



UNIVERSITAT^{DE}
BARCELONA

FGF23 y Vitamina D tras el Trasplante Renal

Xoana Barros Freiría



Aquesta tesi doctoral està subjecta a la llicència **Reconeixement 3.0. Espanya de Creative Commons.**

Esta tesis doctoral está sujeta a la licencia **Reconocimiento 3.0. España de Creative Commons.**

This doctoral thesis is licensed under the **Creative Commons Attribution 3.0. Spain License.**



UNIVERSITAT DE
BARCELONA

FGF23 y Vitamina D tras el Trasplante Renal

Tesis presentada por

Xoana Barros Freiría

Para obtener el título de doctora por la

Universidad de Barcelona

Dirigida por

Josep María Campistol Planas

Programa de doctorado Medicina

Universidad de Barcelona

2016-2017

INTRODUCCIÓN	5
CKD-MBD	6
Definición de CKD-MBD.....	6
Alteraciones presentes en CKD-MBD	6
Tratamiento de las alteraciones del MMO en ERC.....	13
Peculiaridades CKD-MBD en Trasplante Renal.....	15
FGF23.....	22
Qué es FGF23.....	22
Funciones de FGF23	24
Determinación de FGF23	25
FGF23 y ERC	26
FGF23 y Trasplante renal.....	28
VITAMINA D.....	31
Metabolismo y acciones de la vitamina D.....	31
Vitamina D en población general	32
Vitamina D en ERC	34
Vitamina D en Trasplante renal.....	37
HIPÓTESIS DE TRABAJO	39
OBJETIVOS	41
PUBLICACIONES	43
Subproyecto 1	44
Earlier decrease of FGF-23 and Less Hypophosphatemia in Preemptive Kidney Transplant Recipients	44
Subproyecto 2.....	57
Change in bone mineral metabolism parameters, including FGF23, after discontinuing cinacalcet at kidney transplantation	57
Subproyecto 3.....	69
Rapid calcitriol increase and persistent calcidiol insufficiency in the first 6 months after kidney transplantation.....	69
Subproyecto 4.....	80
Comparison of two different vitamin D supplementation regimens with oral calcifediol in kidney transplant patients	80
DISCUSIÓN	92
FGF23 en el Trasplante renal	93

Vitamina D en el Trasplante renal	98
CONCLUSIONES	100
BIBLIOGRAFÍA	102
ADDENDUM	120
Anexo 1: Validación interna de la técnica ELISA de 2ª generación para determinación del fragmento C-terminal de FGF23:.....	121
Anexo 2: Otras Publicaciones	126
Anexo 3: Aprobaciones del Comité de Ética en Investigación Clínica.....	128

ABREVIATURAS

ARVD: Activadores del Receptor de la Vitamina D

CKD-MBD: Chronic Kidney Disease- Mineral Bone Disorders

DMO: Densidad Mineral Ósea

DXA: Dual Xray Absorptiometry (absorciometría dual de rayos X)

EBCT: Electron Beam Computed Tomography (tomografía computerizada por haz de electrones)

ERC: Enfermedad Renal Crónica

FGF23: Fibroblast Growth Factor 23

HPTS: Hiperparatiroidismo Secundario

HPTT: Hiperparatiroidismo Terciario

HR-pQCT : High Resolution peripheral Quantitative Computed Tomography

KDIGO: Kidney Disease Global Outcomes

MMO: Metabolismo Mineral Óseo

MSCT: multislice computed tomography (tomografía computerizada multicorte)

PTH: Hormona Paratiroidea

TR: Trasplante Renal

25OHD: 25-hidroxi-Vitamina D

1,25OHD: 1,25-dihidroxi-Vitamina D

INTRODUCCIÓN

CKD-MBD

Definición de CKD-MBD

El riñón es el responsable de la excreción de calcio y fósforo, es el órgano donde se activa la vitamina D y es diana de hormonas fosfáticas como el Fibroblast Growth Factor 23 (FGF23) y la paratohormona (PTH), ésta última implicada también en la regulación del calcio sérico. La enfermedad renal altera estas funciones, por lo que los pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) estadio 2-3 desarrollan mecanismos compensatorios en forma de elevación de PTH y FGF23 y descenso de calcitriol para mantener los valores de calcio y fósforo dentro o cerca de la normalidad. A medida que progresa la ERC estos mecanismos no son suficientes y dan lugar al desarrollo de alteraciones del metabolismo mineral óseo (MMO) asociadas a la ERC, cuyo término anglosajón es Chronic Kidney Disease Mineral Bone Disorders (CKD-MBD).

La entidad CKD-MBD se refiere a una constelación de alteraciones del MMO que tienen lugar exclusivamente en los pacientes con enfermedad renal y que incluyen alteración de niveles sanguíneos de calcio, fósforo, PTH y vitamina D; alteraciones en la formación y el remodelado óseo que conllevan modificación de la línea de crecimiento (niños) y desarrollo de fracturas (adultos); y calcificación de tejidos blandos y arterias¹.

Las guías elaboradas y publicadas en 2009 para el diagnóstico, evaluación, prevención y tratamiento de las alteraciones del MMO asociado a la ERC fueron llevadas a cabo por un grupo internacional de expertos (Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group) tras una revisión rigurosa de la evidencia científica disponible¹. Debido a la falta de ensayos clínicos aleatorizados, muchas de las recomendaciones de estas guías son débiles y han sido posteriormente comentadas por diferentes grupos^{2,3}.

Las recomendaciones de la Sociedad Española de Nefrología para el manejo de las alteraciones del MMO en los pacientes con ERC fueron publicadas en 2011⁴.

Posteriormente, en el año 2013, un grupo de expertos de la KDIGO se reunió en Madrid para repasar la nueva evidencia científica disponible desde 2009 y así identificar los puntos de la guía que necesitaban ser revisados⁵. Concluyeron que, aunque la mayor parte de las recomendaciones continuaban vigentes, un total de 12 recomendaciones deberían ser reevaluadas.

Alteraciones presentes en CKD-MBD

Alteraciones parámetros sanguíneos relacionados con CKD-MBD:

El fósforo inorgánico es filtrado por el riñón y posteriormente el 70-80% es reabsorbido en el túbulo proximal. A medida que progresa la ERC, el aclaramiento renal de fósforo se ve comprometido y hormonas como el FGF23 y la PTH ayudan a su eliminación inhibiendo su reabsorción renal.

El FGF23 aumenta desde estadios iniciales de ERC en respuesta al aumento de la carga corporal de fósforo para tratar de mantener sus niveles dentro de la normalidad. Para ello aumenta la excreción renal y disminuye la absorción intestinal del fósforo, esto último a través de la disminución de los niveles de calcitriol.

Dado que FGF23 precisa a Klotho como correceptor para ejercer su acción, el hecho de que Klotho disminuya a medida que progresa la ERC da lugar a una resistencia a la acción del FGF23, por lo que su producción ósea aumenta cada vez más para intentar mantener los niveles de fósforo dentro de la normalidad⁶.

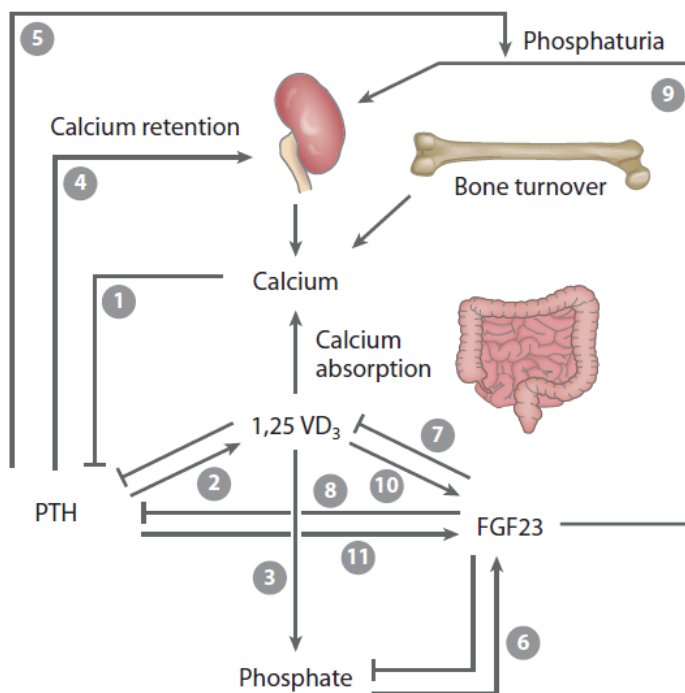
La vitamina D nativa es metabolizada en el riñón por la enzima 1α hidroxilasa para dar lugar a la vitamina D activa o calcitriol. La expresión de la 1α hidroxilasa se ve inhibida por el FGF23 y estimulada por la PTH. El calcitriol aumenta la absorción intestinal de calcio y fósforo, aumenta la reabsorción renal de fósforo, inhibe la producción de PTH y aumenta la de FGF23.

La disminución de calcitriol en la ERC conlleva un aumento de la PTH por acción directa e indirecta a través de la disminución de la absorción intestinal de calcio.

La hipocalcemia, el déficit de calcitriol y la hiperfosforemia estimulan la producción de PTH en la glándula paratiroidea, la cual estimula la producción de calcitriol para que aumente la absorción intestinal de calcio y estimula la resorción ósea para liberar calcio del hueso. Dado que ambas acciones también aumentan los niveles de fósforo, la PTH compensa esta acción disminuyendo la reabsorción renal de fósforo directamente y a través de la estimulación de la producción de FGF23.

Tanto la PTH como el FGF23 aumentan la excreción renal de fósforo y parece que en estados de hipocalcemia predomina la acción de la PTH y en estados de hiperfosforemia e hipercalcemia predomina la acción del FGF23⁷.

El FGF23, cuya producción se ve estimulada por la PTH, intenta inhibir la producción de PTH. Sin embargo, en situación de uremia disminuyen los receptores para FGF23 y vitamina D en la glándula paratiroidea, por lo que la inhibición de la PTH por estas dos hormonas se ve afectada⁸



Cuando los niveles sanguíneos de Calcio son bajos se estimula la secreción de PTH (1), la cual estimula a su vez la síntesis de vitamina D activa (2), que conlleva incremento de la absorción intestinal de calcio y fósforo (3). La PTH también intenta combatir la hipocalcemia estimulando la retención renal de calcio (4) y el recambio óseo para liberar calcio del hueso (5). FGF23 aumenta desde estadios iniciales de ERC cuando la carga de fósforo se ve incrementada sin que necesariamente los valores de fósforo en sangre sean altos (6). Con intención de disminuir la carga de fósforo, FGF23 inhibe la síntesis de vitamina D activa de manera directa (7) e indirecta a través de la inhibición de la PTH-dependiente de Klotho (8) y provoca la eliminación urinaria de fósforo (9). FGF23 es asimismo estimulada por la vitamina D (10) y por PTH (11), cerrando así los ejes con feed back negativo. Figura extraída de Hu et al, Annu.Rev.Physiol 2013

De esta manera, los pacientes con ERC suelen presentar niveles altos de FGF23, hiperparatiroidismo secundario (HPTS) y déficit de calcitriol para intentar mantener los valores de calcemia y fosforemia dentro de la normalidad. A medida que progresa la ERC estos sistemas fallan y los pacientes pueden acabar presentando también hipocalcemia e hiperfosforemia.

Alteraciones en el remodelado óseo:

El término osteodistrofia renal se refiere específicamente a la patología del hueso en los pacientes con ERC y es uno de los componentes de CKD-MBD.

La evaluación de la osteodistrofia renal se lleva a cabo mediante la realización de una biopsia ósea tomando muestra del hueso trabecular de la cresta ilíaca previo doble marcaje con tetraciclina 3 semanas y 3-5 días antes de la biopsia. Las tetraciclinas se unen a la hidroxiapatita y marcan el hueso para su posterior visualización a través de microscopio de fluorescencia, de manera que la cantidad de hueso formada entre las dos marcas de tetraciclina sirve para calcular el remodelado óseo.

Clásicamente la osteodistrofia renal se clasificaba en osteomalacia, hueso adinámico, hiperparatiroidismo moderado, osteítis fibrosa y osteodistrofia urémica mixta. Hoy día se realiza una evaluación teniendo en cuenta el remodelado (turnover), la mineralización y el volumen óseo, de manera que se realiza la clasificación TMV para la valoración histomorfométrica del hueso (T = Turnover; M = Mineralization; V = Volume). Con esta clasificación la osteomalacia entraría en las categorías de bajo remodelado, mineralización anormal y volumen bajo ó medio; el hueso adinámico en bajo remodelado, mineralización normal y volumen bajo; el hiperparatiroidismo moderado y la osteítis fibrosa forman un continuum desde el remodelado medio al alto, mineralización normal y volumen dependiente de la duración de la enfermedad; y la osteodistrofia mixta urémica tiene diferentes definiciones internacionalmente y podría enmarcarse en alto remodelado, mineralización anormal y volumen medio⁷.

Los pacientes con ERC tienen un riesgo de desarrollo de fracturas mayor que la población general⁹ y la incidencia de fracturas aumenta a medida que avanza la enfermedad renal¹⁰. Después del trasplante renal, hasta una cuarta parte de los pacientes trasplantados presentan fracturas dentro de los primeros 5 años tras el trasplante¹¹.

En los últimos 20 años, las estrategias de cribado y prevención disminuyeron las fracturas en la población general. Sin embargo, en el mismo periodo la proporción de fracturas se ha duplicado en la población con ERC¹².

Por tanto es evidente que se debe realizar cribado en la población con ERC, de la misma manera que existe en la población general, para disminuir el desarrollo de fracturas. La controversia está en qué método de cribado utilizar.

La absorciometría de rayos X dual (DXA) es, actualmente, el método estándar para determinar la densidad mineral ósea (DMO). Se determina habitualmente en cuello femoral, columna vertebral y radio distal, evitando el brazo de fístula arterio-venosa funcionante³. La DXA es un método simple, rápido y no invasivo que utiliza una dosis muy pequeña de radiación y predice el riesgo de fractura en la población general. Sin embargo, nos proporciona información acerca de la cantidad pero no acerca de la calidad del hueso y no distingue entre los diferentes tipos de osteodistrofia renal. La calidad del hueso incluiría el remodelado, la microarquitectura y la mineralización, información que obtenemos con la biopsia ósea.

La biopsia ósea presenta un riesgo bajo, sin embargo es muy común el disconfort y dolor en la zona de la biopsia por lo que, se reserva para determinados casos. Las guías KDIGO sugieren realizar biopsia ósea en los pacientes con ERC E 3-5D en algunos escenarios como son el desarrollo de fracturas sin causa filiada, dolor óseo persistente, hipercalcemia y/o hipofosforemia sin causa filiada, sospecha de intoxicación por aluminio y previamente al inicio de tratamiento con bifosfonatos⁴.

A pesar de ser el gold estándar, la realización de biopsias óseas es inusual en muchas partes del mundo debido a que, además de ser una técnica invasiva, el beneficio de la misma pasa por tener un buen soporte a la hora de interpretar el resultado por parte un histopatólogo o nefrólogo debidamente entrenado². Además, actualmente no existen ensayos clínicos aleatorizados que nos den información acerca de qué estrategia terapéutica llevar a cabo una vez conocido el resultado de la biopsia más allá de evitar los bifosfonatos si existiese bajo remodelado.

La tomografía computerizada cuantitativa periférica de alta resolución (high resolution peripheral quantitative computed tomography: HR-pQCT) proporciona información acerca de masa ósea, geometría y microarquitectura trabecular y cortical, aunque no da información acerca de remodelado o mineralización. Estudios transversales han mostrado que la HR-pQCT en radio distal y tibia da información acerca del status de fractura en pacientes con ERC¹⁴ y precisamos de estudios prospectivos que nos informen de si la HR-pQCT podría predecir el riesgo de fractura o si podría aumentar la predicción combinada con la DXA¹⁵.

Las guías KDIGO del 2009 no recomiendan la realización de DXA de manera rutinaria en los pacientes con ERC E 3-5D debido que la evidencia disponible en el momento de su elaboración en cuanto a predicción de fractura en la población con ERC era débil y estaba basada principalmente en estudios de corte transversal¹.

Desde la publicación de las guías han surgido metaanálisis¹⁶ y nuevos estudios de carácter prospectivo, demostrando que una menor densidad mineral ósea medida por DXA se asocia a un mayor riesgo de fractura en la población con ERC prediálisis¹⁷, en diálisis¹⁸ y trasplantados renales¹⁹, por lo que se ha propuesto que esta recomendación sea revisada⁵.

Biomarcadores como la PTH y la fosfatasa alcalina ósea ayudan a realizar una evaluación indirecta no invasiva del estado óseo y por ello las guías recomiendan su medición rutinaria, dado pueden ser útiles dando información sobre remodelado óseo especialmente cuando sus valores son muy anormales. Otros marcadores de la síntesis y degradación del colágeno no aportan información clínica adicional a la aportada por la PTH y la fosfatasa alcalina ósea por lo que no se recomienda su medición rutinaria, aunque las guías animan a su uso en investigación¹⁻³

Las estrategias terapéuticas para la prevención de fracturas en pacientes con ERC E 1-3 que no presenten hiperfosforemia o hiperparatiroidismo incluyen bifosfonatos¹. Existe evidencia cada vez mayor de que también se podrían incluir nuevas terapias aprobadas ya para la población general con osteoporosis, como son el denosumab²⁰ o el teriparatide²¹, por lo que se ha propuesto la revisión de esta recomendación⁵.

Calcificación de tejidos blandos:

La calcificación extraósea es muy prevalente en la población con ERC, siendo la calcificación vascular la más temida por estar relacionada con morbilidad cardiovascular y mortalidad²².

Los pacientes con ERC presentan calcificación vascular en mayor medida que la población general²³, con prevalencias descritas del 47-80% en pacientes con ERC y de >80% en los pacientes en diálisis²⁴.

La edad y el tiempo en diálisis son factores relacionados y se ha propuesto que también los niveles de fósforo y el uso de quelantes del fósforo cálcicos se podrían relacionar con el grado de calcificación vascular^{24,25}.

La calcificación vascular presente en los pacientes con ERC puede afectar a la capa íntima, la capa media arterial o ambas. La capa íntima arterial está formada por células endoteliales y la calcificación a este nivel se asocia con dislipemia, inflamación y aterosclerosis, pudiendo dar lugar a ruptura de la placa de ateroma y oclusión arterial aguda. La capa media arterial está formada por células del músculo liso vascular y la calcificación a este nivel suele ser secundaria a diabetes mellitus o ERC. Clásicamente conocida como arteriosclerosis de Monckeberg, la calcificación de la capa media es la más específica de la ERC²⁶.

Inicialmente se pensaba que la calcificación vascular asociada a la ERC era un proceso pasivo en el que la alteración de la homeostasis del calcio y fósforo daba lugar a la precipitación y depósito de los mismos en la pared vascular. Actualmente sabemos que, aunque las alteraciones del calcio y fósforo juegan un papel importante en la calcificación vascular, se trata en realidad de un complejo proceso activo en el que las células del músculo liso vascular presentan un cambio fenotípico a células de estirpe osteogénica. De esta manera, pierden sus propiedades contráctiles para pasar a producir una matriz colágena sobre la que se incorporan calcio y fósforo que mineralizan en cristales de hidroxapatita. Este proceso tiene lugar en un ambiente en el que predominan factores favorecedores (alteraciones en la homeostasis de calcio y fósforo, toxinas urémicas, inflamación, estrés oxidativo) sobre factores inhibidores de la calcificación (fetuina A, matrix GLA protein, osteopontina entre otros)^{26,27}.

La técnica disponible para cuantificar la calcificación vascular de manera más sensible es la tomografía computerizada multicorte (multislice computed tomography, MSCT) o por haz de electrones (electron beam computed tomography, EBCT). La cuantificación de la calcificación coronaria con estas técnicas mediante el índice de Agatston²⁸ se ha relacionado con eventos cardiovasculares y mortalidad en la población general y en la población con ERC^{22,29}.

Otras técnicas como la ecocardiografía pueden cuantificar la calcificación valvular y las radiografías simples ofrecen información semicuantitativa del grado de calcificación en arterias de mayor calibre. El índice de Kauppila mide la calcificación de la aorta abdominal³⁰ y el índice de Adragao mide calcificación en pelvis y manos.³¹

Dado el elevado coste que supone la realización de tomografías y la buena correlación objetivada entre las radiografías laterales de aorta abdominal y la EBCT, las guías sugieren la realización de radiografías laterales de abdomen y un ecocardiograma a pacientes con ERC E 3-5D para detectar calcificación vascular y valvular como alternativa a la tomografía, si bien no recomiendan su realización de forma rutinaria¹³

Los pacientes con calcificación vascular/valvular moderada o severa serían considerados pacientes de alto riesgo, si bien no existe evidencia en cuanto a qué estrategias terapéuticas utilizar en estos pacientes más allá de la sugerencia de reducción de los quelantes del fósforo cálcicos o control de otros factores de riesgo cardiovascular¹³.

En cuanto al trasplante renal, los estudios publicados hasta el momento no acaban de concluir si la calcificación vascular progresa más lentamente en los pacientes trasplantados renales comparados con los pacientes en diálisis^{32,33}.

Dado que falta evidencia acerca de cómo una modificación de tratamiento tendría un impacto favorable en los pacientes identificados con calcificación vascular, algunos grupos no recomiendan realizar cribaje de calcificación vascular en pacientes con ERC³⁴ mientras que otros recomiendan realizarlo para al menos tomar medidas que reduzcan su riesgo cardiovascular²² o para reducir o retirar quelantes del fósforo cálcicos².

Se ha observado que casi la totalidad de los pacientes incidentes en diálisis que no presentan calcificación vascular en el momento basal continúan sin desarrollar aparición o progresión de la calcificación vascular a lo largo de 18 meses de seguimiento y que la progresión de la calcificación vascular depende sobre todo de la calcificación presente en el momento basal^{25,33}. Un hecho destacable es que en las distintas series con seguimiento prospectivo de pacientes con ERC, existe siempre un 20-50% de pacientes que no presentan calcificación en el momento basal ni durante el seguimiento^{25,33}. La razón por la cual estos pacientes no desarrollan calcificación arterial es desconocida.

Estas observaciones nos plantean la necesidad de identificar cuáles son los factores que llevan al desarrollo inicial de la calcificación vascular para actuar de manera precoz sobre ellos antes de que la calcificación vascular se establezca ya que, una vez establecida, no disponemos actualmente de estrategias terapéuticas para frenar su progresión.

Cada vez existe mayor información y conocimiento de los factores implicados en la calcificación vascular, lo cual abre las posibilidades de nuevas terapias. Las vitaminas D y K parecen jugar algún papel en la regulación de la calcificación y drogas como el tiosulfato sódico, los bifosfonatos y los calcimiméticos podrían tener efectos beneficiosos sobre la calcificación extraósea³⁵.

Otro paradigma de la calcificación extraesquelética es la arteriopatía urémica calcificante (CUA) o calcifilaxis. La CUA es un trastorno vascular poco frecuente pero potencialmente mortal que afecta casi exclusivamente a los pacientes con ERC con una incidencia del 1% anual y la prevalencia en hasta un 4%. Se caracteriza por la progresiva calcificación de los vasos pequeños y el desarrollo de necrosis isquémica de los tejidos blandos y la piel, siendo una afección muy incapacitante y de alta letalidad con una tasa de mortalidad del 60-80%. Los factores de riesgo son la hiperfosfatemia, obesidad, género femenino, largo tiempo en diálisis, uso de anticoagulantes orales inhibidores de la vitamina K e hipoalbuminemia. Los tratamientos potenciales son el control de los factores precipitantes, la paratiroidectomía, el cese de los quelantes del fósforo cálcicos, optimización de la pauta de diálisis, terapia con cámara hiperbárica, tiosulfato sódico, calcimiméticos y bisfosfonatos³⁶. Dada la baja prevalencia de esta entidad, no existen ensayos clínicos aleatorizados para ninguno de los tratamientos propuestos. Es necesaria la organización común entre distintos centros y países para el manejo de la CUA de cara a mejorar nuestro conocimiento de la entidad y de su manejo, para lo cual ya se están llevando a cabo distintas iniciativas^{37,38}.

Tratamiento de las alteraciones del MMO en ERC

El tratamiento de las alteraciones del MMO asociadas a la ERC va dirigido sobre todo a la corrección de la hiperfosforemia y del HPTS.

Para el control de la hiperfosfatemia se recomienda dieta baja en fósforo junto con tratamiento con quelantes del fósforo¹. Aunque la hiperfosfatemia estimula la secreción de PTH³⁹, la corrección de la misma no suele ser suficiente para el control del HPTS.

Los ARVD reducen los valores de PTH en ERC en mayor medida que la vitamina D nutricional⁴⁰ y son el tratamiento de elección para el control inicial del HPTS¹.

El calcitriol es el primer ARVD sintético que demostró disminuir significativamente los niveles de PTH en pacientes con ERC⁴¹. Sin embargo, la utilidad clínica de los ARVD se ve limitada por el hecho de que aumentan la absorción intestinal de calcio y fósforo, por lo que se deben monitorizar los valores de calcio, sobre todo si se están utilizando concomitantemente quelantes del fósforo cálcicos.

Nuevos activadores selectivos del receptor de la vitamina D, como paricalcitol (19-nor-1,25-dihidroxitamina D₂) o maxacalcitol (22-oxa-1,25-dihidroxitamina D₃) han mostrado menor elevación del calcio sérico.

A medida que progresa la ERC, disminuyen los receptores para la vitamina D en la glándula paratiroidea hiperplásica⁴², lo que provoca una menor sensibilidad de la glándula a la acción inhibitoria de los ARVD. Por tanto, es un tratamiento efectivo en pacientes con HPTS leve-moderado pero pierde efectividad en el HPTS severo.

El cinacalcet es un modulador alostérico del receptor sensible al calcio presente en la membrana de la célula paratiroidea, aprobado para el tratamiento del HPTS en pacientes en diálisis, en el carcinoma de paratiroides y en el hiperparatiroidismo primario.

Varios ensayos clínicos han demostrado que el cinacalcet es efectivo reduciendo los valores de PTH séricos junto con disminución de calcemia y fosfatemia en pacientes con HPTS moderado-severo^{43,44}. La combinación de cinacalcet y ARVD consigue un adecuado control del HPTS junto con unos niveles aceptables de calcio y fosfato séricos⁴⁵.

El cinacalcet es además efectivo en pacientes con hiperplasia severa de glándulas paratiroides⁴⁶ y se ha convertido en una alternativa a la paratiroidectomía⁴⁷. Se ha utilizado también como tratamiento fuera de guía para la hipercalcemia secundaria al hiperparatiroidismo persistente post-trasplante renal^{48,49}.

Sin embargo, en ocasiones el control del HPTS requiere dosis altas de cinacalcet, que no siempre se pueden alcanzar debido a los efectos adversos gastrointestinales (náuseas y vómitos), en cuyo caso la alternativa es la paratiroidectomía.

Peculiaridades CKD-MBD en Trasplante Renal

Trasplante renal

El trasplante renal (TR) conlleva tremendos beneficios para los pacientes con ERC al mejorar su calidad y esperanza de vida^{50,51}.

En España existe una elevada tasa de donaciones de riñones procedentes de donante cadáver comparado con el resto de Europa. Sin embargo, el tiempo medio de espera continúa siendo largo para los receptores y por ello se fomenta cada vez más la donación de riñones procedentes de donantes vivos⁵².

En España, de 2007 a 2013 el número de trasplantes renales se ha incrementado un 15,4% de 48,9 pacientes por millón de población (pmp) a 54,2 pmp siendo el incremento en su mayor parte producido por el aumento de la donación de vivo y de la utilización de órganos procedentes de donantes fallecidos en asistolia⁵². Durante 2013 se realizaron en España 2552 trasplantes renales de los cuales 320 (14,97%) fueron de donante vivo y 200 (7,8%) de donante fallecido por criterios circulatorios y respiratorios (asistolia)⁵².

El TR de donante vivo acorta las listas de espera, tiene un buen pronóstico a largo plazo y permite, en mayor medida que el trasplante de cadáver, la posibilidad de realizar el trasplante previamente a la entrada en diálisis.

El TR anticipado o prediálisis, conocido en la terminología anglosajona como preemptive kidney transplant, ha demostrado disminuir la comorbilidad y mejorar el pronóstico de los receptores a largo plazo^{53,54}.

La realización de un TR anticipado previa entrada en diálisis es una opción cada vez más frecuente. En 2013 en España el 4,2% (238 pacientes) de los pacientes con ERC avanzada recibieron un TR anticipado como primera opción de terapia renal sustitutiva cuando en 2007 este porcentaje fue del 1,7% (96 pacientes). En Cataluña se observa la misma tendencia pasando de un 4,2% en 2007 a un 7,2% en 2013⁵².

Persistencia de alteraciones del MMO tras el TR

Las alteraciones del MMO presentes en los estadios avanzados de ERC no desaparecen sino que preceden a las alteraciones presentes tras el trasplante.

El injerto renal responde de manera distinta que el riñón enfermo a las elevaciones persistentes de FGF23 y PTH provocando en ocasiones alteraciones de novo como son la hipercalcemia y la hipofosforemia.

Existe una enorme heterogeneidad entre receptores debido a las diferentes alteraciones del MMO previas al trasplante, el tratamiento inmunosupresor recibido y la evolución de la función renal, que no siempre se recupera completamente.

Asimismo, también hay que diferenciar entre el post-trasplante renal de los meses inmediatamente posteriores al trasplante, caracterizado por alteraciones bioquímicas severas y disminución de la densidad mineral ósea, y el post- trasplante renal tardío, más influenciado por el filtrado glomerular.

Es importante tener en cuenta que las alteraciones del MMO en el TR tienen lugar en pacientes que presentan daño previo en hueso y tejidos blandos debido a las alteraciones MMO previas al trasplante, que recibirán terapia inmunosupresora a largo plazo que muchas veces incluyen corticoides, que pueden requerir dosis altas de corticoides si presentan episodios de rechazo y cuya función renal podría ir deteriorándose de manera progresiva o abrupta.

Aunque existe controversia, varios estudios indican que las alteraciones del MMO presentes en la ERC o en el TR temprano influyen sobre la evolución del injerto o la mortalidad de los receptores⁵⁵⁻⁵⁸ y que contribuyen al desarrollo de alteraciones óseas post-trasplante⁵⁹.

Estos hallazgos destacan la importancia del inicio de las medidas profilácticas desde el momento del trasplante con el objeto de evitar el desarrollo de patología ósea y sobre el injerto renal.

Es por todo ello que el periodo post-trasplante se debe considerar una época particular en la historia natural de las alteraciones del MMO propias de la ERC y requiere ser investigada.

Alteraciones parámetros sanguíneos relacionados con CKD-MBD en el TR:

Tras el trasplante renal puede desarrollarse hipofosfatemia e hipercalcemia debido en muchas ocasiones a persistencia de la elevación de FGF23 y del hiperparatiroidismo secundario.

Las fluctuaciones en el calcio y fósforo séricos requieren inicialmente monitorización semanal hasta su estabilización^{1,4}

Fósforo: La hipofosfatemia post-trasplante es una entidad conocida y ampliamente estudiada⁶⁰ que puede llegar a ocurrir hasta en un 90% de los casos según las series. Esta complicación, que en ocasiones llega a ser grave alcanzando fosfatemia < 1,5 mg/dL, se había atribuido, tradicionalmente, a la persistencia del HPTS tras el trasplante aunque se ha constatado que la persistencia de valores séricos altos de FGF23 podrían ser los responsables⁶¹⁻⁶³.

Si bien la fosfatemia suele normalizarse en los tres primeros meses post-trasplante, se ha descrito que en hasta un 39% de los casos persiste a los 6 meses posTR⁶⁴.

La hipofosfatemia de las primeras semanas del trasplante se ha asociado a debilidad muscular⁶⁵ y al depósito de complejos fosfato cálcico en el injerto renal⁶⁶, hechos estos independientes de los niveles de PTH, y que podrían conllevar pérdida de masa ósea con un incremento del número de fracturas y de disfunción del injerto renal, respectivamente.

La hiperfosfatemia, más frecuente en pacientes trasplantados de larga evolución, se asocia con mortalidad en pacientes trasplantados renales⁶⁷.

Calcio: La hipercalcemia es un hallazgo frecuente en los pacientes con TR funcionante, con una prevalencia que oscila entre el 5 y el 66 % según las series^{68,69}. Estas diferencias de prevalencia se deben al hecho de considerar distintos valores de corte como diagnósticos de hipercalcemia, el que se considere el valor sérico de calcio iónico o de calcio total, corregido o no por albúmina o el período de tiempo considerado, ya que la prevalencia de la hipercalcemia va disminuyendo a medida que pasa el tiempo desde el TR.

Por lo general, la prevalencia de la hipercalcemia se ha descrito como mucho más elevada durante los tres primeros meses después del TR, descendiendo de forma progresiva hasta el primer año para más adelante permanecer prácticamente estable en torno al 5-10 %^{68,69}.

Los mecanismos fisiopatológicos sugeridos como responsables de la hipercalcemia post-trasplante son una mayor reabsorción tubular de calcio y una mayor resorción ósea mediadas por la acción de la PTH junto con una mayor absorción intestinal de calcio debida a un aumento de calcitriol⁷⁰.

Algunos grupos han observado que la hipercalcemia parece estar en relación con la presencia de microcalcificaciones en el injerto renal, aunque se han obtenido distintos resultados en cuanto a si existe o no influencia sobre el pronóstico del injerto renal^{66,71}.

PTH: Conviene diferenciar entre el hiperparatiroidismo presente en el post-trasplante renal inmediato, denominado también hiperparatiroidismo refractario o terciario (HPTT), del hiperparatiroidismo secundario asociado al deterioro del filtrado glomerular presente en algunos pacientes trasplantados renales.

El HPTT se caracteriza por ir precedido de un HPTS severo pre-trasplante y por provocar hipercalcemia e hipofosforemia en presencia de un injerto renal funcionante. Por el contrario, el HPTS presente en pacientes trasplantados con cierto grado de insuficiencia renal, se suele asociar con hipocalcemia, hiperfosfatemia y déficit de vitamina D.

El HPTT es debido a que la glándula paratiroidea hiperplásica⁷² continúa produciendo PTH de manera autónoma. Durante los primeros 3-6 meses post-trasplante los valores de PTH suelen disminuir rápidamente (>50%) debido a una reducción en la glándula hiperplásica⁷³ seguida de un descenso más gradual atribuido probablemente en una involución glandular más lenta⁶⁸. Sin embargo, se ha descrito persistencia del hiperparatiroidismo en el 30% de los pacientes trasplantados con FG > 30 ml/min un año después del trasplante^{68,69}

Es la severidad del hiperparatiroidismo pre-trasplante la que influye en el desarrollo de HPTT. Esta severidad no sólo viene determinada por los valores de PTH previos al trasplante, sino también por los tratamientos requeridos para su control. La introducción del cinacalcet ha conllevado un mejor control del HPT secundario, con lo que ha disminuido considerablemente el porcentaje de pacientes que llegan al TR con valores séricos elevados de PTH. Los estudios de la era previa a la introducción del cinacalcet mostraban que los valores séricos elevados de PTH eran el predictor más importante de hipercalcemia postrasplante⁷⁴. Tras la introducción del cinacalcet se ha visto observado que el uso de cinacalcet en diálisis y su retirada en el momento del trasplante influyen en los valores de PTH y calcio sérico post-trasplante renal^{75,76}

El hiperparatiroidismo se ha asociado con riesgo de fractura⁷⁷, progresión de calcificación vascular⁷⁸ y nefropatía crónica del injerto⁷⁹. Por ello debe ser tratado requiriendo en ocasiones la reintroducción del tratamiento con cinacalcet o incluso la paratiroidectomía⁷⁰

Vitamina D y FGF23: Tras el trasplante de órganos sólidos suelen existir niveles bajos de 25(OH)vitamina D⁸⁰, por lo que las guías KDIGO recomiendan la monitorización de los niveles de vitamina D tras el trasplante renal y llevar a cabo las mismas estrategias de reposición que las recomendadas en la población general en caso de déficit o insuficiencia¹.

Los valores de 1,25(OH)vitamina D tienden a recuperarse tras el trasplante renal^{69,81} aunque algunos autores describen niveles por debajo de la normalidad en un 64% y 49% de los pacientes a los 3 y 6 meses tras el trasplante, respectivamente⁸². Los valores de 1,25(OH)vitamina D parecen influidos por la PTH, FGF23 y función renal tras el trasplante⁶¹.

FGF23 está elevado en el momento del trasplante y en el post-trasplante renal inmediato hasta alcanzar niveles comparables a la población con el mismo filtrado glomerular al año postrasplante⁶²

Las variaciones de la vitamina D y el FGF23 en la ERC y el trasplante renal y su relevancia clínica son tratadas con mayor profundidad más adelante.

Papel de la medicación inmunosupresora

La terapia inmunosupresora para evitar el rechazo del injerto renal incluye diferentes combinaciones terapéuticas en función del riesgo inmunológico o vascular del injerto y las características del paciente. De esta manera los pacientes pueden recibir corticoides, inhibidores de la calcineurina (ciclosporina o tacrolimus), antiproliferativos (azatioprina o micofenolato) y/o inhibidores de la vía mTOR (sirolimus o everolimus). En ocasiones se asocia también terapia de inducción inicial con inmunoglobulinas o anticuerpos monoclonales.

Los corticoides se asocian con el desarrollo de osteoporosis en receptores renales, habiéndose evidenciado pérdida de hueso trabecular en los primeros 6 meses postrasplante⁸³⁻⁸⁵. Las fracturas ocasionadas por los corticoides ocurren sobre todo en regiones donde predomina el hueso trabecular, como la columna lumbar y el fémur proximal, y pueden ser asintomáticas⁸⁶. No obstante, no se ha podido evidenciar relación entre el uso de corticoides y el desarrollo de fracturas en pacientes trasplantados renales, incluso en estudios de de más de 6 años de seguimiento⁸⁷.

Los corticoides inhiben la formación ósea reduciendo la proliferación e induciendo la apoptosis de los osteoblastos^{88,89} y promoviendo la osteoclastogénesis⁸⁹. Además generan un balance negativo de calcio al reducir su absorción intestinal y aumentar su excreción renal, con lo que empeoran el hiperparatiroidismo de estos pacientes⁹⁰ y favorecen el desarrollo de hipogonadismo hipogonadotrópico, lo cual empeora la pérdida de masa ósea^{91,92}.

Los corticoides pueden provocar también osteonecrosis⁸⁶, que suele tener lugar en la cabeza femoral o humeral y cuyo síntoma principal es el dolor. Aunque la patogenia es desconocida, se han propuesto como mecanismos la apoptosis de osteoblastos y osteoclastos y la diferenciación de células mesenquimales a células adiposas, las cuales ocupan mayor espacio generando un aumento de la presión intraósea que colapsaría los sinusoides medulares⁸⁶.

Los efectos negativos de los glucocorticoides en los pacientes trasplantados renales se relacionan con la dosis acumulada de los mismos⁸⁵. Se ha descrito correlación entre el uso de dosis altas y acumuladas de corticoides y episodios frecuentes de rechazo con reducción de masa ósea en vértebras lumbares⁸⁴.

Aunque no existe evidencia en cuanto a qué dosis acumulada de corticoides es la que da lugar al desarrollo de osteoporosis⁸⁶, la evidencia en cuanto a sus efectos deletéreos sobre el hueso obliga a intentar utilizar terapias inmunosupresoras ahorradoras de corticoides que permitan disminuir o incluso retirar el tratamiento con corticoides.

Los inhibidores de la calcineurina (ciclosporina y tacrolimus) se han relacionado con osteoporosis^{93,94}, sin embargo no se ha podido establecer una asociación con el desarrollo de fracturas⁸⁷.

En modelos animales se ha observado que la ciclosporina estimula la actividad osteoclástica por encima de la osteoblástica provocando pérdida ósea⁹⁵ y el tacrolimus se asocia a alto remodelado óseo⁹⁶. Es difícil evaluar el papel de los inhibidores de la calcineurina en estudios clínicos con pacientes, dado que suelen ir asociados a tratamiento con corticoides.

La evidencia clínica disponible en cuanto al efecto del micofenolato, la azatioprina, los inhibidores de la vía mTOR o las terapias inductoras sobre el hueso es escasa, aunque a priori se presupone un efecto positivo al permitir bajar o retirar el uso de corticoides. En estudio animales el micofenolato, la azatioprina y el sirolimus no afectan al volumen óseo⁸¹.

Relevancia clínica:

Afectación ósea

Los pacientes trasplantados tienen un riesgo 30% mayor de padecer una fractura en los 3 primeros años tras el trasplante que los pacientes en diálisis⁹⁷. Este riesgo es alrededor de un 3.60-3.8 veces mayor que en la población general^{87,97} en los primeros años, para ir reduciéndose hasta el doble que la población general a partir de los 10 años post-trasplante⁸⁷.

Las fracturas son predominantemente a nivel vertebral⁸⁷, probablemente debido a los efectos deletéreos de la medicación inmunosupresora sobre el hueso trabecular, que es el que predomina en las vértebras. Las fracturas se asocian con la edad, el género, diabetes mellitus⁸⁴, trasplante combinado reno-pancreático⁹⁸, pérdida de visión, enfermedad vascular y neuropatía periféricas⁸⁷.

A diferencia de la población con ERC, en la población de pacientes trasplantados renales sí existe correlación entre la densidad mineral ósea medida por DXA y el desarrollo de fracturas⁸¹. Tras el trasplante suele haber un descenso rápido de la DMO en los primeros 6 meses^{83,99} que se enlentece hasta el año¹⁰⁰.

Existe controversia en cuanto a la relación de los valores elevados de PTH con la pérdida de masa ósea y los estudios que encuentran una relación entre ambos muestran que ésta depende del género y de la zona afectada y del tiempo tras el trasplante⁶⁴.

Las guías KDIGO¹ sugieren la realización de densitometría ósea en los 3 primeros meses tras el trasplante renal en aquellos pacientes con $FG > 30 \text{ ml/min/1.73m}^2$ que reciban corticoides o tengan factores de riesgo para osteoporosis, así como considerar el tratamiento con vitamina D, calcitriol/alfacalcidol o bifosfonatos durante el primer año tras el trasplante. En pacientes con $FG < 30 \text{ ml/min/1.73m}^2$ sugieren no realizar densitometría ósea de manera rutinaria, dado que no predice el riesgo de fractura y ni el tipo de enfermedad ósea.

Posteriormente a la realización de las guías, ha surgido nueva evidencia que muestra que la densitometría ósea predice el riesgo de fractura en la población con ERC, por lo que se ha planteado revisar estas recomendaciones⁵

Afectación vascular y mortalidad

La enfermedad cardiovascular continúa siendo la principal causa de muerte de los pacientes tras el trasplante renal¹⁰¹.

La relación descrita en pacientes con ERC entre bajo remodelado óseo y desarrollo de calcificación vascular¹⁰² no se ha descrito hasta el momento en pacientes trasplantados.

En un estudio en que se realizó MSCT en pacientes que habían sido trasplantados hace más de un año, se observó una prevalencia del 81% de calcificación vascular¹⁰³.

El trasplante renal podría frenar la progresión de la calcificación vascular y así lo muestra un estudio realizado en 23 pacientes trasplantados en los que se realizó MSCT en el momento del trasplante y tras 15-20 años, observándose estabilidad de la calcificación vascular³². Sin embargo un estudio longitudinal en 281 pacientes trasplantados prevalentes mostró un aumento de calcificación vascular en un intervalo de 4 años en estos pacientes³³.

Se han descrito casos de calcifilaxis en pacientes trasplantados renales¹⁰⁴

La hiperfosforemia y la elevación de FGF23 se han relacionado con mortalidad y mala evolución del injerto renal⁵⁵.

FGF23

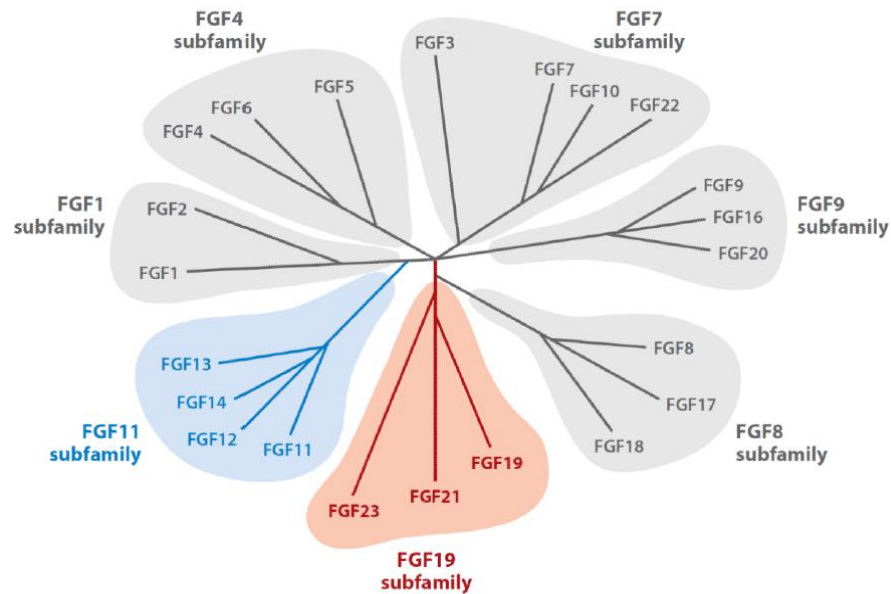
Qué es FGF23

El FGF23 es una hormona formada en el hueso que juega un papel muy importante en la regulación de la homeostasis del fósforo y la vitamina D al promover la excreción urinaria de fósforo y la supresión de la vitamina D activa (1,25-OH-Vitamina D ó calcitriol)⁶.

El FGF23 fue identificada en el año 2000 por Shimada et al. como la hormona responsable de la hipofosfatemia provocada por el tumor inductor de osteomalacia (TIO)¹⁰⁵. Los pacientes con TIO presentan clínica de debilidad muscular, dolor óseo y fracturas espontáneas junto con hipofosfatemia como consecuencia de una eliminación urinaria elevada de fósforo y normalización de la clínica y de los niveles de FGF23 y de la fosfatemia tras la resección del tumor¹⁰⁶. Asimismo en el Raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante¹⁰⁷, en el recesivo y en la Hipofosfatemia ligada a X existen defectos genéticos que de manera directa o indirecta provocan incremento de los niveles de FGF23¹⁰⁸. Por el contrario, en los pacientes con calcinosis tumoral hiperfosfatémica e hiperostosis-hiperfosfatémica por mutaciones del gen GALNT3 existen niveles bajos de FGF23¹⁰⁸.

FGF23 pertenece a la familia de Fibroblast Growth Factors (FGFs), en concreto a la subfamilia 19, la cual se diferencia del resto de subfamilias por su capacidad para ejercer sus efectos de manera endocrina¹⁰⁹.

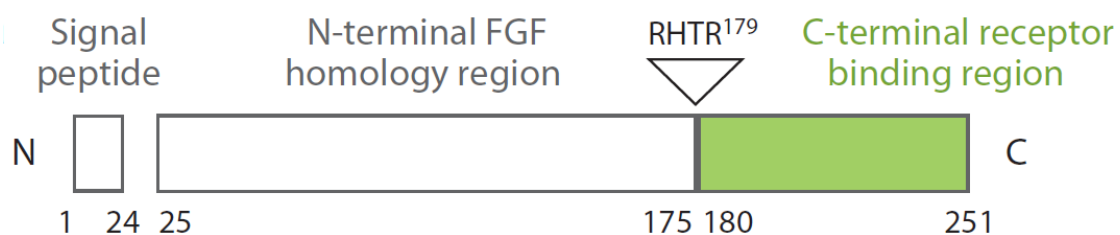
Los Fibroblast Growth Factors (FGFs) son una familia de péptidos que ejercen sus efectos en procesos biológicos relacionados con el desarrollo, la organogénesis y el metabolismo¹¹⁰. En humanos se han identificado 22 FGFs que se dividen en 7 subfamilias¹¹¹. La mayor parte de FGFs ejercen sus efectos de manera autocrina/paracrina al poseer un dominio de unión con el heparan sulfato (HS) presente en la matriz extracelular, el cual aumenta la afinidad de los FGFs por sus receptores (FGFRs). Los FGFs de la subfamilia 19, al carecer del dominio de unión a HS, pueden ser liberados para ejercer su acción en órganos alejados de su lugar de producción.



Árbol filogenético de los Fibroblast Growth Factor humanos. Los FGFs de las subfamilias FGF_{1,4,7,8} y 9 ejercen sus acciones de manera autocrina/paracrina. La subfamilia FGF₁₁ consta de mediadores intracelulares que ejercen sus acciones de manera independiente a los receptores de FGF. La subfamilia 19, que incluye al FGF₂₃, se caracteriza por ejercer sus acciones de manera endocrina y son fundamentalmente reguladores de energía y metabolismo mineral. El FGF₁₉ se llama también FGF_{15/19} (FGF₁₅ es el ortólogo murino del FGF₁₉ humano). Figura extraída de Hu et al, Annu.Rev.Physiol 2013

FGF₂₃ es una glicoproteína de 26 kDa y 251 aminoácidos que consta de un dominio amino-terminal (residuos 1-24), un dominio homólogo a otros FGFs de 155 aminoácidos (residuos 25-179) y un dominio carboxi-terminal (residuos 180-251) exclusivo de FGF₂₃ y que es esencial para la unión con el complejo FGFR-Klotho^{112 113}.

FGF₂₃ puede ser escindida por proteasas dando lugar a los fragmentos inactivos N y C terminal. El fragmento C terminal puede competir en la unión con el FGFR-Klotho con la proteína intacta de FGF₂₃ y actuar así como un inhibidor competitivo de FGF₂₃¹¹³.



Estructura del polipéptido FGF₂₃, que presenta tres dominios. El dominio N terminal es homólogo al presente en otros FGFs, mientras que el dominio C terminal es exclusivo del FGF₂₃ y le permite su unión a su receptor. Figura extraída de Hu et al, Annu.Rev.Physiol 2013

FGF-23 ejerce su efecto uniéndose a su receptor (FGF-23-R), para lo cual depende de su correceptor Klotho, una molécula transmembrana de 130kDa descubierta en 1997¹¹⁴. El hecho de que los ratones knockout para Klotho (Klotho -/-) presenten un fenotipo casi idéntico a los ratones knockout para FGF23 (FGF23 -/-) ha sido el punto de partida que llevó a descubrir a Klotho como obligado correceptor para FGF23^{115 116}. Los ratones Klotho -/- presentan un envejecimiento prematuro caracterizado por el desarrollo de infertilidad, arteriosclerosis, enfisema, osteoporosis y disminución del tiempo de vida¹¹⁴. Los ratones FGF23 -/- presentan un fenotipo similar con retraso del crecimiento, alteración ósea y acortamiento del tiempo de vida¹¹⁷.

La expresión del gen Klotho se ha comprobado en el túbulo renal, en la glándula paratiroidea y en el plexo coroideo confiriendo a FGF-23 selectividad por estos tejidos a pesar de la ubiquidad del FGF-23-R¹¹⁵.

Actualmente se han identificado tres miembros en la familia Klotho, los cuales son proteínas transmembrana de diversas longitudes que se denominan α Klotho (en riñón, plexo coroideo, paratiroides y células β pancreáticas), β Klotho (en hígado, páncreas, piel, tracto gastrointestinal, y músculo esquelético) y γ Klotho (en riñón, piel, cerebro, corazón, arterias, hígado, pulmón, estómago y testículos)¹¹⁸.

Es la forma transmembrana de α Klotho la que forma complejos con FGFR1c, FGFR3c y FGFR4 para unirse a FGF23 con mayor afinidad¹¹⁹.

Hasta ahora no se han identificado formas solubles para β Klotho ni γ Klotho¹¹⁸. Sin embargo, existen formas solubles de α Klotho como resultado de alteraciones en la transcripción o por escisión proteolítica de la forma transmembrana por β secretasas¹²⁰. Se ha identificado forma soluble de α Klotho en plasma a una concentración de 10-50nM, en orina a mayores concentraciones y en líquido cefalorraquídeo en concentraciones aún no conocidas¹²¹⁻¹²³. Actualmente no está claro si la forma soluble de α Klotho podría actuar como correceptor de FGFR.

Funciones de FGF23

FGF23 provoca fosfaturia a través de la supresión de los cotransportadores NaPi 2a y 2c¹²¹ implicados en la reabsorción del fósforo en el túbulo proximal renal¹²⁴.

FGF23 es sintetizada por osteocitos¹²⁵ y osteoblastos¹²⁶. Su síntesis es estimulada por mutaciones en los genes PHEX (P-regulating gene with homology to endopeptidase on the X chromosome)¹²⁷ y DMP-1 (dentin matrix protein-1)^{127 128}. El calcitriol^{126 129}, la PTH^{125 130}, el calcio¹³¹ y los niveles bajos de Klotho¹³² también estimulan la producción de FGF23.

La carga sostenida de fósforo en la dieta estimula la producción de FGF23¹³³, sin embargo la inyección intravenosa de fósforo no eleva FGF23¹³⁴. El mecanismo por el cual los osteocitos/osteoblastos detectan la carga de fósforo todavía es desconocido.

Aproximadamente el 80% del fósforo filtrado por el riñón es reabsorbido en el túbulo proximal. El transporte de fósforo a través de las células epiteliales del túbulo proximal es debido a la existencia de un gradiente extracelular de sodio, el cual se mantiene gracias a la bomba Na-K-ATPasa. En la membrana luminal de las células del epitelio tubular existen cotransportadores de Na y P (NaPi) y la reabsorción de fósforo en el túbulo proximal se lleva a cabo principalmente por el cotransportador Na/Pi 2a, mientras una tercera parte es debido al cotransportador Na/Pi 2c. FGF23 favorece la fosfaturia reduciendo la abundancia de estos cotransportadores en la luz de las células del túbulo proximal.

Aparentemente el FGF-23 provoca fosfaturia de modo similar a la PTH, aunque cabe destacar que en ratones paratiroidectomizados continúa ejerciendo este efecto, por lo que se cree que la PTH no es imprescindible para que FGF-23 provoque fosfaturia¹³⁵.

FGF23 también suprime la síntesis y promueve la degradación de vitamina D activa a través de la inhibición de la expresión del gen Cyp27b1 y estimulando la expresión del gen Cyp24 en las células del túbulo proximal renal¹³⁶. Cyp27b1 codifica la enzima 1-alfa-hidroxilasa que convierte la 25-OH-Vitamina D (25OHD ó calcidiol) en 1,25-OH₂-Vitamina D (1,25OH₂D ó calcitriol) y Cyp24 codifica la enzima 24-hidroxilasa, que convierte al calcitriol en metabolitos inactivos de la vitamina D¹³⁷.

El hecho de que las acciones de FGF23 sobre el riñón tengan lugar en el túbulo proximal, cuando la expresión de Klotho suele ser mayor en el túbulo distal, se podrían explicar por acción directa de FGF23 sobre el túbulo proximal¹²¹ (donde se expresa Klotho aunque en menor cantidad) o por acción de FGF23 sobre el túbulo distal y posterior liberación de factores que actúen de manera paracrina sobre el túbulo proximal¹³⁸. Ambas opciones no son excluyentes entre sí y deben ser todavía investigadas.

FGF23 y PTH se regulan mutuamente existiendo un feed-back negativo, donde PTH estimula la producción de FGF23^{125,130,139} mientras que FGF23 suprime la síntesis de PTH^{8,140}. De esta manera, la glándula paratiroidea es también una de las dianas de acción de FGF23 a través de su interacción con el complejo receptor FGFR1-Klotho y, en ausencia de Klotho, a través de la activación de una vía dependiente de la calcineurina¹⁴¹.

Por otro lado, la evidencia actual sugiere que el impacto de FGF-23 va más allá de su papel en la regulación del metabolismo fosfocálcico habiéndose asociado con la progresión del deterioro de función renal¹⁴² así como con hipertrofia miocárdica (falta citación) y mortalidad en pacientes con ERC en diálisis¹⁴³.

Se ha propuesto a FGF23 como mediador de hipertrofia ventricular y se ha observado que promueve el crecimiento patológico del miocardio a través de mecanismos dependientes de la calcineurina e independiente de Klotho¹⁴⁴.

Determinación de FGF23

En el momento de llevar a cabo nuestro estudio, habían disponibles tres enzima-inmunoanálisis (ELISA) para determinación de FGF23: un ensayo para medir el FGF23 C-terminal (cFGF23) (Immunotopics, San Clemente, CA, EE.UU.) y dos ensayos para medir la molécula intacta (iFGF23), uno de Immunotopics y otro de Kainos (Tokio, Japón). El ensayo de Immunotopics que mide iFGF23 ha mostrado una alta variabilidad inter-ensayo¹⁴⁵, por lo que menos frecuentemente utilizado.

Actualmente han aparecido dos ensayos más que miden la molécula intacta, uno de Millipore (Billerica, MA, USA)¹⁴⁶ y el más reciente de Diasorin (Stillwater, MN, USA), éste último es un ensayo quimiolumiscente totalmente automatizado para la detección cuantitativa de FGF23 en suero y plasma.

Los anticuerpos en el ensayo iFGF23 se dirigen frente las regiones C-terminal y N-terminal del FGF23, por lo que detectan sólo FGF23 intacta. En el ensayo cFGF23 los anticuerpos se dirigen contra la región C-terminal del FGF23, y por lo tanto detectan tanto el FGF intacto como los fragmentos C-terminales.

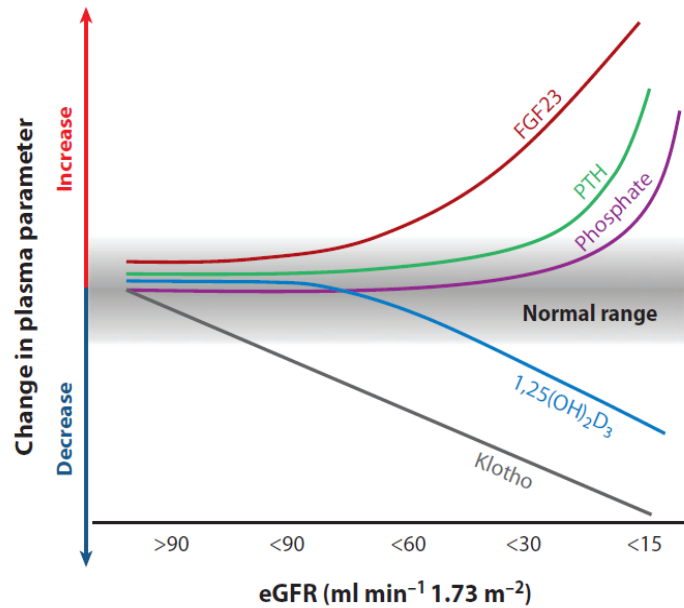
FGF23 está presente en la circulación normal y el rango de referencia de iFGF23 establecido es de 29.7 ± 20 pg/ml a partir de 118 controles sanos pediátricos¹⁴⁷. El rango de normalidad para cFGF23 es $< 120-150$ RU/ml¹⁴⁸ según estudios y 47 ± 24 RU/mL a partir de 20 controles sanos en nuestro centro.

Los diferentes kits de ELISA disponibles para medir la molécula intacta no son equiparables debido principalmente a diferencias en la calibración de los mismos, por lo que la interpretación de resultados se ha de hacer con precaución y siempre teniendo en cuenta el kit utilizado¹⁴⁶.

Hay una buena correlación entre los ensayos cFGF23 y iFGF23^{147,148}, excepto para los niveles de FGF23 de menos de 120 RU/ml por cFGF23¹⁴⁸. El hecho de que las diferencias entre los dos ensayos se encuentren sólo en los niveles más bajos de FGF23 nos hace pensar que ambos ensayos son comparables en la ERC, en diálisis y en pacientes trasplantados cuando los niveles están por encima del rango normal y existen menos fragmentos C-terminales¹⁴⁶.

FGF23 y ERC

FGF23 tiene un papel muy importante en las alteraciones del MMO presentes en la ERC¹⁴⁹⁻¹⁵⁰. Se ha demostrado que el FGF23 aumenta ya desde estadios iniciales de la ERC previamente al desarrollo de hiperfosfatemia y se correlaciona inversamente con el filtrado glomerular^{151,152}.



Klotho desciende desde estadios iniciales de la ERC y disminuye progresivamente a medida que empeora el filtrado glomerular. Los valores bajos de Klotho inducen resistencia a la acción de FGF23, causando un aumento de FGF23 compensatorio para mantener los niveles de fosfato sérico dentro de la normalidad. El aumento de FGF23 además genera descenso de calcitriol y ello estimula la secreción de PTH. La hiperfosfatemia aparece tardíamente en ERC como resultado del agotamiento de todos estos sistemas compensatorios. Figura extraída de Hu et al, Annu.Rev.Physiol 2013

Inicialmente se suponía una reducción del aclaramiento de FGF23 a medida que progresaba la insuficiencia renal, pero esta hipótesis no se ha podido demostrar y parece más bien que el incremento de FGF23 es debido al aumento de su producción ósea para mitigar la resistencia al efecto fosfatúrico de FGF23 a medida que progresa la ERC. De este modo podemos ver cómo el desarrollo de hiperfosfatemia no tiene lugar hasta estadios avanzados de ERC cuando la capacidad fosfatúrica se ve agotada.

La resistencia a la acción fosfatúrica de FGF23 podría ser debida al déficit de Klotho en ERC, ya que se ha detectado una reducción en la expresión de ARN mensajero de Klotho en las biopsias renales de sujetos con ERC¹⁵³ y una disminución de Klotho en orina de pacientes desde estadios iniciales de ERC¹²². En cuanto a los niveles solubles de Klotho en sangre, existen datos más controvertidos, dado que algunos estudios muestran niveles de α Klotho bajos desde estadios iniciales de ERC con asociación significativa con el filtrado glomerular¹³² y otros autores no encuentran una asociación significativa entre los valores de Klotho y las cifras de filtrado en pacientes con ERC estadios 2-4¹⁵⁴.

FGF23 inhibe la secreción de PTH^{8,140}, sin embargo la inhibición de PTH se ve disminuida en situación de uremia⁸. Algunos autores han propuesto que la disminución de la inhibición de la PTH presente en la situación de uremia a pesar de la existencia de niveles elevados de FGF23 podría ser debida a una resistencia a la acción de FGF23 como consecuencia de la menor expresión de Klotho y FGFRs observada en las células paratiroides en esta situación^{8,155,156}. Posteriormente, otros autores han evidenciado que existe una vía dependiente de la calcineurina a través de la cual FGF23 regula la secreción de PTH de forma independiente de Klotho¹⁴¹.

La relación entre mortalidad y hiperfosfatemia¹⁵⁷ sugeriría que el aumento de FGF23 podría tener un efecto beneficioso al retrasar la acumulación de fosfato en ERC. Sin embargo, diferentes ensayos clínicos han demostrado que los niveles altos de FGF23 son un predictor independiente de mortalidad en pacientes incidentes y prevalentes en diálisis, independientemente de los niveles de fosfato sérico^{143 158}.

Por tanto, la medicina basada en la evidencia muestra que FGF23 no es sólo un marcador biológico que evalúa la carga de fosfato, sino también un predictor de progresión de ERC¹⁴², del desarrollo de hiperparatiroidismo refractario¹⁵⁹ o de mortalidad^{143,158}.

Varios estudios observacionales en adultos sugieren que el exceso de FGF23 se asocia de manera independiente con aterosclerosis en la población general¹⁶⁰, hipertrofia ventricular en personas de edad avanzada¹⁶¹, enfermedad renal crónica¹⁶² y pacientes en hemodiálisis^{163 164} e incluso con fibrilación auricular en pacientes con ERC¹⁶⁵ y eventos cardiovasculares, particularmente insuficiencia cardíaca, en ERC¹⁶⁶.

FGF23 y Trasplante renal

Los niveles de FGF23 aumentan a medida que progresa la ERC^{151 167} alcanzando valores de hasta 1000 veces por encima de la normalidad en los pacientes en diálisis¹⁵¹.

Los datos en conjunto sugieren que, aunque tras el trasplante renal los niveles de FGF23 descienden hasta niveles comparables a los de pacientes con ERC, la presencia de elevaciones por encima del rango normal contribuye al desarrollo de hipofosfatemia temprana post-trasplante, a la pérdida de densidad mineral ósea e influyen sobre la evolución del injerto y la supervivencia.

FGF23 e hipofosfatemia post-trasplante:

Desde 2006, varios grupos han publicado estudios observacionales sobre el exceso de FGF23 e hipofosfatemia post-transplante.

En un estudio de 27 pacientes sometidos a trasplante de riñón de donante vivo con un período de seguimiento de 6 meses, el 85% de los pacientes desarrolló hipofosfatemia (fosfato sérico $<2,6$ mg / dL), siendo ésta severa (fosfato sérico $<1,5$ mg / dl) en un 37% de los casos. cFGF23 (Immunotopics, EEUU) se redujo considerablemente durante la primera semana después del trasplante y se asoció de manera independiente con los niveles post-trasplante de fosfato sérico, con la excreción urinaria de fósforo y con los niveles de $1,25\text{OH}_2\text{D}$, mientras que la PTH no se asoció independientemente con ninguno de estos parámetros⁶³

Esta asociación entre los niveles de FGF23 en el momento del trasplante y los niveles de fosfato y la excreción urinaria de fósforo tras el trasplante también fue descrita en estudios posteriores^{61,62,168-170}.

Un año más tarde, Evenepoel et al⁶¹ publicaron un nuevo estudio prospectivo sobre 41 receptores de un trasplante de riñón de donante cadáver, con un período de seguimiento de 3 meses. El 90% de los pacientes desarrolló hipofosfatemia (fosfato sérico $<2,3$ mg/dL). Los niveles de fosfato sérico alcanzaron su punto más bajo ($1,48 \pm 0,48$ mg/dL) en el día 27 ± 19 post-trasplante, siendo los niveles de iFGF23 pre-trasplante el único predictor significativo. Niveles medios de iFGF23 (Kainos, Japón) se redujeron de 1270 (498-5418) ng/L a 56 (43-89) ng/L en tres meses, manteniéndose por encima del rango normal (≥ 50 ng / L) en 61 % de los receptores.

En un estudio posterior⁶², 50 receptores de trasplante renal con filtrado glomerular por encima de 30ml/min a los 12 meses post-trasplante se compararon con pacientes con ERC no trasplantados emparejados según la tasa de filtrado glomerular. A pesar de la tremenda disminución de FGF23 tras el trasplante, los niveles de FGF23 al tercer mes seguían siendo superiores en trasplantados en comparación con los pacientes con ERC emparejados según filtrado. Sin embargo, más tarde, al año post-trasplante, los niveles de FGF23 disminuyen hasta alcanzar niveles comparables a los pacientes con ERC emparejados según filtrado, manteniéndose significativamente elevados en comparación con voluntarios sanos. Otros estudios mostraron niveles de FGF23 normales un año después del trasplante renal^{168 171}.

FGF23 y densidad mineral ósea post-trasplante:

La relación entre el exceso de FGF23 y la pérdida de DMO fue evaluada en 127 receptores incidentes de trasplante renal¹⁷². Se encontró una débil asociación entre los niveles séricos elevados de FGF23 y niveles bajos de PTH y el desarrollo de mayor riesgo de pérdida de la DMO durante el primer año post-trasplante. Estas asociaciones eran independientes de los niveles de fosfato sérico a los tres meses, por lo tanto podría ser que los cambios en la DMO fuesen independientes de la hipofosfatemia.

FGF23 y evolución del injerto y supervivencia del receptor:

En una cohorte prospectiva de 984 trasplantados renales estables, con una mediana de seguimiento de 37 meses los niveles elevados de cFGF23 se asociaron independientemente con un mayor riesgo de mortalidad por cualquier causa y con la pérdida del injerto ⁵⁵.

VITAMINA D

Metabolismo y acciones de la vitamina D

La vitamina D es adquirida a partir de la conversión en la piel de 7-dehidrocolesterol en vitamina D₃ con la ayuda de la radiación ultravioleta B y/o a través de la ingesta de vitamina D₂ (ergocalciferol) o vitamina D₃ (colecalfiferol) de la dieta. Posteriormente la vitamina D es hidroxilada por la 25-alfa-hidroxilasa hepática dando lugar a la 25-hidroxi-vitamina D (25OHD) ó calcidiol y es transportada al riñón para que la 1-alfa-hidroxilasa (CYP27B1) la convierta en 1,25-dihidroxi-vitamina D (1,25OH₂D) ó calcitriol.

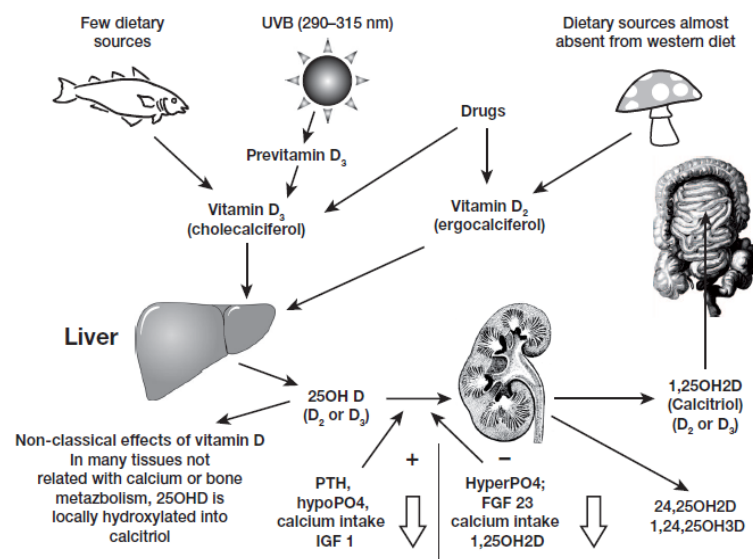
La PTH, la hipocalcemia y la hipofosforemia estimulan la 1-alfa-hidroxilasa renal, mientras que el FGF23 inhibe la 1-alfa-hidroxilasa y estimula la 24-alfa-hidroxilasa (CYP24), enzima responsable del catabolismo del calcitriol y calcidiol^{173,174}.

La 1,25OHD es considerada la vitamina D activa, al tener 500 veces mayor afinidad por el receptor de RVD que la 25OHD, la cual define mejor el estatus de vitamina D debido a que tiene una mayor vida media (21-30 días, frente a las 4-15h de la 1,25OHD) y se presenta en mayores concentraciones (nanogramos frente a picogramos)¹⁷⁴.

La vitamina D es un factor crucial en la homeostasis mineral ósea, dado que regula la absorción intestinal de calcio y fósforo y participa en el remodelado óseo.

Bien conocidos son también los efectos pleiotrópicos de la vitamina D, cuyo déficit se relaciona con enfermedad cardiovascular, cáncer, deterioro de función renal ¹⁷⁵, desarrollo de ERC terminal ¹⁷⁶, disfunción del injerto renal ¹⁷⁷ y con mortalidad en la población general y con ERC ¹⁷⁵.

Una explicación plausible acerca de los efectos pleiotrópicos de la vitamina D sería la presencia de la enzima 1-alfa-hidroxilasa y del receptor de la vitamina D en células de la próstata, mama, colon y células del sistema inmune, del endotelio vascular y cardiomiocitos, que permite la formación local de 1,25OH₂D. La producción extrarrenal de calcitriol controla de manera directa o indirecta más de 200 genes, regulando entre otras cosas la proliferación, diferenciación y apoptosis celular, la angiogénesis y la secreción de insulina y renina^{173,178}



La mayor fuente de vitamina D proviene de la conversión de 7-dehidrocolesterol en vitamina D₃ en la piel bajo la acción de la radiación UVB. Algunos alimentos, como el aceite de pescado, contienen vitamina D₃ o están fortificados con vitamina D₂ o D₃. Una vez la vitamina D es sintetizada en la piel (vitD₃) o es ingerida (vitD₂ ó D₃), es transportada al hígado donde es hidroxilada a 25OHvitD ó calcidiol, la cual refleja el estatus de vitamina D. En el riñón, la 1 α hidroxilasa renal convierte 25OHvitD en 1,25OHvitD o calcitriol. El calcitriol estimula la absorción intestinal de calcio y fósforo. Células de otros tejidos como la próstata, el colon, la mama o las células β pancreáticas, poseen la enzima 1 α hidroxilasa y el receptor de la vitamina D. Es la producción extrarrenal de vitamina D la que se relaciona con sus efectos pleiotrópicos. Figura extraída de Courbebaisse et al. Transplantation 2010.

Valores adecuados de vitamina D en la población general

No existe consenso acerca de la definición estricta de los valores adecuados de vitamina D y es por ello que la prevalencia del déficit de vitamina D varía en función de la definición utilizada. Para algunos grupos los valores de vitamina D adecuados son aquellos en los que existen valores normales de PTH y para otros grupos son aquellos por encima de los cuales no existe una reducción de PTH a pesar de recibir tratamiento con vitamina D¹⁷⁹. Se ha observado que valores de 25OHD > 10 ng/ml previenen el desarrollo de raquitismo y osteomalacia y valores > 30 ng/ml previenen el HPTS o la osteoporosis¹⁸⁰.

Se han propuesto varios puntos de corte para definir el estatus adecuado de vitamina D¹⁷⁴. El comité para la revisión de los valores dietéticos de referencia para calcio y vitamina D del Institute of Medicine (IOM) de EEUU concluye que valores por encima de 20 ng/mL (50 nmol/L) no confieren mayores beneficios, por lo que este punto de corte es probablemente el más adecuado para la población general¹⁸¹. La Sociedad Americana de Endocrinología propone el punto de corte de 20 ng/mL (50 nmol/L) para definir déficit, 21-29 ng/mL para definir insuficiencia y > 30 ng/mL (75 nmol/L) como valor óptimo de vitamina D¹⁸², pudiendo estar este valor más orientado al uso en pacientes. Los valores de intoxicación por vitamina D están por encima de 150 ng/mL (374 nmol/L)¹⁷³.

La prevalencia de déficit de vitamina D en la población general es del 33-58%^{183,184}.

Las causas de déficit de vitamina D incluyen la reducción de sus síntesis en piel (por disminución de la absorción de rayos UVB debida al uso de cremas de protección solar, por hiperpigmentación de la piel por melanina o por reducción del 7-dehidrocoloesterol de la piel debido a la edad); la disminución de su biodisponibilidad (por síndromes de malabsorción intestinal o por obesidad debido al secuestro de vitamina D en el tejido adiposo); la poca disponibilidad de vitamina D en la alimentación, como ocurre en la lactancia materna exclusiva; la alteración de la producción hepática si existe fallo hepático; la pérdida urinaria de 25OHD unida a proteínas, como ocurre en el síndrome nefrótico. Además existen trastornos hereditarios (raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante o ligado a X, raquitismo vitamina D resistente o dependiente, entre otros) y adquiridos (tumor inductor de osteomalacia e hiperparatiroidismo primario entre otros) que provocan déficit de vitamina D.

El déficit de vitamina D se relaciona con osteoporosis, debilidad muscular, riesgo de desarrollo de fracturas, cáncer de colon, esclerosis múltiple, diabetes tipo 1, resistencia a la insulina, insuficiencia cardiaca congestiva, esquizofrenia y depresión¹⁷³ y mortalidad¹⁷⁵.

Reposición de la vitamina D en población general

La reposición de vitamina D disminuye el riesgo de fracturas, de caídas, esclerosis múltiple y diabetes tipo 1 en niños y el riesgo de cáncer en la población general^{173,185} e incluso un metaanálisis de la Cochrane ha concluido que la vitamina D₃ reduce mortalidad¹⁸⁶

De manera similar, la exposición solar se ha asociado a disminución del riesgo de cáncer de próstata, de linfoma no-Hodgking, de progresión de melanoma y ha demostrado que ayuda a reducir las cifras de PA¹⁷³

En la población general se recomienda reposición de vitamina D en caso de déficit o insuficiencia de la misma. Los regímenes recomendados incluyen colecalciferol, ergocalciferol y exposición solar. En la práctica clínica también se prescribe calcifediol aunque existe menos información en la literatura.

En España no disponemos de la farmacopea para vitamina D₂ (ergocalciferol) excepto en preparados multivitamínicos. Por otra parte, disponemos de vitamina D₃ en forma de gotas (en frascos de 10ml=20.000 UI/frasco = 2.000 UI/ml = 2.000UI/30 gotas) o varios preparados contienen 400-800 UI de vitamina D₃ junto con diversas cantidades de calcio. Se recomienda ser prudente con las asociaciones de vitamina D y calcio, especialmente en pacientes con calcificaciones vasculares o con riesgo de desarrollarlas. Otra posibilidad es el empleo de calcifediol (ampollas de 266 microg = 16.000 UI). La administración de calcifediol quincenal o mensual, con controles de los niveles de calcidiol, es una alternativa cómoda para adecuar los aportes nutricionales en los pacientes con ERC⁴.

Las recomendaciones de consumo de vitamina D en la población general son de alrededor de 400UI/día en niños menores de 1 año, 600 UI/día en niños y adultos hasta los 70 años y 800UI/día para adultos mayores de 70 años¹⁸¹.

En la población con riesgo de déficit de vitamina D, se recomienda ingesta de 400-1.000 UI/día en niños menores de 1 año, 600-1.000 UI/día en niños mayores de un año y menores de 18 años y de 1.500-2.000 UI/día en adultos mayores de 18 años¹⁸²

En pacientes con déficit de vitamina D, se ha propuesto prescribir 50.000 UI de vitamina D₂ ó D₃ una vez a la semana durante 8 semanas o tratar con 6.000 UI diarias de vitamina D₂ o D₃ hasta alcanzar valores > 30 ng/mL y posteriormente continuar con 1.500-2.000 UI/día como mantenimiento¹⁸²

Dosis de vitamina D > 50.000 UI/día se han demostrado tóxicas, alcanzando valores de vitamina D > 150 ng/mL y asociadas a desarrollo de hipercalcemia e hiperfosforemia¹⁷³.

La vitamina D se encuentra en alimentos como el aceite de hígado de bacalao, el salmón, sardinas, setas shiitake y alimentos fortificados, entre otros^{173,182}. Sin embargo, no hay que olvidar que la exposición solar es la mejor fuente de vitamina D, ya que la piel tiene una gran capacidad de producción de vitamina D₃, incluso en edades avanzadas de la vida. La exposición solar o a rayos UVB equivalente a 0.5 dosis mínima eritematogena (exposición solar directa de brazos y piernas durante 5-10 minutos, dependiendo de la hora del día, la estación, la latitud y la sensibilidad de la piel) es equivalente a ingerir 3000 UI de vitamina D₃. La exposición en traje de baño a 1 dosis mínima eritematogena es equivalente a ingerir 20.000 UI. Por tanto, la exposición solar de brazos y piernas entre 5 y 30 minutos al día (dependiendo de la hora del día, la estación del año, la latitud y la pigmentación de la piel) entre las 10 a.m. y las 3 p.m. dos veces a la semana suele ser adecuado¹⁷³.

Acudir a centros con camas de bronceado (solárium) con moderación también es una de las opciones recomendadas. En un estudio se observó que los individuos que acudían al solárium tenían valores de 25OHD alrededor de 45 ng/mL al final del invierno y una mayor densidad mineral ósea que los individuos que no acudían¹⁸⁷. De hecho, para los individuos con malabsorción intestinal, la exposición a la luz ultravioleta durante el 30-50% del tiempo recomendado para broncearse, es una excelente opción para prevenir y tratar el déficit de vitamina D¹⁸⁸.

Vitamina D en ERC

Valores bajos de vitamina D en ERC

Los pacientes con insuficiencia renal presentan valores bajos de calcidiol debido a la baja ingesta, una exposición solar insuficiente, la pérdida urinaria de vitamina D por la proteinuria, la disminución de la síntesis hepática de 25OHD y la incapacidad renal para conservar calcidiol descritos en la ERC¹⁸⁹. Además existe déficit de 1,25OHD desde estadios iniciales debido a las elevadas cifras de FGF23 y posteriormente a la falta de disponibilidad de 1-alfa-hidroxilasa renal.

La prevalencia de déficit varía en función de los valores séricos considerados. De esta manera, se han observado valores subóptimos de vitamina D en el 80% de los pacientes con ERC, presentando insuficiencia en el 53-60% y déficit en el 18-22% de los casos^{175,190}.

Los valores bajos de vitamina D en la ERC no sólo participan en el desarrollo y mantenimiento de HPTS, sino que también se ha demostrado una asociación entre valores bajos de 25OHD y disminución de FG¹⁹¹ y desarrollo de ERC terminal¹⁷⁶ y mortalidad en pacientes en diálisis¹⁷⁵.

Reposición de vitamina D en ERC

Las diferentes guías recomiendan corregir el déficit o insuficiencia de vitamina D en pacientes con ERC con las mismas pautas recomendadas para la población general¹⁻⁴. Los estudios publicados en ERC han utilizado pautas de reposición de 700-4.000 UI/día, 5.000-50.000 UI/semana ó 50.000-300.000 UI/mes^{192,193}. Un estudio ha demostrado que la exposición a irradiación UVB en pacientes con ERC 3 veces a la semana corrige los valores de calcidiol y calcitriol en estos pacientes en mayor medida que la reposición con colecalciferol oral¹⁹².

En los pacientes con ERC, que también tienen déficit de 1,25OHD, existe controversia en cuanto a qué vitamina D prescribir, sin existir actualmente ningún ensayo clínico que las comparen. La siguiente tabla ilustra diferentes tipos de vitamina D nutricional, activa y los análogos.

NOMBRE	MOLÉCULA	PROCEDENCIA	ACTIVA/SELECTIVA
Colecalciferol	Vitamina D ₃	Exposición solar y dieta	No/No
Ergocalciferol	Vitamina D ₂	Dieta	No/No
Calcidiol	25-OHD ₃	Hidroxilación de vitamina D en el hígado	No/No
Calcitriol	1,25-OH ₂ D ₃	Hidroxilación de vitamina D principalmente en el riñón	Sí/No
Alfacalcidol	1 α -OHD	Análogo sintético del calcitriol que se convierte en 1,25-OH ₂ D en el hígado	No/No
Maxacalcitol	22-oxa-1,25-OH ₂ D ₃	Agonista sintético del RVD	Sí/Sí
Paricalcitol	19-NOR-1,25-OH ₂ D ₂	Agonista sintético del RVD	Sí/Sí

OHD: hidroxivitamina D; OH₂D: dihidroxivitamina D; RVD: receptor de la vitamina D

En la población con ERC existe menos evidencia en cuanto a los efectos beneficiosos de la reposición de la vitamina D nutricional^{40,194,195}. El tratamiento con ergocalciferol o colecalciferol, aunque corrige los valores de calcidiol, no consigue corregir el HPTS en pacientes con estadios avanzados de ERC y tampoco ha logrado mejorar otros objetivos como la rigidez arterial, la masa ventricular izquierda o la disminución del uso de eritropoyetina^{40,195}. Recientemente, un ensayo clínico del 2016 ha mostrado que el calcifediol de liberación extendida administrado a una dosis de 30 ó 60 microg diarios es seguro y efectivo disminuyendo los valores de vitamina D y de PTH en pacientes con ERC¹⁹³

Por otra parte, los análogos del receptor de la vitamina D activa (ARVD) reducen los valores de PTH en ERC en mayor medida que la vitamina D nutricional⁴⁰. Sin embargo no corrigen los valores de calcidiol y por tanto, mantienen a los tejidos con 1-alfa-hidroxilasa sin el sustrato necesario para la producción local de 1,25OHD.

En cuanto a su efecto sobre la proteinuria, tanto el colecalciferol¹⁹⁶ como el paricalcitol¹⁹⁷ han mostrado reducción de la proteinuria en pacientes con nefropatía diabética.

Actualmente, hay varios ensayos clínicos aleatorizados en marcha que intentan investigar los potenciales efectos de la vitamina D nutricional en la hipertrofia ventricular izquierda (NCT01323712), en la resistencia a la insulina (NCT00893451), en la dosis de eritropoyetina (NCT01395823), en la proteinuria (NCT01426724), en la inmunidad (NCT00892099), en la maduración de la fístula arterio-venosa para diálisis (NCT00912782) y en el desarrollo físico y cognitivo (NCT00511225, NCT01229878)¹⁹⁴. El ensayo clínico VITAL¹⁹⁸, que pretende conocer el efecto del colcalciferol y de los ácidos omega-3 sobre prevención del cáncer y de la enfermedad cardiovascular, es uno de los ensayos más esperados.

Vitamina D en Trasplante renal

Valores bajos de vitamina D en trasplante renal

En el momento del trasplante renal, los pacientes presentan habitualmente un déficit de ambas formas de vitamina D, y éste se puede ver acentuado posteriormente por la inmunosupresión, que aumenta el catabolismo de la vitamina D, y por las recomendaciones de evitar la exposición solar para prevenir el desarrollo de neoplasias de la piel¹⁷⁸.

El comportamiento de las diferentes formas de Vitamina D tras el TR, cuando existe un injerto renal funcionando, los valores de FGF23 disminuyen y el calcio y fósforo se alteran de forma aguda, es poco conocido.

Se han observado valores bajos de 25OHD tras el trasplante¹⁹⁹, con sólo el 12% de pacientes con valores 25OHD > 30 ng/mL en el momento del trasplante²⁰⁰ y un 18% a más largo plazo²⁰¹. Por otro lado, se ha descrito aumento de 1,25OHD en los primeros 6 meses⁶⁹ e incluso en las primeras semanas tras el trasplante renal, mientras los valores de 25OHD permanecen bajos²⁰².

El déficit de vitamina D post-trasplante está relacionado con patología ósea y su reposición previene la pérdida de masa ósea en los pacientes trasplantados de riñón²⁰³. Los valores bajo de vitamina D en el momento del trasplante se relacionan con un peor filtrado glomerular 1 año después del trasplante¹⁷⁷, siendo esta relación temporal, al existir una asociación significativa entre déficit de 25OHD y rápido deterioro de la función renal del injerto solamente durante los 10 primeros años tras el trasplante²⁰⁴. Esta relación temporal podría ser debida a la descrita correlación inversa entre los valores de 25OHD y el rechazo agudo²⁰⁵.

En pacientes trasplantados renales se ha observado una asociación independiente entre valores de 25OHD < 12 ng/ml y mortalidad por cualquier causa²⁰¹

En la mayor parte de los estudios que relacionan 25OHD con factores pronósticos como mortalidad o desarrollo de enfermedad cardiovascular, cáncer, ERC terminal o deterioro de función renal, no se miden los valores de 1,25OHD. Sin embargo, en pacientes trasplantados existen estudios que han medido ambas hormonas y han observado que sólo los valores de 25OHD son los que predicen el deterioro de filtrado glomerular, mientras que no existe relación entre 1,25OHD y FG en pacientes trasplantados^{177,201}

Reposición de vitamina D en el Trasplante renal

Varios estudios han mostrado disminución de la PTH y corrección de la calcemia tras prescripción de vitamina D nutricional en pacientes trasplantados. Sin embargo, aún existe controversia acerca de su efecto sobre la densidad mineral ósea²⁰⁶⁻²⁰⁸ y no existe evidencia en cuanto a prevención de desarrollo de fracturas en estos pacientes. El ensayo clínico VITALE tiene como objetivo secundario conocer el efecto de dosis altas y bajas de colecalciferol sobre la densidad mineral ósea medida a los 2 años post-trasplante²⁰⁸.

La evidencia en cuanto a los efectos de la reposición con colecalciferol sobre el pronóstico del injerto es actualmente escasa, aunque hay un par de ensayos clínicos en marcha. En un estudio retrospectivo, la reposición con colecalciferol 3-12 meses tras el TR no modificaba la progresión del filtrado glomerular o el desarrollo de fibrosis intersticial/atrofia tubular y proteinuria²⁰⁹. El estudio VITALE *está* actualmente en marcha y compara el dosis bajas y altas de colecalciferol (12.000 UI vs 100.000 UI cada 2 semanas durante 2 meses y posteriormente mensual durante 22 meses), con el objetivo secundario de conocer el efecto de ambas dosis sobre el desarrollo de proteinuria y supervivencia del injerto²¹⁰. Otro estudio pendiente de publicar sus resultados es el VITA-D, un ensayo clínico randomizado, con grupo placebo y doble ciego, que incluye a 200 pacientes trasplantados que recibían 6.800 UI diarias de colecalciferol oral o placebo durante 1 año y que pretende investigar el efecto de inmunomodulador y renoprotector del colecalciferol²¹¹

Se han propuesto pautas de reposición de vitamina D con colecalciferol y ergocalciferol, sin embargo hay poca información acerca de reposición con calcifediol en trasplante renal.

Courbebaisse et al. han propuesto una pauta de reposición de vitamina D con altas dosis de colecalciferol de 100.000 UI cada 15 días durante 2 meses (equivalente a 6.600 Ui/día) que demostraron que corregía los valores de vitamina D y disminuía los valores de PTH sin provocar efectos secundarios, seguida de una pauta de mantenimiento de 100.000 UI al mes²⁰⁸. Otras pautas son las anteriormente mencionadas, de los ensayos clínicos en marcha VITALE y VITA-D^{210,211}.

HIPÓTESIS DE TRABAJO

Hipótesis 1: El hecho de que los pacientes en diálisis presenten valores más altos de FGF₂₃ que los pacientes con ERC avanzada puede conllevar diferencias en los valores de FGF₂₃ y fosfato séricos en el post-trasplante renal entre receptores que realizaban diálisis comparados con los receptores pre-diálisis.

Hipótesis 2: El uso de cinacalcet como tratamiento del HPTS podría provocar alteraciones en los valores de FGF₂₃ previa y posteriormente al trasplante.

Hipótesis 3: Los valores de los diferentes tipos de vitamina D, calcidiol y calcitriol podrían tener una evolución diferente tras el trasplante renal.

Hipótesis 4: El calcifediol administrado en pauta quincenal o mensual podría ser una opción adecuada para la reposición de calcidiol y podría contribuir al control del HPTS en pacientes trasplantados renales.

OBJETIVOS

Objetivo 1: Comparar los cambios en los valores de FGF23 post-trasplante en los pacientes en diálisis comparados con los pacientes pre-diálisis y ver qué influencia podrían tener estas diferencias en los valores de FGF23 en cuanto al desarrollo de hipofosfatemia, déficit de vitamina D y cambios en otros parámetros relacionados con el MMO durante el post-trasplante renal inmediato.

Objetivo 2: Comprobar si existen diferencias en el comportamiento de FGF23 y otros parámetros del metabolismo mineral óseo entre los pacientes trasplantados renales que hayan recibido o no cinacalcet previamente al trasplante renal.

Objetivo 3: Analizar las variaciones en los valores de calcidiol y calcitriol en tras el trasplante renal y su relación con el resto de parámetros del metabolismo mineral óseo.

Objetivo 4: Analizar la efectividad y la seguridad de la administración de calcifediol en régimen quincenal o mensual en una población de trasplantados renales.

PUBLICACIONES

Subproyecto 1

Earlier decrease of FGF-23 and Less Hypophosphatemia in Preemptive Kidney Transplant Recipients

Xoana Barros¹, Jose Vicente Torregrosa¹, María J. Martínez de Osaba², Gregori Casals², Raphael Paschoalin¹, Carlos E. Durán¹, and Josep M. Campistol¹

¹Nephrology Department, Hospital Clinic of Barcelona, Spain.

²Biochemistry and Molecular Genetics Department, Hospital Clinic of Barcelona, Spain.

Transplantation 2012; 94: 830-836

Contribución: Primer autor

Factor de Impacto JCR 2012: 3,781

Factor de Impacto JCR 2007-2012: 3,548

Factor de Impacto JCR 2015: 3,69

Factor de Impacto JCR 2010-2015: 3,446

Posición en 2012:

- *ISI Journal Citation Reports: Q2 (7/26 Transplantation)*
- *SCImago Journal Rank: Q1 (5/38 Transplantation)*

Posición en 2015:

- *ISI Journal Citation Reports: Q2 (9/25 Transplantation)*

ABSTRACT

Background. Levels of fibroblast growth factor (FGF)-23, a phosphaturic hormone, increase from the early stages of CKD and are dramatically elevated in dialysis patients. Excessive FGF-23 may be involved in the hypophosphatemia and inappropriately low calcitriol levels observed after kidney transplantation (KT).

This prospective observational cohort study was carried out to determine whether there are any differences in the changes in FGF-23 levels after surgery in KT recipients according to whether they were or not on dialysis before transplantation and to assess the influence of FGF-23 in the development of posttransplantation hypophosphatemia.

Methods. Consecutive KT recipients at the Hospital Clinic of Barcelona were recruited. Patients developing delayed graft function were excluded. Mineral metabolism parameters, including C-terminal fragment of FGF-23, intact parathyroid hormone, and $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$, were measured in 72 KT recipients (58 on dialysis before transplantation and 14 preemptive transplant recipients) at baseline, on day 15, and at 1, 3, and 6 months after transplantation. No patients received treatment with calcimimetics, bisphosphonates, vitamin D, or phosphate supplementation during the follow-up.

Results. FGF-23 decreased significantly in the first month after transplantation. FGF-23 levels at baseline and within the first posttransplantation month were lower in preemptive transplant recipients than in patients on dialysis at transplantation. Serum phosphate levels were lower in dialysis patients until the third month after transplantation. Pretransplantation FGF-23 was the main predictor of posttransplantation phosphate blood levels.

Conclusions. FGF-23 levels and the risk of developing posttransplantation hypophosphatemia were lower in preemptive kidney transplant recipients than in patients on dialysis before transplantation.

INTRODUCTION

Fibroblast growth factor (FGF)-23 is involved in bone metabolism disorders in patients at different stages of chronic kidney disease (CKD)^{1,2}.

Levels of FGF-23 are increased 100- to 1000-fold above the reference range in dialysis patients, whereas a more discrete increase is observed in CKD patients not on dialysis³.

Preliminary studies have suggested that the excess FGF-23 in patients with CKD at transplantation is one of the causes of hypophosphatemia and vitamin D deficiency in the early posttransplantation period⁴⁻¹⁰.

The main aim of our study was to determine the behavior of FGF-23 levels in kidney transplant (KT) recipients on dialysis at surgery compared with CKD patients who received a preemptive transplant and the influence of FGF-23 on the development of hypophosphatemia, vitamin D deficiency, and changes in other parameters of mineral metabolism during the initial posttransplantation period, defined as the first 6 months after transplantation.

MATERIALS AND METHODS

Study Design

We performed a prospective observational study with a 6-month longitudinal follow-up in our center. This study was approved by the hospital ethics committee.

All transplant recipients except those receiving a non heart-beating donor transplant were consecutively included after accepting to participate and providing informed consent. Patients with delayed graft function with eGFR less than 30mL/min per 1.73m² on day 15 were excluded from the follow-up.

We measured sCr, sPO₄, sCa, intact PTH (automated immunoassay, Liaison; DiaSorin, Minnesota), 1,25(OH)₂D₃ (radioimmunoassay; DiaSorin), and FGF-23 at baseline, on day 15 and at 1, 3, and 6 months after transplantation.

At baseline and at 6 months, 25(OH)D₃ (automated immunoassay, Liaison, DiaSorin) was measured.

eGFR was computed according to the abbreviated Modification of Diet in Renal disease equation in mL/min per 1.73m².

We calculated sCa adjusted for serum protein: $sCa_{adjusted} = sCa_{measured} \text{ mg/dL} + [(4 - Alb \text{ g/dL}) \times 0.8]$.

Twenty-four hour urine was obtained during the follow-up to calculate FEPO₄: $FEPO_4 = uPO_4 \text{ mg/dL} \times sCr \text{ mg/dL} : uCr \text{ mg/dL} \times sPO_4 \text{ mg/dL}$; reference range, 0% to 25%.

FGF-23 was measured by a second generation enzyme-linked immunosorbent assay (Inmunotopics, San Clemente, CA), which measures the C-terminal fragment. The reference range in our laboratory was similar to that previously described by other studies: less than 120 to 150 RU/mL^{11,12}.

No patients received treatment with phosphate binders, calcimimetics, bisphosphonates, or vitamin D during the follow-up.

Statistics

Results are expressed as frequencies for categorical variables, as mean (SD) for normal distributed continuous variables and median (IQR) for continuous variables with skewed distribution. The Kolmogorov-Smirnov test was performed to determine the distribution of variables. For differences between periods, the paired Student t test or Wilcoxon test for paired values was used. For differences between groups, Student t test or the Mann-Whitney U test was performed. The Fisher exact test or the chi-square test was used to compare categorical variables. To assess associations among variables, Pearson correlation was performed, and thereafter, linear or logistic regression was used, considering variables with a P value of less than 0.05 in the univariate analysis.

All P values were two-tailed, and a P value of less than 0.05 was considered significant.

The statistical analysis was performed with SPSS 15.0.

RESULTS

Patients

A prospective study was performed with consecutive inclusion of 72 patients (45 men) who received a KT between April 2010 and June 2011.

The mean patient age (SD) was 51 (12.6) years.

Fourteen patients (19.4%) received a preemptive transplant. The remaining 58 patients were on dialysis before receiving the transplant for a median of 36 months (interquartile range [IQR], 24.5–56.2): 11 (15.3%) patients were on peritoneal dialysis for 27 months (IQR, 22–46), and 47 (65.3%) were on hemodialysis for 38 months (IQR, 25–66).

Fifty-nine patients (82%) received an isolated KT; and 13 patients (18%), a simultaneous pancreas-KT.

Twenty-three patients (32%) received a living-donor transplant; and 49 (including 13 simultaneous pancreas-KT), an allograft from a deceased donor.

Fourteen patients (19.4%) underwent retransplantation. Although two patients from the group who underwent preemptive transplantation had received a second allograft, they have been considered as preemptive because primary allograft failure was consequence of technical complications, and they never required dialysis.

Five patients (8.6%) had been parathyroidectomized before transplantation.

The primary kidney disease was diabetic nephropathy in 22 patients (30.6%), glomerulonephritis/vasculitis in 16 (22.2%), unknown etiologies in 10 (13.9%), hypertensive/vascular disease in 9 (12.5%), polycystic kidney disease in 7 (9.7%), urologic disease in 5 (6.9%), and interstitial nephritis in 3 (4.2%).

In the group of patients who were on dialysis, 25 patients (43%) were under treatment with cinacalcet for secondary hyperparathyroidism (SHPT) at transplantation. Cinacalcet was stopped at surgery and was not restarted in any of these patients.

Proportion of patients under treatment with vitamin D and phosphate binders before transplantation were similar between groups. Any of these medications were restarted during the follow-up.

Immunosuppression was based on calcineurin inhibitors in 55 patients (76.4%) and was calcineurin inhibitor-free in 17 patients (23.6%).

Baseline Data

Patient characteristics and serum parameters at baseline are summarized in Tables 1 and 2, respectively.

Patients who underwent preemptive transplantation were younger and had lower FGF-23 levels than patients who were on dialysis at transplantation. Serum levels of calcium (sCa), phosphate (sPO₄), parathyroid hormone (PTH), and 25OHD₃ were similar between groups. 1,25(OH)₂D₃ was slightly but not significantly higher in patients who underwent preemptive transplantation (P=0.062).

TABLE 1. Baseline characteristics in patients on dialysis before transplantation or who received a preemptive kidney transplant

Variable	All (n=72)	Pretransplantation Dialysis (n=58)	Preemptive Transplant (n=14)	P
Patient age, yr	51 (12.6)	53.3 (12)	40 (8.6)	<0.001
Patient gender (male), %	62.5	63.8	57.1	NS
Time on dialysis, mo	29 (12–50.7)	36 (24.5–56.2)	0	<0.001
Retransplantations, %	19.4	20.7	14.3	NS
Previous mineral metabolism treatment				
Phosphate binders	70.8	74.1	57.1	NS
Vitamin D	43.1	41.4	50	NS
Calcimimetics	34.7	43.1	0	0.001
Type of transplant, %				
SPKT	18.1	15.5	28.6	NS
KT deceased donor	50	60.3	7.1	0.001
KT living donor	31.9	24.1	64.3	0.008
Diabetes, %	33.3	34.5	28.6	NS
Primary kidney disease, %				
Diabetes	30.6	31	28.6	NS
Hypertension	12.5	13.8	7.1	NS
Glomerulonephritis	22.2	20.7	28.6	NS
Other	34.7	34.5	35.7	NS
Immunosuppression, %				
CNI	76.4	79.3	64.3	NS
CNI-free	23.6	20.7	35.7	NS

Data are presented as mean (SD), median (interquartile range), or percentage.

CNI, calcineurin inhibitors; KT, kidney transplant; NS, not significant; SPKT, simultaneous pancreas-kidney transplant.

TABLE 2. Baseline biochemical data in patients on dialysis before transplantation or who received a preemptive kidney transplant

Variable	All (n=72)	Pretransplantation Dialysis (n=58)	Preemptive Transplant (n=14)	P
sPO ₄ , mg/dL	4.32 (1.24)	4.27 (1.3)	4.58 (0.8)	NS
sCa, mg/dL	9.19 (0.75)	9.2 (0.73)	9.16 (0.87)	NS
ALP, IU/L	152 (122–205)	155 (122–228.5)	133 (122.5–154)	NS
PTH, pg/mL	267 (134–395)	273 (134–395)	221 (125–422)	NS
1,25(OH) ₂ D ₃ , pg/mL	18.41 (7.23)	17.6 (7.2)	21.92 (6.72)	NS
25OHD ₃ , pg/mL	16.5 (8.99)	16.26 (9.02)	17.66 (9.18)	NS
FGF23, RU/mL	2003.8 (722.7–3084)	2062.7 (1247.2–3241.7)	420.7 (316.2–1766.8)	0.001

Data are presented as mean (SD) or median (interquartile range).

ALP, alkaline phosphatase; FGF23, fibroblast growth factor 23; NS, not significant; PTH, parathyroid hormone; sCa, serum calcium; sPO₄, serum phosphate.

Changes in FGF-23 Levels

FGF-23 decreased significantly during the first month after transplantation from 2003.8 RU/mL (IQR, 722.7–3084 RU/mL) to 167.1 RU/mL (89.2–416.9 RU/mL) ($P=0.000$).

Patients who received a preemptive transplant had lower FGF-23 levels than those who had been on dialysis. After the first month, levels were similar between the two groups (Table 3).

Normal FGF-23 levels, defined as less than 120 RU/mL^{11,12} were reached in 38.2%, 51.8%, 75%, and 75.5% of patients at days 15, 30, 90, and 180, respectively. In the first month, the proportion of patients with normal FGF-23 levels was significantly higher in preemptive transplant recipients than in patients who had been on dialysis. After the first month, the proportion of patients with normal levels of FGF-23 was similar between groups (Table 3).

TABLE 3. Differences in changes in FGF-23 and serum phosphate levels between preemptive transplant recipients and patients on dialysis before transplantation

Variable	All (n=72)	Pretransplantation Dialysis (n=58)	Preemptive Transplant (n=14)	P
FGF-23, RU/mL				
At day 15	167.1 (89.2–416.9)	233.7 (133.6–651.9)	87.2 (59.9–98.9)	<0.001
At day 30	199.4 (72.8–183.9)	132.9 (102–258.3)	70.1 (46.9–111.5)	0.002
At day 90	97.3 (76.1–123.8)	99.4 (81.5–151.8)	70.7 (59.5–117.6)	NS
At day 180	90.8 (60.3–118.5)	96.3 (64.5–129.4)	75.9 (47.6–88.8)	NS
sPO ₄ , mg/dL				
At day 15	2.7 (0.9)	2.6 (0.9)	3 (0.8)	NS
At day 30	2.7 (0.9)	2.5 (0.8)	3.1 (0.7)	0.028
At day 90	3.1 (0.8)	2.9 (0.7)	3.6 (0.7)	0.01
At day 180	3.2 (0.6)	3.2 (0.7)	3.2 (0.6)	NS
1,25(OH) ₂ D ₃ , pg/mL				
At day 15	27.2 (16.9)	24.4 (12.8)	36.1 (24.9)	NS
At day 30	32.3 (12.9)	31.5 (13)	35.1 (13)	NS
At day 90	34.5 (18.1)	31.6 (15.2)	45.3 (24.1)	NS
At day 180	40.6 (19.7)	38.9 (18.1)	46.4 (24.6)	NS
FGF-23 <120 RU/mL day 30, %	51.8	44.2	76.9	0.038
FGF-23 <120 RU/mL day 90, %	75	72.7	83.3	NS
sPO ₄ <2.5 mg/dL day 30, %	50	57.8	23.1	0.028
sPO ₄ <1.5 mg/dL day 30, %	12.1	15.6	0	NS

Data are presented as mean (SD), median (interquartile range), or percentage.
FGF23, fibroblast growth factor 23; NS, not significant; sPO₄, serum phosphate.

Changes in sCa and sPO₄ and Urinary Fractional Excretion of Phosphate

sPO₄ levels decreased significantly during the first month after transplantation from 4.45 ± 1.23 to 2.65 ± 0.86 mg/dL ($P=0.000$).

During the posttransplantation follow-up, sPO₄ levels were lower in patients who had been on dialysis than in recipients who underwent preemptive transplantation (Table 3) (Fig. 1).

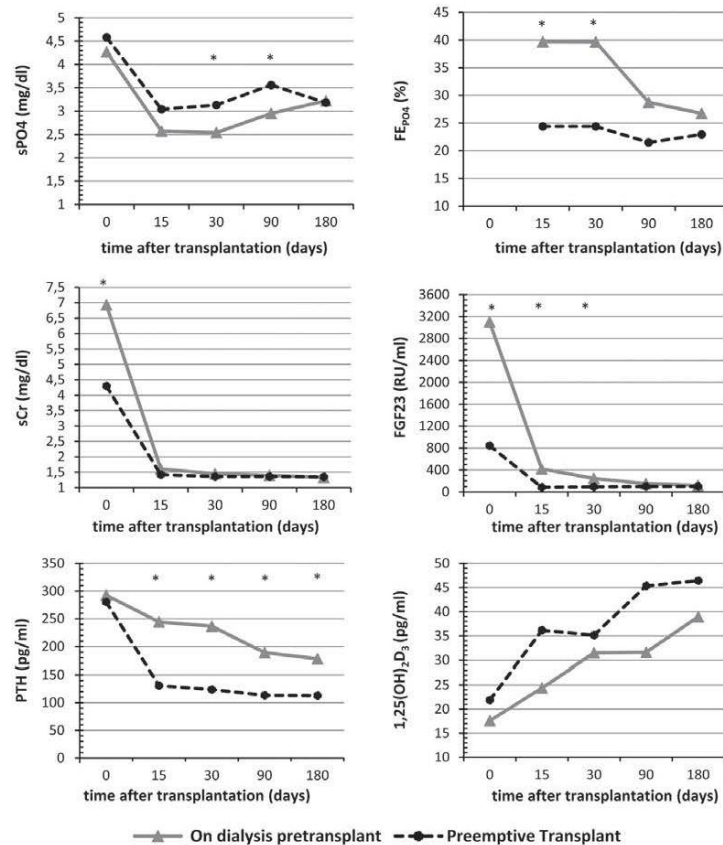


FIGURE 1. Changes in bone metabolism markers in patients on dialysis before transplantation compared with those receiving a preemptive transplant. Data are presented as mean. 1,25(OH)₂D₃, 1,25-dihydroxyvitamin D₃; FEPO₄, fractional excretion of phosphate; FGF23, fibroblast growth factor 23; PTH, parathyroid hormone; sCr, serum creatinine level; sPO₄, serum phosphate. * P<0.05 in comparison between groups.

In the first month, the proportion of patients who achieved sPO₄ less than 2.5 mg/dL and sPO₄ less than 1.5 mg/dL was 50% and 12.1% in the entire group, respectively, and these proportions were higher in the dialysis group (Table 3).

Levels of sPO₄ increased progressively from the first to the third month after transplantation (P=0.000) and remained stable until the sixth month, with a consequent disappearance of the difference between patients who were or were not on dialysis at transplantation (Table 3) (Fig. 1).

Urinary fractional excretion of phosphate (FEPO₄) was high (36% ± 16%) in the first month, consistent with the initial decline in sPO₄.

FEPO₄ in the first month was higher in patients who had been on dialysis than in recipients of a preemptive transplant (40% ± 16% vs. 24% ± 9%; P=0.000). FEPO₄ subsequently declined to similar levels between the two groups (29% ± 11% vs. 22% ± 10% at the third month and 27% ± 9% vs. 23% ± 8% at the sixth month; P=not significant) (Fig. 1).

It is important to note that none of the patients received phosphate supplementation during the follow-up.

sCa levels increased significantly in the first 2 weeks after transplantation from 9.1 ± 0.77 to 9.6 ± 0.57 mg/dL when the patients were analyzed as a whole (P=0.000). A significant

increase was also found in patients on dialysis (from 9.1 ± 0.75 to 9.6 ± 0.6 mg/dL; $P=0.000$) but not in preemptive transplant recipients (9.16 ± 0.87 to 9.55 ± 0.48 mg/dL; P =not significant), whose initial increase in sCa was not significant.

This initial significant increase in sCa in patients on dialysis was independent of having received cinacalcet at transplantation, although patients who were on calcimimetics showed higher levels of sCa throughout the follow-up (Fig. 2).

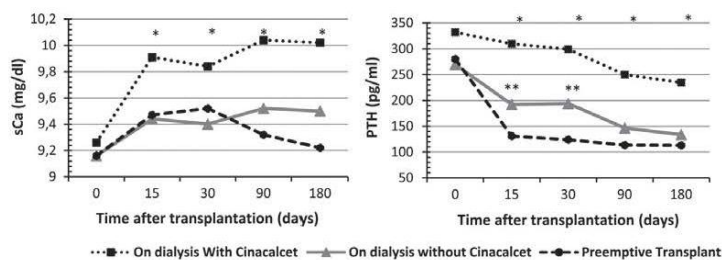


FIGURE 2. Changes in parathyroid hormone (PTH) and serum calcium (sCa) in patients receiving a preemptive transplant compared with those on dialysis and receiving cinacalcet until transplantation (* $P<0.05$) and patients on dialysis without cinacalcet treatment (** $P<0.005$). Data are presented as mean. Cinacalcet was stopped at surgery and was not restarted in any of these patients.

Changes in PTH Levels

PTH levels declined until the third month after transplantation from 267 pg/mL (IQR, 134–395 pg/mL) to 135 pg/mL (IQR, 87.5–185.5 pg/mL) ($P=0.000$). This decrease was more pronounced in the first 2 weeks (Fig. 1).

During the follow-up, this decline in PTH was not observed in patients on calcimimetics at surgery ($n=25$), who showed similar PTH levels at baseline and at the sixth month: 316 pg/mL (IQR, 124–416 pg/mL) to 210 pg/mL (IQR, 164.5–273.5 pg/mL); P =not significant (Fig. 2).

Although there were no differences in PTH levels at baseline between patients who were or were not on dialysis at transplantation, PTH levels were lower in preemptive transplant recipients in the first 6 months after transplantation: 151 pg/mL (IQR, 116.5–216.5 pg/mL) vs. 101 pg/mL (IQR, 69–125 pg/mL) at the sixth month; $P=0.01$ (Fig. 1). When patients who had received cinacalcet were excluded from the comparison, PTH levels were similar between the two groups after the first posttransplantation month (Fig. 2).

Changes in 25-Hydroxycitamin D and 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ Levels

After 6 months, 25OHD₃ levels were low at baseline and remained low (16.26 ± 9 and 16.97 ± 9.5 ng/mL; P = not significant).

From baseline to the first month after transplantation, 1,25(OH)₂D₃ increased significantly ($P=0.000$) and increased progressively thereafter until the sixth month.

Changes in 25OHD₃ and 1,25(OH)₂D₃ levels were similar between patients who were or were not on dialysis at surgery (Table 3) (Fig. 1).

It is important to note that none of the patients received treatment with vitamin D supplements during follow-up.

Changes in Creatinine and Creatinine Clearance

Both serum creatinine (sCr) levels and estimated glomerular filtration rate (eGFR) improved significantly within the first month after transplantation ($P=0.000$) and remained stable thereafter.

sCr was 1.57 ± 0.62 , 1.43 ± 0.39 , 1.4 ± 0.3 , and 1.34 ± 0.33 mg/dL; and eGFR was 51 ± 22 , 53.7 ± 20 , 52.4 ± 13.6 , and 54.5 ± 14.3 mL/min per 1.73m^2 at days 15, 30, 90, and 180, respectively.

Kidney function improvement was similar in both groups (Fig. 1).

Relationship between FGF-23, PTH, Phosphate and Calcium Blood Levels

FGF-23 at baseline was negatively correlated with sPO_4 until the third month ($r=0.385$, $P=0.004$) and was positively correlated with FEPO_4 until the sixth month after transplantation ($r=0.321$, $P=0.029$).

PTH at baseline was not correlated with sPO_4 , but correlation between posttransplantation PTH levels and sPO_4 (inverse) and FEPO_4 (positive) was observed during the follow-up.

In regression analysis, baseline FGF-23 was an independent predictor of sPO_4 levels within the first 3 months after transplantation. At month 6, the main predictor of sPO_4 was PTH at this time.

Higher levels of FGF-23 at baseline conferred a higher risk of reaching sPO_4 less than 2.5 mg/dL during the first 3 months after transplantation in patients on dialysis achieving normal allograft function within the first month. However, PTH at baseline was an independent predictor of sPO_4 less than 1.5 mg/dL at this time. On the other hand, levels of sPO_4 less than 2.5 mg/dL at month 6 were determined by PTH at this moment.

FGF-23 levels at baseline predicted FGF-23 levels within the first 6 months after transplantation.

In patients who had been on dialysis, the improvement in kidney function also influenced the decline in FGF-23 levels within the first 15 days of follow-up, whereas this influence was almost imperceptible in patients with preemptive transplants, whose FGF-23 levels were only influenced by FGF-23 levels at baseline.

No correlations were found between FGF-23 and sCa levels.

Relationship between FGF-23, 25-Hydroxyvitamin D₃, and 1,25-Dihydroxyvitamin D₃

FGF-23 at baseline was negatively correlated with $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ levels throughout the follow-up and was the main predictor of $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ levels within the first 3 months after transplantation, such as higher FGF-23 at baseline implied lower $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ after transplantation.

At month 6, 1,25(OH)₂D₃ levels were predicted not only by baseline FGF-23 but also by 25(OH)D₃ levels, such as lower levels of 25(OH)D₃ implied lower levels of 1,25(OH)₂D₃.

DISCUSSION

The present study found a substantial difference in changes in FGF-23 and sPO₄ levels between patients who were or were not on dialysis at transplantation.

We found that a significant proportion of patients had low sPO₄ levels after transplantation, more marked in the first month, when 50% of the patients achieved sPO₄ less than 2.5 mg/dL in our study cohort. Previous studies have found a proportion of hypophosphatemia of 60% to 90%^{5,6,10} in populations who underwent transplantation. This decrease in sPO₄ was accompanied by a simultaneous increase of FEPO₄ above the reference range.

Inappropriate urinary phosphate wasting, traditionally linked to persistence of severe SHPT from dialysis to the posttransplantation period¹³, can occur despite normal PTH levels^{14,15}, and previous studies have shown persistence of excessive FGF-23 to be the main contributor to posttransplantation hypophosphatemia⁴⁻⁹.

FGF-23 inhibits renal tubular reabsorption by suppressing the expression of luminal sodium cotransporters 2a and 2c, and this phosphaturic effect is independent of PTH¹⁶.

In the present study, we found that baseline FGF-23 was the main predictor of FEPO₄ and sPO₄ levels in the early posttransplantation period and observed a predominant influence of FGF-23 at baseline on sPO₄ levels within the first 3 months after transplantation, whereas sPO₄ levels in the sixth month were mainly influenced by PTH at that time.

The fact that baseline PTH did not correlate with posttransplantation phosphate levels might be because PTH levels at surgery were falsified by the use of agents to treat SHPT before transplantation, such as vitamin D or cinacalcet.

Baseline FGF-23 was more than five times higher in patients who were on dialysis at surgery than in those with preemptive transplants. FGF-23 elevations 100- to 1000-fold above the reference range have been described in patients on dialysis with lower elevations in predialysis patients^{3,4}, but this is the first study that indicates the differences in posttransplantation changes in FGF-23 and sPO₄ between patients according to whether they were on dialysis at transplantation.

After transplantation, patients who had been on dialysis before surgery achieved higher FGF-23 levels until the first posttransplantation month and lower levels of sPO₄ until the third month after transplantation, with no significant differences between the two groups thereafter (Fig. 1).

Despite early normalization of sPO₄ and FGF-23, ongoing phosphate wasting persisted. This could be explained by the persistence of high levels of PTH.

High PTH levels may lead to a higher fracture risk among transplant recipients because of skeletal mobilization of phosphate. On the other hand, elevated FEPO₄, hypercalcemia, and high PTH have been described as factors involved in the development of microscopic nephrocalcinosis after transplantation, which could have negative effects on allograft outcome¹⁷.

Early normalization of FGF-23 levels might have a favorable impact on KT recipients. Increased levels of circulating FGF-23 have been described as an independent risk factor for mortality^{18,19}, cardiovascular disease^{20,21}, and progression of CKD²², as well as being a predictor of poor allograft outcome²³ and bone mineral density loss in KT recipients²⁴. In the present study, FGF-23 levels decreased within the reference range in 50% of patients in the first month after transplantation and in 77% of patients with preemptive transplants (Table 3).

Kidney function improvement, which has been previously described as a major determinant of FGF-23 levels in CKD^{3,4}, was correlated with a decline in FGF-23 levels after transplantation. This improvement was similar in both groups regardless of whether preemptive transplant recipients were younger or had a higher proportion of living-donor transplants than patients who had been on dialysis (Table 1).

Despite the differences between patients according to whether they were receiving dialysis at transplantation, we found no influence of time on dialysis on sPO_4 or FGF-23 levels, possibly because more than 61% of dialysis patients had been receiving kidney replacement therapy for more than 24 months. A previous study found no relation between years on dialysis and FGF-23 concentrations⁴.

FGF-23 reduces $1,25(OH)_2D_3$ levels by inhibiting CYP27B1, which converts $25OHD_3$ to $1,25(OH)_2D_3$, and by stimulating CYP24, which converts $1,25(OH)_2D_3$ to inactive metabolites in the proximal tubule of the kidney²⁵. In the present study, $1,25(OH)_2D_3$ increased significantly in both groups even though $25OHD_3$ levels were low at baseline and after 6 months.

Higher levels of FGF-23 at baseline implied lower $1,25(OH)_2D_3$ levels within the first 3 months after transplantation. Therefore, the increase of $1,25(OH)_2D_3$ could be explained not only by the recovery of its renal production after KT but also by a lower inhibition by FGF-23.

In general population, it is known that there is a high prevalence of native vitamin D deficiency with normal calcitriol. Calcidiol deficiency is also prevalent in CKD patients²⁶. In our study, the lack of recovery of $25OHD_3$ could be explained because of the lack of vitamin D supplementation after transplantation and because clinicians recommend reduced sun exposure to avoid skin cancers in KT patients²⁷.

In summary, FGF-23 decreased significantly in the first month after transplantation. Patients who received a preemptive KT had lower FGF-23 levels and less risk of developing posttransplantation hypophosphatemia than patients who were on dialysis at surgery. The earlier decrease of FGF-23 and lower urinary phosphate loss observed in preemptive transplant recipients could have positive effects on allograft outcome and patient survival.

REFERENCES

- 1 Seilier S, Heine H, Fliser D. Clinical relevance of FGF-23 in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2009; 76(suppl 114): S34.
- 2 Razzaque MS. The FGF23-Klotho axis: endocrine regulation of phosphate homeostasis. *Nat Rev Endocrinol* 2009; 5: 611.
- 3 Larsson T, Nisbeth U, Ljunggren O, et al. 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: 2272.
- 4 Pande S, Ritter CS, Rothstein M, et al. FGF-23 and sFRP-4 in chronic kidney disease and post-renal transplantation. *Nephron Physiol* 2006; 104: 23.
- 5 Bhan I, Shah A, Holmes J, et al. Post-transplant hypophosphatemia: tertiary hyper-phosphatoninism? *Kidney Int* 2006; 70: 1486.
- 6 Evenepoel P, Naesens M, Claes K, et al. Tertiary hyperphosphatoninism accentuates hypophosphatemia and suppresses calcitriol levels in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2007; 7: 1193.
- 7 Evenepoel P, Meijers BK, De Jonge H, et al. Recovery of hyperphosphatoninism and renal phosphorus wasting one year after successful renal transplantation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008; 3: 1829.
- 8 Economidou D, Dovas S, Papagianni A, et al. FGF-23 Levels before and after renal transplantation. *J Transplant* 2009; 2009: 379082.
- 9 Kawarazaki H, Shibagaki Y, Fukumoto S, et al. The relative role of fibroblast growth factor 23 and parathyroid hormone in predicting future hypophosphatemia and hypercalcemia after living donor kidney transplantation: a 1-year prospective observational study. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 2691.
- 10 Trombetti A, Richert L, Hadaya K, et al. Early post-transplantation hypophosphatemia is associated with elevated FGF-23 levels. *Eur J Endocrinol* 2011; 164: 839.
- 11 Jonsson KB, Zahradnik R, Larsson T, et al. Fibroblast growth factor-23 in oncogenic osteomalacia and X-linked hypophosphatemia. *N Engl J Med* 2003; 348: 1656.
- 12 Ito N, Fukumoto S, Takeuchi Y, et al. Comparison of two assays for fibroblast growth factor (FGF)-23. *J Bone Miner Metab* 2005; 23: 435.
- 13 Ward HN, Pabico RC, McKenna BA, et al. The renal handling of phosphate by renal transplant patients: correlation with serum parathyroid hormone, cyclic 3',5'-adenosine monophosphate urinary excretion, and allograft function. *Adv Exp Med Biol* 1977; 81: 173.
- 14 Rosenbaum RW, Hruska KA, Korkor A, et al. Decreased phosphate reabsorption after renal transplantation: evidence for a mechanism independent of calcium and parathyroid hormone. *Kidney Int* 1981; 19: 568.
- 15 Green J, Debby H, Lederer E, et al. Evidence for a PTH-independent humoral mechanism in post-transplant hypophosphatemia and phosphaturia. *Kidney Int* 2001; 60: 1182.

- 16 Saito H, Kusano K, Kinoshita M, et al. Human fibroblast growth factor-23 mutants suppress Na⁺-dependent phosphate co-transport activity and 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ production. *J Biol Chem* 2003; 278: 2206.
- 17 Evenepoel P, Lerut E, Naesens M, et al. Localization, etiology and impact of calcium phosphate deposits in renal allografts. *Am J Transplant* 2009; 9: 2470.
- 18 Gutierrez OM, Mannstadt M, Isakova T, et al. Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med* 2008; 359: 584.
- 19 Jean G, Terrat JC, Vanel T, et al. High levels of serum fibroblast growth factor (FGF)-23 are associated with increased mortality in long haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 2792.
- 20 Mirza MA, Hansen T, Johansson L, et al. Relationship between circulating FGF23 and total body atherosclerosis in the community. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 3125.
- 21 Kirkpantur A, Balci M, Gurbuz OA, et al. Serum fibroblast growth factor-23 (FGF-23) levels are independently associated with left ventricular mass and myocardial performance index in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26: 1346.
- 22 Fliser D, Kollerits B, Neyer U, et al. Fibroblast growth factor 23 (FGF23) predicts progression of chronic kidney disease: the mild to moderate kidney disease (MMKD) study. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 2600.
- 23 Wolf M, Molnar MZ, Amaral AP, et al. Elevated fibroblast growth factor 23 is a risk factor for kidney transplant loss and mortality. *J Am Soc Nephrol* 2011; 22: 956.
- 24 Kanaan N, Claes K, Devogelaer JP, et al. Fibroblast growth factor-23 and parathyroid hormone are associated with post-transplant bone mineral density loss. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010; 5: 1887.
- 25 Shimada T, Hasegawa H, Yamazaki Y, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 429.
- 26 Dusso AS, Tokumoto M. Defective renal maintenance of vitamin D endocrine system impairs vitamin D renoprotection: a downward spiral in kidney disease. *Kidney Int* 2011; 79: 715.
- 27 Courbebaisse M, Souberbielle JC, Thervet E. Potential nonclassical effects of vitamin D in transplant recipients. *Transplantation* 2010; 89: 131.

Subproyecto 2

Change in bone mineral metabolism parameters, including FGF23, after discontinuing cinacalcet at kidney transplantation

Xoana Barros, David Fuster, Raphael Paschoalin, Federico Oppenheimer, Domenico Rubello, Pilar Perlaza, Francesca Pons and José V. Torregrosa

Endocrine 2015; 49:267–273

Contribución: Primer autor

Factor de Impacto JCR 2014: 3,878

Factor de Impacto JCR 2009-2014: 2,842

Posición en 2014:

- *ISI Journal Citation Reports: Q2 (40/128 Endocrinology & Metabolism)*

Posición en 2015:

- *SCImago Journal Rank: Q2 (79/208 Endocrinology, Diabetes & Metabolism)*

ABSTRACT

Introduction. Little is known about the effects of the administration of cinacalcet in dialytic patients who are scheduled for kidney transplantation, and in particular about the changes in FGF23 and other mineral metabolism parameters after surgery compared with recipients not on cinacalcet at kidney transplantation.

Patients and Methods. We performed a prospective observational cohort study with recruitment of consecutive kidney transplant recipients at our institution. Patients were classified according to whether they were under treatment with cinacalcet before transplantation.

Bone mineral metabolism parameters, including C-terminal FGF23, were measured at baseline, on day 15, and at 1, 3, and 6 months after transplantation.

In previously cinacalcet-treated patients, cinacalcet therapy was discontinued on the day of surgery and was not restarted after transplantation.

Results. A total of 48 kidney transplant recipients, 20 on cinacalcet at surgery and 28 cinacalcet non-treated patients, completed the follow-up. Serum phosphate declined significantly in the first 15 days after transplantation with no differences between the two groups, whereas cinacalcet-treated patients showed higher FGF23 levels, although not significant. After transplantation, PTH and serum calcium were significantly higher in cinacalcet-treated patients.

Conclusion. We conclude that patients receiving cinacalcet on dialysis presented similar serum phosphate levels but higher PTH and serum calcium levels during the initial six months after kidney transplantation than cinacalcet non-treated patients.

The group previously treated with cinacalcet before transplantation showed higher FGF23 levels without significant differences, so further studies should investigate its relevance in the management of these patients.

INTRODUCTION

Cinacalcet, an allosteric modulator of the calcium-sensing receptor, has been approved for the treatment of secondary hyperparathyroidism (SHPT) in dialysis patients, parathyroid carcinoma, and primary hyperparathyroidism. Its efficacy in reducing parathyroid hormone (PTH) levels has been demonstrated in several studies [1–3].

Fibroblast growth factor 23 (FGF23) is a bone-derived hormone that plays an important role in regulating vitamin D and phosphate homeostasis [4]. FGF23 inhibits renal tubular reabsorption of phosphate by suppressing the expression of luminal sodium co-transporters (NaPi) 2a and 2c [5] and also reduces calcitriol levels by inhibiting 1 α -hydroxylase, which converts 25OHD to 1,25(OH)₂D, and by stimulating 24-hydroxylase, which converts calcitriol to inactive metabolites in the proximal tubule of the kidney [6]. FGF23 levels are elevated in patients with chronic kidney disease (CKD), reaching levels 100- to 1000-fold above the normal range in dialysis patients [7, 8]. These levels rapidly decrease to within the normal range between months 1 and 3 after kidney transplantation (KT) [8]. Excess FGF23 at KT may be involved in the hypophosphatemia and low calcitriol levels observed after surgery [8–13].

Recently, cinacalcet has been reported to lower FGF23 levels in dialysis patients, whether this decrease is a direct action or a consequence of alteration of circulating levels of phosphate, calcium, and PTH is unclear [14, 15].

In our recent clinical practice, we observed that a not inconsiderable number of patients on dialysis are under cinacalcet treatment at transplantation, which is stopped at surgery.

Although biochemical profiles and clinical outcomes in patients discontinuing cinacalcet at transplantation are scarce, most studies have found that patients receiving cinacalcet before transplantation develop hypercalcemia, high PTH levels and, in some cases, hypophosphatemia after KT [16,17]. Nevertheless, the mechanisms of action leading to these alterations are unclear.

To date, no study has described whether post-transplantation changes in FGF23 could be influenced by the use of calcimimetics prior to transplantation.

The aim of the present study was to examine if there are differences in FGF23 and other mineral metabolism parameters after KT between patients who received calcimimetics in dialysis and it was halted at surgery compared with patients not on calcimimetics at time of KT.

PATIENTS AND METHODS

Study population

This is a prospective observational study with a 6-month longitudinal follow-up including patients who received a kidney allograft in our center between May 2010 and June 2011. All transplant recipients were consecutively included after accepting to participate and providing informed consent.

Patients who received a preemptive transplant and those with an estimated glomerular filtration rate (eGFR) < 30 ml/min/1.73 m² on day 15 were excluded from the analysis of the present study. We excluded preemptively kidney-transplanted patients because none of them received cinacalcet for treatment of SHPT before transplantation and we already knew that receiving a preemptive kidney transplant would lead to differences in post-transplantation changes in FGF23 and serum phosphate [8].

This study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki, and the study protocol was reviewed and approved by the institutional review board of Hospital Clinic.

Analyses

We prospectively collected blood samples for measurement of serum creatinine, serum phosphate (sPO₄), serum calcium (sCa) (automated ADVIA, Siemens Healthcare Diagnostis, USA), intact PTH (automated immunoassay, Liaison, Diasorin, USA), calcitriol (RIA, Diasorin, USA), and FGF23 (C-terminal fragment, second-generation ELISA, Immunotopics, San Clemente, USA) at baseline, on day 15, and at 1, 3 and 6 months after transplantation.

Calcidiol (automated immunoassay, Liaison, DiaSorin, USA) was measured at baseline and at 6 months.

We calculated sCa adjusted for serum protein: sCa adjusted = sCa measured mg/dl + ((4—Alb g/dL) × 0.8).

eGFR was computed according to the abbreviated Modification of Diet in Renal disease (MDRD) equation in ml/min/1.73 m².

We obtained 24-h urine during the follow-up to calculate FEPO₄: FEPO₄ = uPO₄ mg/dl × sCr mg/dl: uCr mg/dl × sPO₄ mg/dl, normal range 0–25 %.

None of the patients received treatment that could modify the evolution of bone mineral metabolism parameters, such as calcimimetics, phosphate binders or supplements and bisphosphonates or vitamin D, during the follow-up.

Statistical analysis

The results are reported as frequencies for categorical variables, as mean ± SE for normally distributed continuous variables and as medians [interquartile range] for continuous variables with skewed distributions. The Kolmogorov–Smirnov test was performed to determine the distribution of variables. For differences between periods, the paired Student's t test or Wilcoxon's test for paired values was used. For differences between groups, Student's t test or the Mann–Whitney U-test was used. Fisher's exact test or the Chi-square test was used to compare categorical variables. For associations among variables, Pearson correlation was performed and, thereafter, linear regression was used, considering variables with a P value of less than 0.05 in the univariate analysis. All P values were two-tailed and a P value of <0.05 was considered significant.

The statistical analysis was performed with SPSS 15.0.

RESULTS

Study population and baseline results

Forty-eight patients completed the follow-up: 20 who were receiving cinacalcet until surgery (cinacalcet-treated) and 28 cinacalcet-naive patients. The patient's baseline demographic and analytical data are summarized in Tables 1 and 2.

Table 1 Comparison of baseline characteristics between patients receiving calcimimetic therapy at transplantation (cinacalcet was discontinued at surgery and not restarted during the follow-up) and calcimimetic non-treated patients

Parameter	Total (N = 48)	On calcimimetics before KT (N = 20)	Without calcimimetics before KT (N = 28)	P
Patient age (year)	53 ± 12	56 ± 10	50 ± 13	0.08
Patient gender (%male)	62.5	55	68	0.36
Time on dialysis (month)	30 (22–52)	36 (23–76)	30 (21–44)	0.19
Dialysis modality (%PD)	18.8	15	21.4	0.72
Type of transplant (%)				0.7
KT deceased donor	73	70	75	
KT living donor	27	30	25	
Primary renal disease (%)				0.65
Diabetes	33.3	25	39.3	
Hypertension	12.5	10	14.3	
Glomerulonephritis	20.8	20	21.4	
Polycystic kidney disease	8.3	15	3.6	
Interstitial nephritis	2.1	10	6.3	
Unknown or missing	18.8	20	17.9	
Other	25.1	30	21.4	
Immunosuppression (%)				0.9
CNI	79.2	80	78.6	
CNI-free	20.8	20	21.4	

KT kidney transplant, CNI calcineurin inhibitor, PD peritoneal dialysis

Table 2 Comparison of baseline biochemical data between patients receiving calcimimetic therapy at transplantation (cinacalcet was discontinued at surgery and not restarted during the follow-up) and calcimimetic-naive patients

Parameter	Total (N = 48)	On calcimimetics before KT (N = 20)	Without calcimimetics before KT (N = 28)	P
sPO ₄ (mg/dL)	4.41 ± 1.3	4.3 ± 1.5	4.48 ± 1.2	0.65
sCa (mg/mL)	9.1 ± 0.75	9.2 ± 0.86	9.04 ± 0.69	0.48
PTH (pg/mL)	273 (129–396)	311 (98–423)	267 (155–389)	0.75
Calcitriol (pg/mL)	16.8 ± 5.9	14.5 ± 4.8	18.4 ± 6.2	0.039
Calcidiol (ng/mL)	16.23 ± 9.1	17.6 ± 9.1	15.2 ± 9.1	0.36
FGF23 (RU/mL)	2063 (1248–3276)	2264 (1303–3307)	2016 (960–3207)	0.75

sPO₄ serum phosphate, sCa serum calcium, PTH parathyroid hormone, FGF23 fibroblast growth factor 23

Calcitriol levels were lower in cinacalcet-treated patients than in those not receiving calcimimetics at transplantation (P < 0.05). The other demographic and baseline mineral metabolic parameters were similar in both groups (Tables 1, 2).

Cinacalcet was halted in cinacalcet-treated patients at engraftment. None of the patients restarted cinacalcet during the follow-up.

Among the group of cinacalcet-treated patients, the median daily dose at transplantation was 30 mg in 15 patients (75 %), 60 mg in four patients (20 %), and more than 60 mg in only one patient (5 %).

Renal function parameters

Renal function improved equally in both groups. Cinacalcet-treated and Cinacalcet non-treated patients had serum creatinine levels of 1.56 ± 0.5 versus 1.66 ± 0.76 mg/dl at day 15 ($P = 0.6$) and 1.37 ± 0.35 versus 1.29 ± 0.32 mg/dl at the end of follow-up ($P = 0.4$), respectively.

These findings were confirmed by comparing eGFR: 47 ± 16 versus 52 ± 29 ml/min/1.73 m² at day 15 ($P = 0.5$) and 51 ± 14 versus 57 ± 16 ml/min/1.73 m² at 6 months ($P = 0.2$) in the cinacalcet-treated and cinacalcet non-treated groups, respectively.

Serum calcium, PTH, serum phosphate, and FEPO₄

Levels of sCa increased within the first 15 days after transplantation in both groups: from 9.2 ± 0.86 to 9.9 ± 0.67 mg/dl ($P = 0.031$) in cinacalcet-treated patients and from 9.03 ± 0.69 to 9.44 ± 0.49 mg/dl ($P = 0.006$) in cinacalcet non-treated patients. Thereafter, sCa levels remained stable throughout the follow-up period in both groups.

Multiple regression analysis showed relationship between sCa at the six month and simultaneously measured PTH (F statistic 6.597; $P = 0.015$), with a positive correlation ($R = 0.398$; $P = 0.007$).

Levels of sPO₄ decreased within the first 15 days after transplantation in both groups: from 4.3 ± 1.5 to 2.59 ± 0.82 mg/dl ($P = 0.001$) in cinacalcet-treated patients and from 4.49 ± 1.19 to 2.59 ± 0.92 mg/dl ($P = 0.000$) in cinacalcet non-treated patients. Thereafter, sPO₄ levels remained stable until the first month, increasing later until reaching similar levels in the two groups at the end of the follow-up (Fig. 1).

Multiple regression analysis showed relationship between sPO₄ at the six month and simultaneously measured PTH (F statistic 7.889; $P = 0.008$), with a negative correlation ($R = -0.415$; $P = 0.004$).

FEPO₄ was similar in both groups throughout the follow-up: 39.5 versus 39.8 % ($P = 0.9$) at day 15, 42 versus 38.1 % ($P = 0.5$) at day 30, 27.8 versus 28.7 % ($P = 1$) at day 90, and 26.9 versus 26.6 % ($P = 0.9$) at day 180 in cinacalcet-treated and cinacalcet non-treated patients, respectively.

In contrast, PTH levels differed markedly between the two groups. PTH levels remained stable from 311 pg/ml (IQR 98–423 pg/ml) at baseline to 210 pg/ml (IQR 164–273 pg/ml) at the end of follow-up in cinacalcet-treated patients ($P = 0.17$), but decreased in cinacalcet non-treated patients, from 267 pg/ml (IQR 155–389 pg/ml) at baseline to 128 (IQR 93–154 pg/ml) at 6 months after transplantation ($P = 0.000$).

Multiple regression analysis showed relationship between PTH at the six month with baseline PTH and cinacalcet cessation (F statistic 12.382; $P = 0.000$).

Serum calcium and PTH levels were higher in cinacalcet-treated patients during the follow-up (Fig. 2).

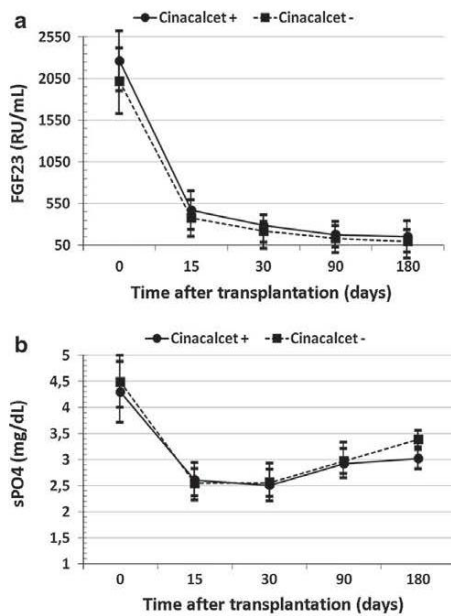


Fig. 1 Time course of fibroblast growth factor 23 (FGF23) (a) and serum phosphate (sPO4) (b) after transplantation in patients who received cinacalcet before transplantation and cinacalcet was halted at engraftment (Cinacalcet+) and cinacalcet non-treated patients (Cinacalcet-). Data is presented as mean \pm standard error of mean (SE). There were no significant differences between groups for FGF23 or sPO4

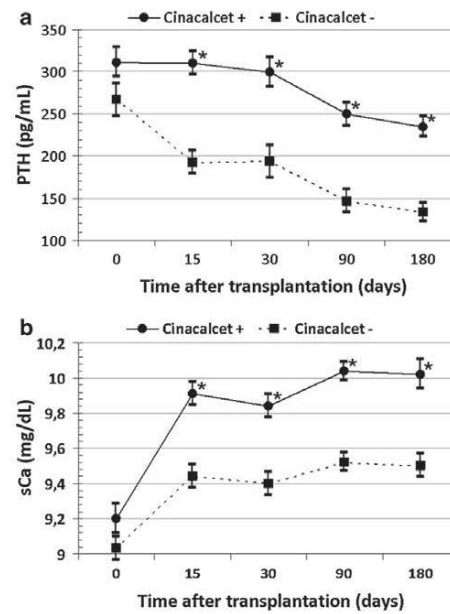


Fig. 2 Time course of parathyroid hormone (PTH) (a) and serum calcium (sCa) (b) after transplantation in patients who received cinacalcet before transplantation and cinacalcet was halted at engraftment (Cinacalcet+) and cinacalcet non-treated patients (Cinacalcet-). Data are presented as mean \pm standard error of mean (SE). Statistical significant differences were found between groups for PTH and sCa as indicated in the graphs of both panels by asterisks

Serum phosphate levels and FEPO₄ were similar between the two groups (Fig. 1). Hypercalcemia, defined as sCa > 10.3 mg/dl, was more common among cinacalcet-treated patients, with a proportion of 35, 22.2, 26.3, and 27.8 % at day 15 and months 1, 3, and 6, respectively, compared with a proportion of 3.6, 0, and 4.3 % at the same time-points in the cinacalcet non-treated group ($P = 0.006$, $P = 0.021$, $P = 0.01$, and $P = 0.07$). At transplantation, PTH levels were ≥ 300 pg/mL in 21 patients (44.7 %), with a similar proportion in the cinacalcet-treated group (55 %) and in the cinacalcet non-treated group (37 %); $P = 0.2$. At the end of follow-up, the proportion of patients with PTH ≥ 100 pg/ml was higher in cinacalcet-treated patients (94.4 %) than in cinacalcet-naive patients (65.2 %); $P = 0.025$.

Vitamin D status

Calcitriol significantly increased in the first month, with no differences between groups, with levels of 26.9 ± 12 versus 22.5 ± 13.2 pg/ml at day 15 ($P = 0.2$) and 37.6 ± 12.4 versus 39.9 ± 21.6 pg/ml at 6 months ($P = 0.7$) in cinacalcet-treated and cinacalcet non-treated patients, respectively.

Calcidiol remained insufficient in both groups with no differences. At month 6, calcidiol levels were 15.2 ± 9.8 ng/ml in cinacalcet-treated patients and 17.6 ± 8.5 ng/ml in cinacalcet non-treated patients ($P = 0.4$).

Fibroblast growth factor 23

FGF23 levels decreased in cinacalcet-treated patients from 2264 RU/ml (IQR 1303–3307 RU/ml) at baseline to 472 RU/ml (IQR 134–674 RU/ml) at day 15 after transplantation ($P = 0.000$), as well as in the cinacalcet non-treated group with a decrease from 2016 RU/ml (IQR 960–3207 RU/ml) at baseline to 379 RU/ml (IQR 116–540 RU/ml) at day 15 ($P = 0.000$). After transplantation, changes in FGF23 were similar between groups, showing cinacalcet-treated patients higher FGF23 levels, although not significant (Fig. 1).

DISCUSSION

The present study examined the evolution of FGF23 blood levels along with other mineral metabolism parameters after KT in patients who received cinacalcet in dialysis and it was halted at surgery compared with patients not on cinacalcet at time of KT.

To our knowledge, it represents the first prospective study comparing the evolution of FGF23 in this specific situation.

As some studies have shown [16, 17], discontinuing cinacalcet at transplantation may result in a rebound of PTH in the early post-transplantation period in incident renal transplant patients. This significant rebound of PTH after cinacalcet cessation has also been reported in maintenance dialysis patients [18] and prevalent renal transplant recipients [19].

Like other authors [16, 17], we observed higher posttransplantation serum calcium and PTH levels along with a higher proportion of hypercalcemia in patients receiving cinacalcet before transplantation than in patients not on cinacalcet at surgery. We also observed that PTH at month six was mainly influenced by baseline PTH along with the fact of receiving cinacalcet treatment at time of KT.

This finding could be explained because cinacalcet-treated and cinacalcet non-treated patients were substantially different at the time of cinacalcet treatment initiation. Therefore, it is very likely that patients receiving cinacalcet had a more severe hyperparathyroidism than cinacalcet non-treated patients and this fact justified cinacalcet initiation during dialysis to avoid the severe complications of SHPT.

The first factor that was recognized to cause hypercalcemia after KT was persistence of SHPT after transplantation [20], almost invariably associated with the nodular form of parathyroid hyperplasia, which is less prone to spontaneous regression even after the uremic state has been corrected [21]. The main factors related to post-transplantation hypercalcemia seem to be PTH-mediated bone resorption and recovered calcitriol levels. We observed that sCa at the six month was mainly influenced by simultaneously measured PTH.

Rebound hyperparathyroidism and associated hypercalcemia should not be considered innocent complications as they contribute to bone loss [22] and may impair graft function either acutely, by inducing vasoconstriction, or chronically, by mediating calcification of the tubulointerstitium (nephrocalcinosis) [23, 24]. However, the data in the literature establishing a clear relationship between the presence of high calcium levels and kidney damage in humans and particularly in kidney transplant patients are scanty and not fully conclusive [25,26].

In contrast, despite observing differences on posttransplantation levels of PTH and serum calcium in cinacalcet- treated compared with cinacalcet non-treated patients, we did not find differences in post-transplantation levels of sPO_4 and $FEPO_4$.

Vitamin D status after transplantation appears to evolve differently for calcidiol and calcitriol. While calcidiol remained lower than normal range and unchanged from baseline, calcitriol increased progressively to reach the normal range within the first 6 months after transplantation.

The fast recovery of calcitriol could be a consequence of its increased production by the kidney and of its lower inhibition by FGF23 [8, 9]. The fact that none of our patients received supplementation with vitamin D during the follow-up could justify the absence of calcidiol recovery to normal levels. Treatment with or without cinacalcet prior to transplantation did not show differences on post-transplantation changes in any of the vitamin D forms.

Excess FGF23 levels were present at transplantation with no differences between groups. After transplantation, FGF23 levels decreased rapidly by 10-fold in 15 days and these changes were independent of cinacalcet treatment before surgery.

A recent study showed that cinacalcet treatment lowers serum FGF23 levels in hemodialysis patients with SHPT independently of the effects of vitamin D [14]. This reduction could be a direct effect or could be due to changes in other mineral metabolic parameters, such as reduction of sPO_4 levels, which have been shown to influence FGF23 levels in clinical and in vivo studies [27]. However, a recent animal study reported a significant reduction in FGF23 levels in CKD rats treated with cinacalcet, which occurred despite a marked increase in serum phosphate [28]. Although these studies demonstrated an influence of cinacalcet on FGF23 levels in dialysis, we observed that this effect does not extend to the period after KT if cinacalcet is discontinued at surgery. Therefore, it seems that the absence of differences in post-transplantation FGF23 levels according to whether patients received or not cinacalcet prior to transplantation could explain the lack of differences in post-transplantation sPO_4 , $FEPO_4$, and calcitriol levels between the two groups. However, recent experimental studies suggest that both calcium and PTH can stimulate FGF23 expression in osteocytes, it could explain the tendency in our series to have higher levels of FGF23 in the group previously treated with cinacalcet [29].

We conclude that patients receiving cinacalcet on dialysis presented similar FGF23 and serum phosphate levels but higher PTH and serum calcium levels during the initial six months after KT than cinacalcet non-treated patients.

The group treated with cinacalcet showed higher FGF23 levels but without significant differences and further studies should establish its relevance in the management of these patients.

REFERENCES

- 1 G.A. Block, K.J. Martin, A.L. de Francisco, S.A. Turner, M.M. Avram, M.G. Suranyi, G. Hercz, J. Cunningham, A.K. Abu-Alfa, P. Messa, D.W. Coyne, F. Locatelli, R.M. Cohen, P. Evenepoel, S.M. Moe, A. Fournier, J. Braun, L.C. McCary, V.J. Zani, K.A. Olson, T.B. Drüeke, W.G. Goodman, Cinacalcet for secondary hyperparathyroidism in patients receiving hemodialysis. *N. Engl. J. Med.* 350, 1516 (2004)
- 2 P. Urena, S.H. Jacobson, E. Zitt, M. Vervloet, F. Malberti, N. Ashman, S. Leavey, M. Rix, I. Os, H. Saha, M. Ryba, V. Bencova, A. Baños, V. Zani, D. Fouque, Cinacalcet and achievement of the NKF/K-DOQI recommended target values for bone and mineral metabolism in renal-world clinical practice—the ECHO observational study. *Nephrol. Dial. Transplant.* 24, 2852 (2009)
- 3 D. Li, L. Shao, H. Zhou, W. Jiang, W. Zhang, Y. Xu, The efficacy of cinacalcet combined with conventional therapy on bone and mineral metabolism in dialysis patients with secondary hyperparathyroidism: a meta-analysis. *Endocrine* 43, 68–77 (2013)
- 4 S. Seilier, H. Heine, D. Fliser, Clinical relevance of FGF-23 in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 76(114), S34–S42 (2009)
- 5 H. Saito, K. Kusano, M. Kinosaki, H. Ito, M. Hirata, H. Segawa, K. Miyamoto, N. Fukushima, Human fibroblast growth factor-23 mutants suppress Na⁺-dependent phosphate co-transport activity and 1 α ,25-dihydroxyvitamin D₃ production. *J. Biol. Chem.* 278, 2206–2211 (2003)
- 6 T. Shimada, H. Hasegawa, Y. Yamazaki, T. Muto, R. Hino, Y. Takeuchi, T. Fujita, K. Nakahara, S. Fukumoto, T. Yamashita, FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J. Bone Miner. Res.* 19, 429–435 (2004)
- 7 T. Larsson, U. Nisbeth, O. Ljunggren, H. Juppner, 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.* 64, 2272–2279 (2003)
- 8 X. Barros, J.V. Torregrosa, M.J. Martinez de Osaba, G. Casals, R. Paschoalin, C.E. Duran, J.M. Campistol, Earlier decrease and less hypophosphatemia in preemptive kidney transplant recipients. *Transplantation* 94, 830–841 (2012)
- 9 P. Evenepoel, M. Naesens, K. Claes, D. Kuypers, Y. Vanrenterghem, Tertiary hyperphosphatoninism accentuates hypophosphatemia and suppresses calcitriol levels in renal transplant recipients. *Am. J. Transplant.* 7, 1193–2002 (2007)
- 10 I. Bhan, A. Shah, J. Holmes, T. Isakova, O. Gutierrez, S.M. Burnett, H. Juppner, M. Wolf, Post-transplant hypophosphatemia: tertiary hyperphosphatoninism? *Kidney Int.* 70, 1486–1494 (2006)
- 11 D. Economidou, S. Dovas, A. Papagianni, P. Pateinakis, D. Memmos, FGF-23 levels before and after renal transplantation. *J. Transplant.* Article ID 379082 (2009). doi:10.1155/2009/379082
- 12 H. Kawarazaki, Y. Shibagaki, S. Fukumoto, R. Kido, I. Nakajima, S. Fuchinoue, T. Fujita, M. Fukagawa, S. Teraoka, The relative role of fibroblast growth factor 23

- and parathyroid hormone in predicting future hypophosphatemia and hypercalcemia after living donor kidney transplantation: a 1-year prospective observational study. *Nephrol. Dial. Transplant.* 26, 2691–2695 (2011)
- 13 A. Trombetti, L. Richert, K. Hadaya, J.D. Graf, F.R. Herrmann, S.L. Ferrari, P.Y. Martin, R. Rizzoli, Early post-transplantation hypophosphatemia is associated with elevated FGF-23 levels. *Eur. J. Endocrinol.* 164, 839–847 (2011)
- 14 J.B. Wetmore, L. Shiguang, R. Krebill, R. Menard, L.D. Quarles, Effects of cinacalcet and concurrent low-dose vitamin D on FGF23 levels in ESRD. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* 5, 110–116 (2010)
- 15 M. Koizumi, H. Komaba, S. Nakanishi, A. Fujimori, M. Fukagawa, Cinacalcet treatment and serum FGF23 levels in haemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Nephrol. Dial. Transplant.* 27, 784–790 (2012)
- 16 P. Evenepoel, B. Sprangers, E. Lerut, B. Bammens, K. Claes, D. Kuypers, B. Meijers, Y. Vanrenterghem, Mineral metabolism in renal transplant recipients discontinuing cinacalcet at the time of transplantation: a prospective observational study. *Clin. Transplant.* 26, 393–402 (2012)
- 17 J.V. Torregrosa, C. Bergua, M.J. Martinez de Osaba, F. Oppenheimer, J.M. Campistol, Evolution of secondary hyperparathyroidism after kidney transplantation in patients receiving cinacalcet on dialysis. *Transplant. Proc.* 41, 2396–2398 (2009)
- 18 M. Meola, I. Petrucci, G. Barsotti, Long-term treatment with cinacalcet and conventional therapy reduces parathyroid hiperplasia in severe secondary hyperparathyroidism. *Nephrol. Dial. Transplant.* 24, 982–989 (2009)
- 19 A.L. Serra, R. Savoca, A.R. Huber, U. Hepp, A. Delsignore, M. Hersberger, R.P. Wuthrich, Effective control of persistent hyperparathyroidism with cinacalcet in renal allograft recipients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2007(22), 577–583 (2007)
- 20 P. Evenepoel, B. Van Den Bergh, M. Naesens, H. De Jonge, B. Bammens, K. Claes, D. Kuypers, Y. Vanrenterghem, Calcium metabolism in the early posttransplantation period. *Clin. J. Am. Nephrol.* 4, 665–672 (2009)
- 21 D.A. McCarron, R.S. Muther, B. Lenfesty, W.M. Bennett, Parathyroid function in persistent hyperparathyroidism: relationship to gland size. *Kidney Int.* 22, 662–670 (1982)
- 22 J. Heaf, E. Tvedegaard, I.L. Kanstrup, N. Fogh-Andersen, Hyperparathyroidism and long term bone loss after renal transplantation. *Clin. Transplant.* 17, 268–274 (2003)
- 23 H. Boom, M.J. Mallat, J.W. de Fijter, L.C. Paul, J.A. Brujin, L.A. van Es, Calcium levels as a risk factor for delayed graft function. *Transplantation* 77, 868–873 (2004)
- 24 W. Gwinner, S. Suppa, M. Mengel, L. Hoy, H.H. Kreipe, H. Haller, A. Schwarz, Early calcification of renal allografts detected by protocol biopsies: causes and clinical implications. *Am.J. Transplant.* 5, 1934–1941 (2005)
- 25 P. Messa, C. Cafforio, C. Alfieri, Clinical impact of hypercalcemia in kidney transplant. *Int. J. Nephrol.* Article ID 906832 (2011). doi:10.4061/2011/906832

-
- 26 R.P. Paschoalin, J.V. Torregrosa, X. Barros, C.E. Duran, M. Soler, J.M. Campistol, Withdrawal of cinacalcet at the time of renal transplantation is not a risk factor for allograft calcifications in the early post transplantation period. *Tranplant Proc.* 44, 2379–2380 (2012)
- 27 M.S. Razzaque, The FGF23_Klotho axis: endocrine regulation of phosphate homeostasis. *Nat. Rev. Endocrinol.* 5, 611–619 (2009)
- 28 J.L. Finch, M. Tokumoto, H. Nakamura, W. Yao, M. Shahnazari, N. Lane, E. Slatopolsky, Effect of paricalcitol and cinacalcet on serum phosphate, FGF-23, and bone in rats with chronic kidney disease. *Am. J. Physiol. Renal. Physiol.* 298, F1315–F1322 (2010)
- 29 T. Meir, K. Durlacher, Z. Pan, G. Amir, W.G. Richards, J. Silver, T. Naveh-Many, Parathyroid hormone activates the orphan nuclear receptor Nurrl to induce FGF23 transcription. *Kidney Int.* 86, 1106– 1115 (2014)

Subproyecto 3

Rapid calcitriol increase and persistent calcidiol insufficiency in the first 6 months after kidney transplantation

Xoana Barros, David Fuster, Néstor Rodríguez, Lida Rodas, Maria J. Martínez-Osaba, Josep M. Campistol, Domenico Rubello, Patrick M. Colletti, Francisco Campos, Francesca Pons and José V. Torregrosa

Nuclear Medicine Communications 2015; 36: 489-493

Contribución: Primer autor

Factor de Impacto JCR 2015: 1,453

Factor de Impacto JCR 2010-2015: 1,454

Posición en 2015:

- *ISI Journal Citation Reports: Q3 (87/124 Radiology, Nuclear Medicine & Imaging)*
- *SCImago Journal Rank: Q2 (88/258 Radiology, Nuclear Medicine & Imaging)*

ABSTRACT

Introduction. Vitamin D deficiency or insufficiency is prevalent in kidney transplant recipients. Little is known about post-transplantation changes in vitamin D forms, which are essential for bone health and other health outcomes. The aim was to measure the levels of calcidiol and calcitriol during the first 6 months after kidney transplantation and examine their relation with other bone mineral metabolic parameters.

Patients and Methods. Prospective study was performed on 98 patients recruited between April 2010 and June 2011. Calcidiol and calcitriol levels were measured at baseline and at days 15, 30, 90, and 180 after kidney transplantation.

Results. Serum calcidiol levels remained persistently low: 14.3 (9–22) ng/ml at baseline and 16.3 (10.1–20.6) ng/ml at 6 months ($P=0.641$). At 6 months, calcidiol levels showed an inverse correlation with simultaneously measured parathyroid hormone levels. Calcidiol showed a trend to be higher in patients transplanted in spring but with no statistically significant difference. Calcitriol levels increased from 17 (13–23.7) pg/ml at baseline to 24 (16–32) pg/ml ($P=0.002$) in the first 2 weeks after transplantation and reached 37 (25–50) pg/ml ($P=0.000$) after 6 months. During the follow-up, calcitriol levels showed a significant inverse correlation with baseline fibroblast growth factor-23 levels. At month 6, calcitriol levels were inversely correlated with baseline fibroblast growth factor-23 levels and directly correlated with calcidiol levels.

Conclusion. In most patients, calcidiol levels remain low 6 months after kidney transplantation, whereas calcitriol levels rapidly return to normal. Lower calcidiol blood levels promoted lower calcitriol blood levels and higher parathyroid hormone concentrations.

INTRODUCTION

Traditionally, vitamin D deficiency has been associated with the development of rickets in children, with osteomalacia in adults, and with an increased risk for osteoporosis¹.

More recently, vitamin D has been shown to help reduce the risk for type 2 diabetes mellitus², cardiovascular diseases³, cancer⁴, infectious diseases⁵, decrease in renal function⁶, and graft rejection^{7,8}.

The major source of vitamin D comes from conversion of 7-dehydrocholesterol into vitamin D₃ in the skin under ultraviolet B radiation. Once vitamin D is produced in the skin (D₃ isoform) or is ingested (D₂ or D₃ isoforms), it is transported to the liver, where it is converted to 25-hydroxyvitamin D (25OHD or calcidiol). Calcidiol is then converted to its active form, 1,25-dihydroxyvitamin D (calcitriol), by the renal CYP27B₁ enzyme (1 α hydroxylase).

Renal calcitriol production is regulated by parathyroid hormone (PTH) and fibroblast growth factor-23 (FGF-23) and contributes to endocrine regulation of calcium and phosphorus homeostasis⁹.

Other tissues, unrelated to bone metabolism, are involved in calcitriol production, such as prostate, colon, breast, pancreatic β cells, cardiomyocytes, vascular smooth muscle cells, endothelial cells, and macrophages, which express both vitamin D receptor and the CYP27B₁ enzyme; this extrarenal production of calcitriol is considered to have autocrine or paracrine effects⁹⁻¹¹.

Measurement of serum calcidiol concentrations is considered to be the more reliable measure of vitamin D status⁹.

Although consensus is lacking, vitamin D deficiency is defined as calcidiol levels lower than 10 ng/ml, because such levels increase the risk for rickets/osteomalacia and decrease active absorption of calcium in the intestine¹². Vitamin D insufficiency is defined as calcidiol levels of between 10 and 29 ng/ml, because this limit is associated with an increase in PTH secretion¹³ and because interventional studies have shown positive effects of vitamin D supplementation when calcidiol levels are above 30 ng/ml¹⁴. Calcidiol insufficiency is common in the general population and shows seasonal and geographical variations^{15,16}.

In chronic kidney disease (CKD), the kidney not only loses its ability to transform calcidiol to circulating calcitriol, because of a reduction in renal CYP27B₁, but also loses its ability to maintain serum calcidiol levels¹⁷. Moreover, CKD decreases vitamin D metabolism by the liver¹⁸.

After kidney transplantation, calcidiol deficiency persists in more than 85% of kidney transplant recipients¹⁹⁻²¹.

In CKD patients, low calcitriol levels are due to impaired calcitriol production by the kidney and high FGF-23 levels⁹, but in the initial months after kidney transplantation, when kidney function improves and FGF-23 levels decrease, the evolution of calcitriol blood levels is not very well known^{22,23}.

The main aim of our study was to determine the behavior of calcidiol and calcitriol levels in the early posttransplantation period, defined as the first 6 months after kidney transplantation, and their relation with other bone mineral metabolic parameters.

PATIENTS AND METHODS

Study population

We performed a 6-month longitudinal follow-up prospective observational study that examined changes in bone mineral metabolism parameters after consecutive inclusion of 72 patients (45 men) who received a kidney transplantation between April 2010 and June 2011.

Eleven kidney transplantations (15.3%) were performed in winter (December–February), 24 (33.3%) in spring (March–May), 20 (27.8%) in summer (June–August), and 17 (23.6%) in autumn (September–November).

This study was conducted in accordance with the principles of the Declaration of Helsinki, and the study protocol was reviewed and approved by the institutional review board of Hospital Clinic.

Analysis

All transplant recipients were consecutively included after they had accepted to participate in this study and had provided informed consent.

Twenty-eight patients with an estimated glomerular filtration rate less than 30 ml/min/1.73m² on day 15, indicating a persistently deteriorating renal function, and unable to metabolize vitamin D were excluded from the analysis.

We measured 25(OH)D (automated immunoassay; Liaison, Diasorin, Minnesota, USA) at baseline and at 6 months.

1,25(OH)₂D was measured (RIA, Diasorin, Minnesota, USA) simultaneously with serum creatinine (N=0.30–1.30 mg/dl), intact PTH (automated immunoassay; Liaison) (N=10–65 pg/ml), and FGF-23 (C-terminal fragment, ELISA; Immunotopics, San Clemente, California, USA) at baseline, on day 15, and at 1, 3, and 6 months after transplantation.

We computed estimated glomerular filtration rate according to the abbreviated modification of diet in renal disease equation in ml/min/1.73m².

Statistics

Results are expressed as frequencies for categorical variables, as mean \pm SD for continuous variables with normal distribution, and as median (interquartile range) for continuous variables with skewed distribution. The paired Student t-test or the Wilcoxon test was used to analyze differences between periods. The Student t-test or the Mann–Whitney U-test was used to analyze differences between two groups. Analysis of variance or Kruskal–Wallis was performed to assess differences among more than two groups. Pearson (r) and Spearman (ρ) correlation coefficients were used to assess associations among variables, and thereafter a multivariate linear regression model was performed using multivariate analysis of variance command to establish whether all equations were statistically significant.

All P-values were two-tailed and a P-value less than 0.05 was considered significant. The statistical analysis was performed with SPSS 15.0 (SPSS Inc., Chicago, Illinois, USA).

RESULTS

Baseline results

The mean age of the patients was 50.7 ± 12.6 years.

Twenty-four patients (33.3%) had diabetes. The primary kidney disease was diabetic nephropathy in 22 patients (30.6%), glomerulonephritis in 16 (22.2%), kidney disease of unknown etiology in 10 (13.9%), hypertensive/vascular disease in 9 (12.5%), polycystic kidney disease in 7 (9.7%), urologic disease in 5 (6.9%), and interstitial nephritis in three patients (4.2%).

Five patients (6.9%) underwent parathyroidectomy before receiving the kidney transplant.

Cinacalcet, vitamin D analogs, and phosphate binders were discontinued at surgery and were not restarted in any of the patients.

Fourteen patients (19.4%) received a pre-emptive transplant.

Fifty-eight patients (80.6%) were on dialysis for a median of 36 months (interquartile range 24.5–56.2) before receiving the transplant. Eleven patients (15.3%) were on peritoneal dialysis.

Twenty-three patients (32%) received a living donor transplant. Thirteen patients (18%) received a simultaneous pancreas–kidney transplant.

Immunosuppression was based on calcineurin inhibitors in 55 patients (76.4%) and was calcineurin inhibitor-free in 17 patients (23.6%).

Renal function at baseline and at 6 months did not show statistically significant differences and serum creatinine levels were 1.52 ± 0.7 and 1.36 ± 0.4 , respectively.

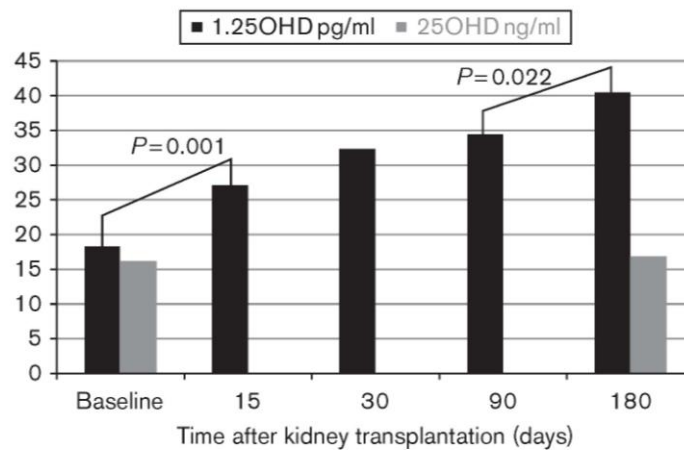
Calcidiol

The median calcidiol level at baseline was 14.3 (9–22) ng/ml and no differences were observed among patients on the basis of sex, age, or the season when the transplant was performed. No differences were found in patients with and without diabetes or between patients who were under dialysis before transplantation and those who received a pre-emptive transplant.

Baseline calcidiol correlated significantly with baseline PTH ($\rho = -0.298$, $P = 0.014$). Multivariate linear regression showed an inverse relationship between baseline calcidiol levels and simultaneously measured PTH levels ($P = 0.010$).

Calcidiol levels were low at baseline and remained low at 6 months (Fig. 1).

Fig. 1



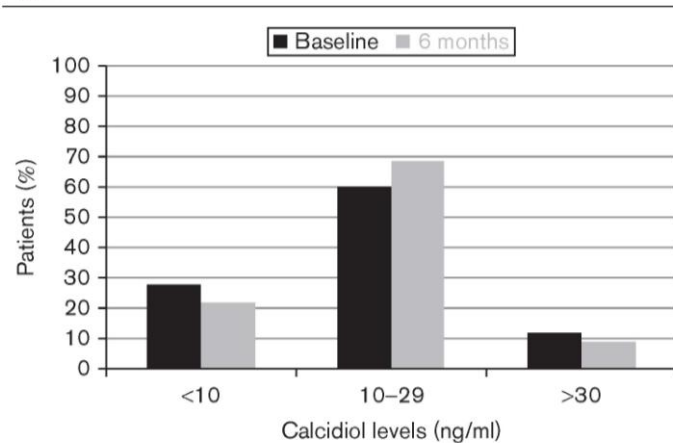
Changes in calcidiol (25OHD) and calcitriol (1,25OHD) levels after kidney transplantation. Results are expressed as mean and SD. There were no significant differences between periods for calcidiol and there was a significant increase in calcitriol at day 15 ($P=0.001$), which continued increasing significantly between day 90 and month 6 ($P=0.022$).

At 6 months, the median calcidiol level was 16.3 (10.1–20.6) ng/ml. No differences were found on the basis of sex, donor characteristics (living vs. deceased donor), or type of graft (isolated vs. combined pancreas–kidney transplant). Immunosuppression had no influence on calcidiol levels at 6 months.

At 6 months, multivariate linear regression showed a direct relationship between calcidiol and simultaneously measured calcitriol and an inverse relationship with simultaneously measured PTH and with the season when the transplant was performed ($P=0.007$).

The proportion of patients with normal, deficient, or insufficient blood levels of calcidiol was unchanged during the follow-up (Fig. 2).

Fig. 2



Proportion of patients with calcidiol deficiency (< 10 ng/ml) or insufficiency (10–29 ng/ml), or adequate calcidiol levels (>30 ng/ml) at baseline and at 6 months after kidney transplantation. There were no significant changes during the follow-up.

At 6 months after transplantation, calcidiol levels were higher in patients who had received a transplant in spring than in those transplanted in autumn [23.1 (14.5–35.9) vs. 11.4 (10.22–18.77) ng/ml; $P = 0.03$] and summer [11 (9–19.85) ng/ml; $P = 0.059$].

Calcidiol levels increased only in patients who underwent transplantation in spring, but this increase was not significant.

Calcitriol

The median calcitriol level at baseline was 17 (13–23.7) pg/ml with no differences among patients on the basis of age or sex. No differences were found on the basis of whether the patients had been under dialysis before transplantation.

Baseline calcitriol correlated with baseline FGF-23 ($\rho = -0.325$, $P = 0.009$). Multivariate linear regression analysis showed no interdependence between baseline calcitriol levels and FGF-23, PTH, or baseline calcidiol levels.

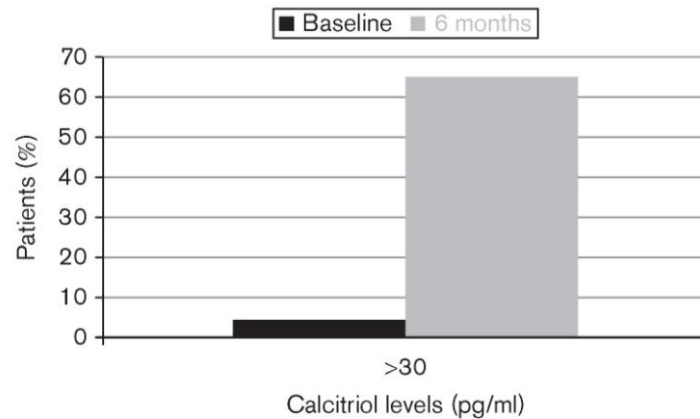
During the follow-up, calcitriol levels increased from 17 (13–23.7) pg/ml at baseline to 24 (16–32) pg/ml on day 15, 30 (21–40) pg/ml on day 30, 29 (19.2–43) pg/ml on day 90, and 37 (25–50) pg/ml on day 180. The increase was significant in the first 15 days after transplantation ($P = 0.002$) and continued until month 6 (Fig. 1).

At 6 months, there were no differences in calcitriol levels between patients on the basis of age or sex, the use of pretransplantation dialysis, or the type of transplant (isolated kidney transplant vs. simultaneous pancreas–kidney transplant, or deceased vs. living donor transplant).

Immunosuppression had no influence on calcitriol levels at 6 months.

During the follow-up, the proportion of patients with calcitriol levels above 30 pg/ml increased from 4.7 to 65.3% (Fig. 3).

Fig. 3



Proportion of patients with levels of calcitriol above 30 pg/ml at baseline and at 6 months after kidney transplantation ($P=0.001$).

Multivariate linear regression analysis revealed an inverse relationship between baseline FGF-23 and calcitriol levels at each time point (days 15, 30, 90, and 180). Multiple linear regression analysis showed an independent relation of calcitriol at 6 months with simultaneously measured calcidiol and baseline FGF-23 ($P=0.004$).

DISCUSSION

In this study we analyzed changes in the blood levels of calcidiol and calcitriol in the first 6 months after kidney transplantation. We found that calcitriol blood levels rapidly increased, whereas calcidiol levels remained low.

Despite increased interest among physicians in the vitamin D status of CKD patients and kidney transplant recipients, there are few published reports of calcidiol and calcitriol levels in the first 6 months after kidney transplantation¹⁹⁻²², and vitamin D supplementation is usually delayed.

In this study, the prevalence of calcidiol insufficiency in CKD patients at the time of kidney transplantation was 60.3% and that of calcidiol deficiency was 27.9% (Fig. 2).

This finding is consistent with studies of calcidiol status in CKD patients²⁴ and in incident kidney transplant recipients²⁵.

Calcidiol levels remained low at 6 months after kidney transplantation (Fig. 1). This finding was expected because previous reports have indicated that kidney transplant recipients have a high risk of calcidiol deficiency¹⁹⁻²¹, and show lower calcidiol levels compared with the general population²⁰.

Throughout the study, we observed an association between low blood calcidiol levels and higher PTH concentrations. This association has previously been described in CKD patients²⁶, stable kidney transplant recipients^{21,27}, and in the general population²⁸, suggesting that calcidiol deficiency could be partly responsible for the persistence of high PTH blood levels.

When 6-month calcidiol levels were analyzed according to the season when kidney transplantation was performed, the highest levels were found in patients who had undergone transplantation in spring. In fact, at 6 months after kidney transplantation, calcidiol levels increased only in patients who had undergone transplantation in spring and were similar to or lower than baseline levels in patients who had undergone transplantation in other seasons.

An explanation for this finding is that, in patients transplanted in spring, the 6-month determination was taken just after the end of the summer, which is the sunniest season. Previous studies have reported an association between calcidiol levels and sun exposure in relation to the different seasons^{15,19}. The use of clothes can reduce calcidiol levels²⁹ and the use of a factor 8 sunscreen reduces the skin's production of vitamin D by 95%³⁰. Therefore, the persistently low calcidiol levels in most of our patients could be partly explained by the reduced sun exposure recommended in kidney transplant recipients to prevent skin cancers³¹.

Another factor could be the use of corticosteroids, which may affect vitamin D metabolism by activating genes involved in the expression of enzymes that catabolize vitamin D³².

Calcitriol levels significantly increased during the first 6 months after kidney transplantation, with a rapid increase in the first 2 weeks (Fig. 1). Six months after transplantation, calcitriol levels had reached normal values in most patients.

The increase in calcitriol in the first 6 months after kidney transplantation could be explained by lower inhibition by FGF-23³³.

We also observed a positive influence of baseline PTH and calcidiol levels at month 6. The most frequent alterations observed in transplanted patients, such as persistent hyperparathyroidism (with or without hypercalcemia) and hypophosphatemia, may stimulate the production of calcitriol and theoretically support a decrease in serum calcidiol. However, we observed a positive relationship between calcidiol and calcitriol after transplantation.

Inadequate serum calcidiol levels in kidney transplant recipients have been related to increased risk for malignancies^{11,34}, cardiovascular disease³, diabetes², poor outcome of CKD⁶, and chronic allograft nephropathy⁷.

In kidney transplant recipients, the provision of a source of calcidiol would serve not only to supply the substrate of the extrarenal CYP27B1 enzyme, which is involved in nonclassical effects, but also to improve control of PTH levels and stimulate adequate calcitriol levels, which were persistently low in one-third of our patients.

CONCLUSION

Calcidiol levels remained persistently low 6 months after kidney transplantation, whereas calcitriol levels rapidly increased in most patients. Lower calcidiol blood levels promoted lower calcitriol blood levels and higher PTH concentrations. Given the harmful effects of calcidiol deficiency, our results suggest the potential benefits of early calcidiol supplementation in kidney transplant recipients.

REFERENCES

- 1 Holick MF. The role of vitamin D for bone health and fracture prevention. *Curr Osteoporos Rep* 2006; 4:96–102.
- 2 Pittas AG, Lau J, Hu FB, Dawson-Hughes B. The role of vitamin D and calcium in type 2 diabetes. A systematic review and meta-analysis. *J Clin Endocrinol Metab* 2007; 92:2017–2029.
- 3 Wang TJ, Pencina MJ, Booth SL, Jacques PF, Ingelsson E, Lanier K, et al. Vitamin D deficiency and risk of cardiovascular disease. *Circulation* 2008; 117:503–511.
- 4 Garland CF, Garland FC. Do sunlight and vitamin D reduce the likelihood of colon cancer? *Int J Epidemiol* 1980; 9:227–231.
- 5 Cannell JJ, Vieth R, Umhau JC, Holick MF, Grant WB, Madronich S, et al. Epidemic influenza and vitamin D. *Epidemiol Infect* 2006; 134:1129–1140.
- 6 Ravani P, Malberti F, Tripepi G, Pecchini P, Cutrupi S, Pizzini P, et al. Vitamin D levels and patient outcome in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2009; 75:88–95.
- 7 Hullett DA, Laeseke PF, Malin G, Nessel R, Sollinger HW, Becker BN. Prevention of chronic allograft nephropathy with vitamin D. *Transpl Int* 2005; 18:1175–1186.
- 8 Van Etten E, Mathieu C. Immunoregulation by 1,25-dihydroxyvitamin D₃: basic concepts. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2005; 97:93–101.
- 9 Holick MF. Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 2007; 357:266–281.
- 10 Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 289:F8–F28.
- 11 Courbebaisse M, Souberbielle JC, Thervet E. Potential nonclassical effects of vitamin D in transplant recipients. *Transplantation* 2010; 89:131–137.
- 12 Heaney RP. Vitamin D depletion and effective calcium absorption. *J Bone Miner Res* 2003; 18:1342.
- 13 Dawson-Hughes B, Heaney RP, Holick MF, Lips P, Meunier PJ, Vieth R. Estimates of optimal vitamin D status. *Osteoporos Int* 2005; 16:713–716.
- 14 Bischoff-Ferrari HA, Giovannucci E, Willett WC, Dietrich T, Dawson-Hughes B. Estimation of optimal serum concentrations of 25-hydroxyvitamin D for multiple health outcomes. *Am J Clin Nutr* 2006; 84:18–28.
- 15 Tangpricha V, Pearce EN, Chen TC, Holick MF. Vitamin D insufficiency among free-living healthy young adults. *Am J Med* 2002; 112:659–662.
- 16 Arabi A, El Rassi R, El-Hajj Fuleihan G. Hypovitaminosis D in developing countries-prevalence, risk factors and outcomes. *Nat Rev Endocrinol* 2010; 6:550–561.
- 17 Dusso AS, Tokumoto M. Defective renal maintenance of the vitamin D endocrine system impairs vitamin D renoprotection: a downward spiral in kidney disease. *Kidney Int* 2011; 79:715–729.
- 18 Michaud J, Naud J, Ouimet D, Demers C, Petit JL, Leblond FA, et al. Reduced hepatic synthesis of calcidiol in uremia. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21:1488–1497.
- 19 Reinhardt W, Bartelworth H, Jockenhövel F, Schmidt-Gayk H, Witzke O, Wagner K, et al. Sequential changes of biochemical bone parameters after kidney transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 1998; 13:436–442.

- 20 Querings K, Girndt M, Geisel J, Georg T, Tilgen W, Reichrath J. 25-hydroxyvitamin D deficiency in renal transplant recipients. *J Clin Endocrinol Metab* 2006; 91:526-529.
- 21 Stavroulopoulos A, Cassidy MJ, Porter CJ, Hosking DJ, Roe SD. Vitamin D status in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2007; 7:2546-2552.
- 22 Riancho JA, de Francisco AL, del Arco C, Amado JA, Cotorruelo JG, Arias M, Gonzalez-Macias J. Serum levels of 1,25-dihydroxyvitamin D after renal transplantation. *Miner Electrolyte Metab* 1988; 14:332-337.
- 23 Bhan I, Shah A, Holmes J, Isakova T, Gutierrez O, Burnett SM, et al. Posttransplant hypophosphatemia: tertiary 'Hyper-Phosphatoninism'? *Kidney Int* 2006; 70:1486-1494.
- 24 LaClair RE, Hellman RN, Karp SL, Kraus M, Ofner S, Li Q, et al. Prevalence of calcidiol deficiency in CKD: a cross-sectional study across latitudes in the United States. *Am J Kidney Dis* 2005; 45:1026-1033.
- 25 Sadlier DM, Magee CC. Prevalence of 25(OH) vitamin D (calcidiol) deficiency at time of renal transplantation: a prospective study. *ClinTransplant* 2007; 21:683-688.
- 26 Ghazali A, Fardellone P, Pruna A, Atik A, Achard JM, Oprisiu R, et al. Is low plasma 25-(OH)vitamin D a major risk factor for hyperparathyroidism and Looser's zones independent of calcitriol? *Kidney Int* 1999; 55:2169-2177.
- 27 Boudville NC, Hodsman AB. Renal function and 25-hydroxyvitamin D concentrations predict parathyroid hormone levels in renal transplant patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21:2621-2624.
- 28 Lips P. Vitamin D deficiency and secondary hyperparathyroidism in the elderly: consequences for bone loss and fractures and therapeutic implications. *Endocr Rev* 2001; 22:477-501.
- 29 Matsuoka LY, Wortsman J, Dannenberg MJ, Hollis BW, Lu Z, Holick MF. Clothing prevents ultraviolet-B radiation-dependent photosynthesis of vitamin D₃. *J Clin Endocrinol Metab* 1992; 75:1099-1103.
- 30 Holick MF, Matsuoka LY, Wortsman J. Regular use of sunscreen on vitamin D levels. *Arch Dermatol* 1995; 131:1337-1339.
- 31 Randle HW. The historical link between solid-organ transplantation, immunosuppression, and skin cancer. *Dermatol Surg* 2004; 30 (Pt2):595-597.
- 32 Pascussi JM, Robert A, Nguyen M, Walrant-Debray O, Garabedian M, Martin P, et al. Possible involvement of pregnane X receptor-enhanced CYP24 expression in drug-induced osteomalacia. *J Clin Invest* 2005; 115:177-186.
- 33 Barros X, Torregrosa JV, Martínez de Osaba MJ, Casals G, Paschoalin R, Durán CE, Campistol JM. Earlier decrease of FGF-23 and less hypophosphatemia in preemptive kidney transplant recipients. *Transplantation* 2012; 94:830-836.
- 34 Ducloux D, Courivaud C, Bamoulid J, Kazory A, Dumoulin G, Chalopin JM. Pretransplant serum vitamin D levels and risk of cancer after renal transplantation. *Transplantation* 2008; 85:1755-1759.

Subproyecto 4

Comparison of two different vitamin D supplementation regimens with oral calcifediol in kidney transplant patients

Xoana Barros, Nestor Y. Rodríguez, David Fuster, Lida Rodas, Nuria Esforzado, Alberto Mazza, Domenico Rubello, Francisco Campos, Andrés Tapias, José Vicente Torregrosa

J Nephrol 2016; 29: 703-709

Contribución: Primer autor

Factor de Impacto JCR 2015: 1,352

Factor de Impacto JCR 2010-2015: 1,487

Posición en 2015:

- *ISI Journal Citation Reports: Q3 (52/77 Urology & Nephrology)*
- *SCImago Journal Rank: Q2 (23/56 Nephrology)*

ABSTRACT

Introduction. Vitamin D deficiency is prevalent in kidney transplant recipients (KTR) and recommendations on how to replenish vitamin D deposits are scarce.

Aim. To evaluate, in KTR, the safety and efficacy of calcifediol in two different vitamin D supplementation regimens, in order to assess the most suitable dose.

Patients and Methods. Prospective observational study with two calcifediol supplementation regimens randomly prescribed by clinicians in liquid form, at 266 mcg doses, monthly or biweekly. We analyzed 168 KTR with a functioning allograft for more than 6 months. Patients receiving other vitamin D forms, calcimimetics or bisphosphonates were excluded. Before calcifediol initiation (pre-treatment levels) and after at least 3 months of treatment (post-treatment levels), we measured serum levels of 25-OH vitamin D (25(OH)D), parathyroid hormone (PTH), alkaline phosphatase (ALP), calcium (sCa), phosphate (sPO₄) and creatinine (sCreat).

Results. In the monthly group (n = 72), 25(OH)D levels increased from 14 ng/ml [interquartile range, IQR 9–22] at baseline to 31 [20–38] (p = 0.000), PTH decreased from 124 pg/ml [87–172] to 114 [78–163] (p = 0.006), while sCa and sPO₄ remained stable. In the biweekly group (n = 96), 25(OH)D increased from 14 ng/ml [9–20] at baseline to 39 [28–52] (p = 0), PTH decreased from 141 pg/ml [95–221] to 112 [90–180] (p = 0.000), sCa remained stable and sPO₄ increased from 3.3 ± 0.6 mg/dl to 3.5 ± 0.6 (p = 0.003). Renal function remained stable in both groups.

Conclusion. Vitamin D reposition with oral calcifediol, in a biweekly or monthly regimen, is safe and effective in improving 25(OH)D blood levels and in decreasing PTH in kidney transplant recipients.

INTRODUCTION

Traditionally, adequate blood levels of vitamin D have been associated with bone health. More recently, low vitamin D has been hypothesized to be associated with common cancers and autoimmune, infectious, and cardiovascular diseases [1-3]. Vitamin D deficiency is prevalent not only in the general population [3] and in chronic kidney disease (CKD) patients [4] but also in kidney transplant recipients (KTR) [5,6], who are more susceptible to develop cardiovascular, infectious and bone diseases because of immunosuppression and the persistence of secondary hyperparathyroidism. There are different forms of vitamin D supplementation, such as cholecalciferol (vitamin D₃), ergocalciferol (vitamin D₂) and calcifediol (25-OH vitamin D). Although several vitamin D supplementation regimens have been proposed in KTR [7-9], recommendations on how to replenish vitamin D are scant and unclear in the guidelines

[10-12], which usually recommend supplementation with ergocalciferol or cholecalciferol.

Calcifediol is the nutritional vitamin D form recommended by the Spanish Society of Nephrology to control mineral and bone disorders in CKD patients [12]. However, there is no description of the precise schedule of administration.

The aim of the present study was to evaluate, in KTR, the efficacy and safety of calcifediol in two different vitamin D supplementation regimens, in order to assess the most suitable dose.

PATIENTS AND METHODS

Patients

An observational study with prospective follow-up was performed in 217 KTR who initiated calcifediol supplementation randomly prescribed by clinicians in liquid form, at a dose of 266 mcg, monthly or biweekly.

Calcifediol was initiated between July 2010 and February 2012 at the kidney transplant outpatient clinic of our institution. The end of the follow-up was after 6 months.

We included patients older than 18 years, recipients of an isolated kidney transplant at least 6 months prior, with functioning allograft at the time of the study. Patients receiving other vitamin D forms, calcimimetics or bisphosphonates were excluded from the analysis.

The study was conducted in accordance with the declaration of Helsinki and was approved by our ethics committee.

Measurements

In the 3 months before calcifediol initiation (pre-treatment levels), we measured serum levels of 25-OH vitamin D (25(OH)D) (automated immunoassay, Liaison, DiaSorin, Stillwater, MN, USA), parathyroid hormone (PTH) (automated immunoassay, Liaison), alkaline phosphatase (ALP), calcium (sCa), phosphate (sPO₄) (automated ADVIA, Siemens Healthcare Diagnostics, Tarrytown, NY, USA) and creatinine (sCr).

The estimated glomerular filtration rate (eGFR) was calculated according to the abbreviated Modification of Diet in Renal Disease (MDRD) equation as ml/min/1.73 m².

The same determinations were performed after at least 3 months of treatment during a follow-up of 6 months.

Statistical analysis

The Kolmogorov–Smirnov test was performed to determine the distribution of variables. Results are expressed as frequencies for categorical variables, as mean ± SD for continuous variables with normal distribution and as the median [interquartile range, IQR] for continuous variables with skewed distribution. The paired Student's t test or Wilcoxon test for paired values was used to calculate differences between periods. Student's t test or the Mann–Whitney U test was performed to calculate differences between groups.

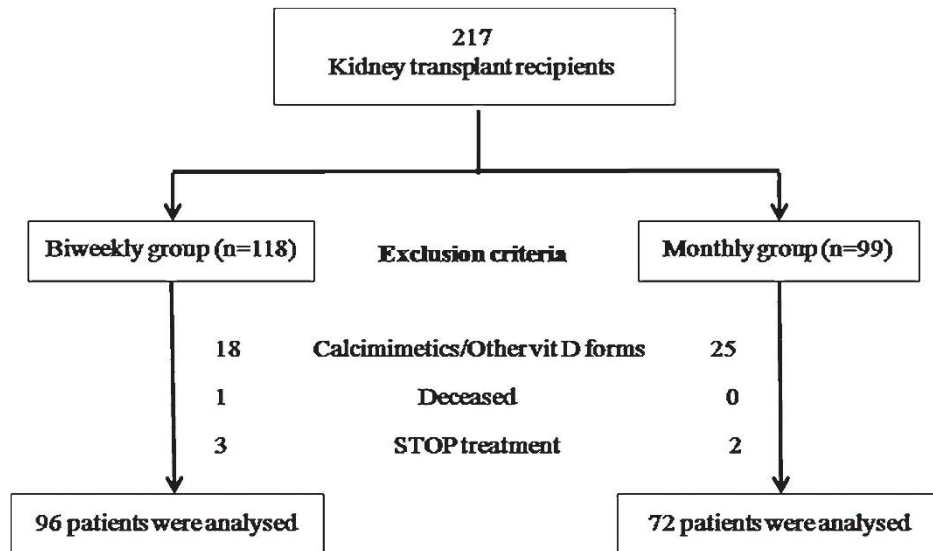
More than two continuous variables were compared by ANOVA with subsequent comparisons between individual groups using Student's t test with a Bonferroni correction.

All p values were two-tailed and p < 0.05 was considered significant.

The statistical analysis was performed with SPSS 18 statistical package.

RESULTS

A total of 168 KTR completed the follow-up and were included in the analysis: 72 patients receiving monthly and 96 receiving biweekly calcifediol. A total of 49 patients were excluded for different reasons as explained in the flow-chart.



Five of these patients abandoned treatment. No episode of kidney stone and no adverse events of any kind were observed in the patients.

There were no differences between the groups concerning baseline demographic or biochemical data (Table 1).

Table 1 Comparison of baseline demographic and biochemical data between kidney transplant patients who received monthly vs. biweekly calcifediol supplementation

	Monthly (n = 72)	Biweekly (n = 96)	p
Men (n, %)	42 (58.3)	67 (69.8)	0.14
Age (years)	55.5 ± 15.5	57.3 ± 13.4	0.40
BMI	23.3 ± 6.8	23.1 ± 6.3	0.64
Steroids	91 %	89 %	0.28
KT vintage (months)	72.4 (33.7–131)	72.8 (29.2–113)	0.75
	94.5 ± 87.9	83.6 ± 65.8	0.36
sCr (mg/dl)	1.5 ± 0.5	1.6 ± 0.5	0.21
eGFR (ml/min/1.73 m ²)	49.7 ± 18	46.7 ± 15	0.25
25(OH)D (ng/ml)	14 (9–22)	14 (9–20)	0.68
PTH (pg/ml)	124 (87–172)	141 (95–221)	0.05
sPO ₄ (mg/dl)	3.4 ± 0.7	3.3 ± 0.6	0.52
sCa (mg/dl)	9.7 ± 0.6	9.7 ± 0.6	0.53
Alb (mg/dl)	42.4 ± 2.1	42.3 ± 2.7	0.97
ALP (IU/l)	179 (142–210)	166 (138–226)	0.92

Data are presented as percentage, mean ± SD and median (IQR)

p value for comparison of variables between groups by Student's *t* test or the Mann–Whitney *U* test, as appropriate

BMI body mass index, *KT* kidney transplant, *sCr* serum creatinine, *eGFR* glomerular filtration rate, *25(OH)D* 25-OH vitamin D, *PTH* parathyroid hormone, *sPO₄* serum phosphate, *sCa* serum calcium, *Alb* albumin, *ALP* alkaline phosphatase

Changes in bone mineral metabolism parameters after supplementation

In the total group of patients, 25-OH vitamin D levels significantly increased from 14 ng/ml [IQR 9–22] at baseline to 35 [24–47] ($p < 0.001$) and PTH levels decreased from 129 pg/ml [92–203] to 112 [83–174] ($p < 0.001$) after treatment.

ALP levels also decreased from 173 UI/l [140–213] to 170 [137–199] ($p < 0.001$).

sPO₄ increased from 3.3 ± 0.6 mg/dl to 3.49 ± 0.7 (p = 0.03) and sCa levels remained stable at 9.7 ± 0.62 and 9.8 ± 0.55 mg/dl (p = 0.33).

Kidney function parameters remained stable. Pre-treatment eGFR was 48 ± 16 ml/min/1.73 m² and post-treatment eGFR was 47.84 ± 16.8 ml/min/1.73 m² (p = 0.75); pretreatment sCr was 1.56 ± 0.53 mg/dl and post-treatment sCr was 1.57 ± 0.59 mg/dl (p = 0.51).

Monthly calcifediol

25(OH)D levels significantly increased from 14 ng/ml [IQR 9–22] at baseline to 30 [20–38] (p < 0.001) after 4.5 ± 2 months.

PTH significantly decreased from 124 [87–172] to 114 pg/ml [78–163] (p = 0.006) and ALP from 179 UI/l [142–210] to 170 [137–194] (p = 0.002).

sCa remained stable at 9.7 ± 0.6 mg/dl (p = 0.82), as did sPO₄ (3.4 ± 0.7 mg/dl vs. 3.5 ± 0.6) (p = 0.28).

sCr and eGFR remained stable at 1.49 ± 0.5 mg/dl vs. 1.49 ± 0.6 (p = 0.92) and 49.7 ± 18 vs. 50 ± 19 ml/min/1.73 m² (p = 0.42), respectively.

When we compared the aforementioned bone mineral metabolism parameters according to eGFR, we observed an increase of 25(OH)D levels independently of the eGFR. However, PTH decreased significantly and sPO₄ increased only in patients with eGFR > 60 ml/min/1.73 m² (Table 2).

Biweekly calcifediol

25(OH)D levels significantly increased from 14 ng/ml [9–20] at baseline to 39 [28–52] (p = 0) after 5.4 ± 2.8 months.

PTH significantly decreased from 141 pg/ml [95–221] to 112 [90–180] (p < 0.001) and ALP from 166 UI/l [138–226] to 169 [137–205] (p = 0.003).

sCa remained stable at 9.7 ± 0.6 vs. 9.8 ± 0.5 mg/dl (p = 0.26) and sPO₄ increased from 3.3 ± 0.6 to 3.5 ± 0.7 mg/dl (p = 0.003).

sCr and eGFR remained stable at 1.6 ± 0.5 vs. 1.6 ± 0.6 mg/dl (p = 0.38) and 46.7 ± 15 vs. 46 ± 15 ml/min/1.73 m² (p = 0.29), respectively.

When we compared the aforementioned bone mineral metabolism parameters according to eGFR, we observed a significant increase of 25-OH vitamin D and a decrease of PTH, independently of the eGFR. sPO₄ increased in patients with eGFR 30–60 ml/min/1.73 m², while sCa decreased in those with eGFR > 60 ml/min/1.73 m² (Table 3).

Comparison between monthly and biweekly calcifediol regimens after supplementation

After supplementation, 25-OH vitamin D levels were significantly higher with the biweekly than with the monthly regimen (p < 0.001) (Table 4).

No differences were observed in PTH, sCa, sPO₄, ALP or renal function parameters between regimens after calcifediol supplementation.

Table 4 Comparison of bone mineral metabolism parameters after calcifediol supplementation between kidney transplant recipients who received monthly vs. biweekly regimen

	Monthly (n = 72)	Biweekly (n = 96)	p
25(OH)D (ng/ml)	30 (20–38)	39 (28–52)	<0.001
PTH (pg/ml)	114 (78–163)	112 (90–180)	0.43
sCa (mg/dl)	9.7 ± 0.6	9.8 ± 0.5	0.53
sPO ₄ (mg/dl)	3.5 ± 0.6	3.5 ± 0.7	0.70
ALP (IU/l)	170 (137–194)	169 (137–204)	0.81
eGFR(ml/min/1.73 m ²)	50 ± 19	46 ± 15	0.1
sCr (mg/dl)	1.49 ± 0.6	1.63 ± 0.6	0.1

Data are presented as mean ± SD and median (IQR)

p value for comparison of variables between groups by Student's *t*-test or the Mann–Whitney *U* test, as appropriate

25(OH)D 25-OH vitamin D, PTH parathyroid hormone, sCa serum calcium, sPO₄ serum phosphate, ALP alkaline phosphatase, eGFR glomerular filtration rate, sCr serum creatinine

DISCUSSION

Vitamin D has long been known for its effects on calcium and bone metabolism. Severe vitamin D deficiency causes a lack of bone mineralization, which manifests as rickets in children and osteomalacia in adults [1]. There is also accumulating evidence that insufficient vitamin D status contributes to osteoporosis and that adequate vitamin D supplementation can reduce the risk of osteoporotic fractures by approximately 20 % [13]. However, it is becoming increasingly clear that vitamin D has a much broader range of action in the human body, with physiological effects that are not limited to bone. Vitamin D is a key regulator of several cellular metabolic pathways and is an important factor for cellular maturation, differentiation, and apoptosis [2, 14].

Vitamin D has been hypothesized to play an important role in decreasing the risk of many chronic illnesses but the possible causality has not been elucidated [15–22].

Low 25(OH)D levels are common in patients with CKD and are related to disease outcome [23]. Furthermore, inadequate 25(OH)D levels are independently associated with all-cause mortality [21–24].

After kidney transplantation, the prevalence of vitamin D insufficiency and deficiency is extremely high, probably related to immunosuppression [25] and the strict sun protection recommended to prevent skin cancers [26–28].

The potential non-classical effects of vitamin D have been widely defined in transplant recipients [29].

Despite the lack of evidence for clinical outcomes to support the use of nutritional vitamin D compounds, Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (KDOQI), Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) and Spanish guidelines [10–12] recommend supplementation with nutritional vitamin D in patients with stage 3 and 4 CKD and secondary hyperparathyroidism when 25(OH)D levels are < 30 ng/ml.

Recommendations on how to replenish vitamin D are scant and unclear in the guidelines [10–12]. Usually the use of ergocalciferol or cholecalciferol is recommended and the Spanish Nephrology Society recommends the use of calcifediol [12], which has received little attention until now and is gaining acceptance as vitamin D replacement therapy [30].

The aim of calcifediol supplementation is to reach a normal level of 25-OH vitamin D rather than to attain target levels of PTH.

Calcifediol does not need liver metabolism and may offer some advantages in patients with CKD who have a moderate deficit of hepatic metabolism of vitamin D because of uremia and/or hyperparathyroidism [31, 32].

The only calcifediol supplement marketed in Spain is Hidroferol (Faes Farma, Leioa, Viz, Spain), which is available in several pharmaceutical forms.

Currently, there is no recommendation on how to prescribe calcifediol in KTR and we prescribe drinkable calcifediol ampoules of 16,000 IU (266 mcg) because this is easily administered in biweekly or monthly doses.

Our results show that the calcifediol supplement with either monthly or biweekly regimes is easy, safe and effective in increasing vitamin D deposits. In both regimens, blood 25(OH)D levels were normalized, but they were higher after biweekly administration (Table 4).

PTH also decreased with both alternatives. However, although there was no significant difference in posttreatment PTH between the two regimens, all patients receiving biweekly supplementation showed a decrease in PTH independently of their eGFR (Table 3). In contrast, in patients receiving monthly supplementation, PTH decreased only in those with eGFR > 60 ml/min/1.73 m² (Table 2).

Based on our results, it seems that the biweekly regimen would be more appropriate for decreasing PTH in patients with GFR < 60 ml/min/1.73 m².

Patients who received biweekly supplementation showed a significant increase in sPO₄ from 3.3 ± 0.6 to 3.5 ± 0.6 mg/dl, with post-treatment sPO₄ levels within the normal recommended range [10–12]. Notably, we did not observe a greater increase in sPO₄ in patients with worse kidney function. In fact, when patients were analyzed according to eGFR, those with better kidney function tended to show a greater increase of sPO₄.

We hypothesize that this increase could be related to a decreased urinary phosphate excretion because of a greater decrease of PTH. However, we cannot confirm this because many factors are involved and we lacked data on urinary phosphate excretion.

No changes in kidney function and either hypercalcemia or hyperphosphatemia were observed with either of the two alternatives, indicating that calcifediol supplementation in KTR is safe with both regimens.

Considering these results, oral calcifediol in kidney transplant recipients improves 25(OH)D blood levels and decreases PTH in both regimens.

Further interventional studies are needed to demonstrate whether replenishing of vitamin D could provide clinical benefits to kidney transplant patients.

REFERENCES

- 1 Holick MF (2006) The role of vitamin D for bone health and fracture prevention. *Curr Osteoporos Rep* 4:96
- 2 Holick MF (2007) Vitamin D deficiency. *N Engl J Med* 357:266
- 3 Tangpricha V, Pearce EN, Chen TC et al (2002) Vitamin D insufficiency among free-living healthy young adults. *Am J Med* 112:659
- 4 Dusso AS, Tokumoto M (2011) Defective renal maintenance of the vitamin D endocrine system impairs vitamin D renoprotection: a downward spiral in kidney disease. *Kidney Int* 79:715
- 5 Stavroulopoulos A, Cassidy MJ, Porter CJ, Hosking DJ, Roe SD (2007) Vitamin D status in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 7:2546
- 6 Beique L, Kline G, Dalton B et al (2013) Predicting deficiency of vitamin D in renal transplant recipients in northern climates. *Transplantation* 95:1479
- 7 Pepper KJ, Judd SE, Nanes MS et al (2009) Evaluation of vitamin D repletion regimens to correct vitamin D status in adults. *Endocr Pract* 15:95
- 8 Courbebaisse M, Thervet E, Souberbielle JC et al (2009) Effects of vitamin D supplementation on the calcium-phosphate balance in renal transplant patients. *Kidney Int* 75:646
- 9 Kanter Berga J, Crespo Albiach J, Beltran Catalan S et al (2010) Vitamin D deficiency in a renal transplant population: safe repletion with moderate doses of calcidiol. *Transplant Proc* 42:2917
- 10 National Kidney Foundation (2003) K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 42(suppl 3):S1
- 11 Kidney Disease Improving Global Outcomes (2009) KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl* 76(113):S1
- 12 Torregrosa J.V, Bover J, Cannata Andía J, et al (2011) Spanish Society of nephrology recommendations for controlling mineral and bone disorder in chronic kidney disease patients (S.E.N.- M.B.D.). *Nefrología* 31(Suppl 1):3
- 13 Bischoff-Ferrari HA, Willett WC, Wong JB et al (2009) Prevention of nonvertebral fractures with oral vitamin D and dose dependency. *Arch Intern Med* 6:551
- 14 Dusso A, Brown AJ, Slatopolsky E (2005) Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol* 289:F8
- 15 Albalate M, de la Piedra C, Ortiz A, Hernández Pérez J, Rubert M, Pérez Garcia R, Zazo P, Nieto L, de Sequera P, Egido J (2012) Risk in dosing regimens for 25-OH vitamin D supplementation in chronic haemodialysis patients. *Nephron Clin Pract* 121:C112–C119
- 16 Kanter Berga J, Crespo Albiach J, Beltran Catalan S, Gavela Martinez E, Sancho Calabuig A, Avila Bernabeu A, Pallardo Mateu LM (2010) Vitamin D deficiency in a renal transplant population: safe repletion with moderate doses of calcidiol. *Transplant Proc* 42:2917–2920

- 17 Kim SM, Choi HJ, Lee JP, Kim DK, Oh YK, Kim YS, Lim CS (2014) Prevalence of vitamin D deficiency and effects of supplementation with cholecalciferol in patients with chronic kidney disease. *J Ren Nutr.* 24:20–25
- 18 Kramer H, Berns JS, Choi MJ, Martin K, Rocco MV (2014) 25-Hydroxyvitamin D testing and supplementation in CKD: an NKF-KDOQI controversies report. *Am J Kidney Dis* 64:499–509
- 19 Petkovich M, Melnick J, White J, Tabash S, Strugnell S, Bishop CW (2015) Modified-release oral calcifediol corrects vitamin D insufficiency with minimal CYP24A1 upregulation. *J Steroid Biochem Mol Biol* 148:283–289
- 20 Zheng Z, Shi H, Jia J, Li D, Lin S (2013) Vitamin D supplementation and mortality risk in chronic kidney disease: a metaanalysis of 20 observational studies. *BMC Nephrol* 25:199
- 21 Holick MF, Binkley NC, Bischoff-Ferrari HA, Gordon CM, Hanley DA, Heaney RP, Murad MH, Weaver CM (2011) Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: an Endocrine Society Clinical Practice Guideline. *J Clin Endocrinol Metab* 96:1911–1930
- 22 Pludowski P, Holick MF, Pilz S et al (2013) Vitamin D effects on musculoskeletal health, immunity, autoimmunity, cardiovascular disease, cancer, fertility, pregnancy, dementia and mortality—a review of recent evidence. *Autoimmun Rev* 12:976–989
- 23 Ravani P, Malberti F, Tripepi G et al (2009) Vitamin D levels and patients outcome in chronic kidney disease. *Kidney Int* 75:88
- 24 Russo R, Ruospo M, Cozzolino M et al (2014) Effects of vitamin D on parathyroid hormone and clinical outcomes in peritoneal dialysis: a narrative review. *J Nephrol* 27:483–494
- 25 Pascussi JM, Robert A, Nguyen M et al (2005) Possible involvement of pregnane X receptorenhanced CYP24 expression in drug-induced osteomalacia. *J Clin Invest* 115:177
- 26 Randle HW (2004) The historical link between solid-organ transplantation, immunosuppression, and skin cancer. *Dermatol Surg* 30:595
- 27 Didier Ducloux, Courivaud C, Bamoulid J et al (2008) Pretransplant serum vitamin D levels and risk of cancer after renal transplantation. *Transplant* 85:1755
- 28 Sawinski D, Uribarri J, Peace D, Yao T, Al E (2010) 25-OHvitamin D deficiency and cellular alloimmunity as measured by panel of reactive T cell testing in dialysis patients. *Am J Transplant* 10:2287
- 29 Courbebaisse M, Souberbielle JC, Thervet E (2010) Potential nonclassical effects of vitamin D in transplant recipients. *Transplant* 89:131
- 30 Brandenburg VM, Krüger T (2014) Calcifediol—more than the stepchild of CKD-MBD therapy? *Curr Vasc Pharmacol* 12:286–293
- 31 Leblond F, Guevin C, Demers C et al (2001) Downregulation of hepatic cytochrome P450 in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 12:326
- 32 Michaud J, Naud J, Ouimet D et al (2010) Reduced hepatic synthesis of calcidiol in uremia. *J Am Soc Nephrol* 21:1488

DISCUSIÓN

FGF23 en el Trasplante renal

En este trabajo de tesis se presenta el primer artículo publicado que describe diferencias sustanciales en la evolución de los valores de FGF23 y fosfato séricos entre receptores en función de si habían realizado o no diálisis previamente al trasplante²¹².

También se presenta el primer artículo que afirma no encontrar diferencias en los valores de FGF23 tras el trasplante renal en los receptores en función de si habían recibido o no calcimiméticos para el control del HPTS previamente al trasplante²¹³.

Los trabajos que describen el comportamiento de FGF23 tras el trasplante renal, publicados a partir del año 2006, confirman las sospechas reflejadas en publicaciones de años anteriores acerca de la existencia de un mecanismo independiente de la PTH que interviene en la hipofosfatemia post-TR⁶⁰.

Estos estudios mostraron que FGF23 desciende ya en la primera semana tras el trasplante⁶³, y que este descenso puede llegar a ser del 95% con respecto al basal a los 3 meses post-trasplante⁶¹ para posteriormente disminuir de manera gradual y alcanzar valores de FGF23 al año post-TR equivalentes a los que presentan los pacientes con ERC con un filtrado glomerular similar⁶². Sin embargo, a pesar de su descenso, FGF23 continúa permaneciendo alto en un alto porcentaje de pacientes^{61,62}, por lo que se ha acuñado el término de hiperfosfatoninismo terciario para referirse a la persistencia de valores elevados de FGF23 tras el TR.

En nuestro estudio, FGF23 desciende de forma más significativa durante el primer mes posterior al trasplante para a continuación disminuir de una manera más gradual. Durante todo el seguimiento de 6 meses, los valores de FGF23 están influidos principalmente por el FGF23 en el momento del trasplante, según ya se había descrito previamente⁶¹. Más adelante, la evidencia apunta que, al año, aunque la influencia de FGF23 basal persiste, es el filtrado glomerular el principal factor que influye sobre los valores de FGF23⁶².

El descenso tan acusado de FGF23 tras el TR puede ser debido a que, en presencia de un injerto renal funcional, desaparece la resistencia a su acción fosfática y existe una mayor disponibilidad de Klotho. De esta manera se frenaría la producción ósea de FGF23 a la vez que aumentaría su eliminación renal, alcanzando una normalización de sus valores en sangre de una manera más o menos lenta en función de los valores de FGF23 de partida.

En nuestro trabajo, al presentar los pacientes en diálisis valores de FGF23 basales mucho más altos en comparación con los receptores pre-diálisis, también presentan valores más altos de FGF23 durante el primer mes post-TR. Debemos señalar que los pacientes seleccionados para nuestro estudio presentaban FG > 30 ml/min durante el seguimiento para evitar la interferencia que podría provocar en los resultados el hecho de que los pacientes provenientes de diálisis presentasen una peor recuperación de la función renal durante los primeros meses posteriores al trasplante.

Describimos también que son los valores de FGF23 en el momento del trasplante los que determinan la fosfatemia durante los 3 primeros meses post-trasplante y es por ello que observamos diferencias en la fosfatemia y en la excreción urinaria de fosfato entre grupos. La prevalencia de hipofosfatemia en nuestra serie es del 50% el primer mes tras el trasplante renal y este porcentaje es mayor en los receptores que realizaban diálisis, alcanzando el 57,8%, frente al 23% de los receptores pre-diálisis.

Con respecto al calcitriol, cuyo valor durante el seguimiento depende también de FGF23, podemos decir que aumenta progresivamente tras el trasplante renal sin diferencias significativas entre ambos grupos. Este hecho puede ser debido a la insuficiente disponibilidad de calcidiol como sustrato.

Las diferencias en FGF23 entre los grupos desaparecen a los 3 meses post-TR, y posteriormente la fosfatemia no se iguala hasta el mes 6 post-TR.

Desconocemos si este periodo de tiempo es o no suficiente para generar diferencias en cuanto a pronóstico. Sabemos que los valores altos de FGF23 se han relacionado con mortalidad, mal pronóstico del injerto y pérdida de DMO en pacientes trasplantados renales^{55,172}. A ello habría que añadir las complicaciones relacionadas con la hipofosfatemia, como son la alteración de la contractilidad miocárdica, la debilidad muscular, la anemia hemolítica, el desarrollo de calcificaciones del injerto y de osteopenia/osteomalacia.

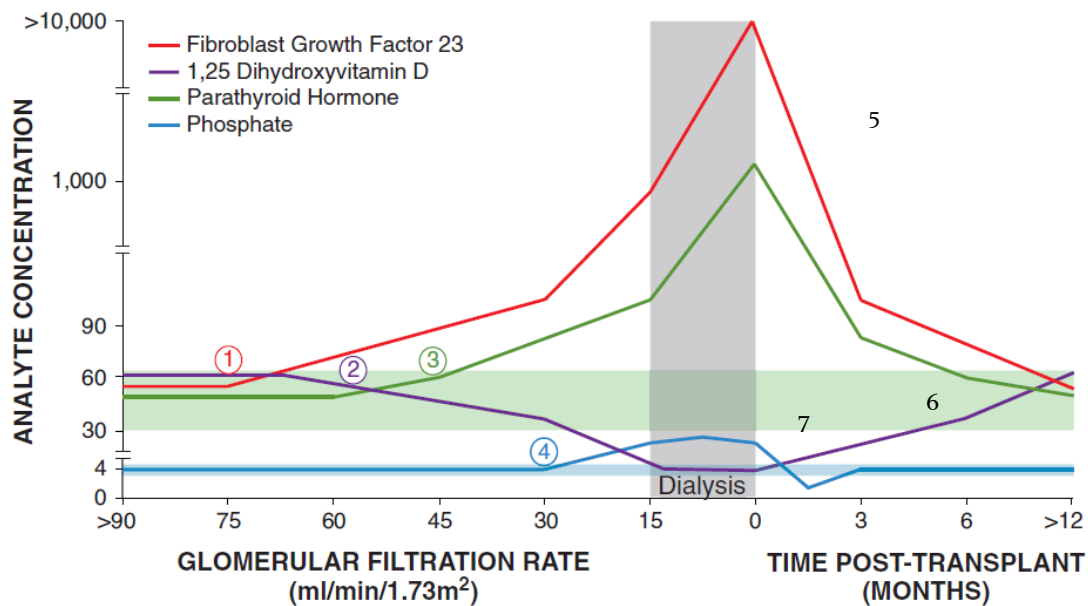
Sin embargo, hay muchos otros factores que podrían explicar el mejor pronóstico de los pacientes pre-diálisis como el hecho de que en nuestra serie son pacientes más jóvenes, reciben en mayor medida trasplantes renales procedentes de donantes vivos y no presentan comorbilidades asociadas al largo tiempo en diálisis.

Aunque desconocemos si las diferencias de FGF23 entre grupos suponen diferencias en cuanto a pronóstico a largo plazo, sí sabemos que los pacientes en diálisis tienen mayor riesgo de desarrollar hipofosfatemia debido a que presentan valores más altos de FGF23 en el momento de trasplante y que la influencia del FGF23 basal sobre la fosfatemia dura al menos 3 meses tras el trasplante.

FGF23 se considera la hormona implicada en la hipofosfatemia inmediata tras el trasplante renal y el FGF23 pretrasplante continúa siendo un buen predictor de la hipofosfatemia presente al año post-trasplante¹⁷¹.

En TR estables, después del post-TR inmediato, los valores de FGF23 persisten elevados comparados con la población sana, aunque son más bajos que los pacientes con ERC que presentan similar FG²¹⁴ y tienen tendencia a presentar un fosfato sérico más bajo que los pacientes con ERC e incluso más bajo que los sujetos sanos²¹⁵. En los trasplantados renales de larga evolución es la PTH la que influye de manera más significativa sobre la fosfatemia y la pérdida urinaria de fosfato^{214,215}.

Uno de estos estudios muestra que el FG, la PTH, la fosfatemia, el calcitriol, la proteinuria y un mayor tiempo bajo tratamiento con corticoides influyen en los valores de FGF23 en pacientes TR estables²¹⁴, sin embargo no han podido dilucidar si el valor de FGF23 en el momento del trasplante juega algún papel dado que es un estudio de corte transversal que no dispone de parámetros sanguíneos del momento del trasplante.



La elevación de FGF23 ocurre desde estadios iniciales de ERC (1). El ascenso gradual de FGF23 provoca un descenso temprano de calcitriol (2) de manera que la PTH se libera de la inhibición por parte del calcitriol y se eleva dando lugar al hiperparatiroidismo secundario (3). Finalmente, cuando existe una resistencia a la acción fosfátúrica del FGF23 en los estadios finales de la ERC, aumentan los valores de fosfatemia (4). Tras el trasplante renal, FGF23 y PTH descienden de manera más marcada en los primeros meses para posteriormente descender más progresivamente (5). El descenso de FGF23 permite una elevación de los valores de calcitriol (6). El hecho de que los valores de FGF23 permanezcan durante aproximadamente los primeros 3 meses post-TR da lugar a la hipofosfatemia post-TR (7). Figura adaptada de Wolf et al, JASN 2010

Según el esquema propuesto por Wolf et al, la normalización de la fosfatemia se produce a los 3 meses y es en adelante cuando el descenso de FGF23 se hace más progresivo. Nosotros proponemos que primero se enlentece el descenso de los valores de FGF23 y a continuación la fosfatemia tiende a subir entre los 3-6 meses.

Dado que es el FGF23 basal el que determina la gravedad de la hipofosfatemia y déficit de calcitriol post-trasplante renal, parecería conveniente centrar los esfuerzos en disminuir los valores de FGF23 con los que llegan los pacientes con ERC al trasplante renal, sobre todo teniendo en cuenta que la corrección de la hipofosfatemia actualmente se basa en la suplementación con fósforo, que junto con la hipercalcemia pueden provocar efectos adversos como calcificación vascular.

Tal y como demostramos en nuestro estudio, una manera de disminuir este riesgo es realizando el trasplante renal antes de la entrada en diálisis. Sin embargo en la práctica clínica esto no siempre es posible y se plantea necesario buscar terapias que disminuyan los valores de FGF23 previamente al trasplante.

Según la evidencia actual, aún existe controversia en cuanto a si el tratamiento con quelantes del fósforo desde estadios iniciales de ERC, cuando aún no existe hiperfosforemia franca, podría prevenir la elevación de FGF23 al disminuir la carga corporal de fósforo^{216,217}.

Se ha observado que en pacientes en diálisis el tratamiento con vitamina D aumenta los valores de FGF23, mientras que el cinacalcet los disminuye²¹⁸.

En un estudio en pacientes en hemodiálisis se ha observado que el uso de cinacalcet disminuye los valores de FGF23 de manera independiente a los efectos de la vitamina D²¹⁸. Este efecto podría ser directo o indirecto a través de la reducción de la fosfatemia, aunque cabe destacar que un estudio experimental ha mostrado una reducción en FGF23 en ratas tratadas con cinacalcet a pesar de presentar valores altos de fosfatemia²¹⁹.

Según nuestra experiencia, los pacientes en diálisis que reciben tratamiento con cinacalcet llegan al trasplante con los mismos valores de FGF23 que los pacientes que no lo recibían. De hecho observamos que los valores de FGF23 son algo más altos en el grupo que recibía cinacalcet, aunque no de manera significativa. Esto podría ser debido a que los pacientes que recibían cinacalcet en realidad padecen un HPTS más severo y la PTH estimula la expresión de FGF23 en los osteocitos²²⁰.

Posteriormente al trasplante renal hemos visto que no existen diferencias en la evolución de los valores de FGF23 tras el trasplante renal en función de si los pacientes habían recibido tratamiento con cinacalcet o no hasta el momento del trasplante, así como tampoco se observan diferencias en los valores de fosfato y calcitriol séricos²¹³.

Lo que sí hemos observado, como ya se ha descrito previamente^{76,75}, es la presencia de valores de calcemia y PTH más altos en los pacientes que recibían cinacalcet, así como mayor proporción de hipercalcemia. Este hecho es con mucha probabilidad debido a que los pacientes que reciben cinacalcet durante la época de diálisis, padecen un HPTS más severo en el momento de inicio del tratamiento con cinacalcet, es decir que aunque los valores de PTH en el momento del TR sean similares en ambos grupos, muy probablemente no lo eran en el momento en que se inició el tratamiento con cinacalcet.

En los distintos estudios publicados en población trasplantada han utilizado diferentes ensayos para medir los valores de FGF23, los cuales tienen diferentes valores de normalidad, por lo que los resultados no son extrapolables entre estudios¹⁴⁶.

El hecho de que nosotros hayamos elegido el ensayo C-Terminal es porque es el ensayo que ofrece menos variabilidad intradividual y por tanto es el más idóneo para comparar valores de FGF23 en diferentes momentos en un mismo individuo. Por el contrario, el ensayo para determinación de la molécula intacta, tiene una menor variabilidad interindividual y por ello parece el más adecuado para establecer puntos de corte²²¹. De todas maneras, la discordancia entre el ensayo que mide la molécula intacta y el que se une al extremo C-terminal (que mide tanto la molécula intacta como los fragmentos C-terminales), es menor en pacientes con ERC o en diálisis, dado que en estos pacientes predomina la molécula intacta porque existen menos fragmentos C-terminales¹⁴⁶.

El hecho de haber seleccionado pacientes con filtrado glomerular > 30 ml/min nos da la ventaja de evitar las interferencias que podría haber producido en las diferencias observadas entre grupos el hecho de presentar diferente recuperación de la función renal. Sin embargo, no podemos inferir que el comportamiento de FGF23 y del fosfato sérico y urinario sea en todos los pacientes trasplantados tal y como nosotros lo describimos, dado que en la práctica clínica habitual existe siempre un porcentaje de pacientes que presentan disfunción del injerto ya en el post-trasplante renal inmediato.

Vitamina D en el Trasplante renal

En este trabajo de tesis se describe la rápida recuperación de los valores de calcitriol tras el trasplante renal frente a la persistencia de valores bajos de calcidiol²²².

Además se comparan dos posibles regímenes de reposición de calcidiol en pacientes trasplantados renales de larga evolución²²³.

Los valores de calcidiol persisten bajos a los 6 meses post-trasplante, mientras el calcitriol aumenta ya durante los primeros 15 días posteriores al trasplante renal. La evolución de ambas formas de vitamina D no se ve influida por el hecho de que los pacientes hayan realizado o no diálisis previamente al trasplante y tampoco por el uso de calcimiméticos.

El rápido ascenso de los valores de calcitriol es secundaria a la menor inhibición por parte de FGF23 tras el trasplante, de manera que cuanto mayor es el FGF23 basal menor es el valor de calcitriol durante los 3 primeros meses post-trasplante. A los 6 meses es la PTH y el calcidiol los factores que más influyen en los valores de calcitriol.

Por el contrario, los valores de calcidiol no dependen de los valores de FGF23 y permanecen bajos tanto en el momento del trasplante como a los 6 meses post-trasplante. La estación del año parece no influir en los valores basales, sin embargo observamos que los pacientes trasplantados en primavera presentan unos valores más altos de calcidiol a los 6 meses post-trasplante, probablemente porque el verano ha tenido lugar durante esos 6 meses.

La teoría de que el déficit de calcidiol post-trasplante podría ser debido a un agotamiento de éste como sustrato al tener lugar una mayor producción de calcitriol como consecuencia del descenso de FGF23, la presencia de hipofosfatemia y la persistencia del hiperparatiroidismo, se ve refutada a partir de los resultados de nuestro estudio. El hecho de que en nuestro trabajo la correlación entre calcidiol y calcitriol sea directa y no inversa, nos hace pensar que es la falta de calcidiol como sustrato lo que limita la mayor producción de calcitriol y podría estar implicada en la persistencia de valores bajos de calcitriol observada en un tercio de nuestros pacientes a los 6 meses post-trasplante.

El hecho de que el calcitriol se corrija en la mayor parte de nuestros pacientes en las primeras semanas tras el trasplante, nos lleva a pensar que no tiene sentido tratar el HPTT con formas activas de vitamina D, ya que los valores de calcitriol aumentan por encima de 30 pg/mL en un 65,3% de los pacientes. Sin embargo, el hecho de que el calcidiol se correlacione negativamente con la PTH y de que persista bajo a los 6 meses, invita a corregir los valores de calcidiol. Además no debemos ignorar que son varios los estudios y revisiones de la literatura que tratan acerca de los efectos pleiotrópicos de la vitamina D nutricional.

Aunque el impacto clínico del uso de la vitamina D en pacientes trasplantados no se ha llegado a demostrar, es cierto que el déficit de calcidiol se ha relacionado con mal pronóstico y es por ello que las diferentes guías recomiendan su reposición en caso de presentar valores bajos de vitamina D. Las guías clínicas recomiendan utilizar colecalciferol y ergocalciferol¹. La guía española recomienda el uso de calcifediol en pacientes con ERC⁴.

Dado que observamos que en la práctica clínica habitual de nuestro centro se prescribe calcifediol de manera regular para reponer los valores de calcidiol tanto en pacientes con ERC como en pacientes trasplantados renales, hemos decidido analizar si estas pautas son suficientes para reponer los depósitos de vitamina D, si además tienen algún efecto sobre el control de la PTH y si se asocian o no a complicaciones como son la hipercalcemia e hiperfosfatemia.

El calcifediol está comercializado en España en forma líquida y, más recientemente, en forma de comprimidos con 266 microgramos, equivalentes a 16.000 UI. Se puede administrar fácilmente de manera oral, cada quince días o mensualmente, por lo que es de fácil cumplimiento por parte de pacientes polimedicados.

Con ambas pautas hemos conseguido reponer los valores de calcidiol en sangre y disminuir la PTH. Sin embargo, la pauta mensual sólo disminuye la PTH en aquellos pacientes con mejor función renal (FG > 60 ml/min), mientras que la pauta quincenal lo consigue también en los pacientes con filtrados glomerulares bajos.

Cuando comparamos ambas pautas tras recibir el tratamiento, los valores de PTH son comparables entre ambos grupos y los valores de calcidiol, aunque son significativamente más altos con la pauta quincenal, alcanzan valores adecuados también con la pauta mensual.

En definitiva, cualquiera de las dos pautas es válida para reponer calcidiol en pacientes trasplantados renales, sin presentar hipercalcemia ni hiperfosfatemia.

El hecho de que ambas pautas consigan corregir los niveles de calcidiol es especialmente importante en una población como es la de trasplantados renales, que no pueden sintetizar vitamina D en la piel dado que deben evitar la exposición solar para prevenir el desarrollo de cáncer de piel.

CONCLUSIONES

- FGF₂₃ está más elevada en el momento del trasplante en los receptores que habían realizado diálisis comparados con los pacientes pre-diálisis.
- FGF₂₃ en el momento del trasplante renal predice los valores de FGF₂₃ durante los primeros seis meses y la fosfatemia durante los primeros tres meses post-trasplante.
- Los valores de FGF₂₃ y la excreción urinaria de fosfato son significativamente más altos durante el primer mes tras el trasplante renal en los receptores que habían realizado diálisis comparados con los pacientes pre-diálisis.
- La proporción de pacientes con hipofosfatemia, definida como fosfato sérico < 2,5 mg/dl, es mayor en los receptores que habían realizado diálisis comparados con los pacientes pre-diálisis.
- Los pacientes en diálisis que recibían cinacalcet hasta el momento del trasplante renal, presentan valores similares de FGF₂₃ y fosfatemia y valores mayores de PTH y calcemia durante los primeros seis meses post-trasplante comparados con los pacientes que no recibían cinacalcet.
- Los valores de calcitriol, que aumentan de manera constante durante los primeros 6 meses tras el trasplante renal, dependen inicialmente de FGF₂₃ para posteriormente, al mes seis, pasar a depender de calcidiol y de PTH.
- En pacientes trasplantados renales, la reposición con calcifediol oral a dosis de 266 microgramos quincenal o mensual, consigue reponer los valores de calcidiol y ayuda a disminuir la PTH sin generar hipercalcemia o hiperfosfatemia.

BIBLIOGRAFÍA

1. KDIGO. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int. Suppl.* **76**, S1–S130 (2009).
2. Goldsmith, D. J. a *et al.* Endorsement of the Kidney Disease Improving Global Outcomes (KDIGO) Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD) Guidelines: A European Renal Best Practice (ERBP) commentary statement. *Nephrol. Dial. Transplant.* **25**, 3823–3831 (2010).
3. Uhlig, K. *et al.* KDOQI US Commentary on the 2009 KDIGO Clinical Practice Guideline for the Diagnosis, Evaluation, and Treatment of CKD-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Am. J. Kidney Dis.* **55**, 773–799 (2010).
4. Torregrosa, J.-V. *et al.* Spanish Society of Nephrology recommendations for controlling mineral and bone disorder in chronic kidney disease patients (S.E.N.-M.B.D.). *Nefrologia* **31 Suppl 1**, 3–32 (2011).
5. Ketteler, M. *et al.* Revisiting KDIGO clinical practice guideline on chronic kidney disease—mineral and bone disorder: a commentary from a Kidney Disease: Improving Global Outcomes controversies conference. *Kidney Int.* **87**, 502–528 (2015).
6. Razzaque, M. S. The FGF23-Klotho axis: endocrine regulation of phosphate homeostasis. *Nat. Rev. Endocrinol.* **5**, 611–9 (2009).
7. Moorthi, R. N. & Moe, S. M. CK-Dmineral and bone disorder: Core curriculum 2011. *Am. J. Kidney Dis.* **58**, 1022–1036 (2011).
8. Canalejo, R. *et al.* FGF23 Fails to Inhibit Uremic Parathyroid Glands. *J. Am. Soc. Nephrol.* **21**, 1125–1135 (2010).
9. Alem, A. M. *et al.* Increased risk of hip fracture among patients with end-stage renal disease. *Kidney Int.* **58**, 396–399 (2000).
10. Naylor, K. L. *et al.* The three-year incidence of fracture in chronic kidney disease. *Kidney Int.* **86**, 810–818 (2014).
11. Nikkel, L. E., Hollenbeak, C. S., Fox, E. J., Uemura, T. & Ghahramani, N. Risk of fractures after renal transplantation in the United States. *Transplantation* **87**, 1846–1851 (2009).
12. Nair, S. S. *et al.* Temporal trends in the incidence, treatment, and outcomes of hip fracture in older patients initiating dialysis in the United States. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **8**, 1336–42 (2013).
13. Muxi, a *et al.* Arteriovenous fistula affects bone mineral density measurements in end-stage renal failure patients. *Clin.J.Am.Soc.Nephrol* **4**, 1494–1499 (2009).

14. Jamal, S. a., Cheung, a. M., West, S. L. & Lok, C. E. Bone mineral density by DXA and hr pQCT can discriminate Fracture status in men and women with stages 3 to 5 chronic kidney disease. *Osteoporos. Int.* **23**, 2805–2813 (2012).
15. Jamal, S. a. & Nickolas, T. L. Bone Imaging and Fracture Risk Assessment in Kidney Disease. *Curr. Osteoporos. Rep.* (2015). doi:10.1007/s11914-015-0262-3
16. Bucur, R. C. *et al.* Low bone mineral density and fractures in stages 3–5 CKD: an updated systematic review and meta-analysis. *Osteoporos. Int.* **26**, 449–458 (2014).
17. Yenchek, R. H. *et al.* Bone mineral density and fracture risk in older individuals with CKD. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **7**, 1130–1136 (2012).
18. Jimori, S. *et al.* Diagnostic usefulness of bone mineral density and biochemical markers of bone turnover in predicting fracture in CKD stage 5D patients—a single-center cohort study. *Nephrol. Dial. Transplant.* **27**, 345–351 (2012).
19. Akaberi, S., Simonsen, O., Lindergård, B. & Nyberg, G. Can DXA predict fractures in renal transplant patients? *Am. J. Transplant.* **8**, 2647–2651 (2008).
20. Jamal, S. a. *et al.* Effects of denosumab on fracture and bone mineral density by level of kidney function. *J. Bone Miner. Res.* **26**, 1829–1835 (2011).
21. Miller, P. D., Schwartz, E. N., Chen, P., Misurski, D. a. & Krege, J. H. Teriparatide in postmenopausal women with osteoporosis and mild or moderate renal impairment. *Osteoporos. Int.* **18**, 59–68 (2007).
22. Rennenberg, R. J. M. W. *et al.* Vascular calcifications as a marker of increased cardiovascular risk: A meta-analysis. *Vasc. Health Risk Manag.* **5**, 185–197 (2009).
23. Braun, J. *et al.* Electron beam computed tomography in the evaluation of cardiac calcification in chronic dialysis patients. *Am. J. Kidney Dis.* **27**, 394–401 (1996).
24. Chertow, G. M., Burke, S. K. & Raggi, P. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int.* **62**, 245–252 (2002).
25. Qunibi, W. Y. Effects of sevelamer and calcium on coronary artery calcification in patients new to dialysis: time for better controlled clinical trials. *Kidney Int.* **69**, 1093 (2006).
26. Paloiian, N. J. & Giachelli, C. M. A current understanding of vascular calcification in CKD. *Am J Physiol Ren. Physiol* **307**, F891–900 (2014).
27. Moe, S. M. & Chen, N. X. Mechanisms of vascular calcification in chronic kidney disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* **19**, 213–6 (2008).
28. Agatston, A. S. *et al.* Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *J. Am. Coll. Cardiol.* **15**, 827–832 (1990).

29. Watanabe, R., Lemos, M. M., Manfredi, S. R., Draibe, S. a. & Canziani, M. E. F. Impact of cardiovascular calcification in nondialyzed patients after 24 months of follow-up. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **5**, 189–194 (2010).
30. Kauppila, L. I. *et al.* New indices to classify location, severity and progression of calcific lesions in the abdominal aorta: A 25-year follow-up study. *Atherosclerosis* **132**, 245–250 (1997).
31. Adragao, T. *et al.* A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* **19**, 1480–1488 (2004).
32. Moe, S. M. *et al.* Natural history of vascular calcification in dialysis and transplant patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* **19**, 2387–2393 (2004).
33. Marchal, C. *et al.* Progression of coronary artery calcification and thoracic aorta calcification in kidney transplant recipients. *Am. J. Kidney Dis.* **59**, 258–269 (2012).
34. Uhlig, K. There is no practical utility in routinely screening dialysis patients for vascular calcification. *Semin. Dial.* **23**, 277–279 (2010).
35. Ketteler, M., Rothe, H., Krüger, T., Biggar, P. H. & Schlieper, G. Mechanisms and treatment of extraosseous calcification in chronic kidney disease. *Nat. Rev. Nephrol.* **7**, 509–516 (2011).
36. Nigwekar, S. U. Multidisciplinary approach to calcific uremic arteriopathy. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* **24**, 531–537 (2015).
37. Brandenburg, V. *et al.* Blueprint for a European calciphylaxis registry initiative: The European calciphylaxis Network (EuCalNet). *Clin. Kidney J.* **8**, 567–571 (2015).
38. Brandenburg, V. M. *et al.* Lack of evidence does not justify neglect: How can we address unmet medical needs in calciphylaxis? *Nephrol. Dial. Transplant.* **31**, 1211–1219 (2016).
39. Slatopolsky, E. *et al.* Phosphorus restriction prevents parathyroid gland growth: High phosphorus directly stimulates PTH secretion in vitro. *J. Clin. Invest.* **97**, 2534–2540 (1996).
40. Agarwal, R. & Georgianos, P. I. Con: Nutritional Vitamin D replacement in chronic kidney disease and end-stage renal disease. *Nephrol. Dial. Transplant.* **31**, 706–713 (2016).
41. Slatopolsky, E. *et al.* Marked suppression of secondary hyperparathyroidism by intravenous administration of 1,25-dihydroxycholecalciferol in uremic patients. *J. Clin. Invest.* **74**, 2136–2143 (1984).
42. Fukuda, N. *et al.* Decreased 1,25-dihydroxyvitamin D₃ receptor density is associated with a more severe form of parathyroid hyperplasia in chronic uremic patients. *J. Clin. Invest.* **92**, 1436–1443 (1993).

43. Block, G. a *et al.* Cinacalcet for secondary hyperparathyroidism in patients receiving hemodialysis. *N Eng J Med* **350**, 1516–1525 (2004).
44. Ureña, P. *et al.* Cinacalcet and achievement of the NKF-KDOQIM recommended target values for bone and mineral metabolism in real-world clinical practice - The ECHO observational study. *Nephrol. Dial. Transplant.* **24**, 2852–2859 (2009).
45. Fishbane, S. *et al.* Cinacalcet HCl and concurrent low-dose vitamin D improves treatment of secondary hyperparathyroidism in dialysis patients compared with vitamin D alone: The ACHIEVE study results. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **3**, 1718–1725 (2008).
46. Komaba, H. *et al.* Cinacalcet effectively reduces parathyroid hormone secretion and gland volume regardless of pretreatment gland size in patients with secondary hyperparathyroidism. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **5**, 2305–2314 (2010).
47. Tominaga, Y. *et al.* Evaluation of Parathyroidectomy for Secondary and Tertiary Hyperparathyroidism by the Parathyroid Surgeons' Society of Japan. *Ther. Apher. Dial.* **20**, 6–11 (2016).
48. Evenepoel, P. *et al.* A randomized study evaluating cinacalcet to treat hypercalcemia in renal transplant recipients with persistent hyperparathyroidism. *Am. J. Transplant.* **14**, 2545–2555 (2014).
49. Torregrosa, J. V. *et al.* Cinacalcet for hypercalcaemic secondary hyperparathyroidism after renal transplantation: A multicentre, retrospective, 3-year study. *Nephrology* **19**, 84–93 (2014).
50. Wolfe, R. A. *et al.* Comparison of Mortality in All Patients on Dialysis, Patients on Dialysis Awaiting Transplantation, and Recipients of a First Cadaveric Transplant. *N. Engl. J. Med.* **341**, 1725–1730 (1999).
51. Oniscu, G. C., Brown, H. & Forsythe, J. L. R. Impact of cadaveric renal transplantation on survival in patients listed for transplantation. *J. Am. Soc. Nephrol.* **16**, 1859–65 (2005).
52. Martín, E. & Coord, E. Artículo especial ~ de Enfermos Renales . Informe 2013 y evolución 2007-2013. *NEFROLOGÍA* **6**, 1–24 (2016).
53. Mange, K. C., Joffe, M. M. & Feldman, H. I. Effect of the use or nonuse of long-term dialysis on the subsequent survival of renal transplants from living donors. *N. Engl. J. Med.* **344**, 726–31 (2001).
54. Abecassis, M. *et al.* Kidney transplantation as primary therapy for end-stage renal disease: A National Kidney Foundation/Kidney Disease Outcomes Quality Initiative (NKF/KDOQI???) conference. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **3**, 471–480 (2008).
55. Wolf, M. *et al.* Elevated fibroblast growth factor 23 is a risk factor for kidney transplant loss and mortality. *J Am Soc Nephrol* **22**, 956–966 (2011).

56. Roodnat, J. I. *et al.* High pretransplant parathyroid hormone levels increase the risk for graft failure after renal transplantation. *Transplantation* **82**, 362–7 (2006).
57. Molnar, M. Z., Kovesdy, C. P., Mucsi, I., Salusky, I. B. & Kalantar-Zadeh, K. Association of pre-kidney transplant markers of mineral and bone disorder with post-transplant outcomes. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **7**, 1859–1871 (2012).
58. Bleskestad, I. H., Bergrem, H., Leivestad, T., Hartmann, A. & Gøransson, L. G. Parathyroid hormone and clinical outcome in kidney transplant patients with optimal transplant function. *Clin. Transplant.* **28**, 479–486 (2014).
59. Weisinger, J. R., Carlini, R. G., Rojas, E. & Bellorin-Font, E. Bone disease after renal transplantation. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **1**, 1300–1313 (2006).
60. Levi, M. Post-transplant hypophosphatemia. *Kidney Int.* **59**, 2377–2387 (2001).
61. Evenepoel, P., Naesens, M., Claes, K., Kuypers, D. & Vanrenterghem, Y. Tertiary “hyperphosphatoninism” accentuates hypophosphatemia and suppresses calcitriol levels in renal transplant recipients. *Am. J. Transplant.* **7**, 1193–1200 (2007).
62. Evenepoel, P. *et al.* Recovery of hyperphosphatoninism and renal phosphorus wasting one year after successful renal transplantation. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **3**, 1829–1836 (2008).
63. Bhan, I. *et al.* Post-transplant hypophosphatemia: Tertiary “Hyper-Phosphatoninism”? *Kidney Int.* **70**, 1486–1494 (2006).
64. Sprague, S. M., Belozeroff, V., Danese, M. D., Martin, L. P. & Olgaard, K. Abnormal bone and mineral metabolism in kidney transplant patients—a review. *Am. J. Nephrol.* **28**, 246–53 (2008).
65. Torres, A., Lorenzo, V. & Salido, E. Calcium metabolism and skeletal problems after transplantation. *J. Am. Soc. Nephrol.* **13**, 551–558 (2002).
66. Evenepoel, P. *et al.* Localization, etiology and impact of calcium phosphate deposits in renal allografts. *Am. J. Transplant.* **9**, 2470–2478 (2009).
67. Connolly, G. M., Cunningham, R., McNamee, P. T., Young, I. S. & Maxwell, A. P. Elevated serum phosphate predicts mortality in renal transplant recipients. *Transplantation* **87**, 1040–4 (2009).
68. Evenepoel, P. *et al.* Natural history of parathyroid function and calcium metabolism after kidney transplantation: A single-centre study. *Nephrol. Dial. Transplant.* **19**, 1281–1287 (2004).
69. Reinhardt, W. *et al.* Sequential changes of biochemical bone parameters after kidney transplantation. *Nephrol. Dial. Transplant* **13**, 436–442 (1998).
70. Torregrosa, J.-V. & Barros, X. Manejo de la hipercalcemia tras el trasplante renal. *Nefrología* **33**, 751–7 (2013).

71. Gwinner, W. *et al.* Early calcification of renal allografts detected by protocol biopsies: Causes and clinical implications. *Am. J. Transplant.* **5**, 1934–1941 (2005).
72. Kalantar-Zadeh, K., Molnar, M. Z., Kovesdy, C. P., Mucsi, I. & Bunnapradist, S. Management of mineral and bone disorder after kidney transplantation. *Curr. Opin. Nephrol. Hypertens.* **21**, 389–403 (2012).
73. Bonarek, H. *et al.* Reduced parathyroid functional mass after successful kidney transplantation. *Kidney Int.* **56**, 642–649 (1999).
74. Evenepoel, P. *et al.* Calcium metabolism in the early posttransplantation period. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **4**, 665–672 (2009).
75. Torregrosa, J. V., Bergua, C., Martinez de Osaba, M. J., Oppenheimer, F. & Campistol, J. M. Evolution of Secondary Hyperparathyroidism After Kidney Transplantation in Patients Receiving Cinacalcet on Dialysis. *Transplant. Proc.* **41**, 2396–2398 (2009).
76. Evenepoel, P. *et al.* Mineral metabolism in renal transplant recipients discontinuing cinacalcet at the time of transplantation: A prospective observational study. *Clin. Transplant.* **26**, 393–402 (2012).
77. Perrin, P. *et al.* Persistent hyperparathyroidism is a major risk factor for fractures in the five years after kidney transplantation. *Am. J. Transplant.* **13**, 2653–2663 (2013).
78. Mazzaferro, S. *et al.* Progression of coronary artery calcification in renal transplantation and the role of secondary hyperparathyroidism and inflammation. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **4**, 685–690 (2009).
79. Schwarz, A. *et al.* Risk factors for chronic allograft nephropathy after renal transplantation: A protocol biopsy study. *Kidney Int.* **67**, 341–348 (2005).
80. Stein, E. M. & Shane, E. Vitamin D in organ transplantation. *Osteoporos. Int.* **22**, 2107–2118 (2011).
81. Malluche, H. H., Monier-Faugere, M.-C. & Herberth, J. Bone disease after renal transplantation. *Nat. Rev. Nephrol.* **6**, 32–40 (2010).
82. De Sevaux, R. G. L., Hoitsma, A. J., van Hoof, H. J. C., Corstens, F. J. M. & Wetzels, J. F. M. Abnormal vitamin D metabolism and loss of bone mass after renal transplantation. *Nephron. Clin. Pract.* **93**, C21–8 (2003).
83. Julian, B. A. *et al.* Rapid loss of vertebral mineral density after renal transplantation. *N. Engl. J. Med.* **325**, 544–550 (1993).
84. Grotz, W. H. *et al.* Bone loss after kidney transplantation: A longitudinal study in 115 graft recipients. *Nephrol. Dial. Transplant.* **10**, 2096–2100 (1995).

85. Monier-Faugere, M. C., Mawad, H., Qi, Q., Friedler, R. M. & Malluche, H. H. High prevalence of low bone turnover and occurrence of osteomalacia after kidney transplantation. *J. Am. Soc. Nephrol.* **11**, 1093–9 (2000).
86. Caplan, A., Fett, N., Rosenbach, M., Werth, V. P. & Micheletti, R. G. Prevention and management of glucocorticoid-induced side effects: A comprehensive review. *J. Am. Acad. Dermatol.* **76**, 1–9 (2017).
87. Vautour, L. M. *et al.* Long-term fracture risk following renal transplantation : a population-based study. *Osteoporos. Int.* **15**, 160–167 (2004).
88. Delany, A. M., Dong, Y. & Canalis, E. Mechanisms of glucocorticoid action in bone cells. *J. Cell. Biochem.* **56**, 295–302 (1994).
89. Weinstein, R., Jilka, R., Parfitt, A. & Manolagas, S. Inhibition of osteoblastogenesis and promotion of apoptosis of osteoblasts and osteocytes by glucocorticoids. Potential mechanism of their deleterious effects on bone. *J. Clin. Invest.* **102**, 274–282 (1998).
90. Canalis, E., Mazziotti, G., Giustina, a. & Bilezikian, J. P. Glucocorticoid-induced osteoporosis: Pathophysiology and therapy. *Osteoporos. Int.* **18**, 1319–1328 (2007).
91. Sakakura, M., Takebe, K. & Nakagawa, S. Inhibition of Luteinizing Hormone Secretion Induced by Synthetic LRH by Long-term Treatment with Glucocorticoids in Human Subjects. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **40**, 774–779 (1975).
92. Brandenburg, V. M. *et al.* Lumbar bone mineral density in very long-term renal transplant recipients: Impact of circulating sex hormones. *Osteoporos. Int.* **16**, 1611–1620 (2005).
93. Marcén, R. *et al.* Lumbar bone mineral density in renal transplant patients on neoral and tacrolimus: A four-year prospective study. *Transplantation* **81**, 826–831 (2006).
94. Ugur, A. *et al.* Osteoporosis After Renal Transplantation : Single. *Transplantation* **71**, 645–649 (2001).
95. Schlosberg, M. *et al.* The effect of cyclosporine A administration and its withdrawal on bone mineral metabolism in the rat. *Endocrinology* **124**, 2179–2184 (1989).
96. Kirino, S. *et al.* Regulation of bone metabolism in immunosuppressant (FK506)-treated rats. *J. Bone Miner. Metab.* **22**, 554–560 (2004).
97. Abbott, K. C. *et al.* Hospitalizations for fractures after renal transplantation in the United States. *Ann. Epidemiol.* **11**, 450–457 (2001).
98. Chiu, M. Y. *et al.* Analysis of fracture prevalence in kidney-pancreas allograft recipients. *J. Am. Soc. Nephrol.* **9**, 677–683 (1998).

99. Mikuls, T. R., Julian, B. a, Bartolucci, A. & Saag, K. G. Bone mineral density changes within six months of renal transplantation. *Transplantation* **75**, 49–54 (2003).
100. Brandenburg, V. M. *et al.* Early rapid loss followed by long-term consolidation characterizes the development of lumbar bone mineral density after kidney transplantation. *Transplantation* **77**, 1566–1571 (2004).
101. Ojo, a. O. *et al.* Long-term survival in renal transplant recipients with graft function. *Kidney Int.* **57**, 307–313 (2000).
102. Cannata-Andia, J. B., Roman-Garcia, P. & Hruska, K. The connections between vascular calcification and bone health. *Nephrol. Dial. Transplant.* **26**, 3429–3436 (2011).
103. Nguyen, P. T. H. *et al.* Prevalence and determinants of coronary and aortic calcifications assessed by chest CT in renal transplant recipients. *Am. J. Nephrol.* **27**, 329–335 (2007).
104. Torregrosa, J. V *et al.* Successful treatment of calcific uraemic arteriopathy with bisphosphonates. *Nefrología* **32**, 329–334 (2012).
105. Shimada, T. *et al.* Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **98**, 6500–5 (2001).
106. Gore, M. O. *et al.* Renal phosphate wasting due to tumor-induced osteomalacia: a frequently delayed diagnosis. *Kidney Int.* **76**, 342–347 (2009).
107. White, K. *et al.* Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat. Genet.* **26**, 345–348 (2000).
108. Berndt, T. & Kumar, R. Novel mechanisms in the regulation of phosphorus homeostasis. *Physiology (Bethesda).* **24**, 17–25 (2009).
109. Beenken, A. & Mohammadi, M. The structural biology of the FGF19 subfamily. *Adv. Exp. Med. Biol.* **728**, 1–24 (2012).
110. Eswarakumar, V. P., Lax, I. & Schlessinger, J. Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. *Cytokine Growth Factor Rev.* **16**, 139–149 (2005).
111. Itoh, N. & Ornitz, D. M. Functional evolutionary history of the mouse Fgf gene family. *Dev. Dyn.* **237**, 18–27 (2008).
112. Yamashita, T. Structural and biochemical properties of fibroblast growth factor 23. *Ther Apher Dial* **9**, 313–318 (2005).
113. Goetz, R. *et al.* Isolated C-terminal tail of FGF23 alleviates hypophosphatemia by inhibiting FGF23-FGFR-Klotho complex formation. *Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A.* **107**, 407–412 (2010).

114. Kuro-o, M. *et al.* Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature* **390**, 45–51 (1997).
115. Kurosu, H. *et al.* Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by Klotho. *J. Biol. Chem.* **281**, 6120–6123 (2006).
116. Urakawa, I. *et al.* Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature*. **444**, 770–774 (2006).
117. Shimada, T. *et al.* Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J. Clin. Invest.* **113**, 561–568 (2004).
118. Hu, M. C., Shiizaki, K., Kuro-o, M. & Moe, O. W. Fibroblast growth factor 23 and Klotho: physiology and pathophysiology of an endocrine network of mineral metabolism. *Annu. Rev. Physiol.* **75**, 503–33 (2013).
119. Goetz, R. *et al.* Molecular insights into the klotho-dependent, endocrine mode of action of fibroblast growth factor 19 subfamily members. *Mol. Cell. Biol.* **27**, 3417–28 (2007).
120. Hu, M. C., Shiizaki, K., Kuro-o, M. & Moe, O. W. Fibroblast growth factor 23 and Klotho: physiology and pathophysiology of an endocrine network of mineral metabolism. *Annu. Rev. Physiol.* **75**, 503–33 (2013).
121. Hu, M. C. *et al.* Klotho: a novel phosphaturic substance acting as an autocrine enzyme in the renal proximal tubule. *FASEB J.* **24**, 3438–3450 (2010).
122. Hu, M. C. *et al.* Klotho Deficiency Causes Vascular Calcification in Chronic Kidney Disease. *J Am Soc Nephrol* **22**, 124–136 (2011).
123. Imura, A. *et al.* Secreted Klotho protein in sera and CSF: Implication for post-translational cleavage in release of Klotho protein from cell membrane. *FEBS Lett.* **565**, 143–147 (2004).
124. Murer, H., Hernando, N., Forster, I. & Biber, J. Regulation of Na/Pi Transporter in the Proximal Tubule. *Annu. Rev. Physiol.* **65**, 531–542 (2003).
125. Rhee, Y. *et al.* Parathyroid hormone receptor signaling in osteocytes increases the expression of fibroblast growth factor-23 in vitro and in vivo. *Bone* **49**, 636–643 (2011).
126. Masuyama, R. *et al.* Vitamin D receptors in chondrocytes promoted osteoclastogenesis and regulates FGF23 production in osteoblasts. *J. Clin. Invest.* **116**, 3150–3159 (2006).
127. Martin, a. *et al.* Bone proteins PHEX and DMP1 regulate fibroblastic growth factor Fgf23 expression in osteocytes through a common pathway involving FGF receptor (FGFR) signaling. *FASEB J.* **25**, 2551–2562 (2011).

128. Feng, J. Q. *et al.* Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism. *Nat. Genet.* **38**, 1310–5 (2006).
129. Barthel, T. K. *et al.* 1,25-Dihydroxyvitamin D₃/VDR-mediated induction of FGF23 as well as transcriptional control of other bone anabolic and catabolic genes that orchestrate the regulation of phosphate and calcium mineral metabolism. *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **103**, 381–388 (2007).
130. López, I. *et al.* Direct and indirect effects of parathyroid hormone on circulating levels of fibroblast growth factor 23 in vivo. *Kidney Int.* **80**, 475–482 (2011).
131. Rodriguez-Ortiz, M. E. *et al.* Calcium Deficiency Reduces Circulating Levels of FGF23. *J. Am. Soc. Nephrol.* **23**, 1–8 (2012).
132. Shimamura, Y. *et al.* Serum levels of soluble secreted α -Klotho are decreased in the early stages of chronic kidney disease, making it a probable novel biomarker for early diagnosis. *Clin. Exp. Nephrol.* **16**, 722–729 (2012).
133. Burnett, S.-A. M. *et al.* Regulation of C-terminal and intact FGF-23 by dietary phosphate in men and women. *J. Bone Miner. Res.* **21**, 1187–96 (2006).
134. Ito, N. *et al.* Effect of acute changes of serum phosphate on fibroblast growth factor (FGF)23 levels in humans. *J. Bone Miner. Metab.* **25**, 419–422 (2007).
135. Shimada, T. *et al.* FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J. Bone Miner. Res.* **19**, 429–35 (2004).
136. Liu, S. Fibroblast Growth Factor 23 Is a Counter-Regulatory Phosphaturic Hormone for Vitamin D. *J. Am. Soc. Nephrol.* **17**, 1305–1315 (2006).
137. Dusso, A. S., Brown, A. J. & Slatopolsky, E. Vitamin D. *Am J Physiol Ren. Physiol* **289**, F8–F28 (2005).
138. Farrow, E. G., Davis, S. I., Summers, L. J. & White, K. E. Initial FGF23-mediated signaling occurs in the distal convoluted tubule. *J. Am. Soc. Nephrol.* **20**, 955–60 (2009).
139. Lavi-Moshayoff, V., Wasserman, G., Meir, T., Silver, J. & Naveh-Many, T. PTH increases FGF23 gene expression and mediates the high-FGF23 levels of experimental kidney failure: a bone parathyroid feedback loop. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **299**, F882–F889 (2010).
140. Ben-Dov, I. Z. *et al.* The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *J. Clin. Invest.* **117**, 4003–4008 (2007).
141. Olauson, H. *et al.* Parathyroid-Specific Deletion of Klotho Unravels a Novel Calcineurin-Dependent FGF23 Signaling Pathway That Regulates PTH Secretion. *PLoS Genet.* **9**, 4–13 (2013).

142. Fliser, D. *et al.* Fibroblast growth factor 23 (FGF23) predicts progression of chronic kidney disease: the Mild to Moderate Kidney Disease (MMKD) Study. *J. Am. Soc. Nephrol.* **18**, 2600–8 (2007).
143. Gutierrez, O. M. *et al.* Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N.Engl.J.Med.* **359**, 584–592 (2008).
144. Faul, C. *et al.* FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J. Clin. Invest.* **121**, 4393–4408 (2011).
145. Heijboer, a C. *et al.* Determination of fibroblast growth factor 23. *Ann. Clin. Biochem.* **46**, 338–340 (2009).
146. Smith, E. R., McMahon, L. P. & Holt, S. G. Method-specific differences in plasma fibroblast growth factor 23 measurement using four commercial ELISAs. *Clin. Chem. Lab. Med.* **51**, 1971–1981 (2013).
147. Imel, E. a. *et al.* Sensitivity of fibroblast growth factor 23 measurements in tumor-induced osteomalacia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **91**, 2055–2061 (2006).
148. Ito, N. *et al.* Comparison of two assays for fibroblast growth factor (FGF)-23. *J. Bone Miner. Metab.* **23**, 435–440 (2005).
149. Komaba, H. & Fukagawa, M. FGF23: A key player in mineral and bone disorder in CKD. *Nefrologia* **29**, 392–396 (2009).
150. Nitta, K., Nagano, N. & Tsuchiya, K. Fibroblast growth factor 23/klotho axis in chronic kidney disease. *Nephron - Clin. Pract.* **128**, 1–10 (2014).
151. Larsson, T., Nisbeth, U., Ljunggren, Ö., Jüppner, H. & Jonsson, K. B. 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.* **64**, 2272–2279 (2003).
152. Gutierrez, O. Fibroblast Growth Factor-23 Mitigates Hyperphosphatemia but Accentuates Calcitriol Deficiency in Chronic Kidney Disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* **16**, 2205–2215 (2005).
153. Koh, N. *et al.* Severely reduced production of klotho in human chronic renal failure kidney. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* **280**, 1015–20 (2001).
154. Seiler, S. *et al.* Plasma Klotho is not related to kidney function and does not predict adverse outcome in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int.* **83**, 121–128 (2013).
155. Krajisnik, T. *et al.* Parathyroid Klotho and FGF-receptor 1 expression decline with renal function in hyperparathyroid patients with chronic kidney disease and kidney transplant recipients. *Kidney Int.* **78**, 1024–1032 (2010).

156. Galitzer, H., Ben-Dov, I. Z., Silver, J. & Naveh-Many, T. Parathyroid cell resistance to fibroblast growth factor 23 in secondary hyperparathyroidism of chronic kidney disease. *Kidney Int.* **77**, 211–8 (2010).
157. Palmer, S. C. *et al.* Serum Levels of Phosphorus, Parathyroid Hormone, and Calcium and Risks of Death. *JAMA* **305**, 1119–1127 (2011).
158. Jean, G. *et al.* High levels of serum fibroblast growth factor (FGF)-23 are associated with increased mortality in long haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant* **24**, 2792–2796 (2009).
159. Nakanishi, S. *et al.* Serum fibroblast growth factor-23 levels predict the future refractory hyperparathyroidism in dialysis patients. *Kidney Int.* **67**, 1171–1178 (2005).
160. Mirza, M. a I. *et al.* Relationship between circulating FGF23 and total body atherosclerosis in the community. *Nephrol. Dial. Transplant.* **24**, 3125–3131 (2009).
161. Mirza, M. a I., Larsson, A., Melhus, H., Lind, L. & Larsson, T. E. Serum intact FGF23 associate with left ventricular mass, hypertrophy and geometry in an elderly population. *Atherosclerosis* **207**, 546–551 (2009).
162. Gutiérrez, O. M. *et al.* Fibroblast growth factor 23 and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease. *Circulation* **119**, 2545–2552 (2009).
163. Hsu, H. J. & Wu, M. S. Fibroblast growth factor 23: a possible cause of left ventricular hypertrophy in hemodialysis patients. *Am J Med Sci* **337**, 116–122 (2009).
164. Kirkpantur, A. *et al.* Serum fibroblast growth factor-23 (FGF-23) levels are independently associated with left ventricular mass and myocardial performance index in maintenance haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* **26**, 1346–1354 (2011).
165. Mehta, R. *et al.* Association of Fibroblast Growth Factor 23 With Atrial Fibrillation in Chronic Kidney Disease, From the Chronic Renal Insufficiency Cohort Study. *JAMA Cardiol.* **1**, 548 (2016).
166. Scialla, J. J. *et al.* Fibroblast growth factor-23 and cardiovascular events in CKD. *J. Am. Soc. Nephrol.* **25**, 349–60 (2014).
167. Isakova, T. *et al.* Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int* **79**, 1370–1378 (2011).
168. Economidou, D., Dovas, S., Papagianni, A., Pateinakis, P. & Memmos, D. FGF-23 Levels before and after Renal Transplantation. *J. Transplant.* **2009**, 379082 (2009).
169. Pande, S. *et al.* FGF-23 and sFRP-4 in chronic kidney disease and post-renal transplantation. *Nephron - Physiol.* **104**, 23–32 (2006).

170. Trombetti, A. *et al.* Early post-transplantation hypophosphatemia is associated with elevated FGF-23 levels. *Eur. J. Endocrinol.* **164**, 839–847 (2011).
171. Kawarazaki, H. *et al.* The relative role of fibroblast growth factor 23 and parathyroid hormone in predicting future hypophosphatemia and hypercalcemia after living donor kidney transplantation: A 1-year prospective observational study. *Nephrol. Dial. Transplant.* **26**, 2691–2695 (2011).
172. Kanaan, N. *et al.* Fibroblast growth factor-23 and parathyroid hormone are associated with post-transplant bone mineral density loss. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **5**, 1887–1892 (2010).
173. Holick, M. F. Vitamin D deficiency. *N. Engl. J. Med.* **357**, 266–81 (2007).
174. Romagnoli, E., Pepe, J., Piemonte, S., Cipriani, C. & Minisola, S. Management of endocrine disease: value and limitations of assessing vitamin D nutritional status and advised levels of vitamin D supplementation. *Eur. J. Endocrinol.* **169**, 59–69 (2013).
175. Wolf, M. *et al.* Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney Int.* **72**, 1004–13 (2007).
176. Melamed, M. L. *et al.* 25-hydroxyvitamin D levels, race, and the progression of kidney disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* **20**, 2631–9 (2009).
177. Bienaimé, F. *et al.* Vitamin D status and outcomes after renal transplantation. *J. Am. Soc. Nephrol.* **24**, 831–41 (2013).
178. Courbebaisse, M., Souberbielle, J.-C. & Thervet, E. Potential nonclassical effects of vitamin D in transplant recipients. *Transplantation* **89**, 131–7 (2010).
179. Adami, S., Viapiana, O., Gatti, D., Idolazzi, L. & Rossini, M. Relationship between serum parathyroid hormone, vitamin D sufficiency, age, and calcium intake. *Bone* **42**, 267–270 (2008).
180. Thacher, T. D. & Clarke, B. L. Vitamin D Insufficiency. *Mayo Clin. Proc.* **86**, 50–60 (2011).
181. Silver, D. S. Calcium and vitamin D controversies. *Rheumatic Disease Clinics of North America* **37**, 351–363 (2011).
182. Holick, M. F. *et al.* Evaluation, treatment, and prevention of vitamin D deficiency: An endocrine society clinical practice guideline. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **96**, 1911–1930 (2011).
183. Deng, X. *et al.* Magnesium, vitamin D status and mortality: results from US National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES) 2001 to 2006 and NHANES III. *BMC Med.* **11**, 1–14 (2013).

184. Hossein-Nezhad, A. & Holick, M. F. Vitamin D for health: A global perspective. *Mayo Clin. Proc.* **88**, 720–755 (2013).
185. Lappe, J. M., Travers-gustafson, D., Davies, K. M., Recker, R. R. & Heaney, R. P. Vitamin D and calcium supplementation reduces cancer risk : results of a randomized trial 1 , 2. *Am. J. Clin. Nutr.* **85**, 1586–1591 (2007).
186. Bjelakovic, G. *et al.* Vitamin D supplementation for prevention of mortality in adults. *Cochrane.Database.Syst.Rev.* CD007470 (2011). doi:10.1002/14651858.CD007470.pub2
187. Tangpricha, V. *et al.* Tanning is associated with optimal vitamin D status (serum 25-hydroxyvitamin D concentration) and higher bone mineral density. *Am. J. Clin. Nutr.* **80**, 1645–1649 (2004).
188. Koutkia, P., Lu, Z., Chen, T. C. & Holick, M. F. Treatment of vitamin D deficiency due to Crohn’s disease with tanning bed ultraviolet B radiation. *Gastroenterology* **121**, 1485–1488 (2001).
189. Dusso, A. S. & Tokumoto, M. Defective renal maintenance of the vitamin D endocrine system impairs vitamin D renoprotection: a downward spiral in kidney disease. *Kidney Int.* **79**, 715–29 (2011).
190. Del Valle, E., Negri, A. L., Aguirre, C., Fradinger, E. & Zanchetta, J. R. Prevalence of 25(OH) vitamin D insufficiency and deficiency in chronic kidney disease stage 5 patients on hemodialysis. *Hemodial. Int.* **11**, 315–21 (2007).
191. De Boer, I. H. *et al.* Serum 25-hydroxyvitamin D and change in estimated glomerular filtration rate. *Clin J Am Soc Nephrol* **6**, 2141–2149 (2011).
192. Krause, R., Roth, H. J., Kaase, H., Stange, R. & Holick, M. F. Vitamin D Status in Chronic Kidney Disease - UVB Irradiation Is Superior to Oral Supplementation. *Anticancer Res.* **36**, 1397–401 (2016).
193. Sprague, S. M. *et al.* Use of Extended-Release Calcifediol to Treat Secondary Hyperparathyroidism in Stages 3 and 4 Chronic Kidney Disease. *Am. J. Nephrol.* **44**, 316–325 (2016).
194. Goldsmith, D. J. a. Pro: Should we correct Vitamin D deficiency/insufficiency in chronic kidney disease patients with inactive forms of Vitamin D or just treat them with active Vitamin D forms? *Nephrol. Dial. Transplant.* **31**, 698–705 (2016).
195. Zoccali, C. & Mallamaci, F. Moderator’s view: Vitamin D deficiency treatment in advanced chronic kidney disease: A close look at the emperor's clothes. *Nephrol. Dial. Transplant.* **31**, 714–716 (2016).
196. Kim, M. J. *et al.* Oral cholecalciferol decreases albuminuria and urinary TGF- β 1 in patients with type 2 diabetic nephropathy on established renin–angiotensin–aldosterone system inhibition. *Kidney Int.* **80**, 851–860 (2011).

197. De Zeeuw, D. *et al.* Selective vitamin D receptor activation with paricalcitol for reduction of albuminuria in patients with type 2 diabetes (VITAL study): A randomised controlled trial. *Lancet* **376**, 1543–1551 (2010).
198. Pradhan, A. D. & Manson, J. E. Update on the Vitamin D and Omega-3 trial (VITAL). *J. Steroid Biochem. Mol. Biol.* **155**, 252–256 (2016).
199. Querings, K. *et al.* 25-hydroxyvitamin D deficiency in renal transplant recipients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **91**, 526–9 (2006).
200. Sadlier, D. M. & Magee, C. C. Prevalence of 25(OH) vitamin D (calcidiol) deficiency at time of renal transplantation: A prospective study. *Clin. Transplant.* **21**, 683–688 (2007).
201. Keyzer, C. a. *et al.* Associations of 25(OH) and 1,25(OH)₂ vitamin D with long-term outcomes in stable renal transplant recipients. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **100**, 81–89 (2015).
202. Saha, H. H. *et al.* Sequential changes in vitamin D and calcium metabolism after successful renal transplantation. *Scand. J. Urol. Nephrol.* **28**, 21–27 (1994).
203. El-Sayed, M., Ghoneim, M. a., El-Agroudy, A. E. & El-Husseini, A. a. Preventing Bone Loss in Renal Transplant Recipients with Vitamin D. *J Am Soc Nephrol* **14**, 2975–2979 (2003).
204. Obi, Y. *et al.* Vitamin D deficiency predicts decline in kidney allograft function: a prospective cohort study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **99**, 527–35 (2014).
205. Lee, J. R. *et al.* Circulating levels of 25-hydroxyvitamin D and acute cellular rejection in kidney allograft recipients. *Transplantation* **98**, 292–9 (2014).
206. Wissing, K. M. *et al.* A controlled study of vitamin D₃ to prevent bone loss in renal-transplant patients receiving low doses of steroids. *Transplantation* **79**, 108–15 (2005).
207. Sahin, G., Yasar, N. S., Sirmagul, B., Bal, C. & Yalcin, A. U. The Effect of Low-Dose Cholecalciferol and Calcium Treatment on Posttransplant Bone Loss in Renal Transplant Patients: A Prospective Study. *Ren. Fail.* **30**, 992–999 (2008).
208. Courbebaisse, M. *et al.* Effects of vitamin D supplementation on the calcium-phosphate balance in renal transplant patients. *Kidney Int.* **75**, 646–651 (2009).
209. Courbebaisse, M. *et al.* Cholecalciferol supplementation does not protect against renal allograft structural and functional deterioration: a retrospective study. *Transplantation* **91**, 207–212 (2011).
210. Courbebaisse, M. *et al.* VITamin D supplementation in renAL transplant recipients (VITALE): a prospective, multicentre, double-blind, randomized trial of vitamin D estimating the benefit and safety of vitamin D₃ treatment at a dose of 100,000 UI compared with a dose of 12,000 UI. *Trials* **15**, 430 (2014).

211. Thiem, U. *et al.* VITA-D: cholecalciferol substitution in vitamin D deficient kidney transplant recipients: a randomized, placebo-controlled study to evaluate the post-transplant outcome. *Trials* **10**, 36 (2009).
212. Barros, X. *et al.* Earlier Decrease of FGF-23 and Less Hypophosphatemia in Preemptive Kidney Transplant Recipients. *Transplant. J.* **94**, 830–836 (2012).
213. Barros, X. *et al.* Changes in bone mineral metabolism parameters, including FGF23, after discontinuing cinacalcet at kidney transplantation. *Endocrine* 267–273 (2014). doi:10.1007/s12020-014-0400-1
214. Sánchez Fructuoso, A. I. *et al.* Serum level of fibroblast growth factor 23 in maintenance renal transplant patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* **27**, 4227–4235 (2012).
215. Sirilak, S. *et al.* Renal phosphate loss in long-term kidney transplantation. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **7**, 323–331 (2012).
216. Isakova, T. *et al.* Effects of dietary phosphate restriction and phosphate binders on FGF23 levels in CKD. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **8**, 1009–1018 (2013).
217. Ureña-Torres, P. *et al.* Changes in fibroblast growth factor 23 levels in normophosphatemic patients with chronic kidney disease stage 3 treated with lanthanum carbonate: results of the PREFECT study, a phase 2a, double blind, randomized, placebo-controlled trial. *BMC Nephrol.* **15**, 71 (2014).
218. Wetmore, J. B., Liu, S., Krebill, R., Menard, R. & Quarles, L. D. Effects of cinacalcet and concurrent low-dose vitamin D on FGF23 levels in ESRD. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol.* **5**, 110–116 (2010).
219. Finch, J. L. *et al.* Effect of paricalcitol and cinacalcet on serum phosphate, FGF-23, and bone in rats with chronic kidney disease. *Am. J. Physiol. Renal Physiol.* **298**, F1315–22 (2010).
220. Meir, T. *et al.* Parathyroid hormone activates the orphan nuclear receptor Nurrl1 to induce FGF23 transcription. *Kidney Int.* **86**, 1106–1115 (2014).
221. Smith, E. R., Cai, M. M., McMahon, L. P. & Holt, S. G. Biological variability of plasma intact and C-terminal FGF23 measurements. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **97**, 3357–3365 (2012).
222. Barros, X. *et al.* Rapid calcitriol increase and persistent calcidiol insufficiency in the first 6 months after kidney transplantation. *Nucl. Med. Commun.* **1** (2015). doi:10.1097/MNM.000000000000265
223. Barros, X. *et al.* Comparison of two different vitamin D supplementation regimens with oral calcifediol in kidney transplant patients. *J. Nephrol.* (2015). doi:10.1007/s40620-015-0237-6

224. Bosworth, C. R. *et al.* The serum 24,25-dihydroxyvitamin D concentration, a marker of vitamin D catabolism, is reduced in chronic kidney disease. *Kidney Int.* **82**, 693–700 (2012).
225. Alshayeb, H. *et al.* Activation of FGF-23 mediated vitamin D degradative pathways by cholecalciferol. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* **99**, E1830–E1837 (2014).

ADDENDUM

Anexo 1: Validación interna de la técnica ELISA de 2ª generación para determinación del fragmento C-terminal de FGF23

Para el la determinación de FGF23 en cada momento se extrajeron 4 ml de sangre en un tubo con EDTA, que se almacenaron a 4°C en la nevera hasta el momento en que se llevaron a laboratorio para centrifugación durante 10 min en una centrífuga refrigerada. Tras la obtención de aproximadamente 2 ml de plasma, éste se almacenó entre -80°C y -20°C.

1 ml se procesó por el investigador principal como se detalla a continuación y el otro ml de plasma se mantuvo guardado en una alícuota por si se precisase realizar alguna nueva determinación en el futuro.

Pasos del procesado:

Se coloca en una placa el suficiente número de tiras recubiertas con Streptavidina para realizar los FGF-23 standards, los controles y las muestras. Se realizaron cada uno por duplicado.

Pipetear 100 microL de standard, control o muestra y depositar sobre el pocillo designado. Congelar el resto de controles y standards tras su uso.

Pipetear 50 microL de la solución de anticuerpos en cada pocillo.

Cubrir la placa con una lámina y posteriormente cubrir con papel de aluminio para protegerlos de la luz.

Mantener la placa a temperatura ambiente durante tres horas en un agitador horizontal a 180-220 rpm.

Retirar el papel de aluminio y la lámina. Usando un lavador de placas automático lavar 5 veces con 350 microL de solución de lavado.

Pipetear 150 microL de sustrato de ELISA HRP en cada pocillo.

Recubrir con una lámina y con papel de aluminio. Agitar durante 30 mins a 180-220 rpm a temperatura ambiente.

Retirar la lámina y el papel de aluminio. Leer la absorbancia a 620 nm dentro de los siguientes 5 minutos en un lector de placas frente al Standard o como blanco.

Pipetear inmediatamente 50 microL de ELISA Stop Solution en cada una de los pocillos. Agitar durante 1 minuto.

Leer la absorbancia a 450 nm dentro de los siguientes 10 minutos en lector de placas contra un blanco de reactivo de 150 microL de sustrato y 50 microL de Stop Solution.

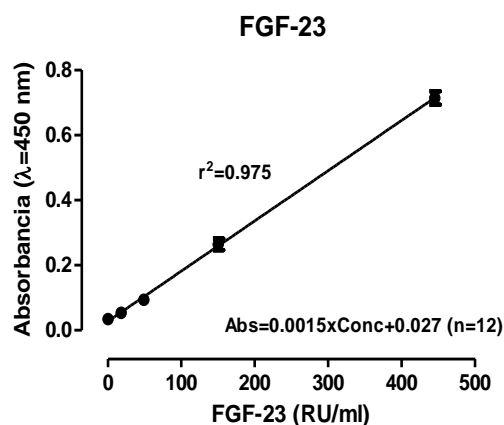
La lectura a 450 nm es la recomendada para valores comprendidos entre 0 y 680 RU/mL y la lectura primera realizada a 620 nm para valores superiores a 680 RU/mL.

Validación de la técnica:

- Linealidad.

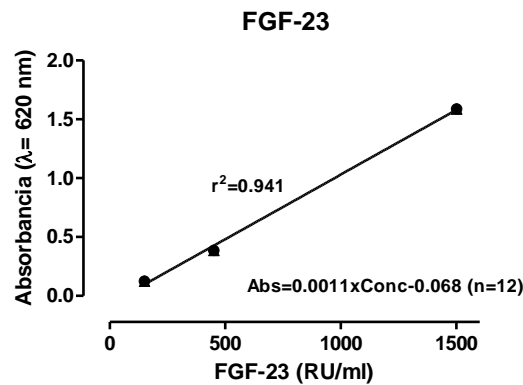
Se realizan dos lecturas que dan lugar a dos curvas. La lectura de la primera curva (rango de ensayo 6-445 RU/ml) se realiza a una longitud de onda de 450 nm utilizando las absorbancias obtenidas con los 5 primeros standards.

Se han realizado 6 determinaciones por duplicado de los 5 primeros standards, observando una relación lineal entre la absorbancia y las concentraciones.

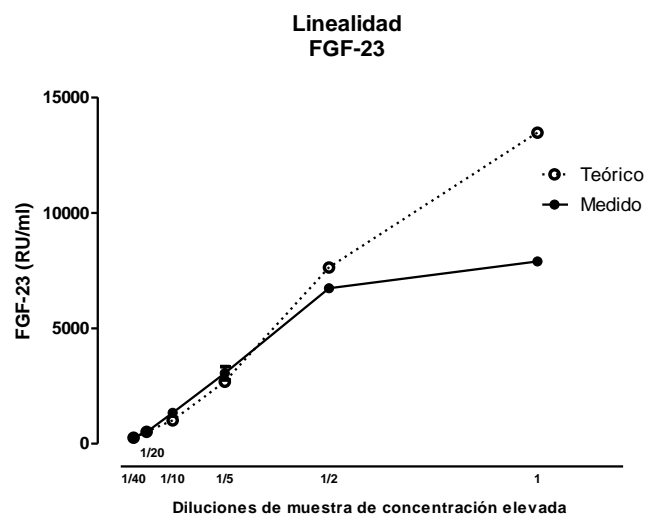


La lectura de la segunda curva se realiza a una longitud de onda de 650 nm utilizando las absorbancias de los 3 standards más altos. Esta segunda curva se utiliza para la lectura de las concentraciones muestrales por encima del standard 5 (445 RU/ml).

Se han llevado a cabo 6 determinaciones por duplicado de los 3 últimos standards, observando una relación lineal entre la absorbancia y las concentraciones.



Para determinar si la linealidad se conservaba al alcanzar concentraciones por encima del Standard más alto (1500 RU/mL) se ha realizado dilución de una muestra de elevada concentración, observando una pérdida de la linealidad al alcanzar valores por encima de 4000 RU/ml, por lo que concentraciones por encima de este valor fueron diluidas a lo largo de la realización del estudio.



- Precisión.

Para determinar la precisión intra-ensayo, la media y el coeficiente de variación fueron calculados mediante 4 determinaciones por duplicado (8 determinaciones) de los controles de calidad (nivel alto y nivel bajo) y 7 determinaciones por duplicado (14 determinaciones) de tres muestras.

	MEDIA (RU/mL)	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
CONTROL BAJO	19,89	14,31%
CONTROL ALTO	308,97	4,94%
MUESTRA	123,13	3,53%
MUESTRA	489,16	10,87%
MUESTRA	2795,23	5,67%

Para determinar la precisión inter-ensayo, la media y el coeficiente de variación fueron calculados mediante determinaciones por duplicado de los controles de calidad (nivel bajo y nivel alto) en 9 ensayos distintos y determinaciones por duplicado de tres muestras en 7 ensayos.

	MEDIA (RU/mL)	COEFICIENTE DE VARIACIÓN
CONTROL BAJO	28,6	27,01%
CONTROL ALTO	302,3	14,08%
MUESTRA	123,1	15,91%
MUESTRA	489,2	16,95%
MUESTRA	2795,2	13,07%

- Exactitud.

La recuperación se realizó añadiendo 50 microL de Std₁₅₀₀ a 200 microL de una muestra de concentración 76.98 RU/mL, obteniendo una concentración final de 354.432 RU/mL (esperada de 361.58 RU/mL), con una recuperación del 98%. De la misma manera se añadieron 25 microL de Std₁₅₀₀ a 225 microL de la misma muestra con concentración de 76.98 RU/mL, obteniendo una concentración final de 174.937 RU/mL (esperada de 219 RU/mL), con una recuperación del 79.9%.

- Sensibilidad analítica (límite de detección).

La sensibilidad de la técnica ha sido determinada tomando 12 muestras de diluyente, resultando ser 6.06 RU/mL con un 95% de intervalo de confianza.

Esta es la concentración mínima que el ensayo es capaz de detectar.

- Intervalos de referencia.

Según estudios previos en población sana se consideran normales niveles de FGF₂₃ por debajo de 150 RU/mL o 120 RU/mL. Hasta el momento se han determinado niveles de FGF₂₃ en muestras de plasma (EDTA) en 13 controles sanos en nuestro centro con niveles de 47 +/- 24 RU/mL.

Anexo 2: Otras Publicaciones

Barros X, Dirrichs T, Koos R, Reinartz S, Kaesler N, Kramann R, Gladziwa U, Ketteler M, Floege J, Marx N, Torregrosa JV, Keszei A, Brandenburg VM. Epicardial adipose tissue in long-term hemodialysis patients: its association with vascular calcification and long-term development. *J Nephrol.* 2016 Apr;29(2):241-250

Torregrosa JV, Sánchez-Escuredo A, **Barros X**, Blasco M, Campistol JM. **Clinical management of calcific uremic arteriopathy before and after therapeutic inclusion of biphosphonates. *Clin Nephrol.* 2015 Apr;83(4):231-4**

Torregrosa JV, Sánchez-Escuredo A, Fuster D, **Barros X**, Campos F, Muxí Á, Perlaza P, Marzola MC, Chondrogiannis S, Colletti PM, Rubello D, Ricart MJ. **DXA variations and fractures after simultaneous pancreas-renal transplantation: results of a long-term follow-up. *Clin Nucl Med.* 2015 Apr;40(4):e232-5**

Torregrosa JV, **Barros X**. **Manejo de la hipercalcemia tras el trasplante renal. *Nefrología* 2013; 33(6): 751-7**

Torregrosa JV, Durán CE, **Barros X**, Blasco M, Arias M, Cases A, Campistol JM. **Tratamiento eficaz de la arteriopatía urémica calcificante con bifosfonatos. *Nefrología* 2012; 32(3):329-34**

Paschoalin RP, Torregrosa JV, **Barros X**, Durán CE, Campistol JM. **Cinacalcet de Novo in persistent hypercalcemia after kidney transplantation secondary to hyperparathyroidism. Long-term follow-up and effect of withdrawal. *Transplant Proc* 2012; 44(8):2376-8**

Paschoalin RP, Torregrosa JV, **Barros X**, Durán CE, Soler M, Campistol JM. **Withdrawal of Cinacalcet at the time of renal transplantation is not a risk factor for allograft calcifications in the early post- transplantation period. *Transplant Proc* 2012; 44(8):2379-80**

Paschoalin RP, Torregrosa JV, Sánchez-Escuredo A, Durán CE, **Barros X**, Campistol JM. **Cinacalcet treatment for stable kidney transplantation patients with hypercalcemia due to persistent secondary hyperparathyroidism: a long-term follow-up. *Transplant Proc* 2012; 44(9):2588-9**

Barros X and Torregrosa JV. Role of FGF23 in Kidney Transplantation. *J Transplant Technol Res* 2011; S1:002. doi:10.4172/2161-0991.S1-002

Serra N, **Barros X**, Garro J, Blasco M, Maduell F, Torras A, Poch E. **La medida de la dosis de diálisis mediante Kt por dialisancia iónica revela una menor adecuación que la medida del Kt/VUREA en el fracaso renal agudo de pacientes críticos. *Nefrología* 2010;30(2):232-5**

Maduell F, Arias M, Garro J, Vera M, Fontseré N, **Barros X**, Massó E, Martina MN, Sentís A, Durán C, Bergadá E, Cases A, Campistol JM. **Pauta de infusión manual automatizada: una forma práctica de prescribir la hemodiafiltración on-line posdilucional.** *Nefrología* 2010; 30(3): 349-53

Maduell F, Arias M, Fontseré N, Vera M, Masso E, Garro J, **Barros X**, Martina MN, Elena M, Bergadá E, Cases A, Bedini JL, Campistol JM. **What infusion flow should be used for mid-dilution hemodiafiltration?** *Blood Purification* 2010; 30(1): 25-33

Maduell F, Arias M, Vera M, Fontseré N, Blasco M, **Barros X**, Garro J, Campistol JM. **Mid-dilution hemodiafiltration. A comparison with pre and post dilution modes using the same polyphenylene membrane.** *Blood Purification* 2009; 28: 268-74

Garro Martínez J, **Barros Freiria X**, Barrio Lucía V. **¿Is citrate anticoagulation a safe and effective alternative to heparin anticoagulation for continuous venovenous haemofiltration?** *Nefrología* 2009; 29 (6 Suppl) : 60-2

Sanclemente G, **Barros X**, Quera À, Pomar JL, Espinosa G. **Accidente vascular cerebral en paciente con lupus eritematoso sistémico y síndrome antifosfolipídico.** *Rev Clin Esp* 2008; 208(6):309-11

Anexo 3: Aprobaciones del Comité de Ética en Investigación Clínica



D. Joan Albert Barberá Mir, Adjunto a la Dirección de Investigación del Hospital Clínic de Barcelona,

CERTIFICA:

Que el Comité de Investigación del Hospital Clínic, en la sesión celebrada en el día de hoy, ha analizado el proyecto de investigación titulado:

Papel del FGF23 en la hipofosfatemia y déficit de calcitriol tras el trasplante renal aislado y reno-pancreático.

cuyo investigador principal es la Dra. **Barros, Xoana** del Servicio de **Nefrología**

entendiendo que dicho estudio se incluye en una de las líneas de investigación biomédica acreditadas en este centro, cumpliendo los requisitos metodológicos necesarios, y que es viable en todos sus términos, por lo que lo ha considerado adecuado y ha decidido su aprobación.

Lo que firmo en Barcelona, a 28/01/2010



Registro: 2010 / 5494

HOSPITAL CLÍNIC DE BARCELONA
Villarroel, 170 - 08036 Barcelona (España)
Tel. 93 227 54 00 Fax 93 227 54 54
www.hospitalclinic.org

Dña. Begoña Gómez Pérez , del Servicio de Farmacia del Hospital
 Clínic de Barcelona y Secretaria del Comité Ético de Investigación
 Clínica (CEIC)

CERTIFICA:

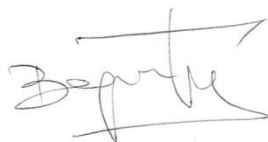
Que el Comité Ético de Investigación Clínica, según consta en el acta
 de la reunión celebrada en el día de hoy, ha analizado el proyecto de
 investigación titulado:

*Papel del FGF23 en la hipofosfatemia y déficit de calcitriol tras el
 trasplante renal aislado y reno-pancreático.*

cuyo investigador principal es la Dra. **Barros, Xoana**
 del Servicio de **Nefrología**

entendiendo que dicho estudio se ajusta a las normas éticas esenciales
 y criterios deontológicos que rigen en este Centro, y, por tanto, ha
 decidido su aprobación.

Lo que firmo en Barcelona, a 28/01/2010



CLÍNIC
BARCELONA
 Hospital Universitari
 COMITÉ ÈTIC
 INVESTIGACIÓ CLÍNICA

Registro: 2010 / 5494

HOSPITAL CLÍNIC DE BARCELONA
 Villarroel, 170 - 08036 Barcelona (España)
 Tel. 93 227 54 00 Fax 93 227 54 54
 www.hospitalclinic.org

