Y, Miyoshi M, et al. Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by Klotho. *J. Biol. Chem.* 2006;281(10):6120-6123.
194. Gattineni J, Bates C, Twombly K, et al. FGF23 decreases renal NaPi-2a and NaPi-2c expression and induces hypophosphatemia in vivo predominantly via FGF receptor 1. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2009;297(2):282-291.
195. Li J, Chen F, Epstein JA. Neural crest expression of Cre recombinase directed by the proximal Pax3 promoter in transgenic mice. *Genesis.* 2000;26(2):162-164.
196. Cancilla B, Davies A, Cauchi JA, Risbridger GP, Bertram JF. Fibroblast growth factor receptors and their ligands in the adult rat kidney. *Kidney Int.* 2001;60(1):147-155.
197. Farrow EG, Davis SI, Summers LJ, White KE. Initial FGF23-mediated signaling occurs in the distal convoluted tubule. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009;20(5):955-960.
198. Nakatani T, Sarraj B, Ohnishi M, et al. In vivo genetic evidence for klotho-dependent, fibroblast growth factor 23 (Fgf23) -mediated regulation of systemic phosphate homeostasis. *FASEB J.* 2009;23(2):433-441.
199. Saito H, Maeda A, Ohtomo SI, et al. Circulating FGF-23 is regulated by 1 α ,25-dihydroxyvitamin D 3 and phosphorus in vivo. *J. Biol. Chem.* 2005;280(4):2543-2549.

200. Samadfam R, Richard C, Nguyen-Yamamoto L, Bolivar I, Goltzman D. Bone formation regulates circulating concentrations of fibroblast growth factor 23. *Endocrinology*. 2009;150(11):4835-4845.
201. Bikle DD. Vitamin D metabolism, mechanism of action, and clinical applications. *Chem Biol*. 2014;21(3):319-329.
202. Maiti A, Beckman MJ. Extracellular calcium is a direct effector of VDR levels in proximal tubule epithelial cells that counter-balances effects of PTH on renal Vitamin D metabolism. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* 2007;103(3):504-508.
203. Kurnik BRC, Hruska KA. Mechanism of stimulation of renal phosphate transport by 1,25-dihydroxycholecalciferol. *Biochim. Biophys. Acta Biomembr.* 1985;817(1):42-50.
204. Kido S, Miyamoto KI, Mizobuchi H, et al. Identification of regulatory sequences and binding proteins in the type II sodium/phosphate cotransporter NPT2 gene responsive to dietary phosphate. *J. Biol. Chem.* 1999;274(40):28256-28263.
205. Mulrone SE, Lumpkin MD, Haramati A. Antagonist to GH-releasing factor inhibits growth and renal P(i) reabsorption in immature rats. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 1989;257(1):29-34.
206. Corvilain J, Abramow M. Effect of Growth Hormone on Tubular Transport of Phosphate in Normal and Parathyroidectomized Dogs. *J. Clin. Invest.* 1964;43(8):1608-1612.
207. Hammerman MR. The growth hormone-insulin-like growth factor axis in kidney revisited. *Nephrol. Dial. Transplant.* 1999;14(8):1853-1860.
208. Caverzasio J, Bonjour JP. Insulin-like growth factor I stimulates Na-dependent P(i) transport in cultured kidney cells. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 1989;257(5):712-717.
209. Quigley R, Baum M. Effects of growth hormone and insulin-like growth factor I on rabbit proximal convoluted tubule transport. *J. Clin. Investig.* 1991;88(2):368-374.
210. DeFronzo R, Lang R. Hypophosphatemia and glucose intolerance: evidence for tissue insensitivity to insulin. *N. Engl. J. Med.* 1980;303:1259-1263.
211. Abraham MI, Woods RE, Breedlove DK, Kempson SA. Renal adaptation to low-phosphate diet in diabetic rats. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 1992;262(5):731-736.
212. Espinosa RE, Keller MJ, Yusufi ANK, Dousa TP. Effect of thyroxine administration on phosphate transport across renal cortical brush border membrane. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 1984;246(2):133-139.
213. Beers KW, Dousa TP. Thyroid hormone stimulates the Na⁺-PO₄ symporter but not the Na⁺-SO₄ symporter in renal brush border. *Am. J. Physiol Renal Physiol.* 1993;265(2):323-326.

214. Alcalde AI, Sarasa M, Raldúa D, et al. Role of thyroid hormone in regulation of renal phosphate transport in young and aged rats. *Endocrinology*. 1999;140(4):1544-1551.
215. Yusufi ANK, Murayama N, Keller MJ, Dousa TP. Modulatory effect of thyroid hormones on uptake of phosphate and other solutes across luminal brush border membrane of kidney cortex. *Endocrinology*. 1985;116(6):2438-2449.
216. Perwad F, Azam N, Zhang MYH, Yamashita T, Tenenhouse HS, Portale AA. Dietary and serum phosphorus regulate fibroblast growth factor 23 expression and 1,25-dihydroxyvitamin D metabolism in mice. *Endocrinology*. 2005;146(12):5358-5364.
217. Larsson T, Nisbeth U, Ljunggren Ö, Jüppner H, Jonsson KB. Circulating concentration of FGF-23 increases as renal function declines in patients with chronic kidney disease, but does not change in response to variation in phosphate intake in healthy volunteers. *Kidney Int*. 2003;64(6):2272-2279.
218. Sommer S, Berndt T, Craig T, Kumar R. The phosphatonins and the regulation of phosphate transport and vitamin D metabolism. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol*. 2007;103(3):497-503.
219. Kritmetapak K, Kumar R. Phosphate as a Signaling Molecule. *Calcif. Tissue Int*. 2021;108(1):16-31.
220. Goltzman D. Physiology of Parathyroid Hormone. *Endocrinol. Metab. Clin. North. Am*. 2018;47(4):743-758.
221. Keller H, Kneissel M. SOST is a target gene for PTH in bone. *Bone*. 2005;37(2):148-158.
222. Qin L, Raggatt LJ, Partridge NC. Parathyroid hormone: A double-edged sword for bone metabolism. *Trends Endocrinol. Metab*. 2004;15(2):60-65.
223. Swarthout JT, D'Alonzo RC, Selvamurugan N, Partridge NC. Parathyroid hormone-dependent signaling pathways regulating genes in bone cells. *Gene*. 2002;282(1):1-17.
224. Bouillon R, Prodonova A. Growth hormone deficiency and peak bone mass. *J. Pediatr. Endocrinol. Metab*. 2000;13:1327-1336.
225. Boot AM, Engels MAMJ, Boerma GJM, Krenning EP, De Muinck Keizer-Schrama SMPF. Changes in bone mineral density, body composition, and lipid metabolism during growth hormone (GH) treatment in children with GH deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 1997;82(8):2423-2428.
226. Locatelli V, Bianchi VE. Effect of GH/IGF-1 on Bone Metabolism and Osteoporosis. *Int. J. Endocrinol*. 2014;2014:235060.
227. Hansen TB, Brixen K, Vahl N, et al. Effects of 12 months of growth hormone (GH) treatment on calciotropic hormones, calcium homeostasis, and bone

- metabolism in adults with acquired GH deficiency: A double blind, randomized, placebo-controlled study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1996;81(9):3352-3359.
228. Amato G, Izzo G, La Montagna G, Bellastella A. Low dose recombinant human growth hormone normalizes bone metabolism and cortical bone density and improves trabecular bone density in growth hormone deficient adults without causing adverse effects. *Clin Endocrinol.* 1996;45(1):27-32.
 229. Holmes SJ, Whitehouse RW, Swindell R, Economou G, Adams JE, Shalet SM. Effect of growth hormone replacement on bone mass in adults with adult onset growth hormone deficiency. *Clin Endocrinol.* 1995;42(6):627-633.
 230. Langlois JA, Rosen CJ, Visser M, et al. Association between insulin-like growth factor I and bone mineral density in older women and men: The Framingham heart study. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 1998;83(12):4257-4262.
 231. Janssen JAMJL, Burger H, Stolk RP, et al. Gender-specific relationship between serum free and total IGF-I and bone mineral density in elderly men and women. *Eur. J. Endocrinol.* 1998;138(6):627-632.
 232. Johansson AG, Forslund A, Hambraeus L, Blum WF, Ljunghall S. Growth hormone-dependent insulin-like growth factor binding protein is a major determinant of bone mineral density in healthy men. *J. Bone Miner. Res.* 1994;9(6):915-921.
 233. Barrett-Connor E, Goodman-Gruen D. Gender differences in insulin-like growth factor and bone mineral density association in old age: The rancho Bernardo study. *J. Bone Miner. Res.* 1998;13(8):1343-1349.
 234. Sugimoto T, Nishiyama K, Kuribayashi F. Serum Levels of Insulin-like Growth Factor (IGF) I, Osteoporotic Patients with and without Spinal Fractures. *J. Bone Miner. Res.* 1997;12(8):1272-1279.
 235. Ohlsson C, Mellström D, Carlzon D, et al. Older men with low serum IGF-1 have an increased risk of incident fractures: The MrOS Sweden study. *J. Bone Miner. Res.* 2011;26(4):865-872.
 236. Ballesteros M, Leung KC, Ross RJM, Iismaa TP, Ho KKY. Distribution and abundance of messenger ribonucleic acid for growth hormone receptor isoforms in human tissues. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000;85(8):2865-2871.
 237. Liu JP, Baker J, Perkins AS, Robertson EJ, Efstratiadis A. Mice carrying null mutations of the genes encoding insulin-like growth factor I (Igf-1) and type 1 IGF receptor (Igf1r). *Cell.* 1993;75(1):59-72.
 238. Salmon W, Daughaday W. A hormonally controlled serum factor which stimulates sulfate incorporation by cartilage in vitro. *J. Lab. Clin. Med.* 1957;49:825-836.

239. Lindahl A, Isgaard J, Nilsson A, Isaksson OGP. Growth hormone potentiates colony formation of epiphyseal chondrocytes in suspension culture. *Endocrinology*. 1986;118(5):1843-1848.
240. Kassem M, Mosekilde L. Growth hormone stimulates proliferation of normal human bone marrow stromal osteoblast precursor cells in vitro. *Growth Regul*. 1994;4:131-135.
241. Uronen-Hansson H, Allen ML, Lichtarowicz-Krynska E, et al. Growth hormone enhances proinflammatory cytokine production by monocytes in whole blood. *Growth Horm. IGF Res*. 2003;13(5):282-286.
242. Renier G, Clement I. Direct Stimulatory Effect of Insulin-Like Growth Factor-I on Monocyte and Macrophage Tumor Necrosis Factor- α Production. *Endocrinology*. 1996;137:4611-4618.
243. Laviola L, Natalicchio A, Perrini S, Giorgino F. Abnormalities of IGF-I signaling in the pathogenesis of diseases of the bone, brain, and fetoplacental unit in humans. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab*. 2008;295(5):991-999.
244. Guevara-Aguirre J, Rosenbloom AL, Vasconez O, et al. Two-year treatment of growth hormone (GH) receptor deficiency with recombinant insulin-like growth factor I in 22 children: Comparison of two dosage levels and to GH-treated GH deficiency. *J. Clin. Endocrinol. Metab*. 1997;82(2):629-633.
245. Walker JL, Van Wyk JJ, Underwood LE. Stimulation of statural growth by recombinant insulin-like growth factor I in a child with growth hormone insensitivity syndrome (Laron type). *J. Pediatr*. 1992;121(4):641-646.
246. Hazel SJ, Gillespie CM, Moore RJ, Clark RG, Jureidini KF, Martin AA. Enhanced body growth in uremic rats treated with IGF-I and growth hormone in combination. *Kidney Int*. 1994;46(1):58-68.
247. Pereira RC, Juppner H, Azucena-Serrano CE, Yadin O, Salusky IB, Wesseling-Perry K. Patterns of FGF-23, DMP1, and MEPE expression in patients with chronic kidney disease. *Bone*. 2009;45(6):1161-1168.
248. Sabuncu T, Aksoy N, Arikan E, Ugur B, Tasan E, Hatemi H. Early changes in parameters of bone and mineral metabolism during therapy for hyper- and hypothyroidism. *Endocr. Res*. 2001;27(1):203-213.
249. Modi A, Sahi N. Effect of thyroid hormones on serum calcium and phosphorous. *Int. J. Clin. Biochem. Res*. 2020;5(4):570-573.
250. Yamaguchi T, Nishijima M, Tashiro K, Kawabata K. Wnt- β -Catenin Signaling Promotes the Maturation of Mast Cells. *Biomed. Res. Int*. 2016;2016:1-8.
251. Jain N, Elsayed EF. Dietary phosphate: What do we know about its toxicity? *J. Nephrol*. 2013;26(5):856-864.
252. Ohnishi M, Razzaque MS. Dietary and genetic evidence for phosphate toxicity accelerating mammalian aging. *FASEB J*. 2010;24(9):3562-3571.

253. Norris KC, Greene T, Kopple J, et al. Baseline predictors of renal disease progression in the African American study of hypertension and kidney disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2006;17(10):2928-2936.
254. Landray MJ, Emberson JR, Blackwell L, et al. Prediction of ESRD and death among people with CKD: The chronic renal impairment in Birmingham (CRIB) prospective cohort study. *Am. J. Kidney Dis.* 2010;56(6):1082-1094.
255. Schwarz S, Trivedi BK, Kalantar-Zadeh K, Kovesdy CP. Association of disorders in mineral metabolism with progression of chronic kidney disease. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 2006;1(4):825-831.
256. Li JW, Xu C, Fan Y, Wang Y, Xiao Y Bin. Can serum levels of alkaline phosphatase and phosphate predict cardiovascular diseases and total mortality in individuals with preserved renal function? A systemic review and meta-analysis. *PLoS One.* 2014;9(7):1-14.
257. Connolly GM, Cunningham R, McNamee PT, Young IS, Maxwell AP. Elevated serum phosphate predicts mortality in renal transplant recipients. *Transplantation.* 2009;87(7):1040-1044.
258. Tonelli M, Sacks F, Pfeffer M, Gao Z, Curhan G. Relation between serum phosphate level and cardiovascular event rate in people with coronary disease. *Circulation.* 2005;112(17):2627-2633.
259. Shuto E, Taketani Y, Tanaka R, et al. Dietary phosphorus acutely impairs endothelial function. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009;20(7):1504-1512.
260. Kowaltowski AJ, Castilho RF, Y AEV. Mitochondrial permeability transition and oxidative stress. *FEBS Lett.* 2001;495:12-15.
261. Di Marco GS, Hausberg M, Hillebrand U, et al. Increased inorganic phosphate induces human endothelial cell apoptosis in vitro. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* 2008;294(6):1381-1387.
262. Foley RN, Collins AJ, Herzog CA, Ishani A, Kalra PA. Serum phosphorus levels associate with coronary atherosclerosis in young adults. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009;20(2):397-404.
263. Russo D, Corrao S, Miranda I, et al. Progression of coronary artery calcification in predialysis patients. *Am. J. Nephrol.* 2007;27(2):152-158.
264. Adeney KL, Siscovick DS, Ix JH, et al. Association of serum phosphate with vascular and valvular calcification in moderate CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009;20(2):381-387.
265. Stubbs JR, Liu S, Tang W, et al. Role of hyperphosphatemia and 1,25-dihydroxyvitamin D in vascular calcification and mortality in fibroblastic growth factor 23 null mice. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2007;18(7):2116-2124.

266. Dhar A, Hu J, Reeves R, Resar LMS, Colburn NH. Dominant-negative c-Jun (TAM67) target genes: HMGA1 is required for tumor promoter-induced transformation. *Oncogene*. 2004;23(25):4466-4476.
267. Camalier CE, Young MR, Bobe G, Perella CM, Colburn NH, Beck GR. Elevated phosphate activates N-ras and promotes cell transformation and skin tumorigenesis. *Cancer Prev. Res.* 2010;3(3):359-370.
268. Brennan JF, Stilmant MM, Babayan RK, Siroky MB. Acquired Renal Cystic Disease: Implications for the Urologist. *Br. J. Urol.* 1991;67(4):342-348.
269. Sakaguchi K, Ohmura M, Horiuchi S. Clinical study of renal cell carcinoma in dialysis patients: A single center experience. *Nippon Hinyokika Gakkai Zasshi*. 2013;104(1):6-11.
270. Cho C, Friedland G. Acquired Renal Cystic Disease and Renal Neoplasms in Hemodialysis Patients. *Urol. Radiol.* 1984;6:153-157.
271. Amanzadeh J, Reilly RF. Hypophosphatemia: An evidence-based approach to its clinical consequences and management. *Nat. Clin. Pract. Nephrol.* 2006;2(3):136-148.
272. Subramanian R, Khardori R. Severe Hypophosphatemia. *Medicine*. 2000;79(1):1-8.
273. Felsenfeld AJ, Levine BS. Approach to treatment of hypophosphatemia. *Am. J. Kidney Dis.* 2012;60(4):655-661.
274. Zazzo JF, Troché G, Ruel P, Maintenant J. High incidence of hypophosphatemia in surgical intensive care patients: Efficacy of phosphorus therapy on myocardial function. *Intensive Care Med.* 1995;21(10):826-831.
275. Marik PE, Kay M. Refeeding Hypophosphatemia in Critically Ill Patients in an Intensive Care Unit. A prospective study. *Arch. Surg.* 1996;131(10):1043-1047.
276. Shields HM. Rapid fall of serum phosphorus secondary to antacid therapy. *Gastroenterology*. 1978;75(6):1137-1141.
277. Lotz M, Zisman E. Evidence for a phosphorus-depletion syndrome in man. *N. Engl. J. Med.* 1968;278(2):409-415.
278. Tebben PJ. Hypophosphatemia: A Practical Guide to Evaluation and Management. *Endocr. Pract.* 2022;28(10):1091-1099.
279. Gaasbeek A, Meinders AE. Hypophosphatemia: An update on its etiology and treatment. *Am. J. Med.* 2005;118(10):1094-1101.
280. Hoppe A, Metler M, Berndt TJ. Effect of respiratory alkalosis on renal phosphate excretion. *Am. J. Physiol. Renal Physiol* 1982;243(5):471-475.
281. Mostellar M, Tuttle E. Effects of alkalosis on plasma concentration and urinary excretion of inorganic phosphate in man. *J. Clin. Invest.* 1964;43:138-149.

282. Coe FL, Favus MJ. *Disorders of Bone and Mineral Metabolism*. Lippincott Williams & Wilkins; 2002.
283. Abrams SA. Calcium Absorption in Infants and Small Children: Methods of Determination and Recent Findings. *Nutrients*. 2010;2(4):474-480.
284. Imel EA. Congenital Conditions of Hypophosphatemia in Children. *Calcif. Tissue Int*. 2021;108(1):74-90.
285. Bacchetta J, Salusky IB. Evaluation of hypophosphatemia: lessons from patients with genetic disorders. *Am. J. Kidney. Dis*. 2012;59(1):152-159.
286. Durham BH, Joseph F, Bailey LM, Fraser WD. The association of circulating ferritin with serum concentrations of fibroblast growth factor-23 measured by three commercial assays. *Ann. Clin. Biochem*. 2007;44(5):463-466.
287. Hartley I, Zhadina M, Collins MT, Boyce AM. Fibrous Dysplasia of Bone and McCune–Albright Syndrome: A Bench to Bedside Review. *Calcif. Tissue Int*. 2019;104(5):517-529.
288. Menascu S, Donner EJ. Linear Nevus Sebaceous Syndrome: Case Reports and Review of the Literature. *Pediatr. Neurol*. 2008;38(3):207-210.
289. Lim YH, Ovejero D, Sugarman JS, et al. Multilineage somatic activating mutations in HRAS and NRAS cause mosaic cutaneous and skeletal lesions, elevated FGF23 and hypophosphatemia. *Hum. Mol. Genet*. 2014;23(2):397-407.
290. Cebeci A, Zou M, BinEssa H. Mutation of SGK3, a novel regulator of renal phosphate transport, causes autosomal dominant hypophosphatemic rickets. *J. Clin. Endocrinol. Metabol*. 2019;5:1-11.
291. Bhandaru M, Kempe DS, Rotte A, et al. Decreased bone density and increased phosphaturia in gene-targeted mice lacking functional serum- and glucocorticoid-inducible kinase 3. *Kidney Int*. 2011;80(1):61-67.
292. Magen D, Berger L, Coady M. A Loss-of-Function Mutation in NaPi-IIa and Renal Fanconi's Syndrome. *N. Engl. J. Med*. 2010;362:1102-1109.
293. Devuyst O, Thakker R V. Dent's disease. *Orphanet J. Rare Dis*. 2010;5(1):1-8.
294. Hohenfellner K, Rauch F, Ariceta G, et al. Management of bone disease in cystinosis: Statement from an international conference. *J. Inherit Metab. Dis*. 2019;42(5):1019-1029.
295. Geerse DA, Bindels AJ, Kuiper MA, Roos AN, Spronk PE, Schultz MJ. Treatment of hypophosphatemia in the intensive care unit: A review. *Crit. Care Med*. 2010;14(4):147.
296. Florenzano P, Cipriani C, Roszko KL, et al. Approach to patients with hypophosphataemia. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2020;8(2):163-174.

297. Santana E, Meneses JF, Leite HP, De Carvalho WB, Lopes E. Hypophosphatemia in critically ill children: Prevalence and associated risk factors. *Pediatr. Crit. Care Med.* 2009;10(2):234-238.
298. Santos F, Fuente R, Mejia N, Mantecon L, Gil-Peña H, Ordoñez FA. Hypophosphatemia and growth. *Pediatr. Nephrol.* 2013;28(4):595-603.
299. Bistarakis L, Voskaki I, Lambadaridis J, Sereti H, Sbyrakis S. Renal handling of phosphate in the first six months of life. *Arch. Dis. Child.* 1986;61(7):677-681.
300. Thalassinou N, Leese B, Latham S. Urinary excretion of magnesium and calcium in normal children. *Arch. Dis. Child.* 1970;45:269-272.
301. Tahmasebi H, Higgins V, Woroch A, Asgari S, Adeli K. Pediatric reference intervals for clinical chemistry assays on Siemens ADVIA XPT/1800 and Dimension EXL in the CALIPER cohort of healthy children and adolescents. *Clin. Chim. Acta.* 2019;490:88-97.
302. Tate JR, Sikaris KA, Jones GR, et al. Harmonising adult and paediatric reference intervals in Australia and New Zealand: an evidence-based approach for establishing a first panel of chemistry analytes. *Clin. Biochem. Rev.* 2014;35(4):213-235.
303. Barth J, Rae JK. The Association for Clinical Biochemistry. *Harmonisation of Reference Intervals*. January, 2011. Accessed December, 2022.
304. Hilsted L, Rustad P, Aksglæde L, Sorensen K, Juul A. Recommended Nordic paediatric reference intervals for 21 common biochemical properties. *Scand. J. Clin. Lab. Invest.* 2013;73(1):1-9.
305. Ridefelt P, Aldrimer M, Rödöö PO, et al. Population-based pediatric reference intervals for general clinical chemistry analytes on the Abbott Architect ci8200 instrument. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2012;50(5):845-851.
306. Adeli K, Higgins V, Nieuwesteeg M, et al. Biochemical marker reference values across pediatric, adult, and geriatric ages: Establishment of robust pediatric and adult reference intervals on the basis of the Canadian health measures survey. *Clin. Chem.* 2015;61(8):1049-1062.
307. Colantonio DA, Kyriakopoulou L, Chan MK, et al. Closing the gaps in pediatric laboratory reference intervals: A Caliper database of 40 biochemical markers in a healthy and multiethnic population of children. *Clin. Chem.* 2012;58(5):854-868.
308. Abou El Hassan M, Stoianov A, Araújo PAT, et al. CLSI-based transference of CALIPER pediatric reference intervals to Beckman Coulter AU biochemical assays. *Clin. Biochem.* 2015;48(16-17):1151-1159.
309. Kruse K, Kracht U, Gopfert G. Renal threshold phosphate concentration (TmPO₄/GFR). *Arch. Dis. Child.* 1982;57(3):217-223.

310. Taitz L, De Lacy C. Parathyroid function in vitamin D deficiency rickets. I. Phosphorus excretion index in vitamin D deficiency rickets in South African Bantu infants. *Pediatrics*. 1962;30:875-883.
311. Haramati A. Tubular capacity for phosphate reabsorption in superficial and deep nephrons. *Am. J. Physiol. Renal Physiol*. 1985;248(5):729-733.
312. Reintam Blaser A, Gunst J, Ichai C, et al. Hypophosphatemia in critically ill adults and children – A systematic review. *Clin. Nutr*. 2021;40(4):1744-1754.
313. Shah SK, Irshad M, Gupta N, Kabra SK, Lodha R. Hypophosphatemia in Critically Ill Children: Risk Factors, Outcome and Mechanism. *Indian J. Pediatr*. 2016;83(12-13):1379-1385.
314. Kilic O, Demirkol D, Utsel R, Citak A, Karabocuoglu M. Hypophosphatemia and its clinical implications in critically ill children: A retrospective study. *J. Crit. Care*. 2012;27(5):474-479.
315. Improda N, Mazzeo F, Rossi A, Rossi C, Improda FP, Izzo A. Severe hypercalcemia associated with hypophosphatemia in very premature infants: a case report. *Ital. J. Pediatr*. 2021;47(1):4-8.
316. Brener P, Galletti M, Fernández Jonusas S. Early hypophosphatemia in preterm infants receiving aggressive parenteral nutrition. *J. Perinatol*. 2015;35:712-715.
317. Al-Wassia H, Lyon AW, Rose SM, Sauve RS, Fenton TR. Hypophosphatemia is Prevalent among Preterm Infants Less than 1,500 Grams. *Am. J. Perinatol*. 2019;36(13):1412-1419.
318. Hoffmann RG. Statistics in the Practice of Medicine. *JAMA*. 1963;185(11):864-873.
319. Bhattacharya CG. A Simple Method of Resolution of a Distribution into Gaussian Components. *Biometrics*. 1967;23(1):115-117.
320. Dalmau J, Peña-Quintana L, Moráis A, et al. Análisis cuantitativo de la ingesta de nutrientes en niños menores de 3 años. Estudio ALSALMA. *An. Pediatr*. 2015;82(4):255-266.
321. Brunelli SM, Goldfarb S. Hypophosphatemia: Clinical consequences and management. *J. Am. Soc. Nephrol*. 2007;18(7):1999-2003.
322. Megapanou E, Florentin M, Milionis H, Elisaf M, Liamis G. Drug-Induced Hypophosphatemia: Current Insights. *Drug Saf*. 2020;43(3):197-210.
323. Liamis G. Diabetes mellitus and electrolyte disorders. *World J. Clin. Cases*. 2014;2(10):488-496.
324. Brown G, Greenwood J. Drug- and nutrition-induced hypophosphatemia: mechanisms and relevance in the critically ill. *Ann. Pharmacother*. 1994;28:626-632.

325. Yoshida T, Taguchi D, Fukuda K, et al. Incidence of hypophosphatemia in advanced cancer patients: a recent report from a single institution. *Int. J. Clin Oncol.* 2017;22(2):244-249.
326. Adhikari S, Mamlouk O, Rondon-Berrios H, Workeneh BT. Hypophosphatemia in cancer patients. *Clin. Kidney J.* 2021;14(11):2304-2315.
327. Perek J, Mittelman M, Gafter U, Djaldetti M. Hypophosphatemia accompanying blastic crisis in a patient with malignant lymphoma. *J. Cancer Res. Clin. Oncol.* 1984;108(3):351-353.
328. Moreno Romero M, Pérez Muñoz I, González Lizán F, Gallego Rivera JI, Valdivielso Cañas L. The phosphaturic mesenchymal tumor as a cause of oncogenic osteomalacia. Three cases and review of the literature. *Rev. Esp. Cir. Ortop. Traumatol.* 2021;65(6):443-450.
329. Glendenning P, Bell DA, Clifton-Bligh RJ. Investigating hypophosphataemia. *BMJ.* 2014;348:1-5.
330. Roizen J, Levine MA. Primary hyperparathyroidism in children and adolescents. *J. Chin. Med. Assoc.* 2012;75(9):425-434.
331. Harman C, van Heerden J, Farley D. Sporadic primary hyperparathyroidism in young patients: a separate disease entity? *Arch. Surg.* 1999;134:581-582.
332. Zivaljevic V, Jovanovic M, Diklic A, Zdravkovic V, Djordjevic M, Paunovic I. Differences in primary hyperparathyroidism characteristics between children and adolescents. *J. Pediatr. Surg.* 2020;55(8):1660-1662.
333. Elder CJ, Bishop NJ. Rickets. *Lancet.* 2014;383(9929):1665-1676.
334. Cediél G, Pacheco-Acosta J, Castillo-Durán C. Vitamin D deficiency in pediatric clinical practice. *Arch. Argent. Pediatr.* 2018;116(1):75-81.
335. Lindqvist PG, Epstein E, Nielsen K, Landin-Olsson M, Ingvar C, Olsson H. Avoidance of sun exposure as a risk factor for major causes of death: a competing risk analysis of the Melanoma in Southern Sweden cohort. *J. Intern. Med.* 2016;280(4):375-387.
336. Aggarwal V, Seth A, Aneja S, et al. Role of calcium deficiency in development of nutritional rickets in indian children: A case control study. *J. Clin. Endocrinol. Metabol.* 2012;97(10):3461-3466.
337. Thacher TD, Fischer PR, Strand MA, Pettifor JM. Nutritional rickets around the world: Causes and future directions. *Ann. Trop. Paediatr.* 2006;26(1):1-16.
338. Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Erratum: Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am. J. Clin. Nutr.* 2006;84(1):18-28.

339. Chapuy MC, Arlot ME, Delmans PD, Meunier PJ. Effect of calcium and cholecalciferol treatment for three years on hip fractures in elderly women. *BMJ*. 1994;308(6936):1081-1082.
340. Thomas M, Lloyd-Jones D. Hypovitaminosis D in Medical Inpatients. *N. Engl. J. Med.* 1998;338:777-783.
341. Holick M. Vitamin D deficiency. *N. Engl. J. Med.* 2007;357:266-281.
342. Le Roy C, Reyes M, González JM, Pérez-Bravo F, Castillo-Durán C. Estado nutricional de vitamina D en pre escolares chilenos de zonas australes. *Rev. Med. Chil.* 2013;141(4):435-441.
343. Gordon CM, DePeter KC, Feldman HA, Grace E, Emans SJ. Prevalence of vitamin D deficiency among healthy adolescents. *Arch. Pediatr. Adolesc. Med.* 2004;158(6):531-537.
344. Sullivan SS, Rosen CJ, Halteman WA, Chen TC, Holick MF. Adolescent girls in maine are at risk for vitamin D insufficiency. *J. Am. Diet. Assoc.* 2005;105(6):971-974.
345. Pettifor J. Vitamin D &/or calcium deficiency rickets in infants & children: a global perspective. *Indian J. Med. Res.* 2008;127:245-249.
346. Gillis D, Hefter A. Optimal 25-OH-Vitamin D level in children derived from metabolic parameters. *Horm. Res. Pediatr.* 2023;55(3):191-195.
347. DeLuca HF. The metabolism and functions of vitamin D. *Adv. Exp. Med. Biol.* 1986;196:361-375.
348. Horst R. Recent advances in the quantification of vitamin D and vitamin D metabolites. In: *Vitamin D: Basic and Clinical Aspects*. Martinus Nijhoff Publishing; 1984.
349. Alon U, Hellerstein S. Assessment and interpretation of the tubular threshold for phosphate in infants and children Uri. *Pediatr. Nephrol.* 1994;8:250-251.
350. Bijvoet OLM, Morgan DB, Fourman P. The assessment of phosphate reabsorption. *Clin. Chim. Acta.* 1969;26(1):15-24.
351. Walton RJ, Bijvoet OLM. Nomogram for Derivation of Renal Threshold Phosphate Concentration. *Lancet.* 1975;306(7929):309-310.
352. Brodehl J, Gellissen K. Postnatal development of tubular phosphate reabsorption. *Clin. Nephrol.* 1982;17:163-171.
353. Tiosano D, Hochberg Z. Hypophosphatemia: The common denominator of all rickets. *J. Bone Miner. Metab.* 2009;27(4):392-401.
354. Stalder G. Funktionelle Mikroangiopathie der Nieren beim behandelten Diabetes mellitus im Kindesalter. *Dtsch. Med. Wochenschr.* 1960;85:346-350.

355. Brochner-Mortensen J, Ditzel J, Mogensen C. Microvascular Permeability to Albumin and Glomerular Filtration Rate in Diabetic and Normal Children. *Diabetologia*. 1979;16:307-311.
356. Lang F, Greger R. Stationary Microperfusion Study of Phosphate Reabsorption in Proximal and Distal Nephron Segments. *Pflugers Arch*. 1977;368:45-48.
357. Knox F, Haramati A. Renal regulation of phosphate excretion. In: Seldin G, Giebisch G, eds. *The Kidney. Physiology and Pathophysiology*. 1^o ed. Academic Press; 1985:1351-1396.
358. Ditzel J, Brochner-Mortensen J. Dysfunction of Tubular Phosphate Reabsorption Related to Glomerular Filtration and Blood Glucose Control in Diabetic Children. *Diabetologia*. 1982;23:406-410.
359. Van Der Vaart A, Waanders F, Van Beek AP, Vriesendorp TM, Wolffenbutel BHR, Van Dijk PR. Incidence and determinants of hypophosphatemia in diabetic ketoacidosis: An observational study. *BMJ Open Diabetes Res Care*. 2021;9(1):1-7.
360. Shen T, Braude S. Changes in Serum phosphate during treatment of diabetic ketoacidosis: Predictive significance of severity of acidosis on presentation. *Intern. Med. J*. 2012;42(12):1347-1350.
361. Kebler R, McDonald FD, Cadnapaphornchai P. Dynamic changes in serum phosphorus levels in diabetic ketoacidosis. *Am. J. Med*. 1985;79(5):571-576.
362. Barrett PQ, Gertner JM, Rasmussen H. Effect of dietary phosphate on transport properties of pig renal microvillus vesicles. *Am. J. Physiol. Renal Physiol*. 1980;239(4):352-359.
363. Raskin P, Pak CYC. The effect of chronic insulin therapy on phosphate metabolism in diabetes mellitus. *Diabetologia*. 1981;21(1):50-53.
364. Dalili S, Koohmanae S, Nemati SAR, Nouri SAH, Rad AH, Kooti W. The association between hemoglobin hba1c with serum inorganic phosphate in children with type 1 diabetes. *Diabetes, Metab. Syndr. Obes*. 2020;13:3405-3409.
365. Riley MS, Schade DS, Eaton RP. Effects of insulin infusion on plasma phosphate in diabetic patients. *Metabolism*. 1979;28(3):191-194.
366. Vorum H, Ditzel J. Disturbance of inorganic phosphate metabolism in diabetes mellitus: Its relevance to the pathogenesis of diabetic retinopathy. *J. Ophthalmol*. 2014;2014:135287.
367. Galli-Tsinopoulou A, Maggana I, Kyrgios I, et al. Association between magnesium concentration and HbA1c in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus. *J. Diabetes*. 2014;6(4):369-377.
368. Sorribas V, Markovich D, Verri T, Biber J, Murer H. Thyroid hormone stimulation of Na/Pi-cotransport in opossum kidney cells. *Pflugers Arch*. 1995;431(2):266-271.

369. Jat RK, Panwar AK, Agarwal P, et al. Assessment of Serum Minerals in Subclinical Hypothyroid and Overt Hypothyroid Patients. *Cureus*. 2021;13(8):6-11.
370. Suneel B. Mineral Status in Thyroid Disorder (Hypo & Hyper). *Int. J. Appl. Biol.* 2011;2:423-429.
371. Schwarz C, Leichtle AB, Arampatzis S, et al. Thyroid function and serum electrolytes: Does an association really exist? *Swiss Med Wkly*. 2012;142:1-7.
372. Zahra N, Ali A, Kousar S, Malik A, Zaheer A, Malik IR. Study on significant changes in calcium, phosphorus and thyroid hormones level in hypothyroidism patients. *Adv. Life Sci.* 2020;8(1):85-88.
373. Susanna TY, Sagayaraj A, Shashidhar KN, Gomathi M, Mahesh V. A correlative study of thyroid profile and mineral status in patients with hypothyroidism - A hospital-based case control study. *Asian J. Pharm. Clin. Res.* 2016;9(3):292-294.
374. Bharti A, Shrestha S, Rai R. Assessment of serum minerals and electrolytes in thyroid patients. *Int. J. Adv. Sci. Res.* 2015;1:259-263.
375. Shivaleela M, Poornima R, Jayaprakash Murthy D. Serum Calcium and Phosphorous Levels in Thyroid Dysfunction. *Indian J. Fundam. Appl. Life Sci.* 2012;2(2):179-183.
376. Mosekilde L, Melsen F, Bagger JP, Myhre-Jensen O, Schwartz Sorensen N. Bone changes in hyperthyroidism: interrelationships between bone morphometry. Thyroid function and calcium phosphorus metabolism. *Acta Endocrinol.* 1977;85(3):515-525.
377. Gammage MD, Logan SD. Effects of thyroid dysfunction on serum calcium in the rat. *Clin. Sci.* 1986;73(3):271-276.
378. Adams PH, Jowsey J, Kelly PJ, Riggs BL, Kinney VR, Jones JD. Effects of hyperthyroidism on bone and mineral metabolism in man. *QJM.* 1967;36(1):1-15.
379. Yamashita H, Yamazaki Y, Hasegawa H, et al. Fibroblast growth factor-23 in patients with graves' disease before and after antithyroid therapy: Its important role in serum phosphate regulation. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2005;90(7):4211-4215.
380. Pantazi H, Papapetrou PD. Changes in parameters of bone and mineral metabolism during therapy for hyperthyroidism. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2000;85(3):1099-1106.
381. Auwerx J, Bouillon R. Mineral and bone metabolism in thyroid disease: a review. *QJM.* 1986;60:737-752.
382. Castro H, Genuth M. Comparative Response in Hyperthyroidism. *Metabolism.* 1975;24(7):839-848.

383. Güemes M, Corredor Andrés B, Muñoz Calvo MT. Patología tiroidea en la infancia y la adolescencia. *Pediatrics Integral*. 2020;24(5):248-257.
384. Sanz M, Rodríguez A. Patología tiroidea en el niño y en el adolescente. *Pediatrics Integral*. 2015;19:467-476.
385. Inzucchi S, Robbins R. Effects of Growth Hormone on Human Bone Biology. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 1994;79:691-694.
386. Saggese G, Baroncelli GI, Bertelloni S, Cinquanta L, Di Nero G. Effects of long-term treatment with growth hormone on bone and mineral metabolism in children with growth hormone deficiency. *J. Pediatr.* 1993;122(1):37-45.

8. Anexos



Article

Mild Hypophosphatemia-Associated Conditions in Children: The Need for a Comprehensive Approach

Pablo Docio ¹, Sandra Llorente-Pelayo ¹, María Teresa García-Unzueta ², Bernardo A. Lavin-Gómez ², Nuria Puente ³, Fátima Mateos ⁴, Leyre Riancho-Zarrabeitia ⁵, Domingo Gonzalez-Lamuño ^{1,†} and José A. Riancho ^{3,*,†}

¹ Servicio de Pediatría, Hospital U M Valdecilla, Instituto de Investigación Marqués de Valdecilla (IDIVAL), Universidad de Cantabria, 39011 Santander, Spain

² Servicio de Análisis Clínicos, Hospital U M Valdecilla, Universidad de Cantabria, IDIVAL, 39011 Santander, Spain

³ Servicio de Medicina Interna, Hospital U M Valdecilla, Universidad de Cantabria, IDIVAL, 39011 Santander, Spain

⁴ Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Sierrallana, 39300 Torrelavega, Spain

⁵ Servicio de Reumatología, Hospital Sierrallana, IDIVAL, 39300 Torrelavega, Spain

* Correspondence: rianchoj@unican.es

† These authors contributed equally to this work.

Abstract: To better understand the causes of hypophosphatemia in children, we evaluated all serum phosphate tests performed in a tertiary hospital with unexpected but persistent temporary or isolated hypophosphatemia over an 18 year period. We collected 29,279 phosphate tests from 21,398 patients, of which 268 (1.2%) had at least one result showing hypophosphatemia. We found that endocrinopathies (n = 60), tumors (n = 10), and vitamin D deficiency (n = 3) were the medical conditions most commonly associated with mild hypophosphatemia, but in many patients the cause was unclear. Among patients with endocrinopathies, those with diabetes mellitus were found to have lower mean serum phosphate levels (mean 3.4 mg/dL) than those with short stature (3.7 mg/dL) or thyroid disorders (3.7 mg/dL). In addition, we found a correlation between glycemia and phosphatemia in patients with diabetes. However, despite the potential relevance of monitoring phosphate homeostasis and the underlying etiologic mechanisms, renal phosphate losses were estimated in less than 5% of patients with hypophosphatemia. In the pediatric age group, malignancies, hypovitaminosis D, and endocrine disorders, mostly diabetes, were the most common causes of hypophosphatemia. This real-world study also shows that hypophosphatemia is frequently neglected and inadequately evaluated by pediatricians, which emphasizes the need for more education and awareness about this condition to prevent its potentially deleterious consequences.

Keywords: hypophosphatemia; diabetes mellitus; thyroid disorders; short stature; GH deficiency



Citation: Docio, P.; Llorente-Pelayo, S.; García-Unzueta, M.T.; Lavin-Gómez, B.A.; Puente, N.; Mateos, F.; Riancho-Zarrabeitia, L.; Gonzalez-Lamuño, D.; Riancho, J.A. Mild Hypophosphatemia-Associated Conditions in Children: The Need for a Comprehensive Approach. *Int. J. Mol. Sci.* **2023**, *24*, 687. <https://doi.org/10.3390/ijms24010687>

Academic Editor: J. Kelly Smith

Received: 4 December 2022

Revised: 23 December 2022

Accepted: 27 December 2022

Published: 30 December 2022



Copyright: © 2022 by the authors. Licensee MDPI, Basel, Switzerland. This article is an open access article distributed under the terms and conditions of the Creative Commons Attribution (CC BY) license (<https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>).

1. Introduction

Hypophosphatemia is a poorly recognized metabolic condition in clinical practice because serum phosphate is not part of routine biochemical screening in the primary care setting. In addition, phosphate results can be misinterpreted due to age-specific differences [1–3]. Moreover, the short-term effects of hypophosphatemia are usually mild and may go unrecognized, so mild hypophosphatemia is not considered relevant by many clinicians. Changes in serum phosphate levels may be caused by an abnormal glomerular filtration rate and reabsorption by the renal tubules, or by reduced intestinal absorption in relation to changes in intestinal transit time or inhibition of intestinal transport [2,4–8]. Transcellular phosphate shifts also impact serum phosphate levels. Thus, even in some conditions associated with depletion of the total amount of phosphate in the body, serum phosphate levels could be elevated due to the redistribution of phosphate into the intracellular space.

Various endocrine disorders can be associated with persistent hypophosphatemia, which may have several consequences, particularly in the musculoskeletal system, including impaired bone mineralization, growth retardation, muscle weakness, and other manifestations of rickets [9]. That is the case in X-linked hypophosphatemic rickets and other less frequent disorders. If the manifestations of hypophosphatemia are not recognized and treated during childhood or adolescence, they may persist into adulthood, with a chronic and debilitating course that has a negative impact on patients' quality of life [3].

The fact that mild hypophosphatemia frequently goes undetected, although it may have clinical consequences, motivated us to carry out a systematic search for cases of hypophosphatemia in children.

2. Results

The retrospective and prospective arms included 29,279 phosphate results in 21,398 patients (Figure 1), of whom 268 (1.25%) had at least one result showing hypophosphatemia. Of them, thirty-six were not studied further, twenty-nine because of missing clinical and/or biochemical data, and seven because they had died by the time of the study.

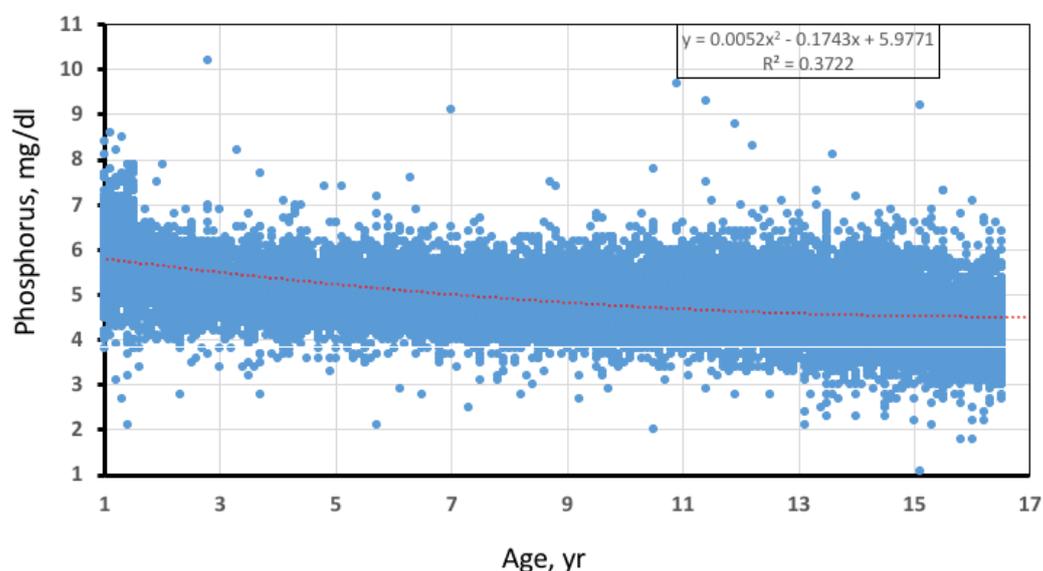


Figure 1. Distribution of serum phosphate results across the pediatric population.

Among the 232 patients with hypophosphatemia included in the study, 107 (46.1%) were males and 125 (53.9%) were females. The mean age of the first analysis showing hypophosphatemia was 5.8 years (6.0 years in the retrospective arm and 5.2 years in the prospective arm). The mean age at which each subject showed the lowest serum phosphorus was 6.8 years, with a median of 8.

Overall, we identified 777 lab results showing hypophosphatemia, with a mean of 3.3 analyses per patient and a median of 2 (interquartile range, IQR, 1–4). In 77 patients (33.2%), serum phosphorus was determined only once, 61 of them in the retrospective analysis and 16 in the prospective arm. In 65.1% of patients with some phosphorus results below the reference range, hypophosphatemia was present in their first phosphate analysis available. Moreover, among patients with phosphorus analyzed twice or more, 44.5% presented hypophosphatemia in at least half of their samples. When assessing the lowest serum phosphate, the mean equivalent in the cohort was 3.6 mg/dL, with a median of 3.8 mg/dL (IQR 3.5–3.9) and a minimum value of 1.4 mg/dL. Other biochemical tests commonly obtained are shown in Table 1.

Table 1. Biochemical variables in patients with hypophosphatemia.

Parameter	Reference Interval	Number of Patients	Patients with Abnormal Results (%)	Most Extreme Value ^a	Mean	Median (IQR)
Phosphate (mg/dL)	<12 years: 4–6 ≥12 years: 3–5.4	232	100	1.4	3.6	3.8 (3.5–3.9)
Albumin (g/dL)	3.8–5.1	173	17	1.8	4.3	4.4 (4.02–4.7)
Corrected Ca (mg/dL)	8.7–10.4	173	12	7.1	9.2	9.2 (8.83–9.4)
Alkaline phosphatase (U/L)	1–3 years: 104–345 4–6 years: 93–309 7–9 years: 86–315 10–12 years: 42–362 >12 years: 44–147	197	3 ^a	11,325 ^a	328	218 (165–288)
Estimated Glomerular Filtration Rate (mL/min/1.73 m ²)	100–120 ^b	199	4	15	104	105 (95–120)
25-hydroxy-vitamin D (ng/mL)	20–50	36	53	8	20	19 (15–25.5)
Parathyroid hormone (pg/mL)	18–88	15	27 ^a	108 ^a	49	33 (17–35)

^a The lowest value is shown for each variable, except for alkaline phosphatase and PTH, for which the highest value is shown. ^b Modified Schwartz formula: height (cm) × 0.413/serum creatinine.

When we analyzed all serum phosphate levels of each patient as described in the Methods Section, hypophosphatemia was classified as intermittent in one-hundred and twenty children (51.7%), isolated in one-hundred and eight (46.5%), and persistent in four (1.7%).

After reviewing the clinical records, we found that 18 children (7.8%) had an underlying disorder that could be associated with hypophosphatemia (“expected hypophosphatemia”). Two other subjects were considered to present Metabolic Bone Disease of the Prematurity (MBDP). Finally, 212 patients were considered to present unexpected hypophosphatemia. The distribution across the subgroups with different time courses is shown in Figure 2.

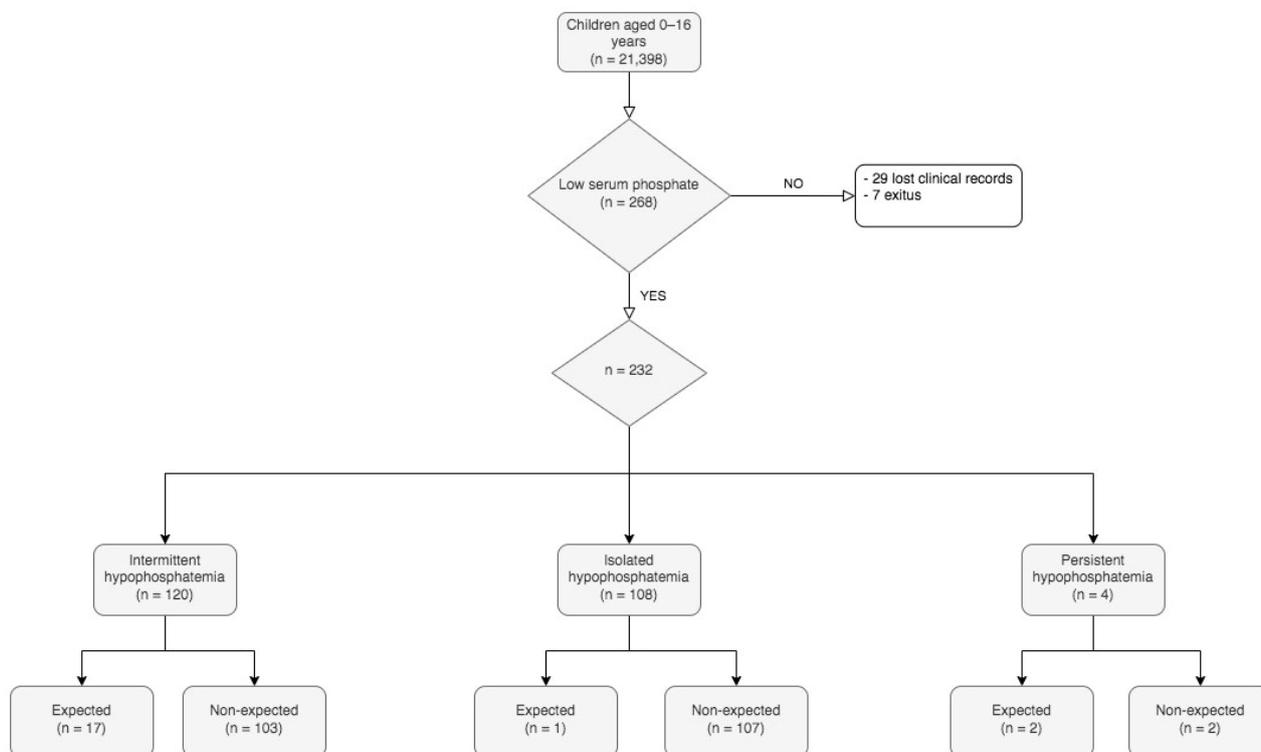


Figure 2. Distribution of cases across subgroups according to the time course and the presence or absence of a hypophosphatemia-causing disorder.

The most frequent underlying conditions in patients with “expected” hypophosphatemia were malignant disease (eight patients, 3.4%), vitamin D deficiency (three patients, 1.3%), drug therapy (anticonvulsants, two patients, 0.9%; bisphosphonates, two patients, 0.9%; corticosteroids, two patients, 0.9%), and refeeding syndrome (one patient, 0.4%).

A significant proportion of patients (25.4%) presented with endocrinopathies. The most common disorders were diabetes mellitus (21 patients, 9.1%), short stature (14 patients, 6%), thyroid disorders (13 patients, 5.6%), and others (precocious puberty: 2.6%; adrenal hyperplasia: 1.7%; and insulin resistance: 0.4%). Although some of them are known to be associated with hypophosphatemia in some circumstances, their role as a major factor causing hypophosphatemia in each patient was unclear. Therefore, we decided to analyze them separately, describing serum phosphate results in the most frequent groups, irrespective of whether they were considered “expected” or “unexpected”. The mean phosphate levels in children with hypophosphatemia associated with thyroid disorders were 3.7 mg/dL, 3.7 mg/dL in those with short stature, and 3.4 mg/dL in those with diabetes (Figure 3). An ANOVA test showed significant differences across the three groups ($p = 0.024$). The pair-wise comparisons showed statistically significant lower phosphate values in patients with diabetes, with differences that were close to the significance limits in the unadjusted test (p -values 0.049 and 0.044 for the comparisons of diabetes-short stature and diabetes-thyroid disorders, respectively), but nonsignificant after adjusting for multiple comparisons (p -values 0.15 and 0.13, respectively).

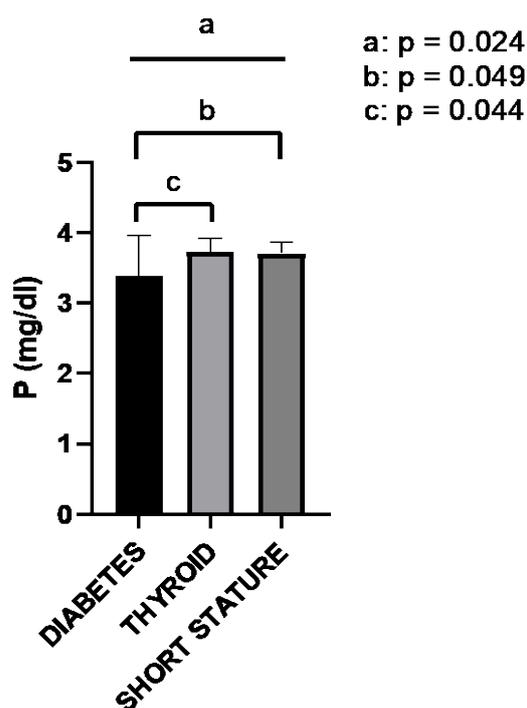


Figure 3. Mean and standard deviation of serum phosphate in children with various endocrine disorders.

In the diabetes mellitus cluster, we identified 21 patients with 112 phosphorus determinations, of which 29 (26%) were below the reference range. The mean phosphorus value was lower in patients with glycemia over 200 mg/dL than in those with glycemia < 200 (3.8 vs. 4.3 mg/dL, respectively, $p = 0.005$), and there was a slight negative correlation between the serum levels of phosphorus and glucose (Pearson correlation coefficient: $r = -0.26$, $p = 0.007$; Figure 4a). Likewise, there was a negative relationship between phosphate and glycosylated hemoglobin (HbA1c; Pearson correlation coefficient: $r = -0.62$, $p = 0.003$) (Figure 4b). When patients were categorized according to their HbA1c levels, mean phosphorus was 4.4 mg/dL in subjects with HbA1c < 9 and 3.0 mg/dL in samples with HbA1c > 9 ($p = 0.0004$).

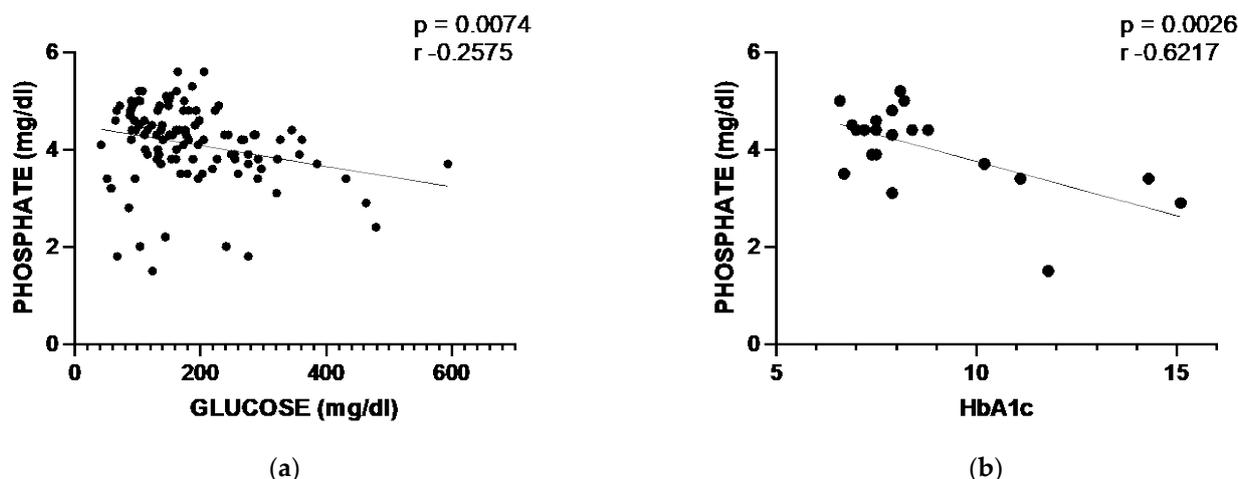


Figure 4. (a) Phosphorus-glucose correlation and (b) phosphorus-HbA1c correlation.

The group of thyroid disorders included one patient with congenital primary hypothyroidism, five with thyroiditis, four with subclinical hypothyroidism, and three with tertiary hypothyroidism. Among them, four patients had other associated endocrinopathies (diabetes in three; short stature in one). Overall, in the group of 13 patients with thyroid disorders and hypophosphatemia, concomitant serum phosphate and thyroid hormones were measured 76 times; in 15 samples (19.7%), serum phosphorus was below the reference range. We did not find a statistically significant correlation between T4 or TSH and phosphorus levels ($p = 0.1$ and $p = 0.579$, respectively).

The cluster of patients with short stature included one subject with GH deficiency secondary to craniopharyngioma and another patient with eosinophilic granulomatosis involving the CNS. Among them, seven out of fourteen (50%) presented with GH deficiency, and six of them received GH therapy. A total of 100 phosphorus determinations were obtained in these 14 patients, and 29 of them (or 29%) were below the reference range. There was no significant correlation between IGF-1 or IGFBP3 and serum phosphate ($p = 0.20$ and 0.85 , respectively). However, it is important to note that in only 61% of the tests, phosphate and IGF-one measured simultaneously, and in only 27% of the cases, phosphate and IGFBP3 were assessed at the same time. When evaluating the group of subjects who were treated with GH, the mean phosphate levels were higher in the post-treatment samples than in the pre-treatment samples (4.7 ± 0.2 vs. 4.1 ± 0.2 , $p = 0.033$).

Finally, we selected 10 patients with moderately to severe hypophosphatemia (<3.2 mg/dL) of unknown cause who were invited to attend the clinic for a more comprehensive clinical and biochemical study. After further studies, we found that serum phosphorus had normalized in seven cases; in two children, we found significant hypovitaminosis D; and in one case, hypophosphatemia persisted due to an unknown cause (a DNA sequence is pending to exclude a genetic cause).

3. Discussion

Phosphate entails approximately 0.6% of the total weight of animals and plants [10]. It is considered the second most abundant mineral in the human body, representing about 0.5% of total infant weight [11] and nearly 1% of total weight in adults [10,12–14]. It is necessary for many different vital processes, such as energy metabolism, the synthesis of DNA and RNA, and the regulation of proteins by phosphorylation [12,13,15–19].

In adults, hypophosphatemia is relatively frequent in daily medical practice [20–23], but, in contrast, there are few studies assessing the leading causes of pediatric hypophosphatemia [1,13]. In our study, we found that mild hypophosphatemia is not so rare in the pediatric age. It is present in at least 1% of the pediatric patients with any medical condition (268 out of 21,398 studied patients, which corresponds to 1.2%). The refer-

ence limits of phosphatemia vary according to the stage of mineralization and growth, and hence with age in children. Therefore, there is no universally accepted definition of chronic hypophosphatemia. It is postulated that the pediatric population needs higher amounts of phosphate due to major requirements for skeletal development and mineralization. However, skeletal development is not linear during infancy and adolescence, and therefore the phosphate demand is not constant either. Thus, several authors have suggested different age-dependent reference ranges of serum phosphate. As an example, Florenzano P. et al. assembled an age-dependent gap, making four different clusters in pediatrics [1]. Koljonen et al. examined serum phosphate concentrations in a large cohort of Finnish children aged 12–24 months and assessed modifying factors that can influence phosphate levels. They concluded that the mean phosphate concentration was 5.9 mg/dL at 12 months in both boys and girls and 4.96 mg/dL when reaching 24 months [13].

For the purpose of this study, we used 4 mg/dL as the lower end of phosphate in patients under 12 years of age and 3 mg/dL in those aged 12–16 years as an adequate cut-off point to consider hypophosphatemia, according to what is promulgated. This is in line with the limits proposed in some reference textbooks [24] and is also consistent with the overall distribution of serum phosphate values found in our study population.

In more than 50% of cases, hypophosphatemia was an intermittent condition; in less than 2% of cases, it was persistent. Unfortunately, in more than 40% of patients with hypophosphatemia, we only have a single analysis of serum phosphate, and therefore the course of the abnormality cannot be determined. In most cases, there was not an underlying condition that would directly explain the hypophosphatemia.

As phosphatemia can be altered by different mechanisms, including inappropriate urinary losses, the diagnostic work-up should include measuring the phosphate urinary excretion. Surprisingly, in our cohort, the renal phosphate losses were assessed in less than 5% of patients with mild but persistent plasma hypophosphatemia. Moreover, in the medical charts, there were no comments about the phosphatemic status. This reflects the fact that in clinical practice, pediatricians often neglect hypophosphatemia and do not adequately study its causes and consequences. This is somewhat disturbing in view of the adverse consequences of hypophosphatemia on the musculoskeletal system and other body organs [1,25–27]. However, this observation is similar to others in large cohorts in which vitamin D status was evaluated. Less than 50% of vitamin D studies were accompanied by calcium studies; less than 2% assessed the phosphate status; and less than 1% included PTH [28].

In our cohort, we identified a significant number of patients with different endocrine disorders associated with mild but intermittent hypophosphatemia. We do not know if this metabolic condition alters the endocrine-metabolic equilibrium and has subsequent clinical relevance or if it just reflects a different whole-body phosphate balance. Hypophosphatemia was particularly frequent in patients with diabetes, and serum phosphorus was inversely correlated with serum glucose and glycosylated hemoglobin. Although we did not have data about urine phosphate, hypophosphatemia is likely related to the phosphaturic effect associated with glycosuria more than the potential intracellular shift due to an excess of insulin. Furthermore, reduced tubular reabsorption of phosphate, as a direct effect of acidosis, likely contributes to low phosphate levels in patients with acutely decompensated diabetes [29,30]. In keeping with this, a negative correlation was found between phosphate plasma levels and values of glycosylated hemoglobin, but this correlation disappeared when HbA1c values at the time of the diagnosis of diabetes were excluded from the analysis. This also suggests that phosphatemia correlates more with short-term serum glucose than with the long-term control of diabetes.

Diabetic patients frequently present other electrolyte disorders, mainly hypo- and hypernatremia, hypopotassemia, and hypomagnesemia. These disturbances are more frequent in decompensated patients, especially in the context of diabetic ketoacidosis [31]. Despite an underlying phosphate depletion, phosphate serum levels can be normal or even high in patients at diagnosis [32] because insulin deficiency and metabolic acidosis tend to move phosphate outside the cell. The administration of insulin induces the intracellular

shift of glucose and phosphorus into the skeletal muscle and liver cells, leading to hypophosphatemia, especially if there is an underlying situation of phosphate depletion [2,31]. Thus, various studies in adult diabetics with ketoacidosis show an insulin-associated decrease in phosphatemia in up to 74–90% of cases, especially between 8 and 16 h after insulin administration [29,32,33]. In our study, serum phosphate was only measured in two patients during insulin therapy, and therefore the effects of insulin in the pediatric population could not be assessed.

Apart from phosphate redistribution and urinary losses, low intestinal absorption may also contribute to phosphate depletion in diabetes. In poorly controlled patients, anorexia and malnutrition can be frequent [34], as dietary quality is poor nowadays [35]. Moreover, phosphorus absorption may be impaired by vitamin D deficiency. This is very frequent in patients with diabetes, with a prevalence between 15 and 65% at the end of winter, depending on latitude [36–38]. In Spain, there is a lack of specific studies in type 1 pediatric diabetic patients, but in the general pediatric population, deficient vitamin D levels (<20 ng/mL) range from 24 up to 73% in the north of the country [39–41]. In our study, only 15% of patients had their vitamin D measured, so we cannot draw any conclusions in this regard.

Since phosphorus homeostasis in the pediatric diabetic patient is a marker for metabolic control of the disease, we recommend clinicians pay more attention to and study phosphorus metabolism more rigorously in patients with diabetes, with serial analyses of serum and urinary phosphate levels. By knowing the mechanisms underlying phosphorus deficiency, we can take specific measures, in some cases with dietary changes and phosphorus supplements, in others with vitamin D, and in some other cases by optimizing insulin treatment. Moreover, we must not forget the importance of phosphorus in multiple metabolic processes, including glycolysis which uses phosphate to synthesize ATP [42].

Likewise, in children with growth retardation on growth hormone (GH) replacement therapy, plasma and urine phosphate values could also be useful biomarkers. On one hand, chronic hypophosphatemia is associated with growth retardation; on the other hand, exogenous GH has enteral and renal effects that notably influence calcium/phosphate homeostasis [7,9,43,44]. The changes in serum phosphate with GH therapy observed in this study are in line with that concept.

The major strength of our study is that we reviewed serum phosphate in a large number of pediatric patients with a variety of conditions. However, it also has important limitations related to its largely observational and retrospective design. Consequently, the clinical and biochemical options available were limited in many cases, including repeated phosphate analyses that would help to determine the time course of serum levels and the scarcity of urinary analyses that would help to clarify the causes of hypophosphatemia.

4. Patients and Methods

4.1. Study Design

The study center was the Hospital Universitario Marqués de Valdecilla. This is a tertiary care center in Cantabria, a region in Northern Spain with a population of 550,000. The hospital serves as the primary hospital for a population of about 320,000 and as the reference center for the rest of the region, which is also served by two community hospitals. The target population, those between 1 and 16 years of age, comprised roughly 82,000 individuals. The study included a retrospective and a prospective arm. In the retrospective arm, we performed a computerized search of the laboratory database between October 2002 and January 2021. We looked for patients with at least one determination of serum phosphorus.

The prospective arm was carried out between January 2020 and March 2021. Within that time period, a phosphorus test was added to all lab requests from patients who met the above inclusion criteria. At this stage, all lab requests in the region of Cantabria were included. Thus, in addition to the Hospital Marqués de Valdecilla, the community hospitals in Sierrallana and Laredo also participated in the study. This was done by implementing an algorithm within the common system for ordering lab tests.

Patients with hypophosphatemia, defined by serum phosphorus < 4 mg/dL in children aged 1–11 years and <3 mg/dL in those over 11 years (24), were reviewed and identified from both retrospective and prospective arms and their clinical records. Patients with persistent hypophosphatemia were invited to attend our outpatient clinic for clinical evaluation and additional biochemical or genetic tests.

4.2. Laboratory Procedures

Serum samples were obtained in the morning after an overnight fast. Serum metabolic variables including creatinine, estimated glomerular filtration rate (2009 Schwartz-IDMS) (eGFR), total calcium, phosphorus, alkaline phosphatase, albumin, and intact parathyroid hormone (PTH) were analyzed using an Atellica CH&IM platform (Siemens Healthcare Diagnostics, Malvern, PA, USA); 25-hydroxycholecalciferol levels were measured using an automated competitive chemiluminescence assay (Liaison XL, DiaSorin Inc., Stillwater, MN, USA).

4.3. Data Analysis

All pediatric patients with low serum phosphate were identified at least once. For the purposes of this study, we classified them into the following groups: (a) “persistent hypophosphatemia”, when phosphate levels remained < 4 mg/dL (or <3 mg/dL in subjects over 11 years) in at least two different samples separated by two months, with no subsequent normalization documented; (b) “isolated hypophosphatemia”, included patients with a single analysis with low phosphate and no subsequent reassessment; and (c) “intermittent hypophosphatemia”, in the case of patients with both low and normal values of serum phosphate.

Next, in line with established clinical practice, hypophosphatemia was grouped according to its origin as “expected” (EH) in cases where an underlying disease known to cause hypophosphatemia was present; otherwise, it was considered “unexpected” (UH). Furthermore, the EH group was divided according to the potential pathophysiological mechanisms involved: decreased intestinal absorption, phosphate redistribution, or increased urinary losses.

Data with a normal distribution were expressed as the mean SD; data with a non-normal distribution were expressed as the median IQR. When comparing different groups, the lowest serum phosphate level was used. A correlation and a linear regression model were used for the relationship analysis of the variables. An analysis of variance (ANOVA) test was used for group comparisons, followed by a t-test and Bonferroni adjustment for multiple comparisons. A value of $p < 0.05$ was considered to indicate statistical significance.

4.4. Ethical Aspects

The study was approved by the IRB (Comité de Ética de Investigación con Medicamentos de Cantabria, reference 2019.294). Written informed consent was obtained from the parents or legal guardians of patients evaluated at the outpatient clinic.

5. Conclusions

In the pediatric age group, malignancies, hypovitaminosis D, and endocrine disorders, mostly diabetes, were the most common causes of hypophosphatemia. This real-world study also shows that hypophosphatemia is frequently neglected and inadequately evaluated by pediatricians, which emphasizes the need for more education and awareness about this condition to prevent its potentially deleterious consequences.

Author Contributions: Conceptualization, P.D., S.L.-P., J.A.R., N.P., L.R.-Z. and D.G.-L.; clinical data curation, P.D. and S.L.-P.; biochemical data acquisition and interpretation, P.D., M.T.G.-U., F.M., B.A.L.-G., S.L.-P. and J.A.R.; writing—original draft preparation, P.D., J.A.R. and D.G.-L.; writing—review and editing, all. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

Funding: Supported by an investigator-initiated study (MD0075) funded by Kyowa-Kirin to J.A.R.

Institutional Review Board Statement: The study was conducted in accordance with the Declaration of Helsinki and approved by the IRB (Comité de Investigación con Medicamentos de Cantabria; reference 2019.294).

Informed Consent Statement: Informed consent was obtained from the parents of patients attending the study visit.

Data Availability Statement: Raw data are available from authors upon reasonable request.

Conflicts of Interest: J.A.R., D.G.-L., and N.P. have received research grants, speaking fees, or travel bursaries from Kyowa Kirin.

References

1. Florenzano, P.; Cipriani, C.; Roszko, K.L.; Fukumoto, S.; Collins, M.T.; Minisola, S.; Pepe, J. Approach to patients with hypophosphataemia. *Lancet Diabetes Endocrinol.* **2020**, *8*, 163–174. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
2. Megapanou, E.; Florentin, M.; Milionis, H.; Elisaf, M.; Liamis, G. Drug-Induced Hypophosphatemia: Current Insights. *Drug Saf.* **2020**, *43*, 197–210. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
3. Imel, E.A. Congenital Conditions of Hypophosphatemia in Children. *Calcif Tissue Int.* **2021**, *108*, 74–90. [[CrossRef](#)]
4. Quarles, L.D. FGF23, PHEX, and MEPE regulation of phosphate homeostasis and skeletal mineralization. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.* **2003**, *285*, E1–E9. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
5. Kumar Shah, S.; Irshad, M.; Gupta, N.; Kumar Kabra, S.; Lodha, R. Hypophosphatemia in Critically Ill Children: Risk Factors, Outcome and Mechanism. *Indian J. Pediatr.* **2016**, *83*, 1379–1385. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
6. Ballesteros LF, G.; Ma, N.S.; Gordon, R.J.; Ward, L.; Backeljauw, P.; Wasserman, H.; Weber, D.R.; DiMeglio, L.A.; Gagne, J.; Stein, R.; et al. Unexpected widespread hypophosphatemia and bone disease associated with elemental formula use in infants and children. *Bone* **2017**, *97*, 287–292. [[CrossRef](#)]
7. DeLuca, H.F. The metabolism and functions of vitamin D. *Adv. Exp. Med. Biol.* **1986**, *196*, 361–375.
8. Sabbagh, Y.; Giral, H.; Caldas, Y.; Levi, M.; Schiavi, S.C. Intestinal Phosphate Transport. *Adv. Chronic Kidney Dis.* **2011**, *18*, 85–90. [[CrossRef](#)]
9. Efthymiadou, A.; Kritikou, D.; Mantagos, S.; Chrysis, D. The effect of GH treatment on serum FGF23 and Klotho in GH-deficient children. *Eur. J. Endocrinol.* **2016**, *174*, 473–479. [[CrossRef](#)]
10. Peacock, M. Phosphate Metabolism in Health and Disease. *Calcif. Tissue Int.* **2021**, *108*, 3–15. [[CrossRef](#)]
11. Institute of Medicine, Food and Nutrition Board. *Dietary Reference Intakes for Calcium, Phosphorus, Magnesium, Vitamin D, and Fluoride*; National Academies Press: Washington, DC, USA, 1997. Available online: <https://nap.nationalacademies.org/catalog/5776/dietary-reference-intakes-for-calcium-phosphorus-magnesium-vitamin-d-and-fluoride> (accessed on 3 December 2022).
12. Allgrove, J. Physiology of Calcium, Phosphate, Magnesium and Vitamin D. *Endocr. Dev.* **2015**, *28*, 7–32. [[PubMed](#)]
13. Koljonen, L.; Enlund-Cerullo, M.; Hauta-Alus, H.; Holmlund-Suila, E.; Valkama, S.; Rosendahl, J.; Andersson, S.; Pekkinen, M.; Mäkitie, O. Phosphate Concentrations and Modifying Factors in Healthy Children From 12 to 24 Months of Age. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **2021**, *106*, 2865–2875. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
14. Bansal, R. Phosphate excretion Cp/Ccr vs. PEI. *N. Engl. J. Med.* **1976**, *294*, 559.
15. Penido, M.G.; Alon, U.S. Phosphate homeostasis and its role in bone health. *Pediatr. Nephrol.* **2012**, *27*, 2039–2048. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
16. García Ospina, C.A.; Holguín, M.C.; Cáceres Escobar, D.; Restrepo Valencia, C.A.V. Importance of hyperphosphatemia in chronic kidney disease, how to avoid it and treat it by nutritional measures. *Rev. Colomb. Nefrol.* **2017**, *4*, 38–56.
17. Bhadada, S.K.; Rao, S.D. Role of Phosphate in Biomineralization. *Calcif. Tissue Int.* **2021**, *108*, 32–40. [[CrossRef](#)]
18. Michigami, T.; Kawai, M.; Yamazaki, M.; Ozono, K. Phosphate as a signaling molecule and its sensing mechanism. *Physiol. Rev.* **2018**, *98*, 2317–2348. [[CrossRef](#)]
19. Westheimer, F.H. Nature Chose Phosphates The Role of Phosphates The Importance of Being Ionized. *Science* **1987**, *235*, 1173–1178. [[CrossRef](#)]
20. Pesta, D.H.; Tsigotis, D.N.; Befroy, D.E.; Caballero, D.; Jurczak, M.J.; Rahimi, Y.; Cline, G.W.; Dufour, S.; Birkenfeld, A.L.; Rothman, D.L.; et al. Hypophosphatemia promotes lower rates of muscle ATP synthesis. *FASEB J.* **2016**, *30*, 3378–3387. [[CrossRef](#)]
21. Subramanian, R.; Khardori, R. Severe Hypophosphatemia. Pathophysiologic implications, clinical presentations and treatment. *Medicine* **2000**, *79*, 1–8. [[CrossRef](#)]
22. Brunelli, S.M.; Goldfarb, S. Hypophosphatemia: Clinical consequences and management. *J. Am. Soc. Nephrol.* **2007**, *18*, 1999–2003. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
23. Amanzadeh, J.; Reilly, R.F. Hypophosphatemia: An evidence-based approach to its clinical consequences and management. *Nat. Clin. Pract. Nephrol.* **2006**, *2*, 136–148. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
24. Kliegman, R. *Nelson Textbook of Pediatrics*, 20th ed.; Elsevier: Philadelphia, PA, USA, 2016; pp. 383–387.
25. Tiosano, D.; Hochberg, Z. Hypophosphatemia: The common denominator of all rickets. *J. Bone Miner. Metab.* **2009**, *27*, 392–401. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
26. Michigami, T.; Ozono, K. Roles of phosphate in skeleton. *Front. Endocrinol.* **2019**, *10*, 180. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

27. Rendenbach, C.; Yorgan, T.A.; Heckt, T.; Otto, B.; Baldauf, C.; Jeschke, A.; Streichert, T.; David, J.P.; Amling, M.; Schinke, T. Effects of extracellular phosphate on gene expression in murine osteoblasts. *Calcif. Tissue Int.* **2014**, *94*, 474–483. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
28. Gillis, D.; Hefter, A. Optimal 25-OH-Vitamin D level in children derived from metabolic parameters. *Horm. Res. Paediatr.* **2022**, *95* (Suppl. S2), 453.
29. van der Vaart, A.; Waanders, F.; van Beek, A.P.; Vriesendorp, T.M.; Wolffenbutel, B.H.R.; van Dijk, P.R. Incidence and determinants of hypophosphatemia in diabetic ketoacidosis: An observational study. *BMJ Open Diabetes Res. Care* **2021**, *9*, e002018. [[CrossRef](#)]
30. Levine, B.; Ho, K.; Kraut, J.; Coburn, J.; Kurokawa, K. Effect of metabolic acidosis on phosphate transport by the renal brush-border membrane. *Biochim. Biophys. Acta* **1983**, *727*, 7–12. [[CrossRef](#)]
31. Liamis, G. Diabetes mellitus and electrolyte disorders. *World J. Clin. Cases* **2014**, *2*, 488–496. [[CrossRef](#)]
32. Kebler, R.; McDonald, F.D.; Cadnapaphornchai, P. Dynamic changes in serum phosphorus levels in diabetic ketoacidosis. *Am. J. Med.* **1985**, *79*, 571–576. [[CrossRef](#)]
33. Shen, T.; Braude, S. Changes in Serum phosphate during treatment of diabetic ketoacidosis: Predictive significance of severity of acidosis on presentation. *Intern. Med. J.* **2012**, *42*, 1347–1350. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
34. Şimşek, D.; Okan Bakır, B. Determination of malnutrition status of children with diabetes during diagnosis. *Hum. Nutr. Metab.* **2021**, *24*, 200123. [[CrossRef](#)]
35. Nansel, T.R.; Haynie, D.L.; Lipsky, L.M.; Laffel, L.M.B.; Mehta, S.N. Multiple Indicators of Poor Diet Quality in Children and Adolescents with Type 1 Diabetes Are Associated with Higher Body Mass Index Percentile but not Glycemic Control. *J. Acad. Nutr. Diet.* **2012**, *112*, 1728–1735. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]
36. Svoren, B.M.; Volkering, L.K.; Wood, J.R.; Laffel, L.M.B. Significant Vitamin D Deficiency in Youth with Type 1 Diabetes Mellitus. *J. Pediatr.* **2009**, *154*, 132–134. [[CrossRef](#)]
37. Janner, M.; Flueck, C.E.; Mullis, P.E. High prevalence of vitamin D deficiency in children and adolescents with type 1 diabetes. *Bone* **2009**, *46*, 183–189. [[CrossRef](#)]
38. Read, S.; Grundy, E. *Allostatic Load—A Challenge to Measure Multisystem Physiological Dysregulation*; National Centre for Research Methods: London, UK, 2012.
39. Martínez Redondo, I. Deficiencia De Vitamina D En Niños Aragoneses Sanos. *Nutr. Hosp.* **2018**, *35*, 782–788. [[CrossRef](#)]
40. González-Padilla, E.; López, A.S.; González-Rodríguez, E.; García-Santana, S.; Mirallave-Pescador, A.; Marco, M.D.V.G.; Saavedra, P.; Gómez, J.M.Q.; Henríquez, M.S. Elevada prevalencia de hipovitaminosis D en los estudiantes de medicina de Gran Canaria, Islas Canarias (España). *Endocrinol. Nutr.* **2011**, *58*, 267–273. [[CrossRef](#)]
41. Togo, A.; Espadas Maciá, D.; Blanes Segura, S.; Sivó Díaz, N.; Villalba Martínez, C. Existe déficit de vitamina D en los niños de una ciudad soleada del Mediterráneo? *An. Pediatr. (Engl. Ed.)* **2016**, *84*, 163–169. [[CrossRef](#)]
42. Jacquillet, G.; Unwin, R.J. Physiological regulation of phosphate by vitamin D, parathyroid hormone (PTH) and phosphate (Pi). *Pflügers Arch.* **2019**, *471*, 83–98. [[CrossRef](#)]
43. Lederer, E. Regulation of serum phosphate. *J. Physiol.* **2014**, *592*, 3985–3995. [[CrossRef](#)]
44. Garabedian, M. Regulation of phosphate homeostasis in infants, children, and adolescents, and the role of phosphatonins in this process. *Curr. Opin. Pediatr.* **2007**, *19*, 488–491. [[CrossRef](#)] [[PubMed](#)]

Disclaimer/Publisher’s Note: The statements, opinions and data contained in all publications are solely those of the individual author(s) and contributor(s) and not of MDPI and/or the editor(s). MDPI and/or the editor(s) disclaim responsibility for any injury to people or property resulting from any ideas, methods, instructions or products referred to in the content.



Facultad de Medicina
Departamento de Medicina y Psiquiatría

D. José A. Riancho Moral, Doctor en Medicina y Catedrático del Departamento de Medicina y Psiquiatría de la Universidad de Cantabria, CERTIFICO:

Que D. Pablo Docio Pérez ha realizado, bajo mi dirección, el trabajo titulado:
"Valoración de hipofosfatemia en población pediátrica de Cantabria".

Considero que este trabajo tiene originalidad y calidad científica suficientes para ser presentado como Tesis para obtener el grado de Doctor.

A handwritten signature in blue ink is located in the center of the page. The signature is stylized and appears to be 'J. A. Riancho Moral'. It is written above a horizontal blue line that serves as a separator.

Facultad de Medicina. Universidad de Cantabria.
Avda. Cardenal Herrera Oria s/n, 39011. Santander



Facultad de Medicina
Departamento de Medicina y Psiquiatría

D. Domingo González Lamuño-Leguina, Doctor en Medicina y Profesor Titular de Pediatría en el Departamento de Ciencias Médicas y Quirúrgicas de la Universidad de Cantabria, CERTIFICO:

Que D. Pablo Docio Pérez ha realizado, bajo mi dirección, el trabajo titulado:
"Valoración de hipofosfatemia en población pediátrica de Cantabria".

Considero que este trabajo tiene originalidad y calidad científica suficientes para ser presentado como Tesis para obtener el grado de Doctor.

A handwritten signature in black ink, consisting of a large, stylized initial 'D' followed by a long, sweeping horizontal stroke that extends to the right.

Facultad de Medicina. Universidad de Cantabria.
Avda. Cardenal Herrera Oria s/n, 39011. Santander