Universitat de les Illes Balears

TESIS DOCTORAL

2016

INFLUENCIA DEL METABOLISMO DE LA VITAMINA D EN LA RESPUESTA A AGENTES ERITROPOYÉTICOS EN PACIENTES EN HEMODIÁLISIS

Miguel Giovanni Uriol Rivera

TESIS DOCTORAL

2016

Programa de Doctorado de Ciencias Médicas Básicas

INFLUENCIA DEL METABOLISMO DE LA VITAMINA D EN LA RESPUESTA A AGENTES ERITROPOYÉTICOS EN PACIENTES EN HEMODIÁLISIS

Miguel Giovanni Uriol Rivera

Director: Manuel Luque Ramírez

Tutora: Antonia Costa Bauzá

Doctor por la Universitat de les Illes Balears

El presente trabajo ha dado lugar hasta la fecha a la siguiente actividad científica:

1.- PRESENTACIÓN CONGRESO NACIONAL DE NEFROLOGÍA:

- *¿Son beneficiosos los niveles recomendados de 25 vitamina d en pacientes con anemia renal***?** A. Corral Báez, **M. Uriol Rivera**, A. García Alvarez, S. Jiménez Mendoza, C. Barraza Jiménez, A. Obrador Mulet, G. Gómez Márquez. XLV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología. Volumen 35, Suplemento 1. Póster 142. Página: 42.

- *Beneficio del tratamiento del Paricalcitol en la anemia en pacientes en hemodiálisis. Rol de la IL-6.* S. Cabello Pelegrín, **M. Uriol Rivera,** M. Luque Ramírez, et al. XLV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología. Volumen 35, Suplemento 1-2015. Póster 301. Página: 84.

- *Beneficio del uso de Paricalcitol en la anemia renal secundario a su influencia sobre el metabolismo férrico*. **M. Uriol Rivera,** S Jiménez Mendoza, A García Álvarez et al. XLV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología. Volumen 35, Suplemento 1. Póster 299. Página: 84.

- *Rol de la interleuquina-6 y la hepcidina en la anemia renal en pacientes en hemodiálisis. influencia del uso de paricalcitol*. **M. Uriol Rivera**, J. Robles Bauza, S. Jiménez Mendoza et al. XLV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología. Volumen 35, Suplemento 1. Póster 300. Página: 84.

- *Influencia de los análogos de la vitamina d en la dosis de C.E.R.A. en pacientes con enfermedad renal crónica no en diálisis.* **M. Uriol Rivera**, M. Luque Ramírez, S. Jiménez Mendoza, P. Losada Gracia, J. Martínez Mateu, A. Obrador Mulet, M. Munar Vila. XLI Congreso Nacional de la

Sociedad Española de Nef rología. Nefrología. Volumen 31, Suplemento 2. Póster 216. Página: 60.

2.- PRESENTACIÓN CONGRESOS INTERNACIONALES:

-CONGRESO EUROPEO DE NEFROLOGÍA:

52nd European Renal Association - European Dialysis and Transplant Association (ERA-EDTA) Congress. 28 - 31 May 2015 / UK, London

- *Influence of the secondary hyperparathyroidism in iron requirements in dialysis patients on erythropoiesis-stimulating agent therapy. a prospective controlled study*. **Miguel Uriol Rivera**, Sheila Cabello Pelegrin, Antonio Corral Baez. *Nephrol. Dial. Transplant. (2015) 30 (suppl 3): iii203.*

-*CONGRESO AMERICANO DE NEFROLOGÍA*

***American Society of Nephrology* Nephrology Conference: Kidney Week 2015 November 3-8, 2015 San Diego, California 92101, United States.**

- *Paricalcitol, Klotho and Renal Anemia in Hemodialysis Patients.* **Miguel Uriol Rivera**, Sheila Cabello Pelegrin, Gonzalo Gómez Marqués, Manuel Luque-Ramirez. J Am Soc Nephrol 26: 2015. Volume 26, Abstract Edition. SA-PO811.

- *Influence of the Paricalcitol on Iron Metabolism in Hemodialysis Patients***.** ***Miguel Uriol Rivera,*** Juan Rey Valeriano, Aina Obrador, Manuel Luque-Ramirez. J Am Soc Nephrol 26: 2015. Volume 26, Abstract Edition**.** SA-PO812.

3.- PRESENTACIÓN SESIÓN PLENARIA:

Parte del contenido de la tesis doctoral ha sido presentado en calidad de ponente en sesión plenaria en el XL Congreso Nacional de Nefrología Pediatría. ***Título: Influencia del metabolismo de la vitamina D en la respuesta eritropoyética en pacientes en hemodiálisis***. 30 de Mayo de 2015. Palma de Mallorca.

4.- **REDACCIÓN DE CAPÍTULO DE LIBRO:**

Título del libro:

Monografías en Enfermedad Renal Crónica:

Capítulo: *Influencia de la vitamina D en la anemia, metabolismo hidrocarbonado y preeclampsia.* F.J. Torralba Iranzo, **M. Uriol Rivera**. Pag. 107-112. M-37599-2012·ISBN: 978-84-15226-28-4.

5.- PREMIO DE INVESTIGACIÓN:

Premio fondo para el fomento y ayuda a la investigación en diálisis Baxter - Gambro Renal 2015.

Al mejor proyecto presentado durante el año 2015 sobre el tema: "***beneficios clínicos para los pacientes de diálisis".*** Entregado en acto público en la conferencia de clausura del XLV Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología. Valencia Octubre de 2015.

TÍTULO: del trabajo: beneficio del paricalcitol (activador selectivo del receptor de vitamina d indicado para la prevención y el tratamiento del hiperparatiroidismo secundario) sobre la anemia de características inflamatorias en los pacientes en diálisis que reciben agentes estimuladores de eritropoyesis. Investigador principal: **Miguel Uriol Rivera.**

ABREVIATURAS:

1,25VD: 1,25-dihidroxicolecalciferol.

25VD: 25-hidroxicolecalciferol.

AEE: agente estimulador de la eritropoyesis.

B-FUE: *burst forming unit erythroid.*

C-FUE: *colony forming unit erythroid.*

CSF: *Colony-stimulating factor.*

EPO: eritropoyetina.

EPOrh: eritropoyetina recombinante humana.

ERC: enfermedad renal crónica.

FDA: *Food and Drug Administration.*

Fe: hierro sérico.

FG: filtrado glomerular.

FGF-23: *Fibroblast Growth Factor-23.*

FGF-7: factor de crecimiento fibroblástico-7.

GM-CSF: *Granulocyte-macrophage colony-stimulating factor.*

Hb: hemoglobina.

HIF: factores inducible por hipoxia.

HPT2: hiperparatiroidismo secundario.

IL-1β: interleuquina-1β.

IL-3: interleuquina-3.

IL-6: interleuquina-6.

INF-γ: interferón gamma.

IST: índice de saturación de transferrina.

K-DIGO: *Kidney Disease: Improving Global Outcomes*

NF-kb: factor nuclear kappa-β.

PCR: proteína C reactiva.

PTH: parathormona.

PTHi: parathormona intacta.

SEC: Sociedad Española de Cardiología.

SEMI: Sociedad Española de Medicina Interna.

SEN: Sociedad Española de Nefrología.

TFGe: tasa de filtrado glomerular estimado.

TNF-α: Factor de necrosis tumoral alfa.

VD: vitamina D.

AGRADECIMIENTOS:

Al Dr. Manuel Luque, por sus valiosas enseñanzas y por saber transmitir con su ejemplo el valor del espíritu de superación.

A Elena, Miguel y Noa por ser esa parte de mi vida que consigue serlo todo.

A mi familia, por el apoyo que siempre me brinda.

A mis amigos, en especial a Juan Carlos y a Carlos por ayudarme a creer que sería capaz de realizar este proyecto.

A la memoria de mi padre.

RESUMEN

Introducción

La anemia y las alteraciones del metabolismo óseo mineral en la enfermedad renal crónica (AOM-ERC), son comorbilidades frecuentes en hemodiálisis. El tratamiento se sustenta en el uso de suplementos de hierro y agentes estimuladores de la eritropoyesis (AEE) y de los análogos de vitamina D, respectivamente. El uso de paricalcitol (análogo de vitamina D), ha mostrado beneficios sobre diversos marcadores pro-inflamatorios y un mejor perfil sobre los niveles de calcio plasmático.

La influencia positiva del uso de vitamina D sobre la respuesta eritropoyética (RE) en estos pacientes ha sido descrita; pero los mecanismos implicados, no han sido evaluados.

Objetivos

1) Determinar la influencia de los niveles de 25-hidroxicolecalciferol (25 VD) y 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25 VD) y del uso de paricalcitol en la RE.

2) Determinar las dosis adecuadas de paricalcitol y las potenciales diferencias en comparación al calcitriol sobre las necesidades de AEE.

Metodología

Se realizaron dos tipos estudios:

1) ***Un análisis post-hoc con datos obtenidos del ensayo clínico aleatorizado MIR-EPO***, en el que se incluyeron pacientes en hemodiálisis, en tratamiento con epoetina-β y niveles estables de hemoglobina (Hb). Se evaluaron los niveles de 25 VD,

1,25 VD y la influencia de sus cambios en la RE. Se analizó la influencia del paricalcitol sobre la interleuquina-6 (IL-6), hepcidina, klotho soluble y los niveles de eritropoyetina (EPO) plasmáticos.

2) ***Dos estudios de corte transversal*** que evaluaron las dosis de paricalcitol asociadas a una adecuada RE y las potenciales diferencias entre el uso de calcitriol o paricalcitol sobre las necesidades de AEE. Se realizó un estudio unicéntrico (se analizaron 58 pacientes) y otro multicéntrico (se analizaron 183 pacientes), para evaluar ambos objetivos respectivamente.

   Se evaluó la RE mediante la determinación de: parámetros del metabolismo férrico, necesidades de suplementos de hierro y de AEE.

Resultados

1) El análisis *post-hoc* de datos obtenidos de ensayo clínico aleatorizado MIR-EPO, incluyó 31 pacientes. Se definió al periodo entre los meses 0 y 3 como periodo de titulación de dosis, y del mes 3 al 6 como periodo de evaluación. Los niveles medios de 25 VD basales fueron de 24 y de 25 ng/ml al final de estudio. Ese aumento se asoció a una disminución significativa de los niveles de ferritina, también a un aumento de los niveles de 1,25 VD y estos a su vez a una disminución de los valores de Hb. De los 31 pacientes, 8 no recibieron paricalcitol. En el grupo que recibió paricalcitol, se apreció una disminución significativa de las dosis de AEE, menores niveles medios de IL-6 y mayores de hepcidina, klotho soluble y un aumento en las concentraciones de EPO.

2) Estudios observacionales. Se incluyeron 46 y 92 pacientes respectivamente Los niveles medios de Hb, PTHi, índice de saturación de transferrina y los de ferritina en ambos estudios eran compatibles con los recomendados por las guías. Las dosis

de epoetina-β fueron de 4500 y 4000 UI/semana en ambos estudios respectivamente. Las dosis de paricalcitol entre los 5 y 10 μg/semana se asociaron a la mejor RE y precisaron menores dosis de AEE en comparación al grupo que recibió calcitriol.

Conclusiones

Los niveles de 25VD recomendados en las guías, no parecen asociarse a beneficios sobre las necesidades de AEE, ni sobre otros marcadores de la RE en los pacientes en hemodiálisis.

El uso de paricalcitol mostró una influencia positiva sobre las necesidades de AEE, mejorando la utilización del hierro por mecanismos asociados a un mejor perfil sobre los niveles de IL-6, hepcidina, klotho soluble y por la elevación de los niveles de EPO; así como se asoció a menores niveles de AEE en comparación con el uso de calcitriol.

ENGLISH ABSTRACT

Introduction

Anemic syndrome and the chronic kidney disease-mineral and bone disorders are common in hemodialysis patients. Iron supplements, erythropoiesis stimulating agents (ESA) and vitamin D (VD) analogs are needed for the control. The influence of vitamin D on the erythropoietic response has been reported, but the underlying mechanisms, remains unclear.

Aims

1) To determine the influence of 25 VD and 1,25 VD and the use of paricalcitol on the erythropoietic response.
2) To determine the optimal paricalcitol dosage and the potential differences in comparison with the calcitriol on the ESA needs.

Methodology

Two different studies were conducted

1) A *post-hoc analysis of the MIR-EPO study*. 31 patients were included (23 under paricalcitol). The 25 VD and 1,25 VD levels were determined. The influences of their variation and the paricalcitol use of the erythropoietic response were evaluated. Novel markers associated with anemia were assessed too.
2) ***Two crosses sectional studies***: A single-center (58 patients screened) and other multicentric study (183 patients screened) were conducted to determine the opti-

mal paricalcitol dosages, and the potential differences in comparison with patients under calcitriol.

Results

1) A non-significant increase in 25 VD levels was observed (24 ng/ml and 25 ng/ml, baseline and month 6, respectively). Such changes were associated with a decrease in serum ferritin, and with an increase in 1,25 VD levels. The increase in 1,25 VD correlated with a reduction in Hb values. Those receiving paricalcitol needed lower ESA doses and was related to IL-6, and hepcidine changes. Soluble klotho levels were higher and plasma EPO levels increased in this group.
2) Observational studies. Up to 46 and 92 patients were respectively included; paricalcitol dosages between 5 and 10μg/week were associated with an improved erythropoietic response and lower ESA doses in comparison with those receiving calcitriol.

Conclusions

The 25 VD levels recommended do not seem to be related to benefits in the erythropoietic response in hemodialysis patients.

Paricalcitol showed a positive influence on the ESA needs, by improving the iron utilization and for the elevation of EPO levels. Our data suggest differences in comparison with calcitriol.

RESÚM

La influència positiva entre l'ús dels anàlegs de vitamina D sobre la resposta eritropoiètica als pacients en diàlisi, ha estat descrita; no obstant els mecanismes relacionats amb aquest potencial benefici, les dosis de paricalcitol associades a aquests beneficis i les possibles diferències entre diferents anàlegs sintètics de vitamina no han estat avaluats.

Objectius

Determinar la influència dels nivells de 25 hidroxicolecalciferol (25VD), els de 1,25 dihidroxicolecalciferol (1,25VD) y d l'ús del paricalcitol sobre la resposta eritropoiètica y la influència de l'ús del paricalcitol. Determinar les dosis adequades de paricalcitol i avaluar les potencials diferències entre el calcitriol i el paricalcitol.

Mètodes

Es va realitzar estudi *post-hoc* de l'assaig clínic MIR-EPO, dissenyat inicialment per a valorar l'eficàcia de dos AEE diferents sobre l'estabilitat dels nivells d'hemoglobina (Hb) en pacients en hemodiàlisis. En aquest sub-anàlisis s'avaluaren els nivells de 25VD, 1,25 VD i la influència de la variació dels mateixos en la resposta eritropoiètica. Es va analitzar també la influència de l'ús de paricalcitolsobre marcadors emergents associats a l'anèmia renal.

Es van realitzar dos estudis de tall transversal; un d'ells per avaluar les dosis de Paricalcitol associades a una resposta eritropoiètica adequada i finalment un altre per a determinar diferències entre l'ús de calcitriol o paricalcitol sobre les necessitats d'AEE.

Resultats

Es va realitzar un anàlisis post-hoc de 31 pacients. Es va definir el període comprès entre els mesos 0 i 3 com a període de titulació de dosis, mentre que el període del mes 3 al 6 com a fase d'avaluació. Els nivells mitjans de 25 VD basals van ser de 24ng/dl i de 25ng/ml al final de l'estudi. Aquests canvis es van associar de manera significativa a una disminució dels nivells de ferritina plasmàtica. També a un augment dels nivells d'1'25 VD i aquests a la vegada amb una disminució dels valors d'Hb. 8 no van rebre paricalcitol. Al grup que en va rebre, es va percebre una disminució significativa de la dosis d'AEE, menors nivells mitjans de IL-6 i nivells més alts d'hepcidina, klotho-s i un increment dels nivells d'EPO plasmàtica. Les dosis de paricalcitol compreses entre els 5 i els 10 mg/semana es van associar a la millor resposta eritropoiètica. Aquells pacients tractats amb paricalcitol van necessitar menys dosis d'AEE comparant amb el grup que va rebre calcitriol.

Conclusions

Els nivells de 25VD recomanats a les guies no sembla associar-se als beneficis sobre la resposta eritropoiètica als pacients en hemodiàlisis. L'ús de paricalcitol va mostrar influència positiva sobre les necessitats d'AEE, millorant la utilització del ferro pels mecanismes associats a un millor perfil sobre els nivells de IL-6, hepcidina, Klotho i per l'ascens espontani dels nivells d'EPO.

L'ús de paricalcitol es va associar a la utilització de menors nivells d'AEE en comparació amb els que rebien calcitriol.

Palabras clave:

Metabolismo de la vitamina D, activación selectiva del receptor de la vitamina D, anemia renal, hemodiálisis.

Metabolisme de la vitamina D, activació selectiva del receptor de la vitamina D, anèmia renal, hemodiàlisi.

Vitamin D metabolism, selective vitamin D receptor activation, renal anemia, hemodialysis.

INDICE

I. INTRODUCCIÓN….....……..……...25

A) ANTECEDENTES HISTÓRICOS…..……...26

B) DEFINICIONES…….27

1) ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA……..……..27

2) ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA AVANZADA…….……..29

- Alteración del equilibrio hidroelectrolítico……...……..30

- Alteraciones del metabolismo calcio-fósforo y óseo mineral…...…….30

- Anemia en la enfermedad renal….....……..31

- Alteraciones del metabolismo óseo-mineral en pacientes con ERC……..…48

3) INTERACCIÓN ENTRE LA ANEMIA Y LAS AOM-ERC……..…..57

El riñón como órgano endocrino…….……...57

Efecto de la VD sobre la proliferación de células hematopoyéticas…….58

Presencia de VD en la médula ósea….……..60

Efecto de la EPO sobre la mineralización ósea…….…60

VD y marcadores pro-inflamatorios asociados a anemia……..……...61

Efecto de VD sobre la expresión de hepcidina….…….61

Déficit de VD con el riesgo de anemia…….…….……62

Déficit de VD con mayores necesidades de AEE….…….……64

II. OBJETIVOS…….……...……..70

OBJETIVO PRIMARIO…….....71

OBJETIVO SECUNDARIO…….……71

III. MATERIAL Y MÉTODOS……...…….……..72

A) METODOLOGÍA……..…..73

DISEÑOS DE ESTUDIO……..……...73

DISEÑO 1: Análisis post-hoc del ensayo clínico MIR-EPO……74

DISEÑO 2: Estudio de corte transversal unicéntrico……..…..85

DISEÑO 3: Estudio de corte transversal multicéntrico…..……..….86

B) ANÁLISIS ESTADÍSTICO……..……...88

IV. RESULTADOS……..…..…….91

DISEÑO 1…….……92

25 VD, calcifediol y respuesta eritropoyética……96

1,25 VD y respuesta eritropoyética……..100

Paricalcitol y respuesta eritropoyética…….……103

Paricalcitol y necesidades de AEE.....108

Paricalcitol y metabolismo férrico……..…..112

Influencia del paricalcitol sobre los niveles de IST%.....112

Influencia del paricalcitol sobre los niveles de Fe sérico..114

Influencia del paricalcitol en los niveles de ferritina……116

Influencia del paricalcitol en los niveles de transferrina...117

Influencia del paricalcitol y el déficit calculado de Fe.…118

Paricalcitol y marcadores no convencionales de anemia...120

DISEÑO 2…….…….……..135

Dosis de paricalcitol asociadas a menores dosis de AEE…....136

Dosis de paricalcitol asociadas a adecuados niveles de Hb….137

DISEÑO 3….…….……..139

Dosis de AEE, paricalcitol y calcitriol……..…….139

V. DISCUSIÓN…….…….……..141

OBJETIVO 1……..…….143

OBJETIVO 2…….……..157

VI. CONCLUSIONES……..…….161

Conclusiones……..…….162

VII. BIBLIOGRAFÍA……..……...164

VIII. ÍNDICE DE TABLAS…….……....177

IX: ÍNDICE DE FIGURAS….……...……...……...179

I. INTRODUCCIÓN

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

Posiblemente los primeros datos descritos de una asociación entre la influencia de la vitamina D (VD) con el estado salud, provienen de la información aportada por Herodoto de Halicarnaso (484 y 425 A.C.), quién tras un análisis sistemático de los huesos encontrados en los campos de batalla librada entre egipcios y persas, identificó diferencias en el grosor y en el grado de deformación de los hueso. Una posible explicación se sustentaba en la exposición solar, la cual era distinta debido a la vestimenta tradicional que portaban los diferentes pobladores; así, mientras la vestimenta de los egipcios permitía una mayor superficie corporal expuesta a la radiación solar, éstos mostraban huesos más fuertes y menos deformes que los persas, cuya superficie corporal expuesta era mínima (1). Esto determinó, no sólo que fuera considerado como uno de los padres de la Teoría Determinista Ambiental (2), sino que además asoció de forma casual un potencial efecto de la radiación solar con un fortalecimiento de los huesos, cuya médula alberga las células madre hematopoyéticas pluripotenciales o también conocidas como *"stem cells"*.

Los primeros datos médicos, se remontan a mediados de siglo XVII, en Inglaterra, donde una comisión del Colegio de Médicos de Londres (3), acuñó el término "rachitis o rickets" para describir una enfermedad que asociaba deformidades óseas y cuyo tratamiento, como se observó posteriormente, consistía al menos en parte en la exposición al sol. De forma más directa, *Cooperberg et al*. (4), publican en 1966 el caso de un niño con mielofibrosis, anemia y estigmas óseos de raquitismo, que tras la administración crónica de vitamina D nutricional mostró una mejoría del perfil óseo, observándose también una elevación progresiva de los niveles de hemoglobina,

y disminución del número de reticulocitos, situación que parecía describir una normalización de la serie roja.

Las primera referencias a la presencia del síndrome anémico en los pacientes con ERC fue realizado por Richard Bright, en 1.836 quién describió la palidez de los enfermos con afecciones renales y desde entonces numerosos investigadores han intentado explicar los mecanismos de la anemia vinculados al fallo renal.

Casos clínicos similares en edad pediátrica fueron comunicados por autores como *Yetgin et al*. (5), en los que la presencia de mielofibrosis con anemia y raquitismo revertía tras la administración de vitamina D. *Gruner et al.* (6) reportaron la asociación entre raquitismo severo y metaplasia mieloide como afectación asociada de la médula ósea. *McKinley et al.* (7) describen una respuesta positiva en 3 pacientes adultos con mielofibrosis en adultos en los que el tratamiento con la forma activa de la vitamina D [1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25 VD)], produjo una mejoría de los niveles de hemoglobina en dos de ellos y del recuento plaquetario en el tercero. Estos antecedentes establecieron las bases de un efecto directo fisiológico de la vitamina D sobre la hematopoyesis.

DEFINICIONES

Para una mejor comprensión de la tesis, consideramos conveniente definir conceptos que serán utilizados de forma habitual en el desarrollo de este trabajo:

ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

Diferentes sociedades científicas como la Sociedad Española de Nefrología (SEN), la Sociedad Española de Medicina Interna (SEMI) y la Sociedad Española de

Cardiología (SEC) entre otras, elaboraron en el año 2012 un documento consensuado para el abordaje de la enfermedad renal crónica (ERC) y que se define como la presencia de al menos durante 3 meses de:

- Un filtrado glomerular (FG) inferior a 60 ml/min/1,73 m^2.
- Lesión renal (definida por la presencia de anormalidades estructurales o funcionales del riñón, que puedan provocar potencialmente un descenso del FG. La lesión renal se pone de manifiesto directamente a partir de alteraciones histológicas en la biopsia renal (enfermedades glomerulares, vasculares, túbulo-intersticiales) o indirectamente por la presencia de albuminuria, alteraciones en el sedimento urinario, alteraciones hidroelectrolíticas o de otro tipo secundarias a patología tubular, o a través de técnicas de imagen.

La clasificación clásica de la ERC está además definida en distintos estadios según el grado de severidad de la enfermedad como se muestra en la **Tabla 1.**

Tabla 1. Categorías de enfermedad renal crónica (ERC) por filtrado glomerular.

Estadio ERC	**FG (ml/min/1,73m^2)**		**Descripción**
1	≥90		Daño renal con FG normal
2	60-89		Daño renal y ligero descenso de
3	45-59	IRC*	Descenso ligero-moderado de FG
3B	30-44		Descenso moderado de FG
4	15-29		Descenso grave de FG
5	<15		Pre-diálisis
5D	Diálisis		Diálisis

* IRC: insuficiencia renal crónica.

En el año 2012, las guías K-DIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) para la evaluación y manejo de la ERC (Clinical Practice Guideline for the Evaluation

and Management of Chronic Kidney Disease, *http://www.kidney-international.org*) enfatizan la presencia de proteinuria (albuminuria) como predictor de la evolución de la función renal ampliando la clasificación de los diferentes grados de función renal como se muestra en la **Tabla 2**.

Tabla 2. Clasificación de la Enfermedad Renal Crónica según las guías K-DIGO 2012.

Filtrado glomerular estimado Categoría, descripción y rango (mil/min/1.73m²)			**Albuminuria Categoría, descripción y rango**		
			A1	A2	A3
			Normal a ligeramente elevada	Moderadamente elevada	Gravemente elevada
			< 30 mg/g(a)	30 - 300mg/g(a)	> 300 mg/g(a)
G1	**Normal o elevado**	**≥ 90**			
G2	**Ligeramente disminuido**	**60 – 89**			
G3a	**Ligera a moderadamente disminuido**	**45 – 59**			
G3b	**Moderada a gravemente disminuido**	**30 – 44**			
G4	**Gravemente disminuido**	**15 – 29**			
G5	**Fallo renal**	**< 15**			

[a]*Albuminuria determinado como cociente: albumina(orina)/creatinina(orina).*

ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA AVANZADA.

La ERC avanzada se define como el estadio de la ERC en el que se aprecia una tasa de filtrado glomerular estimado (TFGe) inferior a 15 ml/min/1,73m^2. Es en este estadio en el que el paciente subsidiario iniciará el tratamiento sustitutivo renal (trasplante renal, diálisis peritoneal o hemodiálisis).

El padecer ERC estadio 5 en hemodiálisis (ERC-5HD), implica para el paciente estar expuesto a una disfunción sistémica en el que se van a ver involucrados no sólo diferentes órganos del organismo; sino también la funcionalidad de los mismos y que resumimos a continuación:

Alteración del equilibrio hidroelectrolítico

Los riñones tienen como función la depuración de moléculas tóxicas producidas en los diferentes procesos metabólicos, siendo la dificultad en la eliminación de ácidos uno de los mecanismos responsables de la situación de acidosis metabólica de los pacientes con ERC. La prevalencia de acidosis metabólica es elevada, apreciándose esta complicación incluso con TFGe inferiores sólo un 20% de la normal (8) Su patogénesis se basa en la falta de síntesis de bicarbonato sérico con acumulación de ácidos de naturaleza orgánica e inorgánica, con daño a nivel túbulo-intersticial a través de la retención de amoniaco, potenciando la lesión renal, afectando el proceso de desmineralización ósea, aumentando el catabolismo proteico, y en general, aumentando la mortalidad de estos pacientes (9, 10).

Alteraciones del metabolismo calcio-fósforo y óseo mineral

Las guías K-DIGO 2012, han redefinido los trastornos de pacientes con ERC a nivel óseo y las alteraciones del metabolismo del calcio-fósforo como una nueva entidad en las que ambas situaciones estarían asociadas y que recibe el nombre de *alteraciones óseo-minerales asociadas a la ERC (AOM-ERC)* (*Chronic Kidney Disease and Bone mineral disorders-CKD-MBD*). En la actualidad y debido al

creciente interés científico por comprender la etiopatogenia de estas alteraciones, se ha incrementado de forma notable el estudio del efecto de diversos factores clásicamente involucrados como el calcio, fósforo, vitamina D y hormona paratiroidea (PTH), y han aparecido nuevos marcadores asociados como son la fosfatonina FGF-23 (*Fibroblast Growth Factor-23*) y su co-receptor Klotho (11, 12). Así ha aumentado el grado de complejidad de este síndrome, pero a su vez está facilitando el entendimiento de la interacción entre ambas condiciones patológicas.

No obstante, existen discrepancias respecto al trastorno inicial en el origen de las AOM-ERC. Clásicamente se ha considerado que el aumento de los niveles de fósforo era el principal responsable de las alteraciones de la PTH. Posteriormente, se ha descrito que el déficit de 25 VD actuaría precozmente previa al aumento del fósforo plasmático, desembocando en una disminución de los niveles de producción de 1,25 VD. Más recientemente, se ha sugerido que es la disminución de Klotho, que se aprecia en estadios precoces de la ERC (estadio 2), podría ser el evento primordial (13).

Anemia en la enfermedad renal

La anemia en la población general es un problema de salud pública como describe la Organización Mundial de la Salud (OMS) (http://www.who.int/vmnis/indicators/haemoglobin_es.pdf). Ésta define la anemia como un trastorno en el cual el número de eritrocitos (y, por consiguiente, la capacidad de transporte de oxígeno de la sangre) es insuficiente para satisfacer las necesidades del organismo. Las necesidades fisiológicas específicas varían en función de la edad, sexo, altitud sobre el nivel del mar, hábito tabáquico, y las diferentes etapas del

embarazo. Se estima que la carencia de hierro es la causa más común de anemia, pero también puede estar implicadas otras carencias nutricionales (ej.: ácido fólico, vitamina B12 y vitamina A), la inflamación aguda y crónica, las parasitosis y enfermedades hereditarias o adquiridas que afectan la síntesis de hemoglobina, y la producción o supervivencia eritrocitaria. Las concentraciones de hemoglobina aceptadas para el diagnóstico de la anemia al nivel del mar (g/l) se describen en la **Tabla 3**.

Tabla 3. Concentraciones de hemoglobina (g/l) que definen la anemia y el grado según la Organización Mundial de la Salud (OMS).

Población		**Grado de anemia**		
	Sin anemia	**Leve**	**Moderada**	**Grave**
Niños de 6 a 59 meses de edad	≥ 110	100 - 109	70 – 99	< 70
Niños de 5 a 11 años de edad	≥ 115	110 - 114	80 – 109	< 80
Niños de 12 a 14 años de edad	≥ 120	110 - 119	80 – 109	< 80
Mujeres no embarazadas (≥ 15 años)	≥ 120	110 - 119	80 – 109	< 80
Mujeres embarazadas	≥ 110	100 - 109	70 – 99	< 70
Varones (≥ 15 años)	≥ 130	100 - 129	80 – 109	< 80

En los pacientes con ERC, y en especial, aquellos con deterioro grave e irreversible de la función renal como aquellos en estadio 5 bajo tratamiento sustitutivo renal mediante hemodiálisis (ERC-5HD), subgrupo en el que se basa la presente tesis doctoral, la anemia o síndrome anémico es de crucial importancia por connotaciones específicas en relación con su diagnóstico, prevalencia, fisiopatología, clínica, terapéutica, elevada morbimortalidad, e importante impacto socio-económico:

A. DIAGNÓSTICO:

Las guías K-DIGO 2012 para el diagnóstico y manejo de la anemia en la ERC (*K-DIGO: Clinical practice guideline for anemia in chronic kidney disease*), definen la presencia de anemia en varones > 15 años con niveles de Hb < 13 g/dl, y en mujeres con unas cifras de Hb < 12 g/dl, de forma similar a la población general.

B. PREVALENCIA:

La prevalencia de este síndrome, aumenta a medida que disminuye la TFG, y puede aparecer en pacientes con ERC estadio 3, o incluso antes, en presencia de diabetes mellitus (14-16). En ERC estadio 5, la anemia es prácticamente universal. Así precisan tratamiento corrector de la anemia aproximadamente el 80-90 % de estos pacientes (17).

C. FISIOPATOLOGÍA:

El proceso de formación de hematíes a partir de las células hematopoyéticas madre o *stem cells* es conocido como eritropoyesis (18). Este proceso debe mantener un adecuado equilibrio entre la producción de hematíes y la tasa de destrucción de los mismos, ya que tanto la anemia debido a la disminución del número de hematíes, así como el exceso de los mismos o poliglobulia, son procesos patológicos asociados a una mayor morbi-mortalidad (19, 20).

El proceso eritropoyético se compone de diferentes fases: proliferación, maduración, envejecimiento o proceso de senescencia, y la muerte del hematíe o eriptosis. Cada una de las fases debe a su vez, mantener un equilibrio constante en el que intervienen diversos factores que se ven alterados en los pacientes con ERC. La vida media de un hematíe en un sujeto sano es de aproximadamente 120 días, correspondiendo los

primeros 17 días a las fases de diferenciación, proliferación y maduración. En el desarrollo y control de estas fases son múltiples los actores que interactúan para conseguir unos niveles adecuados de hematíes y hemoglobina como factores de crecimiento (*GM-CSF, granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*), hormonas [eritropoyetina (EPO), andrógenos, hormonas tiroideas,…], factores de transcripción (factores inducibles por hipoxia-HIF), vitaminas (vitamina B12, ácido fólico), citoquinas como interleuquina-6 (IL-6), interleuquina-3 (IL-3), factor de necrosis tumoral α (TNF-α), interferón γ (INF-γ), y oligoelementos como el hierro sérico (Fe). En la **Figura 1** se esquematiza las fases del desarrollo, proliferación y maduración de los hematíes

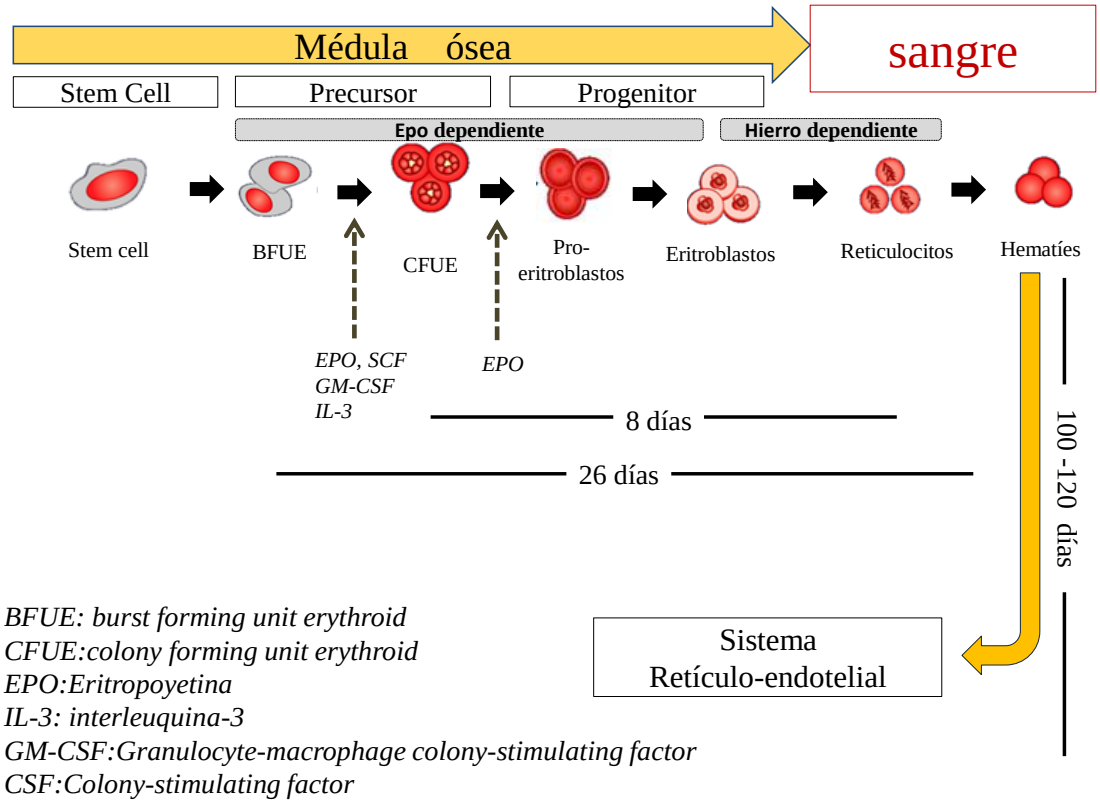


Figura 1. Fase de diferenciación, proliferación y maduración del hematíe en el proceso eritropoyético. Adaptado de referencia (21).

La alteración en la síntesis o regulación de alguno de los elementos que participan en la fase de maduración del hematíe, o en alguno de los factores determinantes de la formación o destrucción de los hematíes puede condicionar la aparición del síndrome anémico. A pesar de esta diversidad de mecanismos implicados en el control del proceso eritropoyético, a día de hoy, son las alteraciones en la síntesis de EPO, y la utilización y disponibilidad de Fe, donde se ha centrado la investigación sobre la etiopatogenia del síndrome anémico y son las bases de su tratamiento.

C.1 Alteraciones de la eritropoyetina:

a. Alteración en la síntesis de Eritropoyetina:

En la ERC, y más específicamente en su fase avanzada (ERC-5), se considera que el desarrollo de anemia es producido por una disminución de la producción de EPO a nivel renal (22). Los fibroblastos peritubulares son los encargados de la producción de la EPO y responsables del 80% de las concentraciones totales de EPO circulante. Clásicamente, se ha considerado que las células de Kupffer hepáticas y los propios hepatocitos tienen capacidad en la edad adulta de sintetizar EPO, y serían responsables de la síntesis de hasta un 20 % de EPO (23, 24). En acuerdo conceptual, diversos trabajos en ratones nefrectomizados han demostrado la capacidad de síntesis de EPO a nivel hepático (25-27). La posibilidad de mantener una producción extra-renal de EPO ha sido descrita también en humanos, incluso se ha informado de la existencia de poliglobulia en pacientes nefrectomizados (28). A pesar de aceptarse que el hígado podría producir EPO en situaciones de hipoxia en pacientes con ERC, esta producción sería insuficiente para corregir la anemia renal (29). Por lo tanto, la

deficiente producción de EPO a nivel renal junto con una respuesta hepática compensatoria insuficiente sería la causa principal de la anemia de la ERC.

La posibilidad de sintetizar la EPO como eritropoyetina recombinante humana (EPOrh), se produjo en 1987 (30). La importancia de este hallazgo y la confirmación de su influencia en la respuesta eritropoyética, permitió que tan sólo tres años después, la FDA (*Food and Drug Administration*) aprobara su utilización como tratamiento en la anemia renal.

b. Alteración en la función de la eritropoyetina:

En los pacientes con ERC, no sólo se ha descrito un déficit de producción de EPO, sino también en su acción. La resistencia a la acción de EPO precisa de una administración de mayores dosis de AEE, lo cual desafortunadamente en algunas ocasiones no resuelve la anemia y además es un predictor de morbi-mortalidad (31, 32). Las causas asociadas a una hiporrespuesta a la EPO son múltiples y se describen a continuación:

b.1) Déficit de hierro:

El déficit de Fe es considerado como el factor más importante en la hiporrespuesta a EPO. Tanto el déficit absoluto (situación descrita como presencia de niveles de ferritina plasmática disminuida), como el déficit funcional (valores porcentuales del índice de saturación de transferrina disminuido asociado a niveles de ferritina adecuados el elevados) son causas principales de una respuesta disminuida a la EPO (33, 34). Este punto se desarrollará más ampliamente en el siguiente apartado.

b.2.) Hiperparatiroidismo secundario (HPT2):

Su asociación con fibrosis de la médula ósea, disminuye la síntesis de EPO, altera los precursores eritroides (35, 36), y la membrana celular del hematíe favoreciendo su destrucción (37-39). Existe a su vez una relación inversa entre las concentraciones circulantes de PTH y Hb plasmática, incluso en pacientes con ERC sin tratamiento dialítico, y sin necesidad de padecer un HPT2 grave (40). En pacientes con HPT2 sometidos a partiroidectomía, junto con una aminoración de la fibrosis medular, se describe una elevación de los niveles de Hb, del recuento reticulocitario y una disminución de las necesidades de AEE (41, 42).

Finalmente, también ha sido descrito un papel modulador del tratamiento de la anemia renal sobre las concentraciones de PTH, como sugiere su disminución tras la administración de hierro en modelos animales (43, 44), aunque este hecho no se ha confirmado en pacientes con ERC (45).

b.3) Inflamación:

Los pacientes con ERC, especialmente aquellos en estadios avanzados, presentan un estado de intensa inflamación sistémica. Los factores asociados al proceso inflamatorio son múltiples, destacando:

- Disminución del aclaramiento de citoquinas pro-inflamatorias.
- Aumento del estrés oxidativo.
- Disminución en la producción de sustancias antioxidantes.
- Co-morbilidad asociada y estado inflamatorio propio de la enfermedad de base.
- Alteraciones en el metabolismo calcio-fósforo.
- Factores genéticos.

La sobre-expresión de diversas citoquinas por parte de las células de defensa, como los linfocitos T helper, deriva no sólo en un estado inflamatorio a nivel local, sino también sistémico. A modo de ejemplo, la IL-6 tiene como función promover la diferenciación monocitaria, aumentando el número de plaquetas circulantes y proteínas reactantes de fase aguda. La elevación de esta citoquina presenta un rol principal en el desarrollo y mantenimiento de la anemia de características inflamatorias, es un agente pirógeno e influye en el eje hipotálamo-hipofisario adrenal (46).

En relación con la acción de las citoquinas tienen que tenerse también en cuenta los siguientes aspectos, que dificultan su utilización diagnóstica en la práctica clínica:

- Las citoquinas no actúan de forma aislada e inducen a su vez la síntesis de otras citoquinas.
- Existe un mecanismo de regulación recíproca entre distintas citoquinas.
- Pueden existir efectos paracrinos (locales) no identificables o medibles.
- Trasportadores de ciertas citoquinas (proteínas como las α2-macroglobulinas) actúan como reservorios por lo que sus determinaciones plasmáticas podrían no reflejar su fracción activa.
- El estado urémico podría alterar la respuesta o los niveles habituales de ciertas citoquinas.

b.4) Otros factores:

Procesos infecciosos, neoplasias, enfermedades agudas, también pueden ser causa de una inadecuada o inexistente respuesta a la EPO.

c. Alteraciones del hierro

El Fe es el componente principal de la formación de Hb mediante su proceso de ensamblaje con las cadenas de globina. La Hb asegura una correcta oxigenación de los tejidos, pero además, el Fe es imprescindible en el metabolismo celular y en diversas reacciones enzimáticas. En adultos sanos el Fe corporal total es de unos 2 a 4 gramos (2,5 gramos en 71 kg de peso en la mujer o 35 mg/kg) (a 4 gramos en 80 kg o 50 mg/kg en varones).

c.1 Distribución del hierro:

Su distribución es la siguiente:

i. Pool funcional: El 70 % del hierro corporal total se encuentra como hierro funcional a nivel:
   a. Eritrocitario (65 %).
   b. Tisular: mioglobinas (4 %).
   c. Enzimas dependientes del hierro (hem y no hem): 1 %. Estas enzimas son esenciales para la función de las mitocondrias y regulan la oxidación intracelular (citocromos, oxidasas del citrocromo, catalasas, peroxidasas).

ii. Hierro de depósito (aproximadamente 1 gr.) El 30% del hierro se encuentra en forma de depósito en las siguientes formas:
   a. **Ferritina.** Principal forma de depósito del hierro en los tejidos, representando las 2/3 partes del hierro de depósito.

b. **Hemosiderina**. Agregados micelares de ferritina, provenientes de la degradación del grupo hemo.

c. **Transferrina.** Es una α2-globulina sintetizada por el hígado y el sistema retículo endotelial. Transporta Fe a través del plasma. Se considera que existen 3 formas diferentes que son la monoférrica, diférrica (forma que posee la mayor capacidad de transporte de Fe) y al apoférrica (no transporta Fe).

En la ERC, la desregulación del metabolismo férrico es debida tanto a un déficit absoluto como funcional de Fe:

c.2 Déficit absoluto:

Definido por la presencia de niveles de ferritina plasmática inferiores al rango de la normalidad, sus causas en pacientes con ERC avanzada en hemodiálisis se pueden resumir en:

i. Pérdidas crónicas de sangre ocasionadas por:
   - Pérdidas hemáticas en el dializador o líneas de diálisis.
   - Extracciones para laboratorio.
   - Sangrado intestinal oculto, presencia de angiodisplasias, etc.

ii. Disminución de la absorción intestinal del Fe por diferentes mecanismos incluida la uremia.

iii. Utilización de antagonistas de los receptores histamínicos H2 e inhibidores de la bomba de protones.

iv. Aumento de las necesidades de Fe para la eritropoyesis inducida por la administración de EPOrh.

Para el diagnóstico de esta condición está definido por la presencia de niveles de ferritina plasmática inferiores al rango de la normalidad.

c.3. Déficit Funcional:

Esta situación se caracteriza por la presencia de unos depósitos de hierro en rango normal o incluso elevado, acompañado de una insuficiente utilización o movilización de los mismos para mantener un adecuado aporte en los procesos fisiológicos como la eritropoyesis. El déficit funcional de Fe es una situación frecuente, ya que un 60% de los pacientes en diálisis en EEUU presentan niveles de ferritina plasmática > 500 ng/ml (47), sugiriendo una deficiente homeostasis férrica. La presencia del déficit funcional de Fe trae asociadas dos condiciones patológicas:

A) Imposibilidad de la utilización del Fe para el proceso eritropoyético con el desarrollo de anemia secundaria.
B) Un efecto tóxico directo derivado de su acumulación excesiva a nivel tisular en diversos órganos vitales que conduce a una disfunción de los mismos de forma secundaria al estrés oxidativo característico de la intoxicación por Fe (48-52).

Actualmente se considera que en la base de la anemia por déficit funcional del Fe, subyacen mecanismos pro-inflamatorios. En la ERC y otras situaciones crónicas (enfermedades reumatológicas, infecciones crónicas, enfermedades pulmonares y la insuficiencia cardiaca como prototipos de enfermedades crónicas) se ha objetivado una sobre-expresión de citoquinas pro-inflamatorias como TNF-α, INF-γ, IL-1β, y el factor nuclear κβ (NF-κβ). La sobreexpresión de estos marcadores induce a su vez la producción de IL-6 por parte de los macrófagos (53-56). IL-6 es una de las principales

citoquinas relacionadas con el desarrollo de la anemia inflamatoria (57, 58). A su vez, el aumento de la expresión de IL-6 se asocia con una elevación de los niveles de la proteína de síntesis hepática hepcidina (59). Inicialmente, la hepcidina se relacionó con una acción bactericida y antimicótica, y así fue denominada *LEAP-1* (*liver-expressed antimicrobial protein).* No obstante, actualmente se la considera la principal responsable principal de los flujos de Fe en el organismo y por lo tanto responsable de asegurar un aporte suficiente para el proceso eritropoyético (60). Como se ha descrito anteriormente, la sobreexpresión de los niveles de IL-6 y con ello de los niveles de hepcidina, trae como resultado, una disminución de la absorción intestinal del Fe y una disminución de la liberación de Fe desde los macrófagos, que finalmente podría justificar el desarrollo del déficit funcional de Fe (61) (**Figura 2**). Además se ha comunicado, que los niveles de pro-hepcidina se relacionan con los niveles de hematocrito. Así la hepcidina sólo estaría relacionada con la movilización de Fe sino también con sus depósitos corporales (62), aunque no parece ofrecer mayor sensibilidad evaluando éstos que la ferritina plasmática (63).

Las propiedades atribuidas a los niveles elevados de hepcidina que se asocian a la imposibilidad para movilizar el Fe tisular y almacenado en los macrófagos, y la inhibición de la absorción intestinal podrían explicar en parte la poca eficacia del tratamiento con suplementos orales de Fe, los niveles elevados de ferritina plasmática y la disminución de los valores del IST% (64-67).

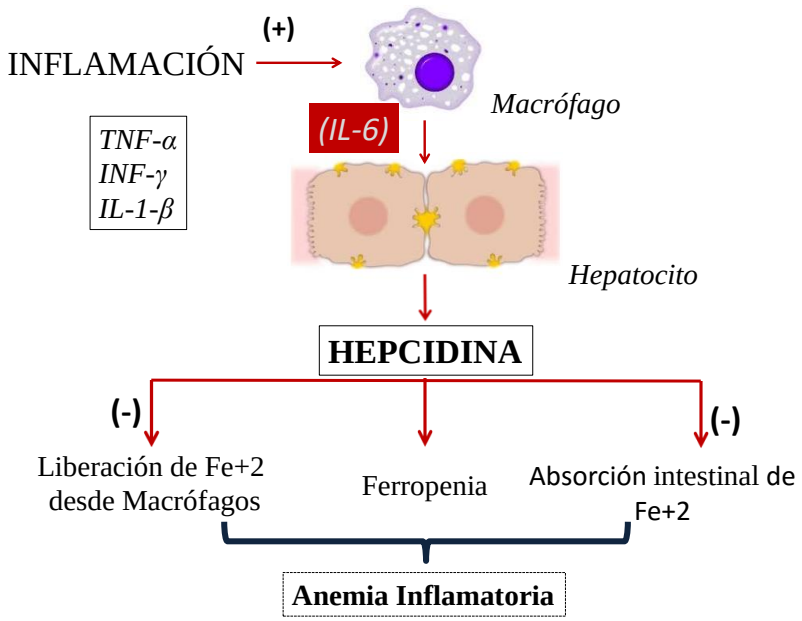


Figura 2. Etiopatogenia de la anemia de trastornos crónicos. Papel de la inflamación.

C) CLÍNICA:

La semiología del síndrome anémico en la ERC es similar a la descrita en la población general y se caracteriza por la presencia de astenia, palpitaciones, acúfenos, palidez cutánea y en los casos más graves insuficiencia coronaria. La presencia de anemia es además una causa reconocida de insuficiencia cardiaca congestiva de alto gasto. Además, se ha descrito que la anemia de la ERC se asocia a una mayor mortalidad en estos pacientes (67-69). También se ha descrito que la presencia de anemia es un predictor independiente del desarrollo del ERC avanzada (70), así como también se ha asociado a un mayor tiempo de la estancia hospitalaria (71). En el campo del trasplante renal, la presencia de anemia se relaciona con un peor funcionamiento y supervivencia del injerto (72). Finalmente, la presencia de anemia puede afectar negativamente a la capacidad de concentración así como a la calidad de vida (73).

D. TRATAMIENTO DE LA ANEMIA:

Este se basa en el uso de suplementos de Fe y la administración de EPOrh. Las K-DIGO 2012 (*KDIGO: Clinical practice guideline for anemia in chronic kidney disease*) recomiendan la administración de Fe con el objetivo de mantener unos niveles de IST ≥ 30% y además iniciar AEE en aquellos pacientes con niveles de Hb plasmática < 10 g/dl.

D.1.Suplementos de hierro:

La suplementación intravenosa de Fe en los pacientes en diálisis es generalizada, en detrimento de la administración oral. El principal motivo como ya se ha comentado, es la mayor eficacia de la vía parenteral, y en el caso de pacientes en hemodiálisis, la facilidad para su administración por el acceso arteriovenoso. En pacientes que padecen ERC-5, las guías K-DIGO, recomiendan con un nivel de evidencia 2C (recomendación de experto), que el tratamiento intravenoso con Fe debe considerarse ante anemia sin tratamiento AEE junto con ferritina plasmática ≤ 500 ng/ml e IST% ≤ 30%. Estas recomendaciones también hacen referencia a la valoración previa a la administración parenteral de Fe del balance beneficio/riesgo de la disminución de necesidades de transfusión y dosis de AEE frente a la posibilidad de reacciones alérgicas (incluida las reacciones anafiláctica) o efectos adversos a largo plazo. Estos potenciales efectos deletéreos estarían relacionados con la inducción de estrés oxidativo y la posibilidad de generar una sobrecarga de Fe a nivel tisular que pudiera influir sobre la mortalidad de los pacientes en diálisis (48, 74, 75), a pesar de que los datos provenientes de ensayos clínicos, como el estudio DRIVE, no han demostrado un incremento de efectos secundarios incluso en pacientes con niveles de ferritina plasmática entre 500 y 1200 ng/ml (47).

El seguimiento de las últimas recomendaciones de las guias K-DIGO se han asociado a una disminución de las dosis de AEE, de los niveles de Hb en 1g/dl y ha aumentado las transfusiones (76).

D.2.Suplementos de AEE:

El uso de AEE en pacientes con ERC-5 es habitual rondando el 80% de esta población. La corrección de la anemia gracias a la utilización de esta familia de fármacos, mejora la calidad de vida, la astenia, la capacidad cognitiva, la tolerancia al ejercicio, y posiblemente, se asocia con una disminución de la hipertrofia del ventrículo izquierdo (77-79). Sin embargo, los ensayos clínicos no han conseguir demostrar un beneficio en términos de morbi-mortalidad cardiovascular, e incluso han comunicado su asociación con una mayor tendencia a padecer eventos cerebrovasculares agudos (80, 81) y con progresión de neoplasias malignas (82, 83).

Otro aspecto a considerar del empleo de EPOrh es su coste, dado que representan la partida principal del gasto farmacéutico de los pacientes en diálisis (84). En el informe americano del año 2010, *Annual Data Report (*http://www.usrds.org), el gasto en AEE en pacientes en diálisis en EEUU ascendió a 1.800 millones de dólares. Aunque las dosis utilizadas de AEE en la actualidad han disminuido desde unas dosis semanales medias de epoetina de 12.000 UI/semana a 10.000 UI/semana continúan representando un elevado coste económico.

Debido a la ausencia de beneficios en cuanto a morbi-mortalidad tras alcanzar niveles de Hb > 13 g/dl en pacientes en diálisis, las actuales guías K-DIGO sólo recomiendan el uso de AEE si los valores de Hb son < 10 g/dl, y su retirada con Hb > 13 g/dl. Se ha descrito que las dosis elevadas de AEE se asocian además con una

mayor mortalidad en pacientes en hemodiálisis (82). Todo ello convierte la terapia de la anemia renal con AEE en un tratamiento no óptimo, de forma similar a lo que sucede con el hierro.

Recientes trabajos han aportado nuevas claves en relación con la etiopatogenia de la anemia de la ERC con importantes implicaciones terapéuticas. *Perlstein et al.* (85) en el año 2011, publican un estudio realizado en adultos de edad avanzada, evaluando diferentes tipos de anemia (asociada a ERC, ferropénica, inflamatoria, por déficit de ácido fólico y/o vitamina B12 y anemia inexplicada) y su relación con diversos parámetros inflamatorios [IL-6, IL-1β, IL-18, proteína C reactiva (PCR), TNF-α]. El estudio contó con un grupo control sin anemia y valores de EPO circulante. Los resultados se muestran en la **Tabla 4**.

Tabla 4. Niveles de eritropoyetina plasmática según el tipo de anemia.

Etiología	No anemia	ERC	Ferropénica	Inflamatoria	Déficit Fólico/B_{12}	Inexplicada
N	496	9	15	21	9	32
Inflamación*	2.4	55.5	13.3	42.9	0	9.1
IL-6 (pg/ml)	0.73 (0.37-1.43)	3.4 (3.4-5.4)	1.5 (0.8-2.6)	1.8 (1.1-2.1)	1.5 (1.2-2.7)	1.3 (0.8-2.0)
EPO (mU/ml)	**9.7 (7 - 12)**	**25 (19 - 34)**	**27 (19 - 58)**	**11.5 (9 - 23)**	**9.7 (8 - 11)**	**11 (9 - 14)**
ClCr (ml/min)	75	19	69	58	63	69

Datos, media, mediana (rango intercuartílico); *CLCr, aclaramiento de creatinina; EPO, eritropoyetina; ERC, enfermedad renal crónica; IL-6, interleuquina-6.* * Condición inflamatoria: infección reciente o actual, cáncer, artritis reumatoide, enfermedad inflamatoria intestinal, enfermedad del tejido conectivo, úlcera cutánea.

Lönnberg et al. (86) han descrito mediante técnicas de proteómica la existencia de EPO en pacientes en hemodiálisis de presumible origen hepático. Los trabajos

realizados por este grupo están relacionados con el dopaje en el deporte. Mediante estas técnicas se puede identificar la presencia de EPO tanto de origen endógeno como exógeno. Los autores informan que se puede identificar la presencia de EPO de origen renal o hepático y dentro de las EPO exógenos (EPOrh), tanto las de vida meda corta como la epoteina-α, epoteina-β como las de vida media larga como la darbe-epoteina y la metoxi-polietilenglicol epoetina-β. Estos autores concluyen, que en la ERC avanzada es el hígado, el órgano encargado de sintetizar EPO, presente en el plasma de todos los pacientes en diálisis, en un intento de compensar el déficit de producción de EPO renal.

En 2010, *Bernhardt et al.* (87) demuestran el aumento de las concentraciones plasmáticas de EPO, tras la administración de un inhibidor de la prolil-hidroxilasa. Las prolil-hidroxilasas en un medio con adecuada tensión de oxígeno, producen la degradación de los factores inducibles por hipoxia (HIF). Los HIF son una familia de proteínas que actúan como factores de transcripción activadores de genes para la síntesis de EPO. En su estudio mostraron como en un grupo de los pacientes anéfricos, se apreciaba un aumento de niveles de EPO normofuncionante, indicando fehacientemente su producción extra-renal, que podría estimularse hasta llegar a niveles incluso superiores a los habituales en población sin anemia.

Las conclusiones que se pueden obtener de estos estudios son de suma importancia:

- Los niveles de EPO plasmática en aquellos pacientes con ERC, no sólo podrían no están disminuidos en comparación a los otros tipos de anemia, sino que sus concentraciones pueden ser hasta 3 veces superiores a la de sujetos sin anemia; por lo que el déficit de EPO en estos pacientes podría no ser el único mecanismo implicado en la ERC avanzada.

- La identificación de diversas isoformas de EPO en el plasma de los pacientes en diálisis incluso en aquellos anéfricos, implica que estos mantienen la capacidad de producir EPO en un intento compensatorio por corregir la anemia.
- Se describe de forma contundente que es posible estimular la síntesis de EPO endógena, incluso en pacientes anéfricos, lo que convierte esta línea de investigación en una nueva estrategia del tratamiento de la anemia renal.

Alteraciones del metabolismo óseo-mineral en pacientes con ERC

Las AOM son otro síndrome asociado a la ERC observada ya en fases precoces, y que afectan diversos órganos o sistemas relacionados con el metabolismo óseo mineral (enfermedad ósea por alto o bajo recambio, osteoporosis, osteomalacia, HPT2) y calcio-fósforo. A continuación se desarrollan los principales mecanismos implicados en la etiopatogenia del HPT2 con influencia sobre la respuesta eritropoyética.

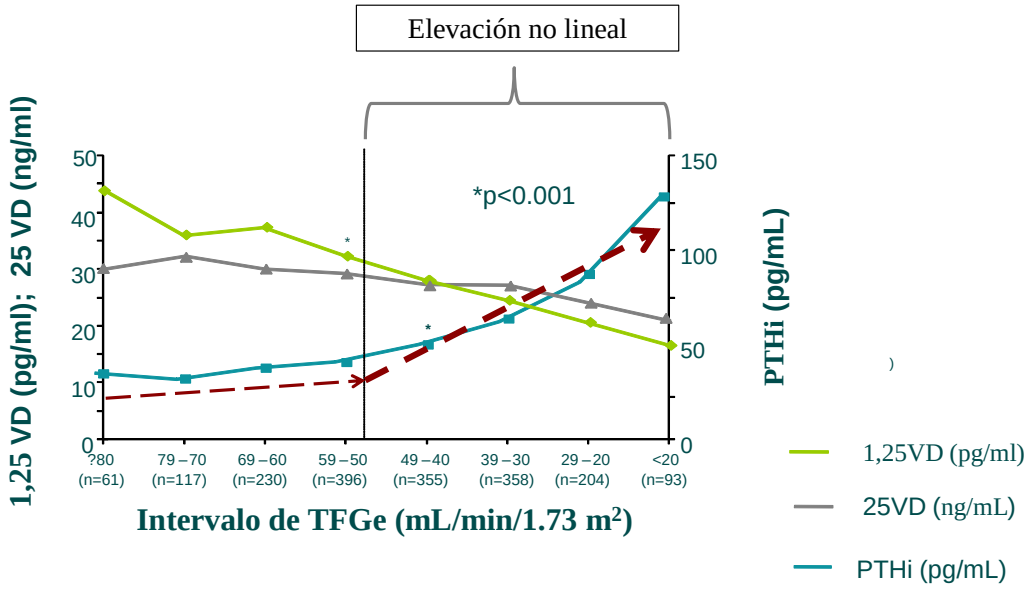
<u>Fisiopatogenia del hiperparatiroidismo secundario:</u>

Clásicamente se había considerado que el origen y centro de las AOM-ERC se producían como consecuencia de la disminución de la excreción urinaria de fósforo (88). La respuesta del organismo ante esta situación, consistiría en el aumento de la síntesis de la PTH con el objetivo inicial de inducir una respuesta fosfatúrica (89), y así disminuir la sobrecarga de fósforo en el organismo, situación asociada a mayor mortalidad incluso en individuos sin deterioro de función renal (90). La elevación de los niveles séricos de fósforo se produciría en pacientes con ERC moderada-grave

(TFGe < 30 ml/min/1,73m^2), debido a la acción de mecanismos compensadores, en especial mediante el aumento de fosfatoninas como FGF-23, factor de crecimiento fibroblástico-7 (FGF-7) y glicoproteínas de la matriz extracelular que intentarían compensar la retención de fósforo. Así se produce un incremento de FGF-23 en respuesta a la carga corporal de fósforo, alteraciones del calcio y PTH, y previo al incremento plasmático del primero (12, 91-93). El incremento plasmático de FGF-23 se ha se asociado a un mayor riesgo de mortalidad cardiovascular en población con ERC-5 en diálisis (94) y en pacientes con insuficiencia cardiaca (95).

También se ha descrito que previamente a las elevaciones de la PTH, e incluso con TFG en torno a 50 ml/min/1,73m^2, existe una disminución de los niveles de 25 VD y su forma activa la 1,25 VD, que podrían considerarse uno de los primeros factores asociados con el desarrollo de las AOM-ERC (96) (**Figura 3**). Por otro lado, la disminución de absorción de calcio intestinal y la inhibición de su reabsorción renal conlleva una disminución de los niveles plasmáticos, desencadenando una respuesta inmediata por parte de las glándulas paratiroideas aumentando la síntesis y la secreción de PTH de forma compensatoria.

SISTEMA DE LA VITAMINA D Y PTHi



1,25VD : 1,25 dihidroxicolecalciferol, 25VD: 25hidroxicolecalciferol,
PTHi: parathormona intacta, TFGe: tasa de filtrado glomerular estimado.

Figura 3. Evolución de los niveles de 25 VD, 1-25 VD y de PTH en pacientes con ERC. Adaptado de referencia 95.

Pero no sólo la sobrecarga de fósforo, o la disminución de los niveles de 25 VD y 1,25 VD serían los responsables de la estimulación de la síntesis de PTH. Tal como se muestra en la **figura 3**, la disminución de los niveles de los metabolitos de la vitamina D se produce en paralelo con un incremento lineal de los niveles de PTH. Sin embargo, con niveles de TFGe en el rango entre 30 y 40 ml/min/1,73m^2, los niveles de PTH presentan un incremento exponencial, a pesar de que la disminución de los metabolitos de la vitamina D mantiene su descenso lineal. Esta situación implica la existencia de factores al margen de la vitamina D ejerciendo su acción. A este respecto es de destacar, la interesante asociación entre hiperaldosteronismo e HPT2. En situaciones que cursan con hiperaldosteronismo secundario como la insuficiencia cardiaca, enfermedad renal crónica, diabetes mellitus y obesidad, los niveles elevados

de aldosterona producen pérdidas renales y fecales de Ca y Mg. Estas pérdidas estimulan la síntesis y secreción PTH de forma compensatoria (97) (**Figura 4**).

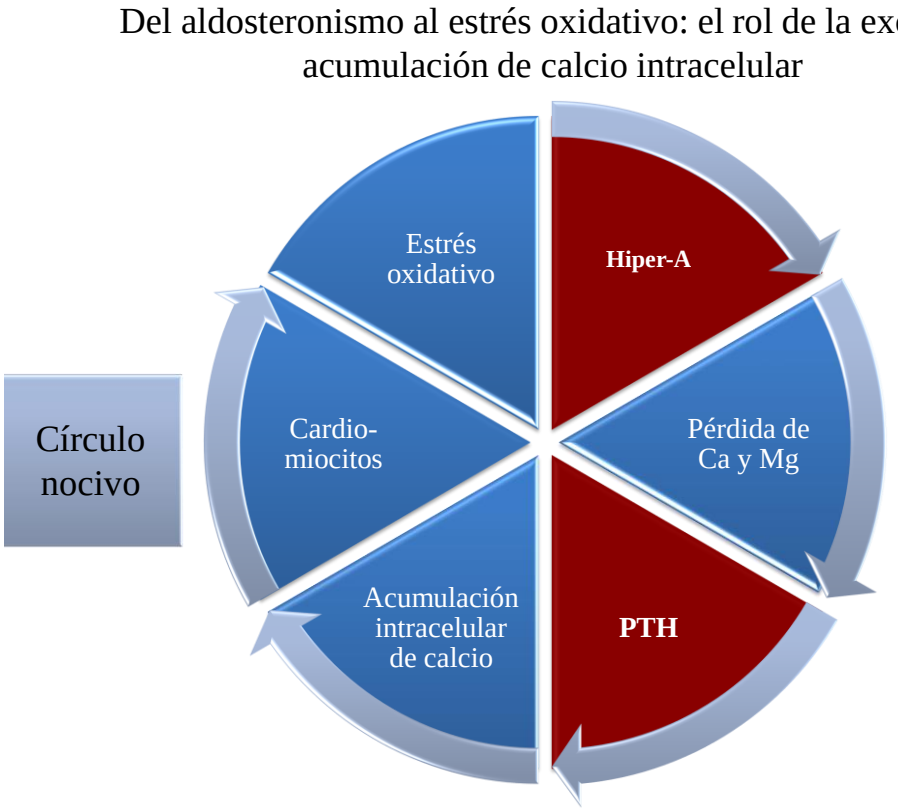


Figura 4. Influencia de los estados de hiperaldosteronismo en la activación de PTH. *Adaptado de la referencia 96. Abreviatura: Hiper-A, estados de hiperladosteronimo.*

En conclusión, son múltiples los factores implicados en la patogénesis de las AOM-ERC, la elevación de los niveles de fósforo plasmático no parecen ser el único desencadenante de HPT2, emergiendo como posibles factores, las alteraciones en FGF-23, Klotho, vitamina D o aldosterona.

Homeostasis e implicaciones de la vitamina D:

La vitamina D ha cobrado especial relevancia en los últimos años, siendo múltiples los campos de la medicina en los que se han y se están evaluando su asociación con diversas entidades patológicas que engloban entre otras el riesgo cardiovascular, el cáncer, las enfermedades autoinmunes, o la osteoporosis. El año 2007 y debido al gran impacto sobre el campo médico-científico, la revista *Time* clasificó el campo de la vitamina D dentro de los 10 avances médicos del año (98).

A pesar de su denominación, la vitamina D (su nombre fue determinado siguiendo el orden alfabético por ser la cuarta vitamina descubierta), en la actualidad es considerada como una hormona debido a sus acciones paracrinas y endocrinas. En este sistema hormonal intervienen diferentes metabolitos de la vitamina D, que ejercen múltiples acciones a distancia, e influyen en la expresión de entre 200 y 1.500 genes en el organismo (99-101). A pesar de que clásicamente se ha descrito su efecto sobre el metabolismo óseo, la creciente información científica ha descubierto un amplio espectro de acciones al margen del proceso de osificación.

1.- Metabolismo de la Vitamina D.

El paso inicial consiste en la síntesis de vitamina D a nivel cutáneo a partir del colesterol gracias a la acción de la radiación ultravioleta B (UVB) dando lugar a el colecalciferol o vitamina D3. El colecalciferol tras la acción de la 25 α-hidroxilasa hepática se transforma en 25 hidroxicolecalciferol (25 VD), que principalmente a nivel renal, es a su vez metabolizado en 1,25-dihidroxicolecalciferol (1,25 VD) o calcitriol por la 1 α-hidroxilasa (**Figura 5**).

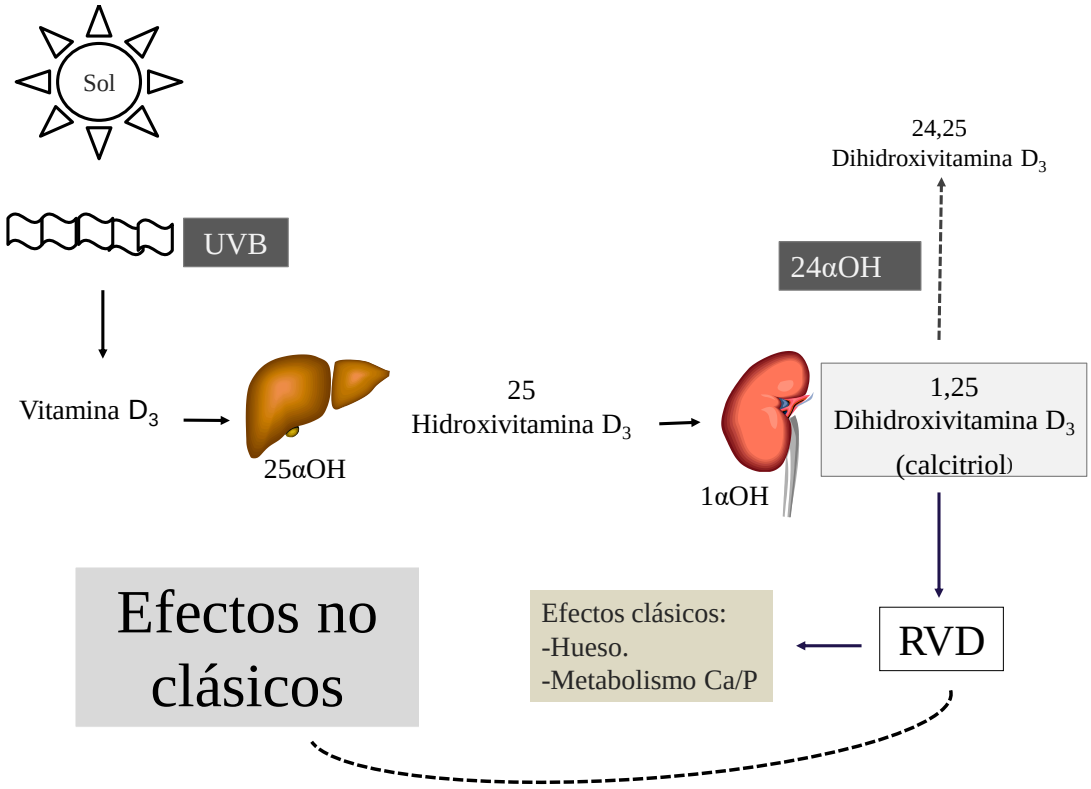


Figura 5. Metabolismo de la vitamina D. *Ca/P, calcio-fósforo; RDV, receptor de vitamina D; UVB, radiación ultravioleta B; 1αOH, 1α–hidroxilasa; 25αOH, 25 α–hidroxilasa.*

Una vez sintetizado el calcitriol, el último mecanismo necesario para el funcionamiento del eje de la vitamina D, consiste en la activación de su receptor (RVD) mediante la unión ligando-receptor. Aunque se considera como principal ligando al propio calcitriol, se ha descrito que esta activación puede producirse también por la 25 VD, confirmando su capacidad de inducción enzimática (citocromo P 24A1), adipogénesis y diferenciación celular (102), aunque en presencia de niveles elevados de este metabolito (103).

El receptor de vitamina D está presente en múltiple órganos y tipos celulares como se muestra en la **Tabla 5.**

Tabla 5. Ubicación del Receptor de Vitamina D

SISTEMA	TEJIDO Y CÉLULA
Endocrino	Paratiroideo, célula β pancreática, célula tiroidea C.
Cardiovascular	Músculo liso arterial, endotelio vascular, miocitos.
Musculoesquelético	Osteoblastos, condrocitos, músculo estriado.
Gastrointestinal	Esófago, estómago, intestino, hepatocito.
Renal	Túbulo, aparato yuxtaglomerular (renina), podocito.
Reproductivo	Testículo, ovario, útero.
Immune	Células B, T, médula ósea, timo.
Respiratorio	Célula alveolar.
Epidermis	Queratinocitos, folículo piloso.
SNC	Neuronas cerebrales.

Adaptado de referencia 102.

2.- Regulación del sistema de la Vitamina D.

Como todos los sistemas hormonales, la vitamina D debe estar sujeta a mecanismos de control. A nivel cutáneo, destaca la inhibición de su síntesis producida por los propios fotones de los rayos ultravioletas de tipo B (UVB). Ante unos niveles circulantes de 25 (OH) VD levemente superiores a 20 mg/dl, su síntesis entra en fase de meseta (104). Así, aunque la exposición solar se considera el responsable del mayor aporte de vitamina D en el organismo (105), y que no se han descrito casos de intoxicación por vitamina D en sujetos con gran tiempo de exposición solar; hipotetizamos que la inhibición de la síntesis a nivel cutáneo es un mecanismo especialmente riguroso de control para evitar potenciales efectos adversos.

Una vez sintetizada la 1,25 VD ejerce su acción sobre los RVD en los distintos órganos. Cuando su efecto es suficiente, la 24,25 hidroxilasa hepática es la responsable del paso de 1,25 VD a 24,25 VD que puede ser eliminada del organismo por vía biliar (105) (**Figura 5**).

3.- Niveles de vitamina D.

En la actualidad, existe controversia en relación a cuáles son los niveles adecuados de vitamina D en la población general. A nivel nefrológico, tanto las guías K-DIGO como las guías de la Sociedad Española de Nefrología para el manejo y control de las AOM-ERC, recomiendan como adecuados, niveles circulantes de 25 VD ≥ 30 ng/ml. Sin embargo el *Institute of Medicine* (IOM) que recoge las recomendaciones de la Sociedad Americana de Endocrinología, recomiendan como niveles suficientes unas concentraciones ≥ 20 ng/ml (106).

Un reciente estudio en el que se evaluó la evolución de los niveles plasmáticos de 25 VD tras la administración de dos dosis diferentes de vitamina D nutricional o nativa mediante ergocalciferol (vitamina D2) comparándola con la evolución de los niveles adquiridos por medio de exposición solar (dosis mínima eritema), mostró que existen diferencias en la evolución plasmática de los niveles de 25 VD en función de la diferentes dosis o formas de administración. Tras exposición solar, los niveles de 25 VD sobrepasan ligeramente la concentración de 20 ng/ml, manteniéndose estables a lo largo del tiempo, mientras que en aquellos sujetos que recibieron las mayores dosis de ergocalciferol alcanzan los 50 ng/ml. Se desconoce si la variabilidad de los niveles de vitamina D posee algún efecto beneficioso o deletéreo. Sin embargo, se ha comunicado un efecto en "J" en términos de mortalidad general y concentraciones circulantes de 25 VD (107, 108), en posible relación con el desarrollo de hipercalcemia, nefrocalcinosis y mortalidad de causa cardiovascular (109-112).

4.- Influencia de la vitamina D sobre los nuevos marcadores de hiperparatiroidismo secundario.

El avance en el conocimiento de la vitamina D ha llevado al descubrimiento de su asociación sobre los nuevos marcadores relacionados con las AOM-ERC.

Uno de los aspectos más novedosos es la interrelación con los niveles de FGF-23 y su co-receptor klotho. Así se ha descrito en pacientes con diabetes mellitus tipo 1, que elevados niveles de FGF-23 y bajos de vitamina D se asocian con una mayor de rigidez de la pared arterial (113), que la utilización de análogos de vitamina D pueden elevar los niveles de FGF-23 (114) así como los niveles de klotho (115-117).

Se ha descrito que el Klotho es el correceptor del FGF-23; sin embargo datos recientes informan que el Klotho es un modificador de las acciones del FGF-23, además también se ha descrito su asociación con otras fosfatoninas (FGF-19 y el FGF-21) (118); por lo que la relación entre FGF-23 el Klotho están se deben clarificar. Esto podría justificar, las asociaciones entre los niveles elevados de FGF-23 como la hipertrofia cardiaca, mayor calcificación vascular (95, 119) y los potenciales beneficios de las propiedades antienvejecimiento del Klotho (120).

La proteína klotho es una sustancia también relacionada recientemente con el desarrollo de las AOM-ERC y que parece alterarse en fases precoces de la ERC. El klotho fue descubierto en 1997 por *Kuro-o* (121). Existen dos formas de klotho, una transmembrana y otra soluble. Klotho influye en el transporte de calcio y fósforo a nivel tubular renal. Tanto FGF-23 como klotho tienen como función la excreción renal de fosforo (13) (122), y son un marcador precoz de la enfermedad ósea mineral asociada a la ERC (13). Las alteraciones de los niveles de klotho se han asociado con el desarrollo de aterosclerosis, con daño renal secundario a hipertensión arterial y con

el remodelado cardiaco promovido por FGF-23 asociado al proceso de hipertrofia cardiaca (123-125). Niveles disminuidos de klotho se han relacionado a su vez con muerte prematura del hematíe (126-128), por lo el déficit de klotho podría ser un factor relacionado con el desarrollo de anemia de causa renal.

POTENCIAL INTERACCIÓN ENTRE LA ANEMIA Y LAS ALTERACIONES DEL METABOLISMO CALCIO-FÓSFORO Y ÓSEO MINERAL EN LA ENFERMEDAD RENAL.

El estudio de la fisiopatogenia del síndrome anémico y de las AOM-ERC presenta importantes puntos convergentes y que describimos a continuación:

1. ***El riñón como órgano endocrino.*** Como se ha descrito previamente, el riñón es el principal órgano encargado de la síntesis y liberación tanto de EPO como de la forma activa de vitamina D; considerándose ambas hormonas como uno de los principales factores relacionados con el desarrollo del síndrome anémico y de las alteraciones óseo-minerales, respectivamente, presentes en casi totalidad de los pacientes con ERC. La lesión de los fibroblastos peritubulares renales conllevaría a una disminución en la síntesis de ambas hormonas. Durante el proceso de deterioro de la función renal se produce una disminución de los niveles de 1α-hidroxilasa, que reduce la síntesis calcitriol. Por otro lado el deterioro renal se acompaña de una disminución de la síntesis de megalina, proteína de membrana que tiene como función acoplar 25 VD, y su internalización en la célula tubular proximal para sintetizar calcitriol y mantener estables los niveles de 25 VD (129).

Como ya se ha establecido, la principal producción de la EPO se lleva a cabo a nivel renal (105). La presencia de daño túbulo-intersticial crónico por hipoxia induce

la apoptosis de las células tubulares produciendo una disminución de la síntesis de EPO. Por lo tanto, la situación de hipoxia y la fibrosis túbulo-intersticial se acompaña simultáneamente tanto de una disminución de la capacidad de síntesis de calcitriol como de EPO (130). Esta lesión crónica podría prevenirse mediante la administración de EPOrh como han sugerido algunos trabajos realizados en modelos animales (131, 132). Desafortunadamente hasta la actualidad, los estudios realizados en humanos, no han podido demostrar prevención del daño renal tras cirugía cardiaca o trasplante renal (133). Moléculas derivadas de la EPO sin actividad eritropoyética pero que mantienen las potenciales propiedades anti-inflamatorias (p.ej. EPO carbamilada) quizá puedan producir beneficios a nivel renal (134).

2. Efecto de la VD sobre la proliferación de células hematopoyéticas. *Ben Alon et al.* (135) describieron como la administración a dosis crecientes de 1,25 VD aumentaba la proliferación de las células hematológicas de forma directa. En este estudio, también se evaluó el efecto de la utilización de combinada de dosis crecientes de EPO y calcitriol, apreciándose un aumento moderado pero progresivo en el porcentaje de proliferación de las células hemáticas tras someter a las células a dosis crecientes de EPO, mientras que en el modelo con dosis crecientes de calcitriol, se apreciaba un potencial efecto en "J" (**Figura 6**). Sin embargo, la combinación de EPO con 25 VD no presentó sinergia sobre la proliferación de las células hematológicas. (**Figura 7**).

Calcitriol, EPO y proliferación celular

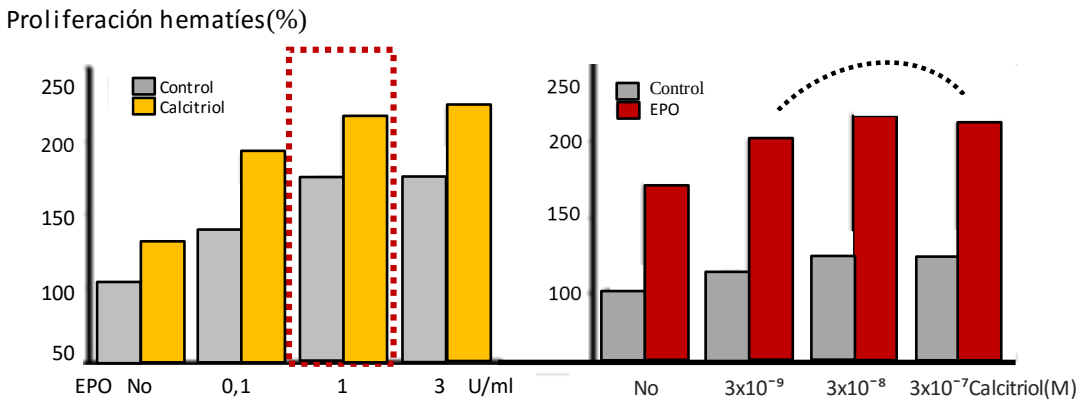


Figura 6. Efecto de la administración de 1,25 VD sobre la proliferación de hematíes. Adaptado de la referencia 135.

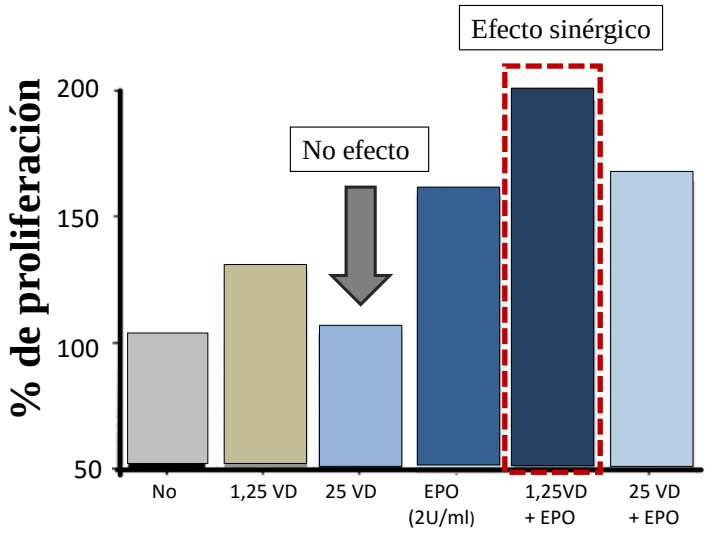


Figura 7. Efecto de la administración de EPO, 25 VD, 1,25 VD sobre la proliferación de hematíes. Adaptado de la referencia 135.

Se ha descrito también la existencia de RVD en lo pro-eritroblastos, lo que podría implicar que de forma fisiológica la activación del RVD podría tener algún efecto en el proceso de diferenciación de los hematíes (136).

3. ***Presencia de vitamina D en la médula ósea.*** La médula ósea es el principal órgano dónde se desarrolla el proceso eritropoyético. *Blazsek et al.* (137) reportaron que los niveles de 25 VD y 1,25 VD en la médula ósea llegan a ser de 25 y 500 veces superiores a los valores plasmáticos respectivamente. Por otro lado, *Rankin et al.* (138) demostraron como mediante la modificación de HIF, factor Von Hippel Lindau y de las prolil-hidroxilasas, se puede estimular la producción de EPO ósea, mecanismo mediado por la acción de los osteoblastos (138), células diana para la vitamina D (139, 140).

4. ***Efecto de la EPO sobre la mineralización ósea.*** Al igual que se ha descrito que al administración de vitamina D se asocia a un aumento en la proliferación de las células hemáticas, existen datos que sugieren que la administración continuada de EPO tendría un papel importante en el proceso de remodelación ósea, especialmente la resorción ósea (141). Recientemente se ha confirmado la asociación entre la administración de EPO y pérdida de masa ósea incluso en dosis bajas por medio de la estimulación directa de los osteoclastos (142).

También se ha descrito, que la administración continuada de EPOrh incrementa los niveles de calcitriol en pacientes en hemodiálisis (143), lo que implica que ambos sistemas hormonales están interconectados.

5. Efecto de vitamina D sobre marcadores pro-inflamatorios asociados al desarrollo de la anemia inflamatoria. La administración de 1,25 VD y del activador selectivo del receptor de vitamina D (paricalcitol), se han asociado tanto en estudios animales como en humanos con un efecto inhibitorio sobre la expresión de determinados marcadores pro-inflamatorios como TNF-α e IL-6, relacionadas con el desarrollo de la anemia inflamatoria (144-146). No obstante, estos trabajos no contaban como objetivo principal el estudio de la anemia; sino eran modelos de nefropatía obstructiva, cultivos celulares, nefropatía diabética, y nefropatía por quimiterápicos (147-151). *Alborzi et al.* han comunicado el beneficio del uso de paricalcitol frente a placebo sobre los niveles de PCR ultrasensible como marcador inflamatorio en pacientes con ERC (152). La administración de colecalciferol se ha asociado también a una disminución de marcadores pro-inflamatorios en pacientes en hemodiálisis (153).

A pesar de existir abundante información acerca del posible beneficio relacionado con la administración de vitamina D o análogos activos de vitamina D sobre determinados marcadores pro-inflamatorios; es muy escasa la literatura acerca del posible beneficio del uso de vitamina D o sus análogos sobre la anemia renal mediado por el efecto sobre los marcadores pro-inflamatorios.

6. Efecto de vitamina D sobre la expresión de hepcidina como marcador asociados a la anemia por déficit funcional de hierro. Existen datos que sugieren un posible beneficio de la administración de vitamina D sobre la expresión de la hepcidina. *Bacchetta et al.* (154) han descrito que la administración de 25 VD y de 1,25 VD en cultivo de células hepáticas disminuye la expresión de hepcidina, y la administración de 100.000 UI de ergocalciferol en dosis única se acompañó a una

disminución de un 34% de los niveles de hepcidina plasmática. Este potencial efecto beneficioso no obstante se apreció asociado a una elevación de los niveles de FGF-23, fósforo y 25 VD desde los 27 a los 43 ng/ml.

Este mismo estudio, además confirmó que la administración del ergocalciferol, aumenta la expresión de ferroportina, única proteína conocida hasta la actualidad que posee como función permitir la salida del hierro acumulado a nivel celular. Por tanto, la inhibición de la expresión de hepcidina y el aumento de la expresión de la ferroportina tras la administración de vitamina D, favorecería una mejor utilización del hierro disminuyendo el déficit funcional característico de los pacientes con anemia inflamatoria.

7. Estudios que asocian el déficit de vitamina D con el riesgo de anemia. Son múltiples los estudios epidemiológicos que relacionan el déficit de vitamina D con la presencia de anemia, no sólo en pacientes con ERC como se aprecia en la **Tabla 6**.

Tabla 6. Estudios que relacionan los niveles de Vitamina D y la presencia de anemia.

Autor	Población	Metabolito
Kendrick et al. (148)	ERC no diálisis	25 VD
Patel et al. (149)	ERC no diálisis	25 VD y 1,25VD
Kizz et al. (150)	ERC-5D	25 VD
Sim et al. (151)	Población general	25 VD
Finkelstein et al. (152)	Mujeres VIH embarazadas	25 VD
Perlstein et al. (83)	Personas ≥ 60años	25 VD
Atkinson et al. (153)	Adolescentes y niños	25 VD
Zittermann et al. (154)	Insuficiencia cardiaca	25 VD y 1,25 VD
Jin et al. (155)	Anemia déficit de hierro niños	25 VD

D, diálisis; ERC, enfermedad renal crónica; VIH, virus de la inmunodeficiencia humana.

El análisis detallado de los artículos publicados aporta la siguiente información:

i. El déficit de 25 VD se asocia a niveles menores de Hb no sólo en pacientes con ERC, sino también en población general. En el estudio de *Sim et al.* (155), el porcentaje de pacientes sin ERC fue del 20%, lo que implica que la asociación entre déficit de vitamina D y anemia puede producirse de forma independiente a los mecanismos propios de la ERC. Esto se ve reforzado por los datos aportados por *Finkelstein et al.* ya que en su estudio, la población analizada fue de mujeres HIV embarazadas y no población con ERC.

ii. La asociación entre déficit de vitamina D y anemia, no se limita a la 25 VD, sino también a su forma activa (1,25VD). Es más, en el estudio de *Zittermann et al*., informa que el riesgo de anemia es superior en aquellos con niveles menores de 1,25 VD [OR (95%IC): 4,08 (2,18-7,62)] frente a al riesgo de anemia en aquellos con niveles menores de 25 VD [OR (95%IC): 2,69 (1,46-5,00)]. En aquellos pacientes con niveles bajos de ambos metabolitos, el riesgo de anemia era aún mayor [OR (95%IC): 9,8 (3,59-27,1), por lo que se puede deducir que los diferentes metabolitos de vitamina D podrían poseer diferentes efectos relacionados con la eritropoyesis.

iii. En el estudio de *Kendrick et al.* (148), (datos obtenidos del estudio NAHNES III), si bien se asoció el déficit de 25 vitamina D con menores concentraciones de Hb, los mayores niveles de Hb se apreciaron asociadas a valores de 25 VD comprendidos entre 20 y 25 ng/ml. Tras estratificar los pacientes según los niveles de PCR, se apreció que los niveles de 25 VD < 20 ng/ml, son los que se asocian a un mayor riesgo de anemia.

Otro estudio en el que se evaluó una amplia muestra de pacientes de origen asiático (n: 11.206), ha mostrado una relación no-lineal entre niveles de 25 VD y los

niveles de Hb en el sub-grupo de mujeres, con disminución de las concentraciones de Hb parecen con niveles de 25(OH) VD > 25 ng/ml (156).

En el estudio de *Kiss et al.* (157), los autores comunican una relación positiva entre niveles de 25 VD, Hb, y menores índices de resistencia a EPO. Sin embargo, los pacientes con déficit de vitamina D padecían diabetes mellitus, eran de edad avanzada y presentaban menores concentraciones de albúmina, que son reconocidos marcadores de riesgo para padecer anemia y además se han asociado a hiporrespuesta a EPO (158-160). En este trabajo tampoco se controló la suplementación de Fe, siendo un aporte adecuado también uno de los principales responsables de la respuesta a EPO (161).

Respecto a las formas activas de la vitamina D, otro estudio con una muestra reducida de pacientes ha reportado un efecto beneficioso de la administración de dosis elevadas de alfacalcidol (162). Si bien es cierto que estas dosis se asociaron a una mejoría en la anemia, no se informa acerca de la evolución de la administración de AEE. Si se apreció una disminución significativa de los niveles de PTH por lo que su efecto parece estar relacionado con la acción antiparatiroidea. Además, en este estudio, 3 de los 12 pacientes evaluados, precisaron suspensión del alfacalcidiol por hipercalcemia.

8. Estudios que asocian el déficit de vitamina D con mayores necesidades de AEE. Se ha asociado el déficit de VD con mayores necesidades de AEE. La práctica mayoría de los estudios conocidos hasta la actualidad son de carácter observacional y retrospectivos, por lo que no se dispone de un adecuado grado de evidencia científica. Debido a la posibilidad de que la administración de diferentes formas de VD (nativa o nutricional: ergocalciferol, colecalciferol) o sus análogos sintéticos (calcitriol,

paricalcitol, alfacalcidiol) ejerzan efectos diferenciales sobre las necesidades de AEE, reportamos los resultados según el tipo de vitamina D administrada.

8.1) Suplementación con VD nativa o nutricional:

- *Saab et al.* (163) en un estudio retrospectivo de 119 pacientes en diálisis, comunican que la administración mensual de 50.000 UI de ergocalciferol se acompañó de una disminución de AEE en un 64% de los sujetos, mientras que un 28% de éstos precisó un aumento de dosis. En este estudio, los niveles de PTHi disminuyeron desde 304 a 209 pg/ml, por lo que el beneficio podría estar influido por el mejor control del HPT2. Los niveles de 25 VD aumentaron de 16 a 53 ng/ml. El 7% de los pacientes desarrolló hipercalemia (definida por un calcio plasmático > 10,2 mg/dl).
- *Kumar et al.* (164) en un estudio transversal, comunican que la administración de ergocalciferol a un grupo de 81 pacientes en hemodiálisis no influyó en las necesidades de AEE al final del estudio, a pesar que los niveles circulantes de 25 VD se incrementaron de forma significativa desde los 15 a los 28 ng/ml. En este mismo estudio se clasificó a los pacientes como respondedores o no respondedores (según elevaran o no los niveles de 25 VD sobre 30 ng/ml tras la suplementación con ergocalciferol). Las necesidades de AEE en sujetos respondedores frente a aquellos no respondedores durante el seguimiento fueron de 19.000 *vs* 16.900 UI/mes, además de precisar unas mayores necesidades medias de Fe intravenoso (113 mg/mes *vs* 100 mg/mes, respectivamente). Pero incluso más llamativo fue que las dosis medias necesarias de AEE en aquellos con niveles de 25 VD ≤ de 20 ng/ml disminuyeron desde la evaluación basal a lo largo del seguimiento de 21.400 UI/mes a 16.825 UI/mes respectivamente; mientras que en aquellos con niveles basales de 25 VD > 20 ng/ml, la necesidades de AEE evolucionaron de 24.133 UI/mes a 21.050 UI/mes. En

resumen, es plausible que aquellos con niveles basales de 25 VD mayores de 20 ng/ml, que recibieron suplementos con ergocalciferol precisaran mayores dosis de AEE que aquellos con niveles inferiores. Los autores terminan sugiriendo que el escaso resultado sobre las necesidades de AEE tras la administración de ergocalciferol podría estar relacionado con el objetivo final de 25 VD de 30 ng/ml, y que posiblemente hubiera sido necesario elevar esos niveles para obtener un hipotético beneficio.

8.2) Para la administración de análogos de vitamina D:

- *Goicoechea et al.* (165), reportaron el beneficio del tratamiento con calcitriol sobre los niveles de Hb y necesidades de AEE, aunque esta disminución no fue significativa. La administración del calcitriol se realizó en pacientes con HPT2 moderado-severo (PTH media al inicio del estudio de 811 pg/ml). El beneficio sobre los niveles de Hb y dosis de AEE, sólo se apreció en el subgrupo de pacientes en los que los niveles de PTH disminuyeron en más de un 50%.
- *Shuja et al.* (166) describen el potencial beneficio del paricalcitol (activador selectivo del RVD) sobre las necesidades de AEE. Se analizaron 100 pacientes que fueron estratificados en 4 grupos según niveles de PTH. Aquellos pacientes con niveles de PTHi superiores a 600 pg/ml precisaron menores dosis de AEE en comparación a aquellos pacientes con niveles de PTHi inferiores a 100 pg/ml (grupo que no recibió paricalcitol), concluyendo que el beneficio del uso de paricalcitol fue independiente a los valores de PTHi. A pesar de estos resultados, es preciso aclarar que los pacientes con niveles de PTHi < 100 pg/ml, presentan de forma habitual estados de desnutrición importantes, que es uno de los principales determinantes para precisar mayores necesidades de AEE y por otro lado, las menores necesidades de AEE se observaron en aquellos pacientes con dosis

semanales de paricalcitol semanal > 30 μg. Estas dosis pueden considerarse elevadas, y se acompañaron de unos niveles medios de calcio plasmático de 9,8 mg/dl y un producto calcio fósforo de 69.5 mg^2/dl^2, niveles no aceptados como adecuados por las guías K-DIGO. Por otro lado en aquellos pacientes con niveles disminuidos de PTHi, presentaron unas concentraciones inferiores de albúmina plasmática y superiores de aluminio, siendo ambos factores determinantes de una peor respuesta a EPO, sugiriendo de nuevo el papel predominante de la acción sobre el HPT2.

- *Caupano et al.* (167) informaron el beneficio en las necesidades de AEE tras el cambio desde calcitriol a paricalcitol en un estudio observacional con 12 pacientes. Se apreció una disminución de necesidades de AEE al recibir paricalcitol y los niveles de PTHi disminuyeron casi un 50% durante el uso de paricalcitol. Esto se asoció a una elevación de los niveles de calcio en plasma posiblemente como consecuencia de las dosis utilizadas. En un estudio "*head to head*", diseñado para evaluar potenciales diferencias entre el calcitriol y el paricalcitol en el control del HPT2 en pacientes con ERC no en diálisis, no se apreciaron diferencias significativas (168).

JUSTIFICACIÓN DE LA REALIZACIÓN DE LA TESIS DOCTORAL

- La presencia del síndrome anémico en los pacientes con ERC y las alteraciones óseo-minerales afectan a la práctica totalidad de los pacientes en diálisis.
- Existen abundante literatura científica que avala la presencia de mecanismos etiopatogénicos comunes entre el síndrome anémico y las alteraciones óseo-minerales.
- El déficit de vitamina D, se asocia con un efecto deletéreo sobre las concentraciones de Hb plasmática en pacientes con ERC.
- La administración de vitamina D y sus análogos sintéticos se ha relacionado en estudios observacionales con una mejoría en la respuesta eritropoyética en pacientes con anemia renal que precisan de AEE. Debido a que el tratamiento de las AOM-ERC y del hiperparatiroidismo secundario (HPTS) se basa en el uso de análogos de vitamina D, su empleo con esta indicación podría asociarse con un beneficio añadido sobre la función hematopoyética en los pacientes en diálisis.
- La activación del RVD puede actuar directamente sobre la diferenciación eritroblástica y la proliferación de los hematíes. Asimismo, la regulación a la baja de genes proinflamatorios sobreexpresados en la ERC, mediante la activación del RVD, hipotéticamente podría resultar en una mejor respuesta a eritropoyetina y a la utilización del hierro en estos pacientes.
- El paricalcitol, agonista selectivo del RVD, ha demostrado su eficacia en la activación del mismo y una menor absorción intestinal de calcio en

comparación con calcitriol, lo que permite explorar de forma más segura los efectos pleiotrópicos actualmente atribuidos a la estimulación de este receptor.

- La evidencia actual sugiere que el déficit de eritropoyetina podría ser un factor relativo y no el factor esencial en el desarrollo de la anemia en los pacientes con ERC incluso en fases avanzadas.

Por lo tanto, evaluar la potencial interacción entre el sistema de la vitamina D y la respuesta eritropoyética y profundizar en el conocimiento de los mecanismos implicados en una mejor respuesta al tratamiento con agentes estimuladores de la eritropoyesis en los pacientes en hemodiálisis, conllevaría un mejor entendimiento de la fisiopatogenia de la anemia de características inflamatorias, a una posible reducción de dosis de AEE, y de la suplementación con Fe, con la consiguiente disminución de los riesgos derivados de su utilización y de los costes que éstos generan.

II. OBJETIVOS

- **OBJETIVO PRIMARIO:**

  Evaluar la influencia de los metabolitos de la vitamina D (25 VD y 1,25 VD), en la respuesta eritropoyética de pacientes en hemodiálisis en tratamiento con dosis estables de agentes estimuladores de la eritropoyesis y la influencia de la utilización del activador selectivo del receptor de vitamina D (paricalcitol) pautado bajo la indicación de prevención y tratamiento del HPTS asociado con fallo renal crónico en pacientes sometidos a hemodiálisis.

- **OBJETIVO SECUNDARIO:**

  Determinar el rango de dosis de paricalcitol asociado con la necesidad de menores dosis de necesidad de AEE, pautados para mantener adecuados niveles de hemoglobina plasmática y evaluar las posibles diferencias frente a la utilización de calcitriol en las necesidades de AEE, ambos análogos de vitamina D, indicados para el control del HPT2 en pacientes en hemodiálisis crónica.

III. MATERIAL Y MÉTODOS

METODOLOGÍA

Para la consecución de los diferentes objetivos planteados en la presente tesis doctoral se diseñaron 3 tipos de estudio:

DISEÑOS DE ESTUDIO:

Diseño 1

Análisis post-hoc de ensayo clínico aleatorizado, abierto, de ramas paralelas y con control activo cuyo objetivo principal fue evaluar la eficacia en la estabilidad de la hemoglobina entre dos AEE (epoetina-β y la metoxi-polietilenglicol epoetina-β) [estudio MIR-EPO (EudraCT: 2009-015511-40-ES)] en el que se incluyeron 31 pacientes con ERC en hemodiálisis crónica. Este estudio se utilizó para el análisis de la influencia de las concentraciones de metabolitos de la vitamina D y factores relacionados con el desarrollo de anemia y respuesta a AEE, así como el papel del uso de paricalcitol sobre la respuesta eritropoyética y los mecanismos fisiopatológicos asociados al síndrome anémico de origen renal.

Diseño 2

Estudio observacional de corte transversal en 58 pacientes con ERC en hemodiálisis en los que se evaluó la relación entre las dosis de AEE (epoetina-β) y las dosis de paricalcitol asociadas a unos niveles óptimos de hemoglobina plasmática según recomendaciones de guías clínicas.

Diseño 3

Estudio observacional de corte transversal diseñado para evaluar el efecto de dos análogos diferentes de vitamina D (paricalcitol y calcitriol) sobre las necesidades de AEE (epoetina-β) en 183 pacientes con fallo renal crónico en hemodiálisis.

Población del estudio

Los pacientes incluidos en los estudios son pacientes prevalentes con ERC en programa de tratamiento sustitutivo renal mediante hemodiálisis crónica. Todos los pacientes eran mayores de 18 años de edad. Todos los pacientes se dializaban de forma regular 3 veces por semana. Todos los pacientes perteneces a unidades de diálisis de crónicos [Unidad de Diálisis Crónica del Hospital Universitario Son Espases (HUSE) y de la Unidad de Hemodiálisis Crónica de la Policlínica Miramar de Palma de Mallorca y a la Unidad de Hemodiálisis Crónica concertado a nuestro hospital NEFDIAL®].

A. DISEÑO 1: Análisis post-hoc de datos obtenidos del ensayo clínico MIR-EPO.

Este estudio tuvo como objetivo principal el determinar la diferencia media en los niveles de Hb y el grado de estabilización de la misma tras el cambio al activador continuo del receptor de eritropoyetina [*continuous erythropoietin receptor activator* (CERA)] (fármaco experimental) en pacientes en tratamiento previo con β-epoetina (control activo) mediante un diseño abierto, de ramas paralelas, aleatorizado mediante programa informático y no enmascarado (EudraCT: 2009-015511-40-ES). De los datos obtenidos en este estudio, se realizó un análisis *post-hoc* en que se evaluaron los niveles basales de 25 VD, 1,25 VD, parámetros del metabolismo férrico, dosis de suplementación de hierro, dosis de AEE, marcadores inflamatorios (VSG, PCR), parámetros nutricionales, niveles de ácido fólico y vitamina B_{12}, comorbilidades, tratamientos concomitantes, dosis de diálisis y tiempo en diálisis.

La duración completa del estudio fue de 6 meses, con un periodo de titulación de dosis de AEE del mes 0 al 3, y un periodo de evaluación del mes 3 al 6. La influencia del uso de paricalcitol en la respuesta eritropoyética en pacientes tratados con este aná-

logo sintético del receptor de vitamina D frente a no tratados con un ratio 3 (uso de paricalcitol): 1 (no uso de paricalcitol). En la fase de evaluación del estudio (del mes 3 al 6) se determinaron además de los parámetros analíticos habituales, los niveles y cambios a lo largo del periodo de seguimiento de otros factores potencialmente implicados en el desarrollo de la anemia de causa renal de características inflamatorias:

- Factores implicados en el desarrollo de la anemia inflamatoria:
    - Niveles plasmáticos de IL-6 (pg/ml).
    - Niveles plasmáticos de hepcidina (pg/ml).

- Marcadores asociados al desarrollo del hiperparatiroidismo secundario:
    - Niveles plasmáticos de α-klotho soluble (pg/ml).

- Marcadores asociados al metabolismo del eje de la vitamina D:
    - Concentraciones plasmáticas de 25 VD (ng/ml).
    - Concentraciones plasmáticas de 1,25VD (pg/ml).
    - Concentraciones plasmáticas de PTHi (pg/ml).

- Marcadores asociados a la eritropoyesis:
    - Concentraciones plasmáticas de eritropoyetina (mUI/ml).

Los depósitos corporales y disponibilidad del Fe para el proceso eritropoyético se evaluó mediante:

- Indice de saturación de trasnferrina (IST%). Se utilizó la siguiente fórmula:

IST % = (Fe [mg/dl] x 100) / (transferrina [mg/dl] x 1,41)

- Déficit total calculado corporal de hierro (DCCFe) según la fórmula de Williams:

Mg de Fe para tratamiento	**=**	**Mg de Fe para corregir anemia**	**+**	**Mg de Fe para completar depósitos**

Mg de Fe para corregir anemia = (Hb normal – Hb actual) * peso (kg) * 2,2

Donde:

- Hb normal: 16 g/dl.

Mg de hierro para completar los depósitos de hierro:

- 1000 mg en adultos hombres.
- 600 mg en adultos mujeres.

El cálculo de este parámetro se realizó utilizando la calculadora *on-line* proporcionada por la página oficial de la Sociedad Española de Nefrología (*http://www.senefro.org/)*

Todos los pacientes firmaron el consentimiento informado para su participación en el estudio previamente aprobado por el Comité de Ética de las Islas Baleares y por la Agencia Española del Medicamento y Productos Sanitarios.

La cronología del estudio

El ensayo clínico MIR –EPO, se realizó a lo largo de las siguientes fechas:

- Aprobación protocolo por el CEIC de las Islas Baleares: 22/07/2009.
- Aprobación protocolo versión por la AEMPS: Versión 2: 20/1/2010.
- Inicio del estudio: 24 de octubre de 2011.
- Inicio de Período de inclusión: 06/7/2011.
- Finalización de reclutamiento de los pacientes: 22/11/2011.
- Notificación de fin del ensayo a la AEMPS y CEIC: 30/10/2012.

Criterios de inclusión en el estudio

- Pacientes ≥ 18 años de edad.
- Hemodiálisis con el mismo tipo de filtro durante los 3 meses previos a la inclusión en el estudio
- KT/V ≥ 1,2 (según técnica de Dauguirdas-2ª generación).
- Concentración de Hb plasmática entre 10,5 y 12,0 g/dl al menos durante las 12 semanas previas a la inclusión en el estudio.

- Tratamiento previo con dosis estables de EPO epoetina-β) +/- 1000 UI durante las 12 semanas previas al inicio del estudio.
- IST% ≥ 20% y concentraciones séricas de ferritina >100 ng/ml.

Criterios de exclusión del estudio

- Insuficiencia cardiaca grado IV (NYHA).
- Episodio de sangrado activo o antecedente de transfusión previo al inicio del estudio.
- Causas no renales de anemia.
- Neoplasias.
- Déficit de ácido fólico o vitamina B_{12}.
- Hemoglobinopatías.
- Hemólisis.
- Aplasia pura de serie roja secundaria a eritropoyetina.
- Infección aguda o crónica o enfermedad inflamatoria sintomática o no controlada.
- Hipertensión arterial (HTA) pobremente controlada que precise la suspensión del tratamiento EPO humana recombinante (EPOrh).
- Tratamiento concomitante inmunosupresor con Hb no controlada. trombocitopatías y/o aplasia medular.

Protocolo de ajuste de las dosis de AEE

La dosificación de AEE se evaluó mediante la determinación de hematimetría con una periodicidad mensual en ambos grupos de tratamiento, procediendo al ajuste de las dosis de AEE según protocolo a las 4 semanas del inicio de tratamiento o previamente si clínica o analíticamente fuera necesario, prolongando el periodo de estudio durante 24 semanas.

Se incrementó la dosis de AEE según los siguientes parámetros:

- Un 25% si se producía un descenso de Hb < 2,0 g/dL ó si Hb ≥ 9,0 y < 11,0 g/dL.

- Un 50% si se producía un descenso de Hb ≥ 2,0 g/dL ó si Hb es < 9,0 g/dL.

Se disminuyó la dosis de AEE según los siguientes parámetros:

- Un 25% si se producía un aumento de Hb ≥ 1,0 g/dL ó si las concentraciones de Hb estaban entre 12,0 y 13,0 g/dL.
- Un 50% si se producía un aumento de Hb > 2,0 g/dL.

Se procedió a la suspensión temporal durante un mes y se reintrodujo disminuyendo un 25% la menor dosis administrada de AEE si la Hb > 14,0 g/dl.

La administración de los suplementos hierro se realizó siempre por vía intravenosa y con el objetivo de mantener el IST% > 20%. Se utilizó Venofer® (hierro sacarosa ampollas de 5ml, 20 mg/ml) para la suplementación de hierro durante la sesión de diálisis.

La administración de suplementos de calcifediol se realizó mediante la administración de Hidroferol ® (calcifediol ampollas 0,266mg = 15.960 UI calcifediol) administrada en la unidad de diálisis bajo supervisión de enfermería.

La administración de Zemplar ® (paricalcitol ampollas de 5 μg/ml, ampolla de 1 ml), se administró según práctica clínica habitual.

Determinaciones analíticas

3.1. Variables evaluadas:

- Sexo.
- Edad.
- Tiempo en hemodiálisis.
- Tipo de acceso vascular para diálisis: Fístula arteriovenosa (autóloga o protésica) o catéter tunelizado.
- Etiología de la nefropatía.
- Presencia de diabetes mellitus y grado de control de la misma determinado mediante HbA_{1c} en el momento de inclusión en el estudio.
- Concentración de Hb basal e IST%.

- Marcadores nutricionales: albúmina, pre-albúmina.
- Concentraciones séricas de proteína C reactiva o PCR ultrasensible (PCRus) si su determinación basal fuera < 10 mg/l.
- Concentraciones plasmáticas de vitamina B_{12} y ácido fólico.
- Necesidades mensuales de suplementos de hierro.
- Concentraciones plasmáticas de calcio total, fósforo, 25 VD y 1,25 VD y PTHi.
- Concentraciones de anticuerpos anti-EPOrh y anticuerpos anti- CE-RA.
- Niveles plasmáticos de aldosterona y de actividad de renina plasmática.

3.2. Calendario de extracciones:

Las extracciones fueron las habituales en práctica clínica, exceptuando los niveles de anticuerpos anti-EPO y anti CERA, y las muestras de suero y plasma para archivo. El cronograma se muestras en la **Tabla 7:**

1. IST%, albúmina, pre-albúmina, calcio plasmático, fósforo sérico, PTHi. 25 VD y 1,25VD: Mensual.
2. Vitamina B_{12} y ácido Fólico: Mensual.
3. Anticuerpos anti-EPOrh o anti-CERA.
    - Al principio del estudio.
    - Al mes de iniciar tratamiento con C.E.R.A®.
    - A partir del primer mes a todos los que precisen aumentos de dosis.
    - Al final del estudio.
4. Hb plasmática: Bisemanal.
5. Actividad de renina plasmática y aldosterona plasmática: Mensual.
6. PCR/PCRus: Mensual.
7. Se extrajo una muestra de suero y plasma para almacenarlas congeladas (-80ºC) en un archivo de muestras en cada extracción mensual hasta su ulterior utilización.

Tabla 7. Cronograma de extracciones. Estudio MIR-EPO.

Periodo de estudio	Periodo de selección	Periodo de evaluación																							
		Semanas																							
		1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17	18	19	20	21	22	23	24
Consentimiento informado	X																								
Historia clínica	X																								
Exploración física	X																								
Patrón Hematológico	X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X		X
Marcadores de inflamación	X				X				X				X				X				X				X
Serologías	X																								
Lipidograma	X				X				X				X				X				X				X
Perfil nutricional	X				X				X				X				X				X				X
Ferrocinética	X				X				X				X				X				X				X
Metabolismo calcio-fósforo	X				X				X				X				X				X				X
Parámetros de diálisis	X				X				X				X				X				X				X
Estudio hormonal	X				X				X				X				X				X				X
Determinaciones de anticuerpos anti-EPO	X				X				X				X				X				X				X

EPO, eritropoyetina.

Tipos de ensayo

- *Hb plasmática*: La determinación de la hemoglobina se realizó de forma mensual previamente a la sesión de diálisis y el día correspondiente a mitad de semana. El análisis de las muestras se llevó a cabo mediante citometría de flujo en el laboratorio central del laboratorio de hematología utilizando el autoanalizador CELL-DYN Sapphire (Abbott Diagnostics®, Abbott Laboratorios, Abbott Park, Illinois, USA).
- *HbA_{1c}*: Cromatografía líquida de alta resolución (HPLC).
- *PCR*, *PCRus*: Inmunoturbidimetria.
- *Albúmina* y *prealbúmina*: Inmunoturbidimetría.
- *PTHi*: Inmunoensayo heterogéneo quimioluminiscente.
- *Vitamina B_{12}* y *ácido fólico*: Inmunoensayo heterogéneo quimioluminiscente.
- *25 VD D* y *1-25VD*: Radioinmunoensayo.
- *Actividad de renina plasmática* y *aldosterona plasmática*: Radioinmunoensayo.
- *Anticuerpos anti-EPO* y *anti-CERA*: Radioinmunoprecipitación.

Todas las muestras de sangre fueron analizadas en el laboratorio central del HUSE, empleando la metodología realizada en la práctica clínica habitual.

Determinación y tipos de ensayo de marcadores no utilizados en práctica clínica habitual

Se realizaron en el laboratorio central del Hospital Universitario Son Espases.

- *Klotho*: Human Soluble α-Klotho Assay Kit – IBL. ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)* tipo sandwich usando dos tipos de anticuerpos de alta especificidad Anti-Human Klotho (67G3 y 91F1). Utilizando el TeTra MeltilBenzidina (TMB) como agente cromógeno.

- *Hepcidina*: DGR Hepcidin Prohormone ELISA kit. ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)* de tipo competitivo con anticuerpos anti Pro-Hepcidina (policlonal).
- *IL-6*: Quantikine ELISA Human IL-6 inmmunoassay. ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)* tipo sandwich usando anticuerpos específicos para IL-6 monoclonales de ratón y policlonales.
- *FGF-23*: Human Intact FGF-23 Elisa kit inmmutopics. ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)* tipo sandwich "DAS" (Double Antibody Sandwich) con anticuerpos policlonales.
- *Eritropoyetina*: Quantikine IVD ELISA Human Erythropoietin Immunoassay. ELISA (*Enzyme-Linked ImmunoSorbent Assay)* tipo sandwich "DAS" (Double Antibody Sandwich) con anticuerpos monoclonales de ratón y policlonales de conejo contra eritropoyetina recombinante humana.

Las muestras utilizadas para la determinación de marcadores no utilizados en la práctica clínica habitual fueron obtenidas de suero y plasma de archivo almacenadas en el Biobanco del HUSE siguiendo un protocolo consensuado con el personal del mismo y que se describe textualmente a continuación:

PROTOCOLO DE ACTUACIÓN DEL BIOBANCO EN EL ESTUDIO MIR-EPO

BioBanc Hospital Universitari Son Espases	**Código**: PNT/BB/PA/000.01	**nº páginas**: 2
Redactado	**Revisado**	**Aprobado**
Rocío Guevara Responsable de Gestión		
02/02/2012	00/00/2000	00/00/2000

1. Contacto con el paciente en Servicio de diálisis.
2. Información al paciente sobre la utilización de sus datos y muestras biológicas para investigación y almacenamiento en el Biobanco. Firma del consentimiento informado del Biobanco.
3. Extracción de sangre y anotación de la hora exacta de la extracción. Mantener las muestras en todo momento en agua-hielo (4ºC) hasta el comienzo de su procesado.
4. El Servicio de nefrología avisará con antelación al biobanco para acordar en cada caso el transporte de las muestras (lo más rápidamente posible) hasta el biobanco: 2 tubos vacutainer de suero (tapón rojo) por donante:
5. Recepción y procesamiento de las muestras de sangre en el laboratorio del biobanco.
6. Registro de la fecha de recepción de muestra en la hoja de control paciente-extracción.
7. Alícuotas generados 5 Eppendorf de suero.
8. Codificación y almacenamiento en el congelador del biobanco a -80ºC: 3 donantes por caja
   - Etiquetado caja: MIR-EPO

   Código donante 1º

   Código donante 2º

   Código donante 3º
   - Etiquetado Eppendorf: nº paciente, nº extracción, tipo de alícuota: S (suero).
   - Organización de los Eppendorf en la caja:
   - Localización de las cajas en congelador:

     Congelador 3 (-80ºC)

     Arcón X

     Columna X
9. Registro en la aplicación Bio-e-bank.

Los pacientes fueron preseleccionados entre los meses de mayo a octubre de 2011.

En este estudio se evaluaron 179 pacientes de las unidades de diálisis de crónicos del Hospital Universitario y de la unidad de diálisis de crónicos del centro hospitalario Policlínica Miramar.

Se excluyeron 141 por no cumplir los criterios de inclusión o presentar criterios de exclusión. Se incluyeron 38 pacientes, siendo éxitus 1 de ellos el día previo a la aleatorización. De los 37 pacientes incluidos 31 finalizaron el ensayo **(Figura 8).**

FLUJO DEL ESTUDIO

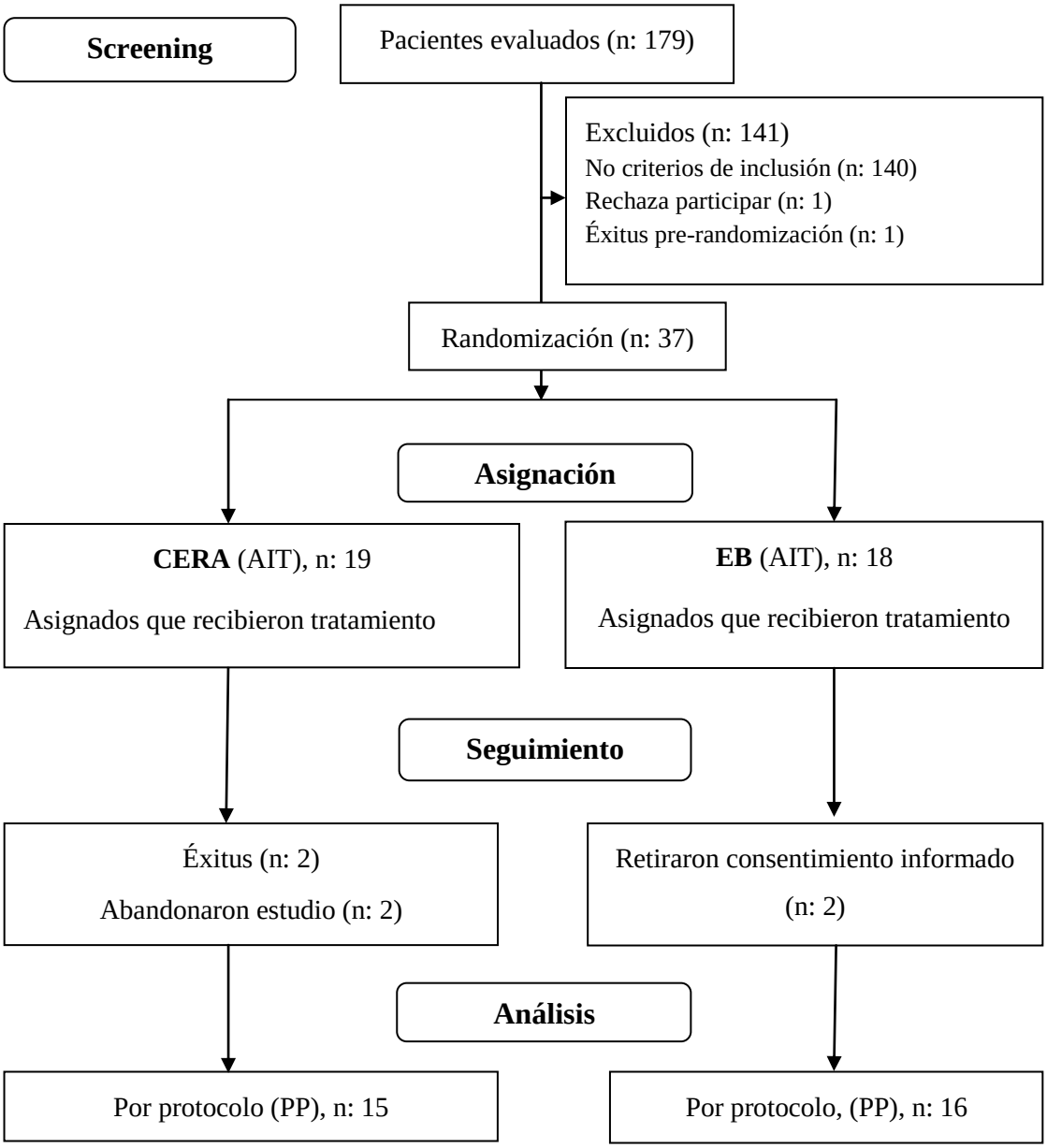


Figura 8. Diagrama de flujo del estudio MIR-EPO. AIT, análisis por intención de tratar; PP, por protocolo.

El análisis de los pacientes incluidos en el ensayo fue por protocolo (PP), descartándose en la elaboración de esta tesis la posibilidad de realizar un análisis por intención de tratar (AIT), esto estuvo motivado porque se asumió que era factible que los niveles de 25 VD, 1,25 VD y los de PTHi pudieran mostrar variaciones asociadas a la estación de año y sesgar en parte los resultados.

B. DISEÑO 2: Estudio de corte transversal unicéntrico.

Estudio observacional de corte trasversal en el que se evaluaron 58 pacientes con ERC en hemodiálisis pertenecientes a la unidad de crónicos del Hospital Universitario Son Espases. Se analizaron todos los pacientes de la unidad. Los datos se obtuvieron de las historias clínicas de los pacientes. Aquellos pacientes incidentes en diálisis fueron excluidos del análisis. Este estudio estuvo diseñad para evaluar la distribución de las dosis crecientes de paricalcitol asociado a las dosis de AEE (epoetina- β) asociados a unos adecuados niveles de Hb plasmática.

Los criterios de inclusión fueron:

- Edad mayor de 18 años.
- Hemodiálisis en 3 ocasiones por semana.
- Adecuado perfil ferrocinético para una buena respuesta eritropoyética:
    - IST $\geq$ 20 % y/o
    - Ferritina $\geq$ 100 ng/ml.
    - Uso de epoetina-β como agente estimulador de la eritropoyesis.

Se consideraron niveles adecuados de Hb aquellos comprendidos entre 10.0 y 12.0 g/dl

Se determinaron los **variables críticas** relacionadas con la anemia renal.

- Edad años
- Sexo hombre/mujer

- Hb g/dl.
- Índice restauración de transferrina porcentual IST %.
- Ferritina ng/ml.
- Fe sérico: pg/ml
- Dosis de epoetina-β: UI/semana.
- Dosis de paricalcitol. μg/semana.
- Dosis de suplementos de hierro mg/mes.

La administración de los suplementos hierro utilizados fue el Venofer® (hierro sacarosa ampollas de 5ml, 20 mg/ml) para la suplementación de hierro intravenoso.

La administración de Zemplar ® (paricalcitol ampollas de 5 μg/ml, ampolla de 1 ml), se administró según práctica clínica habitual.

La recogida de datos se llevó a cabo en el mes de junio de 2013.

C. DISEÑO 3: Estudio de corte transversal multicéntrico.

Estudio observacional de corte transversal diseñado para evaluar posibles diferencias en las necesidades de AEE (epoetina-β) en pacientes en tratamiento con calcitriol o paricalcitol, ambos usados en el tratamiento del hiperparatiroidismo secundario según práctica clínica habitual.

Se evaluaron todos los pacientes con ERC en hemodiálisis pertenecientes a la unidad de crónicos del Hospital Universitario Son Espases (n = 58), a la unidad de diálisis de crónicos del centro Hospitalario Policlínica Miramar (n = 62) y la unidad de diálisis de crónicos del centro concertado NEFDIAL® (n = 63).

Se analizaron todos los pacientes de las 3 unidades. Los datos se obtuvieron de las historias clínicas de los pacientes. Aquellos pacientes incidentes en diálisis fueron excluidos del análisis. Este estudio estuvo diseñado para evaluar posibles diferencias en las necesidades de AEE (epoetina-β) en pacientes en tratamiento con calcitriol o paricalcitol, ambos usados en el tratamiento del hiperparatiroidismo secundario según práctica clínica habitual.

Los criterios de inclusión fueron:

- Edad mayor de 18 años.
- Hemodiálisis en 3 ocasiones por semana.
- Adecuado perfil ferrocinético para una buena respuesta eritropoyética:
    - IST $\geq$ 20 % y/o
    - Ferritina $\geq$ 100 ng/ml.
    - Uso de epoetina-β como agente estimulador de la eritropoyesis.
    - Hemodiálisis convencional.

Se consideraron niveles adecuados de Hb aquellos comprendidos entre 10.0 y 12.0 g/dl

Se determinaron los **variables críticas** relacionadas con la anemia renal.

- Edad: años
- Sexo: hombre/mujer
- Hb: g/dl.
- Índice de saturación de transferrina porcentual: IST%.
- Ferritina: ng/ml.
- Fe sérico: μg/ml
- Dosis de epoetina-β: UI/semana.
- Dosis de paricalcitol: μg/semana.
- Dosis de suplementos de hierro mg/mes.

La administración de los suplementos hierro utilizados fue el Venofer® (hierro sacarosa ampollas de 5ml, 20 mg/ml) para la suplementación de hierro intravenoso.

La administración de Zemplar ® (paricalcitol ampollas de 5 mg/ml, ampolla de 1 ml), se administró según práctica clínica habitual.

La recogida de datos se llevó a cabo en los meses de mayo a junio de 2013.

La elección del uso de paricalcitol o de calcitriol para el control del hiperparatiroidismo secundario de los pacientes, fue realizado a criterio médico exclusivamente. A priori desconocemos los factores que pudieron haber podido influir en la elección de uno u otro análogo de vitamina D; sin embargo la ausencia de estudios aleatorizados con un nivel de potencia estadística adecuados ***head to head*** (paricalcitol versus calcitriol) hacen improbable que el uso de uno u otro fármaco hubiese sido determinado por una situación clínica de base, considerando que la experiencia acumulada en la utilización de un tipo de fármaco y el factor económico pudieron influir en la indicación del tipo de análogo de vitamina D.

ANÁLISIS ESTADÍSTICO

Los resultados obtenidos se presentan en forma de media ± DE, mediana (p25-p75), media (IC95%) o porcentajes según la distribución de las variables y se indica en el texto. Los cambios (Δ) a lo largo del estudio se refieren a la diferencia entre los meses 6 y 0. Los cambios en el periodo de evaluación se refieren a la diferencia (Δ) entre el mes 6 y el mes 3. Debido a que en el estudio MIR-EPO se utilizaron 2 tipos diferentes de AEEs (Epoetina-β y CERA), con el objetivo de homogenizar el resultado en cuanto a las necesidades de estos fármacos, se realizó una transformación de las dosis de AEEs a sus valores porcentuales, correspondiendo el 100% de dosis al momento cero (Mes 0). Del mismo modo, se definió las dosis de AEE como Dosis Diaria Definida (DDD) mediante el uso de los factores de conversión propuestos por la OMS (http://www.whocc.no/atcddd).

La comparación entre variables cuantitativas basalmente en el diseño prospectivo y de corte transversal se realizó mediante la prueba t de Student o *U* de Mann Whitney según su distribución. Para la comparación de variables cualitativas se utilizó la prueba χ^2 o prueba exacta de *Fisher*.

La comparación entre medias repetidas a lo largo del seguimiento en el diseño prospectivo se realizó mediante la prueba *t* de Student para muestras relacionadas o prueba de rangos y signos de Wilcoxon según la distribución de las variables.

Los cambios en las variables en las ramas del ensayo clínico a lo largo del estudio se analizaron mediante un modelo lineal general (MLG) para medidas repetidas previa transformación logarítmica o logarítmica+1 para asegurar una distribución normal de la muestra. Se evaluó la presencia de interacción entre los cambios de las variables analizadas a lo largo del tiempo en función de la presencia o no de un factor, ajustando el modelo por covariables significativas desde el punto de vista estadístico o clínico. En caso de no apreciarse significación estadística, se analizaron la significación estadística de los componentes principales. Se utilizó el parámetro Eta^2 parcial para determinar el tamaño del efecto en el análisis de varianza.

Para evaluar las posibles diferencias entre los cambios medios (Δ = M6 - M0) entre los 3 grupos diferentes se utilizó el análisis de varianza (ANOVA) o el test de Kruskal-Wallis según fuera preciso.

Se evaluó la presencia de asociación entre variables mediante análisis de correlación. Se utilizó la prueba de correlación de *Pearson* para evaluar los cambios a lo largo del tiempo entre dos variables con distribución normal o de *Spearman* para evaluar la asociación entre variables no normales o una variable continua y una de escala ordinal. En el caso de presentar el análisis de correlación significación estadística, se realizó un análisis de regresión para evaluar la capacidad predictiva de una variable respecto a otra. Se evaluaron también modelos no lineales para identificar el mejor modelo predictivo. Este análisis sólo se realizó en aquellas variables que facilitaran la comprensión de los resultados obtenidos en la presente tesis.

A pesar de ser el MLG para medidas repetidas de dos vías, robusto a las desviaciones de la normalidad, en el caso de no conseguir una adecuada distribución normalizada se utilizaron métodos no paramétricos o estimadores robustos en el caso que se consideró necesario.

Para la comparación múltiple entre pares de datos correlacionados se aplicó la corrección de Bonferroni.

Cálculo del tamaño muestral del estudio MIR-EPO:

Para el desarrollo del objetivo primario del ensayo , se realizó un cálculo *a priori* del tamaño muestral con la calculadora online proporcinada por el *Massachusetts General Hospital Mallinckrodt General Clinical Research Center* (http://hedwig.mgh.harvard.edu/sample_size/size.html), en el que se estimó que la inclusión en cada rama de seguimiento de 20 pacientes proporcionaría una probabilidad del 10% para detectar una diferencia entre tratamientos con un nivel de significancia del 5% a dos colas, si la diferencia media real observada respecto a las concentraciones basales de Hb tras la administración de ambos fármacos fuera de 0.022 g/dL, basándonos en datos previos publicados (Referencia: Sulowicz W et al. PROTOS STUDY. Clin J Am Soc Nephrol 2: 637-646, 2007).

El análisis estadístico se realizó con el paquete estadístico SPSS 21.0 para Windows. Los gráficos se realizaron utilizando el editor de gráficos del SPSS 21.0 para Windows o el programa Sigma Plot 10.0.

IV. RESULTADOS

DISEÑO 1:

ESTUDIO A: ESTUDIO MIR-EPO

De los 37 pacientes que fueron aleatorizados para el desarrollo del estudio MIR-EPO, se incluyeron en el análisis post-hoc 31 pacientes que fueron los que finalizaron el estudio y que correspondieron a los pacientes analizados por protocolo.

La inclusión de los pacientes se realizó en los meses de octubre y noviembre del año 2011, finalizando el estudio en los meses de mayo y junio del año 2012. Por lo tanto la inclusión de los pacientes tuvo lugar durante la época de otoño mientras que la finalización del estudio tuvo lugar en la época de primavera.

Con este grupo de pacientes controlados se realizó el análisis post-hoc según el siguiente diseño de la **Figura 9**.

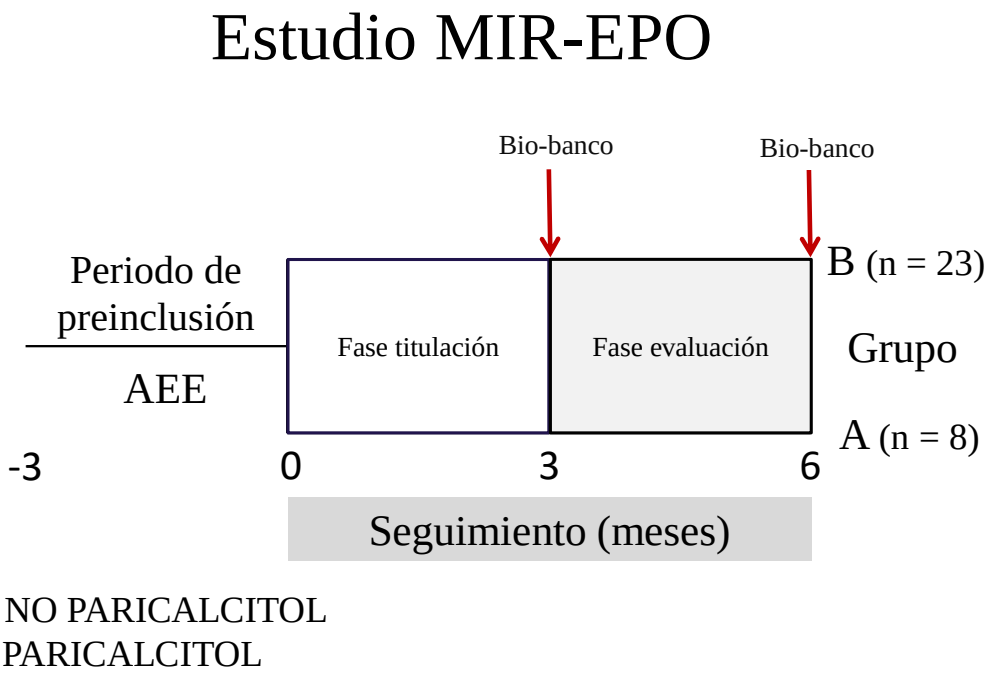


Figura 9. Evaluación de la influencia del uso de paricalcitol en la respuesta eritropoyética en pacientes tratados con el análogo sintético del receptor de vitamina D paricalcitol incluidos en el estudio MIR-EPO.

Las características basales de los pacientes incluidos en el presente estudio se muestran en la **Tabla 8.**

Tabla 8. Datos basales de estudio MIR-EPO.

N = 31	***Media***	**±**	***DE***	***Valor mínimo***	***Valor máximo***
Edad (años)	60	±	17	22	81
Sexo (V / M), n (%)	20 (64) / 11 (36)				
Tipo de nefropatía, n (%)					
Nefropatía diabética	7 (23)				
Nefroangioesclerosis	12 (38)				
Glomerulonefrítis	4 (13)				
Nefropatía intersticial	3 (10)				
No filiada	5 (16)				
Diabetes mellitus, n (%)	11 (31)				
HTA ,n(%)	28 (90)				
PAS (mmHg)	129	±	17	90	170
PAD (mmHg)	76	±	8	53	113
Peso (Kg)	77	±	21	43	140
Kt/v	1,5	±	0,2	1,2	2,2
Ac. fólico ng/ml	18	±	13	1,5	40
Vitamina B_{12} (pg/ml)	532	±	273	213	1.499
25 VD (ng/ml)	23	±	12	9	63
1,25 VD (pg/ml)	17	±	7	17	7
VSG (mm/h)	32	±	23	0	94
PCR (mg/dl)	1,7	±	2,7	0,0	9,7
P (mg/dl)	4,3	±	1,3	2,5	7,4
Ca x P (mg^2/dl^2)	38	±	12	21	71
Ferritina (ng/ml)	660 (390-914)			61	2.111
IST% (%)	28	±	9	20	57
PTHi (pg/ml)	272 (140-414)			24	735

Lo datos se presentan como media ± desviación estándar (DE), valor mínimo, valor máximo, mediana (p25-p75), números crudos (porcentajes).

Abreviaturas: Ca x P, producto calcio-fósforo; HTA, hipertensión arterial; Kt/v, dosis de diálisis; IST%, índice de saturación de transferrina; PAD, presión arterial diastólica; PAS, presión arterial sistólica; PTHi, parathormona intacta; P, fósforo; PCR, proteína C reactiva; 1,25 VD, 1,25 dihidroxicolecalciferol; 25 VD, 25 hidroxicolecalciferol; VSG, velocidad de sedimentación globular.

Los tratamientos concomitantes se muestran en la **Tabla 9**.

Tabla 9. Tratamiento concomitante en el estudio MIR-EPO.

Antihipertensivos	**n(%)**
IECA	4(13)
ARA 2	9(29)
Antoganistas de calcio	10(32)
Beta-bloqueante	8(26)
Diurético de asa	13(42)
Estatinas	12(39)
AOM-ERC	
Paricalcitol	23(74)
Calcifediol	17(55)
Paricalcitol y Calcifediol	15(48)
Cinalcalcet	10(32)
Suplementos de hierro	25(80)
Quelantes de fósfofo	
Acetato de calcio	12(38)
Sevelamer	1136)
Carbonato de Lantano	7(23)

Abreviaturas: AOM-ERC, alteraciones óseo minerales en la enfermedad renal crónica; ARA 2, antagonista del recptor de angiotensinógeno; IECA, inhibidor de la enzima convertidora de angiotensina.

Análisis de la evolución de las necesidades de AEE, suplementos de hierro y niveles de PTHi en el global de pacientes.

Los niveles de Hb plasmática en el global de pacientes se mantuvieron estables a lo largo de todo el estudio. Los valores medios en los meses 0, 3 y 6 fueron de 11,8 ± 0,8; 11,5 ± 1,4 y 11,5 ± 11,2 g/dl, respectivamente (F: 0,86; *P* = 0,43).

Del mismo modo las dosis globales de AEE (DDD/semana) fueron similares a lo largo de todo el estudio siendo los valores medios en los meses 0, 3 y 6 de 7,9 ± 3,5; 7,4 ± 4,8 y 7,4 ± 6,6 DDD/semana, respectivamente (F: 0,24; *P* = 0,78)

Los niveles de PTHi en el global de pacientes tampoco mostraron modificaciones significativas a lo largo del estudio, siendo sus valores medios en los meses 0, 3 y 6 (284 ± 166; 430 ± 369 y 313 ± 189 pg/ml, respectivamente (F: 2,7; *P* = 0,07).

Influencia en los niveles de 25 VD tras la suplementación con calcifediol.

Se evaluó la influencia de la administración continuada de calcifediol sobre los cambios en los niveles de 25 VD a lo largo del estudio. No existió interacción significativa entre la administración de calcifediol y los niveles de 25 VD a lo largo del estudio (F: 1,0; *P* = 0,36). Se apreció diferencias significativas en los niveles de 25 VD en aquellos que no recibieron calcifediol tanto en el mes 3 como en el mes 6 respecto a basal **(Figura 10)**, sin mostrar cambios significativos en aquellos que continuaron con suplementos de calcifediol. Los niveles medios de 25 VD durante el estudio, fueron superiores en aquellos que recibieron suplementación con calcifediol [media (IC95 %): 26 (22-30) ng/ml, respecto a aquellos que no lo recibieron 18 (13-22) ng/ml, *P* = 0,01].

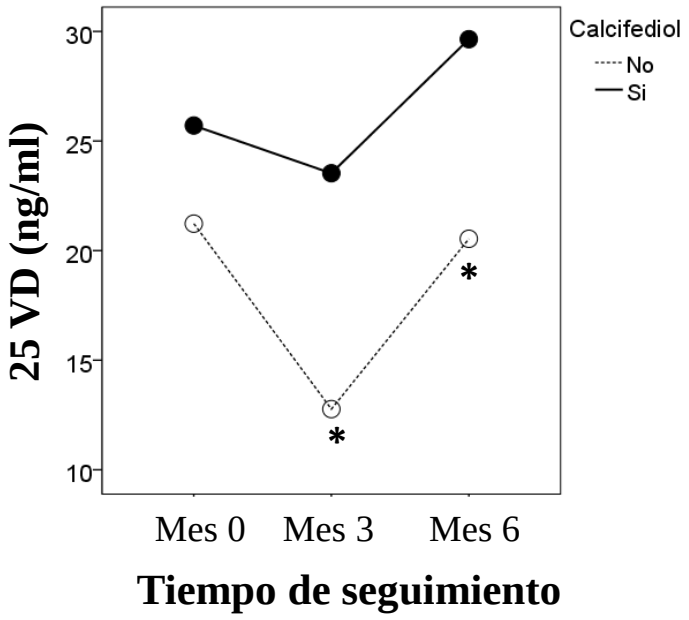


Figura 10. Evolución de los niveles de 25 VD en aquellos pacientes con (n = 17) o sin suplementación (n = 14) con calcifediol. MLG para medidas repetidas. ***** *P* < 0.05 respecto a basal.

A).Influencia de los niveles de 25 VD en la respuesta eritropoyética

Para determinar la influencia del metabolismo de los niveles de 25 VD evaluamos la asociación entre los cambios en los niveles de 25 VD y los cambios en los parámetros hematológicos y ferrocinéticos de los pacientes analizados. También se evaluaron las necesidades de AEE en aquellos pacientes con niveles de 25 VD ≥ 30 ng/ml al principio y al final del estudio.

A1. Asociación entre los cambios en los niveles de 25 VD y los parámetros hematológicos

Los niveles de 25 VD mostraron una discreta elevación al final del estudio respecto al principio aunque sin alcanzar la significación siendo los valores medios 24,2 ± 12 y 25,7 ± 12 ng/ml (t: -0,61, *P* = 0,54), respectivamente.

El análisis de correlación entre los cambios en los niveles de 25 VD y los parámetros hematológicos se muestra en la **Tabla 10.**

Tabla 10. Asociación entre los cambios en los niveles de 25 VD y los parámetros hematológicos.

	Δ 25 VD (ng/ml)	
	r/ρ	***P***
Δ Hb(g/dl)	-0,18	0,33
Δ Hto %	-0,07	0,68
Δ IDE %*	-0,01	0,93
Δ nº hematíes 10^6/mm^3	-0,18	0,33

r: coeficiente de correlación de *Pearson*; ρ: coeficiente de correlación de *Spearman* *
Abreviaturas: IDE, índice de distribución eritrocitario; Hb, hemoglobina plasmática; Hto, hematocrito.

A2. Asociación entre los cambios en los niveles de 25 VD y los parámetros del metabolismo ferrocinético

La asociación entre los cambios en los niveles de 25 VD y los parámetros del metabolismo férrico se muestra en la **Tabla 11**.

Tabla 11. Asociación entre los cambios en los niveles de 25 VD y los parámetros del metabolismo férrico.

	Δ 25 VD (ng/ml)	
	r/ρ	***P***
Δ Fe (μg/ml)	-0,10	0,59
Δ Ferritina (ng/ml)*	-0,61	<0,01
Δ IST%*	-0,03	0,85
Δ DCCFe (mg)	0,09	0,62

r: coeficiente de correlación de *Pearson*; ρ: coeficiente de correlación de *Spearman* *Abreviaturas: DCCFe, déficit calculado corporal de hierro (según método de *Williams*); Fe, hierro sérico; IST%, índice de saturación de transferrina.

A3. Asociación entre los cambios en los niveles de 25 VD, dosis de AEE y de suplementos de hierro i.v.

La asociación entre los cambios en los niveles de 25 VD, las necesidades de AEE y de suplementos de hierro i.v. se muestran en la **Tabla 12**.

Tabla 12. Asociación entre los cambios en los niveles de 25 VD y las necesidades de AEE y del suplementos de hierro i.v.

	Δ 25 VD (ng/ml)	
	ρ	***P***
Δ DDD*/semana	-0,07	0,69
Δ Suplementos de Fe i.v.*	-0,13	0,47

ρ: coeficiente de correlación de *Spearman* *Abreviaturas: DDD, dosis diaria definida.

A4. Asociación entre los niveles de 25 VD recomendados y las necesidades de AEE

Las dosis de AEE (DDD/semana) en aquellos con 25 VD ≥ 30 ng/dl fueron basalmente similares a aquellos con niveles inferiores a los recomendados; sin embargo aquellos que alcanzaron los niveles circulantes de 25VD recomendados al final del estudio, precisaron mayores DDD/semana [mediana (p25-p75): 10.0 (6,4-11,6) vs 3,5 (0-10) DDD/semana, *P* = 0,01] **(Figura 11**).

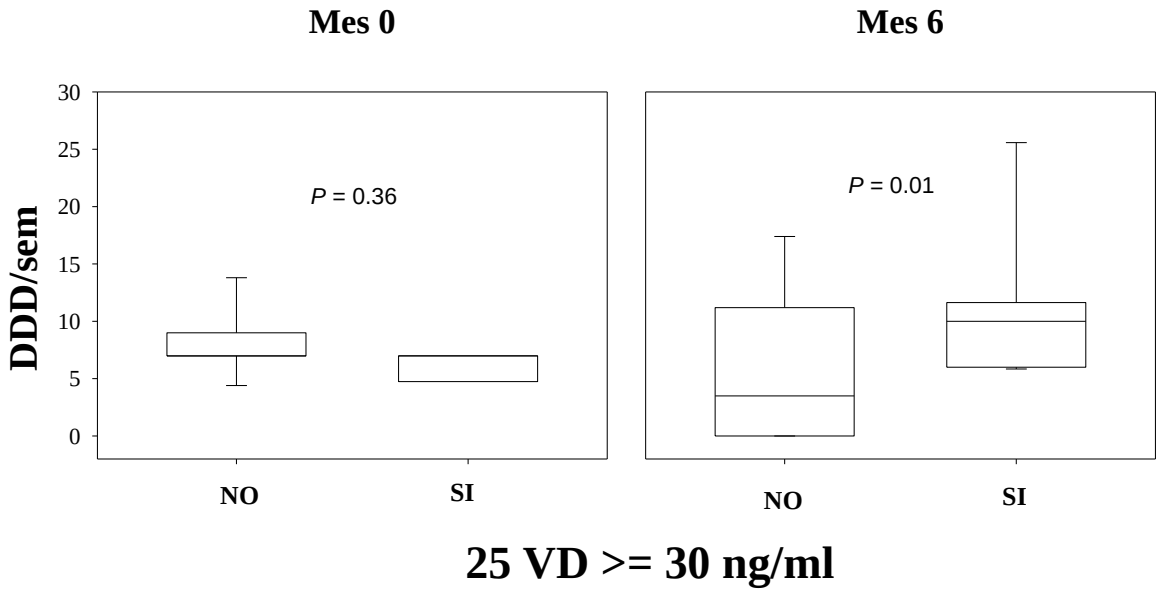


Figura 11. Necesidades de AEE en aquellos sujetos con niveles circulantes de 25 VD recomendados en el mes 0 y mes 6 del estudio. *DDD*: dosis diaria definida de AEE. Test: U de *Mann-Whitney.*

A5. Asociación entre los niveles de 25 VD recomendados y las necesidades de suplementos de hierro

Las dosis administradas de Fe i.v. en los pacientes con niveles recomendados de 25 VD respecto a aquellos con niveles circulantes < 30 ng/dl, fueron similares al principio del estudio [100 (100-200) versus 100 (100-100) mg/mes, Z: 1,29; *P* = 0,75, respectivamente] y al final del mismo [100 (0-200) vs 100 (25-100) mg/mes; Z = 0,18; *P* = 0,88].

A6. Efecto de la suplementación de 25 VD sobre el IST %

Existió una interacción significativa entre la evolución de los niveles del IST % y la administración de calcifediol (F: 3,7; *P* = 0,03; Eta^2 parcial: 0,20). En aquellos pacientes que no recibieron calcifediol, la evolución de los niveles del IST % fue similar a la de los niveles circulantes de 25 VD; sin embargo en aquellos tratados con calcifediol la evolución de los valores de IST % mostró una evolución inversa a sus niveles circulantes de 25 VD **(Figura 12).**

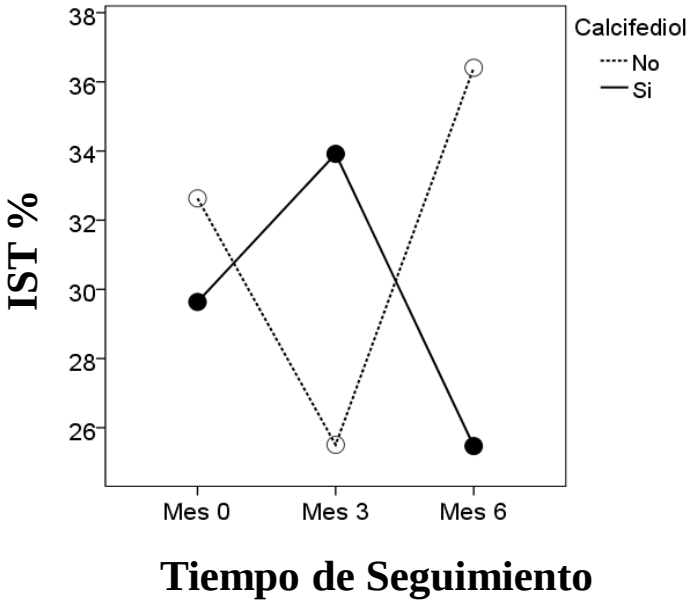


Figura 12. Evolución de los niveles del IST % en aquellos pacientes con (n = 17) o sin suplementación con calcifediol (n = 14). MLG para medidas repetidas.

En el análisis por pares, se apreció que en el mes 3 las diferencias media en el IST% entre aquellos con o sin calcifediol fueron de 8%, siendo esta diferencia casi significativas (*P* = 0.05).

A7. Influencia de los niveles de 25 VD sobre los niveles de 1,25 VD.

Existió una correlación directa y significativa entre los cambios observados en los niveles de 25 VD y los niveles de 1,25 VD **(Figura 13).**

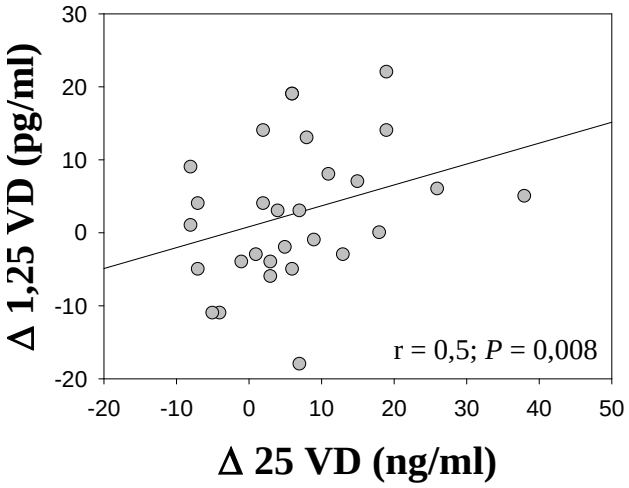


Figura 13. Asociación entre los cambios en los niveles de 25 VD y los cambios en los niveles de 1,25 VD. R: coeficiente de correlación de *Pearson.*

B).Influencia de los niveles de 1.25 VD en la respuesta eritropoyética

B1) Asociación entre los cambios en los niveles de 1,25 VD y los niveles de Hb.

Los cambios en los niveles de 1,25 VD mostraron una correlación inversa con los cambios apreciados en los valores de Hb plasmática **(Figura 14)**.

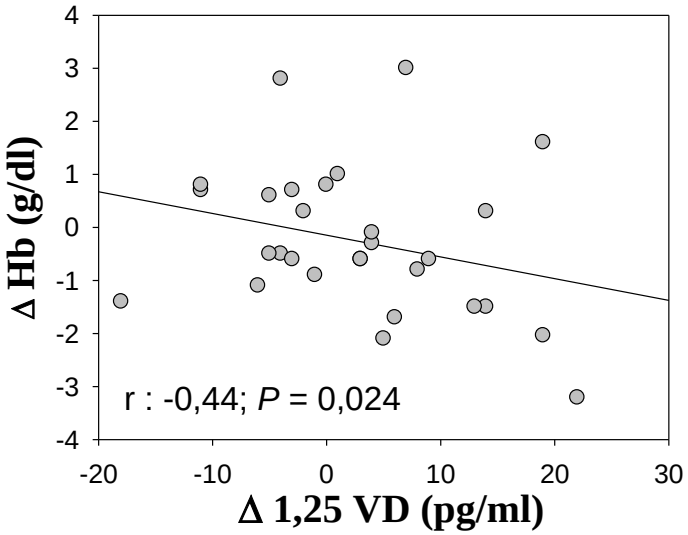


Figura 14. Asociación entre los cambios en los niveles de 1,25 VD y los niveles de hemoglobina plasmática. r: coeficiente de correlación de *Pearson.*

Se realizó además un análisis de regresión para determinar si los cambios en los niveles de 1,25 VD eran predictivos de los cambios en los niveles de Hb, apreciándose un modelo predictivo significativo (R^2 = 0,19; F: 5,7; *P* = 0,02). Un análisis no lineal (modelo cuadrático) mejoró la capacidad predictiva de los niveles de 1,25 VD sobre los cambios de Hb **(Figura 15)**.

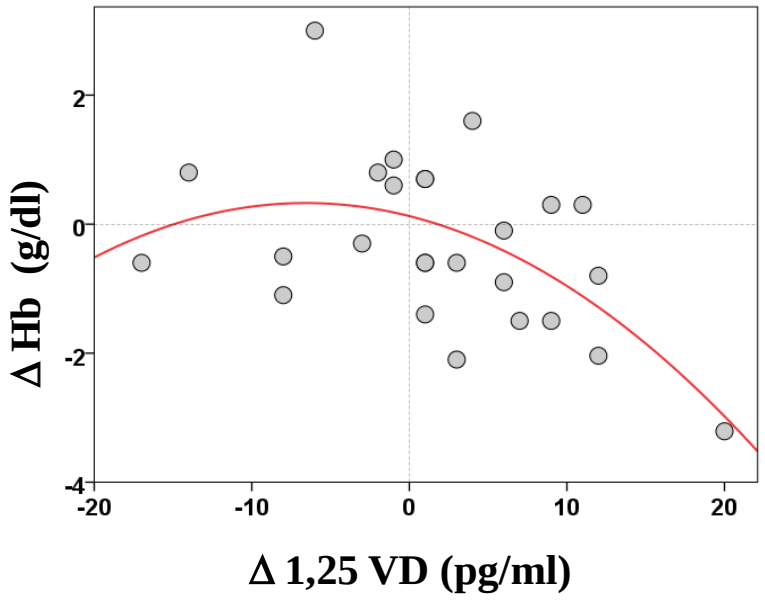


Figura 15. Análisis de regresión no lineal entre los cambios en los niveles de 1,25 VD y los cambios en los niveles de Hb (R^2: 0,31; F: 5,3; *P* = 0,01).

B2) Asociación entre los cambios en los niveles plasmáticos de la 1,25 VD respecto a los cambios en los parámetros hematológicos.

No se observó ninguna asociación significativa entre los cambios en niveles circulantes de 1,25 VD y otros parámetros hematológicos. **(Tabla 13)**

Tabla 13. Asociación entre los cambios en los niveles de 1,25 VD y los parámetros hematológicos.

	Δ 1,25 VD (pg/ml)	
	r/ρ	***P***
Δ Hto %	-0,33	0,09
Δ IDE %*	-0,11	0,52
Δ nº hematíes 10^6/mm^3	-0,32	0,10

r: coeficiente de correlación de *Pearson*; ρ: coeficiente de correlación de *Spearman*
**Abreviaturas: Hto, hematocrito; IDE, índice de distribución eritrocitario.*

B.3 Asociación entre los cambios en los niveles plasmáticos de la 1,25 VD respecto a los cambios en los parámetros del metabolismo férrico

La asociación entre los cambios en los niveles de 1,25 VD y los cambios en los parámetros de metabolismo férrico se muestran en la **Tabla 14**.

Tabla 14. Asociación entre los cambios en los niveles de 1,25 VD y los parámetros del metabolismo férrico.

	Δ 1,25 VD (pg/ml)	
	r/ρ	**P**
Δ Fe (μg/ml)	-0,14	0,46
Δ ferritina (ng/ml)*	-0,48	0,01
Δ IST (%)*	-0,27	0,17
Δ DCCFe (mg)	0,45	0,02

r: coeficiente de correlación de *Pearson*; ρ: coeficiente de correlación de *Spearman* * *DCCFe, déficit corporal calculado de hierro; Fe, hierro sérico; IST, índice de saturación de transferrina.*

B.4. Asociación entre los cambios en los niveles de 1,25 VD y las dosis de AEE y de suplementos de hierro i.v.

La asociación entre los cambios en los niveles de 1,25 VD y los cambios en los parámetros de metabolismo férrico se muestran en la Tabla 15.

Tabla 15. Asociación entre los cambios en los niveles de 1,25 VD y las necesidades de AEE y de suplementos de Fe i.v.

	Δ 1,25 VD (pg/ml)	
	ρ	***P***
Δ DDD/semana	-0,07	0,71
Δ Suplementos de Fe i.v.	-0,12	0,53

ρ: coeficiente de correlación de *Spearman; DDD: dosis diaria definida.*

C).Influencia de la activación selectiva del receptor de vitamina D (Paricalcitol) sobre la respuesta eritropoyética.

Se realizó un análisis de los datos basales comparando aquellos pacientes en tratamiento con paricalcitol (AEE + PRC) y sin tratamiento con paricalcitol (AEE). Se muestran los datos en la **Tabla 16.**

Tabla 16. Datos basales análisis post-hoc obtenido de los datos del ensayo MIR-EPO.

N = 31	**Grupo AEE (n = 8)**	**Grupo AEE + PRC (n = 23)**	***P***
Edad (años)	53 ± 18	62 ± 16	0,24
Tiempo en diálisis (meses)	28 (23 - 40)	32 (18 - 49)	0,58
IMC (Kg/m^2)	22 (20 - 31)	27 (24 - 33)	0,15
Hb (g/dl)	12,0 ± 0,9	11,7 ± 0,8	0,43
Kt/v	1,55 ± 0,2	1,55 ± 0,2	0,99
PCRn (g/Kg/día)	0.79 (0.7 – 1.1)	1 (0.8- 1.0)	0,29
IST%	30 (23-40)	26 (21 - 36)	0,41
Ferritina (ng/ml)	650 ± 373	873 ± 492	0,25
Fe (μg/dl)	66 (53 - 85)	71 (52 - 76)	0,84
Transferrina (mg/dl)	170 (133 –196)	156 (144 – 185)	0,80
VSG (mm/hora)	16 ± 11	38 ± 23	0,01
Colesterol total (mg/dl)	137 ± 59	144 ± 34	0,68
Albúmina (g/l)	39,3 ± 2,4	39,6 ± 3,8	0,85
25 VD (ng/ml)	27 ± 11	22 ± 12	0,30
Calcio (mg/dl)	8,6 ± 0,6	9,0 ± 0,6	0,13
P (mg/dl)	4,1 ± 1,0	4,4 ± 1,4	0,58
PTHi (pg/ml)	163 ± 127	327 ± 159	0,01
Ac. fólico (ng/ml)	17,8 ± 14	19,4 ± 13	0,76
Vitamina B_{12} (pg/ml)	487 (389 – 681)	417 (313 – 673)	0,56
Epoetina-β (UI/sem)	7.000 (3.250- 8.500)	5.000 (4.000-9.000)	1,00
Fe i.v (%)	7 (87)	18 (78)	1,00

Los datos se presentan como media ± DE, mediana (p25 - p75), y números crudos (porcentaje). Análisis según T-student o U de Mann-Whitney según fuera necesario.
Abreviaturas: AAE, agente estimulador de la eritropoyesis; IST%, índice de saturación de transferrina; Kt/v, dosis de diálisis; nPCR, tasa normalizada de catabolismo protéico; PTHi, parathormona intacta; PRC, paricalcitol; 25 VD, 25 hidroxicolecalciferol; VSG, velocidad de sedimentación globular.

Previamente a realizar el análisis de la influencia del paricalcitol en la respuesta eritropoyética se analizaron los factores reconocidos asociados a la respuesta a los AEE.

1. Influencia del uso de suplementos de hierro en las necesidades de AEE.

La utilización de suplementos i.v. de Fe desde el principio del estudio, se asoció a una disminución media (IC95%) en los requerimientos de AEE del 36 (5 - 66) %, (P = 0,02), en comparación a aquellos que no los recibieron o los recibieron de forma puntual.

2. Influencia de los niveles de parathormona intacta en las necesidades de AEE.

Se realizó un sub-análisis evaluando la influencia de los niveles de PTHi sobre las necesidades de AEE, suplementos de hierro y parámetros hematológicos y ferrocinéticos.

Los pacientes fueron estratificados según sus niveles basales de PTHi en tres grupos diferentes (A: iPTH < 150 pg/ml, B: 150 - 300 pg/ml y, C > 300 pg/ml). Se determinaron los cambios medios durante los 6 meses de seguimiento (Mes 6 – Mes 0) en cada grupo y se evaluó si esos cambios eran o no significativos.

Los datos basales de los pacientes en cada uno de los grupos se muestran en la **Tabla 17**.

Las comorbilidades y los tratamientos antiparatiroideos se muestran en la **Tabla 18.**

Tabla 17. Características basales en cada grupo de pacientes estratificados según sus niveles de PTHi.

	GrupoA (n = 9)	**Grupo B (n = 10)**	**Grupo C (n= 12)**	***P***
Edad (años)	64 ± 11	55 ± 13	60 ± 22	0,47
Tiempo en diálisis (meses)	26 (19-38)	38 (17-53)	34 (24-41)	0,73
Kt/V	1,6 ± 0,2	1,5 ± 0,2	1,54 ± 0,1	0,52
PCRn	0,79 (0,79-0,96)	1,01 (0,76-1,26)	0,96 (0,87-1,08)	0,42
VSG (mm/h)	19 (9-29)	35 (21-55)	26 (18-39)	0,20
Albúmina (g/l)	39 ± 3	38 ± 4	40 ± 3	0,24
Vitamina B_{12} (pg/ml)	572 ± 360	636 ± 253	405 ± 157	0,13
Folato (ng/ml)	19 ± 3	18 ± 15	19 ± 13	0,98
25 VD (ng/ml)	19 (15-31)	23 (11-33)	25 (14-27)	0,91
PTHi (pg/ml)	131 (72-138)	211 (245-279)	363 (424-540)	<0,01
Hb (g/dl)	12,0 ± 1.0	12,0 ± 0.9	11,5 ± 0.9	0,24
Fe (mcg/dl)	73 ± 41	65 ± 17	72 ± 26	0,80
Ferritina (ng/ml)	639 (473-936)	707 (309-1.255)	800 (547-1.178)	0,62
IST (%)	30 ± 18	30 ± 7	30 ± 14	0,99
Déficit calculado corporal de Fe	1366 ± 203	1530 ± 409	1738 ± 221	0,02
Epoetina-β (IU/semana)	8.000 (4.500-10.500)	4.000 (3.758-9.750)	5.000 (4.000-8.000)	0,55
IRE	8,7 (4,8-17,1)	6,6 (3,3-11,2)	4,3 (3,2-10,7)	0,55

Datos medias ± DE o mediana (P25-P75) según distribución de la variable. Abreviaturas: *AAE, agente estimulador de la eritropoyesi; Fe, hierro sérico*; *Hb, hemoglobina; IRE,* índice de resistencia a la eritropoyetina determinado como dosis de AEE semana ajustada por el peso (UI/Kg/semana) dividido por el peso; *IST %, índice de saturación de la transferrina; Kt/v, dosis de diálisis; nPCR, tasa normalizada de catabolismo protéico; PTHi, parathormona intacta; PRC, paricalcitol; 25 VD, 25 hidroxicolecalciferol; VSG, velocidad de sedimentación globular.*

Tabla 18. Comorbilidades y tratamiento antiparatiroideo en pacientes estratificados según sus niveles de PTHi.

	Grupo A (n = 9)	**Grupo B (n = 10)**	**Grupo C (n= 12)**	***P***
Comorbilidades				
Diabetes mellitus, n (%)	*3 (33)*	*4 (40)*	*3 (25)*	*0,75*
Hipertensión, n (%)	*8 (89)*	*9 (90)*	*11 (92)*	*0,97*
Dislipidemia, n (%)	*3 (33)*	*3 (30)*	*9 (75)*	*0,06*
Treatments				
Cinacalcet, n (%)	*1 (11)*	*1 (10)*	*8 (67)*	*<0,01*
Paricalcitol, n (%)	*4 (44)*	*8 (80)*	*11 (91)*	*0,04*

El análisis estratificado en función de los valores medios de PTHi mostró que en el Grupo A, las necesidades de Fe i.v. disminuyeron durante el seguimiento (M6 - M0: 77 ± 66 mg/mes, $P < 0{,}01$), mientras que no se apreciaron cambios significativos en el grupo B (20 ± 42 mg/mes, $P = 0{,}16$) ni en el grupo C (33 ± 115 mg/mes, $P = 0{,}33$). Los cambios en el grupo A fueron diferentes a los observados en el grupo C ($P < 0{,}01$) **(Figura 16).**

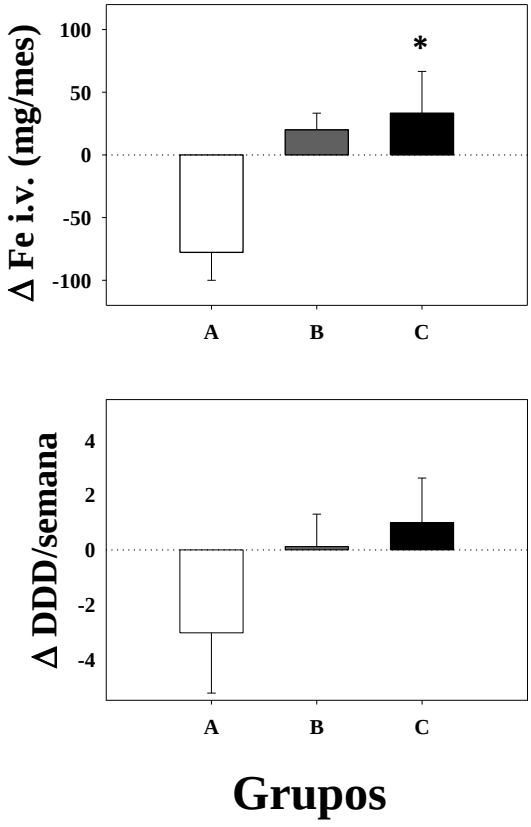


Figura 16. Evolución de los cambios medios en los suplementos de hierro i.v. administrados (panel superior) y en los cambios medios en las dosis de AEE (panel inferior) *$P < 0{,}05$ respecto al grupo A. Test de Kruskal-Wallis.

El IST% aumentó de forma significativa en el grupo A (mediana 2.4%, $P = 0.03$) mientras que disminuyó en el grupo C (mediana: 3.7%, $P = 0.02$), aunque los cambios entre ellos no mostraron diferencias significativas. Se observó cómo los niveles del índice de distribución eritrocitario (IDE), que es un marcador de anisocitosis y además indirecto de la anemia por déficit de hierro, aumentó de forma progresiva en relación a los mayores niveles de PTHi **(Figura 17)**.

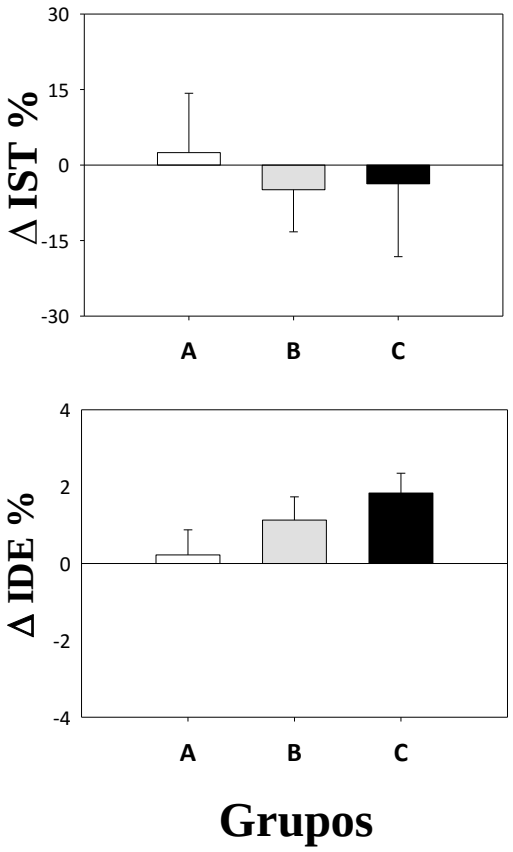


Figura 17. Asociación entre los cambios apreciados (mediana) en los niveles del IST% (panel superior) y en el Índice de Distribución Eritrocitaria (IDE) (panel inferior) en los diferentes grupos según los valores de PTHi. ANOVA.

C.1. Influencia del uso de paricalcitol en las necesidades de AEE

Previamente a evaluar la influencia del tratamiento con paricalcitol sobre la respuesta eritropoyética, se evaluaron los cambios en la Hb plasmática, en los niveles de PTHi, en las dosis de suplementos de Fe y los niveles de albúmina plasmática entre aquellos pacientes en tratamiento con AEE que recibieron paricalcitol (AEE + PRC) frente a aquellos que no recibieron paricalcitol (AEE), como potenciales factores que influyen las necesidades de AEE.

i) Evolución de los niveles de hemoglobina en aquellos pacientes que no recibieron paricalcitol frente a aquellos que si lo recibieron.

No se apreció efecto de interacción en la evolución de los niveles de Hb en relación a la utilización o no de paricalcitol (F: 0,6; P = 0,54). Los niveles medios de Hb durante el estudio fueron similares en el grupo AEE+ PRC respecto a aquellos que no

utilizaron AEE [media (IC95%) en grupo AEE + PRC: 11,6 (11,2-12,0) g/dl versus 11,6 (10,9-12,2) g/dl, (*P* = 0,97)].

En el análisis por grupos, la evolución de los niveles medios de Hb en aquellos que recibieron paricalcitol en los meses 0, 3 y 6 fueron: 11,7 ± 0,8; 11,6 ± 1,6 y 11,5 ± 1,3 respectivamente (F: 0,21; *P* = 0,80), mientras que en aquellos que no recibieron paricalcitol los valores medios fueron de 12,0 ± 0,9; 11,3 ± 0,9 y 11,5 ± 0,9 g/dl, respectivamente (F: 1,1; *P* = 0,36).

Se analizó el grado de estabilización de los cambios en la Hb en ambos grupos, apreciándose que en el grupo AEE + PRC los cambios en la Hb entre los meses 0-3 y 3-6 fueron de 0,1 y 0,1 g/dl; mientras que en el grupo AEE los cambios medios fueron de – 0,7 y 0,2 g/dl, respectivamente.

ii) Análisis de la evolución de las diferentes dosis medias de suplementos de hierro entre aquellos pacientes sin y con tratamiento con paricalcitol.

No se observaron cambios significativos en las dosis de Fe i.v. a lo largo del estudio, con unas dosis medias en los meses 0, 3 y 6 de siendo de 100 ± 63, 100 ± 93 y 96 ± 101 mg/mes (F: 0,20; *P* = 0,98). Tampoco se observó ninguna interacción significativa entre la dosis administradas y el recibir o no paricalcitol (F: 0,3; *P* = 0,89). El análisis por grupos mostró que en el grupo sin paricalcitol se precisaron en los meses 0, 3 y 6 las siguientes dosis: 112 ± 64, 75 ± 70 y 100 ± 130 mg/mes (F: 2,0; *P* = 0,20), mientras que la evolución en el grupo con paricalcitol fue de 96 ± 63, 108 ± 9 y 95 ± 92 mg/mes (F: 0,3; *P* = 0,71). Las dosis medias de suplementos de Fe i.v. administradas durante el estudio en aquellos sujetos no tratados con paricalcitol en comparación con aquellos tratados con paricalcitol fueron similares en ambos grupos [media (IC95%): 95 (44-147) versus 100 (69-130) mg/mes, (*P* = 0,88)].

iii) Evolución de los niveles de la hormona paratiroidea intacta (PTHi) en aquellos pacientes que no recibieron paricalcitol frente a aquellos que si lo recibieron.

No se observó efecto de interacción en la evolución de los niveles de PTHi en relación a la utilización o no de paricalcitol (F: 0,78; *P* = 0,46). Los niveles medios de PTHi durante el estudio fueron superiores en el grupo con paricalcitol respecto a aquellos que no utilizaron paricalcitol; pero esas diferencias no fueron significativas (media: IC95%: grupo con paricalcitol: 365 (283-446) pg/ml versus grupo sin paricalcitol

AEE: 278 (140-416) pg/ml, *P* = 0,27. En el análisis por grupos, los niveles de PTHi en el grupo en tratamiento con paricalcitol en los meses 0, 3 y 6 fueron de 327 ± 159; 432 ± 301 y 336 ± 188 pg/ml, respectivamente (F: 1,7; *P* = 0.20), mientras que en aquellos que no recibieron paricalcitol los niveles medios de PTHi fueron de 163 ± 127; 426 ± 548 y 246 ± 186 pg/ml, respectivamente (F: 3,2; *P* = 0,10).

iv) Evolución de los niveles de albúmina como parámetro nutricional en aquellos pacientes que no recibieron paricalcitol frente a aquellos que si lo recibieron.

No se observó efecto de interacción en la evolución de los niveles de albúmina en relación a la utilización o no de paricalcitol (F: 0,1; *P* = 0,87). Los niveles medios de albúmina durante el estudio fueron similares que en el grupo AEE+ PRC respecto a aquellos que no utilizaron paricalcitol (AEE) [media: IC95%: grupo AEE + PRC: 37 (35 - 38) g/l versus grupo AEE: 37(33 - 40) g/l, *P* = 0,99]. En el análisis por grupos los niveles de albúmina disminuyeron en el grupo en tratamiento con paricalcitol en los meses 0, 3 y 6 [39 ± 3; 36 ± 3 y 34 ± 2 g/l, respectivamente, (F: 5.2, P = 0.01, Eta^2 parcial: 0.33)], y también en aquellos que no recibieron paricalcitol [39 ± 2; 36 ± 2 y 35 ± 2 g/l, respectivamente, (F: 28,4; *P* < 0,01, Eta^2 parcial: 0,90)].

v) Evolución de los niveles de 1,25VD en aquellos pacientes que no recibieron paricalcitol frente a aquellos que si lo recibieron.

No se observó efecto de interacción en la evolución de los niveles de 1,25VD en relación a la utilización o no de paricalcitol (F: 0,7; *P* = 0,50). Los niveles medios de 1,25VD durante el estudio fueron similares que en el grupo AEE+ PRC respecto a aquellos que no utilizaron paricalcitol (AEE) [media: IC95%: grupo AEE + PRC: 18,2(16,0 – 20,4) g/l versus grupo AEE: 17,6(14,0 – 21,2) g/l, *P* = 0,79]. En el análisis por grupos los niveles de 1,25VD no variaron de forma significativa en el grupo en tratamiento con paricalcitol en los meses 0, 3 y 6 [18,1 ± 8,1; 16,0 ± 7,0 y 20,4 ± 5,3 g/l, respectivamente, (F: 1,8, P = 0.17)], ni tampoco en aquellos que no recibieron paricalcitol [17,1 ± 5,0; 18,2 ± 7,6 y 17,5 ± 7,4 g/l, respectivamente, (F: 0,06; *P* = 0,94)].

Análisis de la evolución de las necesidades de AEE entre aquellos que recibieron o no paricalcitol

No se observó interacción entre las dosis de AEE, en función de recibir o no paricalcitol (F: 0,2; *P* = 0,81). En el análisis comparativo de la evolución en los requerimientos de AEE entre el grupo de pacientes tratados sin y con paricalcitol, se puso de manifiesto una disminución significativa en el grupo con paricalcitol (F: 4,8; *P* = 0.03, Eta^2 parcial: 0,22), sin apreciarse cambios respecto al grupo de pacientes tratados sin paricalcitol (F: 1,0; *P* = 0,39) (**Figura 18**).

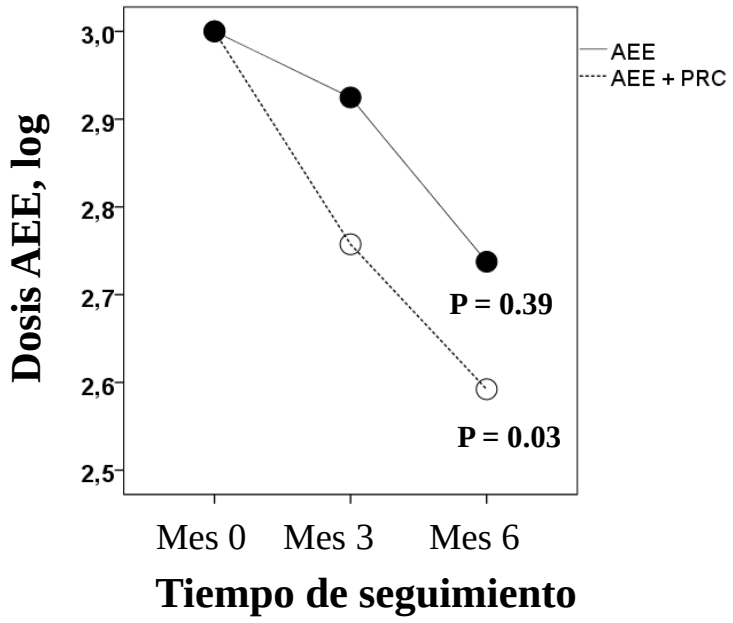


Figura 18. Evolución de las dosis de AEE en aquellos sin (AEE) o con Paricalcitol (AEE + PRC). MLG para medidas repetidas. Dosis de AEE: Transformación (log+1).

Se evaluaron las necesidades de AEE en el subgrupo de pacientes que recibieron suplementos i.v. de Fe desde el inicio del estudio. Se analizaron 25 pacientes. Los resultados obtenidos ponen de manifiesto que en el mes 6 del estudio, el grupo de pacientes en tratamiento con paricalcitol utilizó de media un 24% menos de dosis de AEE siendo esta disminución estadísticamente significativa [Grupo AEE + PRC: n = 18: 3.00 ± 0.0 a 2.66 ± 0.18 y 2.42 ± 0.21 Dosis AEE (%) log + 1, (F: 4.8, *P* = 0.01.

Eta^2 parcial: 0.22)]; mientras que el grupo que no recibió paricalcitol, no se apreciaron cambios significativos [Grupo AEE: n = 7: 3.00 ± 0.0 a 2.91 ± 0.05 y 2.70 ± 0.28 Dosis AEE (%) log+1, (F: 1,0; *P* = 0.40) **(Figura 19).**

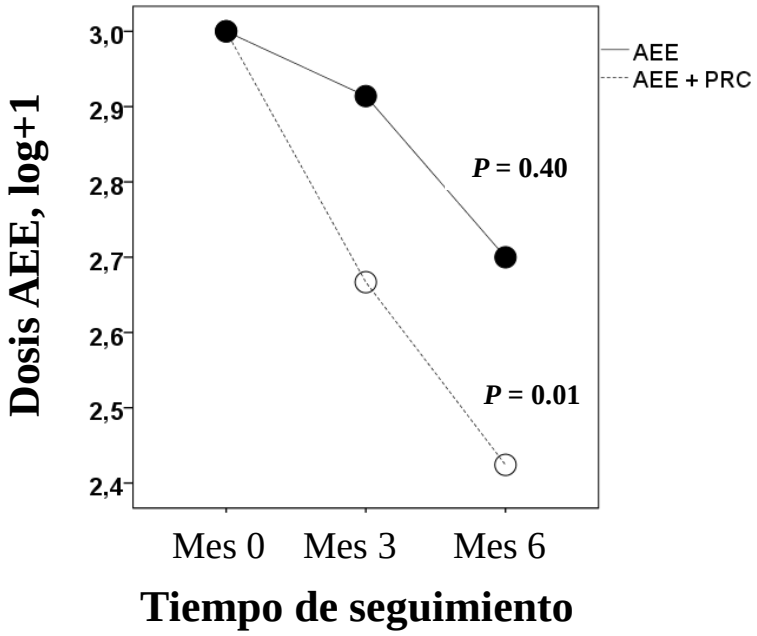


Figura 19. Evolución de las dosis de AEE durante el estudio MIR-EPO en el subgrupo de pacientes con suplementos de hierro i.v. MLG para medidas repetidas.

C.2: *Influencia del uso de paricalcitol en el metabolismo férrico.*

C.2.1. Influencia del paricalcitol sobre el índice de saturación de la transferrina (IST%)

La evolución de los niveles medios del IST% a lo largo del estudio en todos los pacientes incluidos en el estudio MIR-EPO fueron de: 30,5 ± 15; 30,0 ± 13 y 29,1 ± 17 durante los meses 0, 3 y 6, respectivamente, sin ser estos cambios estadísticamente significativos (F: 0,0; *P* = 0,97). El análisis de la evolución entre los dos grupos de pacientes sin y con paricalcitol no mostró interacción significativa (F: 0,32; *P* = 0,72) **(Figura 20).**

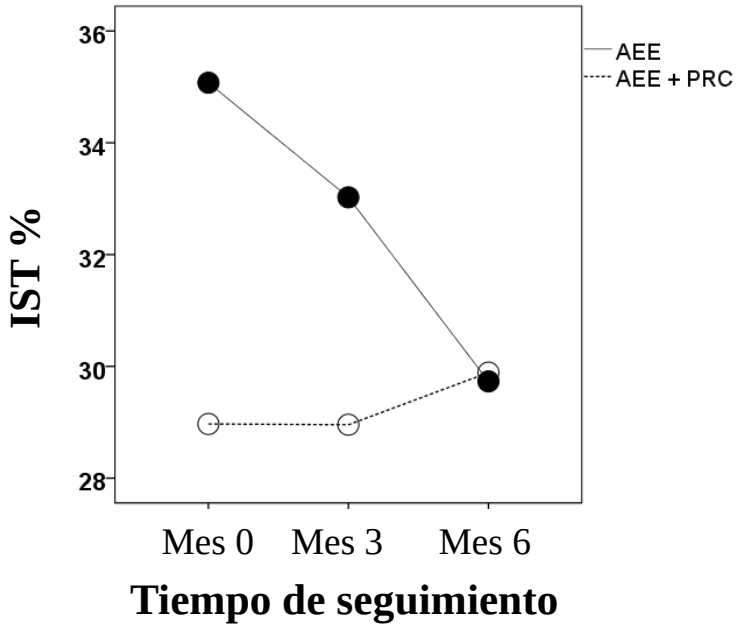


Figura 20. Evolución de los niveles de IST % en aquellos en tratamiento con AEE y aquellos en tratamiento con paricalcitol (AEE + PRC). MLG para medidas repetidas.

También se analizó la evolución de los niveles de IST% en el subgrupo de pacientes en tratamiento desde el inicio del estudio con suplementos de Fe, no evidenciándose interacción significativa (F: 0,6; *P* = 0,55). La media de IST% en los meses 0, 3 y 6 en el grupo de pacientes tratados sin paricalcitol (n = 7) fue de 34 ± 19; 31 ± 15; y 29 ± 9% (F: 1,0; *P* = 0,41) y en el grupo de pacientes tratados con paricalcitol (n = 18) fue de 25 ± 6; 24 ± 5 y 30 ± 19% (F: 0,92; *P* = 0,41), respectivamente. (**Figura 21**).

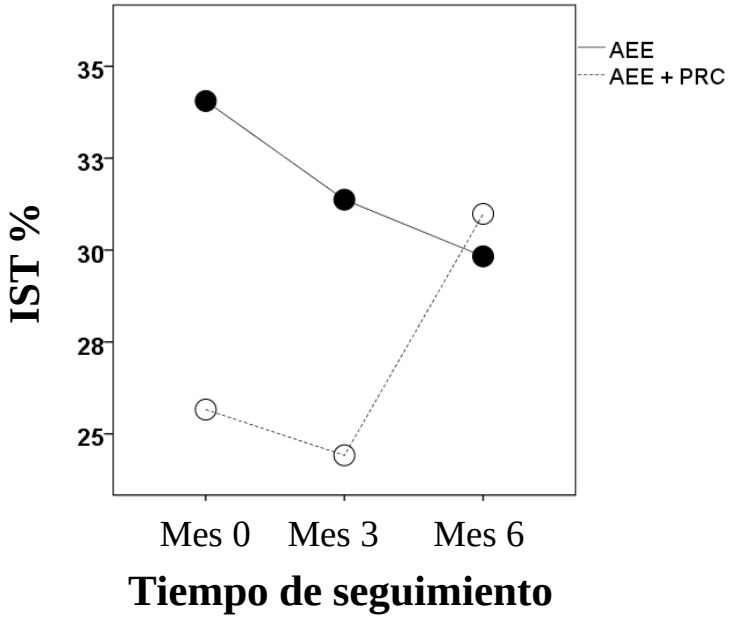


Figura 21. Evolución de los niveles de IST % en el subgrupo de pacientes con suplementos de hierro i.v. desde el inicio del estudio. MLG para medidas repetidas**.**

C.2.1.2. Influencia del paricalcitol sobre el hierro sérico.

En el global de pacientes, se observó que los niveles de Fe sérico durante los meses 0, 3 y 6 del estudio fueron de 70 ± 28; 68 ± 30 y 65 ± 32 μg/dl (F: 0,2; *P* = 0,80).

No se apreció efecto de interacción significativa (F: 0.3, *P* = 0.73). El análisis de los componentes principales, mostró como el grupo sin paricalcitol (n = 8) presentó los siguientes valores medios: 78 ± 40, 70 ± 36 y 64 ± 18 μg/dl (F: 2,8; *P* = 0,13) y el grupo con paricalcitol (n = 23): 68 ± 23; 68 ± 28 y 66 ± 37 μg/dl (F: 0,0; *P* = 0,98), para los meses 0, 3 y 6 respectivamente **(Figura 22).**

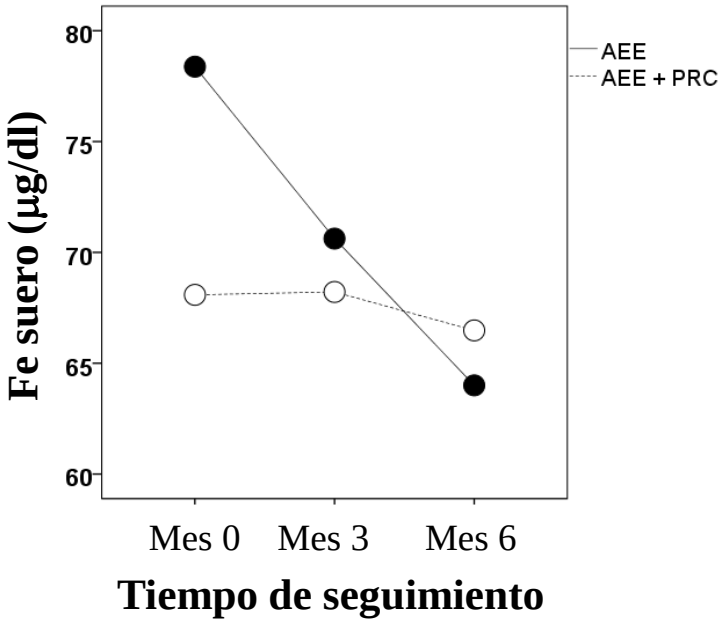


Figura 22. Evolución de los niveles de Fe sérico a lo largo del estudio entre aquellos pacientes sin tratamiento con paricalcitol (PRC) y el grupo que si recibió paricalcitol. (AEE + PRC). MLG para medidas repetidas.

El análisis de la evolución de los niveles séricos de Fe entre aquellos en tratamiento con suplementos de Fe desde el inicio del estudio (n = 25) en función de recibir o no paricalcitol, no mostró interacción significativa (F: 0,69; *P* = 0,50) **(Figura 23).** El análisis de los niveles de Fe séricos por grupos de pacientes en tratamiento sin paricalcitol (n = 7) presentó los siguientes valores medios: 79 ± 43; 67 ± 37 y 64 ± 20 µg/dl, (F: 2,0; *P* = 0,22), mientras que en aquellos que recibieron paricalcitol los niveles medios fueron (n = 18): 61 ± 16; 57 ± 14 y 68 ± 37 µg/dl (F: 0,8; *P* = 0,46), para los meses 0, 3 y 6 del estudio respectivamente.

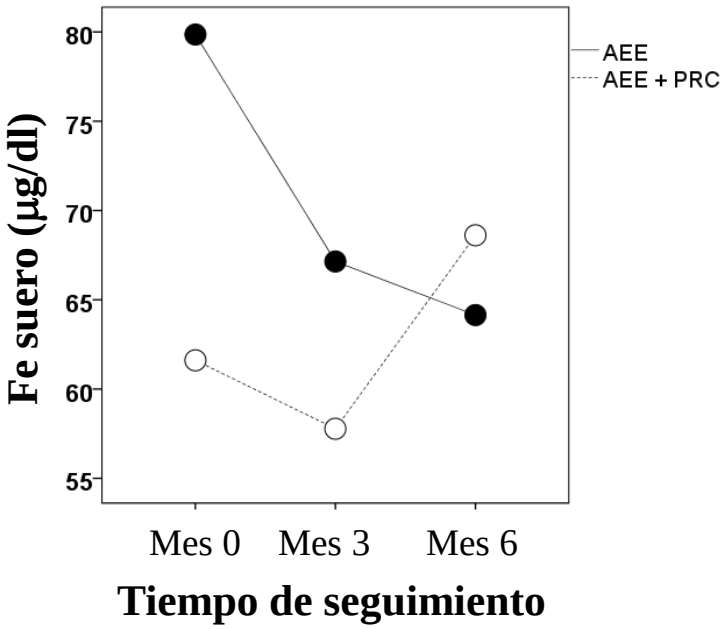


Figura 23. Evolución de los niveles de hierro sérico en el subgrupo de pacientes que recibieron suplementos de hierro desde el inicio del estudio. MLG para medidas repetidas.

C.2.1.3. Influencia del paricalcitol sobre los niveles de ferritina plasmática.

El análisis como grupo de la evolución de los niveles de ferritina plasmática, puso de manifiesto una disminución progresiva de los niveles de ferritina a lo largo del estudio siendo las medias: 815 ± 469; 744 ± 435 y 598 ± 320 ng/ml (F: 5,6; $P < 0,01$; Eta^2 parcial: 0.15) para los meses 0, 3 y 6 respectivamente. Se apreció efecto de interacción entre la evolución de los niveles plasmáticos de ferritina a lo largo del estudio y el recibir o no paricalcitol (F: 5,1; $P = 0,01$, Eta^2 parcial: 0,26).

En el análisis comparativo, se apreció que la disminución de los niveles de ferritina también se era manifiesto en cada grupo por separado. Así en el grupo de pacientes en tratamiento con AEE, los niveles se modificaron significativamente a lo largo del estudio: 650 ± 373; 867 ± 558 y 500 ± 271 ng/ml, (F: 8,6; $P = 0;01$; Eta^2 parcial: 0,74), para los meses 0, 3 y 6 respectivamente, mientras que en el grupo de pacientes con tratamiento combinado (AEE + PRC), los valores medios para los meses 0,

3 y 6 fueron de 873 ± 492; 701 ± 389 y 632 ± 334 ng/ml, (F: 8,2; P < 0,01, Eta^2 parcial: 0,41) respectivamente **(Figura 24).**

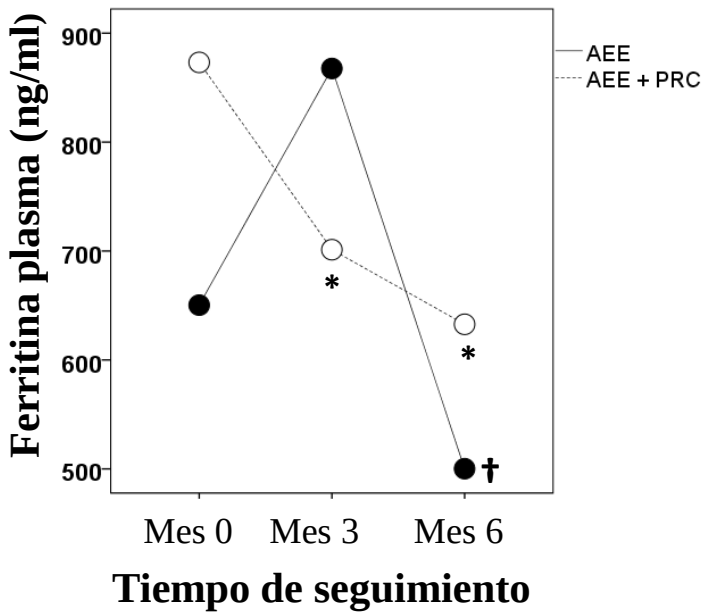


Figura 24: Evolución de los niveles de ferritina plasmática a lo largo del estudio en aquellos pacientes que no recibieron paricalcitol (AEE) frente a aquellos que si recibieron paricalcitol (AEE + PRC). MLG para medidas repetidas. † P < 0.05, respecto al Mes 3 (Grupo AEE). * P < 0.05 respecto al Mes 0 (Grupo AEE + PRC).

C.2.1.4. *Influencia del paricalcitol sobre los niveles de transferrina plasmática.*

El análisis como grupo de los niveles de transferrina plasmática, mostró una discreta disminución no significativa de sus valores medios, siendo en los meses 0, 3 y 6 los siguientes: 171 ± 42, 166 ± 30 y 160 ± 29 mg/dl (F: 2.3, *P* = 0.11). Al realizar el análisis de la evolución de los niveles de transferrina y el tratamiento con o sin paricalcitol, se observó que la interacción mostraba una tendencia a la significación estadística (F: 2.8, *P* = 0.07) (**Figura 25**).

Los niveles medios de transferrina disminuyeron de forma más pronunciada en aquellos en tratamiento únicamente con AEE siendo los valores medios: 172 ± 43; 150 ± 22 y 154 ± 7 mg/dl, (F: 2,4; *P* = 0.10), para los meses 0, 3 y 6 respectivamente, mientras que en aquellos que si recibieron tratamiento con paricalcitol, los valores

medios de transferrina fueron de: 171 ± 42; 172 ± 30 y 163 ± 33 mg/dl, (F: 2,6; *P* = 0,09), aunque en ambos casos no se alcanzó la significación estadística.

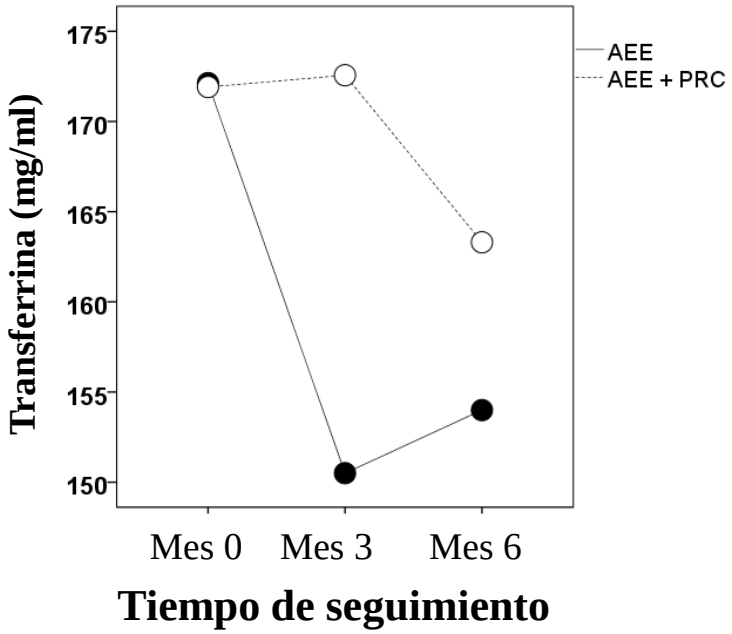


Figura 25. Evolución de los niveles de transferrina plasmática a lo largo del estudio en aquellos pacientes que no recibieron paricalcitol (AEE) frente a aquellos que si lo recibieron (AEE + PRC). MLG para medidas repetidas.

C.2.1.5. *Influencia del paricalcitol sobre el déficit calculado corporal de hierro (DCCFe).*

El análisis de los valores globales del DCCFe durante los meses 0, 3 y 6 del estudio fueron de 1563 ± 321; 1586 ± 354 y 1590 ± 327 mg (F: 0,1; *P* = 0,83). Al realizar el análisis por grupos, no se apreció interacción significativa entre los niveles de DCCFe y el tratamiento con o sin paricalcitol a lo largo del estudio (F: 0,8; *P* = 0,44). Tampoco se observaron cambios significativos a lo largo del estudio en el grupo que recibió únicamente AEE (1365 ± 269; 1488 ± 360 y 1467 ± 411 mg, F: 0,9; P = 0,38), para los meses 0, 3 y 6 respectivamente. En los que recibieron AEE y paricalcitol sus valores medios fueron de: 1631 ± 315; 1620 ± 354 y 1633 ± 291 mg (F: 0,0; *P* = 0,97). Los niveles medios durante todo el estudio entre aquellos que no recibieron paricalcitol frente a los que recibieron paricalcitol, no mostraron diferencias significativas

[Grupo AEE: media (IC95%) de 1.440 (1.231-149) mg versus Grupo AEE+ PRC: 1.628 (1.505-1.751) mg, respectivamente (*P* = 0,12)] **(Figura 26).**

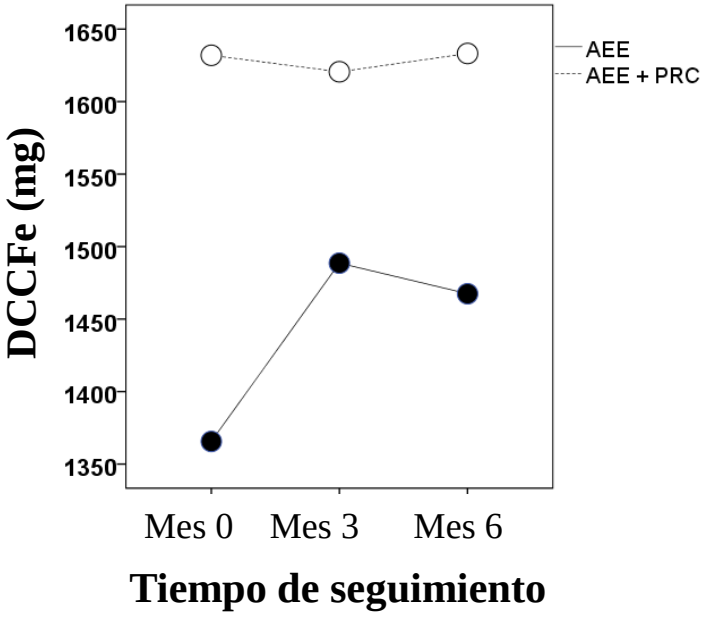


Figura 26. Evolución del Déficit Calculado Corporal de Hierro (DCCFe) (mg) entre aquellos pacientes que no recibieron paricalcitol (AEE) en comparación a aquellos que si lo recibieron (AEE + PRC). DCCFe según la fórmula de Williams. MLG para medias repetidas.

El análisis por pares, se apreció que las diferencias basales significativas en el DCCFe entre ambos grupos, desaparecieron en los meses posteriores como se muestra en la **Tabla 19.**

Tabla 19. Evolución de los niveles del Déficit Calculado Corporal de hierro (mg), en el grupo que no recibió tratamiento con Paricalcitol (AEE) frente a aquellos que si lo recibieron (AEE + PRC).

	AEE	***AEE + PRC***	***P***
Mes 0 (mg)	1.365 ± 269	1.631 ± 314	0,04
Mes 3 (mg)	1488 ± 360	1620 ± 354	0,37
Mes 6 (mg)	1.467 ± 411	1.633 ± 291	0,22

Media ± DE. Test *t* de Student.

C.2.1.6. *Influencia del paricalcitol sobre los diferentes marcadores asociados a la anemia renal de características inflamatorias durante la fase de evaluación.*

Tras la fase de titulación de dosis de AEE correspondientes a los meses 0 y 3 del estudio MIR-EPO, realizamos el estudio de la fase de evaluación correspondiente al periodo de tiempo correspondiente a los meses 3 y 6. Al principio y al final de este periodo se almacenaron muestras de sangre y plasma en el biobanco de nuestro hospital que fueron analizadas en un solo momento después de finalizado el estudio con el objetivo de identificar los mecanismos fisiopatológicos asociados a la anemia en nuestros pacientes.

a) Evolución de niveles de IL-6.

Los niveles de IL-6 (pg/ml) no se modificaron al final del periodo de evaluación respecto a principio del mismo (14 ± 22 y 13 ± 18 pg/ml; F: 0,0; *P* = 0,77). El análisis comparativo entre grupos de tratamiento con paricalcitol (AEE + PRC) en comparación a aquellos en tratamiento sólo con AEE mostró una interacción significativa entre los niveles de IL-6 a lo largo del tiempo (F: 4,5; *P* = 0,04; Eta^2 parcial: 0,15). Así los niveles de IL-6 en aquellos que no recibieron paricalcitol fueron de 29 ± 28 a 10 ± 10 pg/ml; mientras que en aquellos que si recibieron paricalcitol fueron de 8 ± 5 a 13 ± 21 pg/ml **(Figura 27 A).**

Debido a que no son muy conocidos los factores que influyen en la evolución de este marcador, se ajustó el modelo estadístico según valores de PTHi y de VSG (que fueron superiores basalmente en aquellos con paricalcitol). Los resultados obtenidos mostraron una evolución similar en ambos grupos, mostrando el efecto de interacción en este modelo ajustado una tendencia a la significación estadística (F: 4,0; *P* = 0,06). El análisis de los valores medios de IL-6 durante el estudio determinó que aquellos en tratamiento con paricalcitol presentaron niveles inferiores en comparación a aquellos que no llevaron paricalcitol [media (IC95%: 8 (2-14) versus 22 (13-22) pg/ml, (*P* = 0,01) respectivamente] **(Figura 27 B).**

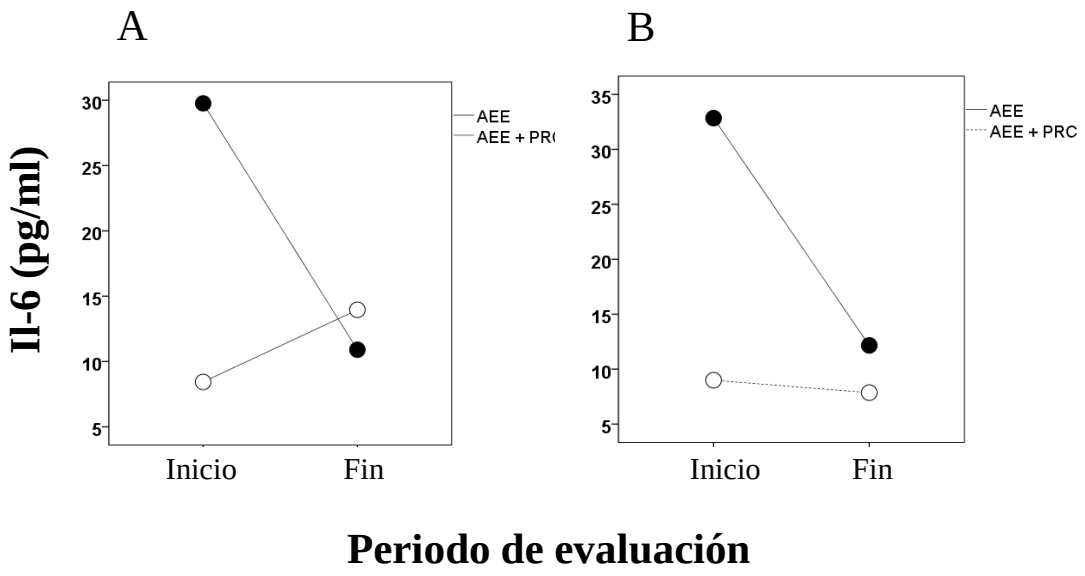


Figura 27. A) Evolución de los niveles de IL-6 entre aquellos pacientes en tratamiento con AEE que no recibieron paricalcitol (AEE), frente aquellos que además recibieron paricalcitol (AEE + PRC). **B)** Modelo ajustado según valores de PTHi y VSG. MLG para medidas repetidas.

b) <u>Evolución de niveles de Hepcidina.</u>

Los valores medios de hepcidina durante el estudio en el mes 3 y 6 fueron de: 889 ± 725 pg/ml y de 648 ± 603 pg/ml, respectivamente (F: 2,4; *P* = 0,13). No se observó interacción entre los cambios en los niveles de hepcidina y el recibir o no paricalcitol (F: 0,1; *P* = 0,67). Los niveles de hepcidina en el grupo que no recibió paricalcitol fueron de 822 ± 510 pg/ml y de 522 ± 591 pg/ml (F: 2,6; *P* = 0,15) mientras que en aquellos que recibieron paricalcitol fueron de: 934 ± 820 pg/ml y 760 ± 614 pg/ml (F: 0,8; *P* = 0,88) (**Figura 28 A)**.

Tras ajustar el modelo según los niveles de PTHi y VSG, se apreció que los valores medios de hepcidina plasmática al principio y al final del periodo de evaluación en ambos grupos fueron similares **(Figura 28 B).** Sin embargo los valores medios de hepcidina durante todo el estudio fueron inferiores de forma casi significativa en aque-

llos que no recibieron paricalcitol en comparación al grupo que si recibió paricalcitol [(media IC95%: 494 (94-894) versus 992 (697 - 1.286) pg/ml respectivamente, (*P* = 0,05)].

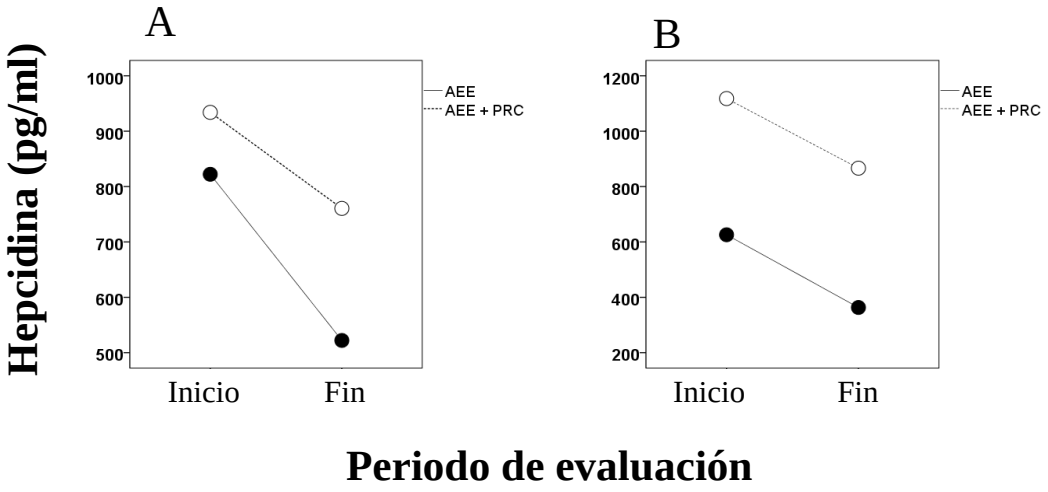


Figura 28. A) Evolución de los niveles de Hepcidina entre aquellos pacientes en tratamiento con AEE que no recibieron paricalcitol (AEE), frente aquellos que además recibieron paricalcitol (AEE + PRC). **B)** Modelo ajustado según valores de PTHi y VSG. MLG para medidas repetidas.

c) <u>Evolución de niveles de eritropoyetina Plasmática:</u>

El análisis del global de pacientes, mostró que los niveles de EPO plasmática no aumentaron de forma significativa, siendo los valores medios al principio y al final del periodo de evolución de: 17 ± 34 mUI/ml y 31 ± 54 mUI/ml (F: 1,0; *P* = 0,31). No se observó interacción significativa en la evolución de los niveles de EPO en función de haber recibido o no tratamiento con paricalcitol (F: 0,2; *P* = 0,61). El análisis de la evolución de los niveles de EPO en cada grupo, mostró una elevación no significativa de los mismos en el grupo con paricalcitol (19 ± 39 vs 37 ± 67 mUI/ml, F: 0,2; *P* = 0,61), mientras que en aquellos sin tratamiento con paricalcitol los niveles de EPO permanecieron estables (13 ± 8 vs 14 ± 6 mUI/ml, F: 0,3; *P* = 0,54) **(Figura 29 A).**

El análisis de las concentraciones de EPO en un modelo ajustado a PTHi y de VSG no mostró interacción significativa (F: 0,6; P = 0,43) **(Figura 29 B)**.

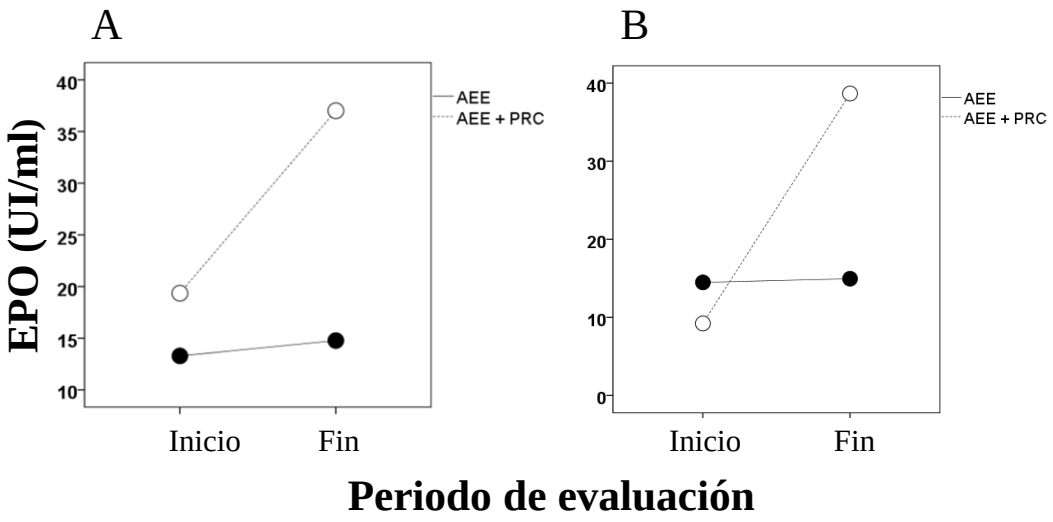


Figura 29. A) Evolución de los niveles de Eritropoyetina plasmática entre aquellos pacientes en tratamiento con AEE que no recibieron paricalcitol (AEE), frente aquellos que además recibieron paricalcitol (AEE + PRC). **B)** Modelo ajustado según valores de PTHi y VSG. MLG para medidas repetidas.

A pesar de la ausencia de significación estadística, la importancia de la evolución visual de los datos nos llevó a determinar los niveles medios de EPO plasmática en cada grupo al principio y al final del estudio mediante la evaluación de las medianas y el estimador de localización robusto M de Huber para determinar los valores de eritropoyetina plasmática en los dos puntos evaluados y se aplicó el test de rango con signo de Wilcoxon para determinar si las diferencias medias observadas eran o no significativas. Los resultados se muestran en la **Tabla 20**.

Tabla 20. Parámetros de estimación de las concentraciones plasmáticas de Eritropoyetina plasmática, mediante mediana y determinación del parámetro robusto M-estimador de Huber.

Concentraciones de eritropoyetina en plasma (mUI/ml)		**Inicio del periodo de evaluación**	**Fin del periodo de evaluación**
Mediana (p25-p75)	AEE	14,5 (6,7-21,9)	13,3 (10,0-21,0)
	AEE +PRC	10,0 (5,4-16-4)	20,2 (7,1-33,6)
M-estimador de Huber	AEE	12,8	14,4
	AEE + PRC	9,3	20,2

(p25-p75): percentil 25 – percentil 75. AEE: grupo sin paricalcitol, AEE + PRC: grupo con paricalcitol.

Este análisis mostró que las concentraciones de EPO aumentaron en aquellos que recibieron Paricalcitol (mediana: 10 a 20 mUI/ml; Z: -2,1; *P* = 0,02), sin mostrar cambios en el aquellos que no recibieron paricalcitol (mediana: 14 a 13 mUI/ml; Z: -0,73; *P* = 0,46). **(Figura 30).**

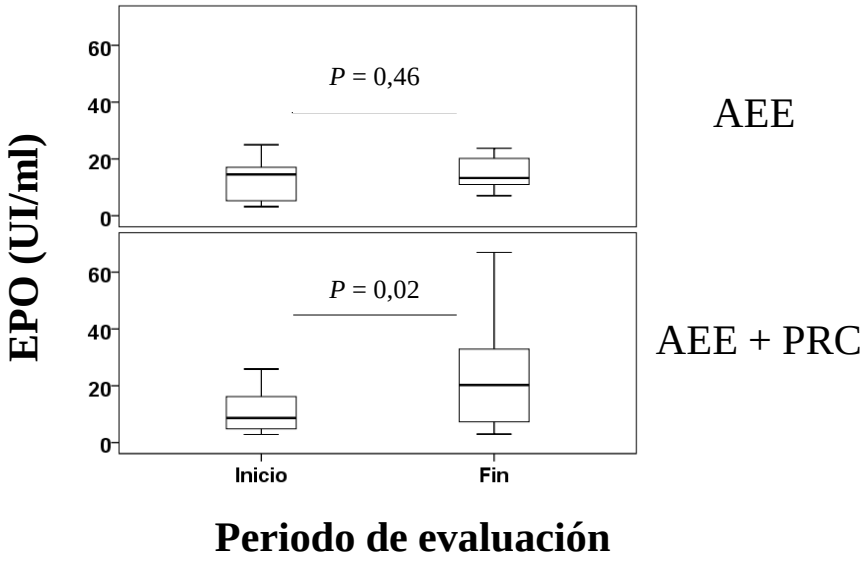


Figura 30. Evolución de los niveles de eritropoyetina plasmática en aquellos pacientes en tratamiento con (AEE + PRC) y sin paricalcitol (AEE). Test de *Wilcoxon*.

d) Evolución de los niveles klotho soluble plasmático:

Se apreció una disminución significativa de los niveles de klotho soluble (Klotho-s) a lo largo del estudio siendo sus valores medios a al principio y al final del periodo de evaluación de: 2,72 ± 0,14 a 2,66 ± 0,14 pg/ml(log) respectivamente (F: 12,7; $P < 0,01$. Eta^2 parcial: 0,31). No se apreció interacción entre la variación de los niveles de Klotho-s y tratamiento con paricalcitol (F: 0,8; $P = 0,37$) **(Figura 31 A).** Los niveles de Klotho-s en el grupo de sujetos que no recibieron paricalcitol fueron de: 2,77 ± 0,12 a 2,70 ± 0,14 pg/ml (log) (F: 11,0; P < 0,01; Eta^2 parcial: 0,36), al principio y al final del periodo de evaluación respectivamente, mientras que en aquellos que si fueron tratados con paricalcitol fueron de: 2,59 ± 0,10 a 2,55 ± 0,09 pg/ml (log) (F: 1,7; $P = 0,25$). El modelo ajustado según PTHi y VSG, mostró una similar evolución, siendo los niveles medios (media: IC95%) durante el estudio inferiores en aquellos que no recibieron paricalcitol [(2,59 (2,52 - 2,66) pg/ml(log) versus 2,72 (2,67 – 2,76) pg/ml(log) respectivamente, $P < 0,01$)] **(Figura 31 B)**.

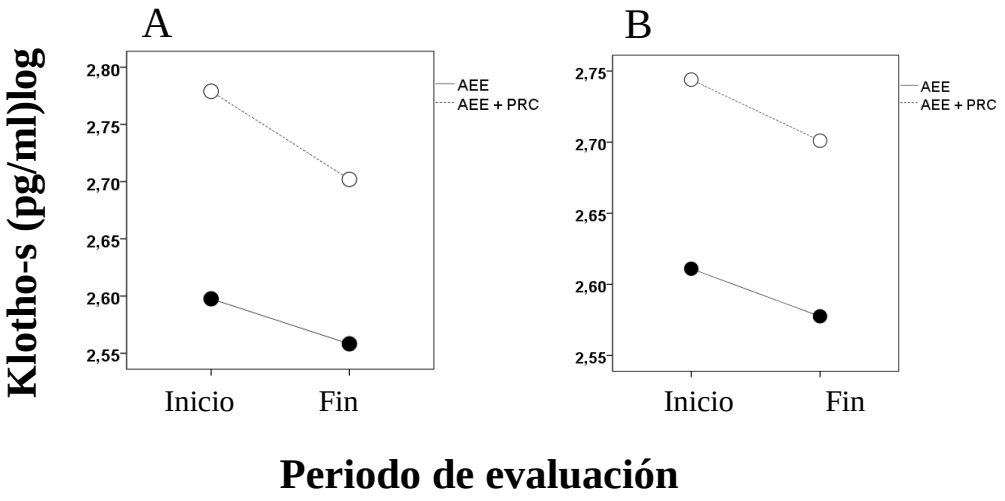


Figura 31.A) Evolución de los niveles de Klotho-s entre pacientes con paricalcitol (AEE + PRC) y aquellos AEE que no recibieron paricalcitol (AEE). **B)** Modelo ajustado según valores de PTHi y VSG. MLG para medidas repetidas.

e) <u>Evolución de los niveles del Factor de Crecimiento Fibroblástico 23 (FGF-23) plasmático:</u>

El análisis de los resultados informó la presencia de 23 valores positivos sobre los 62 determinados, por lo que se decidió no incluir el análisis de este parámetro en el desarrollo de la tesis. Se consideró que quizá un mal procesamiento en la manipulación o en almacenamiento de las muestras fueron los responsables de este efecto; sin embargo y quizá en contra de esta teoría, los adecuados resultados en las otras determinaciones no parecen apoyar esta idea.

Por otro lado la molécula a investigar es muy inestable y al haberse realizado las determinaciones tras dos días en nevera tal como confirmo el técnico responsable de la realización del test, quizá la fuera la causa por las que no se obtuvieron los resultados esperados.

C) *Asociación entre los cambios en los nuevos marcadores asociados con la anemia renal y el hiperparatiroidismo secundario con los marcadores hematológicos y del metabolismo férrico*

C.1. *Asociación entre los cambios en los niveles de IL-6 con los cambios en los parámetros hematológicos y los del metabolismo férrico.*

En el análisis global de los pacientes, se apreció que los cambios en los niveles de IL-6 correlacionaron de forma indirecta con los cambios en el Fe sérico y con el IST%, (r: -0,38; *P* = 0,04 y r: -0,39; *P* = 0,03, respectivamente) y directa con las necesidades de Fe (ρ: 0,52, *P* < 0,01). No se observó asociación significativa entre los cambios en la IL-6 y los cambios en la ferritina ni con el déficit corporal de hierro. Tampoco se apreciaron correlaciones significativas con los cambios en los parámetros hematológicos.

En aquellos pacientes del grupo que recibió paricalcitol, la disminución de los niveles de IL-6 correlacionó inversamente con el aumento del Fe sérico (r: -0,43; *P* = 0,05). También se apreció correlación negativa con los cambios en el IST% **(Figura 32)**.

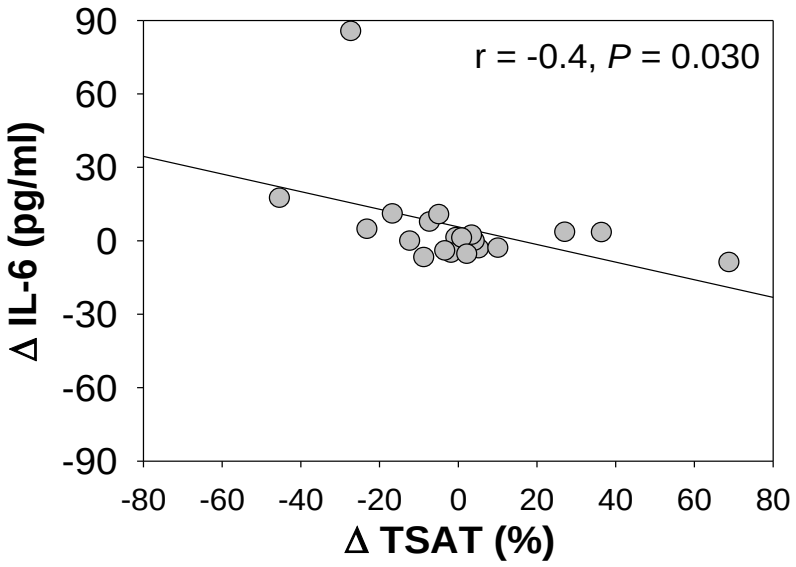


Figura 32. Asociación entre los cambios en los niveles de IL-6 y los cambios en los valores de IST % en el grupo que recibió paricalcitol. *r:* coeficiente de correlación de *Pearson.*

Debido a la implicación de IL-6 en los procesos inflamatorios, evaluamos si los cambios en este parámetro se asociaron a cambios en marcadores clásicos de inflamación como la VSG, PCR y ferritina asumiendo su papel como reactante de fase aguda, sin apreciarse asociaciones significativas como se muestra en la **Tabla 21.**

Tabla 21. Asociación entre los cambios en los niveles de IL-6 y marcadores clásicos de inflamación.

	Δ IL-6 (pg/ml)	
	r	***P***
Δ VSG (mmH)	-0,03	0,89
Δ PCR (mg/dl)	0,38	0,09
Δ Ferritina (ng/ml)	0,09	0,64

r: coeficiente de correlación de *Pearson. Abreviaturas: IL-6, interleuquina-6; PCR, proteína C reactiva;VSG: velocidad de sedimentación globular.*

En el análisis entre aquellos en tratamiento con o sin paricalcitol, tampoco se apreciaron asociaciones significativas.

C.2. *Asociación ente los cambios en los niveles de Hepcidina y los parámetros hematológicos y los del metabolismo férrico.*

Los cambios en la hepcidina mostraron una correlación inversa con el cambio en el recuento de glóbulos rojos (r: -0.6, P < 0.01) y de forma directa con el DCCFe (r: 0.45, *P* = 0.03). También se observó una correlación inversa con los cambios apreciados en los niveles de Hb plasmática (r: -0.44, *P* = 0.03).

En el grupo de pacientes que recibieron paricalcitol, la disminución de los niveles de hepcidina, correlacionó con un aumento en el número de hematíes (r: -0,67; *P* > 0,01). También se apreció asociación estadística con los cambios observados en la Hb **(Figura 33).** No se observó asociación entre los cambios en la hepcidina y los cambios en las dosis de AEE (ρ: 0,21; *P* = 0,37) ni con los cambios en los suplementos de hierro (ρ: -0,49; *P* = 0,06).

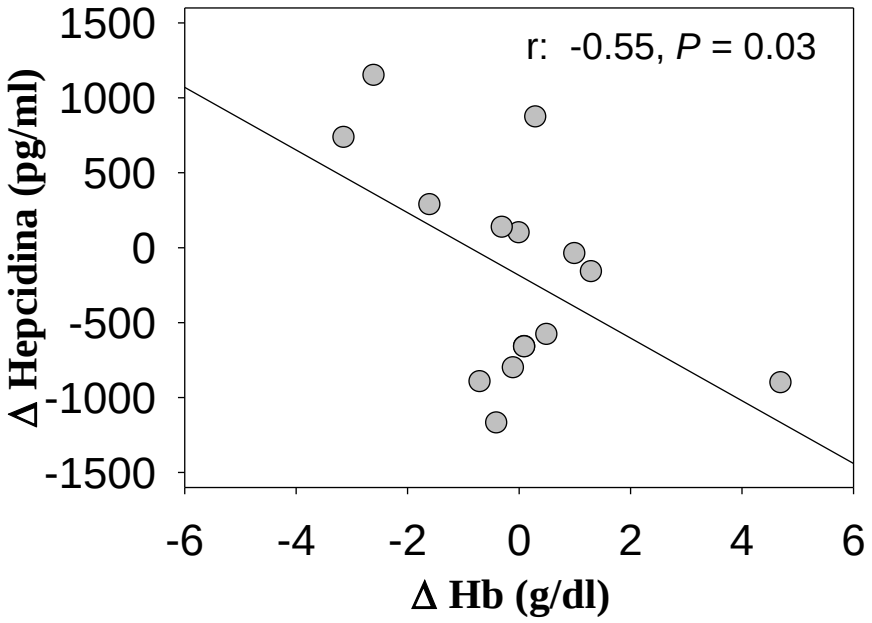


Figura 33. Asociación entre los cambios en la disminución de los niveles de hepcidina y el aumento en los niveles de Hb plasmática en los pacientes que recibieron AEE y paricalcitol. *r:* coeficiente de correlación de *Pearson.*

En aquellos que no recibieron paricalcitol no se apreció asociación con el cambio en los niveles de Hb (r: 0.05, P = 0.91), ni con los cambios en las dosis de AEE (ρ: -0,01; *P* = 0,96), ni con los cambios en los suplementos de hierro (ρ: -0,57; *P* = 0,18).

C.3. *Asociación entre los cambios en los niveles de klotho soluble y los parámetros hematológicos y los del metabolismo férrico.*

En el global de pacientes, la variación en los niveles de klotho-s correlacionaron con los cambios en los niveles de Fe sérico (r: 0,56; *P* > 0,01). Esta asociación se mantuvo sólo en aquellos en tratamiento con paricalcitol (r: 0,62; *P* < 0,01), mientras que no se apreció correlación significativa en aquellos que no recibieron paricalcitol (r: 0,33; *P* = 0,42). En aquellos en tratamiento con paricalcitol, los cambios en los ni-

veles de Klotho-s fueron predictores de los cambios en los niveles de hierro **(Figura 34)**.

Los cambios en los niveles de klotho-s se asoció también a los cambios en las dosis de suplementos de Fe (r: -0,47; *P* = 0,03) en el grupo en tratamiento con paricalcitol. En aquellos en que no recibieron paricalcitol se observó asociación entre los cambios en el Klotho-s y los cambios en el recuento de hematíes (r: 0,73;*P* = 0,03), sin observarse asociación con los cambios en los otros parámetros del metabolismo férrico.

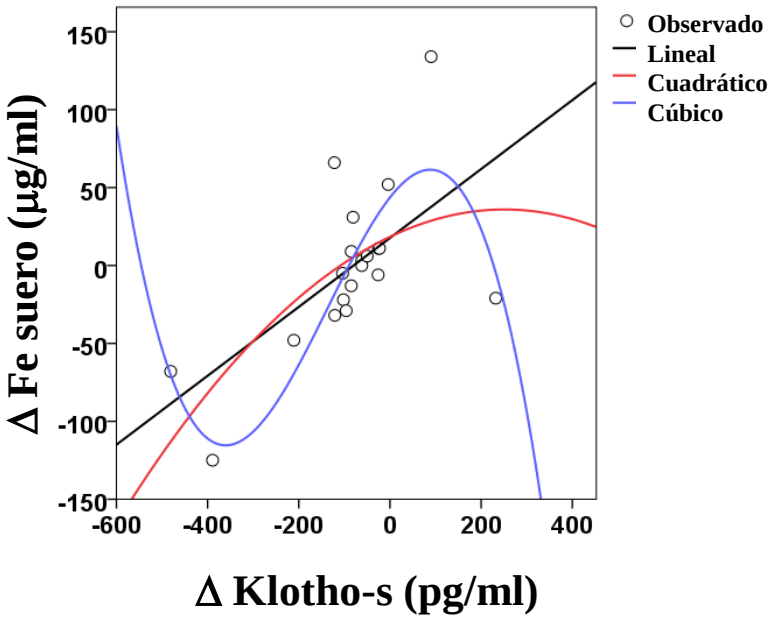


Figura 34. Análisis de regresión entre los cambios en los niveles de Klotho-s y los cambios en el hierro sérico en aquellos pacientes con paricalcitol.

Debido a que se las líneas de interpolación mostraban diferente grado de ajuste en el modelo de regresión, se determinaron los parámetros para determinar el mejor modelo **(Tabla 22),** apreciándose que el modelo regresión cúbica fue el que mejor explicó los cambios entre ambas variables.

Tabla 22: Modelos de análisis de regresión entre los cambios en los niveles de Klotho-s y los cambios en las concentraciones de hierro sérico.

	Parámetros estadísticos		
	F	**R^2**	***P***
Regresión lineal	11,7	0,39	0,03
Regresión cuadrática	6,6	0,43	<0,01
Regresión cúbica	9,5	0,64	<0,01

R^2, coeficiente de determinación.

C.4. *Asociación entre los cambios en los niveles de IL-6 y los cambios en los niveles de hepcidina.*

En nuestro estudio, no se apreció asociación entre los cambios en estas variables en el análisis como conjunto **(Figura 35)**.

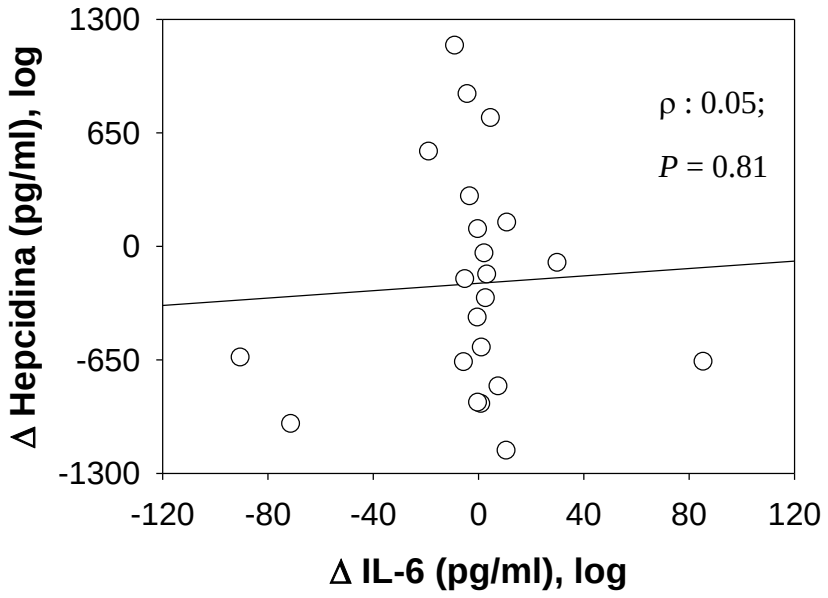


Figura 35. Asociación entre los cambios en los niveles de IL-6 y los de hepcidina plasmática. ρ, coeficiente de correlación de *Spearman.*

En el análisis por grupos tampoco se apreció asociación significativa entre los cambios en los niveles de IL-6 y los de hepcidina como se muestra en la **Tabla 23**.

Tabla 23. Asociación entre los cambios en los niveles de IL-6 y los de hepcidina en aquello en tratamiento con AEE con o sin paricalcitol.

	r	***P***
AEE	0.56	0.18
AEE + PRC	-0.29	0.29

AEE: grupo que no recibió paricalcitol, AEE+PRC: grupo que recibió paricalcitol. *r*, correlación de *Pearson.*

C.5. *Asociación ente los niveles de eritropoyetina y los niveles de hepcidina.*

Los cambios en los niveles de eritropoyetina no mostraron asociación significativa con los cambios en los niveles de hepcidina (r: -0,23; *P* = 0,35). El análisis por grupos tampoco mostró significación en los cambios en ninguno de los dos grupos (grupo sin paricalcitol: r: 0,08; *P* = 0,89 y grupo con paricalcitol (r: -0,27, *P* = 0,35). Evaluamos la asociación al principio y al final del periodo de evaluación apreciándose una débil correlación no significativa en el primer momento (ρ: -0,27, *P* = 0,10) y de forma estadísticamente significativa al final del estudio (ρ: 0,44; *P* = 0,04)

Se realizó un análisis de regresión no lineal para evaluar si los valores de EPO plasmática son predictivos de los valores de hepcidina, apreciándose que al final del periodo de evaluación los niveles de EPO fueron predictores potentes de los cambios en los niveles de hepcidina (R^2: 0,55; F: 6,7 y *P* < 0,01) **(Figura 36)**.

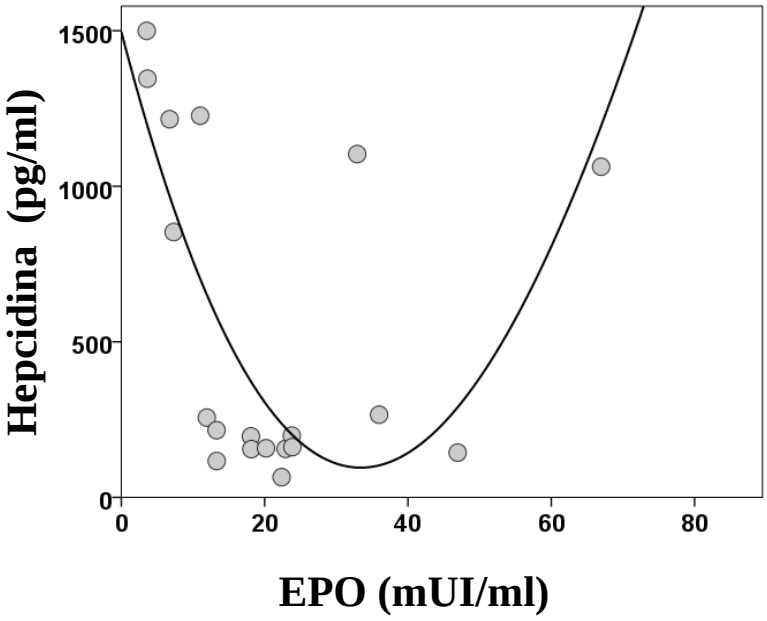


Figura 36. Modelo de regresión entre las concentraciones de eritropoyetina plasmática y los niveles de hepcidina al final del periodo de evaluación**.**

C.6. *Asociación entre los cambios en las concentraciones de Eritropoyetina plasmática y los cambios en los parámetros hematológicos*

Apreciamos como los cambios en los niveles de eritropoyetina se asociaron a los cambios en los niveles de hemoglobina (r: 0,52, P < 0,01). El análisis por grupos mostró una asociación diferente entre los cambios en la EPO plasmática y los cambios en la hemoglobina entre aquellos que no recibieron paricalcitol frente a aquellos si recibieron Paricalcitol **(Figura 37)**.

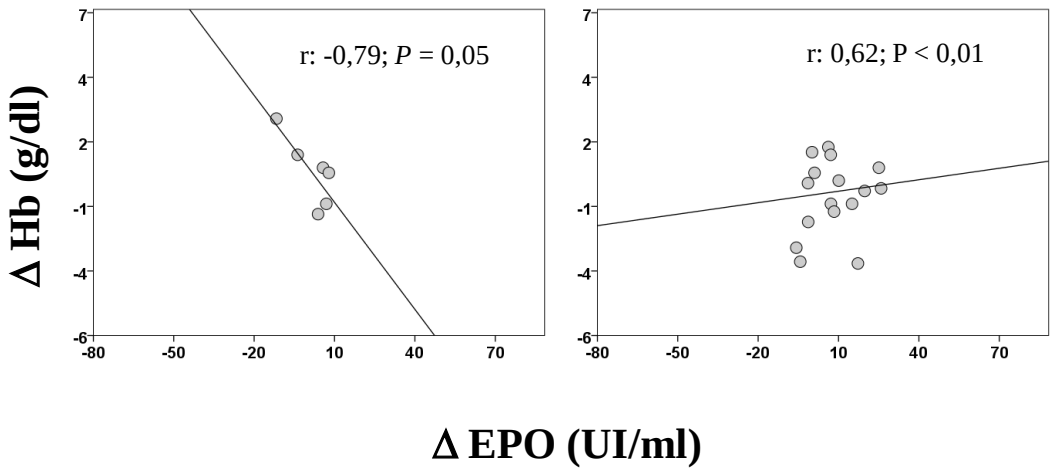


Figura 37. Asociación entre los cambios en las concentraciones plasmáticas de eritropoyetina y los cambios en los niveles de hemoglobina en aquellos en tratamiento con AEE (panel izquierdo) y aquellos en tratamiento con AEE y paricalcitol (AEE + PRC) (panel derecho).

II. DISEÑO DE ESTUDIO 2

Este estudio fue diseñado para determinar el rango de dosis del paricalcitol asociado a menores las necesidades de AEE en pacientes con unos niveles de Hb adecuados (rango de Hb: 10 – 12 g/dl). Se analizaron todos los pacientes de la unidad de diálisis de crónicos del HUSE. De los 58 pacientes analizados, se incluyeron 46 pacientes, 6 presentaron criterios de exclusión y 6 no recibían agentes eritropoyéticos por lo que tampoco fueron incluidos. Se analizaron los parámetros críticos relacionados con la respuesta eritropoyética. Los datos analizados se exponen en la **Tabla 24.**

Tabla 24. Datos de los pacientes del estudio B.

N = 46	**Media ± DE**	**Valor mínimo**	**Valor máximo**
Edad (años)	60 ± 13	23	83
Sexo (V / M), n (%)		30 (52) /28 (48)	
Hb(g/dl)	11,38 ± 1,6	7,4	15,4
IST%	30 ± 11	11	68
Ferritina mg/dl		389 (270 – 526)	
PTHi (pg/ml)		215 (150-368)	
Paricalcitol (mcg/sem)		5 (0-7)	
Epoetina-β (UI/semana)		4.500 (2.000 -9.250)	
Paricalcitol, Si/No (n%)		27(59)/19(41)	

Media ± DE, mediana (P25-P75). PTHi: parathormona intacta, IST: índice de saturación de transferrina, Hb: Hemoglobina.

Al analizar la diferencias en los niveles de Hb plasmática entre aquellos sujetos que no recibieron paricalcitol frente a los que sí lo recibieron, se observó que los valores medios en el último grupo fueron superiores que en los que no recibieron paricalcitol, a pesar de precisar mayores dosis de AEE, aunque la diferencia en las dosis no alcanzó la significación estadística **(Tabla 25)**.

Tabla 25. Niveles de hemoglobina y dosis de AEE en aquellos que recibieron AEE y paricalcitol (AEE + PRC) frente a aquellos que sólo recibieron AEE.

	AEE + PRC	**AEE**	***P***
Hb g/dl*	11,5 ± 1,2	10,9 ± 1,3	< 0,01
AEE (UI/semana)**	5.000 (4.000 - 8.000)	9.000 (4.000 - 12.000)	0,07

AEE, agente estimulador de la eritropoyesis; Hb, hemoglobina; PRC, paricalcitol; **t* de Student, ** Test *U* de Mann Whitney.

RANGO DE DOSIS DE PARICALCITOL ASOCIADAS A MENORES NECESIDADES DE AEE

Para determinar la asociación ente las dosis de paricalcitol y las necesidades de AEE (epoetina-β), se realizó un análisis de regresión y se estableció la curva que mejor definía esta asociación. El análisis de regresión cuadrático determinó que las dosis de paricalcitol comprendidas entre los 5 y 10 μg/semana, se asociaban a las menores dosis de AEE, si bien la dosis de paricalcitol sólo explicaba en este modelo un 10% de los requerimientos de AEE **(Figura 38)**.

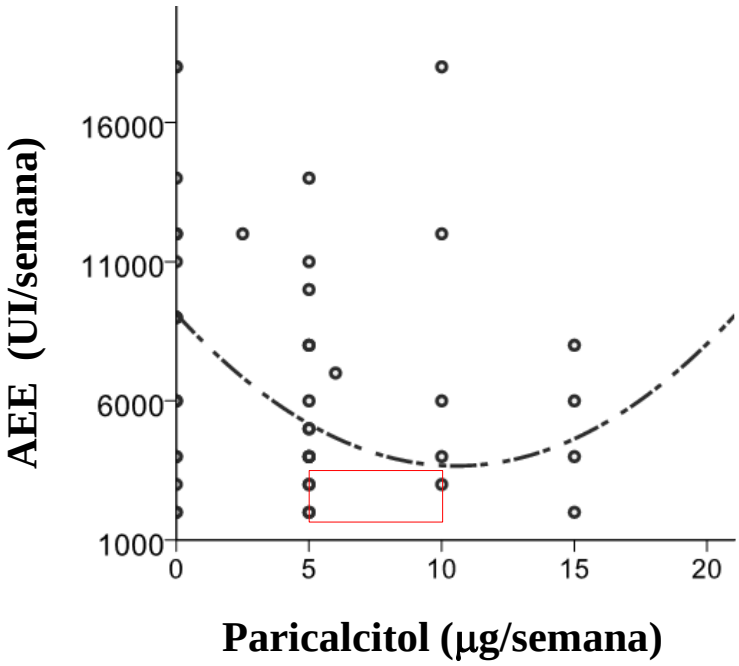


Figura 38. Análisis de regresión no lineal. Se aprecia que el rango de dosis de 5 a 10 µg se asocia una mayor disminución de dosis de AEE (F: 4,6; *P* = 0,01; R^2: 0,10).

Se realizó también el análisis de regresión entre las dosis de paricalcitol (µg/semana) y los niveles de Hb (g/dl) en plasma en estos pacientes. El modelo que mejor se ajustó a los cambios observados en ambas variables fue le modelo de regresión cúbico, en el que también se apreció que el rango de dosis de paricalcitol entre 5 y 10 µg/semana se asociaba a niveles de Hb superiores a 10 g/dl sin sobrepasar los 12 g/dl **(Figura 39)**.

RANGO DE DOSIS DE PARICALCITOL ASOCIADAS A NIVELES DE HEMOGLOBINA ADECUADOS

Se realizó un análisis de regresión para identificar la dosis de paricalcitol predictoras de niveles de los niveles de Hb y se determinó el rango de dosis, asociado a niveles de Hb entre 10 g/dl y 12 g/dl.

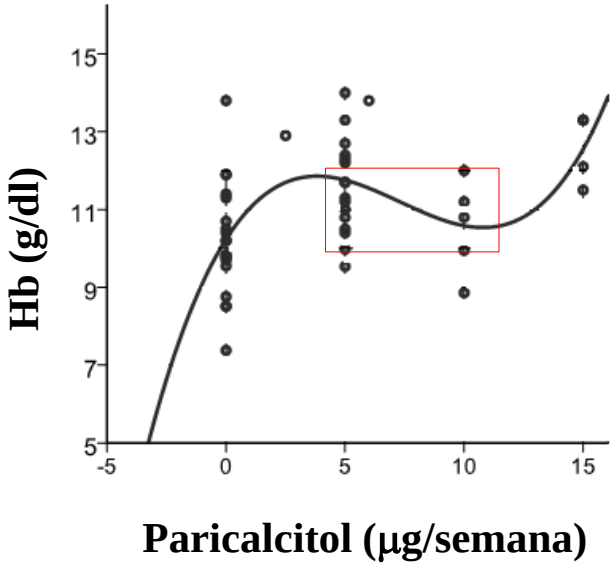


Figura 39. Análisis de regresión no lineal. Se aprecia como las dosis comprendidas entre 5 y 10 µg/semana, predice niveles de Hb plasmática en un rango entre 10 y 12 g/dl. (F: 6,7; $P < 0{,}01$, $R^2 = 0{,}29$).

III. DISEÑO DE ESTUDIO 3

Se incluyeron un total de 92 pacientes de la Unidad de Diálisis Crónica del HUSE de Palma de Mallorca, del centro Hospitalario Policlínica Miramar y del centro concertado de diálisis NEFDIAL ®. Los pacientes analizados fueron 183, de los cuales se incluyeron finalmente un total de 92 pacientes. Los datos se muestran en la **Tabla 26.**

Tabla 26: Características de los pacientes seleccionados para evaluar diferencias en las necesidades de AEE entre aquellos en tratamiento con calcitriol o con paricalcitol.

N = 92	Media ± DE	Valor mínimo	Valor máximo
Hb (g/dl)	11.62 ± 1.3	8	15
IST (%)	27.6 ± 10.5	6	54
Ferritina (ng/ml)	321 (152-625)	27	1455
PTHi (pg/ml)	299 (190-550)	20	2700
Epoetina-β (UI/sem)	4.000 (2.000–5.500)	0	19.000
Fe iv, Si/No, n (%)	72(78)/20(22)		

Hb: hemoglobina, IST: índice de saturación de trasferrina, PTHi: parathormona intacta. Media ± DE, mediana (p25-p75), sem: semana.

ANÁLISIS DE LAS NECESIDADES DE AEE ENTRE PACIENTES BAJO TRATAMIENTO CON PARICALCITOL O CALCITRIOL

Como se muestra en la **Figura 40**, el grupo de pacientes tratados con paricalcitol precisó dosis medianas de AEEs de aproximadamente 4000 UI/semana, mientras que el grupo de pacientes tratado con calcitriol muestra un requerimiento de 9000 UI/semana, para un control adecuado de la anemia renal.

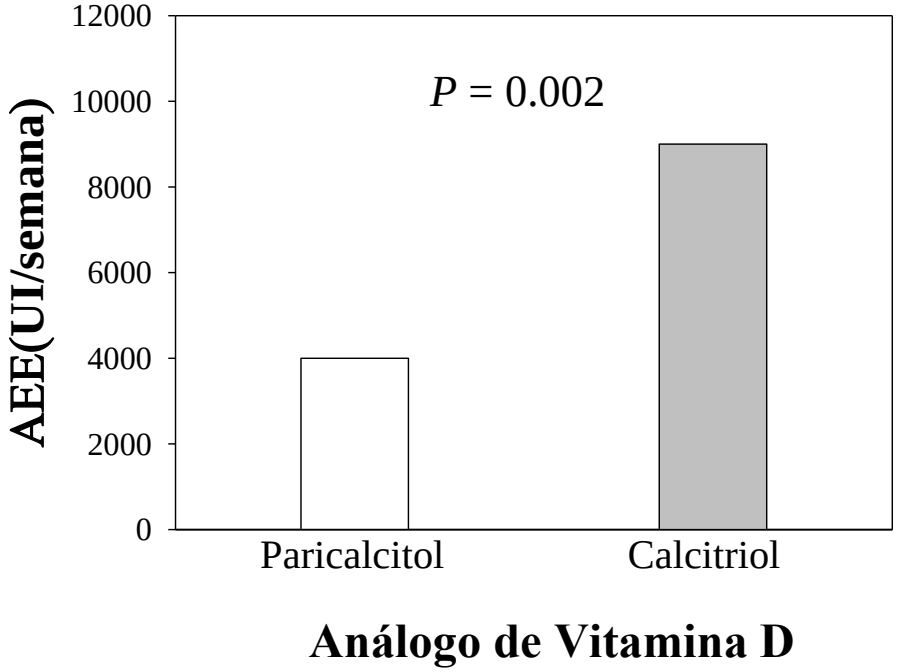


Figura 40. Diferencia de dosis medianas de AEE administradas entre aquellos con paricalcitol en comparación a aquellos con calcitriol. Test *U* de Mann Whitney.

Se analizó además la asociación de los niveles de Hb plasmática entre ambos grupos de pacientes (paricalcitol vs calcitriol), apreciándose como el grupo de pacientes tratado con paricalcitol mostraba unas concentraciones mayores de Hb plasmática (11.9 ± 0.1 g/dl) respecto al grupo de pacientes tratado con calcitriol (11,1 ± 1,2 g/dl) (P < 0,01). Los datos correspondientes a los niveles de PTHi, ferritina, IST% y las dosis de suplementación de Fe i.v. se muestran en la **Tabla 27.**

Tabla 27. Análisis comparativo entre aquellos pacientes en tratamiento con calcitriol frente a aquellos en tratamiento con paricalcitol.

	Paricalcitol	**Calcitriol**	***P***
PTHi (pg/ml)*	276 (170-449)	358 (230-623)	0,18
Ferritina (ng/ml)*	494 (244-701)	168 (111-298)	<0,01
ITS (%)†	30 ± 10	24 ± 10	<0,01
Suplementos de Fe (mg/mes)*	50 (25-63)	75 (50-100)	<0,01

Datos media ± DE, mediana (p25-p75). PTHi: hormona paratiroidea intacta, IST: índice de saturación de transferrina. * Test *U* de Mann-Whitney, † Test de *t* de student.

V. DISCUSIÓN

Los objetivos a desarrollar en esta tesis fueron los siguientes:

1º Determinar la influencia de los metabolitos de vitamina D sobre la respuesta eritropoyética en los pacientes en diálisis, así como la influencia del uso de paricalcitol indicado para el control de hiperparatiroidismo secundario en la respuesta eritropoyética.

2º Determinar las dosis de paricalcitol asociadas a una respuesta eritropoyética adecuada para presentar unos niveles de Hb adecuados y determinar las potenciales diferencias entre en uso de calcitriol o paricalcitol indicados para el control del hiperparatiroidismo secundario sobre las necesidades de AEE en pacientes en diálisis.

- **OBJETIVO 1**

Debido a que los metabolitos de la vitamina D ejercen efectos diferentes sobre la respuesta eritropoyética, desarrollamos la influencia de cada metabolito en apartados separados.

En nuestro estudio, se apreció que los niveles de hemoglobina en el global de pacientes, no mostraron diferencias a lo largo del estudio, así como tampoco se apreciaron cambios en las dosis de AEE ni en los suplementos de hierro administrados, por lo que podemos considerar que la población evaluada permaneció estable desde el punto de vista de la respuesta eritropoyética. Se apreció también que la administración de suplementos de hierro se asoció con una disminución significativa de las dosis necesarias de AEE. En el momento de la realización del estudio, los niveles recomendados de IST y ferritina eran inferiores a las actuales, por lo que el beneficio observado es concordante con las nuevas recomendaciones de las guías K-DIGO, sobre el uso de hierro en pacientes bajo tratamiento con AEE.

Evolución de los Niveles de 25 V y efecto de la suplementación con calcifediol.

En el global de pacientes se apreció una elevación no significativa de los niveles de 25 VD, siendo los valores basales inferiores a las recomendadas actualmente. Los niveles son similares a los publicados por Matias et al., en pacientes en hemodiálisis (169). Previamente, autores como Kizz et al. (157) reportaron niveles claramente inferiores (13 ng/ml), tras una revisión de datos de pacientes en diálisis en los años 90', posiblemente esto sea por no haber recibido ningún tipo de suplementación previa con suplementos de vitamina D, derivado del menor conocimiento de los posibles beneficios asociados a la vitamina D.

La administración de calcifediol en los pacientes incluidos en nuestro estudio, permitió mantener concentraciones superiores de 25 VD superiores a 20 ng/ml; siendo sus valores medios superiores que los niveles de aquellos que no recibieron suplementación. El estudio fue desarrollado en el contexto de variaciones estacionales

(otoño-invierno-primavera) que en condiciones fisiológicas modifican sus concentraciones circulantes (170, 171) y así se apreció también en nuestros pacientes. Durante los meses de diciembre y enero (estación de invierno en nuestra región) se apreció que en aquellos pacientes sin suplementación, los niveles de 25 VD disminuyeron en invierno alcanzando unos valores medios en torno a 15 ng/dl, considerados como deficitarios por todas las guías existentes. Sin embargo, en los periodos correspondientes a otoño y primavera, los sujetos en estudio no tratados con calcifediol lograron mantener concentraciones medios de 25 VD por encima de los 20 ng/ml, siendo estas cifras similares a las publicadas en la población general de origen caucásico (104).

Niveles de 25 VD y respuesta eritropoyética

Los niveles adecuados de 25 VD aún son tema de controversia. Saab et al.(163), tras realizar un estudio retrospectivo, donde se analizaron 119 pacientes en hemodiálisis, informaron que la administración de vitamina D (ergocalciferol), se asoció a un beneficio sobre las necesidades de AEE en algo más de la mitad de los pacientes; Kumar et al. (164), en el único estudio prospectivo realizado con el objetivo de evaluar una disminución de las necesidades de AEE tras alcanzar niveles de 25 VD ≥ 30 ng/ml, no apreciaron dichos resultados. Hay que resaltar, que en el estudio de Saab et al., los pacientes presentaron basalmente niveles medios de 25 VD de 17 ng/ml y en el de Kumar et al., el beneficio se apreció en aquellos con niveles basales inferiores a 20 ng/ml. Porter et al. (172), también informaron de la falta de beneficio sobre las necesidades de AEE tras suplementar con de vitamina D hasta niveles de 28 ng/ml.

En este mismo sentido, los grandes estudios epidemiológicos como los realizados por Kendrick et al. (n ≃ 16.000 sujetos con ERC), y Han et al. (n ≃ 11.000 sujetos de población general), mostraron asociación entre los niveles de Hb y los de 25 VD; pero en ninguno de estos estudios, los valores de 25 VD superiores a 30 ng/dl, se asociaron a mejores niveles de Hb; es más, en ambos estudios se apreció una disminución progresiva de los niveles de Hb asociados a mayores niveles de 25 VD.

En nuestro pacientes, aquellos que recibieron suplementación con calcifediol, mostraron diferencias significativas en la evolución de los valores del IST respecto a que aquellos que no recibieron dichos suplementos. De forma interesante, se apreció que el aumento de los niveles de 25 VD en los pacientes con suplementos de calcifediol, se asoció a una disminución de los niveles de IST% y viceversa.

En aquellos que no recibieron suplementos con calcifediol, los niveles del IST% evolucionaron de forma paralela a los de 25 VD, observándose un descenso importante en los niveles de IST% en la época de invierno (Mes 3), mostrando diferencias significativas frente a los que recibieron suplementos con calcifediol, por lo que concluimos que la suplementación se asoció a un beneficio sobre este parámetro, pero únicamente en los meses de invierno y tras disminuir los niveles de 25 VD respecto a su nivel basal. Este efecto no ha sido evaluado por otros autores y desconocemos el mecanismo subyacente; sin embargo podemos hipotetizar que un aumento de los niveles de 25 VD se podría asociar a un aumento de la absorción de calcio intestinal en detrimento de la absorción de hierro (173, 174).

Los cambios en los niveles de 25 VD, mostraron una correlación inversa con los cambios en los niveles de ferritina plasmática. Se acepta que los niveles de ferritina reflejan los depósitos tisulares de hierro del organismo (175), pero también es bien conocido que la ferritina puede ser considerada como un marcador de inflamación o reactante de fase aguda en procesos inflamatorios (176). En nuestro estudio los cambios en los niveles de ferritina no mostraron asociación significativa con los cambios en los niveles de IL-6, presentando además una correlación débil ($r = 0,09$), por lo que los cambios en la concentraciones de ferritina en nuestros pacientes del diseño prospectivo no parecen estar asociados a modificaciones en la síntesis de esta interleuquina, o al menos la asociación entre cambios en 25 VD y ferritina no está mediada por IL-6.

La relación inversa entre los cambios en los niveles de ferritina circulantes durante el estudio y los cambios en las concentraciones de 25 VD durante el mismo periodo, no estuvo asociada a un incremento de las concentraciones de Hb plasmática, Fe sérico ni IST%. Estos hallazgos sugieren que la disminución de los depósitos tisulares de Fe estimados mediante la ferritina no se realizó a expensas de mejorar parámetros hematológicos ni ferrocinéticos, sino que pueda estar relacionada con un

incremento de la demanda de Fe secundaria a la administración de las mayores dosis de AEE, especialmente en aquellos pacientes que presentaron niveles de 25 VD ≥ 30 ng/ml al final del estudio.

En nuestro estudio, hemos observado una influencia variable de los niveles de 25 VD sobre el metabolismo férrico y sobre las necesidades de AEE. El nuestros pacientes, el aumento de los valores basales de 25 VD, no se asoció a beneficios sobre los requerimientos de AEE, los parámetros hematológicos ni las necesidades de suplementos de hierro. Por otro lado, los análisis de correlación entre los cambios en los niveles de 25 VD y parámetros hematológicos no alcanzaron significación estadística; sin embargo, todas las asociaciones mostraron una relación inversa, sugiriendo que posiblemente unas concentraciones mayores de 25 VD, podrían asociarse a un efecto negativo sobre los parámetros hematológicos o sobre las necesidades de AEE. No podemos certificar esta asociación por falta de potencia estadística; pero queda sugerida tras observar que aquellos pacientes que recibieron suplementación continua con vitamina D y que alcanzaron las concentraciones de 25 VD ≥ 30 ng/ml al final del periodo de seguimiento, precisaron mayores necesidades de AEE, siendo una posible causa, la influencia negativa sobre el IST % observada en los pacientes al final del estudio.

En nuestro estudio, el incremento en los niveles de 25 VD se asoció a un aumento significativo en los niveles de 1,25 VD tal como han descrito otros autores (169). La elevación de la forma activa de la vitamina D, se asoció a una disminución significativa de los niveles de ferritina de forma similar a lo apreciado con el aumento de 25 VD. De forma similar a lo apreciado en los niveles de 25 VD, el aumento de las concentraciones circulantes de 1,25 VD con respecto a los valores basales se asoció a una disminución de los depósitos tisulares de Fe, determinados por las concentraciones de ferritina. Así también se acompañó de un incremento en el déficit calculado corporal de hierro.

Se apreció también que el aumento de los niveles de 1,25VD se asoció a una disminución en los niveles de ferritina y también a una disminución de los niveles de Hb plasmática. Para determinar la capacidad predictiva entre los cambios en la 1,25VD y los de Hb se realizó un análisis de regresión, siendo el modelo mejor ajustado a nuestros datos el de regresión cuadrática, el cual refleja de forma clara, la

existencia de un punto de corte a partir del cual el incremento de los valores de la forma activa de VD se asociaría a una disminución de Hb plasmática, en probable relación por su interacción negativa con el metabolismo del hierro.

En un estudio recientemente publicado por *Riccio et al.* (177), se evaluó mediante ensayo clínico, el efecto de la administración de calcitriol y paricalcitol sobre los niveles de Hb en pacientes con ERC no en diálisis, apreciándose que la administración de calcitriol disminuyó los niveles de Hb a lo largo del estudio, confirmando nuestros resultados. Los autores informaron que estos cambios no estuvieron relacionados con cambios en los parámetros infamatorios

.

Influencia del tratamiento con el activador selectivo del receptor de la vitamina D (paricalcitol) sobre la respuesta eritropoyética en los pacientes en diálisis.

El paricalcitol (CAS: 131918-61-1) es un análogo sintético de la vitamina D. Es un compuesto que, hasta la fecha, se utiliza principalmente para la prevención y tratamiento del hiperparatiroidismo secundario (secreción excesiva de hormona paratiroidea) asociado con la insuficiencia renal crónica.

La indicación de administración con paricalcitol en los pacientes de nuestro estudio siguió las indicaciones de la ficha técnica de la AEMPS y fue para la prevención y tratamiento del hiperparatiroidismo secundario en pacientes con fallo renal crónico en hemodiálisis, ello explica porque los pacientes que recibieron paricalcitol presentaban unas concentraciones basales de PTHi significativamente superiores a las de los pacientes sin este fármaco; pero sin mostrar diferencias en aspectos nutricionales, de dosis de diálisis o de algún parámetro asociado a la respuesta a los AEE.

Por otro lado, ni la evolución de las concentraciones medias de Hb plasmática, ni los requerimientos de suplementación de Fe; así como tampoco los niveles de PTHi experimentaron ninguna diferencia significativa a lo largo del estudio entre pacientes en tratamiento con paricalcitol o sin este fármaco, por lo que las conclusiones respecto a la potencial influencia del uso de paricalcitol, son independientes de los niveles de Hb plasmática, suplementación con Fe y concentraciones de PTHi.

Influencia de la utilización de paricalcitol sobre las dosis de AEE.

Nuestro trabajo, muestra como el tratamiento con paricalcitol se relacionó con una disminución de los requerimientos de AEE a lo largo de la duración del estudio prospectivo, efecto no observado en los pacientes no tratados con este fármaco.

Al analizar las necesidades de AEE en el subgrupo de pacientes que recibieron suplementación con Fe i.v. desde el inicio del estudio, se objetivó una disminución de dosis de AEE de un 20%, que confirman hallazgos previos de nuestro propio grupo en un estudio en 35 pacientes en pre-diálisis con un seguimiento de 9 meses en los que las necesidades de AEE en aquellos que recibieron análogos de vitamina D disminuyeron en torno al 30% (178).

Influencia del uso de Paricalcitol sobre los parámetros del metabolismo férrico.

En nuestro trabajo, hemos podido constatar una interacción significativa entre la evolución de los niveles de **ferritina** a lo largo del estudio y la administración de paricalcitol. Aquellos sujetos bajo tratamiento presentaron una disminución significativa y progresiva de los depósitos tisulares de hierro, determinados por las concentraciones circulantes de ferritina, cambios que no presentaron la misma evolución en los sujetos no tratados con paricalcitol, que terminaron el estudio con unas concentraciones similares a las basales. La disminución de los niveles de ferritina en el grupo de pacientes tratado con paricalcitol, no se acompañó de una disminución en las concentraciones medias de Hb plasmática, IST% ni Fe sérico, y si de una disminución significativa de los requerimientos de AEE. Este hallazgo, en contraposición con nuestros resultados en relación con el efecto del incremento de las concentraciones de 25 VD y 1,25 VD sugiere que la disminución de las concentraciones de ferritina observada con el tratamiento con paricalcitol no es consecuencia de unas mayores necesidades de hierro para mantener el estímulo eritropoyético.

Por el contrario, aunque la representación visual de los datos sugirió una interacción entre la administración de paricalcitol e **IST** %, estos hallazgos se encontraron lejos de la significación estadística, bien por tratarse de una asociación espúrea, bien por ausencia de potencia para demostrar dichas diferencias. El análisis del subgrupo de pacientes que recibieron suplementos de Fe desde el inicio del estudio fue similar sugiriéndose durante la fase de evaluación una elevación IST% en aquellos con paricalcitol, aunque tampoco alcanzó significación estadística. La evolución en los niveles de

Fe sérico fue similar a la evolución apreciada en los valores de IST, como era de esperar dada la colinealidad de ambas variables.

Estos hallazgos en su conjunto, soportan una mejoría de la disponibilidad funcional de los depósitos de hierro para el proceso eritropoyético en nuestro grupo de pacientes tratados con paricalcitol. *Riccio et al*. (177), en consonancia conceptual con nuestros resultados comunican el grupo de sujetos tratados con paricalcitol descrito previamente, una elevación significativa de las concentraciones medias de Hb plasmática junto con un descenso no significativo de ferritina al final del estudio, que puede interpretarse por un desplazamiento del hierro desde sus depósitos tisular al *pool* funcional.

La evolución visual de la evolución de la **transferrina** y ausencia de cambios significativos en este parámetro es ciertamente sorprendente, pues la diminución de los niveles de la transferrina, debería acompañarse de un incremento porcentual en el IST% dada su colinealidad. El análisis de los niveles de albúmina excluye que se trate de un efecto relacionado con el estado nutricional, ya que éstos fueron similares basalmente entre los sujetos a estudio independientemente de su tratamiento con paricalcitol. Podemos hipotetizar, ante la ausencia de literatura científica que aborde este aspecto de nuestro estudio que: i) que la ausencia de cambios significativos en el IST% incluso tendencia visual a su descenso, en aquellos sujetos no tratados con paricalcitol podría estar determinado principalmente por una disminución proporcional mayor de las concentraciones de Fe sérico en relación al descenso de la transferrina. En aquellos en tratamiento con paricalcitol la disminución porcentual de los niveles de hierro sérico podría haber sido inferior al porcentaje de disminución de los niveles de transferrina favoreciendo un aumento en el IST% y; ii) que la disminución de los niveles de transferrina sea parte de la disminución en el pool de Fe sérico, lo que traería como consecuencia la disminución de esta proteína transportadora de hierro para su utilización en diversos procesos, entre ellos la eritropoyesis. No obstante, insistimos en que esta se trata de hipótesis meramente especulativa dada la ausencia de significación estadística en este apartado de nuestros resultados.

El cálculo del **déficit corporal calculado de hierro** no mostró diferencias significativas a lo largo del periodo de seguimiento en el global de pacientes, ni interacción significativa entre su evolución a lo largo del tiempo y la administración de paricalcitol, aunque en el análisis por grupos las diferencias significativas basales desapa-

recieron al final del estudio, lo que de nuevo sugiere un beneficio de las necesidades de Fe en aquellos pacientes que recibieron paricalcitol en consonancia con lo expuesto previamente.

Es importante recordar que el grupo que recibió paricalcitol presentó datos que sugieren un beneficio sobre el metabolismo del hierro y que la falta de significación estadística pudo estar influenciada por el tamaño de la muestra, y quizá por la influencia negativa de los mayores niveles de PTHi y del mayor déficit calculado corporal de hierro.

La influencia de los niveles de PTHi sobre el metabolismo del hierro es un tema poco estudiado, pero tal como se apreció en nuestro estudio, podrían existir diferencias en la utilización del hierro o en las necesidades de suplementos de sales de hierro según los niveles de PTHi. En nuestro estudio se apreció que aquellos pacientes con niveles medios de 150 pg/ml, precisaron menores dosis de suplementos de hierro, siendo estos cambios diferentes de forma significativa en comparación a los apreciados en el grupo con valores de PTHi superiores a 300 pg/ml. De forma importante además se apreció que los pacientes con menores niveles de PTHi mostraron un aumento de los niveles del IST% y una disminución en aquellos con niveles de PTHi superiores a 300pg/ml. La influencia de mayores niveles de PTH ha sido asociada de forma clásica y por diversos autores con mayores necesidades de AEE, debido a la fibrosis de la médula ósea, los menores niveles de EPO plasmática (167, 179, 180) ; sin embargo si la disminución de las necesidades de AEE está influenciada por un potencial beneficio sobre el metabolismo férrico no es conocido. Un potencial factor asociado a menores necesidades de suplementos de hierro podría estar relacionado con el proceso de eriptosis asociado a mayores niveles de PTHi, esta disminución del suicidio prematuro del hematíe podría traer consigo una disminución de los requerimientos de hierro y también de AEE (128); así como también se ha descrito en un grupo de pacientes con ERC no en diálisis, como los niveles de PTH se asociaron a mayores niveles de hepcidina lo cual hipotéticamente disminuiría los aportes de hierro para el mantenimiento del proceso eritropoyetico (65).

Transcurridas la fase de pre-inclusión y la de titulación de dosis de AEE del estudio MIR-EPO (un total de 6 meses), se llevó a cabo la fase o periodo de evaluación. Esta fase tenía como objetivo, de forma similar al diseño de otros autores (181), eva-

luar posibles cambios en la dosis de AEE o en los niveles de Hb plasmática una vez alcanzadas las dosis de AEE adecuadas para mantener estabilidad de la Hb en un rango de seguridad definido a priori de 10 a 12 g/dl. Esta fase se consideró la más apropiada para evaluar la influencia de posibles marcadores asociados a la presencia o desarrollo de la anemia de causa renal, y del metabolismo calcio-fósforo.

En el global de pacientes, la evolución en los niveles de **IL-6** no mostró cambios significativos a lo largo del tiempo, sugiriendo que no existieron modificaciones significativas en el estado de inflamación sistémica crónica subclínica de este grupo de pacientes durante el periodo del estudio, y que los posibles cambios en otros parámetros serían independientes de mecanismos proinflamatorios. No obstante, el análisis por grupos mostró un efecto de interacción significativa en los cambios en las concentraciones de IL-6 a lo largo del estudio y la administración de paricalcitol, que se tradujo en una elevación de esta citoquina en los pacientes en tratamiento con paricalcitol y una disminución en los sujetos no tratados. El ajuste del modelo por PTHi y VSG, hizo perder la significación estadística a esta interacción, sugiriendo que tanto la PTHi como las concentraciones de VSG son un factor de confusión a la hora de evaluar la interacción de IL-6 con paricalcitol. En el modelo ajustado, las concentraciones medias de IL-6 durante esta fase, resultaron inferiores en los pacientes tratados. Este efecto del paricalcitol ya ha sido descrito por otros autores con ERC y diálisis y podría sugerir un efecto mediado por paricalcitol sobre la anemia renal de características inflamatorias (144, 182).

Se apreció una influencia negativa en los cambios en las concentraciones de IL-6 y los cambios en el hierro y en el IST y de forma directa con las necesidades de hierro. En el grupo que recibió paricalcitol, el aumento apreciado en los niveles de IST estuvo asociado a la disminución en la IL-6.

No apreciamos asociación entre los cambios en los niveles de VSG ni con los de PCR (datos no mostrados), por lo que posiblemente sus cambios estuvieron más influenciados con los cambios en el hierro que con los parámetros clásicos de inflamación en nuestros pacientes.

No pudimos demostrar cambios significativos en el global de pacientes sobre las concentraciones de **hepcidina** a lo largo del estudio ni interacción significativa de la administración de paricalcitol. El modelo ajustado según niveles de PTHi y de VSG

no mostró cambios respecto al modelo no ajustado; sin embargo, en este modelo, la disminución de hepcidina fue similar en ambos grupos analizados. En contra de lo esperable, los niveles medios de hepcidina durante la fase de evaluación fueron superiores de forma casi significativa en aquellos en tratamiento con paricalcitol. En el momento de redacción de esta tesis, no existe información en nuestro conocimiento respecto al efecto del tratamiento con paricalcitol sobre los niveles de hepcidina en la literatura científica. *Battchetta et al.* (154), publicaron recientemente que la administración de ergocalciferol se acompañó de un descenso superior al 30% en las concentraciones de hepcidina en voluntarios sanos tras la administración de 100.000 UI de esta vitamina. Los autores informaron que este efecto se debía a la disminución directa de la expresión del RNAm de la hepcidina, como consecuencia de la activación del receptor de la vitamina D. Los autores además informaron una disminución en la expresión del RNAm de la ferritina, situación que podría explicar, al menos en parte lo observado en nuestro estudio y que se apreció asociado a la 25 VD, 1,25 VD y en aquellos que recibieron paricalcitol.

Si tenemos en cuenta que los pacientes tratados con paricalcitol presentaron niveles medios de IL-6 inferiores y que la elevación de esta citoquina influye aumentando la expresión de hepcidina, que los niveles de hepcidina fueran superiores en el grupo que recibió paricalcitol son un dato no esperado. Apoyando una hipótesis alternativa, *Weiss et al. y Buffler et al.* (183) (184) han reportado que la administración de AEE en pacientes en hemodiálisis, se asocia a una disminución de los niveles de hepcidina, factor que si podría explicar nuestros resultados.

La variación en los niveles de hepcidina se asoció de forma inversa a los cambios en los niveles de Hb plasmática. Por lo tanto los cambios en los niveles de hepcidina parecen reflejar de forma directa los cambios en el *pool* funcional de hierro. La disminución observada en los niveles de hepcidina se asoció a una elevación en los niveles de hematíes en aquellos que recibieron paricalcitol, lo que puede traducir una mejor utilización del hierro.

En el global de pacientes, los niveles circulantes de **EPO** en el global de los pacientes no experimentaron cambios significativos al final del periodo de evaluación con respecto a las determinaciones basales. Tampoco, se apreció un efecto significativo de la interacción entre la evolución de los niveles de EPO y la administración de

paricalcitol. El análisis ajustado según PTHi y VSG mostró los mismos hallazgos que el modelo no ajustado aunque el análisis visual de los datos si sugería diferencias significativas. Dado que las concentraciones medias de EPO se incrementaron hasta casi al doble de su valor basal, a pesar de haber precisado un menor requerimiento de AEE en los pacientes tratados con paricalcitol, estas observaciones presentaban importantes implicaciones científicas, diagnóstico y terapéuticas dadas las características de los sujetos a estudio (pacientes en hemodiálisis con función renal deteriorada) teóricamente sin capacidad de elevar sus niveles de EPO plasmática. Por ello, los resultados obtenidos se reanalizaron mediante el cálculo del M-estimador de Huber (estimador de localización robusto) y se evaluó si esas diferencias eran significativas, para lo cual se utilizó el test de rango con signo de Wilcoxon, el cual confirmó el aumento significativo de los niveles de EPO en aquellos pacientes en tratamiento con paricalcitol, sin cambios en el otro grupo.

Lonnberg et al. (86, 185) han sugerido la posible existencia de un cambio en la capacidad de síntesis de EPO en pacientes en hemodiálisis, planteando la posibilidad de su síntesis. Apoyando esta hipótesis, *Bernhardt et al.* (87), han comunicado el aumento de la síntesis de EPO incluso en pacientes anéfricos tras la administración de inhibidores de la prolil-hidroxilasa, lo que despeja dudas acerca de la capacidad de sintetizar EPO que aún poseen los pacientes en hemodiálisis.

Desconocemos el mecanismo exacto por el que nuestros pacientes en tratamiento con paricalcitol elevaron sus niveles de EPO. Dado que sus requerimientos de AEE fueron menores, podría descartarse razonablemente que se trate de unas mayores concentraciones de eritropoyetina exógena, y surge como hipótesis plausible el incremento de la síntesis endógena extrarrenal. Este efecto de paricalcitol podría estar mediado por los siguientes mecanismos:

i) <u>Mejoría de la acidosis metabólica</u>. *Capuano et al.* (167), describieron como el uso de paricalcitol en el tratamiento del HPTS en pacientes en diálisis, se asoció con un aumento de las concentraciones de bicarbonato y del pH sanguíneo. En los pacientes en diálisis, los riñones no pueden colaborar en la homeostasis ácido-base, influyendo por tanto en su control órganos como la masa ósea. En un estudio realizado en pacientes con proteinuria, apreciamos como la administración de paricalcitol durante un año se asoció

a un incremento de la densidad de masa ósea en 1 desviación estándar (186). La mejoría de la densidad de masa ósea, podría mejorar la capacidad del organismo para controlar la acidosis metabólica, desplazando la curva de disociación de la hemoglobina hacia la izquierda lo cual aumenta la afinidad de la Hb por el O_2 y esta situación detectada por los órganos sensores de hipoxia estimular la síntesis de EPO, por mecanismo mediados por los HIF (187). La estabilización de los HIFs se considera un factor imprescindible para inducir la síntesis de EPO, habiéndose descrito esta propiedad en modelos celulares (34) y de forma opuesta, el calcitriol ha sido relacionado con la posibilidad de inhibir la expresión del HIF-1 (188), desconocemos si ello podría ocasionar aspectos diferenciales en la respuesta eritropoyética.

ii) Activación osteoblástica. *Rankin et al.* (138) han comunicado la posibilidad de producción de EPO por parte de los osteoblastos, células diana sobre los que actúan tanto el calcitriol como y el paricalcitol (189).

El nuestro estudio, no se determinó la variación en los niveles de bicarbonato plasmático, por lo que la secuencia informada previamente es meramente hipotéctica; no obstante el efecto estabilizador del paricalcitol sobre los factores inducibles por hipoxia por medio del uso de paricalcitol ha sido descrito en modelos animales (34).

El sentido de la asociación entre los cambios en la EPO y los niveles de Hb fueron opuestos según llevaran o no paricalcitol, apreciándose una disminución casi significativa de los niveles de Hb en aquellos que no recibieron paricalcitol. Esta respuesta paradójica observada en nuestro estudio, podría estar en relación con:

- La disminución de las dosis de AEE y la de los niveles de ferritina, se apreció en aquellos que recibieron paricalcitol, sin disminuir los aportes de hierro para la eritropoyesis, situación no observada en aquellos que no recibieron paricalcitol.
- La presencia de menores niveles de IL-6 y aunque la disminución de sus niveles y el aumento en el IST % no fueron significativos, esos cambios sí estuvieron asociados, situación no observada en los que no recibieron paricalcitol.

- Los niveles de hepcidina fueron superiores de forma casi significativa en estos pacientes, los menores valores en aquellos que no recibieron paricalcitol pudieron estar condicionados principalmente por el uso de mayores dosis de AEE de forma crónica como han descrito Gammella et al. (190). Nuestro modelo predictivo cúbico informó que las concentraciones de EPO eran potentes predictores de los niveles de hepcidina durante las determinación puntual de sus valores. Por lo tanto, la disminución de los valores de hepcidina en aquellos que no recibieron paricalcitol podría estar explicada por la administración de AEE.

- Los niveles de **klotho-s** disminuyeron en el global de nuestros pacientes. No se apreció interacción entre la evolución de sus concentraciones y el tratamiento con paricalcitol. El análisis ajustado según niveles de PTHi y de VSG mostró que la disminución de los niveles de klotho-s fue similar en ambos grupos, aunque los valores medios fueron superiores en aquellos en tratamiento con paricalcitol. Datos de estudios animales con ERC (191) han demostrado que el uso de paricalcitol produce una elevación de klotho de forma independiente de los niveles de PTH y de forma opuesta se ha descrito la disminución, tras la administración de colecalciferol en pacientes en hemodiálisis (192), situación que podría estar detrás de lo observado en nuestros pacientes.

En la actualidad, la determinación de las alteraciones en esta hormona, ha despertado el interés científico por sus propiedades anti-envejecimiento, habiéndose descrito que el déficit de Klotho es una causa de muerte prematura del hematíe y de alteraciones en la eritropoyesis incluida una lesión directa sobre las *stem cell* (126-128, 193). También se ha descrito que la presencia de klotho aumenta la expresión de los receptores de EPO (194), situación que favorecería el correcto funcionamiento de la EPO.

El klotho-s, parece ser un nuevo marcador del metabolismo férrico. El modelo cúbico mostró un coeficiente de determinación de 0.64, lo que implica que es la variación de los niveles de klotho-s fueron predictores muy potentes de la variación de los niveles de Fe sérico. En el momento de la redacción de esta tesis esta potencial asociación no ha sido descrita por otros autores. En aquellos pacientes en tratamiento con paricalcitol, los cambios en los niveles de klotho-

s también se asociaron de forma directa a los cambios en los niveles de hierro, sin mostrar asociación en los pacientes que no recibieron paricalcitol; sin embargo, en estos últimos se apreció una fuerte correlación con los cambios en el número de hematíes.

Estabilidad de la hemoglobina

El grado de estabilización de los niveles de Hb en los pacientes que recibieron paricalcitol fue elevado, siendo la variación de Hb media entre el mes 0 y 3 (0,1 y 0,1 g/dl respectivamente); mientras que en aquellos que no recibieron paricalcitol, la variabilidad de la Hb fue de 0,7 y de -0,2 gr/dl. Se ha descrito que un mayor grado de variabilidad en la Hb podría asociarse a un más riesgo de mortalidad (195, 196). La potencial asociación entre el uso de paricalcitol y la estabilización de la hemoglobina, no ha sido evaluada hasta la fecha por otros autores.

Se desconocen los mecanismos, por el cual podría existir la asociación descrita previamente. Se ha descrito que la interleuquina-10 (IL-10) es una citoquina que posee propiedades anti-inflamatorias, se ha descrito también que niveles elevados de esta citoquina se ha asociado al desarrollo de ferropenia, una menor respuesta a EPO y a la inhibición del desarrollo de unidades formadoras de colonias eritroides (197-200), lo que sugiere una acción inhibitoria de la eritropoyesis. Diversos autores han descrito que la administración de vitamina D en forma de calcifediol en voluntarios sanos eleva la expresión de esta citoquina (201), situación también observada en pacientes en hemodiálisis tras la administración de paricalcitol (144). La posterior determinación de esta citoquina en las muestras conservadas de nuestros pacientes del estudio MIR-EPO, podrían informar si sus cambios mostraron asociación con la respuesta eritropoyética.

- **OBJETIVO 2**

El análisis de asociación entre las dosis de paricalcitol y las necesidades de AEE, mostró que el rango de 5 a 10 μg/semana, se asoció a las menores necesidades de AEE.

De forma interesante, esta misma dosis se asoció a la estabilización de unos niveles de Hb en un rango comprendido entre 10 y 12 mg/dl, lo cual refleja una propiedad no descrita hasta la actualidad y también apreciada en el estudio previo, al analizar las variaciones de la Hb a lo largo del estudio, beneficio que podría asociado con un mejor pronóstico en los pacientes en diálisis (196).

En la curva de asociación se apreció como las dosis de paricalcitol de 15 μg/semana se asociaron con niveles de Hb superiores a los 13 g/dl; sin embargo esas dosis de paricalcitol, también se asociaron a mayores necesidades de AEE. Esto podría por tanto, elevar el riesgo de complicaciones derivadas del uso de AEE (ictus, trombosis, infarto de miocardio, hipertensión arterial, etc). Desde el punto de vista de la respuesta eritropoyética, las dosis de paricalcitol superiores a 10 μg/semana no parecen recomendables. Shuja et al, encontraron beneficios sobre las necesidades de AEE pero tras dosis mayores de 30 mg/semana, informándose como segura en la ficha técnica, dosis hasta 40 mcg/semana.

El análisis de las diferencias entre el paricalcitol y el calcitriol sobre las dosis de los AEE, determinó que el la utilización del paricalcitol se asoció a un importante beneficio, llegando a precisar este grupo de pacientes un 56% menos de dosis de AEE que el grupo bajo tratamiento con calcitriol. Los pacientes eran comparables en los parámetros del metabolismo férrico y niveles de PTHi. Este beneficio fue independiente de las dosis de suplementos de hierro que fueron superiores en aquellos que recibieron calcitriol.

Este potencial beneficio se apreció también en los niveles de Hb, los cuales eran superiores en el grupo que recibió paricalcitol. Por lo tanto, de los datos de este estudio, se aprecia que pueden existir diferencias no sólo derivados de la interacción de los niveles elevados de 1,25 VD como se evaluó en el estudio MIR-EPO; sino que también, el uso de calcitriol se asoció a mayores necesidades de AEE en comparación con el paricalcitol.

En el estudio de Riccio et al., el uso de paricalcitol se asoció a un aumento de los niveles de Hb y sin embargo en aquellos que utilizaron calcitriol, los niveles disminuyeron. Estas diferencias podrían explicar las mayores necesidades de AEE y de suplementos de hierro en comparación con el uso de paricalcitol.

Afsar et al. (202), han reportado diferencias en el índice de resistencia a la eritropoyetina entre el paricalcitol, el calcitriol y el cinacalcet, datos que refuerzan nuestras observaciones.

Consideramos que la activación selectiva del receptor de vitamina D, su mejor perfil sobre la absorción intestinal de calcio, y las posibles diferencias relacionadas con la estimulación o inhibición del factor inducible por hipoxia podrían tener un rol en las diferencias observadas entre el calcitriol y el paricalcitol.

Todos los resultados mostrados en la presente tesis, evidencian que el tratamiento con paricalcitol muestra un potencial efecto beneficioso sobre la ferrocinética, asociado dicho efecto beneficioso al mejor perfil sobre los niveles de citoquinas inflamatorias y a la correcta respuesta a los cambios en la hepcidina, lo cual a su vez se asocia a una mejor utilización de los depósitos tisulares de hierro. Además, la disminución de los valores de hepcidina se asociaron a mayores niveles de Hb, esta correlación inversa se produce en aquellos pacientes en tratamiento con paricalcitol y concuerda con las propiedades atribuidas a la hepcidina, pero en los datos mostrados en la presente tesis, esto no se apreció en aquellos que no recibieron paricalcitol, lo que sugiere un fenómeno de bloqueo fisiológico a la disminución de la hepcidina en este grupo de pacientes. También se apreció en este último grupo, como el IST disminuyó a pesar de mantenerse estables las dosis de suplementos de hierro, que unido a la disminución de los niveles de ferritina plasmática, nos lleva a concluir el mayor consumo de hierro derivado de una actividad eritropoyética aumentada por las mayores dosis de AEE que precisa este grupo de pacientes, respecto al grupo con paricalcitol.

De forma opuesta, en el grupo de pacientes en tratamiento con paricalcitol, se apreció una correlación inversa entre los niveles de hepcidina y el número de hematíes, un aumento de los niveles de IST, a pesar de recibir similares dosis de Fe, lo cual añadido a la disminución de los niveles de ferritina nos indica que ha existido un aporte endógeno de hierro, o lo que es lo mismo, se ha inducido una movilización adecuada de los depósitos intracelulares de hierro, todo ello manteniendo constantes los niveles de hemoglobina plasmática.

Conviene mencionar además que la disminución de los niveles de hepcidina en el grupo de pacientes que recibió paricalcitol, presentó una evolución similar al grupo tratado sólo con AEE, grupo que precisó de una mayor dosis de AEE. La justificación de este hecho vendría determinada por la elevación de los niveles de eritropoyetina en los pacientes que recibieron paricalcitol, ya que como se demuestra en la presente tesis, es el nivel de eritropoyetina plasmática uno de los factores más importantes relacionados con la inhibición de la expresión de los niveles de hepcidina.

La presencia de unos mayores niveles de klotho en aquellos pacientes tratados con paricalcitol, podría representar una nueva propiedad en el tratamiento de la anemia renal. Se ha descrito que la eriptosis es un fenómeno que interviene en el desarrollo y mantenimiento de la anemia renal y el déficit de klotho, un factor asociado. De forma similar el déficit de hierro es otro factor asociado al proceso de eriptosis y se hemos observado que los cambios en el klotho, fueron potentes predictores de los cambios en el hierro libre. El déficit de eritropoyetina, es también un factor asociado a la muerte precoz los hematíes, en especial los eritrocitos jóvenes, fenómeno conocido como neocitolísis (203). Por tanto, se considera que en los pacientes en diálisis, la disminución de la vida media del hematíe podría tener un rol y medidas terapéuticas que mejoren estos déficits un potencial beneficio.

El consumo de AEE mostró como el grupo en tratamiento con paricalcitol precisó menores dosis de agentes eritropoyéticos respecto al grupo sin paricalcitol, para mantener niveles similares de Hb plasmática. Este efecto fue independiente de la administración de suplementos de hierro como se apreció en el estudio. La determinación de los niveles plasmáticos de eritropoyetina muestran como a lo largo del tiempo aquellos pacientes en tratamiento con paricalcitol, elevaron sus concentraciones plasmáticas, este efecto fue también independiente a la administración de AEE y de sus dosis, pues precisamente en este grupo de pacientes las dosis administradas fueron inferiores. La explicación a este fenómeno podría estar relacionada con una menor eliminación de las concentraciones plasmáticas de eritropoyetina o lo que parece más probable con una mayor síntesis endógena de la misma, favorecida por el potencial beneficio sobre la masa ósea y el equilibrio ácido base y el efecto sobre el factor inductor de hipoxia. La confirmación de este último punto podría influir sobre el clásico concepto de resistencia a la eritropoyetina.

El desarrollo de esta tesis como todos los trabajos de investigación tiene puntos fuertes y débiles y se enumeran continuación de forma separada:

Puntos fuertes:

Los pacientes evaluados, obtenidos del estudio MIR-EPO, fueron pacientes controlados dentro del ensayo, por lo que el uso de agentes eritropoyéticos y de suplementos de hierro fueron administrados según protocolo. Estos además fueron pacientes estables desde el punto de vista de las necesidades de AEE y de suplementos de hierro y en cuanto a sus niveles de Hb. Este estudio fue realizado en práctica clínica habitual.

El análisis de los marcadores asociados a la anemia no habituales en la práctica clínica, fueron realizados en un solo momento, lo que homogeniza los resultados y además el análisis fue ciego ya que las muestras estaban codificadas por el biobanco.

Puntos débiles:

Los pacientes incluidos en el estudio MIR-EPO, no iniciaron el tratamiento con paricalcitol al principio del estudio, por lo que no puede determinarse causalidad y además en este estudio en número de pacientes incluidos fue pequeño.

En los otros dos estudios, el carácter observacional disminuye la calidad de la evidencia científica.

En los estudios observacionales realizados, la ausencia de datos relacionados con el estado nutricional o inflamatorio para realizar un análisis ajustado de los las dosis necesarias de AEE en relación o no al haber recibido o no paricalcitol o calcitriol, disminuyen el grado de evidencia en los hallazgos encontrados.

VI. CONCLUSIONES

CONCLUSIONES

- Parece existir influencia entre los distintos metabolitos de la vitamina D en la respuesta eritropoyética en los pacientes en hemodiálisis.

- Los niveles de 25 VD adecuados para una respuesta adecuada eritropoyética parecen ser inferiores a las recomendadas para pacientes con ERC según las guías de nefrología actuales.

- La administración de suplementos de vitamina D no se asoció a beneficios sobre la respuesta eritropoyética.

- Los niveles de IL-6 y de hepcidina asociadas al desarrollo de la anemia inflamatoria no mostraron asociación ente ellas; sin embargo parecen reflejar el hierro utilizable para la eritropoyesis y los depósitos funcionales de hierro respectivamente.

- La influencia del metabolismo de la vitamina D sobre la respuesta eritropoyética estaría relacionada con el metabolismo férrico y las concentraciones de eritropoyetina plasmática.

- El uso de paricalcitol influyó favorablemente sobre el proceso eritropoyético mejorando la utilización del hierro y aumentando la producción endógena de eritropoyetina y favoreciendo su acción.

- El uso de paricalcitol se asoció a una importante estabilidad en los niveles de hemoglobina.

- Las dosis de paricalcitol comprendidas en el rango entre 5 a 10 μg/semana, se asociaron a un beneficio sobre la respuesta eritropoyética.

- Se apreciaron diferencias en la respuesta eritropoyética, entre el paricalcitol y el calcitriol.

- Las propiedades antiinflamatorias, junto con el aumento de niveles de eritropoyetina en los pacientes que reciben paricalcitol, confieren a éste un interesante papel como terapia coadyuvante en pacientes con anemia de características inflamatorias, como consecuencia de una mejor utilización del hierro y de la disminución de necesidades de agentes eritropoyéticos.

VII. BIBLIOGRAFÍA

1. Gamarra A RJ. Historia de la vitamina D. Rev Colomb Reumatol. 2005(12):11-32.
2. Estudios del Arte, Geografía e Historia. In: Baetica, editor.2005. p. 307 - 29.
3. JONES AR. Francis Glisson. J Bone Joint Surg Br. 1950;32-B(3):425-8.
4. Cooperberg AA, Singer OP. Reversible myelofibrosis due to vitamin D deficiency rickets. Can Med Assoc J. 1966;94(8):392-5.
5. Yetgin S, Ozsoylu S, Ruacan S, Tekinalp G, Sarialioğlu F. Vitamin D-deficiency rickets and myelofibrosis. J Pediatr. 1989;114(2):213-7.
6. Gruner BA, DeNapoli TS, Elshihabi S, Britton HA, Langevin AM, Thomas PJ, et al. Anemia and hepatosplenomegaly as presenting features in a child with rickets and secondary myelofibrosis. J Pediatr Hematol Oncol. 2003;25(10):813-5.
7. McKinley R, Kwan YL, Ford D, Lam-po-tang PR, Mason RS, Manoharan A. Clinical and laboratory studies of 1,25-dihydroxycholecalciferol in myelofibrosis. Br J Haematol. 1987;65(2):252-4.
8. Kraut JA, Kurtz I. Metabolic acidosis of CKD: diagnosis, clinical characteristics, and treatment. Am J Kidney Dis. 2005;45(6):978-93.
9. Afsar B, Elsurer R. Association between serum bicarbonate and pH with depression, cognition and sleep quality in hemodialysis patients. Ren Fail. 2015:1-4.
10. Dobre M, Yang W, Chen J, Drawz P, Hamm LL, Horwitz E, et al. Association of serum bicarbonate with risk of renal and cardiovascular outcomes in CKD: a report from the Chronic Renal Insufficiency Cohort (CRIC) study. Am J Kidney Dis. 2013;62(4):670-8.
11. Koizumi M, Komaba H, Fukagawa M. Parathyroid function in chronic kidney disease: role of FGF23-Klotho axis. Contrib Nephrol. 2013;180:110-23.
12. Wolf M. Update on fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease. Kidney Int. 2012;82(7):737-47.
13. Rotondi S, Pasquali M, Tartaglione L, Muci ML, Mandanici G, Leonangeli C, et al. Soluble α -Klotho Serum Levels in Chronic Kidney Disease. Int J Endocrinol. 2015;2015:872193.
14. Grossman C, Dovrish Z, Koren-Morag N, Bornstein G, Leibowitz A. Diabetes mellitus with normal renal function is associated with anaemia. Diabetes Metab Res Rev. 2014;30(4):291-6.
15. Mercadal L, Metzger M, Casadevall N, Haymann JP, Karras A, Boffa JJ, et al. Timing and determinants of erythropoietin deficiency in chronic kidney disease. Clin J Am Soc Nephrol. 2012;7(1):35-42.
16. Astor BC, Muntner P, Levin A, Eustace JA, Coresh J. Association of kidney function with anemia: the Third National Health and Nutrition Examination Survey (1988-1994). Arch Intern Med. 2002;162(12):1401-8.
17. Snyder JJ, Foley RN, Gilbertson DT, Vonesh EF, Collins AJ. Hemoglobin levels and erythropoietin doses in hemodialysis and peritoneal dialysis patients in the United States. J Am Soc Nephrol. 2004;15(1):174-9.

18. Migliaccio AR, Migliaccio G. The making of an erythroid cell. Molecular control of hematopoiesis. Biotherapy. 1998;10(4):251-68.
19. López Gastón JI, Martín J, Bertol V, Errea JM, Pina MA. [The evaluation of cognitive deterioration in transient ischemic attacks]. Neurologia. 1993;8(6):171-6.
20. Koall W, Schäbitz J, Kunsch R, Nilius R. [Thromboembolism risk factors in kidney transplant patients with secondary erythrocytosis in relation to hemorheologic aspects]. Z Gesamte Inn Med. 1988;43(17):474-7.
21. Hillman RS FC. Red Cell Manual. In: Company D, editor. 7th Ed. Philadelphia ed1996.
22. Jensen JD, Madsen JK, Jensen LW, Pedersen EB. Reduced production, absorption, and elimination of erythropoietin in uremia compared with healthy volunteers. J Am Soc Nephrol. 1994;5(2):177-85.
23. Bondurant MC, Koury MJ. Anemia induces accumulation of erythropoietin mRNA in the kidney and liver. Mol Cell Biol. 1986;6(7):2731-3.
24. Kurtz A, Jelkmann W, Pfuhl A, Malmström K, Bauer C. Erythropoietin production by fetal mouse liver cells in response to hypoxia and adenylate cyclase stimulation. Endocrinology. 1986;118(2):567-72.
25. Gordon AS, Naughton BA. Mechanisms of extrarenal erythropoietin (Ep) production. Exp Hematol. 1980;8 Suppl 8:14-28.
26. Liu P, Naughton BA, Kolks GA, Kruger RE, Piliero SJ, Gordon AS. Hepatic erythropoietin (Ep) production following double partial hepatectomy in the rat. J Surg Oncol. 1980;15(2):121-32.
27. Peschle C, Marone G, Genovese A, Magli C, Condorelli M. Hepatic erythropoietin: enhanced production in anephric rats with hyperplasia of Kupffer cells. Br J Haematol. 1976;32(1):105-11.
28. Simon P, Boffa G, Ang KS, Menault M. [Polycythaemia in a haemodialyzed anephric patient with hepatitis. Demonstration of erythropoietin secretion (author's transl)]. Nouv Presse Med. 1982;11(18):1401-3.
29. Babitt JL, Lin HY. Mechanisms of anemia in CKD. J Am Soc Nephrol. 2012;23(10):1631-4.
30. Eschbach JW, Egrie JC, Downing MR, Browne JK, Adamson JW. Correction of the anemia of end-stage renal disease with recombinant human erythropoietin. Results of a combined phase I and II clinical trial. N Engl J Med. 1987;316(2):73-8.
31. Regidor DL, Kopple JD, Kovesdy CP, Kilpatrick RD, McAllister CJ, Aronovitz J, et al. Associations between changes in hemoglobin and administered erythropoiesis-stimulating agent and survival in hemodialysis patients. J Am Soc Nephrol. 2006;17(4):1181-91.
32. Panichi V, Rosati A, Bigazzi R, Paoletti S, Mantuano E, Beati S, et al. Anaemia and resistance to erythropoiesis-stimulating agents as prognostic factors in haemodialysis patients: results from the RISCAVID study. Nephrol Dial Transplant. 2011;26(8):2641-8.
33. Nissenson AR, Strobos J. Iron deficiency in patients with renal failure. Kidney Int Suppl. 1999;69:S18-21.
34. Nolan KA, Brennan EP, Scholz CC, Cullen C, Ryan A, Taylor CT, et al. Paricalcitol protects against TGF-β1-induced fibrotic responses in hypoxia and stabilises HIF-α in renal epithelia. Exp Cell Res. 2015;330(2):371-81.
35. Rao DS, Shih MS, Mohini R. Effect of serum parathyroid hormone and bone marrow fibrosis on the response to erythropoietin in uremia. N Engl J Med. 1993;328(3):171-5.

36. Yasunaga C, Matsuo K, Yanagida T, Matsuo S, Nakamoto M, Goya T. Early effects of parathyroidectomy on erythropoietin production in secondary hyperparathyroidism. Am J Surg. 2002;183(2):199-204.
37. Bogin E, Massry SG, Levi J, Djaldeti M, Bristol G, Smith J. Effect of parathyroid hormone on osmotic fragility of human erythrocytes. J Clin Invest. 1982;69(4):1017-25.
38. Brautbar N, Chakraborty J, Coats J, Massry SG. Calcium, parathyroid hormone and phospholipid turnover of human red blood cells. Miner Electrolyte Metab. 1985;11(2):111-6.
39. Malachi T, Bogin E, Gafter U, Levi J. Parathyroid hormone effect on the fragility of human young and old red blood cells in uremia. Nephron. 1986;42(1):52-7.
40. Russo D, Morrone L, Di Iorio B, Andreucci M, De Gregorio MG, Errichiello C, et al. Parathyroid hormone may be an early predictor of low serum hemoglobin concentration in patients with not advanced stages of chronic kidney disease. J Nephrol. 2014.
41. Zingraff J, Drüeke T, Marie P, Man NK, Jungers P, Bordier P. Anemia and secondary hyperparathyroidism. Arch Intern Med. 1978;138(11):1650-2.
42. Barbour GL. Effect of parathyroidectomy on anemia in chronic renal failure. Arch Intern Med. 1979;139(8):889-91.
43. Mandolfo S, Malberti F, Farina M, Villa G, Scanziani R, Surian M, et al. Parathyroidectomy and response to erythropoietin therapy in anaemic patients with chronic renal failure. Nephrol Dial Transplant. 1998;13(10):2708-9.
44. Gravesen E, Hofman-Bang J, Mace ML, Lewin E, Olgaard K. High dose intravenous iron, mineral homeostasis and intact FGF23 in normal and uremic rats. BMC Nephrol. 2013;14:281.
45. Prats M, Font R, García C, Cabré C, Jariod M, Vea AM. Effect of ferric carboxymaltose on serum phosphate and C-terminal FGF23 levels in non-dialysis chronic kidney disease patients: post-hoc analysis of a prospective study. BMC Nephrol. 2013;14:167.
46. Papanicolaou DA, Wilder RL, Manolagas SC, Chrousos GP. The pathophysiologic roles of interleukin-6 in human disease. Ann Intern Med. 1998;128(2):127-37.
47. Coyne DW, Kapoian T, Suki W, Singh AK, Moran JE, Dahl NV, et al. Ferric gluconate is highly efficacious in anemic hemodialysis patients with high serum ferritin and low transferrin saturation: results of the Dialysis Patients' Response to IV Iron with Elevated Ferritin (DRIVE) Study. J Am Soc Nephrol. 2007;18(3):975-84.
48. Kuo KL, Hung SC, Wei YH, Tarng DC. Intravenous iron exacerbates oxidative DNA damage in peripheral blood lymphocytes in chronic hemodialysis patients. J Am Soc Nephrol. 2008;19(9):1817-26.
49. Rostoker G, Griuncelli M, Loridon C, Magna T, Machado G, Drahi G, et al. Reassessment of Iron Biomarkers for Prediction of Dialysis Iron Overload: An MRI Study. PLoS One. 2015;10(7):e0132006.
50. Bavbek N, Yilmaz H, Erdemli HK, Selcuki Y, Duranay M, Akçay A. Correlation between iron stores and QTc dispersion in chronic ambulatory peritoneal dialysis patients. Ren Fail. 2014;36(2):187-90.
51. Fishbane S, Mathew A, Vaziri ND. Iron toxicity: relevance for dialysis patients. Nephrol Dial Transplant. 2014;29(2):255-9.
52. Kletzmayr J, Hörl WH. Iron overload and cardiovascular complications in dialysis patients. Nephrol Dial Transplant. 2002;17 Suppl 2:25-9.

53. Birx DL, Redfield RR, Tencer K, Fowler A, Burke DS, Tosato G. Induction of interleukin-6 during human immunodeficiency virus infection. Blood. 1990;76(11):2303-10.
54. Novotny NM, Markel TA, Crisostomo PR, Meldrum DR. Differential IL-6 and VEGF secretion in adult and neonatal mesenchymal stem cells: role of NFkB. Cytokine. 2008;43(2):215-9.
55. Xing Z, Gauldie J, Cox G, Baumann H, Jordana M, Lei XF, et al. IL-6 is an antiinflammatory cytokine required for controlling local or systemic acute inflammatory responses. J Clin Invest. 1998;101(2):311-20.
56. Tosato G, Jones KD. Interleukin-1 induces interleukin-6 production in peripheral blood monocytes. Blood. 1990;75(6):1305-10.
57. Raj DS. Role of interleukin-6 in the anemia of chronic disease. Semin Arthritis Rheum. 2009;38(5):382-8.
58. Weiss G, Goodnough LT. Anemia of chronic disease. N Engl J Med. 2005;352(10):1011-23.
59. Malyszko J, Mysliwiec M. Hepcidin in anemia and inflammation in chronic kidney disease. Kidney Blood Press Res. 2007;30(1):15-30.
60. Malyszko J, Malyszko JS, Pawlak K, Mysliwiec M. Hepcidin, iron status, and renal function in chronic renal failure, kidney transplantation, and hemodialysis. Am J Hematol. 2006;81(11):832-7.
61. Eleftheriadis T, Liakopoulos V, Antoniadi G, Kartsios C, Stefanidis I. The role of hepcidin in iron homeostasis and anemia in hemodialysis patients. Semin Dial. 2009;22(1):70-7.
62. Hsu SP, Chiang CK, Chien CT, Hung KY. Plasma prohepcidin positively correlates with hematocrit in chronic hemodialysis patients. Blood Purif. 2006;24(3):311-6.
63. Kato A, Tsuji T, Luo J, Sakao Y, Yasuda H, Hishida A. Association of prohepcidin and hepcidin-25 with erythropoietin response and ferritin in hemodialysis patients. Am J Nephrol. 2008;28(1):115-21.
64. Macdougall IC. Strategies for iron supplementation: oral versus intravenous. Kidney Int Suppl. 1999;69:S61-6.
65. Carvalho C, Isakova T, Collerone G, Olbina G, Wolf M, Westerman M, et al. Hepcidin and disordered mineral metabolism in chronic kidney disease. Clin Nephrol. 2011;76(2):90-8.
66. Goch J, Birgegård G, Danielson BG, Wikström B. Iron absorption in patients with chronic uremia on maintenance hemodialysis and in healthy volunteers measured with a simple oral iron load test. Nephron. 1996;73(3):403-6.
67. Langston RD, Presley R, Flanders WD, McClellan WM. Renal insufficiency and anemia are independent risk factors for death among patients with acute myocardial infarction. Kidney Int. 2003;64(4):1398-405.
68. Warady BA, Ho M. Morbidity and mortality in children with anemia at initiation of dialysis. Pediatr Nephrol. 2003;18(10):1055-62.
69. Hörl WH. Anaemia management and mortality risk in chronic kidney disease. Nat Rev Nephrol. 2013;9(5):291-301.
70. Mohanram A, Zhang Z, Shahinfar S, Keane WF, Brenner BM, Toto RD. Anemia and end-stage renal disease in patients with type 2 diabetes and nephropathy. Kidney Int. 2004;66(3):1131-8.
71. Garlo K, Williams D, Lucas L, Wong R, Botler J, Abramson S, et al. Severity of Anemia Predicts Hospital Length of Stay but Not Readmission in Patients with

Chronic Kidney Disease: A Retrospective Cohort Study. Medicine (Baltimore). 2015;94(25):e964.
72. Kamar N, Rostaing L, Ignace S, Villar E. Impact of post-transplant anemia on patient and graft survival rates after kidney transplantation: a meta-analysis. Clin Transplant. 2012;26(3):461-9.
73. Martin-Lester M. Cognitive function in dialysis patients. Case study of the anemic patient. ANNA J. 1997;24(3):359-65; quiz 66.
74. Kuo KL, Hung SC, Lin YP, Tang CF, Lee TS, Lin CP, et al. Intravenous ferric chloride hexahydrate supplementation induced endothelial dysfunction and increased cardiovascular risk among hemodialysis patients. PLoS One. 2012;7(12):e50295.
75. Kumbasar A, Gursu M, Kaya C, Ozturk S, Ergen A, Kemik A, et al. The effect of different doses and types of intravenous iron on oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients. J Nephrol. 2012;25(5):825-32.
76. Wetmore JB, Peng Y, Monda KL, Kats AM, Kim DH, Bradbury BD, et al. Trends in anemia management practices in patients receiving hemodialysis and peritoneal dialysis: a retrospective cohort analysis. Am J Nephrol. 2015;41(4-5):354-61.
77. Morris KP, Sharp J, Watson S, Coulthard MG. Non-cardiac benefits of human recombinant erythropoietin in end stage renal failure and anaemia. Arch Dis Child. 1993;69(5):580-6.
78. Massimetti C, Pontillo D, Feriozzi S, Costantini S, Capezzuto A, Ancarani E. Impact of recombinant human erythropoietin treatment on left ventricular hypertrophy and cardiac function in dialysis patients. Blood Purif. 1998;16(6):317-24.
79. Temple RM, Deary IJ, Winney RJ. Recombinant erythropoietin improves cognitive function in patients maintained on chronic ambulatory peritoneal dialysis. Nephrol Dial Transplant. 1995;10(9):1733-8.
80. Inrig JK, Barnhart HX, Reddan D, Patel UD, Sapp S, Califf RM, et al. Effect of hemoglobin target on progression of kidney disease: a secondary analysis of the CHOIR (Correction of Hemoglobin and Outcomes in Renal Insufficiency) trial. Am J Kidney Dis. 2012;60(3):390-401.
81. Pfeffer MA, Burdmann EA, Chen CY, Cooper ME, de Zeeuw D, Eckardt KU, et al. A trial of darbepoetin alfa in type 2 diabetes and chronic kidney disease. N Engl J Med. 2009;361(21):2019-32.
82. Henke M, Laszig R, Rübe C, Schäfer U, Haase KD, Schilcher B, et al. Erythropoietin to treat head and neck cancer patients with anaemia undergoing radiotherapy: randomised, double-blind, placebo-controlled trial. Lancet. 2003;362(9392):1255-60.
83. Hassouna I, Sperling S, Kim E, Schulz-Schaeffer W, Rave-Fränk M, Hasselblatt M, et al. Erythropoietin augments survival of glioma cells after radiation and temozolomide. Int J Radiat Oncol Biol Phys. 2008;72(3):927-34.
84. Steinbrook R. Medicare and erythropoietin. N Engl J Med. 2007;356(1):4-6.
85. Perlstein TS, Weuve J, Pfeffer MA, Beckman JA. Red blood cell distribution width and mortality risk in a community-based prospective cohort. Arch Intern Med. 2009;169(6):588-94.
86. Lönnberg M, Garle M, Lönnberg L, Birgegård G. Patients with anaemia can shift from kidney to liver production of erythropoietin as shown by glycoform analysis. J Pharm Biomed Anal. 2013;81-82:187-92.
87. Bernhardt WM, Wiesener MS, Scigalla P, Chou J, Schmieder RE, Günzler V, et al. Inhibition of prolyl hydroxylases increases erythropoietin production in ESRD. J Am Soc Nephrol. 2010;21(12):2151-6.

88. Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. Am J Kidney Dis. 1998;31(4):607-17.
89. Felsenfeld AJ, Levine BS, Rodriguez M. Pathophysiology of Calcium, Phosphorus, and Magnesium Dysregulation in Chronic Kidney Disease. Semin Dial. 2015.
90. Yoo KD, Kang S, Choi Y, Yang SH, Heo NJ, Chin HJ, et al. Sex, Age, and the Association of Serum Phosphorus With All-Cause Mortality in Adults With Normal Kidney Function. Am J Kidney Dis. 2015.
91. Toussaint ND, Pedagogos E, Tan SJ, Badve SV, Hawley CM, Perkovic V, et al. Phosphate in early chronic kidney disease: associations with clinical outcomes and a target to reduce cardiovascular risk. Nephrology (Carlton). 2012;17(5):433-44.
92. Yamashita T, Konishi M, Miyake A, Inui K, Itoh N. Fibroblast growth factor (FGF)-23 inhibits renal phosphate reabsorption by activation of the mitogen-activated protein kinase pathway. J Biol Chem. 2002;277(31):28265-70.
93. Siomou E, Stefanidis CJ. FGF-23 in children with CKD: a new player in the development of CKD-mineral and bone disorder. Nephrol Dial Transplant. 2012;27(12):4259-62.
94. Toto RD. From Phosphaturia to Cardiovascular Protection: Is FGF-23 the Heart of the Matter? Circulation. 2015.
95. Koller L, Kleber ME, Brandenburg VM, Goliasch G, Richter B, Sulzgruber P, et al. Fibroblast Growth Factor 23 Is an Independent and Specific Predictor of Mortality in Patients With Heart Failure and Reduced Ejection Fraction. Circ Heart Fail. 2015.
96. Levin A, Bakris GL, Molitch M, Smulders M, Tian J, Williams LA, et al. Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. Kidney Int. 2007;71(1):31-8.
97. Zia AA, Kamalov G, Newman KP, McGee JE, Bhattacharya SK, Ahokas RA, et al. From aldosteronism to oxidative stress: the role of excessive intracellular calcium accumulation. Hypertens Res. 2010;33(11):1091-101.
98. 10 Medical Breakthroughs. TIME MAGAZINE. 2007:170.
99. Holick MF. The vitamin D deficiency pandemic and consequences for nonskeletal health: mechanisms of action. Mol Aspects Med. 2008;29(6):361-8.
100. Yu S, Cantorna MT. Epigenetic reduction in invariant NKT cells following in utero vitamin D deficiency in mice. J Immunol. 2011;186(3):1384-90.
101. Zhang X, Ho SM. Epigenetics meets endocrinology. J Mol Endocrinol. 2011;46(1):R11-32.
102. Nimitphong H, Holick MF, Fried SK, Lee MJ. 25-hydroxyvitamin D_3 and 1,25-dihydroxyvitamin D_3 promote the differentiation of human subcutaneous preadipocytes. PLoS One. 2012;7(12):e52171.
103. Lou YR, Laaksi I, Syvälä H, Bläuer M, Tammela TL, Ylikomi T, et al. 25-hydroxyvitamin D3 is an active hormone in human primary prostatic stromal cells. FASEB J. 2004;18(2):332-4.
104. Grigalavicius M, Moan J, Dahlback A, Juzeniene A. Vitamin D and ultraviolet phototherapy in Caucasians. J Photochem Photobiol B. 2015;147:69-74.
105. Holick MF. Vitamin D deficiency. N Engl J Med. 2007;357(3):266-81.
106. Ross AC, Manson JE, Abrams SA, Aloia JF, Brannon PM, Clinton SK, et al. The 2011 report on dietary reference intakes for calcium and vitamin D from the

Institute of Medicine: what clinicians need to know. J Clin Endocrinol Metab. 2011;96(1):53-8.
107. Durup D, Jørgensen HL, Christensen J, Tjønneland A, Olsen A, Halkjær J, et al. A Reverse J-Shaped Association Between Serum 25-Hydroxyvitamin D and Cardiovascular Disease Mortality: The CopD Study. J Clin Endocrinol Metab. 2015;100(6):2339-46.
108. Tuohimaa P, Keisala T, Minasyan A, Cachat J, Kalueff A. Vitamin D, nervous system and aging. Psychoneuroendocrinology. 2009;34 Suppl 1:S278-86.
109. BRANSBY ER, BERRY WT, TAYLOR DM. STUDY OF THE VITAMIN-D INTAKES OF INFANTS IN 1960. Br Med J. 1964;1(5399):1661-3.
110. Markestad T, Hesse V, Siebenhuner M, Jahreis G, Aksnes L, Plenert W, et al. Intermittent high-dose vitamin D prophylaxis during infancy: effect on vitamin D metabolites, calcium, and phosphorus. Am J Clin Nutr. 1987;46(4):652-8.
111. Oliveri B, Cassinelli H, Mautalen C, Ayala M. Vitamin D prophylaxis in children with a single dose of 150000 IU of vitamin D. Eur J Clin Nutr. 1996;50(12):807-10.
112. Rönnefarth G, Misselwitz J. Nephrocalcinosis in children: a retrospective survey. Members of the Arbeitsgemeinschaft für pädiatrische Nephrologie. Pediatr Nephrol. 2000;14(10-11):1016-21.
113. Llauradó G, Megia A, Cano A, Giménez-Palop O, Simón I, González-Sastre M, et al. FGF-23/Vitamin D Axis in Type 1 Diabetes: The Potential Role of Mineral Metabolism in Arterial Stiffness. PLoS One. 2015;10(10):e0140222.
114. Sprague SM, Wetmore JB, Gurevich K, Da Roza G, Buerkert J, Reiner M, et al. Effect of Cinacalcet and Vitamin D Analogs on Fibroblast Growth Factor-23 during the Treatment of Secondary Hyperparathyroidism. Clin J Am Soc Nephrol. 2015;10(6):1021-30.
115. Komaba H. [CKD-MBD (Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder). Role of FGF23-Klotho axis in CKD-MBD]. Clin Calcium. 2010;20(7):1028-36.
116. Komaba H, Fukagawa M. Vitamin D and secreted Klotho: a long-awaited panacea for vascular calcification? Kidney Int. 2012;82(12):1248-50.
117. Nakai K, Komaba H, Fukagawa M. New insights into the role of fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease. J Nephrol. 2010;23(6):619-25.
118. Moore DD. Physiology. Sister act. Science. 2007;316(5830):1436-8.
119. Ashikaga E, Honda H, Suzuki H, Hosaka N, Hirai Y, Sanada D, et al. Impact of fibroblast growth factor 23 on lipids and atherosclerosis in hemodialysis patients. Ther Apher Dial. 2010;14(3):315-22.
120. Bian A, Neyra JA, Zhan M, Hu MC. Klotho, stem cells, and aging. Clin Interv Aging. 2015;10:1233-43.
121. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. Nature. 1997;390(6655):45-51.
122. Sawires HK, Essam RM, Morgan MF, Mahmoud RA. Serum klotho: relation to fibroblast growth factor-23 and other regulators of phosphate metabolism in children with chronic kidney disease. Nephron. 2015;129(4):293-9.
123. Hu MC, Shi M, Cho HJ, Adams-Huet B, Paek J, Hill K, et al. Klotho and phosphate are modulators of pathologic uremic cardiac remodeling. J Am Soc Nephrol. 2015;26(6):1290-302.

124. Park MY, Herrmann SM, Saad A, Eirin A, Tang H, Lerman A, et al. Biomarkers of kidney injury and klotho in patients with atherosclerotic renovascular disease. Clin J Am Soc Nephrol. 2015;10(3):443-51.
125. Vervloet MG, Adema AY, Larsson TE, Massy ZA. The role of klotho on vascular calcification and endothelial function in chronic kidney disease. Semin Nephrol. 2014;34(6):578-85.
126. Lang E, Qadri SM, Lang F. Killing me softly - suicidal erythrocyte death. Int J Biochem Cell Biol. 2012;44(8):1236-43.
127. Kempe DS, Ackermann TF, Fischer SS, Koka S, Boini KM, Mahmud H, et al. Accelerated suicidal erythrocyte death in Klotho-deficient mice. Pflugers Arch. 2009;458(3):503-12.
128. Lang F, Qadri SM. Mechanisms and significance of eryptosis, the suicidal death of erythrocytes. Blood Purif. 2012;33(1-3):125-30.
129. Nykjaer A, Dragun D, Walther D, Vorum H, Jacobsen C, Herz J, et al. An endocytic pathway essential for renal uptake and activation of the steroid 25-(OH) vitamin D3. Cell. 1999;96(4):507-15.
130. Nangaku M. Chronic hypoxia and tubulointerstitial injury: a final common pathway to end-stage renal failure. J Am Soc Nephrol. 2006;17(1):17-25.
131. Souza AC, Volpini RA, Shimizu MH, Sanches TR, Camara NO, Semedo P, et al. Erythropoietin prevents sepsis-related acute kidney injury in rats by inhibiting NF-κB and upregulating endothelial nitric oxide synthase. Am J Physiol Renal Physiol. 2012;302(8):F1045-54.
132. Nakazawa Y, Nishino T, Obata Y, Nakazawa M, Furusu A, Abe K, et al. Recombinant human erythropoietin attenuates renal tubulointerstitial injury in murine adriamycin-induced nephropathy. J Nephrol. 2013;26(3):527-33.
133. Dardashti A, Ederoth P, Algotsson L, Brondén B, Grins E, Larsson M, et al. Erythropoietin and protection of renal function in cardiac surgery (the EPRICS Trial). Anesthesiology. 2014;121(3):582-90.
134. van Rijt WG, van Goor H, Ploeg RJ, Leuvenink HG. Erythropoietin-mediated protection in kidney transplantation: nonerythropoietic EPO derivatives improve function without increasing risk of cardiovascular events. Transpl Int. 2014;27(3):241-8.
135. Alon DB, Chaimovitz C, Dvilansky A, Lugassy G, Douvdevani A, Shany S, et al. Novel role of 1,25(OH)(2)D(3) in induction of erythroid progenitor cell proliferation. Exp Hematol. 2002;30(5):403-9.
136. Kizaki M, Norman AW, Bishop JE, Lin CW, Karmakar A, Koeffler HP. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 receptor RNA: expression in hematopoietic cells. Blood. 1991;77(6):1238-47.
137. Blazsek I, Farabos C, Quittet P, Labat ML, Bringuier AF, Triana BK, et al. Bone marrow stromal cell defects and 1 alpha,25-dihydroxyvitamin D3 deficiency underlying human myeloid leukemias. Cancer Detect Prev. 1996;20(1):31-42.
138. Rankin EB, Wu C, Khatri R, Wilson TL, Andersen R, Araldi E, et al. The HIF signaling pathway in osteoblasts directly modulates erythropoiesis through the production of EPO. Cell. 2012;149(1):63-74.
139. McIntyre CW, Schroeder NJ, Burrin JM, Cunningham J. Effects of new analogues of vitamin D on bone cells: implications for treatment of uremic bone disease. Kidney Int. 1999;55(2):500-11.
140. Shalhoub V, Shatzen EM, Ward SC, Young JI, Boedigheimer M, Twehues L, et al. Chondro/osteoblastic and cardiovascular gene modulation in human artery

smooth muscle cells that calcify in the presence of phosphate and calcitriol or paricalcitol. J Cell Biochem. 2010;111(4):911-21.
141. Lee MY, Fukunaga R, Lee TJ, Lottsfeldt JL, Nagata S. Bone modulation in sustained hematopoietic stimulation in mice. Blood. 1991;77(10):2135-41.
142. Hiram-Bab S, Liron T, Deshet-Unger N, Mittelman M, Gassmann M, Rauner M, et al. Erythropoietin directly stimulates osteoclast precursors and induces bone loss. FASEB J. 2015;29(5):1890-900.
143. Takenaka T, Itaya Y, Ishikawa I, Kobayashi K, Tsuchiya Y. Skeletal effects of erythropoietin in hemodialysis patients. Int Urol Nephrol. 2003;35(3):407-13.
144. Izquierdo MJ, Cavia M, Muñiz P, de Francisco AL, Arias M, Santos J, et al. Paricalcitol reduces oxidative stress and inflammation in hemodialysis patients. BMC Nephrol. 2012;13:159.
145. Sun X, Zemel MB. Calcium and 1,25-dihydroxyvitamin D3 regulation of adipokine expression. Obesity (Silver Spring). 2007;15(2):340-8.
146. De Lima GA, Mazzali M, Gentil AF, Plotegher L, Grotto HZ. Anemia in chronic renal disease: evaluation of inflammatory activity on erythropoiesis and iron metabolism in patients not submitted to dialysis treatment. Clin Lab. 2012;58(7-8):695-704.
147. Icardi A, Paoletti E, De Nicola L, Mazzaferro S, Russo R, Cozzolino M. Renal anaemia and EPO hyporesponsiveness associated with vitamin D deficiency: the potential role of inflammation. Nephrol Dial Transplant. 2013;28(7):1672-9.
148. Jamali Z, Arababadi MK, Asadikaram G. Serum Levels of IL-6, IL-10, IL-12, IL-17 and IFN-γ and Their Association with Markers of Bone Metabolism in Vitamin D-Deficient Female Students. Inflammation. 2013;36(1):164-8.
149. Giulietti A, van Etten E, Overbergh L, Stoffels K, Bouillon R, Mathieu C. Monocytes from type 2 diabetic patients have a pro-inflammatory profile. 1,25-Dihydroxyvitamin D(3) works as anti-inflammatory. Diabetes Res Clin Pract. 2007;77(1):47-57.
150. Park JW, Bae EH, Kim IJ, Ma SK, Choi C, Lee J, et al. Renoprotective effects of paricalcitol on gentamicin-induced kidney injury in rats. Am J Physiol Renal Physiol. 2010;298(2):F301-13.
151. Suh SH, Lee KE, Park JW, Kim IJ, Kim O, Kim CS, et al. Antiapoptotic Effect of Paricalcitol in Gentamicin-induced Kidney Injury. Korean J Physiol Pharmacol. 2013;17(5):435-40.
152. Alborzi P, Patel NA, Peterson C, Bills JE, Bekele DM, Bunaye Z, et al. Paricalcitol reduces albuminuria and inflammation in chronic kidney disease: a randomized double-blind pilot trial. Hypertension. 2008;52(2):249-55.
153. Stubbs JR, Idiculla A, Slusser J, Menard R, Quarles LD. Cholecalciferol supplementation alters calcitriol-responsive monocyte proteins and decreases inflammatory cytokines in ESRD. J Am Soc Nephrol. 2010;21(2):353-61.
154. Bacchetta J, Zaritsky JJ, Sea JL, Chun RF, Lisse TS, Zavala K, et al. Suppression of iron-regulatory hepcidin by vitamin D. J Am Soc Nephrol. 2014;25(3):564-72.
155. Sim JJ, Lac PT, Liu IL, Meguerditchian SO, Kumar VA, Kujubu DA, et al. Vitamin D deficiency and anemia: a cross-sectional study. Ann Hematol. 2010;89(5):447-52.
156. Han SS, Kim M, Kim H, Lee SM, Oh YJ, Lee JP, et al. Non-linear relationship between serum 25-hydroxyvitamin D and hemoglobin in Korean females: the Korean National Health and Nutrition Examination Survey 2010-2011. PLoS One. 2013;8(8):e72605.

157. Kiss Z, Ambrus C, Almasi C, Berta K, Deak G, Horonyi P, et al. Serum 25(OH)-cholecalciferol concentration is associated with hemoglobin level and erythropoietin resistance in patients on maintenance hemodialysis. Nephron Clin Pract. 2011;117(4):c373-8.
158. Agarwal N, Prchal JT. Erythropoietic agents and the elderly. Semin Hematol. 2008;45(4):267-75.
159. Rattanasompattikul M, Molnar MZ, Zaritsky JJ, Hatamizadeh P, Jing J, Norris KC, et al. Association of malnutrition-inflammation complex and responsiveness to erythropoiesis-stimulating agents in long-term hemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant. 2013.
160. Mallick S, Rafiroiu A, Kanthety R, Iqbal S, Malik R, Rahman M. Factors predicting erythropoietin resistance among maintenance hemodialysis patients. Blood Purif. 2012;33(4):238-44.
161. Taylor JE, Peat N, Porter C, Morgan AG. Regular low-dose intravenous iron therapy improves response to erythropoietin in haemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant. 1996;11(6):1079-83.
162. Albitar S, Genin R, Fen-Chong M, Serveaux MO, Schohn D, Chuet C. High-dose alfacalcidol improves anaemia in patients on haemodialysis. Nephrol Dial Transplant. 1997;12(3):514-8.
163. Saab G, Young DO, Gincherman Y, Giles K, Norwood K, Coyne DW. Prevalence of vitamin D deficiency and the safety and effectiveness of monthly ergocalciferol in hemodialysis patients. Nephron Clin Pract. 2007;105(3):c132-8.
164. Kumar VA, Kujubu DA, Sim JJ, Rasgon SA, Yang PS. Vitamin D supplementation and recombinant human erythropoietin utilization in vitamin D-deficient hemodialysis patients. J Nephrol. 2011;24(1):98-105.
165. Goicoechea M, Vazquez MI, Ruiz MA, Gomez-Campdera F, Perez-García R, Valderrábano F. Intravenous calcitriol improves anaemia and reduces the need for erythropoietin in haemodialysis patients. Nephron. 1998;78(1):23-7.
166. Shuja SB, Raja RM. Severe hyperparathyroidism despite paricalcitol therapy: one-year follow-up. Adv Perit Dial. 2003;19:231-5.
167. Capuano A, Serio V, Pota A, Memoli B, Andreucci VE. Beneficial effects of better control of secondary hyperparathyroidism with paricalcitol in chronic dialysis patients. J Nephrol. 2009;22(1):59-68.
168. Coyne DW, Goldberg S, Faber M, Ghossein C, Sprague SM. A randomized multicenter trial of paricalcitol versus calcitriol for secondary hyperparathyroidism in stages 3-4 CKD. Clin J Am Soc Nephrol. 2014;9(9):1620-6.
169. Matias PJ, Jorge C, Ferreira C, Borges M, Aires I, Amaral T, et al. Cholecalciferol supplementation in hemodialysis patients: effects on mineral metabolism, inflammation, and cardiac dimension parameters. Clin J Am Soc Nephrol. 2010;5(5):905-11.
170. Kroll MH, Bi C, Garber CC, Kaufman HW, Liu D, Caston-Balderrama A, et al. Temporal relationship between vitamin D status and parathyroid hormone in the United States. PLoS One. 2015;10(3):e0118108.
171. Lips P, van Schoor NM, de Jongh RT. Diet, sun, and lifestyle as determinants of vitamin D status. Ann N Y Acad Sci. 2014;1317:92-8.
172. Porter A, Gilmartin C, Srisakul U, Arruda J, Akkina S. Prevalence of 25-OH vitamin D deficiency in a population of hemodialysis patients and efficacy of an oral ergocalciferol supplementation regimen. Am J Nephrol. 2013;37(6):568-74.
173. Walczyk T, Muthayya S, Wegmüller R, Thankachan P, Sierksma A, Frenken LG, et al. Inhibition of iron absorption by calcium is modest in an iron-fortified,

casein- and whey-based drink in Indian children and is easily compensated for by addition of ascorbic acid. J Nutr. 2014;144(11):1703-9.
174. Ziegler EE. Consumption of cow's milk as a cause of iron deficiency in infants and toddlers. Nutr Rev. 2011;69 Suppl 1:S37-42.
175. Wish JB. Assessing iron status: beyond serum ferritin and transferrin saturation. Clin J Am Soc Nephrol. 2006;1 Suppl 1:S4-8.
176. Fishbane S. Review of issues relating to iron and infection. Am J Kidney Dis. 1999;34(4 Suppl 2):S47-52.
177. Riccio E, Sabbatini M, Bruzzese D, Capuano I, Migliaccio S, Andreucci M, et al. Effect of Paricalcitol vs Calcitriol on Hemoglobin Levels in Chronic Kidney Disease Patients: A Randomized Trial. PLoS One. 2015;10(3):e0118174.
178. Uriol Rivera M, Luque-Ramirez M, Manuel. Jimenez Mendoza, Sonia, et al. Influencia de los análogos de la vitamina D en la dosis de C.E.R.A. enpacientes con enfermedad renal crónica no en diálisis. In: Nefrologia ROdlSEd, editor. XLI Congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología ed2011. p. Vol 31, Suplemento 2, página 60.
179. Battistella M, Richardson RM, Bargman JM, Chan CT. Improved parathyroid hormone control by cinacalcet is associated with reduction in darbepoetin requirement in patients with end-stage renal disease. Clin Nephrol. 2011;76(2):99-103.
180. Trunzo JA, McHenry CR, Schulak JA, Wilhelm SM. Effect of parathyroidectomy on anemia and erythropoietin dosing in end-stage renal disease patients with hyperparathyroidism. Surgery. 2008;144(6):915-8; discussion 9.
181. Sulowicz W, Locatelli F, Ryckelynck JP, Balla J, Csiky B, Harris K, et al. Once-monthly subcutaneous C.E.R.A. maintains stable hemoglobin control in patients with chronic kidney disease on dialysis and converted directly from epoetin one to three times weekly. Clin J Am Soc Nephrol. 2007;2(4):637-46.
182. Donate-Correa J, Domínguez-Pimentel V, Méndez-Pérez ML, Muros-de-Fuentes M, Mora-Fernández C, Martín-Núñez E, et al. Selective vitamin D receptor activation as anti-inflammatory target in chronic kidney disease. Mediators Inflamm. 2014;2014:670475.
183. Weiss G, Theurl I, Eder S, Koppelstaetter C, Kurz K, Sonnweber T, et al. Serum hepcidin concentration in chronic haemodialysis patients: associations and effects of dialysis, iron and erythropoietin therapy. Eur J Clin Invest. 2009;39(10):883-90.
184. Buffler M, Becker C, Windisch W, Schümann K. Inflammation neither increases hepatic hepcidin nor affects intestinal (59)Fe-absorption in two murine models of bowel inflammation, hemizygous TNF(ΔARE/+) and homozygous IL-10(-/-) mice. J Trace Elem Med Biol. 2015;32:162-7.
185. Lönnberg M, Bondesson U, Cormant F, Garcia P, Bonnaire Y, Carlsson J, et al. Detection of recombinant human EPO administered to horses using MAIIA lateral flow isoform test. Anal Bioanal Chem. 2012;403(6):1619-28.
186. Uriol Rivera M, Luque-Ramirez M, Corral Báez A., et al. Efecto a largo plazo del uso de paricalcitol sobre la proteinuria en enfermedades glomerulares y estudio de la evolución de la densidad ósea. In: Nefrología. XCNdlSEd, editor. Gran Canaria. España.: Revista Nefrología.; 2012. p. 12.
187. Tojo Y, Sekine H, Hirano I, Pan X, Souma T, Tsujita T, et al. Hypoxia Signaling Cascade for Erythropoietin Production in Hepatocytes. Mol Cell Biol. 2015;35(15):2658-72.
188. Ben-Shoshan M, Amir S, Dang DT, Dang LH, Weisman Y, Mabjeesh NJ. 1alpha,25-dihydroxyvitamin D3 (Calcitriol) inhibits hypoxia-inducible factor-

1/vascular endothelial growth factor pathway in human cancer cells. Mol Cancer Ther. 2007;6(4):1433-9.
189. Finch JL, Dusso AS, Pavlopoulos T, Slatopolsky EA. Relative potencies of 1,25-(OH)(2)D(3) and 19-Nor-1,25-(OH)(2)D(2) on inducing differentiation and markers of bone formation in MG-63 cells. J Am Soc Nephrol. 2001;12(7):1468-74.
190. Gammella E, Diaz V, Recalcati S, Buratti P, Samaja M, Dey S, et al. Erythropoietin's inhibiting impact on hepcidin expression occurs indirectly. Am J Physiol Regul Integr Comp Physiol. 2014:ajpregu.00410.2014.
191. Lau WL, Leaf EM, Hu MC, Takeno MM, Kuro-o M, Moe OW, et al. Vitamin D receptor agonists increase klotho and osteopontin while decreasing aortic calcification in mice with chronic kidney disease fed a high phosphate diet. Kidney Int. 2012;82(12):1261-70.
192. Hryszko T, Rydzewska-Rosołowska A, Goździkiewicz J, Brzósko S, Koc-Żórawska E, Zelazowska-Rutkowska B, et al. Cholecalciferol supplementation reduces soluble Klotho concentration in hemodialysis patients. Pol Arch Med Wewn. 2013;123(6):277-81.
193. Madathil SV, Coe LM, Casu C, Sitara D. Klotho Deficiency Disrupts Hematopoietic Stem Cell Development and Erythropoiesis. Am J Pathol. 2014.
194. Hu MC, Shi M, Cho HJ, Zhang J, Pavlenco A, Liu S, et al. The erythropoietin receptor is a downstream effector of Klotho-induced cytoprotection. Kidney Int. 2013;84(3):468-81.
195. Forni V, Bianchi G, Ogna A, Salvadé I, Vuistiner P, Burnier M, et al. Reticulocyte dynamic and hemoglobin variability in hemodialysis patients treated with Darbepoetin alfa and C.E.R.A.: a randomized controlled trial. BMC Nephrol. 2013;14(1):157.
196. Kuragano T, Matsumura O, Matsuda A, Hara T, Kiyomoto H, Murata T, et al. Association between hemoglobin variability, serum ferritin levels, and adverse events/mortality in maintenance hemodialysis patients. Kidney Int. 2014.
197. Oehler L, Foedinger M, Koeller M, Kollars M, Reiter E, Bohle B, et al. Interleukin-10 inhibits spontaneous colony-forming unit-granulocyte-macrophage growth from human peripheral blood mononuclear cells by suppression of endogenous granulocyte-macrophage colony-stimulating factor release. Blood. 1997;89(4):1147-53.
198. Oehler L, Kollars M, Bohle B, Berer A, Reiter E, Lechner K, et al. Interleukin-10 inhibits burst-forming unit-erythroid growth by suppression of endogenous granulocyte-macrophage colony-stimulating factor production from T cells. Exp Hematol. 1999;27(2):217-23.
199. Cooper AC, Mikhail A, Lethbridge MW, Kemeny DM, Macdougall IC. Increased expression of erythropoiesis inhibiting cytokines (IFN-gamma, TNF-alpha, IL-10, and IL-13) by T cells in patients exhibiting a poor response to erythropoietin therapy. J Am Soc Nephrol. 2003;14(7):1776-84.
200. Tilg H, Ulmer H, Kaser A, Weiss G. Role of IL-10 for induction of anemia during inflammation. J Immunol. 2002;169(4):2204-9.
201. Barker T, Rogers VE, Levy M, Templeton J, Goldfine H, Schneider ED, et al. Supplemental vitamin D increases serum cytokines in those with initially low 25-hydroxyvitamin D: a randomized, double blind, placebo-controlled study. Cytokine. 2015;71(2):132-8.
202. Afsar B, Agca E, Turk S. Comparison of erythropoietin resistance in hemodialysis patients using calcitriol, cinacalcet, or paricalcitol. J Clin Pharmacol. 2015;55(11):1280-5.

203. Alfrey CP, Fishbane S. Implications of neocytolysis for optimal management of anaemia in chronic kidney disease. Nephron Clin Pract. 2007;106(4):c149-56.

VIII. ÍNDICE DE TABLAS

Tabla 1: Categorías de enfermedad renal crónica (ERC) por filtrado glomerular…….. ……....**22**

Tabla 2. Clasificación de la Enfermedad Renal Crónica según las guías K-DIGO 2012.....**24**

Tabla 3. Tabla 3. Concentraciones de hemoglobina (g/l) que definen la anemia y el grado según la Organización Mundial de la Salud (OMS)……..**……27**

Tabla 4. Niveles de eritropoyetina plasmática según el tipo de anemia……..…….....….**51**

Tabla 5. Ubicación del Receptor de Vitamina D……..…….....**59**

Tabla 6. Estudios que relacionan los niveles de Vitamina D y anemia…..……**…67**

Tabla 7. Cronograma de extracciones. Estudio MIR-EPO……...**85**

Tabla 8. Datos basales de estudio MIR-EPO……..……..**98**

Tabla 9. Tratamiento concomitante en el estudio MIR-EPO…….…….….**99**

Tabla 10. Asociación entre los cambios en los niveles de 25 VD y los parámetros hematológicos…...…….….**101**

Tabla 11. Asociación entre los cambios en los niveles de 25 VD y los parámetros del metabolismo férrico……... ……..**102**

Tabla 12. Asociación entre los cambios en los niveles de 25 VD y las necesidades de AEE y del suplementos de hierro…..... ……**102**

Tabla 13. Asociación entre los cambios en los niveles de 1,25 VD y los parámetros hematológicos……..... **106**

Tabla 14. Asociación entre los cambios en los niveles de 1,25 VD y los parámetros del metabolismo férrico……..**107**

Tabla 15. Asociación entre los cambios en los niveles de 1,25 VD y las necesidades de AEE y de suplementos de Fe ……**107**

Tabla 16. Datos basales análisis *post-hoc* del ensayo MIR-EPO……..……**108**

Tabla 17. Características basales en cada grupo de pacientes estratificados según sus niveles de PTHi……..... …**110**

Tabla 18. Comorbilidades y tratamiento antiparatiroideo en pacientes estratificados según sus niveles de PTHi…… . …**111**

Tabla 19. Evolución de los niveles del Déficit Calculado Corporal de hierro (mg), en el grupo que no recibió tratamiento con Paricalcitol (AEE) frente a aquellos que si lo recibieron (AEE + PRC)…….……**124**

Tabla 20. Parámetros de estimación de las concentraciones plasmáticas de Eritropoyetina plasmática, mediante mediana y determinación del parámetro robusto M-estimador de Huber…… ..... ……..**129**

Tabla 21. Asociación entre los cambios en los niveles de IL-6 y marcadores clásicos de inflamación……..……..…**132**

Tabla 22: Modelos de análisis de regresión entre los cambios en los niveles de Klotho-s y los cambios en las concentraciones de hierro sérico. ……... …**134**

Tabla 23. Asociación entre los cambios en los niveles de IL-6 y los de hepcidina en aquello en tratamiento con AEE con o sin paricalcitol…….. .**135**

Tabla 24. Datos de los pacientes del estudio B…….... ….**138**

Tabla 25. Niveles de hemoglobina y dosis de AEE en aquellos que recibieron AEE y paricalcitol (AEE + PRC) frente a aquellos que recibieron AEE……...**139**

Tabla 26: Características de los pacientes entre aquellos en tratamiento con calcitriol o con paricalcitol……..……**142**

Tabla 27. Análisis comparativo entre aquellos pacientes en tratamiento con calcitriol frente a aquellos en tratamiento con paricalcitol……...…...…**143**

IX. ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1. Fase de diferenciación, proliferación y maduración del hematíe en el proceso eritropoyético…….. .**39**

Figura 2. Etiopatogenia de la anemia de trastornos crónicos. Papel de la inflamación…… ... **48**

Figura 3. Evolución de los niveles de 25 VD, 1-25 VD y de PTHi en pacientes con ERC……..... **55**

Figura 4. Influencia de los estados de hiperaldosteronismo en la activación de la PTH……... **56**

Figura 5. Metabolismo de la vitamina D…….. .. **58**

Figura 6.…. Efecto del 1,25 VD sobre la proliferación de hematíes……**64**

Figura 7. Efecto de la administración de EPO, 25 VD, 1,25 VD sobre la proliferación de hematíes……... .**64**

Figura 8. Diagrama de flujo del estudio MIR-EPO……... **89**

Figura 9. Esquema de de estudio para evaluar la influencia del uso de paricalcitol en la respuesta eritropoyética……... .**97**

Figura 10. Evolución de los niveles de 25 VD en aquellos pacientes con o sin suplementación con calcifediol……..……. **100**

Figura 11. Necesidades de AEE en aquellos sujetos con niveles circulantes de 25 VD recomendados al principio y al final del estudio……..**103**

Figura 12. Evolución de los niveles del IST % en aquellos pacientes con o sin suplementación con calcifediol…….…….. ……**104**

Figura 13. Asociación entre los cambios en los niveles de 25 VD y los cambios en los niveles de 1,25 VD……... ..... **104**

Figura 14. Asociación entre los cambios en los niveles de 1,25 VD y los niveles de hemoglobina plasmática. ..... …….....……**105**

Figura 15. Análisis de regresión no lineal entre los cambios en los niveles de 1,25 VD y los cambios en los niveles de hemoglobina. ..... ……**106**

Figura 16. Evolución de los cambios medios en los suplementos de hierro administrados el según nivel de PTHi…….. .. **112**

Figura 17. Asociación en los cambios en el IST% (panel superior) y el índice de distribución eritrocitario (IDE) (panel inferior) según el nivel de PTHi…… **113**

Figura 18. Evolución de las dosis de AEE entre aquellos con Paricalcitol (AEE + PRC) o sin paricalcitol (AEE)…….……**116**

Figura 19. Evolución de las dosis de AEE entre aquellos con Paricalcitol (AEE + PRC) o sin paricalcitol (AEE) en el sub-grupo con suplementos de hierro……**117**

Figura 20. Evolución de los niveles de IST% en aquellos con paricalcitol (AEE + PRC) y aquellos sin paricalcitol (AEE)…….. ..... ……**118**

Figura 21. Evolución de los niveles de IST % en aquellos con paricalcitol (AEE + PRC) y aquellos sin paricalcitol (AEE) en el sub-grupo de pacientes con suplementos de hierro……..**119**

Figura 22. Evolución de los niveles de Fe sérico entre aquellos pacientes con paricalcitol (AEE + PRC) y aquellos sin paricalcitol (AEE)…….....……**120**

Figura 23. Evolución de los niveles de Fe sérico entre aquellos pacientes con paricalcitol (AEE + PRC) y aquellos sin paricalcitol (AEE) en el sub-grupo de pacientes que recibió suplementos de hierro……..... **121**

Figura 24: Evolución de los niveles de ferritina plasmática entre aquellos con paricalcitol (AEE + PRC) y aquellos sin paricalcitol (AEE)…….....**122**

Figura 25. Evolución de los niveles de transferrina plasmática en aquellos con paricalcitol (AEE + PRC) y aquellos sin paricalcitol (AEE)……...**123**

Figura 26. Evolución del Déficit Calculado Corporal de Hierro (DCCFe) entre aquellos que no recibieron paricalcitol (AEE) y los que si recibieron paricalcitol (AEE + PRC)……..…… **124**

Figura 27. A) Evolución de los niveles de IL-6 entre aquellos que no recibieron paricalcitol (AEE) y aquellos que si recibieron paricalcitol (AEE + PRC). B) Modelo ajustado según PTH y VSG……**126**

Figura 28. A) Evolución de los niveles de hepcidina entre aquellos que no recibieron paricalcitol (AEE) y aquellos que si recibieron paricalcitol (AEE + PRC). B) Modelo ajustado según PTH y VSG……**127**

Figura 29. A) Evolución de los niveles de eritropoyetina entre aquellos que no recibieron paricalcitol (AEE) y aquellos que si recibieron paricalcitol (AEE + PRC). B) Modelo ajustado según PTH y VSG……**128**

Figura 30. Evolución de las medianas de eritropoyetina plasmática en aquellos que si recibieron paricalcitol (AEE + PRC) y en aquellos que recibieron paricalcitol (AEE). ……..... **129**

Figura 31.A) Evolución de los niveles de Klotho soluble entre aquellos que no recibieron paricalcitol (AEE) y aquellos que si recibieron paricalcitol (AEE + PRC). B) Modelo ajustado según PTH. ……..**130**

Figura 32. Asociación entre los cambios en los niveles de IL-6 y los cambios en los valores de IST % en aquellos que recibieron paricalcitol……... **131**

Figura 33. Asociación entre los cambios en la hepcidina y el aumento en los niveles de hemoglobina en los pacientes que recibieron paricalcitol. ……..... **132**

Figura 34. Análisis de regresión entre los cambios en los niveles de Klotho-s y los cambios en el hierro sérico……...……... ……**134**

Figura 35. Asociación entre los cambios en los niveles de IL-6 y los de hepcidina……..…**135**

Figura 36. Modelo de regresión entre las concentraciones de eritropoyetina plasmática y los niveles de hepcidina al final del periodo de evaluación…….. ….**136**

Figura 37. Asociación entre los cambios en las concentraciones plasmáticas de eritropoyetina y los cambios en los niveles de hemoglobina en aquellos sin paricalcitol (panel izquierdo) y aquellos con paricalcitol (AEE + PRC) (panel derecho)…… .. **137**

Figura 38. Asociación entre las dosis de paricalcitol y las necesidades de AEE……. **140**

Figura 39. Asociación entre los cambios en las dosis de paricalcitol y los niveles de hemoglobina……..... **141**

Figura 40. Diferencia de dosis de AEE administradas entre aquellos con paricalcitol en comparación a aquellos con calcitriol……**143**