



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado Ciencias de la Salud

Estudio de variabilidad genética en la respuesta a
tratamiento con Cinacalcet en pacientes con
Hemodiálisis

Autor:

Rosa María de Alarcón Jiménez.

Directores:

Dr. D. Pablo Conesa Zamora

Dr. D. Ginés Luengo Gil

Murcia, Julio de 2022



UCAM

UNIVERSIDAD CATÓLICA
DE MURCIA

ESCUELA INTERNACIONAL DE DOCTORADO

Programa de Doctorado Ciencias de la Salud

Estudio de variabilidad genética en la respuesta a
tratamiento con Cinacalcet en pacientes con
Hemodiálisis

Autor:

Rosa María de Alarcón Jiménez.

Directores:

Dr. D. Pablo Conesa Zamora

Dr. D. Ginés Luengo Gil

Murcia, Julio de 2022



AUTORIZACIÓN DEL DIRECTOR DE LA TESIS PARA SU PRESENTACIÓN

El Dr. D. Pablo Conesa Zamora y el Dr. D. Ginés Luengo Gil, como directores de la Tesis Doctoral titulada “Estudio de variabilidad genética en la respuesta a tratamiento con Cinacalcet en pacientes con Hemodiálisis” realizada por Dña. Rosa María de Alarcón Jiménez en el Programa de Doctorado Ciencias de la Salud, **autorizan su presentación a trámite** dado que reúne las condiciones necesarias para su defensa.

Lo que firman, para dar cumplimiento al Real Decreto 99/2011 de 28 de enero, en Murcia a 30 de mayo de 2022.

Pablo Conesa Zamora

Ginés Luengo Gil



RESUMEN

Introducción: la afectación ósea en la Enfermedad Renal Crónica engloba una serie de alteraciones del metabolismo óseo-mineral entre las que se incluye el hiperparatiroidismo secundario y las calcificaciones vasculares. Cinacalcet es un agente calcimimético que se une al receptor sensor del calcio de la glándula paratiroides y lo hace más sensible a las acciones del calcio extracelular, reduciendo los niveles de paratohormona. Sin embargo, cinacalcet muestra una gran variabilidad interindividual en cuanto a su acción terapéutica. Este estudio examina si polimorfismos de genes relacionados con la farmacocinética (*CYP p450*) y la farmacodinamia del fármaco (*CASR*, *VDR* y *GC*) podrían ser causa de la variabilidad en la respuesta a tratamiento con cinacalcet, en pacientes sometidos a hemodiálisis.

Objetivo: determinar si en hemodiálisis los diferentes polimorfismos de los genes *CASR* (rs1501899, rs1042636, rs1801725, rs1801726, y rs7652589), *VDR* (rs154441 (BsmI), rs2228570 (FokI), rs7975323 (ApoI) y rs731236 (TaqI)), *GC* (rs4588 y rs7048) y *CYP450* (rs762551, rs2740574, rs35742686 y rs3892097) influyen en la variabilidad de respuesta a cinacalcet, medido como concentraciones séricas de paratohormona aplicando criterios de las guías NICE.

Material y métodos: estudio, descriptivo, ambispectivo y monocéntrico realizado con 158 pacientes en hemodiálisis que reciben tratamiento con cinacalcet durante 12 meses (dosis inicial 30 mg). El análisis de genotipado se realizó mediante discriminación alélica y el test de equilibrio de Hardy-Weinberg se aplicó para la distribución de frecuencias genotípicas. Se realizó un análisis de regresión lineal múltiple para determinar los predictores de los niveles de paratohormona a los 12 meses. El análisis estadístico se realizó con SPSS 20.

Resultados: la población del estudio estaba formada por 57 mujeres (36,1%) y 101 hombres, con una edad media de $63,9 \pm 15,5$ años. Según el criterio de la guía NICE, 105 (66,5%) pacientes respondieron positivamente a cinacalcet y 53 pacientes (33,5%) no respondieron. No hubo diferencias estadísticas significativas ($p > 0,05$) entre los pacientes que respondieron y los que no respondieron en términos de sexo comorbilidad, edad, tiempo en diálisis, índice de masa corporal, variables bioquímicas, presencia de enfermedad cardiovascular/factores de riesgo y el uso de quelantes de fósforo o paricalcitol al inicio del estudio. No se

encontraron diferencias significativas en el análisis de polimorfismos simples o múltiples (desequilibrio de ligamiento y análisis de haplotipos) para los genes estudiados, salvo en la variante T436K del polimorfismo GC rs4588 que mostró una asociación con una peor respuesta al tratamiento con cinacalcet [G/T-T/T; odds ratio (OR) = 0,17; intervalo de confianza (IC) del 95% 0,08-0,36; Criterio de información de Akaike = 181,6; $p < 0,000007$].

Conclusiones: Según nuestros resultados no parece que los polimorfismos de los genes estudiados sean predictores importantes de respuesta a cinacalcet, salvo en la variante T436K del polimorfismo GC rs4588 mostró una asociación con una peor respuesta al tratamiento con cinacalcet. Si la asociación descrita aquí, se valida con ensayos más amplios, puede explicar en parte las diferencias interindividuales en la respuesta a la respuesta al tratamiento con cinacalcet en pacientes en hemodiálisis y puede ser útil para el ajuste de la dosis.

Palabras clave: Cinacalcet, hemodiálisis, farmacogenética, polimorfismos, CASR, VDR, GC, citocromo p450.

SUMMARY

Introduction: Bone involvement in CKD encompasses a series of bone-mineral metabolism alterations including secondary hyperparathyroidism and vascular calcifications. Cinacalcet is a calcimimetic agent that binds to the calcium-sensing receptor of the parathyroid gland and makes it more sensitive to the actions of extracellular calcium, reducing parathormone levels. However, cinacalcet shows great inter-individual variability in its therapeutic action. This study examines whether polymorphisms of genes related to pharmacokinetics (*CYP p450*) and drug pharmacodynamics (*CASR*, *VDR* and *GC*) could account for variability in response to cinacalcet treatment, in patients undergoing haemodialysis.

Objective: To determine whether the different polymorphisms of the *CASR* (rs1501899, rs1042636, rs1801725, rs1801726, and rs7652589), *VDR* (rs154441 (BsmI), rs2228570 (FokI), rs7975323 (Apol) and rs731236 (TaqI)), *GC* (rs4588 and rs7048) and *CYP450* (rs762551, rs2740574, rs35742686 and rs3892097) influence variability of response to cinacalcet, measured as serum parathormone concentrations using NICE guideline criteria.

Material and methods: descriptive, ambispective, single-centre study carried out on 158 haemodialysis patients receiving treatment with cinacalcet for 12 months (initial dose 30 mg). Genotyping analysis was performed by allelic discrimination and the Hardy-Weinberg equilibrium test was applied for the distribution of genotypic frequencies. Multiple linear regression analysis was performed to determine predictors of parathormone levels at 12 months. Statistical analysis was performed with SPSS 20.

Results: The study population consisted of 57 women (36.1%) and 101 men, with a mean age of 63.9 ± 15.5 years. According to NICE guideline criteria, 105 (66.5%) patients responded positively to cinacalcet and 53 patients (33.5%) did not respond. There was no significant statistical difference ($p > 0.05$) between responders and non-responders in terms of sex, comorbidity, age, time on dialysis, body mass index, biochemical variables and presence of cardiovascular disease/risk factors and the use of phosphorus chelators or paricalcitol at baseline. No significant differences were found in single or multiple polymorphism

analysis (linkage disequilibrium and haplotype analysis) for the genes studied, except for the T436K variant of the GC rs4588 polymorphism which showed an association with a worse response to cinacalcet treatment [G/T-T-T/T; odds ratio (OR) = 0.17; 95% confidence interval (CI) 0.08-0.36; Akaike information criterion = 181.6; $p < 0.000007$].

Conclusions: Based on our results it does not appear that polymorphisms in the genes studied are significant predictors of response to cinacalcet, except that the T436K variant of the GC rs4588 polymorphism showed an association with a worse response to cinacalcet treatment. If the association described here is validated with larger trials, it may partly explain interindividual differences in response to cinacalcet treatment response in haemodialysis patients and may be useful for dose adjustment.

Keywords: Cinacalcet, haemodialysis, pharmacogenetics, polymorphisms, CASR, VDR, GC, cytochrome p450.

AGRADECIMIENTOS

En primer lugar deseo expresar mi agradecimiento a mis directores de esta tesis doctoral, Pablo y Ginés, por la dedicación y apoyo que he recibido a lo largo del desarrollo de este trabajo. Gracias por sus valiosas sugerencias, ideas, resolución de dudas y por la dirección y revisión cuidadosa del texto y sobre todo gracias por vuestra disposición incondicional. Gracias por la confianza ofrecida desde el principio. Agradecer a María Ángeles, el tratamiento de las muestras, su procesamiento y lo más importante, su amistad. Gracias al Tribunal y a sus examinadores, por el interés en formar parte de este proyecto.

Agradezco a mis compañeros del Servicio de Nefrología del HU. Santa Lucía, su apoyo personal y humano, especialmente al Dr. Manuel Molina Núñez, con quien he compartido proyectos, ilusiones y enseñanzas durante estos años. Agradecerle, también, las facilidades y oportunidades brindadas por su persona para llevar a cabo este trabajo y un gracias muy especial por creer siempre en mí de manera incondicional.

Un trabajo de investigación es siempre fruto de ideas, proyectos y esfuerzos previos, pero sería imposible sin la disposición de los pacientes de hemodiálisis del Área II y VIII de Salud de la Región de Murcia, por colaborar en este proyecto. Gracias, gracias, siempre.

Este trabajo también es resultado del reconocimiento y del apoyo vital que nos ofrecen las personas que nos quieren, sin el cual no tendríamos la fuerza y energía que nos anima a crecer como personas y como profesionales. Gracias a mi familia, a mis padres que siempre son un motor de motivación y superación. Gracias “tito” Pepe, sin tu ayuda ahora mismo no estaría escribiendo estas palabras, espero que estés orgulloso. Pero, sobre todo, gracias a mi marido y a mi pequeño, por su paciencia, comprensión y solidaridad con este proyecto, por el tiempo que me han concedido, un tiempo robado a la historia familiar. Sin su apoyo este trabajo nunca se habría escrito y, por eso, este trabajo es vuestro.

A todos, muchas gracias.

SIGLAS Y ABREVIATURAS

1-25OHD: Calcitriol.

25OHD: Calcidiol

AIC: Criterio de información de Akaike.

ARAI: Antagonista del receptor de la angiotensina II.

AsRVD: Análogo del Receptor de la Vitamina D

Ca²⁺: Calcio

CASR: *Gen regulador del Receptor sensible del Calcio.*

CaSR: Receptor sensible del Calcio.

CKD-MBD: Alteraciones Ósea Mineral asociada a Enfermedad Renal Crónica).

CKD-EPI: CKD Epidemiology Collaboration

DM: Diabetes.

DP: Diálisis Peritoneal.

EPIRCE: Estudio Epidemiológico de la Insuficiencia Renal en España

ERC: Enfermedad Renal Crónica.

FAT: Fosfatasa alcalina total.

FG: Filtrado Glomerular.

FGF-23: Factor de crecimiento fibroblástico-23

GC: *Gen regulador la proteína transportadora de Vitamina D.*

HD: Hemodiálisis.

HPT1: Hiperparatiroidismo Primario.

HPT2: Hiperparatiroidismo Secundario.

HTA: Hipertensión Arterial.

HW: Equilibrio de Hardy-Weinberg

IC: Intervalo de confianza.

IECA: Inhibidor de la enzima convertidora de la angiotensina.

KDIGO: Kidney Disease: Improving Global Outcomes

LRT: Prueba de razón de verosimilitud.

ODR: Osteodistrofia Renal.

OR: Odds ratio

P: Fósforo

PTH: Paratohormona.

SEN: Sociedad Española de Nefrología.

SNP: Polimorfismos de un solo nucleótido.

TSR: Tratamiento Sustitutivo Renal.

TXR: Trasplante Renal.

VDR: *Gen regulador del Receptor de la Vitamina D.*

VDR: Receptor de la Vitamina D.

INDICE DE FIGURAS

- Figura 1.** Estratificación del riesgo de la ERC (11).
- Figura 2.** Fisiopatología de la Enfermedad Mineral Ósea en ERC (4).
- Figura 3.** Clasificación histológica KDIGO y las lesiones clásicas (3).
- Figura 4.** Estructura de la proteína CaSR (90).
- Figura 5.** Diagrama esquemático del gen VDR que muestra diferentes sitios de restricción en el cromosoma 12 (102).
- Figura 6.** Estructura de la DBP (114).
- Figura 7.** Genotipado de SNPs KASPar con sondas fluorescentes
- Figura 8.** Gráfico de temperatura de termociclador en función del tiempo.
- Figura 9.** Esquema del programa de termociclado para el protocolo de 61 a 55°C en el que se observa la activación de la polimerasa a 94°C durante 15 minutos y la serie a temperatura de anillamiento/polimerización variable o protocolo "touchdown".
- Figura 10.** Ejemplo de distribución de genotipos en función de las fluorescencias asociadas a los alelos para el polimorfismo de un gen.
- Figura 11.** Etiología de la Enfermedad Renal Crónica.
- Figura 12.** Factores de Riesgo Cardiovascular y Eventos Cardiovasculares.
- Figura 13.** Medida de desequilibrio de ligamento entre polimorfismos del *gen CaSR*
- Figura 14.** Medida de desequilibrio de ligamento entre polimorfismos del *gen VDR*.
- Figura 15.** Medida de desequilibrio de ligamento entre polimorfismos del *gen CYP450*.
- Figura 16.** Concentraciones de PTH antes y después de 12 meses de tratamiento con cinacalcet según la distribución de genotipos rs4588 y respuesta a cinacalcet.

INDICE DE TABLAS.

- Tabla 1.** Definición de ERC.
- Tabla 2.** Clasificación de la ERC según filtrado glomerular y albuminuria.
- Tabla 3.** Complicaciones más frecuentes de la ERC.
- Tabla 4.** Valores bioquímicos recomendados SEN /KDIGO.
- Tabla 5.** Regulación de la enfermedad óseo mineral relacionada con la enfermedad renal crónica.
- Tabla 6.** Objetivos terapéuticos según diferentes guías.
- Tabla 7.** Factores no genéticos que condicionan la respuesta terapéutica de los individuos
- Tabla 8.** IMC. Organización Mundial de la Salud, 2000.
- Tabla 9.** Valores bioquímicos recomendados (KDIGO 2017).
- Tabla 10.** Polimorfismos de los genes a estudio.
- Tabla 11.** Asignación GH fluorocromos a cada alelo y protocolo "touchdown" para FDGD uno de los SNPs del ensayo
- Tabla 12.** Relación de variables clínico-demográficas y la respuesta al cinacalcet a los 12 meses.
- Tabla 13.** Presencia de Factores y eventos de Riesgo Cardiovascular según respuesta de PTH a tratamiento (criterios KDIGO).
- Tabla 14.** Variación dentro de las variables bioquímicas al inicio y después de 12 meses de seguimiento
- Tabla 15.** Diferencias entre grupos (respondedores vs. no respondedores) al inicio ya los 12 meses de tratamiento con cinacalcet.
- Tabla 16.** Análisis de igualdad de medias para variables de confusión categóricas.
- Tabla 17.** Distribución de los genotipos y alelos de los polimorfismos del *Gen CaSR*
- Tabla 18.** Medida de desequilibrio de ligamento entre polimorfismos del *gen CaSR*
- Tabla 19.** Distribución de los genotipos de los polimorfismos del *Gen VDR*.
- Tabla 20.** Medida de desequilibrio de ligamento entre polimorfismos del *gen VDR*.
- Tabla 21.** Distribución de los genotipos de los polimorfismos del *Gen DBP*.
- Tabla 22.** de desequilibrio de ligamento entre polimorfismos del *gen DBP*
- Tabla 23.** Distribución de los genotipos de los polimorfismos de los *Genes*

CYP450.

Tabla 24. Medida de desequilibrio de ligamento entre polimorfismos del *gen CYP450*

Tabla 25. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *CaSR* (rs1501899).

Tabla 26. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *CaSR* (rs1042636).

Tabla 27. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *CaSR* (rs1801726).

Tabla 28. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *CaSR* (rs1801725).

Tabla 29. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *CaSR* (rs7652589)

Tabla 30. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *VDR* (rs7975232).

Tabla 31. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *VDR* (rs1544410).

Tabla 32. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *VDR* (rs2228570).

Tabla 33. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *VDR* (rs731236).

Tabla 34. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *DBP* (rs4588).

Tabla 35. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *DBP* (rs7041).

Tabla 36. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *CYP 450 A21F* (rs762551).

Tabla 37. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *CYP 450 A41B* (rs2740574).

Tabla 38. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *CYP 450 D63* (rs35742686).

Tabla 39. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *CYP 450 D64* (rs3892097).

Tabla 40. D' estadístico del equilibrio de ligamento de los SNP.

Tabla 41. Frecuencia de Haplotipos *gen CaSR*.

Tabla 42. Asociación de haplotipos *gen CaSR* con respuesta

Tabla 43. Frecuencia de Haplotipos del *gen VDR*.

Tabla 44. Asociación de haplotipos del *gen VDR* con respuesta.

Tabla 45. Frecuencia de haplotipos de *gen DBP*.

Tabla 46. Asociación de haplotipos del *gen DBP* con respuesta.

Tabla 47. Frecuencia de los haplotipos del *gen CYP 450*.

Tabla 48. Asociación de haplotipos del *gen CYP 450* con respuesta.

Tabla 49. Frecuencia de los haplotipos de todos los SNP del estudio.

Tabla 50. Asociación de los haplotipos de todos los SNP con respuesta.

Tabla 51. Análisis de regresión lineal múltiple (predictores de niveles de PTH a 12 meses tras tratamiento con cinacalcet).

Autorización de los Directores
 Resumen. Summary
 Agradecimientos
 Siglas y abreviaturas
 Índice de tablas.
 Índice de figuras

Índice General	Página.
I. INTRODUCCIÓN.....	25
1. Enfermedad Renal Crónica.....	27
1.1. Definición ERC.....	27
1.2. Diagnóstico: Evaluación de la ERC.....	29
1.3. Progresión ERC.....	29
1.4. Complicaciones de la ERC.....	30
1.5. Modalidades de tratamiento sustitutivo renal.....	34
2. Alteración ósea metabólica asociada a ERC.....	36
2.1. Fisiopatología.....	36
2.2. Clasificación histológica.....	39
2.3. Diagnóstico	41
2.4. Alternativas terapéuticas.....	45
3. Cinacalcet	50
4. Farmacogenética	52
5. Genes de importancia clínica en hiperparatiroidismo secundario asociado a la ERC	56
II. JUSTIFICACIÓN E HIPOTESIS.....	67
III. OBJETIVOS.....	71
IV. MATERIAL Y METODOS.....	75
1. Pacientes.....	75
2. Metodología del estudio	76
2.1. Diseño del estudio	76
2.2. Ámbito del estudio	76
2.3. Recogida de datos y variables	76
2.4. Análisis de parámetros bioquímicos.....	79
2.5. Estudios genéticos de susceptibilidad y respuesta a cinacalcet.....	79
5.5.1. Extracción de ADN y cuantificación.....	79

5.5.2. Genotipado.....	80
2.6. Análisis estadístico.....	86
2.7. Almacenamiento de las muestras biológicas.....	89
V. RESULTADOS	91
1. Estudio descriptivo.....	91
2. Variables analíticas.....	94
3. Variables de confusión.....	97
4. Genotipado.....	98
4.1. <i>Gen CASR</i>	98
4.2. <i>Gen VDR</i>	100
4.3. <i>Gen GC</i>	102
4.4. <i>Gen cyp 450</i>	103
5. Influencia de los polimorfismos en la respuesta a cinacalcet....	105
5.1. Influencia de los polimorfismos del <i>gen CASR</i>	105
5.2. Influencia de los polimorfismos del <i>gen VDR</i>	109
5.3. Influencia de los polimorfismos del <i>gen GC</i>	111
5.4. Influencia de los polimorfismos de <i>genes de CYP450</i>	113
6. Análisis múltiple de todos los polimorfismo: Desequilibrio de ligamento.....	116
7. Estudio farmacogenético por haplotipos en la respuesta a cinacalcet.....	118
7.1. Haplotipos de los polimorfismos del <i>gen CASR</i>	118
7.2. Haplotipos de los polimorfismos del <i>gen VDR</i>	119
7.3. Haplotipos de los polimorfismos del <i>gen GC</i>	120
7.4. Haplotipos de los polimorfismos de <i>genes de CYP450</i>	121
8. Estudio multivariante.....	124
VI. DISCUSIÓN.....	129
VII. CONCLUSIONES.....	147
VIII. BIBLIOGRAFIA.....	151
IX. ANEXOS.....	165
X. PRODUCCION CIENTIFICA.....	175

I - INTRODUCCIÓN

I. INTRODUCCIÓN

La enfermedad renal crónica (ERC) es un importante problema de salud pública que afecta a cerca del 10% de la población española, lo cual supone una elevada morbilidad y mortalidad, así como un importante consumo de recursos al Sistema Nacional de Salud (1,2).

Según los resultados del estudio EPIRCE (Epidemiología de la insuficiencia renal crónica en España), promovido por la Sociedad Española de Nefrología (SEN) con el apoyo del Ministerio de Sanidad y Consumo, aproximadamente al 10% de la población adulta española y a más del 20% de los mayores de 60 años, sufren algún grado de ERC. En pacientes seguidos en Atención Primaria con enfermedades tan frecuentes como la hipertensión arterial (HTA) o la diabetes (DM), la prevalencia de ERC puede alcanzar el 35-40% (1).

En España según registro del año 2020 de la Organización Nacional de Trasplante (ONT), hay alrededor de cuatro millones de personas que padecen ERC, de los cuales casi 65.000 pacientes (1362.8 pmp) se encuentran en tratamiento sustitutivo renal (TSR). Un 54% de estos pacientes se encuentran en situación de trasplante renal funcional. El resto está en diálisis (40,4% en hemodiálisis y el 5% en diálisis peritoneal). La incidencia anual de precisar TSR durante 2020 se encuentra en un 6.8% con 6708 pacientes nuevos (141.4 pmp), siendo la diabetes, la principal causa de ERC (26%). Un estudio recientemente publicado en 2020 sobre prevalencia de ERC, estudio IBERICAN (3) sobre población española atendida en Atención Primaria, señala un 14% de prevalencia de ERC, siendo más prevalente, al igual que otros estudios (1,3), en varones y mayores de 65 años y el 34 %, al igual que el estudio ENRICA (3), acumulaban un elevado riesgo cardiovascular, aumentando la prevalencia conforme se van agregando factores de riesgo cardiovascular, fundamentalmente, diabetes, HTA y dislipemia.

Además de la elevada prevalencia, la ERC se asocia a una importante morbimortalidad cardiovascular, así como a costes muy significativos. En España el coste anual asociado al tratamiento de las fases más avanzadas de la ERC se estima en más de 800 millones de euros anuales (2). El TSR consume entre el 2,5% y el 3% del presupuesto del Sistema Nacional de Salud y más del 4% de atención

especializada. Se estima, que estos costes, se vayan incrementando, ya que como se ha comentado previamente es una enfermedad prevalente con una incidencia anual ascendente por lo que un elevado número de personas, precisarán inicio de terapia de reemplazo renal (2). El coste medio anual por paciente tratado con hemodiálisis es de 46.659,83 € y de 32.432,07 € en diálisis peritoneal (2).

Entre las complicaciones más frecuentes en la ERC, se encuentran las «alteraciones del metabolismo mineral-óseo asociadas a la ERC» (CKD-MBD) (4–6) que integran, las alteraciones bioquímicas, alteraciones estructurales óseas y las calcificaciones vasculares y tumorales de tejidos blandos que ocurren como consecuencia de las alteraciones en el metabolismo mineral en la ERC como una entidad sistémica. Dentro de esta complicación, se encuentra el hiperparatiroidismo secundario a ERC (HPT2) que afecta al 40% de los pacientes en diálisis y se caracteriza por concentraciones elevadas de PTH (>300 pg/ml). Los factores que determinan el HPT2 son, entre otros, una reducción de la síntesis de vitamina D, hipocalcemia y retención de P. La consecuencia del HPT2 es la osteodistrofia renal, que comporta un aumento de la reabsorción del hueso, dolor, fracturas, deformidades óseas y depósitos de Ca^{2+} intra y extravascular, por lo que se considera un trastorno sistémico, que incluye el sistema cardiovascular y el riesgo cardiovascular (5,6).

El tratamiento de esta complicación consiste en la administración de quelantes del fósforo (P) (acetato o carbonato de Ca^{2+} , carbonato de sevelamero y carbonato de lantano) y vitamina D o sus análogos. Éstos reducen la PTH, pero a menudo producen hipercalcemia (7). Cinacalcet es un calcimimético, que actúa como modulador alostérico positivo del receptor sensor de Ca^{2+} (CaSR) en la superficie de la célula paratiroidea, incrementando la sensibilidad de éste al Ca^{2+} extracelular, lo que reduce las concentraciones de PTH y Ca^{2+} . También se ha visto de manera experimental que cinacalcet disminuye la hiperplasia de la glándula paratiroidea favoreciendo la apoptosis del tejido hiperplásico (8).

A pesar de los avances en el manejo de los pacientes con ERC en diálisis, el número de problemas relacionados con la adherencia al tratamiento, efectos adversos y su manejo, es elevado. Alguno de estos problemas, podrían ser explicados por factores ambientales y también por la variabilidad genética entre

los diferentes pacientes (9). La Farmacogenética es una herramienta de investigación clínica novedosa, cuyo objetivo es individualizar el tratamiento mediante la detección variantes genéticas asociadas a la eficacia y efectos adversos de los fármacos (10), lo cual podría ayudar a la prescripción de fármacos y a la toma de decisiones terapéuticas.

1. ENFERMEDAD RENAL CRONICA.

1.1 Definición de Enfermedad Renal Crónica.

La ERC, se define como un filtrado glomerular (FG) < 60 ml/min con o sin la presencia de una alteración estructural (sedimento, imagen, histología) que persiste más de 3 meses, (tabla 1) (11). La ERC se clasifica en 5 categorías en función del FG. En los estadios 1 y 2, el FG es normal y tienen que estar presentes otros signos de daño renal. En los estadios del 3 al 5 lo característico es la disminución del FG por debajo de 60ml/min, no siendo necesaria la presencia de otros signos de daño renal (11,12).

Además, se debe categorizar la albuminuria (A) en cualquier estadio de ERC, como A1, A2 o A3, según sea el cociente A/creatinina en una muestra aislada de orina de la mañana, < 30 , 30-300 o > 300 mg/g, respectivamente (tabla 2) (11-16).

Tabla 1. Definición de ERC (11).

La ERC se define por la presencia de alteraciones en la estructura o función renal durante más de 3 meses	
Criterios de ERC (cualquiera de los siguientes durante > 3 meses)	
Marcadores de daño renal	Albuminuria elevada
	Alteraciones en el sedimento urinario
	Alteraciones electrolíticas u otras alteraciones de origen tubular
	Alteraciones estructurales histológicas
	Alteraciones estructurales en pruebas de imagen
	Trasplante renal
FG disminuido	FG < 60 ml/min/1,73 m ²

Tabla 2. Clasificación de la ERC según filtrado glomerular y albuminuria (11).

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

En el diagnóstico del ERC, se debe indicar la etiología de la enfermedad, el grado de función renal y el grado de albuminuria, que presenta el paciente, lo cual permite establecer el riesgo cardiovascular y le pronóstico del paciente, clasificándolo en riesgo moderado, alto o muy alto con respecto al riesgo basal o de referencia de sujetos sanos (11). En la figura 1 se expone la tabla de estratificación del riesgo de la ERC según las categorías de FG y albuminuria. La hipertensión arterial (HTA) y la proteinuria destacan como los factores pronósticos y modificables, más importantes de progresión en ERC (11).

Figura 1. Estratificación del riesgo de la ERC (11).

KDIGO 2012			Albuminuria		
			Categorías, descripción y rangos		
Filtrado glomerular Categorías, descripción y rangos (ml/min/1,73 m ²)			A1	A2	A3
			Normal a ligeramente elevada	Moderadamente elevada	Gravemente elevada
			< 30 mg/g ^a	30-300 mg/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			

1.2. Diagnóstico: Evaluación de la Enfermedad Renal Crónica.

El FG se determina mediante la determinación de creatinina sérica y una fórmula para estimar el FG. La medición de la creatinina sérica se realiza mediante una prueba específica con trazabilidad adecuada a los estándares internacionales de referencia y con la mínima desviación respecto al método de referencia de espectrometría de masas por dilución isotópica (12,13). Las guías recomiendan estimar el FG por la fórmula CKD-EPI (CKD Epidemiology Collaboration) de 2009 (17).

La albuminuria (A) se evalúa mediante del cociente A/Cr, en una muestra aislada de orina de primera hora de la mañana. En caso de grados avanzados de A, el cociente proteínas/creatinina ofrece una mejor aproximación a la proteinuria. La cuantificación de la excreción urinaria de albúmina o de proteínas en orina de 24 horas se reserva para casos especiales en los que se considere una estimación más precisa. Hay casos que pueden artefactar la determinación de la albuminuria, como el ejercicio, cuadros infecciosos, fiebre o el fallo cardíaco (14,15).

1.3. Progresión de la Enfermedad Renal Crónica.

La progresión de la ERC es muy variable y no hay evidencia para identificar a los pacientes con progresión más acelerada, por ello es necesario determinar de manera conjunta FG estimado por CKD-EPI y albuminuria (figura 1) (18).

La progresión de la ERC se define por un descenso sostenido del FG > 5 ml/min/1,73 m² al año o por el cambio de categoría (de G1 a G2, de G2 a G3a, de G3a a G3b, de G3b a G4 o de G4 a G5). Pequeñas fluctuaciones del FG no indican necesariamente progresión (18).

Cuando se detecten los citados criterios de progresión, habrá que descartar factores potencialmente reversibles de agudización, como uropatía obstructiva, depleción de volumen, situaciones de inestabilidad hemodinámica, uso de antiinflamatorios no esteroideos, inhibidores de la ciclooxigenasa 2, antibióticos

nefrotóxicos, contrastes radiológicos o fármacos bloqueantes del sistema renina-angiotensina y se tratarán aquellos que sean modificables (19,20).

1.4. Complicaciones de la Enfermedad Renal Crónica.

Las complicaciones más habituales en la ERC y su prevalencia según estadios de la ERC, se exponen en la tabla 3 (21,22).

Tabla 3. Complicaciones más frecuentes de la ERC (11).

Complicación	Filtrado glomerular (ml/min/1,73 m ²)				
	≥ 90	60-89	45-59	30-44	< 30
HTA ^b	18,3	41,0	71,8	78,3	82,1
Anemia ^c	4,0	4,7	12,3	22,7	51,5
Hiperparatiroidismo ^d	5,5	9,4	23,0	44,0	72,5
Hiperfosfatemia ^e	7,2	7,4	9,2	9,3	23,0
Déficit de 25(OH) Vit D ^f	14,1	9,1	10,7		27,2
Acidosis ^g	11,2	8,4	9,4	18,1	31,5
Hipoalbuminemia ^h	1,0	1,3	2,8	9,0	7,5

1.4.1. Manejo integral del riesgo cardiorenal e hipertensión arterial

La prevención de la progresión de la ERC, se baja en un manejo conjunto y multidisciplinar de lo que se conoce riesgo cardiorenal, que incluye modificación de hábitos de vida como la dieta, el ejercicio... y un control exhaustivo de los principales FRCV, como son la diabetes, la HTA y la dislipemia.

La albuminuria es factor de riesgo cardiovascular independiente (22) y los pacientes con ERC, particularmente aquellos con FG < 60ml/min/1,73 m² y fundamentalmente los pacientes con estadio 5, presentan un riesgo cardiovascular alto (22) que implica desde un 43% de padecer un evento cardiovascular en un estadio 3, hasta > 300 % en FG < 29 ml/min/1,73 m², con respecto a individuos sin

ERC (23). De hecho, los pacientes con ERC tienen más riesgo de fallecer por un evento cardiovascular que de precisar tratamiento con reemplazo renal (24).

El control adecuado de la tensión arterial constituye la base de la prevención cardiovascular, renal y global en el paciente con ERC. El objetivo de control será una PA < 140/90 mmHg en pacientes con albumina en grado 1, siendo mucho más exigentes conforme aumenta al albuminuria, independientemente de la presencia de diabetes (25–27). Para alcanzar este objetivo, aparte de medidas no farmacológicas, se precisará

de medidas farmacológicas individualizadas, siendo de elección los fármacos bloqueantes del sistema renina angiotensina (inhibidores de la enzima de conversión de la angiotensina (IECA) o antagonistas de los receptores de la angiotensina II (ARA II) (25–27).

1.4.2. Control nutricional y metabólico

Entre las modificaciones de hábitos de vida, se encuentra la dieta y el ejercicio como se ha comentado previamente. Estas modificaciones, van dirigidas también al control de la obesidad, la cual constituye un objetivo primordial en el paciente con ERC, como medida de prevención cardiovascular y para frenar la progresión de la enfermedad.

Las dietas hipoproteicas, actualmente están en desuso por el elevado riesgo de malnutrición, pero si se sugiere una ingesta proteica a 0,8 g/kg/día en pacientes con ERC estadio 4 con FG estimado < 30 ml/min/1,73 m².

En pacientes diabéticos se recomienda un objetivo de hemoglobina glicosilada < 7 %, salvo en casos de ancianos y pacientes frágiles con riesgo de hipoglucemias, en los que el objetivo de glicada se establece en 8 % (28).

Los niveles de colesterol total, HDL, LDL, y triglicéridos, deben evaluarse periódicamente. En objetivo y en líneas generales se aconseja un LDL < 70 mg/dl, optimizando hábitos higiénicos dietéticos y si es preciso usando estatinas. La indicación de fibratos para el tratamiento de la hipertrigliceridemia es un tema controvertido en la actualidad (29).

No hay evidencia en que la hiperuricemia sea un factor de progresión de la ERC, sin embargo las guías de manejo de la ERC (11), indican que la reducción del

ácido úrico por debajo de 7 mg/dl podría disminuir el riesgo cardiovascular y frenar la progresión de la ERC en pacientes con hiperuricemia asintomática (30).

1.4.3. Anemia

La anemia tiene un impacto decisivo en el pronóstico de la ERC y contribuye a la calidad de vida del paciente. Los tratamientos y los objetivos terapéuticos son (31):

- Descartar causas secundarias, fundamentalmente la ferropenia.
- Suplementar con hierro en caso de ferropenia.
- Uso de agentes estimuladores de la eritropoyesis con una hemoglobina objetivo que no supere los 11,5 g/dl.

El primer paso en el tratamiento de la anemia asociada a ERC será la suplementación con hierro cuando el índice de saturación de la transferrina sea menor del 30 % y la ferritina sérica, menor de 500 ng/ml. El uso de eritropoyetina se valorará con niveles de hemoglobina < 10 g/dl (31).

1.4.4. Alteraciones del metabolismo óseo-mineral

Las alteraciones en el metabolismo óseo-mineral pueden comenzar en los grados iniciales de la ERC y aumentan a medida que la enfermedad empeora (5,6).

La actual guía KDIGO (6) y la guía de la S.E.N (7), aconsejan evaluar al menos una vez al año los niveles séricos de Ca^{2+} , P, fosfatasa alcalina total (FAT), PTH y colecalciferol (25OHD) en pacientes con FG estimado < 45 ml/min/1,73 m². En la tabla 4 se exponen los valores recomendados en la guía de la S.E.N y KDIGO (5-6).

Tabla 4. Valores bioquímicos recomendados SEN /KDIGO (5-6).

Parámetro	Grado de ERC	Valores recomendados
Calcidiol	Todos	> 30 ng/ml
Calcio	Todos	8,4-9,5 mg/dl (tolerancia hasta 10 mg/dl)
Fósforo	Todos	2,5-4,5 mg/dl
PTHi	Grado 3	35-70 pg/ml
	Grados 4 y 5	70-110 pg/ml

1.4.5. Acidosis: La prevalencia y gravedad de la acidosis aumenta a medida que empeora la función renal. Se sugiere el tratamiento con suplementos orales de bicarbonato en pacientes con concentraciones de bicarbonato < 22 mEq/l, si no hay contraindicación (5).

1.4.6. Otros aspectos de seguridad en el paciente con ERC. Los pacientes con ERC son vulnerables a determinadas situaciones que se atienden frecuentemente en la atención sanitaria y deben prevenirse.

- **Riesgo de fracaso renal agudo:** Los pacientes con ERC son una población de riesgo de fracaso renal agudo, sobre todo, ante cualquier enfermedad interrecurrente, hospitalización o cualquier procedimiento diagnóstico o terapéutico (21).

- **Uso de medicamentos en pacientes con enfermedad renal:** Las principales recomendaciones con respecto al uso de medicamentos en el paciente con ERC son:

1. Ajustar fármacos según grado de función renal.
2. Suspender temporalmente tratamientos potencialmente nefrotóxicos o de eliminación renal en caso de deterioro de función renal, fundamentalmente: IECA, ARA II, antialdosterónicos, diuréticos, antiinflamatorios no esteroideos, metformina, litio y digoxina.
3. Monitorización de la función renal y niveles de fármacos cuando reciban tratamiento potencialmente nefrotóxicos,

fundamentalmente antibióticos aminoglucósidos, litio, anticalcineurínicos y digoxina.

- **Uso de contrastes radiológicos:** En pacientes con $FG < 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ que vayan a recibir un contraste yodado, se recomienda utilizar la mínima dosis posible del radiocontraste, suspender previamente los fármacos nefrotóxicos, particularmente metformina e hidratar adecuadamente al paciente, antes, durante y después de la prueba. El uso de N-acetilcisteína en la nefroprotección con los contrastes yodados no ha demostrado un beneficio consistente (5,21).

Con respecto a la utilización de contrastes con gadolinio en la resonancia, cuando el $FG < 30 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ se contraindica su uso y se recomienda usar otros preparados como gadoterate, gadoteridol o gadobutrol (5,21).

Se recomienda en las colonoscopias, no usar preparados con fosforo para pacientes con FG estimado $< 60 \text{ ml/min/1,73 m}^2$ (21).

1.5 Modalidades de Tratamiento Sustitutivo Renal:

Como se ha comentado previamente, la ERC avanzada conduce a casi 6.000 pacientes cada año en España al inicio de diálisis con un elevado gasto sanitario (2) y aunque la técnica más eficiente, siempre va a ser el TXR, solamente el 31% de los pacientes son aptos, por lo que un elevado porcentaje, permanecen en programa crónico de diálisis (1). Las diferentes modalidades de TSR, son:

1.5.1. Hemodiálisis (HD):

Es una técnica, que consiste en la depuración de la sangre, mediante un dializador o filtro, en el cual la sangre pasa por el interior de los capilares en un sentido, y el líquido de diálisis circula en sentido contrario bañando dichos capilares, así, ambos líquidos quedan separados por una membrana

semipermeable y así disminuir los niveles de tóxicos en la sangre. Es una técnica de ámbito sanitario pero también puede ser domiciliaria, entrando al paciente.

1.5.2. Diálisis Peritoneal (DP):

Es una terapia domiciliaria en la que la membrana semipermeable, es el peritoneo. Mediante un catéter colocado en cavidad abdominal, se infunde el líquido de diálisis que permanece un tiempo variable y en contacto con el peritoneo, disminuye los tóxicos sanguíneos y se extrae el exceso de líquido. Posteriormente, éste líquido es drenado y se renueva por otro nuevo. Este tratamiento se puede realizar de manera manual (DPCA) o mediante una máquina cicladora (DPA) que realiza automáticamente la infusión y drenaje. Para realizar este tipo de diálisis, el paciente recibe un completo plan de entrenamiento.

La DP es equiparable, en términos de eficacia dialítica, a la HD y en línea general al ser una técnica continua, es más fisiológica y permite conservar la diuresis residual por más tiempo aunque no se han evidenciado diferencias en mortalidad (32).

1.5.3. Trasplante Renal (TXR):

Según informes de la Organización Nacional de Trasplantes, hay alrededor de 2.200 TXR, con más de 4.000 pacientes en lista de espera. Los riñones pueden provenir de donante vivo o cadáver.

Previo a la inclusión en una lista de espera para TXR, el paciente es estudiado de manera exhaustiva y el tiempo medio en lista es de 3 años, aunque varía entre donante vivo vs cadáver. Es obligatorio realizar una prueba inmunológica de compatibilidad o de HLA. Existen riesgos asociados a una cirugía mayor y/o al rechazo agudo o crónico. Para evitar la enfermedad injerto contra huésped es preciso usar tratamiento inmunosupresor, lo que conlleva, una mayor susceptibilidad para las infecciones y tumores.

La supervivencia media de un riñón trasplantado es de 10 años y el paciente precisará volver a TSR antes de poder acceder a otro trasplante. El TXR es la

modalidad de TRS que tiene los mejores resultados en términos de supervivencia y proporciona la mayor calidad de vida durante el tiempo que funciona (33).

2. ALTERACIÓN ÓSEO MINERAL ASOCIADA A ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA.

La Fundación KDIGO (Kidney Disease: Improving Global Outcomes) ha propuesto una nueva definición para las alteraciones óseas asociadas a la ERC (6): **Alteración óseo-mineral asociada a la ERC** que engloba las alteraciones bioquímicas, esquelética y calcificaciones que ocurren en la ERC:

1. Anormalidades del Ca^{2+} , P, hormona PTH y 25OHD y factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF-23).
2. Alteraciones en el remodelado, mineralización, volumen, crecimiento o fragilidad del esqueleto.
3. Calcificaciones cardiovasculares o de otros tejidos blandos.

2.1. Fisiopatología de las alteraciones del metabolismo mineral y óseo

La hiperfosfatemia acompañada de hipocalcemia y niveles bajos de vitamina D, es una alteración prácticamente universal en los pacientes con ERC en etapa 5D y muy frecuente en las etapas 3 a 5. Cuando ésta no se trata, usualmente termina presentándose un hiperparatiroidismo secundario grave que clínicamente se manifiesta con fracturas dolorosas, tumores pardos u osteopenia (6,34).

El sistema FGF-23/Klotho ha revolucionado el concepto del metabolismo mineral y óseo de la ERC (35). En la Tabla 5 se describen las funciones de los factores implicados en el metabolismo óseo en la ERC (36).

Tabla 5. Regulación de la enfermedad óseo mineral relacionada con la enfermedad renal crónica (36)

Síntesis	Glándula paratiroidea	25OHD3: hepática 1,25(OH)2D3: riñón, monocitos	Hueso (osteoblasto)	Riñón Plexos coroideos, glándula paratiroidea
Regulación	<u>Estimulantes:</u> Ca, P <u>Inhibidores:</u> Vitamina D, FGF 23	<u>Estímulo 1α hidroxilasa:</u> PTH, hormona de crecimiento, prolactina. <u>Inhibición 1α hidroxilasa:</u> FGF 23, Klotho. <u>Estímulo 24 hidroxilasa:</u> análogos de vitamina D, FGF 23	<u>Estímulo:</u> FGF 23, PTH, Nurr1, sobrecarga de P, Ca	<u>Estímulo:</u> PPA γ , vitamina D. <u>Inhibe:</u> angiotensina II, FGF 23, inflamación
Acciones óseas	Aumento de la reabsorción ósea: liberación de Ca y P en sangre Estímulo secreción FGF 23	Aumento de la resorción ósea. Estimula síntesis FGF 23		
Acción renal	Aumenta reabsorción de Ca e inhibe la de P. Estimula 1 α hidroxilasa		Acción fosfática. Inhibe 1 α y activa 24 hidroxilasa.	Aumenta fosfaturia (FGF 23). Inhibe 1 α hidroxilasa. Reabsorción de Ca
Acción intestinal	De forma indirecta al estimular calcitriol	Absorción de Ca y P		
Otras acciones	Toxina urémica	Inhibición de PTH. Pleiotropismo. Inhibición de RAAS.	Inhibe PTH, HVI?	Antioxidante Antiapoptico Protección endotelial Protección del fallo renal Protección frente a HVI

Klotho es una proteína transmembrana, que permite la activación de la unión de FGF-23 a su receptor. Se expresa en diferentes tejidos, pero fundamentalmente en el riñón. El FGF-23 se sintetiza por los osteocitos y

osteoblastos y representa la conexión existente entre hueso, riñón y glándula paratiroides. Disminuye la reabsorción tubular del P, por lo que favorece la fosfaturia y contrarregula la acción de la vitamina D, al reducir los niveles de calcitriol (35,37).

En la ERC se produce un descenso de Klotho, compensado por un aumento de FGF-23 que favorece la disminución de calcitriol. La deficiencia de vitamina D activa causa hipocalcemia al disminuir la absorción intestinal, aumento de fósforo (P) y a su vez una reducción de la expresión de Klotho. EL aumento de P conlleva mayor descenso de calcitriol, aumento de factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23) y de PTH que inducen la hiperplasia paratiroidea y favorece el HPT2. PTH también aumenta en un intento de paliar el déficit de calcitriol y aumentar FGF23. Las dianas sobre las que actúa el calcio y el calcitriol son el receptor sensor del calcio (CaSR) y el receptor citosólico de la vitamina D (VDR), respectivamente. La hiperfosfatemia induce proliferación y disminuye la expresión de estos receptores (38).

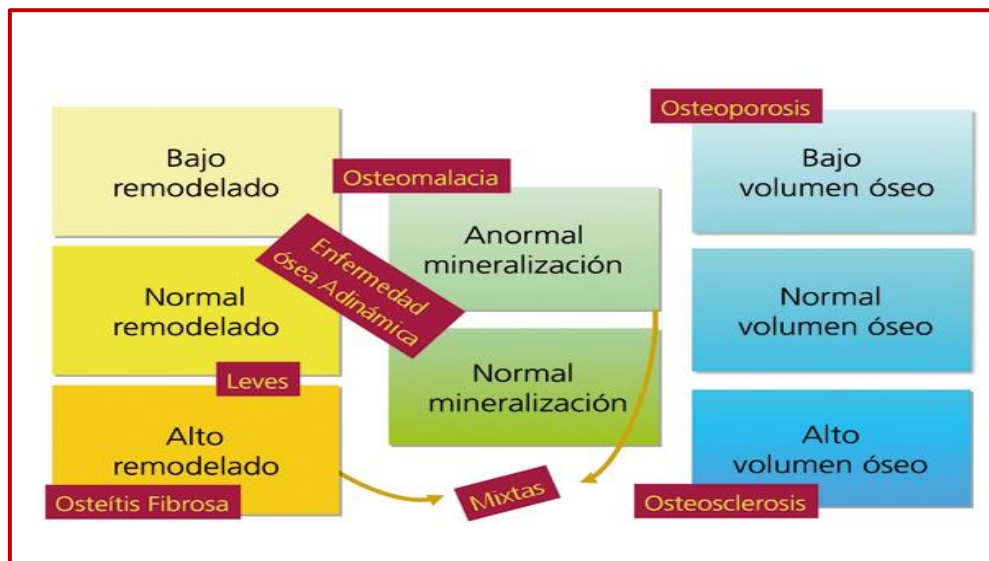
El descenso de la masa nefrogénica produce descenso de 25OHD y Ca^{2+} circulante, con aumento del P y FGF-23, lo cual conlleva un aumento de la PTH que puede ocasionar hiperplasia o adenoma paratiroideo. Niveles elevados o bajos de PTH se correlacionan con riesgo de mortalidad cardiovascular. El aumento de PTH favorece (35) (Figura 2):

1. Estimula los miocardiocitos, aumentando su crecimiento con sobrecarga de Ca^{2+} en el miocárdico, favoreciendo la hipertrofia ventricular.
2. Aumenta el estrés oxidativo y la síntesis de aldosterona, favoreciendo aterosclerosis, disfunción endotelial y calcificaciones vasculares
3. Las calcificaciones de tejidos blandos (calcinosis tumoral) y la calcifilaxis con aumento importante de la morbimortalidad en ERC.

Las alteraciones del metabolismo mineral, son factores de riesgo independientes de mortalidad, principalmente cardiovascular (36,39–43).

urémico, se produce disminución del hueso cortical mientras en el hueso trabecular se mantiene o puede aumentar.

Figura 3. Clasificación histológica KDIGO y las lesiones clásicas (3).



2.2.1. Formas de presentación:

La única causa conocida en la ERC de forma de alto remodelado es HPT2. En líneas generales es más frecuente en jóvenes, negros y mayor tiempo de permanencia en diálisis. En el HPT2 se produce un balance negativo de Ca^{2+} y fósforo en el hueso cortical, que favorece su depósito en tejidos blandos, facilitando las calcificaciones vasculares, calcifilaxis y calcinosis tumoral.

2.2.1.1. Calcificaciones cardiovasculares: en la capa media arterial y son lesiones predictivas independientes de mortalidad cardiovascular.

2.2.1.2. Calcificaciones de partes blandas: pueden afectar a tejidos sanos o a tejidos previamente dañados. Las localizaciones más frecuentes

son periarticulares (calcinosis tumoral), vasculares en capa media e íntima (calcifilaxis o arteriopatía urémica calcificada) y en válvulas cardiacas.

2.2.1.3. Rupturas tendinosas espontaneas o patológicas: frecuente en población añosa en diálisis. Los factores etiológicos más frecuentes con la amiloidosis por b2-microglobulina y el HPT2.

2.3. Diagnóstico en ERC estadio 5D:

Los métodos diagnósticos idóneos para el estudio y tratamiento de las alteraciones del metabolismo mineral, según las recomendaciones de las diferentes guías son los siguientes (5,6,11):

2.3.1. Parámetros bioquímicos: la guía KDIGO (5) y guías de la S.E.N (7) recomiendan la medida periódica de las siguientes determinaciones bioquímicas. Tabla 6.

2.3.1.1. Calcio y fósforo: los niveles de Ca^{2+} y P tienen poca capacidad predictiva de la enfermedad ósea subyacente y son frecuentemente normales porque existe una elevación de los niveles de PTH. Sin embargo, su determinación periódica, junto a la PTH, es decisiva para el tratamiento del paciente. En pacientes que reciben tratamiento con calcimiméticos o con derivados de la vitamina D (metabolitos activos o análogos o AsVDR), las determinaciones deben de ser más frecuentes a las establecidas por las guías referidas, especialmente en etapas de titulación de dosis. La extracción sanguínea para medir estas determinaciones bioquímicas deben realizarse antes de la sesión de mitad de la semana.

Debe usarse el calcio iónico, pero en la práctica clínica, se usa el calcio total, ajustado por albumina o proteínas para obviar alteraciones asociadas a hipoalbuminemia o hipoproteinemia.

$$Ca \text{ total corregido (mg/dl)} = Ca \text{ total (mg/dl)} + 0,8 [4 - \text{albúmina (g/dl)}]$$

En diálisis se ha demostrado que la hiperfosfatemia es un factor independiente de mortalidad (44).

2.3.1.2. Hormona paratiroidea (PTH): el rango de normalidad del kit clásico Allegro es de 10-65 pg/dl. Las guías KDIGO (6) recomiendan para pacientes en diálisis un rango de 2 a 9 veces por encima del rango normal establecido por el laboratorio. Las guías SEN 2011 (7) recomiendan mantener niveles entre 150-300 pg/dl y evitar valores inferiores a 100 o mayores de 500 pg/dl. Los niveles de PTH son considerados un buen marcador de la enfermedad ósea subyacente, evitándose así la necesidad de recurrir a la biopsia ósea diagnóstica.

- Niveles de PTHi >350-500 pg/ml, indican enfermedad de alto remodelado óseo (osteítis fibrosa).
- Niveles de PTHi <100-120 pg/ml (o equivalentes) se asocian con enfermedad ósea de bajo remodelado (forma adinámica u osteomalacia).

Tabla 6. Objetivos terapéuticos según diferentes guías.

	KDIGO 2017	SEN
Calcio (mg/dl)	Normal	
Fósforo (mg/dl)	Normal hasta 4,5	
PTH (pg/dl) Allegro	2-9 veces límite superior del ensayo	150-300. Evitar < 100 y > 500.

Los niveles de PTH deben medirse:

- Estadios 3-4, cada 6-12 meses en función del valor basal y del grado de progresión de la ERC.
- Estadio 5 (incluyendo 5D) cada 3-6 meses según recomiendan las guías KDIGO (6).

Las modificaciones de tratamiento, deben tener en cuenta las tendencias del calcio, fósforo o PTH, más que datos aislados de los mismos.

2.3.1.3. Calcidiol (25OHD): es aconsejable la medición de niveles de vitamina D (calcidiol) para prevenir y tratar la insuficiencia o deficiencia de vitamina D nativa (45):

- Calcidiol <30 ng/l: insuficiencia.
- Calcidiol <15 ng/l: deficiencia
- Se deben evitar niveles superiores a 60ng/dl.

La insuficiencia y deficiencia de calcidiol, se relaciona también con mayor mortalidad en diálisis y se ha objetivado que este riesgo desaparece con el uso de análogos activos de la vitamina D (46).

2.3.1.4. Fosfatasa alcalina: es un parámetro de recambio óseo y se ha descrito que niveles >120 U/l, se relacionan con aumento independiente de mortalidad cardiovascular (principalmente calcificación coronaria) en HD (47).

2.3.1.5. (Calcitriol (1-25OHD): se desconoce cuáles son los niveles normales de calcitriol y su determinación a día de hoy no está recomendada por ausencia de evidencia de que sea útil en ERC(48).

2.3.1.6. Otros marcadores del remodelado óseo: osteocalcina, las piridolinas libres en suero, y el telopéptido C-terminal del colágeno, no mejoran el poder predictivo de la PTH, por tanto, su uso sistemático no está justificado (6,7).

2.3.1.7. Factor de crecimiento del Fibroblasto 23 (FGF-23): su incremento es previo al de la PTH y se asocia con la supervivencia en ERC pero su medición no está recomendada en la clínica habitual (6,7).

2.3.2. Técnicas de imagen.

2.3.2.1. Radiología ósea: primer escalón para detectar calcificaciones vasculares y permite su seguimiento mediante índice Kauppila (49) y/o el de Adragao (50).

2.3.2.2. Densitometría ósea: método estándar para determinar la densidad mineral ósea (DMO) en la población general. La relación de la DMO con el riesgo de fractura en la población con ERC es inconsistente, por lo que no se recomienda en ERC, salvo en el post-trasplante renal (5,6).

2.3.2.3. Ecocardiograma: evalúa las calcificaciones valvulares y morfología cardíaca. Tiene un bajo poder predictivo negativo.

2.3.2.4. Ecografía carotídea: detecta calcificaciones y permite medir el grosor íntima-media en vasos carotídeos.

2.3.2.5. Velocidad de la onda del pulso carótido-femoral (VOP): se usará para medir la rigidez (o pérdida de distensibilidad) arterial. Es un método no invasivo, inocuo para el paciente, de fácil realización y alta reproducibilidad. Existe correlación entre la velocidad de la onda de pulso y el grado de calcificación vascular.

2.3.2.6. Otras técnicas para valoración arterial: técnicas de angiotomografía; TAC helicoidal o tomografía con multidetectores; Electron-beam computed tomography (EBCT).

2.3.3. Histología.

El estudio histomorfométrico mediante biopsia ósea con doble marcaje con tetraciclinas de cresta ilíaca es el método más preciso para el diagnóstico de la lesión ósea en la ERC pero dado que una prueba cruenta, se reserva para casos cuyo valor diagnóstico sea importante (6,51):

1. Hipercalcemia e hipofosfatemia inexplicables.
2. Fracturas patológicas en ausencia o ante un mínimo traumatismo.
3. Enfermos sintomáticos en presencia de parámetros clínicos incongruentes. Un caso característico es la presencia de hipercalcemia

inexplicable con valores séricos de PTH no concluyentes (entre 120 y 450 pg/ml como rango orientativo).

4. Enfermedad ósea inducida por aluminio.

2.4. Prevención y tratamiento de las alteraciones del metabolismo mineral en diálisis.

El tratamiento de las enfermedades de metabolismo mineral ha sufrido importantes modificaciones en los últimos años por la aparición de nuevas herramientas terapéuticas (quelantes, activadores de VDR, calcimiméticos) y por el conocimiento del FGF-23/Klotho.

El objetivo primordial es mantener niveles de Ca^{2+} y P en rango normal pero en esta fase el control del HPT2 es más difícil, por la ausencia de función excretora y endocrina a nivel renal, por lo que la variabilidad bioquímica es importante y no es fácil estandarizar el tratamiento pero hay unas pautas comunes a seguir:

1. Dieta.
2. Optimizar dosis de diálisis y concentración de Ca^{2+} en el baño de diálisis.
3. Normalizar niveles de 25OHD
4. Controlar niveles de Ca^{2+} y fosforo mediante quelantes del P.
5. Optimizar niveles de PTH con activadores selectivos del VDR y/o calcimiméticos.
6. Paratiroidectomía.

2.4.1. Dieta: en diálisis hay un aumento del catabolismo por lo que debe haber un adecuado aporte calórico, proteico y mineral. Se considera que el aporte óptimo de proteínas debe ser de 1-1,2 g/kg/día con un aporte calórico de 30-35 kcal/kg de peso (52).

2.4.2. Diálisis: en términos generales, un incremento del tiempo y la frecuencia de la diálisis mejoran la eliminación de solutos del espacio intracelular,

como es P. Se recomienda una duración mínima de 4 horas tres veces por semana y el empleo de técnicas con alto transporte convectivo (53,54). No hay consenso sobre cuál debe ser el contenido de Ca^{2+} en el baño de diálisis. La KDIGO (6) sugiere concentraciones entre 1,25 y 1,50 mmol/L (2,5-3 mEq/L), siempre individualizando el caso.

2.4.3. Paratiroidectomía.

Con el uso de los calcimiméticos, las indicaciones de paratiroidectomía se han reducido y solo se recomienda el tratamiento quirúrgico en las siguientes situaciones (55):

1. Niveles de PTH > 800pg/ml durante más de 6 meses a pesar de tratamiento médico óptimo.
2. Hipercalcemia o hiperfosfatemia severa refractaria.
3. HPT primario en pacientes con ERC.
4. Calcifilaxis con PTH > 500pg/ml que no responden a calcimiméticos.
5. Complicaciones asociadas a HPT2 como ruptura tendinosa, anemia refractaria, dolor óseo severo.

La técnica más utilizada, a día de hoy es la paratiroidectomía subtotal con menor índice de recidivas (56).

2.4.4. Garantizar niveles de 25OHD: El 80% de los pacientes con ERC tienen déficit de 25OHD y este hecho asocia un incremento de mortalidad cardiovascular e infecciosa (57,58). Existen varias razones para suplementar a los pacientes con ERC:

- En estadios precoces, el déficit de 25OHD puede ser la única causa de HPT2 y la suplementación en estado avanzado, detiene la progresión del HPT2 sin causar hipercalcemia ni efectos secundarios (59).
- Los VDR, no solo se encuentran en el riñón, si no en multitud de tejidos y la suplementación tendría beneficios pleiotrópicos, más allá del control de HPT2 (59).

- Tratamiento adyuvante a los tratamientos de la osteoporosis en la ERC, ya que aumenta la eficacia de dichos fármacos (60).

El objetivo es conseguir que se mantengan las acciones de la vitamina D sin efectos secundarios con la mínima dosis eficaz y evitar la intoxicación, ya que al ser liposoluble puede acumularse (61). En nuestro medio disponemos de dos presentaciones terapéuticas de vitamina D nutricional: colecalciferol (vitamina D3 nutricional) y calcidiol (25OHD).

2.4.5. Control del calcio/fosforo con quelantes del fósforo.

Conforme avanza la ERC y especialmente en diálisis, la restricción de fósforo en la dieta es insuficiente y es necesario recurrir a los quelantes del P, capaces de reducir el P sérico con una potencia similar y multitud de alternativas, recomendando no usar quelantes con aluminio (62,63). Entre lo quelantes del fósforo se encuentran:

- **Quelantes con aluminio:** Hidroxido de aluminio, no recomendado por sus complicaciones a largo plazo (osteomalacia, anemia y demencia) (7).
- **Quelante cálcico de fósforo (carbonato y acetato cálcico):** se ha observado un aumento de calcificación vascular con el uso quelantes cálcicos, por lo que las guías KDIGO 2017 (6) sugieren evitar su uso en todos los grados de ERC aunque no hay diferencia de mortalidad en comparación con quelantes no cálcicos (64).
- **Quelante no cálcico de fósforo (sevelamer y carbonato de lantano):** el sevelámero es una resina de intercambio iónico que se encuentra en dos presentaciones, clorhidrato y carbonato de sevelámero. El carbonato de lantano impide la absorción de fósforo en las vellosidades intestinales con mayor potencia que sevelamer pero sus principales desventajas son su alto costo y sus efectos adversos a nivel de tolerancia gástrica y su acumulación en el hueso y otros tejidos (65). En cuanto al control del P, en la mayoría de los estudios se han observado menores niveles de Ca^{2+} sérico y mayores niveles de PTH con el uso de quelantes no cálcicos (66).

- *Quelantes de fósforo que contienen magnesio:* los niveles de magnesio sérico son mayores en los pacientes con ERC 5D, es por esto que los quelantes que contienen magnesio no se consideran como primera línea de tratamiento en el manejo de la hiperfosfatemia (63).

- *Quelantes del fósforo que contienen hierro:* Oxihidróxido sucroferrico, es un nuevo quelante que intercambia el grupo hidroxilo de la sustancia y el P de la dieta, de modo que se forma un complejo entre el fosfato y el oxihidróxido, lo que reduce la absorción intestinal del P. Los estudio de seguridad, no han demostrado superioridad a sevelamero y si acontecimientos adversos a nivel gastrointestinal que han limitado su uso y adherencia (63)

2.4.6. Control de la PTH: manejo de HPT2.

Si a pesar de las medidas anteriores, los niveles de PTH persisten elevados o siguen aumentando de manera persistente, se deben plantear nuevos fármacos cuyas dianas son el VDR y el CaSR (5-7):

- Receptor de la vitamina D (VDR): activadores del VDR (AVDR) como el Paracalcitol.
- Receptor sensor del Calcio (CaSR): calcimiméticos.

2.4.6.1. Activadores del VDR (AVDR):

VDR es un receptor nuclear que actua como factor de transcripción en las células, de ahí, la multitud de acciones que tiene en los diferentes tejidos. En España hay tres presentaciones:

1. $1\alpha(\text{OH})\text{D}_3$: Etalpa®. Derivado sintético de la vitamina D que corresponde a la molécula 1 alfa hidroxicolecalciferol. Es una forma que precisa trasformación a forma activa. Se requieren dosis más elevadas que calcitriol, para conseguir el mismo efecto (67).
2. $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ o calcitriol: Rocaltrol® y Calcijex®. Disminuye la síntesis y secreción de PTH y regula la homeostasis del Ca^{2+} y P, proliferación y

diferenciación celular y regula el sistema inmune. Tiene efectos preventivos sobre enfermedades cardiovasculares, neurodegenerativas e incluso efecto anti envejecimiento (68).

3. Paricalcitol: Zemplar®. Activador selectivo del VDR (AsRVD) con mayor afinidad por las células paratiroides, que inhiben la síntesis y secreción de PTH de manera más eficiente y con menos riesgo de hipercalcemia e hiperfosforemia (69). También tiene efectos pleiotrópicos multi sistémicos: disminuye proteinuria y fibrosis renal, antiinflamatorios, disminuye las calcificaciones vasculares (70–75).

2.4.6.2. Calcimiméticos:

Los calcimiméticos actúan como moduladores alostéricos sobre el CaSR, que es un receptor que se sitúa en la superficie de la célula principal de la paratiroides y otros tejidos como riñón, vasos sanguíneos y osteoclastos del hueso. Los calcimiméticos incrementan la sensibilidad de dicho receptor al Ca^{2+} , reduciendo así las concentraciones de PTH, lo cual es esencial en el manejo del HPT2 resistente o asociado a hipercalcemia en pacientes con diálisis (76). Esta reducción se asocia a un descenso paralelo de las concentraciones séricas de Ca^{2+} y P. Otra ventaja, importante con el uso de los calcimiméticos, ha sido la disminución de paratiroidectomías, fracturas y hospitalización por causa vascular (55,56,77). Aún queda por conocer la repercusión del tratamiento en otras variables tan importantes como efectos cardiovasculares, calcificaciones de tejidos blandos y efecto sobre el hueso (78). Actualmente hay dos calcimiméticos comercializados en España:

1. Cinacalcet (vía oral): Mimpara®. Activador alostérico del CaSR que aumenta la sensibilidad de la glándula paratiroides a la acción del Ca^{2+} y disminuye la secreción de PTH (79). Se administra vía oral con dosis que varían entre 30 y 180 mg. Este fármaco es el objeto de estudio del presente trabajo.
2. Etacalcetide (intravenoso): es un péptido sintético que activa el CaSR, incluso en ausencia de calcio (80,81).

El uso intravenoso de etacalcetide, mejora y asegura la adherencia a tratamiento en los pacientes en HD y parece ser más efectivo para reducir niveles de PTH con un perfil de seguridad aceptable (81). La administración de etacalcetide postdiálisis mantiene niveles de PTH más estables a lo largo de toda la semana en comparación con cinacalcet (82), en el que se objetiva una reducción transitoria de PTH en las primeras 6 horas con un retorno al inicio a las 24h. Ambos fármacos pueden presentar riesgo de hipocalcemia y molestias digestivas.

En el momento de diseñar este estudio y proceder a la recogida de datos solo estaba comercializado cinacalcet. La Comisión Europea emitió una autorización de comercialización válida en toda la Unión Europea para cinacalcet el 22 de octubre de 2004.

3. CINACALCET.

3.1. Indicaciones clínicas formalmente aprobadas por la Agencia Europea del Medicamento (EMA) (83).

- Tratamiento del HPT secundario en pacientes con ERC en TSR con diálisis (en trasplante no dispone de indicación).
- Carcinoma de paratiroides con hipercalcemia.
- Hipercalcemia no controlada en el Hiperparatiroidismo primario sin indicación quirúrgica.

3.2. Posología, forma de preparación y administración (ficha técnica Mímica®).

La biodisponibilidad de cinacalcet aumenta cuando se toma con alimentos, por lo que se recomienda su toma con la comida o después.

En HPT2, la dosis inicial es de 30 mg una vez al día y debe ajustarse cada 2 a 4 semanas, sin superar la dosis máxima de 180 mg una vez al día. El objetivo del tratamiento en ficha técnica es lograr una concentración de PTH intacta de 150-

300 pg/ml. Los niveles de PTH se han de evaluar por lo menos 12 horas después de la dosis de cinacalcet. Durante el tratamiento de mantenimiento debe determinarse la PTH aproximadamente cada 1-3 meses.

3.3. Farmacocinética (ficha técnica Mimpara®).

La biodisponibilidad en ayunas es del 20-25% y con toma de alimentos aumenta, hasta un 50-80%. Cinacalcet tiene una unión a proteínas plasmáticas en un 97%. Tras la administración oral, la concentración plasmática máxima de cinacalcet se alcanza a la 2-6 h (84). Después de su absorción, las concentraciones de cinacalcet disminuyen con una semivida inicial de unas 6 horas y una semivida terminal de 30-40 horas. El estado equilibrio se alcanza a los 7 días con una mínima acumulación. La saturación de absorción se produce con dosis > de 200 mg, por mala solubilidad (84).

Se metaboliza por múltiples enzimas, entre las que se encuentran de manera prioritaria la CYP3A4 y CYP1A2, dando lugar a metabolitos inactivos. En un 80% se elimina vía renal y el 15% por heces (85).

Se ha comparado cinacalcet con placebo (un tratamiento ficticio) en tres estudios (8,78,80) realizados sobre 1136 adultos con HPT2. El criterio de eficacia principal fue el número de pacientes que presentaban una concentración sanguínea de PTH inferior a 250 µg/l al cabo de 6 meses. No se encontraron diferencias significativas en la farmacocinética en pacientes ancianos, pacientes con insuficiencia renal leve y moderada y en pacientes sometidos a TSR (HD y DP). Cinacalcet en líneas generales, es bien tolerado y en diálisis no se han observado diferencias entre el fármaco y placebo en cuanto a efectos adversos (8, 86). Los efectos adversos más frecuentes de cinacalcet (pueden afectar a más de 1 de cada 10 pacientes) son náuseas y vómitos (8, 86).

4. FARMACOGENÉTICA.

Watson y Crick publicaron la estructura de la molécula de ADN hace más de 50 años(87). Este hecho marcó el acceso a la secuencia completa del genoma humano y al inicio de un proceso de descubrimientos en los campos de la Biomedicina (88).

La gran variabilidad interindividual en la respuesta a los medicamentos, tanto en lo referente a la efectividad como a la toxicidad, es uno de de los principales problemas al que se enfrenta la farmacología clínica. Esta variabilidad se puede explicar factores genéticos y no genéticos. La expresión de los genes y los polimorfismos existentes en ellos, en parte explica y condiciona estas diferencias (89).

4.1. Genoma y Medicina: Proyecto Genoma Humano.

A partir del momento en que un fármaco y un organismo humano se ponen en contacto, se desconoce el número de genes que participan pero lo que si es conocido, es que el perfil genético de las personas es invariable a lo largo de la vida, a diferencia de otras variables ambientales, demográficas y clínicas que pueden influir en la respuesta a diferentes fármacos (90).

El conjunto del material genético, se denomina genoma, formado por genes y regiones antigénicas, constituido por una secuencia de ADN que contiene de aproximadamente tres mil millones de nucleótidos. El gen es un segmento de de ADN que codifica habitualmente una proteína y se encuentra localizado en un cromosoma concreto (91).

El 14 de abril de 2003 el *International Genome Project* (<https://www.genome.gov/>), informó de la secuenciación completa del genoma humano en un 99 %. El genoma humano es idéntico en un 99,9% entre todas las personas. El 0,1%, restante, son variaciones de la normalidad, denominadas polimorfismos, siendo aproximadamente unos 2 millones de ellas, descubiertas y definidas por cambios puntuales en los nucleótidos, y en su mayoría son SNPs (*Single Nucleotide Polymorphism*) (88). Su presencia o ausencia pueden condicionar

la aparición de enfermedades e incluso determinar la respuesta a determinados fármacos.

En la medicina genómica se han obtenido avances muy importantes dirigidos a la individualización de tratamiento debido a un aumento en el conocimiento de la ingeniería genética de los tejidos y del diagnóstico molecular, desarrollando terapias específicas celulares y genéticas. Se podrá predecir quién se puede beneficiar de un medicamento y evitar su administración a quién sólo le provoque efectos secundarios indeseables (92–95).

4.2. Factores determinantes, de la variabilidad entre la población en la respuesta a los fármacos.

Factores genéticos: la herencia tiene una influencia importante en el efecto de un fármaco y la tolerancia de un paciente al mismo aunque haya otros muchos factores que puedan influir. Hoy en día se cree que la genética interviene en el 20-95 % de la variabilidad en la disponibilidad de un fármaco y sus efectos (93).

Factores no genéticos: existen factores muy diferentes que la respuesta terapéutica, entre los que se encuentran los referidos en la tabla 7. A diferencia de los factores genéticos que son estables, estos factores varían a lo largo de la vida. Factores genético y no genéticos, marcan la toxicidad y la eficacia de un fármaco.

Tabla 7. Factores no genéticos que condicionan la respuesta terapéutica de los individuos

Fisiológicos	Edad Sexo Peso Grasa corporal.
Patofisiológicos	Función renal Función hepática Función cardiovascular. Enfermedades concomitantes.

Medioambientales	Tratamientos concomitantes Tabaco Alcohol Nutrición Contaminantes
-------------------------	---

4.3. Concepto de farmacogenética:

La farmacogenética estudia el efecto de la variabilidad genética de un individuo en su respuesta a determinados fármacos. Existen distintas fuentes de variabilidad genética, dividiéndose principalmente en mutaciones y polimorfismos. Las mutaciones puntuales son las más graves, ya que pese a ser variaciones poco frecuentes, pueden causar un efecto patogénico marcado. Los polimorfismos, en cambio, son más frecuentes (presentes en más de un 1% de la población) pero no suelen tener relevancia clínica.

En la farmacogenética se estudia un tipo concreto de polimorfismos, los polimorfismos de nucleótido único (SNPs), que son polimorfismos originados por variación de un solo nucleótido de la secuencia y que representan el 90% de la variabilidad genética de nuestro genoma, apareciendo un cambio de nucleótido aproximadamente cada mil bases (94). Pese a que habitualmente los SNPs no tendrán consecuencias biológicas, los genes humanos están sometidos a una alta tasa de polimorfismo genético, lo que puede conducir a alteraciones funcionales significativas.

Un polimorfismo ocurre cuando existen variantes genéticas en la misma ubicación (loci) del genoma. Cada variante posible se denomina alelo, y si solo ha cambiado un nucleótido, la variante se denomina SNP (polimorfismo de un único nucleótido). En este caso, normalmente, tenemos dos posibilidades para cada loci, por ejemplo, cambiando T por C (denotado T→C). Entonces decimos que este loci es bialélico. Cada individuo porta dos alelos de cada loci, uno para cada uno de los 22 cromosomas autosómicos heredados independientemente de sus padres. Genotipo es un par de alelos individuales para algunos loci. En el ejemplo anterior, hay tres genotipos potenciales: T/T, T/C y C/C. Si los dos alelos son idénticos (T/T o C/C) decimos que el individuo es homocigoto. De lo

contrario, el individuo será heterocigoto. Se establece como genotipo variante, el menos frecuente, pero puede diferir entre distintas poblaciones (96).

La farmacogenética busca entender cómo la información genética, las diferencias en los genes y su expresión afectan a la respuesta del organismo a la medicación, con el propósito de explicar las diferencias entre individuos en el metabolismo de los fármacos (farmacocinética), y respuesta fisiológica a fármacos (farmacodinámica). De esta manera se identifican a sujetos que responden que no responden a un fármaco, de tal manera que se pueda predecir la eficacia y/o toxicidad a un fármaco (94). Por ejemplo, variantes en los genes que codifican para las enzimas del citocromo P450, que participan en el metabolismo de la mayor parte de los medicamentos, pueden ocasionar que el metabolismo y eliminación de los fármacos sea más lento, se acumule y ocasionen efectos adversos. De la misma forma que otras variantes pueden tener el efecto contrario, facilitando una rápida eliminación y el fármaco, no sea efectivo y haya que usar dosis más elevadas o plantear otras terapias.

La existencia de variantes genéticas que afectan al metabolismo de los fármacos ha llevado a que las agencias internacionales reguladoras de medicamentos recomienden la incorporación de pruebas genéticas para predecir la respuesta a los fármacos. Han surgido plataformas como PharmGKB (Pharmacogenomics Knowledge Base) destinadas a proporcionar información para mejorar la comprensión de cómo la variación genética contribuye a la reacción de cada individuo a los fármacos y realiza recomendaciones de dosis.

4.4. Objetivos de la Farmacogenética.

El objetivo principal de la Farmacogenética es «optimizar el tratamiento de las enfermedades a nivel individual», todo dirigido a «terapia personalizada más segura y eficiente» (95). La Farmacogenética puede ayudar a la prescripción terapéutica y ayudar al clínico a la hora de:

1. Seleccionar a aquellos pacientes que podrían responder bien o mal a un fármaco determinado antes de que sea prescrito.

2. Seleccionar la medicación más adecuada para un determinado paciente.
3. Seleccionar la dosis más adecuada de un fármaco para un determinado paciente.

En definitiva, seleccionar «el fármaco correcto, a la dosis correcta, para el paciente indicado». En el futuro, la farmacogenética identificará los mecanismos moleculares causantes de variaciones controladas genéticamente relacionadas con la farmacocinética y farmacodinamia y evaluará su significación clínica mediante ensayos clínicos prospectivos, identificando individuos respondedores o con respuesta anómalas a los fármacos. Los polimorfismos genéticos determinan la respuesta que un individuo puede tener a un fármaco, pudiendo ésta ser nula, reducida, normal o incluso aumentada. Quizá llegue un día en que se pueda realizar en todos los pacientes una tarjeta identificativa genética según la enfermedad del paciente, permita selección del fármaco y su dosis de manera óptima (97).

Ingelman-Sundberg dice: «Los factores genéticos pueden representar entre el 20 y 40% de estas diferencias interindividuales en el metabolismo y respuesta a fármacos. Sin embargo, para ciertos medicamentos o clases de medicinas, los factores genéticos serán los más importantes para el resultado de la terapia farmacológica» (98).

5. GENES DE IMPORTANCIA CLINICA EN PACIENTE CON HIPERPARATIROIDISMO SECUNDARIO A ENFERMEDAD RENAL CRONICA EN TRATAMIENTO CON CINACALCET.

A pesar de los avances en el manejo de los pacientes con ERC en diálisis, el número de problemas relacionados con los medicamentos, es muy prevalente. Los principales problemas son la falta de adherencia, ocasionada principalmente por los efectos adversos, los cuales causan una disminución en la eficacia de los tratamientos. Estos problemas, podrían ser explicados en parte por la

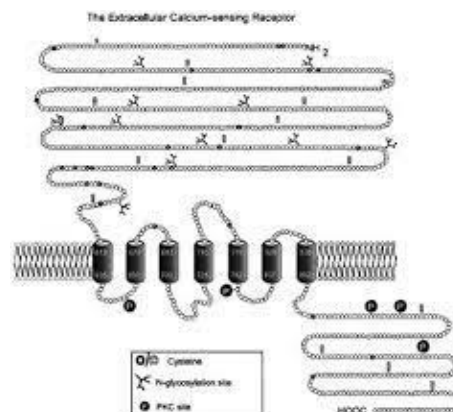
variabilidad genética y por factores no genéticos, como se ha explicado previamente.

En este trabajo se aportan datos farmacogenéticos relacionado con los polimorfismos de genes involucrados en la metabolización y respuesta a cinacalcet. Las proteínas involucradas en el mecanismo de acción del cinacalcet, en la metabolización de la vitamina D y en La enfermedad ósea-mineral de la ERC, son fundamentalmente las siguientes:

5.1 Receptor Sensible al Calcio (CaSR) y Gen del Receptor Sensor del Calcio (CASR): CasR pertenece a una superfamilia de receptores acoplados a las proteínas G y está presente, en las glándulas paratiroideas, riñones, huesos e intestino. Su principal función en las glándulas paratiroideas es mantener en equilibrio los niveles de Ca^{2+} extracelular, en sangre y consecuentemente mantener estables los niveles de PTH. Este receptor, es la diana terapéutica del Cinacalcet (99).

El CaSR consta de tres dominios: extracelular (612 aa), hidrofóbico (250 aa con siete dominios transmembrana) y C-terminal intracelular (217 aa) (92) (Figura 4).

Figura 4. Estructura de la proteína CaSR (90).



El Ca^{2+} extracelular se une al CaSR para reducir la secreción de PTH. El magnesio también se liga al receptor, con una menor afinidad. También se ligan al CaSR el gadolinio y poli cationes orgánicos (neomicina, espermina, espermidina) que están en altas concentraciones en el sistema nervioso (100).

El riñón autorregula la reabsorción de cationes divalentes. El hueso regula el recambio óseo esquelético, alternando resorción y formación ósea, mientras que en el intestino se produce absorción de Ca^{2+} . El CaSR, no sólo es mediador del clásico feedback Calcio/PTH/Calcitonina, sino que además participa en el feedback del asa corta de Henle por el que el Ca^{2+} reabsorbido en riñón, absorbido en intestino o resorbido en el hueso, puede regular localmente esos mismos procesos y otros implicados en la homeostasis del Ca^{2+} .

En el HPT2 de la ERC, la expresión del CaSR en las glándulas paratiroides se encuentra reducida (31, (101), lo que podría explicar, en parte, la baja sensibilidad de la glándula paratiroides a la acción del Ca^{2+} . La expresión del receptor en las glándulas paratiroides se encuentra más disminuida, principalmente en las zonas de hiperplasia nodular en el HPT2 (102,103). Existe una relación inversa entre la proliferación celular de las paratiroides y la expresión del CaSR (103), hecho que explica, los bajos niveles de este receptor en el HPT2 en donde el tamaño glandular se ve aumentado como consecuencia de una mayor proliferación celular. En el TXR, a pesar de la normalización de los niveles de PTH, persiste la reducción del número de CaSR, lo cual favorece el desarrollo de HPT terciario (104). Se cree que el CaSR es capaz de regular la proliferación, diferenciación y la apoptosis celular tanto en situaciones de normalidad como en condiciones patológicas (104).

El gen del *CASR* se localiza en el cromosoma 3 (región 3q13.3-21) y tiene 8 exones, de los cuales, del 2 al 7 codifican al CaSR. Existen diferentes polimorfismos en la región C-terminal del CaSR (105).

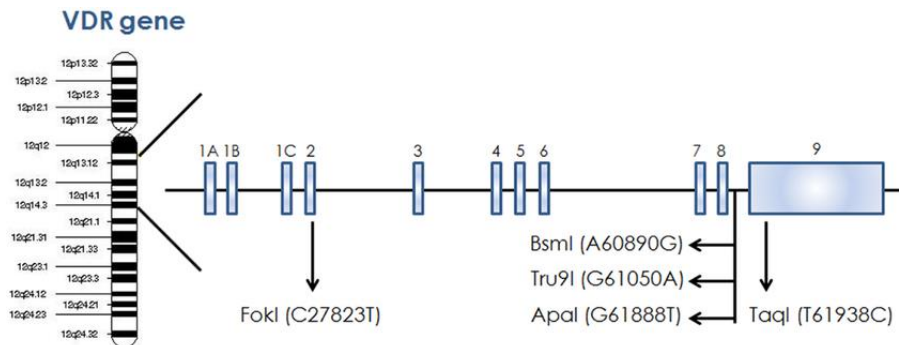
Yun y sus colaboradores demostraron en 2007 que tres SNPs del *CASR*, localizados en el exón 7 (G986T, A99G y C1011G) están implicados en la patogenia del HPT2 (106). El polimorfismo A986S, es el más estudiado. Es más frecuente en caucásicos y diferentes estudios de cohortes informan que este

polimorfismo se asocia a mayor riesgo de HPT primario ya que favorece la hipercalcemia e hipocalciuria (107-109). Rothe et al informan en su estudio que posiblemente el alelo mutado 990G del SNP A990G se relaciona con una mejor respuesta a cinacalcet (109).

Otros polimorfismos de este gen se han visto implicados en alteraciones a nivel bioquímico con el HPT2. Así, los polimorfismos A986S (rs1801725), R990G (rs1042636) y Q1011E (rs1801726) se asocian a variaciones en los niveles de Ca^{2+} (110). Yokoyama demostró que el polimorfismo *CASR* R990G influía en la respuesta de las células paratiroides a los cambios de Ca^{2+} , objetivando que el genotipo GG era más sensible a estas variaciones (110). En un estudio más reciente, se demostró que el alelo A del polimorfismo rs7652589 se asoció a concentraciones más elevadas de Ca^{2+} y que los genotipos AA y AG tenían mayores niveles de Ca^{2+} que el genotipo GG. Además, el genotipo AA comparado con los que tenían el alelo G, presentaban mayor porcentaje de PTH > 500pg/ml, sin encontrar diferencias en cuanto a respuesta a cinacalcet (111).

5.2. Receptor de la Vitamina D (VDR) y Gen VDR (VDR): VDR media la acción de la Vitamina D del sistema endocrino en la homeostasis del Ca^{2+} y el metabolismo óseo. La vitamina D lleva a cabo numerosas funciones en el hueso a través de su receptor, actuando sobre los osteoblastos y precursores de los osteoclastos, por lo tanto, interviene activamente en la formación y resorción ósea (112). En humanos, el gen del *VDR* se localiza en el brazo largo del cromosoma 12 y comprende una región de aproximadamente 100 kb de ADN, aunque sólo 4,6 kb son los que codifican la proteína (113) (Figura 5).

Figura 5. Diagrama esquemático del gen VDR que muestra diferentes sitios de restricción en el cromosoma 12 (113).



Los niveles intracelulares de VDR se regulan tanto por ligandos que se una al receptor, como por hormonas y factores de crecimiento que no unen (114). La síntesis y degradación del VDR, es específica de cada tejido. Por ejemplo, el calcitriol aumenta la síntesis de VDR en las glándulas paratiroides y el riñón pero, no en el intestino (58). La cantidad de VDR en la célula diana depende también de muchos otros factores, como el estado de proliferación y diferenciación de la célula, las rutas celulares activadas en un determinado momento, así como la expresión diferencial de cofactores que intervienen en las acciones del VDR como factor de transcripción (115).

La calidad del VDR es tan importante o más que su cantidad y disponibilidad. Hay más de 14 mutaciones asociadas con raquitismos resistentes a vitamina D (58), y se han descrito hasta la fecha más de 14 polimorfismos diferentes en el gen humano del *VDR* (113) que pueden explicar la variabilidad de respuesta a vitamina D. De entre todos los polimorfismos descritos, los más estudiados son: BsmI, ApaI, TaqI y FokI (113).

Hay una gran variabilidad en los resultados de los estudios de la influencia de los polimorfismos del *gen del VDR*, sobre los niveles de osteocalcina, la osteoporosis y el riesgo de fracturas, debido a la falta de homogeneidad de las muestras, su tamaño, los sesgos de selección por no tener en cuenta los niveles de calcidiol y/o calcitriol, así como factores de confusión por no tener en cuenta los factores (116,117).

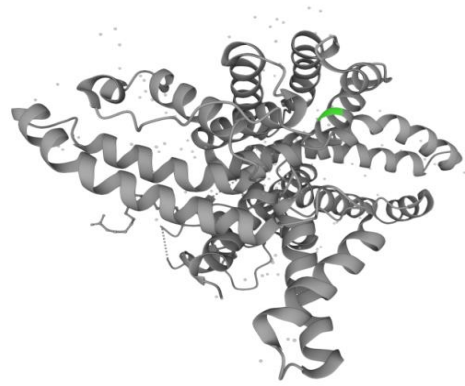
A parte del papel de los polimorfismos del *gen del VDR* sobre masa ósea y fracturas, también tiene un papel regulador en la paratiroides. El calcitriol actúa en las glándulas paratiroides a través del VDR, donde inhibe la síntesis y la secreción de PTH y la proliferación celular (112). El calcitriol, también modula positivamente la síntesis del VDR, de manera que una disminución en los niveles de calcitriol implica una menor cantidad y disponibilidad de VDR, principal factor de la progresión del HPT2 (118). Diferentes autores han encontrado relación variable entre polimorfismos del *VDR* y función paratiroidea tanto en pacientes con HPT1 y en pacientes con HPT2 (117–125).

Carling et al (117) propusieron una relación directa entre los polimorfismos del *VDR* y la función paratiroidea, ya que encontraron que, en HPT1 predominaba la presencia del haplotipo baT o los genotipos bb, aa y TT. Sin embargo Carling et al y otros autores, no pudieron confirmar estos datos en HPT2 (118,120,125). Fernández et al (121) y otros autores (122,123) sí encontraron asociación, con resultados similares a los hallados en el HPT1 (niveles más elevados de PTH en el genotipo bb). En la misma dirección Yokoyama et al (122) y Vigo et al (123) encontraron niveles más elevados de PTH en pacientes en HD que presentaban el genotipo aa frente a los que tienen A- y el genotipo FF que en los individuos F-, respectivamente.

Estos resultados podrían ayudar a explicar las diferencias observadas en la respuesta al tratamiento con similares dosis de calcitriol en pacientes con el mismo grado de HPT2.

5.3. Proteína de unión a la Vitamina D (Vitamin D Binding Protein; DBP) y gen proteína transportadora de la vitamina D (GC): La proteína DBP es una fosfoproteína de 474 aminoácidos y 52,9 kDa, codificada en el cromosoma 4, en la que se reconocen 2 dominios fundamentales, uno de unión al ADN (DBD) y otro de unión al ligando (calcitriol) (LBD). DBP es el principal transportador plasmático de la Vitamina D y sus metabolitos (calcidiol y calcitriol) para el hígado, riñón, hueso y otros tejidos (112).

Figura 6. Estructura de la DBP (114).



En humanos, la DBP, oficialmente conocida como GC-globulina (componente específico de grupo), está codificada por el *gen* GC (125). GC pertenece a la familia de genes de la albúmina y es muy polimórfico, variando la afinidad por la vitamina D y sus metabolitos. Dos polimorfismos de un solo nucleótido (SNP), rs7041 (Asp416Glu) y rs4588 (Thr420Lys), se correlacionan con los niveles circulantes de vitamina D. La combinación de los dos SNP, rs7041 y rs4588, produce tres combinaciones variantes (Gc1s, Gc1f y Gc2) con diferentes afinidades de unión por los metabolitos de la vitamina D (88,126).

El estudio SUNLIGHT (127) (n=33.966 de origen europeo) observó una asociación significativa de los niveles de calcidiol con los SNP del GC y otros polimorfismos de genes próximos y tras ajustar por factores ambientales, se observó que la presencia de determinado alelos, duplicaban el riesgo de insuficiencia de calcidiol (25OHD <30 ng/ml) y aumentaba el riesgo de deficiencia severa (25OHD <10 ng/ml) (OR=1,43). En el GWAS realizado por Ahn et al (128) (n=6.722 de origen europeo) se encontraron asociaciones significativas con niveles promedio de 25OHD menores (-18,3%) en los portadores de dos copias del alelo de riesgo.

Esta variabilidad genética puede explicar los diferentes niveles de 25OHD, en condiciones semejantes de ingesta por dieta, suplementos de vitamina D y exposición solar, por lo que algunos individuos requerirían recomendaciones y aportes de vitamina D, diferentes para mantener niveles óptimos de vitamina D.

5.4. Isoenzimas CYP3A4, CYP1A2 y CYP2D6 de la familia del citocromo P450 y genes reguladores (CYP3A4, CYP1A2 y CYP2D6): participan en el metabolismo del cinacalcet (ver ficha técnica de Mimpara). En humanos se han descrito al menos 18 familias y 44 subfamilias CYP-450 metabolizadoras, de las cuales sólo las familias CYP1, CYP2 y CYP3 parecen tener importancia en el metabolismo de fármacos.

5.4.1. CYP 1A2: esta enzima metaboliza un número menor de fármacos que otras subfamilias del CYP-450, pero es una enzima altamente inducible, principalmente por el ejercicio, ingesta cárnica, ingesta vegetal y contaminantes ambientales, entre los que se encuentra el tabaco. Al ser fácilmente inducible, se deduce que el conocimiento de sus variantes alélicas, puede ser de utilidad a la hora de pautar y dosificar de manera adecuada al paciente (129). Hasta la fecha, más de 15 alelos y una serie de subvariantes del gen *CYP1A2* han sido identificados y algunos de ellos han sido asociados con la eliminación del fármaco y la alteración de respuesta y la susceptibilidad a enfermedades (130).

5.4.2. CYP2D6: representa un 2-4-% de todos los CYP hepáticos y sus polimorfismos han sido ampliamente estudiados al existir una variación interindividual importante en su actividad enzimática. La enzima es en gran parte no inducible y metaboliza aproximadamente el 25% de los fármacos más utilizados en la práctica clínica (131).

Variaciones en los polimorfismos de este citocromo, pueden dar lugar a efectos adversos y disminución de respuesta a los fármacos. Según una exhaustiva revisión por Zhou et al, una correlación concordante genotipo-fenotipo proporcionaría una base para predecir el fenotipo con la realización de pruebas genéticas, lo que significaría un importante potencial para conseguir el ideal de una farmacoterapia personalizada (131).

5.4.3. Subfamilia CYP3A: las isoenzimas de este citocromo metabolizan un gran número de fármacos de uso frecuente y también metabolizan otro gran número de compuestos como hormonas esteroideas, toxinas y carcinógenos. Se compone de 3 genes diferentes: *CYP3A4*, *CYP3A5* y *CYP3A7*. De estas enzimas, *CYP3A4* y *3A5* contribuyen al metabolismo de la mayor cantidad de grupos de medicamentos. Se localizan en órganos de especial importancia para la biodisponibilidad de los (Intestino, hígado y riñón) y poseen mecanismos de regulación complejos (132).

La *CYP3A4* es la única enzima del citocromo P-450 que se expresa hasta dos veces más en mujeres que en hombres (131). No se han demostrado correlaciones genotipo fenotipo farmacológico y no existe evidencia de una contribución significativa de los polimorfismos genéticos en la actividad de la enzima, a pesar de la facilidad con la que su actividad puede ser modulada (132).

II. JUSTIFICACIÓN E HIPOTESIS

II. JUSTIFICACIÓN E HIPOTESIS.

A pesar de los avances en el manejo de los pacientes con ERC en diálisis, el número de problemas relacionados con los medicamentos, es muy prevalente. Los principales problemas son la falta de adherencia, ocasionada principalmente por los efectos adversos, los cuales causan una disminución en la eficacia de los tratamientos. Estos problemas, podrían ser explicados en parte por la variabilidad genética y por factores no genéticos. El objetivo principal de la Farmacogenética es ayudar al clínico a la hora de «optimizar el tratamiento de las enfermedades a nivel individual», todo dirigido a «terapia personalizada más segura y eficiente» (95).

Basado en esto, el presente trabajo tiene su orientación en mejorar la atención médica de pacientes con ERC tratados con cinacalcet, para control de una de las principales comorbilidades que presentan, el HPT2, con el principal objetivo de mejorar sus resultados farmacoterapéuticos y prevención de complicaciones cardiovasculares.

La elevada prevalencia de la ERC junto con las implicaciones, tanto clínica, como económicas, de patologías frecuentes asociadas como la enfermedad ósea-mineral renal, obligan al estudio continuo de la fisiopatología y terapéutica de estas enfermedades con el fin de disminuir su incidencia y sus complicaciones.

Con el tiempo y la generalización de su uso, ha quedado bien asentado el beneficio de uso de cinacalcet y también ha sido evidente la variabilidad de respuesta a cinacalcet en este tipo de pacientes. Aunque se han planteado diferentes variables que podrían explicar dicha variabilidad, la influencia genética cobra cada vez más fuerza. Por todo esto, mediante el presente estudio nos planteamos la hipótesis de que la variabilidad de respuesta al cinacalcet podría estar en función de la presencia o ausencia de los alelos característicos relacionados con la farmacocinética (*CYP p450*) y la farmacodinamia del fármaco (*CASR*, *VDR* y *DBP*). Estos resultados genéticos, podrían constituir datos útiles a la hora de proporcionar información pronóstica de la evolución del paciente, así como de la probabilidad de respuesta al tratamiento, y así poder guiar las decisiones terapéuticas de los pacientes que toman cinacalcet.

III. OBJETIVOS

III. OBJETIVOS:

Los objetivos principales de nuestro estudio fueron:

1. Estudio de la asociación de los polimorfismos de *CASR* (rs1501899, rs1042636, rs1801725, rs1801726, y rs7652589), *VDR* (rs154441 (Bsml), rs2228570 (Fokl), rs7975232 (Apol) y rs731236 (Taql), *GC* (rs4588 y rs7048) y *CYP450* (rs762551, rs2740574, rs35742686 y rs3892097) con la respuesta a cinacalcet aplicando criterios de las guías NICE.

2. Cuantificar la prevalencia de la variabilidad de *CASR* (rs1501899, rs1042636, rs1801725, rs1801726, y rs7652589), *VDR* (rs154441 (Bsml), rs2228570 (Fokl), rs7975232 (Apol) y rs731236 (Taql), *GC* (rs4588 y rs7048) y *CYP450* (rs762551, rs2740574, rs35742686 y rs3892097) en la variabilidad interindividual de la respuesta a cinacalcet.

3. Caracterizar las distribuciones genóticas de los polimorfismos *CASR* (rs1501899, rs1042636, rs1801725, rs1801726, y rs7652589), *VDR* (rs154441 (Bsml), rs2228570 (Fokl), rs7975232 (Apol) y rs731236 (Taql), *GC* (rs4588 y rs7048) y *CYP450* (rs762551, rs2740574, rs35742686 y rs3892097), en una cohorte de pacientes con HTP2.

4. Establecer la relación de los polimorfismos de *CASR* (rs1501899, rs1042636, rs1801725, rs1801726, y rs7652589), *VDR* (rs154441 (Bsml), rs2228570 (Fokl), rs7975232 (Apol) y rs731236 (Taql), *GC* (rs4588 y rs7048) y *CYP450* (rs762551, rs2740574, rs35742686 y rs3892097), respecto a variables clínicas.

5. Estudiar las implicaciones en el pronóstico del paciente con ERC en diálisis con HPT2 y de los polimorfismos *CASR* (rs1501899, rs1042636, rs1801725, rs1801726, y rs7652589), *VDR* (rs154441 (Bsml), rs2228570 (Fokl), rs7975232 (Apol) y rs731236 (Taql), *GC* (rs4588 y rs7048) y *CYP450* (rs762551, rs2740574, rs35742686 y rs3892097).

IV. MATERIAL Y METODOS

IV. MATERIAL Y METODOS

Se desarrolló un estudio observacional, descriptivo, de corte transversal y longitudinal, monocéntrico con el objetivo de evaluar si los polimorfismos en los genes que regulan el *CASR*, *VDR*, *DBP* y *Citocromo p450* pueden influir en la respuesta a cinacalcet sobre 158 pacientes que recibieron HD.

1. PACIENTES: se reclutaron 158 pacientes en tratamiento con cinacalcet del programa crónico de HD de las Áreas de Salud II y VIII de la Región de Murcia de forma ambispectiva, una vez cruzados sus datos bioquímicos de niveles de PTH al final de los 12 meses de tratamiento. Para preservar la confidencialidad de los pacientes, los cuestionarios utilizados en este estudio fueron codificados.

El estudio fue aprobado por el comité ético local de nuestro centro y cumple con la Declaración de Helsinki de 1975 y sus actualizaciones posteriores. El seguimiento se realizó a través de la historia clínica y visitas rutinarias. Se obtuvieron datos de seguimiento en la totalidad de los pacientes. Los pacientes fueron clasificados en dos grupos (respondedores/no respondedores) según respuesta a tratamiento a cinacalcet. Para los estudios de susceptibilidad genética comparamos la distribución de genotipos en los pacientes respondedores a tratamiento con cinacalcet con un grupo control formado por los pacientes no respondedores.

1.1. Criterios de inclusión y exclusión:

Criterios de Inclusión: pacientes diagnosticados de HPT2 a ERC en programa de HD, procedentes del Área II y VIII de la Región de Murcia, con participación voluntaria en el estudio.

- Tener HPT2 (PTH > 300pg/dl).
- Estar en tratamiento con cinacalcet, mínimo durante un año.
- Pacientes que firmen el consentimiento informado para datos clínicos y muestras de ADN (anexo 1).

Criterios de exclusión:

- Pacientes menores de 18 años.
- Pacientes con paratiroidectomía previa o durante el estudio.
- Pacientes trasplantados previamente o durante el estudio.

Siguiendo los criterios mencionados se reclutaron un total de 158 pacientes.

2. METODOLOGIA DEL ESTUDIO:

2.1. Diseño del estudio: estudio observacional descriptivo de corte transversal y longitudinal, monocéntrico.

2.2. Ámbito de estudio: Unidad de Biología Molecular (Servicio de Anatomía Patológica) y Unidades de Hemodiálisis del Hospital Universitario Santa Lucía, Nefroclub Carthago y Nefroclub San Pedro de Pinatar Fresenius Medical Care (Área II y VIII del SMS de la Región de Murcia).

2.3. Recogida de datos y variables: se recogieron los datos disponibles resultantes de la práctica clínica habitual:

2.3.1. Variables demográficas: sexo y edad.

2.3.2. Variables clínicas:

- Causa de la ERC (según clasificación de la CIE10): desconocida, nefropatía diabética, nefropatía glomerular, nefropatía hereditaria, nefroangioesclerosis, enfermedades sistémicas, nefropatía tubulointersticial, enfermedad vascular mixta y otras.
- Tiempo en TSR (meses) hasta inicio de cinacalcet.
- Variables cualitativas dicotómicas (si/no): Recogidas de su historia clínica:
 - ✓ Presencia de FRCV: síndrome de apnea obstructiva del sueño, hábito tabáquico, HTA, dislipemia, diabetes, hiperuricemia

gotosa y obesidad medida por índice de masa corporal (IMC) (133) (tabla 8).

Tabla 8. IMC. Organización Mundial de la Salud, 2000.

<16.00-18,49	Infrapeso
18.50 - 24.99	Peso normal
25.00 - 29.99	Sobrepeso
30.00 - 34.99	Obesidad grado 1.
35.00 - 40.00	Obesidad grado 2
>40.00	Obesidad grado3

- ✓ Presencia de eventos cardiovasculares previos: cardiopatía isquémica, enfermedad arterial periférica y enfermedad cerebral vascular.
- ✓ Presencia de calcificaciones vasculares mediante radiografía simple, ecocardiografía, ecografía carotídea, TAC u otras pruebas de imagen que así lo manifestasen.

• Calcio en el baño de diálisis y líquidos de diálisis.

- Ca^{2+} 1.25 mMol/L
- Ca^{2+} 1.5 mMol/L.
- Ca^{2+} 1.75 mMol/L.

• Parámetros utilizados para evaluar el HPT2 (basales y 12 meses): metabolismo Ca^{2+}/P según criterios KDIGO (6) (tabla 9): niveles séricos de PTH (pg/ml), Ca^{2+} (mg/dl), P (mg/dl), 25OHD (ng/ml) y fosfatasa alcalina total (FAT) (U/l).

Tabla 9. Valores bioquímicos recomendados (KDIGO 2017)(6).

Calcidiol	>30 ng/ml
Calcio	8.4-9.4 mg/dl
Fósforo	2.5-4.5 mg/dl
Paratohormona (KDIGO)	2-9 veces límite superior del ensayo (15-65pg/ml)

• **Variable principal del estudio:** respuesta a tratamiento con cinacalcet a los 12 meses, según criterios establecidos por las guías NICE (National Institute for Health and Care Excellence) (26). Las guías NICE, define respuesta como una reducción del $\geq 30\%$ de la PTH basal. En función de este criterio, los pacientes fueron divididos en:

- No respondedor: disminución de PTH $< 30\%$ a los 12 meses.
- Respondedor: disminución de PTH $\geq 30\%$ a los 12 meses.

2.3.3. Biomarcadores basales y 12 meses: inflamación: albumina, PCR y ferritina. Anemia: hemoglobina, hierro sérico, transferrina, ferritina e índice de saturación de la transferrina. Ateromatosis: colesterol total, HDL, LDL y triglicéridos.

2.3.4. Dosis adecuada de diálisis mediante K_t medido por dialisancia iónica.

2.3.5. Dosis de cinacalcet a los 0 y 12 meses de inicio de tratamiento: la dosis inicial de cinacalcet fue de 30 mg diarios y se fue ajustando a lo largo del año según parámetros bioquímicos.

2.3.6. Tratamientos médicos a los 0, 6 y 12 meses de iniciar cinacalcet: quelantes cálcicos y no cálcicos, análogos activos de la vitamina (calcitriol/ alfacalcidiol/ paracalcitol), antihipertensivos, hipolipemiantes, antiagregantes, anticoagulante, antidiabéticos orales, insulina, hierro y estimulantes de la eritropoyesis.

2.4. Análisis de parámetros bioquímicos:

El análisis de los diferentes parámetros analíticos fue realizado por el Servicio de Análisis Clínicos y Laboratorio de Hematología del Hospital Universitario Santa Lucía (Cartagena). Todos los parámetros fueron analizados de manera automatizada mediante los siguientes equipos:

- Bioquímica: mediante técnica enzimática y colorimétrica en una plataforma automatizada Advia Modelo 2400 Siemens (Siemens Healthcare, Alemania).
- La determinación de PTH intacta se llevó a cabo mediante radioinmunoensayo con el C terminal PTH RIA KIT de Diasorin®, con valores de referencia entre 15-65 pg/ml.
- Hematología: hematímetro SYSMEX-XT 4000 I de Roche Hitachi.

2.5. Estudios genéticos de susceptibilidad y de respuesta al tratamiento:

En la tabla 10, se muestran los polimorfismos de los genes *CASR*, *VDR*, *GC* y *del CYP 450* que se estudiaron.

2.5.1. Extracción de ADN y cuantificación: se realizó la extracción de ADN, a partir de la capa leucoplaquetar empleando el método de purificación en columna de QiAmp DNA Mini Kit (Qiagen, Hilden, Alemania) en el equipo automatizado Qiacube (Qiagen, Hilden, Alemania) siguiendo el protocolo de suspensión celular indicado por el fabricante. Las cuantificaciones se realizaron mediante espectrofotometría de absorción molecular en el espectro ultravioleta utilizando el espectrofotómetro Nanodrop de Thermo Scientific™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EEUU) y agua destilada como calibrador, obteniéndose una concentración media final de 1027,96 ng/μl. Conocida la concentración de ADN, se distribuyeron las muestras en placas de 96 pocillos a una concentración de 20 ng/μl y se almacenaron a -20°C hasta la realización de los análisis.

Tabla 10. Polimorfismos de los genes a estudio.

Gen	SNP
<i>CASR (cromosoma 3)</i>	rs1501899 rs1042636 rs1801725 rs1801726 rs7652589
<i>VDR (cromosoma 12q13.11)</i>	rs1544410 (BsmI) rs2228570 (FokI) rs7975232 (ApoI) rs731236 (TaqI)
<i>GC (cromosoma 4)</i>	rs4588 rs7041
<i>Citocromo p 450</i>	1A21F: rs762551 3A4*1B: rs2740574 -392A>G 2D6*3: rs35742686 2D6*4: rs3892097

2.5.2. Estudio de variantes genéticas: los polimorfismos en los genes de estudio se determinaron por discriminación de alelos mediante la técnica de reacción en cadena de la polimerasa a tiempo real (Real Time Polymerase Chain Reaction, RT-PCR) usando las sondas KASPar SNP Genotyping System (LGC, Middlesex, UK) para cada gen.

Para ello, en primer lugar, se obtuvo la secuencia flanqueante de cada polimorfismo en la base de datos de SNPs del Centro Nacional de Investigación en Biotecnología (NCBI) de la Biblioteca Nacional de Medicina de los Estados Unidos (<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/snp>). De este modo, se pudo diseñar los cebadores y sondas que permitieron la detección de los polimorfismos de estudio.

El sistema de genotipado de SNPs KASPar se basa en discriminación alélica empleando sondas fluorescentes. Este ensayo es capaz de discriminar los dos alelos de un SNP en un locus específico a partir de ADN genómico mediante PCR alelo específica competitiva. Este ensayo utiliza una Taq-polimerasa modificada

sin actividad 3'-5' exonucleasa. Se basa en el empleo de cebadores que generan productos de PCR fluorescentes que permiten genotipar el SNP en un único paso. Este sistema de genotipado utiliza la transferencia de energía por resonancia de fluorescencia (FRET) y está diseñado como un ensayo múltiple que detecta ambos alelos en un único ciclo de reacción con tres cebadores específicos para el SNP sin marcar y dos cebadores universales marcados con los fluorocromos FAM o VIC. Estos últimos cebadores, si se unen al ADN molde, adoptan una estructura de horquilla en donde la molécula de fluorocromo se encuentra muy próxima a un apantallado que le impide la emisión de fluorescencia. En cambio, cuando son complementarios al ADN molde, la estructura de la horquilla se rompe emitiendo fluorescencia, la cual fue captada en nuestro caso por el termociclador a tiempo real ABI 7900HT de Applied Biosystems™ (Thermo Fisher Scientific, Waltham, EEUU) (Fig. 7).

La preparación de la mezcla para la reacción de PCR se realizó incorporando en una placa de 96 pocillos con un volumen total de 8µl los siguientes elementos según protocolo húmedo: 0,11µl de la mezcla de ensayo que incluye cebadores y sondas fluorescentes específicas de alelo, 4 µl de mezcla maestra 2x KASPar Master Mix, 0,064 µl de MgCl₂ (50 mM) y 4 µL ADN. La master mix consta de buffer, polimerasa y desoxinucleótidos trifosfato. Las condiciones de termociclado de la PCR fueron las siguientes (Fig. 8):

- 1º. Un tratamiento a 94°C durante 15 minutos con el fin de activar la actividad polimerasa tipo "Hot Start".
- 2º. Una serie de 36 ciclos que consistente en un paso a 94°C durante 20 segundos que permite la desnaturalización del ADN y en un paso de un minuto de duración y temperatura variable en la que ocurre el alineamiento o hibridación de los cebadores y la reacción de polimerización.

Los 10 primeros ciclos de esta serie incluyen los pasos a temperatura variable o protocolo "touchdown" (Fig. 9) que, en función de los polimorfismos a determinar tuvieron las siguientes características:

- Protocolo "touchdown" de 68 a 62°C: 10 ciclos de 20 segundos a 94°C y 68°C bajando 0,6°C por ciclo hasta llegar a 62°C seguidos de 26 ciclos de 94°C de 10 segundos y 62°C de un minuto.
- Protocolo "touchdown" de 61 a 55°C: 10 ciclos de 20 segundos a 94°C y 61°C bajando 0,6°C por ciclo hasta llegar a 55°C seguidos de 26 ciclos de 94°C de 10 segundos y 55°C de un minuto (tabla 11).

Figura 7. Genotipado de SNPs KASPar con sondas fluorescentes (imagen modificada, extraída de <http://www.lgcgrop.com>)

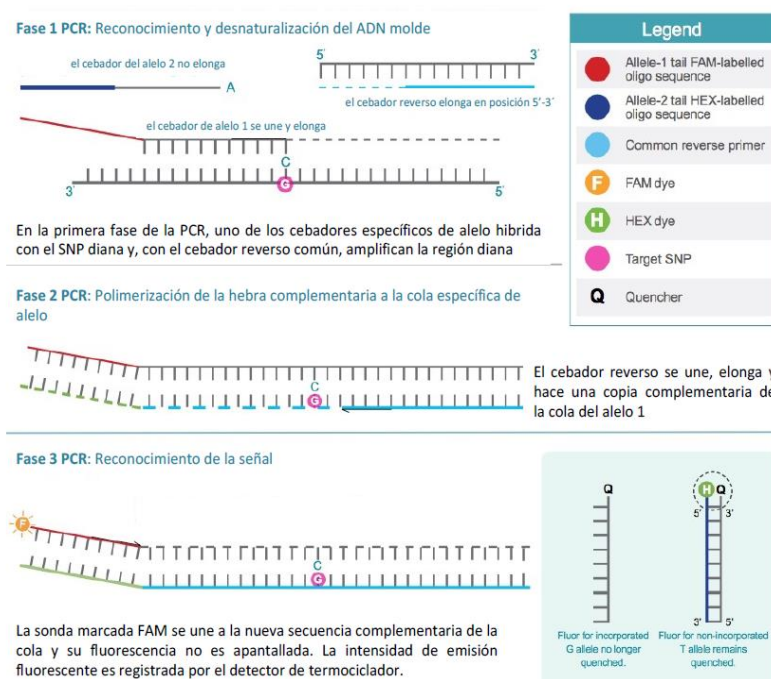


Figura 8. Gráfico de temperatura de termociclador en función del tiempo.

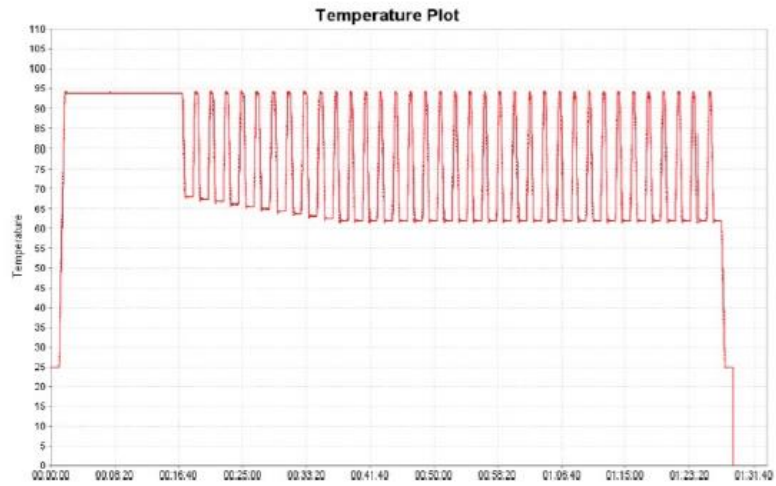


Figura 9. Esquema del programa de termociclado para el protocolo de 61 a 55°C en el que se observa la activación de la polimerasa a 94°C durante 15 minutos y la serie a temperatura de anillamiento/polimerización variable o protocolo "touchdown".

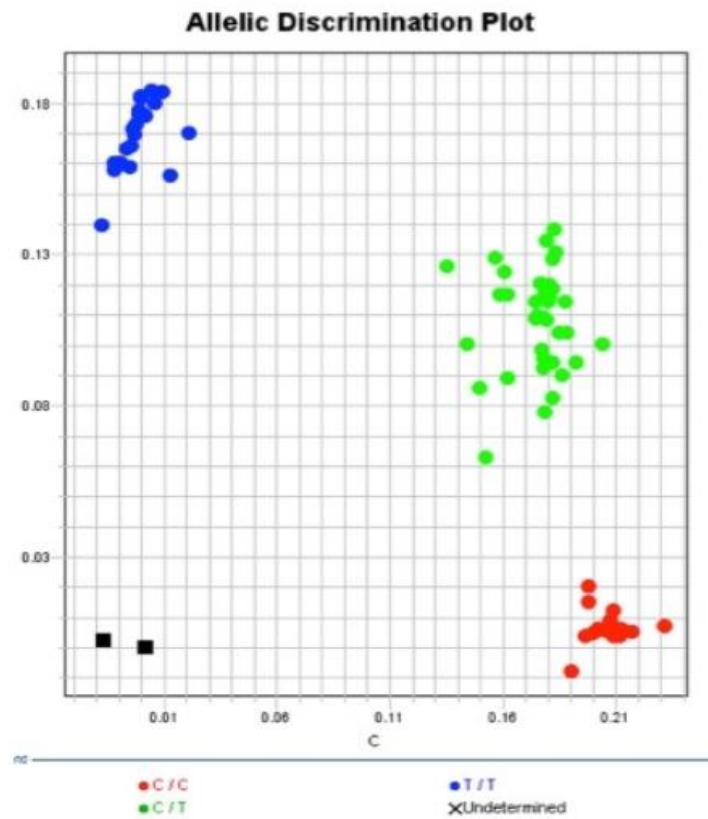


Tabla 11. Asignación GH fluorocromos a cada alelo y protocolo "touchdown" para FDGD uno de los SNPs del ensayo.

Gen	SNP	Protocolo "touchdown"
<i>CASR (cromosoma 3)</i>	rs1501899 rs1042636 rs1801725 rs1801726 rs7652589	61-55°C
<i>VDR (cromosoma 12q13.11)</i>	rs1544410 (BsmI) rs2228570 (FokI) rs7975232 (ApoI) rs731236 (TaqI)	61-55°C
<i>GC (cromosoma 4)</i>	rs4588 rs7041	61-55°C
<i>Citocromo p 450</i>	1A21F_rs762551 3A4*1B; rs2740574 2D6*3: rs35742686 2D6*4: rs3892097	61-55°C

Una vez que las reacciones de KASP están completadas y la fluorescencia resultante ha sido medida, los datos en bruto deben ser interpretados para permitir que los genotipos sean asignados a las muestras de ADN correspondientes. Esto se logra visualizando los valores de fluorescencia para cada muestra en un gráfico cartesiano. A menudo se hace referencia a estas parcelas como parcelas de agrupamiento (Fig. 10).

Figura 10. Ejemplo de distribución de genotipos en función de las fluorescencias asociadas a los alelos para el polimorfismo de un gen donde se observa la población de homocigotos TT (azul), homocigotos CC (rojo) y heterocigotos (verde). Los puntos negros representan los controles de agua.



El equipo de PCR a tiempo real es capaz de detectar las fluorescencias liberadas asociadas a cada alelo lo que nos permite obtener un gráfico en cuyos ejes figuran la intensidad de la fluorescencia para cada alelo (típicamente el eje X para trazar el valor de la fluorescencia FAM y el eje Y para trazar el valor de la fluorescencia HEX). De este modo, la población genotipada se va agrupar en tres cúmulos o clústers: uno para los homocigotos para el alelo mayoritario; otra para los heterocigotos con los dos tipos fluorescencia y otra para los homocigotos del alelo minoritario.

2.6. Análisis estadístico: el análisis estadístico fue realizado por el programa SPSS versión 20 (IBM, Estados Unidos). El presente estudio se plantea como piloto y generador de hipótesis, por lo que no se ha realizado un cálculo del tamaño muestral a priori. Las variables cuantitativas se expresan mediante media y desviación estándar. Las variables categóricas se expresan como frecuencia y porcentaje. Las comparaciones entre variables cuantitativas entre los grupos de comparación se realizaron mediante el t de Student /análisis de la varianza. La comparación entre variables categóricas de grupos independientes se realizó mediante test de Chi-cuadrado (χ^2).

El análisis de los polimorfismos genéticos permite identificar genes que confieren susceptibilidad a presentar enfermedades. Su análisis estadístico es sencillo, pero tiene ciertas particularidades, como la estimación de haplotipos, que hacen necesario el desarrollo de herramientas de análisis específico. Para responder a esta necesidad se ha usado la aplicación web <https://www.snpstats.net/> (134) de libre uso, que permite realizar el análisis estadístico de polimorfismos genéticos en estudios epidemiológicos.

2.6.1. Análisis de SNP individuales:

2.6.1.1. Análisis descriptivo:

- Frecuencia de genotipos y alelos: el análisis estadístico de un polimorfismo se basa en estimar la prevalencia poblacional de cada alelo y para cada genotipo, de esta manera podemos estimar las frecuencias genotípicas y alélicas. El software SNPstats realiza las frecuencias de genotipo (proporción) para todos los sujetos y para cada subconjunto (respondedor/no respondedor). Para calcular las frecuencias de alelos, duplicamos los cromosomas de muestra y contamos cada tasa de alelos.

- Equilibrio de Hardy-Weinberg (HW): En primer lugar se realizó una prueba de HW. Esta metodología permite comparar la frecuencia alélica observada con la esperada bajo el supuesto de independencia, y tiene una distribución chi-cuadrado con un grado de libertad. El nivel de significación se fijó en 0.05. Si la desviación era significativa, se verificó el método de genotipado para descartar sesgos.

2.6.1.2. Análisis de asociación entre polimorfismos y enfermedad:

Desde el punto de vista estadístico, el polimorfismo es una variable categórica con un nivel para cada genotipo, siendo la variable de referencia, la forma homocigota. Para evaluar la asociación entre un polimorfismo y la enfermedad, se realizaron tablas de contingencia y luego se aplicó la prueba de chi-cuadrado. La estimación de la odds ratio (OR) de cada genotipo respecto al genotipo de referencia permite obtener una noción sobre la medida de la asociación. Para ajustar el modelo por variable de confusión, se utilizaron modelos de regresión logística por su versatilidad. Estos modelos permiten evaluar fácilmente la interacción entre el polimorfismo y los otros factores.

Cada genotipo está formado por dos alelos y el riesgo de cada genotipo depende del número de copias de cada alelo que lleve (una o dos). Según el número de copias necesarias para modificar el riesgo, existen cuatro modelos de herencia que podemos definir:

Modelo codominante: es el modelo más general y permite que cada genotipo dé un riesgo diferente y no aditivo. Este modelo compara los genotipos heterocigotos y homocigotos del alelo variante con los homocigotos para el alelo más frecuente.

Modelo dominante: una sola copia del alelo variante es suficiente para modificar el riesgo, entonces los genotipos heterocigotos y homocigotos tienen el mismo riesgo.

Modelo recesivo: se necesitan dos copias del alelo variante para cambiar el riesgo. Por lo tanto, los genotipos heterocigotos y homocigoto más frecuente, tienen el mismo efecto.

Modelo sobredominante: los heterocigotos se comparan con un grupo de homocigotos de ambos alelos.

Es necesario decidir cuál es el mejor modelo de herencia para cada SNP. Para comparar cada modelo con el modelo general (el codominante) podemos seleccionar la prueba de razón de verosimilitud (LRT). La prueba de razón de verosimilitud es una prueba estadística de la bondad de ajuste entre dos

modelos: comparar un modelo relativamente más complejo con un modelo más simple para evaluar si se ajusta mejor a un conjunto de datos. La estadística sigue una distribución de chi-cuadrado con grados de libertad iguales al número de parámetros adicionales en el modelo más complejo. Aun así, en ocasiones esta prueba no es suficiente para descartar modelos, y es necesario recurrir al criterio de información de Akaike (AIC), menor, para elegir el modelo de herencia que mejor se ajuste a los datos, siendo éste el criterio escogido.

2.6.1.3 Análisis de interacciones con covariables: Permite describir la asociación entre cada polimorfismo y la enfermedad por medio del cálculo de los OR.

2.6.2. Análisis de múltiples SNP: para localizar el polimorfismo causal, se analizan a la vez todos los polimorfismos a estudio. Los polimorfismos próximos al SNP causal también estarán asociados con la enfermedad, y analizar conjuntos de locus puede ser muy útil para localizar el verdadero polimorfismo causal. El conjunto de polimorfismos transmitidos juntos en cada cromosoma resultante se denomina *haplotipo*.

2.6.2.1 Desequilibrio de ligamiento y haplotipos: para determinar el desequilibrio de ligamiento calculamos el estadístico **D**, que es la desviación entre la frecuencia esperada de haplotipos (bajo el supuesto de no asociación) y la frecuencia observada. También se calculó el estadístico **D'** que es igual a **D** escalada en el rango [-1,1]. También se proporciona el coeficiente de correlación entre alelos.

2.6.2.2 Análisis de haplotipos:

- Frecuencia de haplotipos: algunos individuos tienen haplotipos inciertos debido a la falta de información cromosómica. Hay métodos diferentes para estimar la *frecuencia de haplotipos*. Uno de los más utilizados es el método iterativo de dos etapas llamado *algoritmo EM* (algoritmo de maximización de expectativas): en primer lugar, se dan valores iniciales para las frecuencias de haplotipos. Luego, el paso E consiste en recalculando la frecuencia esperada de genotipos para los genotipos con haplotipos de incertidumbre (bajo equilibrio de Hardy-Weinberg) utilizando la frecuencia de haplotipos. Usando las frecuencias

de genotipo recalculadas, el paso M calcula cada frecuencia de haplotipo. Es decir, contar los haplotipos compatibles para cada genotipo. De esta forma, el algoritmo converge deseablemente a las frecuencias de haplotipos.

- Análisis de asociación entre haplotipos y enfermedad: si no hay incertidumbre, cada individuo tiene su propia pareja de haplotipos. La asociación entre haplotipos y enfermedad se analizó mediante regresión logística: para ello se duplica la muestra y luego se representa doblemente a cada individuo con sus dos haplotipos. A continuación, se comparará el riesgo de cada haplotipo respecto a haplotipo más frecuente.

2.7. Almacenamiento de las muestras biológicas:

Las muestras y la información asociada a las mismas se custodiaron y/o guardaron en el Nodo 2 del Biobanco Regional en Red **Biobanc-Mur (Nodo Área II del Hospital General Universitario Santa Lucía)**. El Biobanco en Red de la Región de Murcia es un biobanco autorizado el 1 de octubre de 2013 e inscrito en el Registro Nacional de Biobancos con el número B.0000859. Pertenece a la Plataforma de Biobancos y Biomodelos del ISCIII, con expediente PT20/00109 y trabaja bajo un Sistema de Gestión de la Calidad, estando certificado desde el 12 de julio de 2018 por la norma ISO 9001:2015. Las muestras se encuentran almacenadas en cumplimiento del Real Decreto 1716/2011, de 18 de noviembre, por el que se establecen los requisitos básicos de autorización y funcionamiento de los biobancos con fines de investigación biomédica y del tratamiento de las muestras biológicas de origen humano. Este Biobanco acoge colecciones organizadas de muestras biológicas e información asociada en las condiciones y garantías de calidad y seguridad que exige la legislación anteriormente referida y los códigos de conducta aprobados por los Comités de Ética, por lo que la realización de este estudio, dispone de la aprobación del Comité de Ética (CEI) del Hospital General Universitario Santa Lucía.

V.RESULTADOS

VII. RESULTADOS

1. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LA POBLACIÓN A ESTUDIO.

Se reclutaron 158 pacientes en programa de HD. De los 158 pacientes, 57 fueron mujeres (36,1%) y 101 fueron varones (63,9%) con una edad media $63,9 \pm 15,5$ años. La permanencia media en TSR hasta el inicio de cinacalcet fue de $63,5 \pm 56,4$ meses (tabla 12).

La causa principal de ERC fue la nefropatía diabética (20,9%), seguida de la nefroangioesclerosis con 16,5% y la patología tubulointersticial y glomerular, ambas con un 15,2% (figura 12). Los factores de riesgo cardiovascular y comorbilidades que presentaron, se describen en la figura 13.

Figura 12. Etiología de la enfermedad renal crónica.

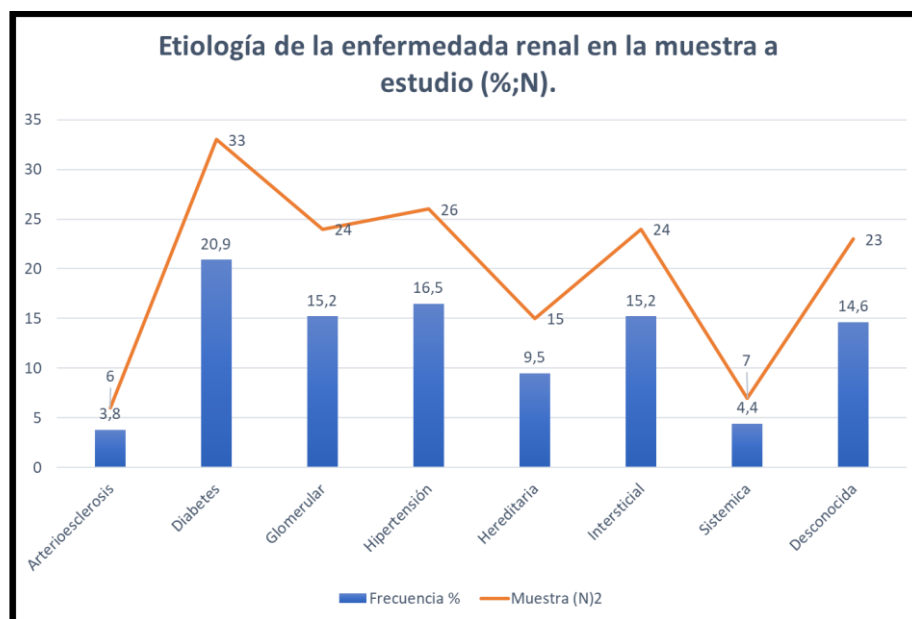
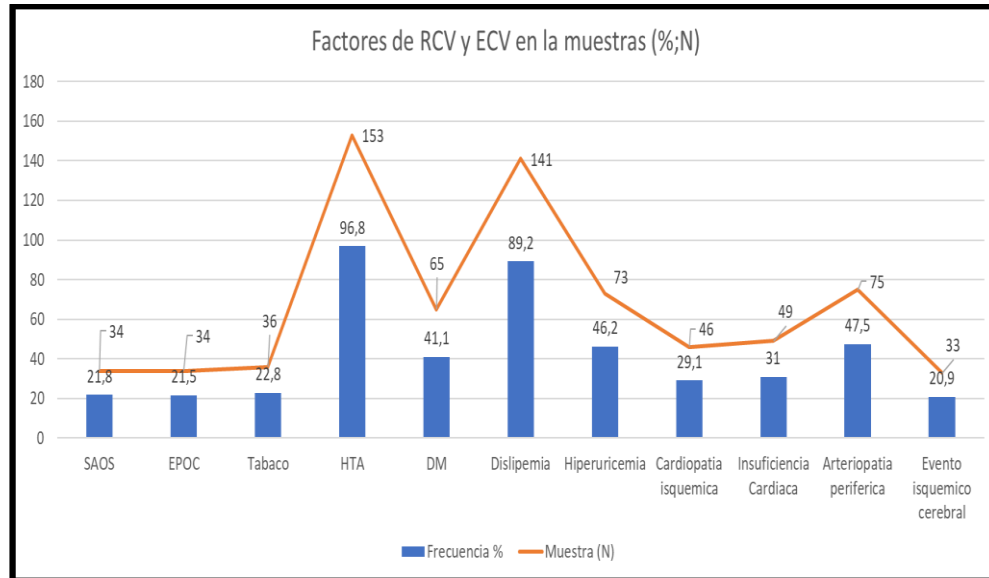


Figura 13. Factores de riesgo cardiovascular y eventos cardiovasculares.



De los 158 pacientes estudiados, 53 pacientes (33,5%) no respondieron a tratamiento con cinacalcet frente a 105 pacientes (66,5%) que, si lo hicieron. Las diferencias de las variables clínico-demográficas entre respondedores y no respondedores, se detallan en la tabla 12.

Tabla 12. Relación de variables clínico-demográficas y la respuesta al cinacalcet a los 12 meses.

Variables		Muestra estudiada	GRUPO		p
			No respondedores n: 53 (33,5%)	Respondedores n: 105 (66,6%)	
Género	Mujer, n (%)	57	23 (40,4)	34 (59,6)	0,219
	Hombre, n (%)	101	30 (29,7)	71 (70,3)	
Edad, años	Años \pm SD	63,9 \pm 15,6	62,1 \pm 16,1	64,8 \pm 15,2	0,299
Índice de Charlson	≤ 2 , n (%)	22 (13,9)	6 (27,3)	16 (72,7)	0,560
	> 3 , n (%)	136 (86,1)	36 (26,5)	100 (73,5)	
IMC (Kg/m ²)*		27,5 \pm 5,4	28,3 \pm 6,3	27,1 \pm 4,9	0,526

Tiempo en diálisis	Meses	63,5±56,4	67,1±57,3	61,8±56,2	0,465
Quelantes fosforo	Lantano, n (%)	60 (37,9)	12 (29,2)	48 (41)	0,38
	Sevelamer, n (%)	50 (31,6)	15 (36,6)	35 (29,9)	0,08
	Acetato cálcico, n (%)	77 (48,8)	23 (56,1)	54 (46,2)	0,01
	Carbonato cálcico, n (%)	11 (7)	4 (9,75)	7 (5,98)	0,20
Paricalcitol, n (%)		116	40 (75,5)	76 (72,4)	0,708
Dosis cinacalcet (mg/día) 12 meses		43±20,9	33,7±12,8	47,7±22,6	<0,001
Dosis de diálisis por Kt (>45 L/sesión) 12 meses,		52,3±9,2	48,9±2,4	56,6±14	<0,07

* IMC: Índice de Masa Corporal.

No se encontraron diferencias significativas entre respondedores y no respondedores en cuanto a género, dosis de diálisis, fármacos coadyuvantes en el manejo de HPT2, comorbilidad, edad, tiempo en HD, índice de masa corporal o dosis de diálisis. Todos los pacientes presentaron una elevada comorbilidad, la cual fue medida por índice de Charlson. De la población estudiada, 22 pacientes (13,9%) tenían una comorbilidad baja con una puntuación ≤ 2 puntos, mientras que 136 pacientes (86.1%) presentaron una comorbilidad elevada (tabla 12).

Tampoco se encontraron diferencias significativas entre los dos grupos, en cuanto a presencia de factores de riesgo cardiovascular y eventos cardiovasculares, como se describe en la tabla 13.

Tabla 13. Presencia de factores y eventos de riesgo cardiovascular según respuesta de PTH a tratamiento (criterios KDIGO).

Variable	Grupo		p
	No respondedores n: 53 (33,5%)	Respondedores n: 105 (66,4%)	
SAOS	14 (41,2%)	20 (58,8%)	0,051
EPOC	10 (23,8%)	24 (20,7%)	0,84
TABAQUISMO	33 (78,6%)	89 (76,6%)	0,97
HTA	40 (95,2%)	113 (97,4%)	0,86
DIABETES	16 (38,1%)	49 (42,2%)	0,77

DISLIPEMIA	37 (88,1%)	104 (89,7%)	1
HIPERURICEMIA	16 (38,1%)	57 (49,1%)	0,29
CARDIOPATIA ISQUEMICA	15 (35,7%)	31 (26,7%)	0,38
ARTERIOPATIA PERIFERICA	19 (45,2%)	56 (48,3%)	0,87
ACCIDENTE CEREBRO-VASCULAR	10 (23,8%)	23 (19,8%)	0,74

SAOS: Síndrome de apnea obstructiva del sueño. EPOC: Enfermedad pulmonar obstructiva crónica. HTA: Hipertensión Arterial.

2. VARIABLES ANALITICAS.

Las variables analíticas medidas por métodos de laboratorio convencionales se determinaron en los 158 pacientes del estudio. Los parámetros bioquímicos basales y a los 12 meses, se describen en las tablas 14 y 15.

No se encontraron diferencias significativas entre respondedores y no respondedores en cuanto a parámetros bioquímicos salvo niveles séricos de PTH, P, ferritina y ácido úrico como se muestra en las tablas 14 y 15.

Tabla 14. Variación dentro de las variables bioquímicas al inicio y después de 12 meses de seguimiento

Variable	Muestra (n=158)			No respondedor (n=53)			Respondedor (n=105)		
	Basal	12 m	p*	Basal	12 m	p*	Basal	12 m	p*
PTH (pg/ml)	612,7±280,6	355,8±261,5	<0,001	564,4±239,5	608,3±289	0,152	637±297,3	228,4±112,2	<0,001
Calcio (mg/dl)	9,1±0,6	8,9±0,6	0,001	9,1±0,6	8,8±0,7	0,006	9,1±0,6	9±0,6	0,016
Fósforo (mg/dl)	4,8±1,4	4,4±1,2	<0,001	5,1±1,5	4,9±1,3	0,258	4,8±1,3	4,2±1,1	<0,001
Calcidiol (µg/L)	17,9±7,4	17,5±8	0,615	17,8±7,1	17,5±9	0,806	18±7,6	17,5±7,5	0,452
Hemoglobina (g/dl)	11,6±1,4	12,2±8,2	0,937	11,8±1,5	13,5±14	0,387	11,5±1,3	11,6±1,3	0,702
¹ PCR (mg/dl)	4,3±7,8	4,4±6,5	0,606	2,9±3,9	4,3±6	0,061	4,9±9	4,4±6,9	0,452
Albumina (mg/dl)	4,1±1,6	3,9±0,4	0,07	4,2±2,6	3,8±0,5	0,261	4±0,3	3,9±0,3	0,045
Hierro (µg/dl)	66,6±27,8	68,3±28,5	0,825	66,2±31,8	63,1±26,3	0,475	66,7±25,7	70,9±29,2	0,141
Transferrina (mg/dl)	176,8±46,3	171,1±35,6	0,031	182,3±53,4	174,8±37,9	0,26	174±42,3	169,2±34,4	0,110
Ferritina (ng/ml)	355,6±267,9	456,1±320,4	<0,001	311,9±225,2	411,8±370,4	0,01	377,6±285,5	478,5±291,3	0,001
Urato (mg/dl)	6,1±1,3	5,7±1,3	0,005	6,1±1,5	6±1,2	0,90	6,1±1,2	5,6±1,3	0,001
Cinacalcet (mg/día)	30	43±20,9	<0,001	30	33,7±12,8	0,04	30	47,7±22,6	<0,001

*Prueba T de muestras emparejadas. ¹PCR: Proteína C reactiva

Tabla 15. Diferencias entre grupos (respondedores vs. no respondedores) al inicio ya los 12 meses de tratamiento con cinacalcet.

Variable	Basal			Tras seguimiento a los 12 meses		
	No respondedores (n=53)	Respondedores (n=105)	<i>p</i> value*	No respondedores (n=53)	Respondedores (n=105)	<i>p</i> *
PTH (pg/ml)	564,4±239,5	637±297,3	0,050	608,3±289	228,4±112,2	<0,001
Calcio (mg/dl)	9,1±0,6	9,1±0,6	0,943	8,8±0,7	8,9±0,6	0,388
Fósforo (mg/dl)	5,1±1,5	4,8±1,3	0,294	4,9±1,3	4,2±1,1	0,001
Calcidiol (µg/L)	17,8±7,2	17,9±7,6	0,966	17,5±9	17,5±7,5	0,956
Hemoglobina (g/dl)	11,8±1,5	11,5±1,3	0,387	13,5±14	11,6±1,3	0,328
PCR (mg/dl)	2,9±3,9	5±9	0,389	4,3±5,9	4,4±6,9	0,927
Albumina (mg/dl)	4,2±2,6	4±0,3	0,089	3,8±0,5	3,9±0,3	0,160
Hierro (µg/dl)	66,2±31,7	66,7±25,7	0,917	63,1±26,3	70,9±29,3	0,110
Transferrina (mg/dl)	182,4±53,4	174±42,3	0,282	174,8±37,8	169,2±34,4	0,359
Ferritina(ng/ml)	311,9±225,3	377,6±285,5	0,146	411,8±370,4	478,5±291,3	0,218
Urato (mg/dl)	6,1±1,5	6,1±1,2	0,930	6±1,2	5,6±1,3	0,035
Cinacalcet (mg/dia)	30	30	-	33,7±12,8	47,7±22,6	<0,001

* Prueba T de muestras independientes

3. ESTUDIO DESCRIPTIVO DE LAS VARIABLES DE CONFUSIÓN CON RESPECTO A RESPUESTA A TRATAMIENTO CON CINACALCET.

Como variables de confusión que podrían influir en la respuesta a tratamiento con cinacalcet, como se ha observado en la tabla 13 y tabla 16, no se encuentran diferencias significativas entre las variables analizadas, salvo para los niveles séricos de PTH, P, ferritina y ácido úrico, como ya se señaló.

Al analizar posibles variables de confusión en función de los niveles óptimos exigidos, como se describe en la tabla 16, se encontró que los pacientes con P entre 2,5 y 4,5 mg/dl (niveles exigidos según guías KDIGO), presentaron mejor respuesta a cinacalcet frente a los pacientes que no tenían el P en el rango recomendado (10; 24,4% vs 55; 47%, $p=0,011$). Los pacientes con Hb > 10 g/dl tuvieron mejor respuesta a cinacalcet que aquellos con Hb < 10 g/dl (109; 93,2% vs 8; 6,8%, $p=0,021$). Los pacientes mejor nutridos con albumina por encima de 3,5 tuvieron mejor respuesta a tratamiento, que aquellos pacientes con albumina < 3,5 (97,4% vs 3; 2,6%, $p=0,01$). A pesar de que la mayoría de los pacientes presentaron inflamación con PCR > 10, no hay diferencias en la respuesta a tratamiento. Tampoco se encontraron diferencias entre los pacientes que responden o no a cinacalcet en cuanto a dosis de diálisis medida por Kt.

Tabla 16. Análisis de igualdad de medias para variables de confusión categóricas.

Variable		Grupo		p
		No respondedores n: 53 (33,5 %)	Respondedores n: 105 (66,4 %)	
Género	Mujer	23 (40,4 %)	34 (59,6 %)	0,219
	Hombre	30 (29,7 %)	71 (70,3 %)	
Diabetes	NO	26 (61,9 %)	67 (57,8 %)	0,776
	SI	16 (38,1 %)	49 (42,2%)	
Calcio (mg/dl)	<8,4->9,4	19 (46,4 %)	55 (47 %)	0,544
	8,4-9,4	22 (53,6 %)	62 (52,9 %)	
Fósforo (mg/dl)	<2,5->4,5	31 (75,6 %)	62 (53 %)	0,008
	2,5-4,5	10 (24,4 %)	55 (47 %)	
Hemoglobina (g/dl)	<10	8 (19,5 %)	8 (6,8 %)	0,026
	>10	33 (80,5 %)	109 (93,2 %)	
PCR (mg/dl)	<10	37 (90,2 %)	102 (87,1 %)	0,419

	>10	4 (9,8 %)	15 (12,9 %)	
Albumina (mg/dl)	<3,5	6 (14,6 %)	3 (2,5 %)	0,01
	>3,5	35 (85,4 %)	114 (97,5 %)	
Dosis de diálisis por Kt (>45 L/sesión)		48,9± 2,4	56,6±1	0,07

PCR: proteína C reactiva

3. GENOTIPADO: ANALISIS DESCRIPTIVO DE LOS POLIMORFISMOS DE LOS GENES *CASR*, *VDR*, *GC* Y *CYP 450*.

El estudio de los polimorfismos de los genes estudiados se realizó en los 158 pacientes de la muestra. En las siguientes tablas, se representa la distribución por genotipos y alelos en la población estudiada y si cumplen o no el equilibrio Hardy-Weinberg (HW). En las figuras se expresa el desequilibrio de ligamiento mediante el nivel de heredabilidad conjunta de pares de SNPs.

4.1. Gen *CASR*

El estudio de los polimorfismos del gen *CASR* (rs1501899; rs1042636; rs1801725; rs1801726; rs7652589) se realizó en los 158 pacientes. En el gen *CASR*, los SNP rs1501899, rs1801726 y rs7652589 cumplían el equilibrio de HW (Tabla 17), mientras que rs1042636 y rs1801725 se desviaron de dicho equilibrio en el estudio de las frecuencias genotípicas.

Tabla 17. Distribución de los genotipos y alelos de los polimorfismos del Gen *CASR*

Gen	Polimorfismo	Genotipo	Frecuencia (%)	Alelo	Frecuencia (%)	Equilibrio HW (p)
CASR	rs1501899	AA	64 (40%)	A	206 (65%)	0,3
		GG	16 (10%)	G	110 (35%)	
		AG	78 (50%)			
	rs1042636	AA	138 (87%)	A	292 (92%)	0,0059
		GG	4 (2%)	G	24 (8%)	
		AG	16 (10%)			
	rs1801726	CC	142 (90%)	C	298 (92%)	0,076
		GG	2 (1%)	G	18 (8%)	
		CG	14 (9%)			
rs1801725	GG	112 (71%)	G	259 (82%)	0,0049	

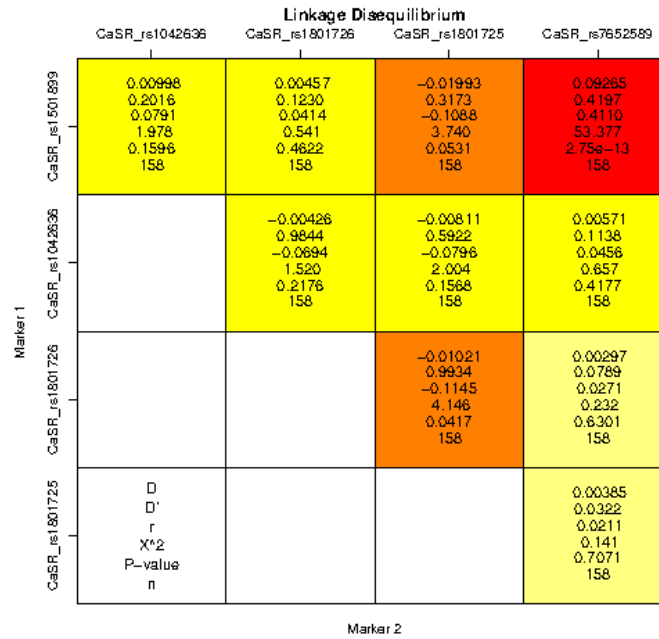
		TT	11 (7%)	T	57 (18%)	0,59
		GT	35 (22%)			
	rs7652589	GG	67 (42%)	G	209 (66%)	
		AA	16 (10%)	A	107 (34%)	
		GA	75 (48%)			

Los polimorfismos rs1042636 con rs1801726 y rs1801726 con rs1801725 presentaron una D' próxima a 1, lo que indica que los pares de polimorfismos están en "fuerte desequilibrio de ligamiento". (tabla 18 y figura 14).

Tabla 18. Medida de desequilibrio de ligamento entre polimorfismos del gen CASR

Estadístico D	CASR rs1501899	CASR rs1042636	CASR rs1801726	CASR rs1801725	CASR rs7652589
CASR_rs1501899		0,01	0,0046	-0,0199	0,0927
CASR_rs1042636			-0,0043	-0,0081	0,0057
CASR_rs1801726				-0,0102	0,003
CASR_rs1801725					0,0038
CASR_rs7652589					
Estadístico D'					
CASR_rs1501899		0,2016	0,123	0,3173	0,4197
CASR_rs1042636			0,9844	0,5922	0,1138
CASR_rs1801726				0,9934	0,0789
CASR_rs1801725					0,0322
CASR_rs7652589					
Estadístico r					
CASR_rs1501899		0,0791	0,0414	-0,1088	0,411
CASR_rs1042636			-0,0694	-0,0796	0,0456
CASR_rs1801726				-0,1145	0,0271
CASR_rs1801725			,		0,0211
CASR_rs7652589		0,0791	0,0414	-0,1088	0,411
p-valor					
CASR_rs1501899		0,1596	0,4622	0,0531	0
CASR_rs1042636			0,2176	0,1568	0,4177
CASR_rs1801726				0,0417	0,6301
CASR_rs1801725			,		0,7071
CASR_rs7652589		0,1596	0,4622	0,0531	0

Figura 14. Medida de desequilibrio de ligamento entre polimorfismos del *gen CASR*.



4.2. Gen VDR

El estudio de los polimorfismos de *gen VDR* (rs7975232; rs1544410; rs2228570 y rs731236) se realizó en los 158 pacientes (tabla 19). En estos polimorfismos no se observó desviación del equilibrio HW para las frecuencias genotípicas estudiadas.

Tabla 19. Distribución de los genotipos de los polimorfismos del *Gen VDR*.

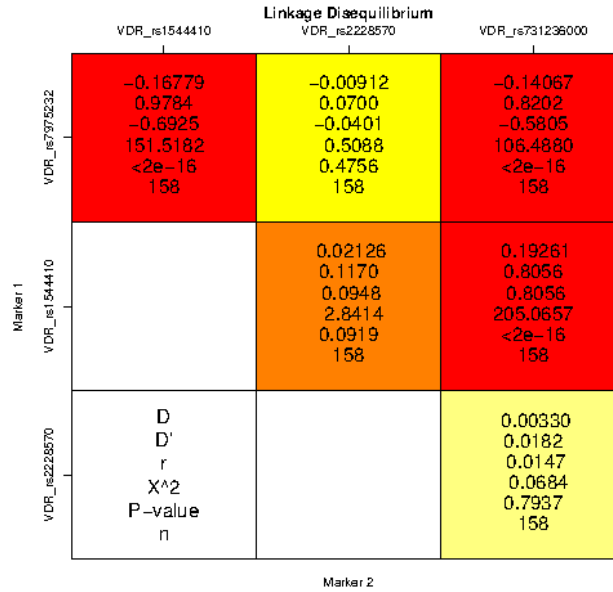
Gen	Polimorfismo	Genotipo	Frecuencia (%)	Alelo	Frecuencia (%)	Equilibrio HW
VDR	rs7975232 (ApoI)	AA	57 (36%)	A	179 (56%)	0,051
		CC	36 (23%)	C	137(43,4%)	
		AC	65(41%)			
	rs1544410 (BsmI)	CC	60(38%)	C	191 (60%)	0,51
		AA	27 (17 %)	T	125 (40%)	
		CA	71(45%)			
	rs2228570 (FokI)	AA	74(47%)	A	221 (69,9%)	0,26
		GG	11(7%)	G	95 (30,1%)	
		AG	73(46%)			
	rs731236 (TaqI)	TT	57(36%)	T	191 (60 %)	0,87
		CC	24(15%)	C	125 (40 %)	
		TC	77(49%)			

Los SNP con mayor desequilibrio de ligamiento fueron los pares rs7975232 con rs1544410 ($D' = 0,98$) con un 98% de probabilidad de que se hereden conjuntamente, seguidos de los pares rs7975232 y rs731236 con 82% de probabilidades y rs154410 con rs731236 un 80%. Tabla 20 y Figura 15.

Tabla 20. Medida de desequilibrio de ligamento entre polimorfismos del gen VDR.

D estadístico	VDRrs7975232	VDR_rs1544410	VDR_rs2228570	VDR_rs731236000
VDR_rs7975232		-0,1678	-0,0091	-0,1407
VDR_rs1544410			0,0213	0,1926
VDR_rs2228570				0,0033
VDR_rs731236				
D' estadístico				
VDR_rs7975232		0,9784	0,07	0,8202
VDR_rs1544410			0,117	0,8056
VDR_rs2228570				0,0182
VDR_rs731236				
r estadístico				
VDR_rs7975232		-0,6925	-0,0401	-0,5805
VDR_rs1544410			0,0948	0,8056
VDR_rs2228570				0,0147
VDR_rs731236				
P-valor.				
VDR_rs7975232		0	0,4756	0
VDR_rs1544410			0,0919	0
VDR_rs2228570				0,7937
VDR_rs731236				

Figura 15. Medida de desequilibrio de ligamento entre polimorfismos del *gen VDR*



4.3. Gen GC

El estudio de los polimorfismos del gen GC (rs4588 y rs7041) se realizó en los 158 pacientes (tabla 21). En estos polimorfismos no se observó desviación del equilibrio HW para las frecuencias genotípicas estudiadas.

Tabla 21. Distribución de los genotipos de los polimorfismos del *Gen GC*.

Gen	Polimorfismo	Genotipo	Frecuencia (%)	Alelo	Frecuencia (%)	Equilibrio HW
GC	rs4588	GG	75 (47%)	G	220 (70%)	0,71
		TT	13(8%)	T	96 (30%)	
		GT	70(44%)			
	rs7041	CC	45 (28%)	C	173 (55%)	0,52
		AA	30(19%)	A	143 (45%)	
		AC	83 (53%)			

En cuanto al desequilibrio de ligamiento entre los dos polimorfismos del *gen GC* analizados se obtuvo un D' de 0,62 lo que podría indicar una "fuerte evidencia de recombinación histórica". Tabla 22.

Tabla 22. Medida de desequilibrio de ligamento entre polimorfismos del *gen GC*

D estadístico	GC_rs4588	GC_rs7041
DBP_rs4588		0,1215
DBP_rs7041		
D' estadístico		
DBP_rs4588		0,6224
DBP_rs7041		
r estadístico		
DBP_rs4588		0,5511
DBP_rs7041		
P valor		
DBP_rs4588		0
DBP_rs7041		

4.4. Genes CYP 450 (CYPA2, A4, D6).

El estudio de los polimorfismos de genes de *CYP450* (1A2*1F- rs762551; A4*1B- rs2740574; D6*3- rs35742686 y D6*4-rs3892097) se realizó en los 158 pacientes (Tabla 23). En estos polimorfismos no se observó desviación del equilibrio HW para las frecuencias genotípicas estudiadas a excepción de rs762551.

Tabla 23. Distribución de los genotipos de los polimorfismos de los Genes CYP450.

Isoenzimas CYP 450	Polimorfismo	Genotipo	Frecuencia (%)	Alelo	Frecuencia (%)	Equilibrio HW
1A2*1F	rs762551	AA	45 (28%)	A	185 (59%)	0,0033
		CC	18 (11%)	C	131 (41%)	
		AC	95 (60%)			
A4*1B	rs2740574	TT	132 (84%)	T	288 (91%)	0,34
		CC	2 (1%)	C	28 (9%)	
		TC	24 (15%)			
D6* 3	rs35742686	T	151 (96%)	T	308 (97%)	0,087
		DEL/DEL	1 (1%)	DEL	8 (3%)	
		G/DEL	6 (4%)			
D6* 4	rs3892097	CC	100 (63%)	C	254 (80%)	0,45
		TT	4 (3%)	T	62 (20%)	
		CT	54 (34%)			

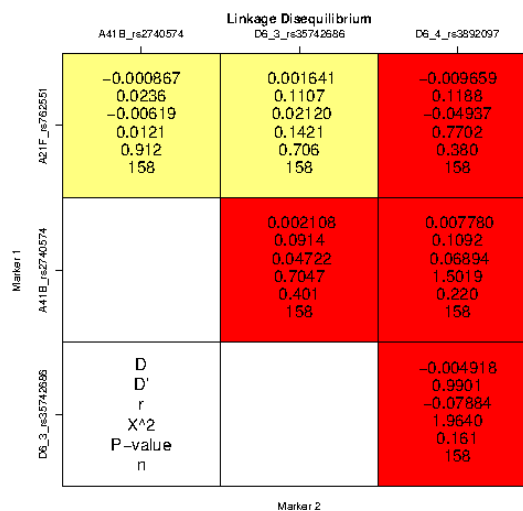
Los SNP con mayor desequilibrio de ligamiento fueron los pares rs35742686 con rs3892097 con un $D'=0,9901$. Tabla 24 y Figura 16.

Tabla 24. Medida de desequilibrio de ligamento entre polimorfismos del gen CYP450

D estadística	A21F_rs762551	A41B_rs2740574	D6_3_rs35742686	D6_4_rs3892097
A21F_rs762551		-9e-04	0,0016	-0,0097
A41B_rs2740574			0,0021	0,0078
D6_3_rs35742686				-0,0049
D6_4_rs3892097				
D' estadística				
A21F_rs762551		0,0236	0,1107	0,1188
A41B_rs2740574			0,0914	0,1092
D6_3_rs35742686				0,9901
D6_4_rs3892097				
r estadística				

A21F_rs762551		-0,0062	0,0212	-0,0494
A41B_rs2740574			0,0472	0,0689
D6_3_rs35742686				-0,0788
D6_4_rs3892097				
P valor				
A21F_rs762551		0,9123	0,7062	0,3801
A41B_rs2740574			0,4012	0,2204
D6_3_rs35742686				0,1611
D6_4_rs3892097				

Figura 16. Medida de disequilibrio de ligamento entre polimorfismos del gen CYP450.



5. INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS DE LOS GENES ESTUDIADOS ENTRE RESPONDEDORES Y NO RESPONDEDORES A CINACALCET.

Para valorar la existencia de diferencias entre los grupos de genotipos para los diferentes genes entre pacientes respondedores y no respondedores a cinacalcet, se realizaron tablas de contingencia para los cuatro modelos de análisis

genético (codominante, dominante, recesivo y sobredominante), no hallándose diferencias estadísticamente significativas, salvo en SNP de GC, y se objetivó en cada uno de los genotipos y alelos menores dosis de tratamiento en aquellos pacientes con respuesta óptima a cinacalcet.

5.1. Influencia de los polimorfismos del gen *CASR* en la susceptibilidad de respuesta a tratamiento con cinacalcet.

En los cuatro modelos de análisis genético, utilizados no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en entre los pacientes respondedores y no respondedores a tratamiento con cinacalcet para cada uno de los polimorfismos del *gen CASR*.

Tabla 25. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *CASR* (rs1501899).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	AA	21(39,6)	43 (41)	1	0,67	206,8
	GA	25 (47,29)	53 (50,5)	1,04 (0,51-2,10)		
	GG	7 (13,2)	9 (8,6)	0,63 (0,21-1,92)		
Dominante	AA	21 (39,6)	43 (41)	1	0,87	205,6
	AG/GG	32 (60,4)	62 (59)	0.95 (0,48-1,86)		
Recesivo	AA/AG	46 (86,8)	96 (91,4)	1	0,37	204,8
	GG	7 (13,2)	9 (8,6)	0,62 80,22-1,76)		
Sobredominante	AA/GG	28 852,8)	52 (49,5)	1	0,69	205,4
	AG	25 (47,2)	53(50,5)	1,14 (0,59-2,21)		

Para el polimorfismo rs1501899 no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los modelos de análisis genético en cuanto a la tasa de respuesta a tratamiento con cinacalcet (tabla 25).

Tabla 26. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para CASR (rs1042636).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	AA	43(81,1)	95 (90,5)	1	0,27	204,9
	GA	8(15,1)	8 87,69	0,45 (0,16-1,29)		
	GG	2 (3,8)	2 (1,9)	0,45 (0,06-3,32)		
Dominante	AA	43 (81,1)	95 (90,5)	1	0,1	202,9
	GA/GG	10 (18,9)	10 (9,5)	0,45 (0,18–1,17)		
Recesivo	AA/GA	51 896,2)	103 (98,1)	1	0,49	205,1
	GG	2 83,89	2 81,9)	0,5 (0,07-3,62)		
Sobredominante	AA/GG	45 884,9)	97 (92,4)	1	0,15	203,5
	AG	8 (15,1)	8 (7,6)	0,46 80,16-1,31)		

Para el polimorfismo CASR rs1042636, no encontramos diferencias significativas en ninguno de los modelos de análisis genético en cuanto a la tasa de respuesta a tratamiento con cinacalcet (tabla 26).

Tabla 27. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para CASR (rs1801726).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	CC	47 (88,7)	95 (90,5)	1	0,87	207,3
	CG	5 89,4)	9 (8,6)	0,89 (0,28-2,81)		
	GG	1 81,99	1 (1)	0,49 (0,03-8,09)		
Dominante	CC	47 (88,7)	95 (90,5)	1	0,73	205,5
	CG/GG	6 (11,3)	10 (9,5)	0,82 (0,28-2,41)		
Recesivo	CC/CG	52 (98,1)	104 (99)	1	0,63	205,4
	GG	1 81,9)	1 81)	0,50(0,03-8,15)		
Sobredominante	CC/GG	48 (90,6)	96 (91,4)	1	0,86	205,6
	CG	5 (9,4)	9 (8,6)	0,90 (0,29-2,83)		

Para el polimorfismo CASR rs1801726 no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los modelos estudiados en cuanto a la tasa de respuesta a tratamiento con cinacalcet (tabla 27).

Tabla 28. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para CASR (rs1801725).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	GG	39 (73,6)	73 (69,5)	1	0,42	205,8
	GT	9 (17)	26 (24,8)	1,54 (0,66-3,62)		
	TT	5 (9,4)	6 (5,7)	0,64 (0,18-2,24)		
Dominante	GG	39 (73,6)	73 (69,5)	1	0,59	205,3
	GT/TT	14 (26,4)	32 (30,5)	1,22 (0,58-2,56)		
Recesivo	GG/GT	48 (90,6)	99 (94,3)	1	0,4	204,9
	TT	5 (9,4)	6 (5,7)	0,58 (0,17-2)		
Sobredominante	GG/TT	44 (83)	79 (75,2)	1	0,26	204,3
	GT	9 (17)	26 (24,8)	1,61 (0,69-3,74)		

Para el polimorfismo CASR rs1801725 no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los modelos de análisis genético en cuanto a la tasa de respuesta a tratamiento con cinacalcet (tabla 28).

Tabla 29. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para CASR (rs7652589).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	GG	26 (49,1)	41 (39)	1	0,37	205,6
	AG	21 (39,6)	54 (51,4)	1,63 (0,81-3,30)		
	AA	6 (11,3)	10 (9,5)	1,06 (0,34-3,26)		
Dominante	GG	26 (49,1)	41 (39)	1	0,23	204,2
	AG/AA	27 (50,9)	64 (61)	1,50 (0,77-2,93)		
Recesivo	GG/AG	47 (88,7)	95 (90,5)	1	0,73	205,5
	AA	6 (11,3)	10 (9,5)	0,82 (0,28-2,41)		
Sobredominante	GG/AA	32 (60,4)	51 (48,6)	1	0,16	203,6
	AG	21 (39,6)	54 (51,4)	1,61 (0,83-3,15)		

Para el polimorfismo CASR rs7652589 no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los modelos de análisis genético en cuanto a la tasa de respuesta a tratamiento con cinacalcet (tabla 29).

5.2. Influencia de los polimorfismos del gen *VDR* en la susceptibilidad de respuesta a tratamiento con cinacalcet.

En los cuatro modelos de análisis genético, utilizados no se encontraron diferencias estadísticamente significativas en entre los pacientes respondedores y no respondedores a tratamiento con cinacalcet, para cada uno de los polimorfismos del gen *VDR*. En todos los modelos estadísticos entre respondedores y no respondedores se encontraron diferencias significativas en cuanto a dosis de tratamiento, ya que los pacientes respondedores precisaron menor dosis de cinacalcet que los pacientes no respondedores ($p < 0,05$).

Para el polimorfismo rs7975232 no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los modelos de análisis genético en cuanto a la tasa de respuesta a tratamiento con cinacalcet (tabla 30).

Tabla 30. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *VDR* rs7975232 (ApoI).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	AA	20 (37,7)	37 (35,2)	1	0,44	206
	AC	24 (45,3)	41 (39)	0,92 (0,44-1,94)		
	CC	9 (17)	27 (25,7)	1,62 (0,64-4,11)		
Dominante	AA	20 (37,7)	37 (35,2)	1	0,76	205,5
	AC/CC	33 (62,3)	68 (64,8)	1,11 (0,56-2,21)		
Recesivo	AA/AC	44 (83)	78 (74,3)	1	0,21	204
	CC	9 (17)	27 (25,7)	1,69 (0,73-3,92)		
Sobredominante	AA/CC	29 (54,7)	64 (61,9)	1	0,45	205
	AC	24 (45,3)	41 (39)	0,77 (0,40-1,51)		

Para el polimorfismo rs1544410 no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los modelos de análisis genético en cuanto a la tasa de respuesta a tratamiento con cinacalcet (tabla 31).

Tabla 31. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para VDR rs1544410 (BsmI).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	CC	16 (30,2)	44 (41,9)	1	0,3	205,2
	CA	28 (52,8)	43 (41)	0,56 (0,27-1,18)		
	AA	9 (17)	18 (17,1)	0,73 (0,27-1,94)		
Dominante	CC	16 (30,2)	44 (41,9)	1	0,15	203,5
	CA/AA	37 (69,8)	61 (58,1)	0,60 (0,30-1,21)		
Recesivo	CC/AA	44 (83)	87 (82,9)	1	0,98	205,6
	AA	9 (17)	18 (17,1)	1,01 (0,42-2,43)		
Sobredominante	CC/AA	25 (47,2)	62 (59)	1	0,16	203,6
	CA	28 (52,8)	43 (41)	0,62 (0,32-1,20)		

Para el polimorfismo rs2228570 no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los modelos de análisis genético en cuanto a la tasa de respuesta a tratamiento con cinacalcet (tabla 32).

Tabla 32. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para VDR rs2228570 (FokI).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	AA	23 (43,4)	51 (48,6)	1	0,83	207,2
	AG	26 (49,1)	47 (44,8)	0,82 (0,41-1,62)		
	GG	4 (7,5)	7 (6,7)	0,79 (0,21-2,96)		
Dominante	AA	23 (43,4)	51 (48,6)	1	0,54	205,2
	AG/GG	30 (56,6)	54 (51,4)	0,81 (0,42-1,58)		
Recesivo	AA/AG	49 (92,5)	98 (93,3)	1	0,84	205,3
	GG	4 (7,5)	7 (6,7)	0,88 (0,24-3,13)		
Sobredominante	AA/GG	27 (50,9)	58 (55,2)	1	0,61	205,3
	GA	26 (49,1)	47 (44,8)	0,84 (0,43-1,63)		

Para el polimorfismo rs731236 se encontraron diferencias significativas en ninguno de los modelos de análisis genético en cuanto a la tasa de respuesta a tratamiento con cinacalcet (tabla 33).

Tabla 33. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para VDR rs731236 (TaqI).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	TT	17 (32,1)	40 (38,1)	1	0,73	207
	TC	28 (52,8)	49 (46,7)	0,74 (0,36-1,55)		
	CC	8 (15,1)	16 (15,2)	0,85 (0,31-2,36)		
Dominante	TT	17 (32,1)	40 (38,1)	1	0,45	205
	TC/CC	36 (67,9)	65 (61,9)	0,77 (0,38-1,54)		
Recesivo	TT/TC	45 (84,9)	89 (84,8)	1	0,98	205,6
	CC	8 (15,1)	16 (15,2)	1,01 (0,40-2,54)		
Sobredominante	TT/CC	25 (47,2)	56 (53,3)	1	0,46	205,1
	TC	28 (52,8)	49 (46,7)	0,78 (0,40-1,51)		

5.3. Influencia de los polimorfismos del gen *GC* en la susceptibilidad de respuesta a tratamiento con cinacalcet.

En los cuatro modelos de análisis genéticos utilizados se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes respondedores y no respondedores a tratamiento con cinacalcet, en concreto para el polimorfismo rs4588 del gen *GC* donde se encontraron diferencias significativas en el modelo codominante ($p < 0,0001$), dominante ($p < 0,0001$), sobredominante ($p < 0,0001$) y por alelos ($p < 0,0001$) (tabla 34).

Tabla 34. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para *GC* (rs4588).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	GG	11 (20,8)	64 (61)	1	<0,0001	182,7
	GT	37 (69,8)	33 (31,4)	0,15 (0,07-0,34)		
	TT	5 (9,4)	8 (7,6)	0,28 (0,08-1)		
Dominante	GG	11 (20,8)	64 (61)	1	<0,0001	181,6
	GT/TT	42 (79,2)	41 (39)	0,17 (0,08-0,36)		
Recesivo	GG/GT	48 (90,6)	97 (92,4)	1	0,7	205,4
	TT	5 (9,4)	8 (7,6)	0,79 (0,25-2,55)		
Sobredominante	GG/TT	16 (30,2)	72 (68,6)	1	<0,0001	184,3
	GT	37 (69,8)	33 (31,4)	2,20 (0,10-0,41)		

El modelo que mejor explicaría que los portadores de este polimorfismo tienen una respuesta inferior a tratamiento con cinacalcet es el modelo dominante (GT/TT; odds ratio (OR) 0,17; intervalo de confianza al 95% (CI) 0,08-0,36 con criterio de Akaike (AIC) de 181.6; $p < 0,0001$ (tabla 34).

En la figura 18 se describen las concentraciones de PTH antes y a los 12 meses de tratamiento con cinacalcet según la distribución de genotipos rs4588 y respuesta a cinacalcet. Antes del tratamiento, los pacientes homocigotos GG mostraron una concentración de PTH más alta que los heterocigotos (p -ajustado = 0,013). Para una representación más clara, se eliminó del gráfico un valor atípico de 2773 pg/ml de un paciente GG. Después del tratamiento, los pacientes homocigotos GG mostraron niveles más bajos de PTH que los heterocigotos o los homocigotos TT (p -ajustado $< 0,0001$ y 0,0143, respectivamente). Esto podría sugerir que los pacientes portadores del alelo T en el polimorfismo GC rs4588 presentan mayor resistencia al tratamiento con cinacalcet y de manera dominante, ya que previamente al tratamiento, los portadores del alelo T, no mostraban diferentes niveles de PTH en comparación con los portadores del alelo G. El genotipo TT también se asocia con niveles más bajos de calcidiol y de GC en nuestra serie ($p = 0,0097$).

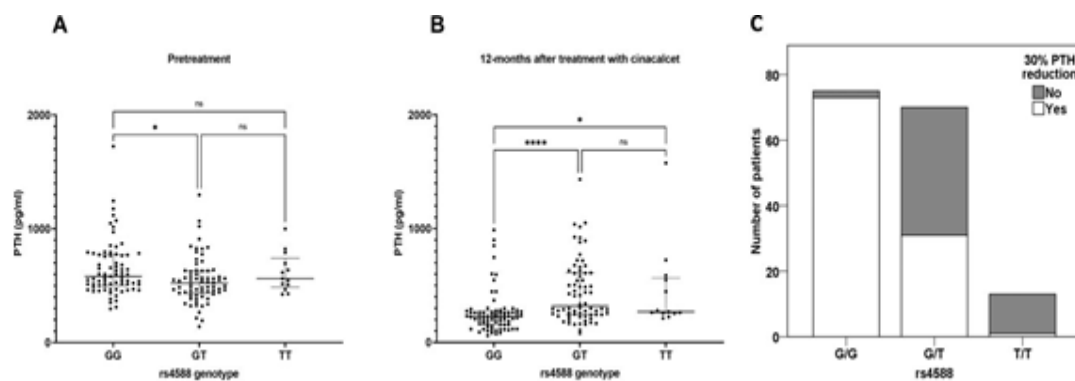


Figura 18. Concentraciones de PTH antes y después de 12 meses de tratamiento con cinacalcet según la distribución de genotipos rs4588 y respuesta a cinacalcet. (A) Antes del tratamiento. (B) Después del tratamiento (C) Número de respondedores/no respondedores a cinacalcet según genotipos rs4588.

Para el polimorfismo rs7041 se observó peor respuesta al tratamiento con cinacalcet en los mismos modelos (codominante, dominante y sobredominante), con el mejor ajuste logrado en el modelo sobredominante (A/C; OR = 0,38; IC del 95 % 0,19–0,77; AIC = 197,9; $p < 0,0055$) (tabla 35).

Tabla 35. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para GC (rs7041).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	CC	8(15,1)	37 (35,2)	1	0,0099	198,4
	CA	36 (67,9)	47 (44,8)	0,28 (0,12-0,68)		
	AA	9 (17)	21 (20)	0,50 (0,17-1,50)		
Dominante	CC	8(15,1)	37 (35,2)	1	0,006	198,1
	CA/AA	45 (84,9)	68 (64,8)	0,33 (0,14-0,77)		
Recesivo	CC/CA	44 (83)	84 (80)	1	0,65	205,4
	AA	9 (17)	21 (20)	1,22 (0,52-2,89)		
Sobredominante	CC/AA	17 (32,1)	58 (55,2)	1	0,0055	197,9
	CA	36 (67,9)	47 (44,8)	0,38 (0,19-0,77)		

5.4. Influencia de los polimorfismos de los genes *CYP1A2* y *CYP3A4* del citocromo P450 en la susceptibilidad de respuesta a tratamiento con cinacalcet.

En los cuatro modelos de herencia analizados no se encontraron diferencias estadísticamente significativas entre los pacientes respondedores y no respondedores a tratamiento con cinacalcet para cada uno de los polimorfismos del citocromo p450.

Para el polimorfismo A21F (rs762551) no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los cuatro modelos de herencia analizados en cuanto a la tasa de respuesta a tratamiento con cinacalcet (tabla 36).

Tabla 36. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para CYP1A2 A21F (rs762551).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	AA	13 (24,5)	32 (30,5)	1	0,5	206,2
	CA	32 (60,4)	63 (60)	0,80 (0,37-1,73)		
	CC	8 (15,1)	10 (9,5)	0,51 (0,16-1,57)		
Dominante	AA	13 (24,5)	32 (30,5)	1	0,43	205
	CA/CC	40 (75,5)	73 (69,5)	0,74 (0,35-1,57)		
Recesivo	AA/CA	45 (84,9)	95 (90,5)	1	0,31	204,6
	CC	8 (15,1)	10 (9,5)	0,59 (0,22-1,60)		
Sobredominante	AA/CC	21 (39,6)	42 (40)	1	0,96	205,6
	CA	32 (60,4)	63 (60)	0,98 (0,50-1,93)		

Para el polimorfismo A41B (rs2740574), no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los modelos de herencia analizados en cuanto a la tasa de respuesta a tratamiento con cinacalcet (tabla 37).

Tabla 37. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para CYP3A4 A41B (rs2740574).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	TT	42 (79,2)	90 (85,7)	1	0,58	206,5
	TC	10 (18,9)	14 (13,3)	0,65 (0,27-1,59)		
	CC	1 (1,9)	1 (1)	0,47 (0,03-7,64)		
Dominante	TT	42 (79,2)	90 (85,7)	1	0,31	204,6
	TC/CC	11 (20,8)	15 (14,3)	0,64 (0,27-1,50)		
Recesivo	TT/TC	52 (98,1)	104 (99)	1	0,63	205,4
	CC	1 (1,9)	1 (1)	0,50 (0,03-8,15)		
Sobredominante	TT/CC	43 (81,1)	91 (86,7)	1	0,37	204,8
	TC	10 (18,9)	14 (13,3)	0,66 (0,27-1,61)		

Para el polimorfismo D63 (rs35742686) no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los modelos de herencia analizados en cuanto a la tasa de respuesta a tratamiento con cinacalcet (tabla 38).

Tabla 38. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para CYP2D6 D63 (rs35742686).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	TT	49 (92,5)	102 (97,1)	1	0,16	204
	T/DEL	4 (7,5)	2 (1,9)	0,24 (0,04-1,36)		
	DEL/DEL	0 (0)	1 (1)	---		
Dominante	TT	49 (92,5)	102 (97,1)	1	0,19	203,9
	T/DEL vs DEL/DEL	4 (7,5)	3 (2,9)	0,36 (0,08-1,67)		
Recesivo	TT vs T/DEL	53 (100)	104 (99)	1	0,36	204,8
	DEL/DEL	0 (0)	1 (1)	---		
Sobredominante	TT DEL/DEL	49 (92,5)	103 (98,1)	1	0,091	202,7
	T/DEL	4 (7,5)	2 (1,9)	0,24 (0,04-1,34)		

Para el polimorfismo D64 (rs3892097) no se encontraron diferencias significativas en ninguno de los modelos de herencia analizados en cuanto a la tasa de respuesta a tratamiento con cinacalcet (tabla 39).

Tabla 39. Tabla de contingencia de respondedores frente a no respondedores para CYP2D6 D64 (rs3892097).

Modelo	Genotipo	Respondedor N; %	No respondedor N; %	OR (95% CI)	<i>p</i>	AIC
Codominante	CC	31 (58,5)	69 (65,7)	1	0,2	204,4
	CT	19 (35,9)	35 (33,3)	0,83 (0,41-1,67)		
	TT	3 (5,7)	1 (1)	0,15 (0,01-1,50)		
Dominante	CC	31 (58,5)	69 (65,7)	1	0,38	204,8
	CT/TT	22 (41,5)	36 (34,3)	0,74 (0,37-1,45)		
Recesivo	CC/CT	50 (94,3)	104 (99)	1	0,38	204,8
	TT	3 (5,7)	1 (1)	0,16 (0,02-1,58)		
Sobredominante	CC/TT	34 (64,2)	70 (66,7)	1	0,75	205,5
	CT	19 (35,9)	35 (33,3)	0,89 (0,45-1,79)		

6. ANÁLISIS MÚLTIPLE DE TODOS LOS SNP.

6.1. Análisis del desequilibrio de ligamento de todos los SNP estudiados.

Cuando se analizaron todos los SNP en los genes estudiados de forma conjunta el análisis de desequilibrio de ligamento entre ellos mostró que los SNP con más probabilidad se segregarse juntos fueron, tal y como cabría esperar, el SNP rs1042636 del gen *CASR* con rs1801726 del mismo gen, con una probabilidad del 98%. El SNP del gen *CASR* rs1801726 obtuvo una probabilidad del 99%, de segregarse conjuntamente con el rs1801725 del mismo gen. Se objetivó también que el SNP del *VDR* rs7975232 obtuvo una probabilidad del 97% de segregarse conjuntamente con rs1544410 del mismo gen. Tabla 40.

D'	CASR rs1501899	CASR rs1042636	CASR rs1801726	CASR rs1801725	CASR rs7652589	VDR rs7975232	VDR rs1544410	VDR rs2228570	VDR rs731236000	DBP rs4588	DBP rs7041	A21F rs762551	A41B rs2740574	D6_3 rs35742686	D64 rs3892097
CASR rs1501899		0,2016	0,123	0,3173	0,4197	0,0538	0,0733	0,1589	0,1295	0,1823	0,0744	0,106	0,0242	0,1202	0,1641
CASR rs1042636			0,9844	0,5922	0,1138	0,1822	0,0843	0,2016	0,2661	0,1303	0,2023	0,1178	0,1469	0,3971	0,129
CASR rs1801726				0,9934	0,0789	0,1162	0,0265	0,0993	0,1563	0,1873	0,5466	0,0079	0,902	0,0127	0,0171
CASR rs1801725					0,0322	0,1196	0,0031	0,0711	0,0703	0,1431	0,183	0,0198	0,0241	0,3082	0,011
CASR rs7652589						0,0155	0,0197	0,033	0,0056	0,1091	0,0218	0,0774	0,0016	0,2433	0,0605
VDR rs7975232						,	0,9784	0,07	0,8202	0,0757	0,1061	0,1477	0,1578	0,2371	0,0359
VDR rs1544410						,	,	0,117	0,8056	9e-04	0,0662	0,089	0,0351	0,9921	0,1734
VDR rs2228570									0,0182	0,0703	0,0618	0,1669	0,2296	0,0313	0,1092
VDR rs731236000										0,0401	0,0917	0,0054	0,0111	0,9921	0,0591
DBP rs4588											0,6224	0,0499	0,0982	0,2647	0,0332
DBP rs7041												0,3277	0,2454	0,3242	0,0369
A21F rs762551													0,0236	0,1107	0,1188
A41B rs2740574														0,0914	0,1092
D6_3 rs35742686															0,9901
D6_4 rs3892097															

Tabla 40. D' estadístico del equilibrio de ligamento de los SNPs

7. ESTUDIO FARMACOGENÉTICO POR HAPLOTIPOS PARA LOS SNP DE LOS GENES ESTUDIADOS EN LA RESPUESTA A TRATAMIENTO CON CINACALCET.

En el estudio se evaluó la asociación que podrían tener los haplotipos con la respuesta a tratamiento con cinacalcet. Para realizar el estudio de susceptibilidad por haplotipos se analizaron todas las posibles combinaciones formadas por los polimorfismos incluidos en el estudio. Para interpretar la influencia de los distintos alelos en los resultados, se tuvieron en cuenta únicamente los haplotipos que presentan una frecuencia de aparición mayor del 10% en al menos uno de los grupos.

7.1. Estudio farmacogenético por haplotipos de los SNP del *gen CASR* en la respuesta a tratamiento con cinacalcet.

Al realizar el análisis genético por haplotipos de cada uno de los polimorfismos estudiados del *gen CASR*, se observó que determinados haplotipos eran más frecuentes en el grupo respondedor y otros presentaban mayor frecuencia de aparición en el grupo no respondedor, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Tabla 41 y 42.

Tabla 41. Frecuencia de Haplotipos *gen CASR*.

	rs1501899	rs1042636	rs1801726	rs1801725	rs7652589	Total	NR	R	Frecuencia Acumulada.
1	A	A	C	G	G	0,3574	0,3179	0,4065	0,3574
2	G	A	C	G	A	0,1376	0,1567	0,1483	0,4949
3	G	A	C	G	G	0,1133	0,1414	0,0715	0,6082
4	A	A	C	T	G	0,0919	0,1059	0,0746	0,7001
5	A	A	C	G	A	0,0855	0,0615	0,0792	0,7857
6	A	G	C	G	G	0,0414	0,0623	NA	0,827
7	A	A	C	T	A	0,0372	0,0179	0,0534	0,8642
8	G	A	C	T	A	0,0278	0,0156	0,0288	0,892
9	A	G	C	G	A	0,0275	0,0414	0,0071	0,9195
10	G	A	G	G	G	0,0231	0,0402	0,0193	0,9426
11	G	A	C	T	G	0,0168	0,0132	0,028	0,9594
12	G	A	G	G	A	0,0138	0,0012	0,0028	0,9732
13	G	A	G	G	G	0,0109	NA	0,0177	0,9841
14	A	A	G	G	A	0,0088	0,0169	0,0079	0,9929
15	A	G	C	T	G	0,0067	NA	0,0056	0,9996

16	G	G	G	G	A	4e-04	NA	0,0046	1
17	G	G	C	G	G	0	NA	0,0244	1
18	G	A	G	T	G	0	0,0078	NA	

NR: No respondedor. R: Respondedor

Tabla 42. Asociación de haplotipos *gen CASR* con respuesta

	rs1501899	rs1042636	rs1801726	rs1801725	rs7652589	%	OR (95% CI)	<i>p</i>
1	A	A	C	G	G	0,3658	1,00	---
2	G	A	C	G	A	0,1477	0,74 (0,32 - 1,68)	0,47
3	G	A	C	G	G	0,0987	0,39 (0,12 - 1,25)	0,11
4	A	A	C	G	A	0,0805	1,15 (0,35 - 3,73)	0,82
5	A	A	C	T	G	0,0804	0,45 (0,14 - 1,45)	0,18
6	A	A	C	T	A	0,0424	2,09 (0,27 - 16,20)	0,48
7	A	G	C	G	G	0,0393	0,49 (0,12 - 1,96)	0,31
8	G	A	C	T	G	0,031	1,31 (0,19 - 9,17)	0,79
9	A	A	G	G	G	0,0282	0,19 (0,03 - 1,41)	0,11
10	G	G	C	G	A	0,0272	0,45 (0,11 - 1,86)	0,27
11	G	A	C	T	A	0,0218	2,56 (0,09 - 69,77)	0,58

7.2. Estudio farmacogenético por haplotipos de los SNP del *gen VDR* en la respuesta a tratamiento con cinacalcet.

Al realizar el análisis genético por haplotipos de cada uno de los polimorfismos estudiados del *gen VDR*, se observó que determinados haplotipos eran más frecuentes en el grupo respondedor y otros presentaban mayor frecuencia de aparición en el grupo no respondedor, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Tabla 43 y 44.

Tabla 43. Frecuencia de Haplotipos del *gen VDR*. NR: No respondedor. R: Respondedor

	rs7975232 (ApoI)	rs1544410 (BsmI)	rs2228570 (FokI)	rs731236 (TaqI)	Total	NR	R	Frecuencia acumulada
1	A	C	A	T	0,279	0,2624	0,289	0,279
2	C	T	A	C	0,2269	0,2422	0,2157	0,5058
3	A	C	G	T	0,1229	0,1126	0,1265	0,6288
4	C	T	G	C	0,1184	0,1419	0,1095	0,7472
5	C	C	A	T	0,1146	0,1064	0,1181	0,8618
6	C	C	G	T	0,0413	0,0652	0,0297	0,9031
7	C	T	A	T	0,0287	0,0373	0,028	0,9318
8	A	C	A	C	0,028	0,0098	0,0351	0,9598

9	C	C	A	C	0,0186	0,0097	0,0237	0,9784
10	C	T	G	T	0,0179	0,001	0,0231	0,9963
11	A	T	A	C	0,0037	0,0115	NA	1
12	A	C	G	C	0	NA	0,0018	

Tabla 44. Asociación de haplotipos del gen VDR con respuesta.

	rs7975232 (Apol)	rs1544410 (BsmI)	rs2228570 (FokI)	rs731236 (TaqI)	%	OR (95% CI)	P-valor
1	A	C	A	T	0,2761	1,00	---
2	C	T	A	C	0,2266	0,76 (0,35 - 1,66)	0,49
3	A	C	G	T	0,1246	0,75 (0,21 - 2,69)	0,66
4	C	T	G	C	0,1187	0,79 (0,32 - 1,90)	0,59
5	C	C	A	T	0,1155	1,00 (0,34 - 2,91)	1
6	C	C	G	T	0,0417	0,38 (0,08 - 1,84)	0,23
7	C	T	A	T	0,0309	0,47 (0,09 - 2,42)	0,37
8	A	C	A	C	0,029		

7.3. Estudio farmacogenético por haplotipos de los SNP del gen GC en la respuesta a tratamiento con cinacalcet.

Al realizar el análisis genético por haplotipos de cada uno de los polimorfismos estudiados del gen GC, se observó que el haplotipo GC_rs4588-T, GC_rs7041-A se asoció con peor respuesta a cinacalcet ($p=0,0006$), siendo la asociación global del análisis significativo ($p = 0,00017$) (Tabla 45 y 46).

Tabla 45. Frecuencia de haplotipos de gen GC (GC).

	rs4588	rs7041	Total	NR	R	Frecuencia acumulada.
1	G	C	0,5687	0,4899	0,6109	0,5687
2	T	A	0,2301	0,3578	0,1681	0,7988
3	G	A	0,1275	0,0667	0,1557	0,9263
4	T	C	0,0737	0,0856	0,0652	1

NR: No respondedor. R: Respondedor

Tabla 46. Asociación de haplotipos del gen GC (GC) con respuesta.

	_rs4588	rs7041	%	OR (95% CI)	p
1	G	C	0,5696	1,00	---
2	T	A	0,231	0,20 (0,08 - 0,49)	0,0006
3	G	A	0,1266	1,06 (0,33 - 3,42)	0,93
4	T	C	0,0728	0,94 (0,31 - 2,84)	0,91

Asociación global por haplotipos con p -valor: **0,00017**

7.4. Estudio farmacogenético por haplotipos de los SNP del citocromo P450 en la respuesta a tratamiento con cinacalcet.

Al realizar el análisis genético por haplotipos de cada uno de los polimorfismos estudiados del citocromo P450 se observó que determinados haplotipos eran más frecuentes en el grupo respondedor y otros presentaban mayor frecuencia de aparición en el grupo no respondedor, sin encontrar diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Tabla 47 y 48.

Tabla 47. Frecuencia de los haplotipos de polimorfismos del citocromo P450.

	A21 rs762551	A41B rs2740574	D6_3 rs35742686	D6_4 rs3892097	Total	NR	R	Frecuencia acumulada
1	A	T	T	C	0,4068	0,3787	0,4176	0,4068
2	C	T	T	C	0,3124	0,2791	0,3404	0,7191
3	A	T	T	T	0,1162	0,095	0,1264	0,8354
4	C	T	T	T	0,0565	0,1048	0,0246	0,8919
5	A	C	T	C	0,0467	0,0726	0,0254	0,9386
6	C	C	T	C	0,0185	0,0235	0,016	0,9571
7	C	C	T	T	0,0138	0,0181	0,0086	0,9709
8	A	T	DEL	C	0,012	0,0198	0,0087	0,9828
9	C	T	DEL	C	0,0075	0	0,011	0,9903
10	C	C	DEL	T	0,0059	0,0085	0,0041	0,9962
11	A	C	T	T	0,0038	NA	0,0173	1
12	A	C	DEL	T	0	0	0	1

NR: no respondedor. R: respondedor

Tabla 48. Asociación de haplotipos de polimorfismos del citocromo P450 con respuesta.

	A21F rs762551	A41B rs2740574	D6_3 rs35742686	D6_4 rs3892097	%	OR (95% CI)	<i>p</i>
1	A	A	G	C	0.4069	1.00	---
2	C	A	G	C	0.315	1.14 (0.51 - 2.54)	0.75
3	A	A	G	T	0.1152	1.06 (0.38 - 2.99)	0.91
4	C	A	G	T	0.0518	0.26 (0.06 - 1.12)	0.073
5	A	G	G	C	0.0416	0.41 (0.09 - 1.91)	0.26
6	C	G	G	C	0.0178	0.53 (0.03 - 8.52)	0.65
7	C	G	G	T	0.0172	0.66 (0.05 - 8.68)	0.75
8	A	A	DEL	C	0.0127	0.00 (-Inf - Inf)	1
9	*	*	*	*	0.0217		<0.0001

Asociación global por haplotipos con *p*-valor: 0,37

7.5. Estudio farmacogenético de todos los haplotipos de los SNP estudiados en la respuesta a tratamiento con cinacalcet.

Tabla 49. Frecuencia de los haplotipos de todos los SNP del estudio.

	CASR rs1501899	CASR rs1042636	CASR rs1801726	CASR rs1801725	CASR rs7652589	VDR rs7975232	VDR rs1544410	VDR rs2228570	VDR rs731236000	DBP rs4588	DBP rs7041	A21F rs762551	A41B rs2740574	D6_3 rs35742686	D64 rs3892097	Total	NR	R	FA
1	A	A	C	G	G	G	A	A	T	G	C	A	T	T	C	0.16	NA	0.19	0.1612
2	A	A	C	G	G	A	A	A	T	G	C	C	T	T	C	0.05	NA	0.01	0.21
3	A	A	C	G	G	A	G	A	C	G	C	A	T	T	C	0.04	NA	0.06	0.25
4	G	A	C	G	A	C	A	A	T	G	C	C	T	T	C	0.03	0.02	0.01	0.28
5	A	A	C	G	G	C	A	A	T	T	A	A	T	T	C	0.02	NA	NA	0.31
6	G	A	C	G	G	A	G	G	C	G	C	A	T	T	C	0.02	0.11	0.00	0.33
7	A	A	C	T	G	A	G	A	C	G	A	A	T	T	C	0.02	NA	0.00	0.36
8	A	A	C	G	A	A	G	A	C	T	A	C	T	T	C	0.02	0.01	0.01	0.38
9	A	A	C	G	G	A	G	A	C	G	C	C	T	T	C	0.01	NA	0.04	0.40
10	A	A	C	T	G	C	A	G	T	G	C	C	T	T	C	0.01	NA	0.00	0.42
11	A	A	C	G	G	A	G	G	C	T	A	C	T	T	C	0.01	NA	NA	0.43
12	G	A	C	G	A	A	A	A	T	G	C	A	T	T	C	0.01	NA	NA	0.45
13	A	A	C	G	A	A	G	A	C	G	C	A	T	T	T	0.01	NA	0.03	0.47
14	G	A	C	G	A	A	G	G	C	G	C	C	T	T	C	0.06	NA	0.015	0.48
15	A	A	C	T	G	A	G	A	C	T	A	A	T	T	C	0.01	NA	NA	0.5
16	G	A	G	G	G	C	A	A	T	G	C	C	T	T	C	0.01	NA	NA	0.51
17	A	A	C	G	A	A	G	G	C	G	C	C	T	T	T	0.01	NA	0.00	0.52

NR: no respondedor. R: respondedor. FA: frecuencia acumulada

Al realizar el análisis genético por haplotipos de todos los polimorfismos estudiados de los diferentes genes, se observó que el haplotipo número 7 de la fila de la tabla 50, tenía mejor respuesta cinacalcet con una OR de 0,11 (0,02 - 0,78) y una $p = 0,02$. Tabla 49 y 50.

Tabla 50. Asociación de los haplotipos de todos los SNP con respuesta.

	a	b	c	d	e	f	g	h	i	j	k	l	m	n	o	%	OR; (IC95%)	<i>p</i>
1	A	A	C	G	G	G	A	A	T	G	C	A	T	T	C	0.16	1.00	---
2	A	A	C	G	G	A	A	A	T	G	C	C	T	T	C	0.05	1.09 (0.29 - 4.04)	0.9
3	A	A	C	G	G	A	G	A	C	G	C	A	T	T	C	0.03	0.90 (0.20 - 4.05)	0.89
4	G	A	C	G	A	C	A	A	T	G	C	C	T	T	C	0.02	0.59 (0.09 - 4.04)	0.59
5	A	A	C	G	G	C	A	A	T	T	A	A	T	T	C	0.02	0.89 (0.10 - 7.70)	0.92
6	G	A	C	G	G	A	G	G	C	G	C	A	T	T	C	0.02	0.66 (0.09 - 4.84)	0.69
7	A	A	C	T	G	A	G	A	C	G	A	A	T	T	C	0.02	0.11 (0.02 - 0.78)	0.02
8	A	A	C	G	A	A	G	A	C	T	A	C	T	T	C	0.01	1.81 (0.15 - 21.86)	0.64
9	A	A	C	G	G	A	G	A	C	G	C	C	T	T	C	0.01	0.35 (0.05 - 2.64)	0.31
10	A	A	C	T	G	C	A	G	T	G	C	C	T	T	C	0.01		1
11	A	A	C	G	G	A	G	G	C	T	A	C	T	T	C	0.01		

CASR: rs1501899 (a), rs1042636 (b), rs1801726 (c), rs1801725 (d), y rs7652589 (e); VDR: rs7975232 (f) rs1544410 (g), rs2228570 (h), y rs731236 (i); GC: rs4588 (j) y rs7041 (k); CYP450: rs762551 (l), rs2740574 (m), rs35742686 (n) y rs3892097(o)

8. ANÁLISIS MULTIVARIANTE.

El estudio multivariante solo se realizó para el SNP rs4588 en el que se han confirmado diferencias significativas con respecto a la respuesta a cinacalcet. El resto de los análisis multivariantes no se incluyeron en esta memoria debido a que no se obtuvieron resultados significativos.

Al realizar el estudio multivariante en el SNP rs4588 del gen GC, se encontraron como variables predictoras independientes de los niveles de PTH a los 12 meses: la edad, los niveles basales de calcidiol y la albumina.

Tabla 51. Análisis de regresión lineal múltiple (predictores de niveles de PTH a 12 meses tras tratamiento con cinacalcet).

	Coficiente B	<i>p</i>
Edad	-2,717	0,028
Calcidiol basal	-5,35	0,038
Albúmina basal	48,6	<0,001
Ferritina basal	-0,136	0,057

VI. DISCUSIÓN

VI. DISCUSIÓN

Entre las complicaciones de la ERC, se encuentra la “alteración óseo-mineral asociada a la ERC”. Esta alteración integra todas las alteraciones bioquímicas, esqueléticas y calcificaciones extraesqueléticas que ocurren como consecuencia de las alteraciones del metabolismo mineral en la ERC entre las que se encuentra el HPT2 y las calcificaciones extraesqueléticas, fundamentalmente vasculares que condicionan, el elevado riesgo cardiovascular que presentan estos pacientes (1,2).

Uno de los objetivos terapéuticos en estos pacientes, es conseguir niveles óptimos de calcio y fósforo. Durante mucho tiempo, el tratamiento se ha basado en el empleo de quelantes del P y aporte de vitamina D y sus análogos. El descubrimiento del CASR, ha facilitado la búsqueda de agentes calcimiméticos con fines terapéuticos, siendo el primero en comercializarse el Cinacalcet (1, 5).

Cinacalcet es una agente calcimimético que se une a la CASR de la glándula paratiroides y lo hace más sensible a las acciones del Ca^{2+} , reduciendo así de forma significativa los niveles de PTH. A pesar del avance en el tratamiento de los pacientes con ERC e HPT2, existe un elevado número de problemas relacionados con la toma de los fármacos. Entre los problemas principales, se encuentran la falta de eficacia, los efectos adversos y falta de adherencia, los cuales se podrían explicar por factores ambientales y genéticos. La variabilidad interindividual de la dosis de cinacalcet requerida por los pacientes ha despertado el interés en conocer si existen factores genéticos que puedan influir en la respuesta a dicho fármaco.

En esta tesis se planteó la hipótesis de si la condición genotípica de diferentes polimorfismos relacionados con el metabolismo óseo metabólico de la ERC y con el cinacalcet podría explicar la variabilidad de respuesta a cinacalcet de los pacientes en HD.

1. POBLACIÓN ESTUDIADA.

La serie clínica estuvo formada por 158 pacientes en HD en tratamiento con paracalcitol y que recibieron tratamiento con cinacalcet, mínimo durante un año.

De ellos, 57 fueron mujeres (36,1%) con una edad media $63 \pm 15,5$ años, lo cual está en concordancia con el registro de la Sociedad Española de Nefrología (SEN) (<https://www.senefro.org/modules.php?name=webstructure&idwebstructure=29>) y el registro de ERC de la Región de Murcia (<https://www.murciasalud.es/pagina.php?id=268294&idsec=1074>) los cuales en su último informe del año 2020 y 2019, respectivamente, establecen que la mayoría de la población incidente y prevalente se encuentra entre los 65-75 años y que la proporción de hombre / mujer (67% vs 33%). La permanencia media en HD hasta el inicio de cinacalcet fue $63,5 \pm 56,4$ meses. La causa principal de ERC fue la nefropatía diabética (20,9%), seguida de la nefroangioesclerosis (16,5%). Estos datos coinciden con datos aportados por el registro de la SEN 2020, que informa que la nefropatía diabética es la causa principal de ERC en pacientes incidentes que inician TSR (26,5%) y en pacientes prevalentes (17%) y con el registro de enfermos renales de la Región de Murcia del 2019. De los 158 pacientes estudiados, 53 pacientes (33,5%) no respondieron a tratamiento con cinacalcet frente a 105 pacientes (66,5%) que sí lo hicieron según criterios de las Guías NICE (26). No hubo diferencias significativas ($p > 0,05$) entre los pacientes que respondieron y los que no respondieron en términos de sexo comorbilidad, edad, tiempo en diálisis, índice de masa corporal, variables bioquímicas, presencia de enfermedad cardiovascular/factores de riesgo y el uso de captadores de fósforo o paricalcitol.

Los pacientes respondedores presentan de manera significativa niveles óptimos de PTH ($228,4 \pm 112,2$ vs $605,8 \pm 289$ pg/ml; $p = 0,001$) y fósforo ($4,2 \pm 1,1$ vs $5 \pm 1,3$ mg/dl; $p = 0,001$) en comparación con los pacientes que no respondieron a los 12 meses de tratamiento (tabla 14).

Al analizar variables de confusión en función de los niveles óptimos exigidos por las guías KDIGO (6), encontramos que los pacientes con P entre 2,5 y 4,5 mg/dl, presentan mejor respuesta a cinacalcet frente a los pacientes que no tiene el P en el rango recomendado (24, 4% vs ; 47%, $p = 0,011$) (tabla 16). Los pacientes con Hb > 10 g/dl tienen mejor respuesta a cinacalcet que aquellos con Hb < 10 g/dl (93,2% vs; 6,8%, $p = 0,021$) (tabla 16). Los pacientes mejor nutridos con albumina por encima de 3,5 tuvieron mejor respuesta a tratamiento, que aquellos pacientes con albumina < 3,5 (6; 14; 97,4% vs 3; 2,6%, $p = 0,01$) (tabla 16). A pesar de que la mayoría de los pacientes presentaron signos de inflamación aguda con PCR > 10,

no hubo diferencias en la respuesta a tratamiento. Tampoco se encontraron diferencias entre los pacientes que respondieron o no a cinacalcet, en cuanto a dosis de diálisis medida por Kt. En el estudio multivariante se observó que tanto las concentraciones de 25OHD como de albúmina al inicio del tratamiento eran factores predictores independientes de PTH a los 12 meses de tratamiento. El coeficiente R^2 del modelo dio un valor de 0,257 (R^2 ajustado 0,227) mientras que el coeficiente F del modelo fue de 8,65 ($p < 0,001$).

Los resultados estuvieron en concordancia con lo descrito en la literatura: los pacientes mejor nutridos suelen presentar menor inflamación aguda y viceversa, además de poder manejarse mejor el control del HPT2. El control correcto del HPT2, disminuye la resistencia de la EPO y favorece el control óptimo de la anemia (42, 40)

En el estudio genético de polimorfismos no se hallaron diferencias estadísticas en los diferentes modelos de herencia analizados (dominante, codominante, sobredominante y recesivo) en los diferentes genes estudiados en cuanto a respuesta a cinacalcet a los 12 meses de tratamiento, salvo para el SNP rs4588 del gen GC como se explicará a continuación.

2. VALORACION DE LA RESPUESTA A CINACACET SEGÚN SNP ESTUDIADOS.

2.1. GEN CASR

Los sensores de calcio extracelular (CaSR) son receptores acoplados a proteína G que permiten que ante cambios en las concentraciones de Ca^{2+} extracelular, la glándula paratiroidea aumente o disminuya la secreción de PTH (cuando el Ca^{2+} sérico es bajo los CASR no se activan) como ocurre en HPT2 de la ERC.

Al inicio del desarrollo de los calcimiméticos se desconocía si los CaSR presentaban defectos en su funcionamiento en el tejido paratiroideo con HPT2, de manera que éstos fármacos no fueran útiles. Al estudiar el HPT1 e HPT2, se

observó que en las regiones codificantes del gen *CASR* no hay mutaciones que alteren su funcionalidad (106, 135), aunque si se ha descrito y observado que en presencia de tejido adenomatoso o hiperplásico, como puede ocurrir en ERC, puede haber una reducción en el número de CaSR. En este sentido, diferentes estudios han confirmado que la expresión reducida de CaSR en glándulas paratiroides patológicas no las hace insensibles a los compuestos calcimiméticos (136), aunque otros estudios sí encuentran diferencias en cuanto a la respuesta al fármaco (137,138).

Para comprender la variabilidad en la respuesta a cinacalcet también se debe tener en cuenta, entre otros factores, el perfil genético del paciente. Aunque el tratamiento con cinacalcet muestra una considerable variabilidad interindividual, los estudios farmacogenéticos que pretenden correlacionar los polimorfismos del gen *CASR* con la respuesta a cinacalcet han dado lugar a modestas asociaciones (139-141), dificultando la comparación de nuestros resultados y su relevancia clínica.

En nuestra población el análisis de los datos actuales indicó que los polimorfismos del *CASR* estudiados *per se* no mostraron ninguna influencia sobre la respuesta a cinacalcet. El genotipado de los SNP del gen *CASR* (rs1501899; rs1042636; rs1801725; rs1801726; rs7652589) se realizó en los 158 pacientes. No se encontraron diferencias estadísticamente significativas en la distribución de genotipos siguiendo los cuatro modelos de análisis de herencia entre los pacientes respondedores/no respondedores. En cuanto al análisis de haplotipos, aunque se observó que algunos de ellos eran más frecuentes en el grupo respondedor y otros presentaban mayor frecuencia de aparición en el grupo no respondedor, no se observaron diferencias estadísticamente significativas ($p > 0,05$). Consecuentemente, el análisis multivariante no identificó ningún polimorfismo en *CASR* como predictor de los niveles séricos de PTH.

Diferentes autores han planteado la hipótesis de que la variabilidad genética en *CASR* está asociada con fenotipos bioquímicos y clínicos en el HTP2. Entre ellos, destaca el estudio de Moe *et al* (140) que hasta la fecha es el estudio más grande (n=1852) para examinar las variantes del *CASR* y la respuesta a cinacalcet frente a placebo en pacientes en diálisis. El objetivo de este estudio era demostrar

un posible papel de los polimorfismos del *CASR* en la respuesta a cinacalcet, midiendo parámetros bioquímicos y riesgo de fractura a las 20 semanas de tratamiento. En este estudio, solamente el SNP rs9740 mostró una disminución de los niveles Ca^{2+} con el uso de cinacalcet frente a placebo en los homocigotos para el alelo mayoritario A ($p < 0,03$), lo cual sugiere un posible papel de los SNP del gen *CASR* en la respuesta hipocalcemia del cinacalcet.

Varios estudios, entre los que destaca el estudio de Rothe *et al* (141) sobre 17 pacientes asiáticos en HD, han mostrado que la presencia del genotipo GG del SNP rs1042636 del gen *CASR*, influye en la respuesta a cinacalcet en pacientes con HPT2, al inducir hipocalcemia y una mayor reducción de niveles de PTH basal y, por tanto, precisar menos dosis de tratamiento. Este hallazgo ha sido confirmado por Jeong *et al* (142) que incluyeron 70 pacientes en diálisis con HPT2 y niveles de PTH > 300 pg/mL en tratamiento con cinacalcet, e informó que el alelo A del SNP rs1042636 (odds ratio [OR]: 0,066, $P = 0,027$) se asociaba con una disminución del riesgo de falta de respuesta en un 93 % en comparación con el alelo G.

Sin embargo, la heterogeneidad y el pequeño tamaño muestral en estos estudios pueden no ser representativos para establecer una asociación clara. Además, la sensibilidad al cinacalcet en diferentes etnias no se ha evaluado en una población más grande. La gran variabilidad en las dosis de cinacalcet mostrada en estos estudios (141,142) probablemente no pueda explicarse por la sola presencia de alelo R990G (rs1042636, A > G). Nuestros resultados no confirmaron la asociación sugerida entre este SNP y la sensibilidad a cinacalcet, aunque habría que matizar que nuestra cohorte estaba constituida solo por pacientes caucásicos.

Vezzoli *et al*, en varios estudios observaron que los SNP rs7652589 y rs1501899 disminuían la expresión del receptor CaSR (143,144) y además encontraron asociación con HPT1 más severos y con mayor susceptibilidad de nefrolitiasis (145). En función de estos resultados se podría suponer que estos dos polimorfismos podían conllevar menor respuesta a tratamiento con cinacalcet.

Sin embargo, y coincidiendo con nuestros resultados, el estudio de Grzegorzewska *et al* con 1162 pacientes en diálisis y tratados con cinacalcet encontró que los portadores del genotipo AA del rs7652589 se asociaban con

mayores niveles de calcio y PTH con HPT2 más severos, pero sin diferencias significativas (111).

Esta misma autora en un estudio más reciente del 2018 con 1250 sujetos, sugirió que los SNP de rs1801725 y rs7652589 incrementan el riesgo de progresión del HPT2 con mayores niveles de PTH ($p < 0.05$) y que el genotipo heterocigoto AG de ambos, favorece la formación de nefrolitiasis, lo cual podría ser útil para comprender la variabilidad en la respuesta a cinacalcet en pacientes en diálisis (146).

En un estudio más reciente del 2021, Ngamkan *et al* (147), reveló que las probabilidades de que un portador del alelo G del SNP rs1042636 del gen *CASR*, lograra una reducción del 30% de la PTH tras 12 semanas de tratamiento con cinacalcet eran 3,9 veces mayores que las probabilidades de un no portador de dicho alelo y concluyeron que este polimorfismo influía significativamente en la respuesta a cinacalcet en pacientes en HD con HPTS. Sin embargo, este hallazgo no fue confirmado en nuestro estudio, no encontrándose diferencias significativas en ninguno de los modelos de análisis genético y la respuesta a tratamiento con cinacalcet. Quizás el hecho de no confirmar este hallazgo esté en relación nuevamente con el tamaño muestral y/o que nuestra muestra es caucásica, mientras que el estudio de Ngamkan es sobre 135 pacientes tailandeses en HD.

En nuestro estudio, al igual que el estudio de Moe (140), el SNP rs1801726, no se asoció con disminución de niveles de PTH, fósforo y Ca^{2+} en los pacientes en HD que recibieron tratamiento con cinacalcet. Otros estudios en pacientes con HPT1 sí observaron esta asociación (148). Es interesante señalar que el modelo de regresión lineal demostró, junto con la edad, que la albúmina y el calcidiol sérico basales eran predictores independientes de respuesta según niveles de PTH tras 12 meses de tratamiento. Este hecho está en consonancia con la fisiología del HPT2 en la ERC, ya que la hipocalcemia es uno de los trastornos más frecuentes del metabolismo mineral en ERC, siendo una de sus causas más frecuentes la deficiencia de vitamina D, los defectos del CaRS y los niveles de albumina, ya que el 45% del Ca^{2+} extracelular circula unido a albúmina. La concentración inicial de ferritina se situó cercana a la significación. Según el coeficiente R^2 , el modelo, a pesar de ser modesto, es capaz de justificar la variabilidad de los niveles de PTH

en torno al 25%. Sabemos que el hierro participa en el segundo paso de la activación de la vitamina D, necesario para convertirla en hormona funcional. Esta acción se realiza gracias a la 25-hidroxivitamina D-1 α -hidroxilasa renal, que es una enzima compuesta por citocromo P450, ferredoxina y una ferredoxina reductasa (149). Por lo tanto, niveles bajos de hierro pueden comprometer la producción de la forma activa de la vitamina D y secundariamente favorecer el HTP2 (150).

A la luz de nuestros resultados, podemos concluir que no se encontraron diferencias en la respuesta a tratamiento con cinacalcet y los diferentes polimorfismos en *CASR*, analizados. Una disminución de la concentración de PTH sérica en respuesta a la administración de cinacalcet varía entre los pacientes con HD, pero a día de hoy no hay pruebas definitivas que muestren que los polimorfismos en *CASR* tengan un impacto directo en la respuesta a cinacalcet para reducir la PTH.

2.2. GEN VDR:

La pérdida progresiva de la función renal conduce a una reducción de calcitriol y alteración de la homeostasis de calcio, fósforo, FGF-23 y PTH, entre otros, los cuales influyen a su vez sobre la activación del receptor de vitamina D (VDR) y el desarrollo HPTS. El calcitriol inhibe la síntesis y secreción de PTH y de esta manera interviene en la proliferación de las glándulas paratiroides a través del VDR. El calcitriol también modula positivamente la síntesis del VDR ante una disminución en los niveles de calcitriol, y hay una menor cantidad y disponibilidad de VDR, constituyendo uno de los principales factores etiopatogénicos en la etiopatogenia y progresión del HPT2 (119).

En un intento por explicar la complejidad detrás de los mecanismos fisiopatológicos de CKD-MBD, varios investigadores han analizado la relación entre los polimorfismos de *VDR* y el eje calcio/PTH/calcitriol con hallazgos inconsistentes (151-153).

Carling *et al*, fueron los primeros en proponer una relación directa entre los polimorfismos del *VDR* y la función paratiroidea en pacientes con HTP1 (117,124),

mostrando que ciertos genotipos se asociaban con mayores niveles de PTH. A pesar de ello el mismo autor y otros (124, (120) no encontraron asociación en el HPT2.

En 1994, Morrison et al (153) fueron los primeros en informar una asociación entre los polimorfismos de *VDR* y el metabolismo óseo, lo que demuestra que las variantes alélicas comunes en los genes que codifican *VDR* pueden predecir diferencias en la densidad ósea en individuos sanos (153). Posteriormente, varios investigadores han explorado esta relación en poblaciones con ERC con énfasis en el eje calcio/PTH/calcitriol (121,154). Fernandez y colaboradores (121) estudiaron el polimorfismo rs154441 (BsmI) del gen *VDR* y observaron una mayor frecuencia del alelo mayor C entre los pacientes en HD con niveles más bajos de PTH. En consonancia con este estudio, Marco MP y colaboradores (154) también informaron que el genotipo homocigoto mayor (CC) del SNP BsmI, se asocia con niveles más bajos de PTH en HD y mejor respuesta a suplementación con vitamina D que el genotipo homocigoto menor (AA). Hallazgo que también confirma Nagaba y colabores (155) que demostraron que los pacientes en HD con el genotipo homocigoto menor (AA) tenían un HPT2 más grave que los pacientes con el genotipo homocigoto mayor (CC) y menores niveles de calcitriol.

En 2018, Waziri y colaboradores (156) realizaron un estudio muy interesante con el objeto de conocer la influencia de polimorfismos del *VDR* (*BsmI*, *FokI*, *TaqI* y *ApaI*) en el HPT2 y su asociación con la variación de los niveles de Ca/P/25OHD/PTH sobre 156 pacientes en HD entre un grupo de caucásicos y raza negra. En los pacientes en HD, el genotipo CA del SNP *Bsm I*, se asoció significativamente con HPT2 más severo (OR, 2,54; 95 CI 1,08-5,96, $p=0,03$) y con mayores niveles de PTH. Este genotipo CA, también era más frecuente en los negros que en los blancos (71,0% frente a 55,6%, $p<0,0001$).

Otros estudios han encontrado la asociación inversa como Torres y colaboradores (157). Sin embargo, un gran número de estudios no han encontrado diferencias significativas en los niveles de PTH entre los distintos genotipos *Bsm I* (122,158-160) y tampoco diferencias en los niveles de calcitriol, como el estudio de Chudek *et al* (152) que informaron niveles significativamente más bajos de calcitriol en pacientes con genotipo CC del polimorfismo rs154441 (BsmI).

Hay que señalar que la distribución de los genotipos de *Bsm I* varía mucho entre los grupos étnicos, lo que dificulta las comparaciones de los estudios. Debemos resaltar que los mecanismos moleculares por los cuales los polimorfismos *BsmI* del *VDR* influyen en el HPT2 se han relacionado con la presencia de alelos variante menos frecuente (A). Los pacientes con genotipos homocigoto mayor (CC) son menos susceptibles a tener 1α -hidroxilasa reducida en comparación con los pacientes con genotipos homocigoto menor AA. Por lo tanto, es menos probable que los pacientes con alelos A tengan los niveles óptimos de calcitriol necesarios para inhibir la secreción de PTH y la proliferación de células paratiroides.

En nuestro trabajo, el genotipo heterocigoto CA, presentó mayor porcentaje de respuesta a cinacalcet, pero no hubo diferencias estadísticamente significativas ($p=0,3$) entre los diferentes genotipos.

De manera similar, algunos estudios han relacionado otros polimorfismos de *VDR* con el metabolismo óseo mineral en pacientes en HD. Gago *et al* (123) estudiaron la asociación del polimorfismo rs2228570 (FokI) del *VDR* con los niveles séricos de PTH en pacientes con ERC y descubrieron que el genotipo homocigoto mayor (AA), estaba asociado con mayores niveles de PTH en pacientes españoles con ERC ($p<0.05$), hallazgo que también encontramos en este trabajo pero sin diferencias en la respuesta a cinacalcet entre los distintos genotipos ($p=0,83$).

A pesar de ello, Álvarez *et al* (160) no confirmaron este hallazgo. Crearon un sistema de cultivo *in vitro* de glándulas paratiroides con el fin de estudiar el efecto de los polimorfismos genéticos del *VDR* sobre la respuesta al calcitriol. Estos autores encontraron niveles menores de *VDR* en la paratiroides de los individuos portadores de genotipo homocigoto menos frecuente del SNP rs2228570 (FokI), lo cual podría contribuir a una peor respuesta al calcitriol y por lo tanto favorecer niveles séricos más elevados de PTH.

Un gran estudio GWAS del 2010 reveló una asociación significativa de algunas variantes genéticas con niveles de 25(OH)D (127) y encontró un mayor riesgo de desarrollar una deficiencia grave de vitamina D con el genotipo heterocigoto y homocigoto del alelo menos frecuente del SNP rs2228570 (Fok) sin

encontrar diferencias significativas en los niveles de vitamina D entre los otros SNP del *VDR* y, por lo tanto, el genotipo heterocigoto podría estar expuesto a mayores niveles de PTH. Este hallazgo fue confirmado por Waziri y colaboradores (156) que encontraron que el genotipo heterocigoto del del SNP FokI estaba significativamente asociado con el riesgo de desarrollar una deficiencia severa de vitamina D (< 15 ng/ml) (OR: 1,89; 95 CI: 1,17-3,07; $p=0,01$).

La asociación del polimorfismo rs7975232 (ApaI) del gen *VDR* con el metabolismo óseo y mineral también se ha estudiado en pacientes en HD. Yokoyama et al (122) estudiaron 129 pacientes japoneses y encontraron que el polimorfismo ApaI muestra una asociación negativa con la progresión del HPT2. Los niveles de PTH en el grupo aa fue casi el doble de los de los grupos AA y Aa ($p\leq 0,04$). Hallazgo que no se confirma en nuestro estudio, ($p=0,4$).

En un estudio del 2020 también se hallaron resultados similares con respecto al SNP ApaI del *VDR* (161) sobre 65 sujetos sanos tras dar dosis de cinacalcet. La disminución de PTH fue menor en los portadores del genotipo homocigoto menor en comparación con los heterocigotos o portadores del genotipo homocigoto mayor, pero sin encontrar diferencias estadísticas. Este hallazgo también se confirma en nuestro estudio: el genotipo menor homocigoto (CC) tiene mayores niveles de PTH, sin diferencias entre los que responden o no a cinacalcet. Igualmente, Korucu y colaboradores (162) investigaron la relación entre los SNP del *VDR* y las enfermedades óseas sobre 234 receptores de trasplante renal y observaron que los portadores del alelo menos frecuente del SNP rs7975232 (ApaI) tenían mayor riesgo de HPT persistente con $p<0,001$. Como se ha observado, en nuestro estudio, el alelo C, menos frecuente y los genotipos AC y CC tienen niveles de PTH más elevados, pero sin encontrar diferencias significativas y señalar que este es un estudio en población trasplantada que tiene características óseas y metabólicas diferentes.

Estos hallazgos no fueron confirmados por Jeong *et al* en 2016 (142). Estudiaron polimorfismos de diferentes genes y su respuesta a tratamiento con cinacalcet en una muestra de 70 pacientes en diálisis. Se analizó la respuesta a cinacalcet de los SNP rs7975232 (ApaI); rs2228570 (FokI); rs1544410 (BsmI) del gen *VDR* y no encontraron diferencias significativas en respuesta a PTH en

pacientes en diálisis en tratamiento con cinacalcet. Estos resultados se encuentran en consonancia con nuestros resultados.

En un metaanálisis recientemente publicado (163), se evaluó la respuesta a la suplementación con vitamina D según los polimorfismos BsmI, TaqI, ApaI y FokI del *VDR* en población sana. Los resultados mostraron que el alelo variante menos frecuente del polimorfismo rs731236 (TaqI) y el genotipo homocigoto mayor del rs2228570 (FokI) se asociaron con una mejor respuesta a la suplementación con vitamina D. Los polimorfismos BsmI (rs1544410) y ApaI (rs rs7975232) no se asociaron con la respuesta a la suplementación con vitamina D, sin encontrar diferencias en los niveles de calcidiol. Nuestros pacientes estaban suplementados con análogos activos de vitamina D y no se encontraron diferencias en los niveles de calcidiol entre los diferentes genotipos y alelos de los SNP del *VDR* estudiado que pudieran justificar niveles de PTH más elevados o diferencias en la respuesta a cinacalcet (164).

A la vista de la revisión de todos los estudios, se deben realizar más investigaciones con muestras mucho más amplias y sobre población en diálisis para mejorar la comprensión del papel de los polimorfismos del gen *VDR* en la modulación de la respuesta a la suplementación con vitamina D y cinacalcet, y valorar su posible valor clínico en este tipo de pacientes.

2.3. GEN GC

El calcitriol sintetizado en el riñón por la 1α -hidroxilasa mitocondrial es transportado en la sangre principalmente por la proteína transportadora de vitamina D (DBP) aunque también se une a albúmina y lipoproteínas (165).

El 1,25-dihidroxicolecalciferol (1-25OHD), es la forma activa de la vitamina D, es uno de los factores reguladores de los niveles de PTH y su deficiencia es en la ERC avanzada. En los pacientes en diálisis, la suplementación con vitamina D no siempre es útil para alcanzar los niveles de PTH recomendados (KDIGO). La vitamina D y todos sus metabolitos se unen a una proteína específica de unión a la vitamina D (DBP) [12].

Varios estudios han demostrado que los polimorfismos rs7041 y rs4588 se asocian con niveles plasmáticos más bajos de 25OHD (166).

Dado el papel predominante de la PTH en la interacción entre la vitamina D y el metabolismo del calcio, la contribución poco explicada de la genética en la respuesta interindividual a cinacalcet y la naturaleza polimórfica de GC, en nuestro trabajo, nos propusimos determinar si los polimorfismos de GC influían en la respuesta a cinacalcet en pacientes en diálisis, encontrando hallazgos estadísticamente significativos que han sido recientemente publicados (164). Al analizar los polimorfismos de GC (rs4588, rs7041), no se encontraron diferencias significativas en el análisis de polimorfismos simple o múltiple (desequilibrio de ligamiento y análisis de haplotipos). Por el contrario, la variante T436K (también conocida como Gc2) del polimorfismo GC rs4588 mostró una asociación con una peor respuesta al tratamiento con cinacalcet en el modelo codominante, dominante y sobredominante, y el mejor ajuste se obtuvo en el modelo dominante (G/T-T/T; odds ratio (OR)=0,17; intervalo de confianza (IC) del 95% 0,08-0,36) con criterio de Akaike (AIC) de 181,6; $p < 0,0001$. Para rs7041 se observó una asociación con una peor respuesta al tratamiento con cinacalcet en los mismos modelos, con el mejor ajuste logrado en el modelo sobredominante (A/C; OR = 0,38; 95% CI 0,19-0,77). La asociación del haplotipo con la respuesta al tratamiento con cinacalcet se observó para el rs4588-T/rs7041-C (frecuencia = 26%; OR = 0,35; IC 95% 0,19-0,67; $p=0,0016$). Además, al realizar el análisis multivariante, se obtuvo que el polimorfismo rs4588, junto con albúmina, 25OHD y ferritina, eran predictores independientes de la concentración sérica de PTH [coeficientes B para portadores heterocigotos y homocigotos T/T; 166,9 ($p < 0,001$) y 173,1 ($p=0,014$), respectivamente]. Como se esperaba, aunque la dosis inicial de cinacalcet fue la misma en todos los pacientes (30 mg/día), los pacientes que no respondieron a la dosis inicial necesitaron dosis mayor que los respondedores para reducir los niveles de PTH. Este hallazgo plantea la posibilidad de que el efecto de cinacalcet sobre la PTH podría estar determinado genéticamente por el transporte y el metabolismo de la vitamina D, ya que independientemente del genotipo, el tratamiento con cinacalcet reduce la concentración de PTH y también sugiere que el alelo T confiere resistencia a cinacalcet de forma dominante, ya que antes de su tratamiento el alelo T no mostraba niveles de PTH más altos que los portadores del alelo G. En estudio

previos, el genotipo TT del rs4588 fue asociado con los niveles más bajos de 25OHD y DBP (166- 171).

Nuestro estudio demostró, por primera vez, que los portadores del alelo T tenían peor respuesta a tratamiento con cinacalcet y niveles más bajos de calcidiol ($p=0,0097$). Previamente, Al-Daghri y colaboradores (139) documentaron en una población árabe homogénea que los portadores del alelo T del SNPs rs4588 y el alelo G del rs7041, mostraban niveles basales más bajos de 25OHD y menor aumento de la misma, tras la suplementación con vitamina D. Esto sugiere que puede ser necesaria una dosis más alta de vitamina D para alcanzar niveles suficientes en los pacientes portadores de estas variantes.

Peršić V y colaboradores en un estudio del 2019 (169) estudiaron si los SNP rs4588 y rs7041 guardaban relación con enfermedad coronaria en 155 sujetos que habían sufrido un infarto de miocardio y si este hecho se podía correlacionar con los niveles séricos de 25OHD. Encontraron asociación del genotipo GC (rs4588) T/T con pacientes con enfermedad coronaria y una correlación del genotipo GC (rs4588) G/G con niveles más altos de vitamina D total, pero no se observó ninguna correlación de los niveles séricos de 25OHD y enfermedad coronaria.

En un estudio de este año (170) se investigó el papel de los SNP rs4588 y el rs7041 del GC y su relación con determinadas enfermedades como la obesidad, la diabetes mellitus, la tuberculosis, la enfermedad pulmonar obstructiva crónica, entre otras y se encontraron que diferentes genotipos de estos SNP se asociaban con el desarrollo de determinadas enfermedades, pero sin diferencias significativas y sin poder explicar el mecanismo subyacente.

Para comprender si el papel farmacogenético del rs4588/rs7041 afecta a la respuesta al tratamiento con cinacalcet o a cinacalcet más vitamina D, o si pueden influir en el desarrollo de determinadas enfermedades, será necesario realizar más estudios que puedan validar dicha asociación. Nuestro trabajo posee limitaciones, como el pequeño tamaño muestral o la falta de evaluación de los niveles circulantes de DBP y su relación con los polimorfismos del gen GC.

La asociación descrita aquí, si se validase, podría explicar en parte las diferencias interindividuales en la respuesta al tratamiento con cinacalcet en pacientes con HPTS en HD y puede ser útil para detectar aquellos pacientes que podrían presentar resistencia a cinacalcet y optimizar previamente el ajuste de dosis.

2.4. Genes del citocromo P450

Cinacalcet se metaboliza ampliamente por múltiples enzimas hepáticas del citocromo P450 (CYP) (principalmente 3A4, 2D6 y 1A2) y menos del 1% es excretado en la orina (142,171). Diversos fármacos pueden inhibir al CYP3A4 (por ejemplo, ketoconazol, eritromicina, itraconazol) y precisar un ajuste de las dosis de cinacalcet. A la vez, cinacalcet es un fuerte inhibidor del CYP2D6; por lo tanto, el ajuste de la dosis de los medicamentos concomitantes que se metabolizan predominantemente esta enzima (por ejemplo, flecainida, vinblastina, tioridazina y la mayoría de los antidepresivos tricíclicos) precisarán de ajuste de dosis (172-174). Cinacalcet no inhibe ni induce de forma apreciable las actividades de CYP3A4 y 1A2 (174).

Una revisión del 2019 (175) refirió que se podría emplear el conocimiento sobre los sustratos, inductores e inhibidores de las isoformas de CYP, así como los polimorfismos de las enzimas de CYP, como ayuda para determinar la estrategia terapéutica y las dosis de tratamiento para los fármacos que son metabolizados por los productos de los CYP, pero numerosos estudios han indicado que no hay suficientes pruebas biológicas y evidencias clínicas para recomendar el genotipado individual preventivo de CYP antes del tratamiento farmacológico. Sin embargo, en raras ocasiones, la detección de mutaciones deletéreas contribuye a la explicación post hoc de efectos adversos o de una farmacocinética inusual que son de importancia para el futuro tratamiento farmacológico individual (176).

Robinson-Cohen y su equipo (177) demostraron en un meta-análisis sobre 27.561 individuos de 13 estudios de cohortes que el alelo T del rs6127099 del CYP24A1, está asociado con mayores concentraciones séricas de PTH, lo que sugiere que los portadores del alelo T pueden conferir un aumento de la actividad del CYP24A1, que participa en el catabolismo del 1,25(OH)₂D y al disminuir de manera más acelerada los niveles de vitamina D, causar un aumento de los niveles de PTH. En

nuestro trabajo en el SNP del CYP 450 24A1 (gen *CYP24A1*), no encontramos diferencias en los niveles de PTH entre los distintos genotipos y alelos en nuestros pacientes tratados con cinacalcet, si bien es cierto que el SNP estudiado no fue en concreto el rs6127099.

En cuanto al estudio del genotipado de los SNP del CYP 450 y su influencia sobre la respuesta a cinacalcet, no existen apenas estudios en la literatura, y únicamente Liu Yj y colaboradores (161) diseñaron un estudio para explorar el efecto de los SNP de CYP3A4, CYP1A2 y CYP2D6 sobre la farmacodinámica y la farmacocinética de cinacalcet en 65 sujetos chinos sanos. Concluyeron que los sujetos portadores del alelo T del CYP3A4 rs4646437 parecía metabolizar peor el cinacalcet, aumentando la vida media del fármaco ($p < 0,0001$), pero no encontraron ninguna diferencia en el resto de los SNP del CYP estudiados.

En el presente trabajo no se encontraron diferencias en las frecuencias de los genotipos, alelos y haplotipos de los SNP de los CYP 450 estudiados (rs762551, rs2740574, rs35742686 y rs3892097). Tampoco se encontraron diferencias en los niveles de PTH a los 12 meses de tratamiento con cinacalcet, por lo que, en nuestro estudio, los SNP del CYP 450 no influyeron en la respuesta a cinacalcet.

VII. CONCLUSIONES

VII. CONCLUSIONES

La variabilidad interindividual en la respuesta de los pacientes a los fármacos es un tema muy estudiado, en el cual intervienen muchas variables y sus mecanismos son complejos y siguen requiriendo grandes esfuerzos en investigación. El futuro de los tratamientos pasa por establecer diferentes estrategias para proporcionar una atención personalizada y así mejorar la calidad de vida de nuestros pacientes en diálisis. Un grupo formado por 158 pacientes en HD con HPT2 en tratamiento con cinacalcet durante un año fueron estudiados para valorar la respuesta a dicho fármaco según niveles de PTH y si esta respuesta estaba influenciada por la variabilidad genética de los SNP de los genes *CASR*, *VDR*, *GC* y del CYP 450.

A la luz de nuestros resultados, podemos concluir que no hemos encontrado diferencias en la respuesta de cinacalcet y los diferentes polimorfismos del gen *CASR*, *VDR* y genes del CYP 450, analizados, exceptuando el alelo T del SNP rs4588 del gen *GC* que mostró asociación con una peor respuesta al tratamiento con cinacalcet. Este hallazgo plantea la posibilidad de que el efecto de cinacalcet sobre la PTH podría estar determinado genéticamente por el transporte y el metabolismo de la vitamina D, ya que independientemente del el genotipo, el tratamiento con cinacalcet reduce la concentración de PTH y también sugiere que el alelo T confiere resistencia a cinacalcet de forma dominante, ya que antes de su tratamiento el alelo T no mostraba niveles de PTH más altos que los portadores del alelo G. Asimismo, se ha documentado en la bibliografía que los pacientes portadores del alelo T tienen niveles más bajos e 25OHD. Este trabajo tiene algunas limitaciones, como el pequeño tamaño de la muestra, la falta de evaluación de los niveles circulantes de proteína de unión a la vitamina D y el papel de estos niveles y su posible relación con los polimorfismos del *GC*.

Por tanto, se concluye que la disminución de la concentración de PTH sérica en respuesta a la administración de cinacalcet varía entre los pacientes con HD, pero a día de hoy no hay pruebas definitivas que muestren que los polimorfismos de dichos genes tengan un impacto directo en la respuesta a cinacalcet para reducir la PTH y, por tanto, la variabilidad en la respuesta a

cinacalcet, no puede ser explicada únicamente por la presencia de determinados polimorfismos. Se hacen necesarios más estudios que validen nuestros hallazgos y así detectar aquellos pacientes, portadores del alelo T del rs4588, que pueden tener resistencia a cinacalcet y optimizar el ajuste de dosis.

VIII. BIBLIOGRAFIA

VIII. BIBLIOGRAFIA.

1. Gorostidi M, Sánchez-Martínez M, Ruilope LM, Graciani A, de la Cruz JJ, Santamaría R, et al. Chronic kidney disease in Spain: Prevalence and impact of accumulation of cardiovascular risk factors. *Nefrologia*. 2018;38(6):606–15.
2. de Francisco ALM. Sostenibilidad y equidad del tratamiento sustitutivo de la función renal en España. *Nefrologia*. 2011;31(3):241–6.
3. Llisterri JL, Micó-Pérez RM, Velilla-Zancada S, Rodríguez-Roca GC, Prieto-Díaz MA, Martín-Sánchez V, et al. Prevalence of chronic kidney disease and associated factors in the Spanish population attended in primary care: Results of the IBERICAN study. *Med Clin (Barc)*. 2021;156(4):157–65.
4. González AO, de Francisco A, Gayoso P, García F. Prevalence of chronic renal disease in Spain: Results of the EPIRCE study. *Nefrologia*. 2010;30(1):78–86.
5. Bellorin-Font E, Ambrosoni P, Carlini RG, Carvalho AB, Correa-Rotter R, Cueto-Manzano A, et al. Clinical practice guidelines for the prevention, diagnosis, evaluation and treatment of mineral and bone disorders in chronic kidney disease (CKD-MBD) in adults. *Nefrologia*. 2013;33 Suppl 1:1–28.
6. KDIGO 2017 Clinical Practice Guideline Update for the Diagnosis, Evaluation, Prevention, and Treatment of Chronic Kidney Disease–Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl*. 2017;7(1):1–59.
7. Torregrosa JV, Bover J, Andía JC, Lorenzo V, de Francisco ÁLM, Martínez I, et al. Recommendations of the Spanish Society of Nephrology for managing bone-mineral metabolic alterations in chronic kidney disease patients (S.S.N.-MM). *Nefrologia*. 2011;31(SUPPL.1):3–32.
8. Block GA, Martin KJ, de Francisco ALM, Turner SA, Avram MM, Suranyi MG, et al. Cinacalcet for Secondary Hyperparathyroidism in Patients Receiving Hemodialysis. *N Engl J Med*. 2004;350(15):1516–25.
9. Contreras F, Espinosa JC, Esguerra GA. Calidad de vida, autoeficacia, estrategias de afrontamiento y adhesión al tratamiento en pacientes con insuficiencia renal crónica sometidos a hemodiálisis. *Psicol y Salud [Internet]*. 2013;18(2):165–79. Available from: <http://revistas.uv.mx/index.php/psicysalud/article/view/659>
10. Chemello C. Atención farmacéutica al paciente con insuficiencia renal crónica: seguimiento farmacoterapéutico y farmacogenética. Granada: Universidad de Granada; 2011.
11. García-Maset R, Bover J, de la Morena JS, Diezhandino MG, del Hoyo JC, San Martín JE, et al. Documento de información y consenso para la detección y manejo de la enfermedad renal crónica. *Nefrologia*. 2021;
12. Andrassy KM. Comments on “KDIGO 2012 clinical practice guideline for the evaluation and management of chronic kidney disease.” *Kidney Int*. 2013;84(3):622–3.
13. Hallan SI, Ritz E, Lydersen S, Romundstad S, Kvenild K, Orth SR. Combining GFR and albuminuria to classify CKD improves prediction of ESRD. *J Am Soc Nephrol*. 2009;20(5):1069–77.
14. Matsushita K, van der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS, de

- Jong PE, et al. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet*. 2010;375(9731):2073–81.
15. Van Der Velde M, Matsushita K, Coresh J, Astor BC, Woodward M, Levey A, et al. Lower estimated glomerular filtration rate and higher albuminuria are associated with all-cause and cardiovascular mortality. A collaborative meta-analysis of high-risk population cohorts. *Kidney Int*. 2011;79(12):1341–52.
 16. Gansevoort RT, Matsushita K, Van Der Velde M, Astor BC, Woodward M, Levey AS, et al. Lower estimated GFR and higher albuminuria are associated with adverse kidney outcomes. A collaborative meta-analysis of general and high-risk population cohorts. *Kidney Int*. 2011;80(1):93–104.
 17. Levey AS, Bosch JP, Lewis JB, Greene T, Rogers N, Roth D. A more accurate method to estimate glomerular filtration rate from serum creatinine: A new prediction equation. *Ann Intern Med*. 1999;130(6):461–70.
 18. Tangri N, Stevens LA, Griffith J, Tighiouart H, Djurdjev O, Naimark D, et al. A predictive model for progression of chronic kidney disease to kidney failure. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2011;305(15):1553–9.
 19. Brenner BM. Retarding the progression of renal disease. *Kidney Int*. 2003;64(1):370–8.
 20. McClellan WM, Flanders WD. Risk factors for progressive chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2003;14(SUPPL. 2).
 21. Walther CP, Winkelmayer WC, Navaneethan SD. Updated US Prevalence Estimates for Chronic Kidney Disease Stage and Complications Using the New Race-Free Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *JAMA Netw Open*. 2022;E220460.
 22. Gerstein HC, Mann JFE, Yi Q, Zinman B, Dinneen SF, Hoogwerf B, et al. Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals. *J Am Med Assoc*. 2001;286(4):421–6.
 23. Hallan SI, Dahl K, Oien CM, Grootendorst DC, Aasberg A, Holmen J, et al. Screening strategies for chronic kidney disease in the general population: Follow-up of cross sectional health survey. *Br Med J*. 2006;333(7577):1047–50.
 24. Pugh D, Gallacher PJ, Dhaun N. Management of Hypertension in Chronic Kidney Disease. *Drugs*. 2019;79(4):365–79.
 25. Williams B, Mancia G, Spiering W, Rosei EA, Azizi M, Burnier M, et al. 2018 ESC/ESH Guidelines for the management of arterial hypertension. *J Hypertens*. 2018;36(10):1956–2041.
 26. Arjunan A, Jeelani MS, Docherty S, Taylor J. Chronic kidney disease referrals from general practitioners pre- And post National Institute for Health and Care Excellence guidance 2014. *Clin Med J R Coll Physicians London*. 2019;19(6):490–3.
 27. Cheung AK, Chang TI, Cushman WC, Furth SL, Hou FF, Ix JH, et al. KDIGO 2021 Clinical Practice Guideline for the Management of Blood Pressure in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int*. 2021;99(3):S1–S87.
 28. KDIGO 2020 Clinical Practice Guideline for Diabetes Management in Chronic Kidney Disease. *Kidney Int*. 2020;98(4):S1–S115.
 29. Mach F, Baigent C, Catapano AL, Koskinas KC, Casula M, Badimon L, et al.

- 2019 ESC/EAS Guidelines for the management of dyslipidaemias: Lipid modification to reduce cardiovascular risk. *Eur Heart J*. 2020;41(1):111–88.
30. Johnson RJ, Nakagawa T, Jalal D, Sánchez-Lozada LG, Kang DH, Ritz E. Uric acid and chronic kidney disease: Which is chasing which? *Nephrol Dial Transplant*. 2013;28(9):2221–8.
31. Gogusev J, Duchambon P, Hory B, Giovannini M, Goureau Y, Sarfati E, et al. Depressed expression of calcium receptor in parathyroid gland tissue of patients with hyperparathyroidism. *Kidney Int*. 1997;51(1):328–36.
32. van Manen JG, van Dijk PCW, Stel VS, Dekker FW, Clèries M, Conte F, et al. Confounding effect of comorbidity in survival studies in patients on renal replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant* [Internet]. 2007 Jan;22(1):187–95. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16998216>
33. Bell R, Farid S, Pandanaboyana S, Upasani V, Baker R, Ahmad N. The evolution of donation after circulatory death renal transplantation: A decade of experience. *Nephrol Dial Transplant*. 2019;34(10):1788–98.
34. Cases A, Egocheaga MI, Tranche S, Pallarés V, Ojeda R, Górriz JL, et al. Anemia of chronic kidney disease: Protocol of study, management and referral to Nephrology. *Nefrología*. 2018;38(1):8–12.
35. Lim K, Lu TS, Molostvov G, Lee C, Lam FT, Zehnder D, et al. Vascular klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23. *Circulation*. 2012;125(18):2243–55.
36. Salanova Villanueva L, Sánchez González C, Sánchez Tomero JA, Aguilera A, Ortega Junco E. Enfermedad óseo mineral relacionada con la enfermedad renal crónica: Klotho y FGF23; implicaciones cardiovasculares. *Nefrología*. 2016;36(4):368–75.
37. Hu MC, Shi M, Zhang J, Quiñones H, Griffith C, Kuro-o M, et al. Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2011;22(1):124–36.
38. Shimamura Y, Hamada K, Inoue K, Ogata K, Ishihara M, Kagawa T, et al. Serum levels of soluble secreted a-Klotho are decreased in the early stages of chronic kidney disease, making it a probable novel biomarker for early diagnosis. *Clin Exp Nephrol*. 2012;16(5):722–9.
39. Ganesh SK, Stack AG, Levin NW, Hulbert-Shearon T, Port FK. Association of elevated serum PO₄, Ca × PO₄ product, and parathyroid hormone with cardiac mortality risk in chronic hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol*. 2001;12(10):2131–8.
40. Block GA CJ. Morbidity and mortality associated with abnormalities in bone and mineral metabolism in CKD. *Natl Kidney Found*. 2006;77–92.
41. Rodríguez-Benot A, Martín-Malo A, Álvarez-Lara MA, Rodríguez M, Aljama P. Mild hyperphosphatemia and mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 2005;46(1):68–77.
42. Stevens LA, Djurdjev O, Cardew S, Cameron EC, Levin A. Calcium, Phosphate, and Parathyroid Hormone Levels in Combination and as a Function of Dialysis Duration Predict Mortality: Evidence for the Complexity of the Association between Mineral Metabolism and Outcomes. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(3):770–9.
43. Slinin Y, Foley RN, Collins AJ. Calcium, phosphorus, parathyroid

- hormone, and cardiovascular disease in hemodialysis patients: The USRDS waves 1, 3, and 4 study. *J Am Soc Nephrol*. 2005;16(6):1788–93.
44. Palmer SC, Hayen A, Macaskill P, Pellegrini F, Craig JC, Elder GJ, et al. Serum levels of phosphorus, parathyroid hormone, and calcium and risks of death and cardiovascular disease in individuals with chronic kidney disease a systematic review and meta-analysis. *JAMA - J Am Med Assoc*. 2011;305(11):1119–27.
 45. Dror Y, Givon SM, Hoshen M, Feldhamer I, Balicer RD, Feldman BS. Vitamin D levels for preventing acute coronary syndrome and mortality: Evidence of a nonlinear association. *J Clin Endocrinol Metab*. 2013;98(5):2160–7.
 46. Wolf M, Shah A, Gutierrez O, Ankers E, Monroy M, Tamez H, et al. Vitamin D levels and early mortality among incident hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2007;72(8):1004–13.
 47. Haarhaus M, Brandenburg V, Kalantar-Zadeh K, Stenvinkel P, Magnusson P. Alkaline phosphatase: A novel treatment target for cardiovascular disease in CKD. *Nat Rev Nephrol*. 2017;13(7):429–42.
 48. Pérez-Gómez MV, Ortiz-Ardúan A, Lorenzo-Sellares V. Vitamin D and proteinuria: a critical review of molecular bases and clinical experience. *Nefrología* [Internet]. 2013;33(5):716–26. Available from: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24089164>
 49. Kauppila LI, Polak JF, Cupples LA, Hannan MT, Kiel DP, Wilson PWF. New indices to classify location, severity and progression of calcific lesions in the abdominal aorta: A 25-year follow-up study. *Atherosclerosis*. 1997;132(2):245–50.
 50. Adragão T, Pires A, Birne R, Curto JD, Lucas C, Gonçalves M, et al. A plain X-ray vascular calcification score is associated with arterial stiffness and mortality in dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2009;24(3):997–1002.
 51. Torres PU, Bover J, Mazzaferro S, de Vernejoul MC, Cohen-Solal M. When, How, and Why a Bone Biopsy Should Be Performed in Patients With Chronic Kidney Disease. *Semin Nephrol*. 2014;34(6):612–25.
 52. Vervloet MG, Sezer S, Massy ZA, Johansson L, Cozzolino M, Fouque D. The role of phosphate in kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. 2017;13(1):27–38.
 53. Maduell F, Navarro V, Torregrosa E, Rius A, Dicenta F, Cruz MC, et al. Change from three times a week on-line hemodiafiltration to short daily on-line hemodiafiltration. *Kidney Int*. 2003;64(1):305–13.
 54. Copland M, Komenda P, Weinhandl ED, McCullough PA, Morfin JA. Intensive Hemodialysis, Mineral and Bone Disorder, and Phosphate Binder Use. *Am J Kidney Dis*. 2016;68(5):S24–S32.
 55. Chen J, Jia X, Kong X, Wang Z, Cui M, Xu D. Total parathyroidectomy with autotransplantation versus subtotal parathyroidectomy for renal hyperparathyroidism: A systematic review and meta-analysis. *Nephrology*. 2017;22(5):388–96.
 56. Torres PAU, Bover J, Cohen-Solal M. Etelcalcetide: Injectable calcimimetic for the treatment of secondary hyperparathyroidism in hemodialysis-dependent patients. *Drugs of Today*. 2017;53(9):489–500.
 57. Pilz S, Iodice S, Zittermann A, Grant WB, Gandini S. Vitamin D status and

- mortality risk in CKD: A meta-analysis of prospective studies. *Am J Kidney Dis.* 2011;58(3):374–82.
58. 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.
 59. Jean G, Souberbielle JC, Chazot C. Vitamin D in chronic kidney disease and dialysis patients. *Nutrients.* 2017;9(4).
 60. Block GA, Bone HG, Fang L, Lee E, Padhi D. A single-dose study of denosumab in patients with various degrees of renal impairment. *J Bone Miner Res.* 2012;27(7):1471–9.
 61. Melamed ML, Michos ED, Post W, Astor B. 25-hydroxyvitamin D levels and the risk of mortality in the general population. *Arch Intern Med.* 2008;168(15):1629–37.
 62. Daugirdas JT, Finn WF, Emmett M, Chertow GM. The Phosphate Binder Equivalent Dose. *Semin Dial.* 2011;24(1):41–9.
 63. Cannata-Andía JB, Fernández-Martín JL, Locatelli F, London G, Gorriz JL, Floege J, et al. Use of phosphate-binding agents is associated with a lower risk of mortality. *Kidney Int.* 2013;84(5):998–1008.
 64. Suki WN, Zabaneh R, Cangiano JL, Reed J, Fischer D, Garrett L, et al. Effects of sevelamer and calcium-based phosphate binders on mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2007;72(9):1130–7.
 65. Guo H, Zhang X, Tang S, Zhang S. Effects and safety of lanthanum carbonate in end stage renal disease patients with hyperphosphatemia: A meta-analysis-system review of lanthanum carbonate. *Ren Fail.* 2013;35(10):1455–64.
 66. Jamal SA, Fitchett D, Lok CE, Mendelssohn DC, Tsuyuki RT. The effects of calcium-based versus non-calcium-based phosphate binders on mortality among patients with chronic kidney disease: A meta-analysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2009;24(10):3168–74.
 67. Gil Á, Plaza-Díaz J, Mesa MD. Vitamin D: Classic and Novel Actions. *Ann Nutr Metab.* 2018;72(2):87–95.
 68. Arenas Jiménez MD, Muray S, Amoedo ML, Egea JJ, Millán I, Gil MT. Estudio comparativo a largo plazo entre calcitriol y alfacalcidol en pacientes con hiperparatiroidismo secundario en hemodiálisis. *Nefrología.* 2006;26(2):226–33.
 69. Cozzolino M, Bruschetta E, Stucchi A, Ronco C, Cusi D. Role of Vitamin D Receptor Activators in Cardio-Renal Syndromes. *Semin Nephrol.* 2012;32(1):63–9.
 70. Egado J, Martínez-Castelao A, Bover J, Praga M, Torregrosa JV, Fernández-Giráldez E, et al. Efectos pleiotrópicos del paricalcitol, más allá del metabolismo óseo-mineral. *Nefrología.* 2016;36(1):10–8.
 71. De Zeeuw D, Agarwal R, Amdahl M, Audhya P, Coyne D, Garimella T, et al. Selective vitamin D receptor activation with paricalcitol for reduction of albuminuria in patients with type 2 diabetes (VITAL study): A randomised controlled trial. *Lancet.* 2010;376(9752):1543–51.
 72. 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.
73. Valdivielso JM, Cannata-Andía J, Coll B, Fernández E. A new role for vitamin D receptor activation in chronic kidney disease. *Am J Physiol - Ren Physiol.* 2009;297(6).
 74. Rodríguez M, Martínez-Moreno JM, Rodríguez-Ortiz ME, Muñoz-Castañeda JR, Almaden Y. Vitamin D and vascular calcification in chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res.* 2011;34(4):261–8.
 75. Martínez-Moreno JM, Muñoz-Castañeda JR, Herencia C, de Oca AM, Estepa JC, Canalejo R, et al. In vascular smooth muscle cells paricalcitol prevents phosphate-induced Wnt/ β -catenin activation. *Am J Physiol - Ren Physiol.* 2012;303(8).
 76. Coen G. Calcimimetics, parathyroid hormone, and vascular calcification in chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2008;74(10):1229–31.
 77. Cunningham J, Danese M, Olson K, Klassen P, Chertow GM. Effects of the calcimimetic cinacalcet HCl on cardiovascular disease, fracture, and health-related quality of life in secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int.* 2005;68(4):1793–800.
 78. Lindberg JS. Calcimimetics: A new tool for management of hyperparathyroidism and renal osteodystrophy in patients with chronic kidney disease. *Kidney Int Suppl.* 2005;67(95).
 79. Nemeth EF, Bennett SA. Tricking the parathyroid gland with novel calcimimetic agents. *Nephrol Dial Transplant.* 1998;13(8):1923–5.
 80. Block GA, Bushinsky DA, Cheng S, Cunningham J, Dehmel B, Drueke TB, et al. Effect of etelcalcetide vs cinacalcet on serum parathyroid hormone in patients receiving hemodialysis with secondary hyperparathyroidism: A randomized clinical trial. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2017;317(2):156–64.
 81. Block GA, Bushinsky DA, Cunningham J, Drueke TB, Ketteler M, Kewalramani R, et al. Effect of etelcalcetide vs placebo on serum parathyroid hormone in patients receiving hemodialysis with secondary hyperparathyroidism: Two randomized clinical trials. *JAMA - J Am Med Assoc.* 2017;317(2):146–55.
 82. Arenas MD, De La Fuente V, Delgado P, Gil MT, Gutiérrez P, Ribero J, et al. Pharmacodynamics of cinacalcet over 48 hours in patients with controlled secondary hyperparathyroidism: Useful data in clinical practice. *J Clin Endocrinol Metab.* 2013;98(4):1718–25.
 83. Torregrosa J V, Morales E, Díaz JM, Crespo J, Bravo J, Gómez G, et al. Cinacalcet en el manejo del hiperparatiroidismo secundario normocalcémico tras el trasplante renal: Estudio multicéntrico de un año de seguimiento. *Nefrología.* 2014;34(1):62–8.
 84. Balfour JAB, Scott LJ. Cinacalcet hydrochloride. *Drugs.* 2005;65(2):271–81.
 85. Harris RZ, Padhi D, Marbury TC, Noveck RJ, Salfi M, Sullivan JT. Pharmacokinetics, pharmacodynamics, and safety of cinacalcet hydrochloride in hemodialysis patients at doses up to 200 mg once daily. *Am J Kidney Dis.* 2004;44(6):1070–6.
 86. Lindberg JS, Culleton B, Wong G, Borah MF, Clark R V., Shapiro WB, et al. Cinacalcet HCl, an oral calcimimetic agent for the treatment of secondary hyperparathyroidism in hemodialysis and peritoneal dialysis: A randomized, double-blind, multicenter study. *J Am Soc Nephrol.* 2005;16(3):800–7.

87. Watson JD, Crick FHC. Molecular structure of nucleic acids: A structure for deoxyribose nucleic acid. *Nature*. 1953;171(4356):737–8.
88. Abdellah Z, Ahmadi A, Ahmed S, Aimable M, Ainscough R, Almeida J, et al. Finishing the euchromatic sequence of the human genome. *Nature*. 2004;431(7011):931–45.
89. Evans WE, Relling M V. Pharmacogenomics: Translating functional genomics into rational therapeutics. *Science* (80-). 1999;286(5439):487–91.
90. Cecchin E, Stocco G. Pharmacogenomics and personalized medicine. *Genes* (Basel). 2020;11(6):1–5.
91. Feuk L, Carson AR, Scherer SW. Structural variation in the human genome. *Nat Rev Genet*. 2006;7(2):85–97.
92. Roses AD. Pharmacogenetics. *Hum Mol Genet*. 2001;10(20):2261–7.
93. Kalow W, Tang BK, Endrenyi L. Hypothesis: Comparisons of inter- and intra-individual variations can substitute for twin studies in drug research. *Pharmacogenetics*. 1998;8(4):283–9.
94. Tabarés Rodríguez B, Frías Iniesta J. Farmacogenética: hacia una terapia personalizada más segura y eficiente. *Genoma y Med [Internet]*. 2004;55–80. Available from: http://www.fgcasal.org/publicaciones/GENOMA_MEDICINA.pdf
95. Evans WE, Johnson JA. Pharmacogenomics: The inherited basis for interindividual differences in drug response. *Annu Rev Genomics Hum Genet*. 2001;2:9–39.
96. Iniesta R, Guinó E, Moreno V. Statistical analysis of genetic polymorphisms in epidemiological studies. *Gac Sanit*. 2005;19(4):333–41.
97. Daudén Tello E. Farmacogenética I. Concepto, historia, objetivos y áreas de estudio. *Actas Dermosifiliogr*. 2006;97(10):623–9.
98. Ingelman-Sundberg M. Genetic susceptibility to adverse effects of drugs and environmental toxicants: The role of the CYP family of enzymes. *Mutat Res - Fundam Mol Mech Mutagen*. 2001;482(1–2):11–9.
99. Fernández Martín JL, González Suárez I, Cannata Andía JB. Regulación del receptor sensor de calcio. Influencia del hiperparatiroidismo secundario. *Nefrología*. 2003;23(SUPPL.2):7–11.
100. Chattopadhyay N. Biochemistry, physiology and pathophysiology of the extracellular calcium-sensing receptor. *Int J Biochem Cell Biol*. 2000;32(8):789–804.
101. Mathias RS, Nguyen HT, Zhang MYH, Portale AA. Reduced expression of the renal calcium-sensing receptor in rats with experimental chronic renal insufficiency. *J Am Soc Nephrol*. 1998;9(11):2067–74.
102. Välimäki S, Farnebo F, Forsberg L, Larsson C, Farnebo LO. Heterogeneous expression of receptor mRNAs in parathyroid glands of secondary hyperparathyroidism. *Kidney Int*. 2001;60(5):1666–75.
103. Lewin E, Garfia B, Luque Recio F, Rodríguez M, Olgaard K. Persistent downregulation of calcium-sensing receptor mRNA in rat parathyroids when severe secondary hyperparathyroidism is reversed by an isogenic kidney transplantation. *J Am Soc Nephrol*. 2002;13(8):2110–6.
104. Brown EM, Macleod RJ. Extracellular calcium sensing and extracellular calcium signaling. *Physiol Rev*. 2001;81(1):239–97.
105. Hendy GN, D'Souza-Li L, Yang B, Canaff L, Cole DEC. Mutations of the calcium-sensing receptor (CASR) in familial hypocalciuric hypercalcemia,

- neonatal severe hyperparathyroidism, and autosomal dominant hypocalcemia. *Hum Mutat.* 2000;16(4):281–96.
106. Yun FHJ, Wong BYL, Chase M, Shuen AY, Canaff L, Thongthai K, et al. Genetic variation at the calcium-sensing receptor (CASR) locus: Implications for clinical molecular diagnostics. *Clin Biochem.* 2007;40(8):551–61.
 107. Vezzoli G, Terranegra A, Arcidiacono T, Biasion R, Coviello D, Syren ML, et al. R990G polymorphism of calcium-sensing receptor does produce a gain-of-function and predispose to primary hypercalciuria. *Kidney Int.* 2007;71(11):1155–62.
 108. Liu K, Wang X, Ye J, Qin C, Shao P, Zhang W, et al. The G allele of CaSR R990G polymorphism increases susceptibility to urolithiasis and hypercalciuria: Evidences from a comprehensive meta-analysis. *Biomed Res Int.* 2015;2015.
 109. Rothe HM, Shapiro WB, Sun WY, Chou SY. Calcium-sensing receptor gene polymorphism Arg990Gly and its possible effect on response to cinacalcet HCl. *Pharmacogenet Genomics.* 2005;15(1):29–34.
 110. Yokoyama K, Shigematsu T, Tsukada T, Hara S, Yamada A, Kawaguchi Y, et al. Calcium-sensing receptor gene polymorphism affects the parathyroid response to moderate hypercalcemic suppression in patients with end-stage renal disease. *Clin Nephrol.* 2002;57(2):131–5.
 111. Grzegorzewska AE, Paciorowski M, Mostowska A, Frycz B, Warchol W, Stolarek I, et al. Associations of the calcium-sensing receptor gene CASR rs7652589 SNP with nephrolithiasis and secondary hyperparathyroidism in haemodialysis patients. *Sci Rep.* 2016;6.
 112. Herrero JA, López-Gómez JM, Maduell F, Martín-De Francisco AL, Martín-Malo A, Martínez-Castelao A, et al. Activación de los receptores de vitamina D en la optimización del hiperparatiroidismo secundario en diálisis. *Nefrología.* 2013;33(4):571–84.
 113. Morand GB, da Silva SD, Hier MP, Alaoui-Jamali MA. Insights into genetic and epigenetic determinants with impact on vitamin D signaling and cancer association studies: The case of thyroid cancer. *Front Oncol.* 2014;4(NOV).
 114. Zehnder D, Bland R, Williams MC, Mcninch RW, Howie AJ, Stewart PM, et al. Extrarenal expression of 25-hydroxyvitamin D3-1 α -hydroxylase. *J Clin Endocrinol Metab.* 2001;86(2):888–94.
 115. Slatopolsky E, Moe S. 50 Years of Research and Discovery in Chronic Kidney Disease and Mineral & Bone Disorder: the Central Role of Phosphate. *Kidney Int Suppl.* 2011;(121).
 116. Schillaci G, Reboldi G, Verdecchia P. High-normal serum creatinine concentration is a predictor of cardiovascular risk in essential hypertension. *Arch Intern Med.* 2001;161(6):886–91.
 117. Carling T, Kindmark A, Hellman P, Lundgren E, Ljunghall S, Rastad J, et al. Vitamin D receptor genotypes in primary hyperparathyroidism. *Nat Med.* 1995;1(12):1309–11.
 118. Bover J, DaSilva I, Furlano M, Lloret MJ, Diaz-Encarnacion MM, Ballarin J, et al. Clinical Uses of 1,25-dihydroxy-19-nor-vitamin D₂ (Paricalcitol). *Curr Vasc Pharmacol.* 2014;12(2):313–23.
 119. Llach F, Forero FV. Secondary hyperparathyroidism in chronic renal

- failure: Pathogenic and clinical aspects. *Am J Kidney Dis.* 2001;38(5):S20–S33.
120. McCarey D, Spooner R, Jagger C, McLellan AR, Jardine AG, Torres A, et al. The BSM-1 vitamin D receptor polymorphism and secondary hyperparathyroidism (multiple letters) [2]. *Nephrol Dial Transplant.* 1998;13(3):811–2.
 121. Fernández E, Fibla J, Betriu A, Piulats JM, Almirall J, Montoliu J. Association between vitamin D receptor gene polymorphism and relative hypoparathyroidism in patients with chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol.* 1997;8(10):1546–52.
 122. Yokoyama K, Shigematsu T, Tsukada T, Ogura Y, Takemoto F, Hara S, et al. Apa I polymorphism in the vitamin D receptor gene may affect the parathyroid response in Japanese with end-stage renal disease. *Kidney Int.* 1998;53(2):454–8.
 123. Gago EV, Cadarso-Suárez C, Perez-Fernandez R, Burgos RR, Mugica JD, Iglesias CS. Association between vitamin D receptor FokI polymorphism and serum parathyroid hormone level in patients with chronic renal failure. *J Endocrinol Invest.* 2005;28(4):117–21.
 124. Carling T, Kindmark A, Hellman P, Holmberg L, Åkerström G, Rastad J. Vitamin D receptor alleles b, a, and t: Risk factors for sporadic primary hyperparathyroidism (HPT) but not HPT of uremia or MEN 1. *Biochem Biophys Res Commun.* 1997;231(2):329–32.
 125. Mikkelsen M, Jacobsen P, Henningsen K. Possible localization of GC-system on chromosome 4. Loss of long arm 4 material associated with father-child incompatibility within the Gc-system. *Hum Hered.* 1977;27(2):105–7.
 126. Abbas S, Linseisen J, Slanger T, Kropp S, Mutschelknauss EJ, Flesch-Janys D, et al. The Gc2 allele of the vitamin D binding protein is associated with a decreased postmenopausal breast cancer risk, independent of the vitamin D status. *Cancer Epidemiol Biomarkers Prev.* 2008;17(6):1339–43.
 127. Wang TJ, Zhang F, Richards JB, Kestenbaum B, Van Meurs JB, Berry D, et al. Common genetic determinants of vitamin D insufficiency: A genome-wide association study. *Lancet.* 2010;376(9736):180–8.
 128. Ahn J, Yu K, Stolzenberg-Solomon R, Claire Simon K, McCullough ML, Gallicchio L, et al. Genome-wide association study of circulating vitamin D levels. *Hum Mol Genet.* 2010;19(13):2739–45.
 129. Kalow W, Tang BK. Caffeine as a metabolic probe: Exploration of the enzyme-inducing effect of cigarette smoking. *Clin Pharmacol Ther.* 1991;49(1):44–8.
 130. Wang B, Zhou S-F. Synthetic and Natural Compounds that Interact with Human Cytochrome P450 1A2 and Implications in Drug Development. *Curr Med Chem.* 2012;16(31):4066–218.
 131. Zhou SF. Polymorphism of human cytochrome p450 2D6 and its clinical significance: Part i. *Clin Pharmacokinet.* 2009;48(11):689–723.
 132. Hu ZY, Zhao YS. Sex-dependent differences in cytochrome P450 3A activity as assessed by midazolam disposition in humans: A meta-analysis. *Drug Metab Dispos.* 2010;38(5):817–23.
 133. Obesity: preventing and managing the global epidemic. Report of a WHO consultation. *World Heal Organ - Tech Rep Ser.* 2000;894.

134. Solé X, Guinó E, Valls J, Iniesta R, Moreno V. SNPStats: A web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics*. 2006;22(15):1928–9.
135. Carrillo-López N, Álvarez-Hernández D, González-Suárez I, Román-García P, Valdivielso JM, Fernández-Martín JL, et al. Simultaneous changes in the calcium-sensing receptor and the vitamin D receptor under the influence of calcium and calcitriol. *Nephrol Dial Transplant*. 2008;23(11):3479–84.
136. Brown EM, Hebert SC. A cloned extracellular Ca²⁺-sensing receptor: Molecular mediator of the actions of extracellular Ca²⁺ on parathyroid and kidney cells? *Kidney Int*. 1996;49(4):1042–6.
137. Wüthrich RP, Martin D, Bilezikian JP. The role of calcimimetics in the treatment of hyperparathyroidism. *Eur J Clin Invest*. 2007;37(12):915–22.
138. Birdwell KA, Chung CP. The potential of pharmacogenomics to advance kidney disease treatment. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017;12(7):1035–7.
139. Al-Daghri NM, Mohammed AK, Bukhari I, Rikli M, Abdi S, Ansari MGA, et al. Efficacy of vitamin D supplementation according to vitamin D-binding protein polymorphisms. *Nutrition*. 2019;63–64:148–54.
140. Moe SM, Wetherill L, Decker BS, Lai D, Abdalla S, Long J, et al. Calcium-sensing receptor genotype and response to cinacalcet in patients undergoing hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2017;12(7):1128–38.
141. Rothe H, Shapiro W, Sun WY, Matalon A. CaSR polymorphism Arg990Gly and response to calcimimetic agents in end-stage kidney disease patients with secondary hyperparathyroidism and in cell culture. *Per Med*. 2008;5(2):109–16.
142. Jeong S, Kim IW, Oh KH, Han N, Joo KW, Kim HJ, et al. Pharmacogenetic analysis of cinacalcet response in secondary hyperparathyroidism patients. *Drug Des Devel Ther*. 2016;10:2211–25.
143. Vezzoli G, Terranegra A, Arcidiacono T, Gambaro G, Milanese L, Mosca E, et al. Calcium kidney stones are associated with a haplotype of the calcium-sensing receptor gene regulatory region. *Nephrol Dial Transplant*. 2010;25(7):2245–52.
144. Vezzoli G, Scillitani A, Corbetta S, Terranegra A, Dogliotti E, Guarnieri V, et al. Polymorphisms at the regulatory regions of the CASR gene influence stone risk in primary hyperparathyroidism. *Eur J Endocrinol*. 2011;164(3):421–7.
145. Vezzoli G, Terranegra A, Soldati L. Calcium-sensing receptor gene polymorphisms in patients with calcium nephrolithiasis. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2012;21(4):355–61.
146. Grzegorzewska AE, Bednarski D, Świdorska M, Mostowska A, Jagodziński PP. The Calcium-Sensing Receptor Gene Polymorphism rs1801725 and Calcium-Related Phenotypes in Hemodialysis Patients. *Kidney Blood Press Res*. 2018;43(3):719–34.
147. Ngamkam J, Vadcharavivad S, Areepium N, Auamnoy T, Takkavatakarn K, Katavetin P, et al. The impact of CASR A990G polymorphism in response to cinacalcet treatment in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Sci Rep*. 2021;11(1).
148. Wang XM, Wu YW, Li ZJ, Zhao XH, Lv SM, Wang XH. Polymorphisms of CASR gene increase the risk of primary hyperparathyroidism. *J Endocrinol Invest*. 2016;39(6):617–25.
149. Block GA, Klassen PS, Lazarus JM, Ofsthun N, Lowrie EG, Chertow GM.

- Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(8):2208–18.
150. Cheng SX, Lightfoot YL, Yang T, Zadeh M, Tang L, Sahay B, et al. Epithelial CaSR deficiency alters intestinal integrity and promotes proinflammatory immune responses. *FEBS Lett*. 2014;588(22):4158–66.
 151. Erturk S. Gene polymorphism association studies in dialysis: Bone and mineral metabolism. *Semin Dial*. 2006;19(3):232–7.
 152. Chudek J, Karkoszka H, Schmidt-Gayk H, Ritz E, Kokot F. Plasma parathyroid hormone, phosphatemia and vitamin D receptor genotype: Are they interrelated? *J Nephrol*. 2000;13(1):54–8.
 153. Morrison NA, Qi JC, Tokita A, Kelly PJ, Crofts L, Nguyen T V, et al. Prediction of bone density from vitamin D receptor alleles. *Nature*. 1994;367(6460):284–7.
 154. Marco MP, Martínez I, Betriu A, Craver L, Fibla MJ, Fernández E. Influence of BsmI vitamin D receptor gene polymorphism on the response to a single bolus of calcitriol in hemodialysis patients. *Clin Nephrol*. 2001;56(2):111–6.
 155. Nagaba Y, Heishi M, Tazawa H, Tsukamoto Y, Kobayashi Y. Vitamin D receptor gene polymorphisms affect secondary hyperparathyroidism in hemodialyzed patients. *Am J Kidney Dis*. 1998;32(3):464–9.
 156. Waziri B, Dix-Peek T, Dickens C, Duarte R, Naicker S. Influence of Vitamin D receptor polymorphisms on biochemical markers of mineral bone disorders in South African patients with chronic kidney disease. *BMC Nephrol*. 2018;19(1).
 157. Torres A, Machado M, Concepción MT, Martín N, Lorenzo V, Hernández D, et al. Influence of vitamin D receptor genotype on bone mass changes after renal transplantation. *Kidney Int*. 1996;50(5):1726–33.
 158. Tagliabue J, Farina M, Imbasciati E, Vergani C, Annoni G. BsmI polymorphism of the vitamin D receptor gene in hyperparathyroid or hypoparathyroid dialysis patients. *Am J Clin Pathol*. 1999;112(3):366–70.
 159. Ertürk S, Kutlay S, Karabulut HG, Keven K, Nergizoglu G, Ates K, et al. The impact of vitamin D receptor genotype on the management of anemia in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 2002;40(4):816–23.
 160. Alvarez-Hernandez D, Naves-Diaz M, Gomez-Alonso C, Coto E, Cannata-Andia JB. Tissue-specific effect of VDR gene polymorphisms on the response to calcitriol. *J Nephrol*. 2008;21(6):843–9.
 161. Liu Y-J, Sun L-N, Cheng Z-P, Qian Y, Ma Z-Q, Zhang X-H, et al. Pharmacogenetic and safety analysis of cinacalcet hydrochloride in healthy Chinese subjects. *Ann Transl Med*. 2020;8(21):1385.
 162. Korucu B, Tükün A, Helvacı Ö, Yeter H, Gönen S, Güz G, et al. Vitamin D receptor polymorphisms and bone health after kidney transplantation. *Turkish J Med Sci*. 2021;51(2):802–12.
 163. Usategui-Martín R, De Luis-Román DA, Fernández-Gómez JM, Ruiz-Mambrilla M, Pérez-Castrillón JL. Vitamin D Receptor (VDR) Gene Polymorphisms Modify the Response to Vitamin D Supplementation: A Systematic Review and Meta-Analysis. *Nutrients*. 2022;14(2).
 164. de Alarcón R, Alburquerque-González B, Fernández-Valera Á, Molina-Nuñez M, Álvarez Fernández G, Consuegra-Sánchez L, et al. Pharmacogenetic role of vitamin D-binding protein and vitamin D receptor polymorphisms in the treatment response of dialysis patients with

- secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant*. 2022;37(4):792–5.
165. Dusso AS. Vitamin D receptor: Mechanisms for vitamin D resistance in renal failure. *Kidney Int Suppl*. 2003;63(85).
 166. Saarnio E, Pekkinen M, Itkonen ST, Kemi V, Karp H, Kärkkäinen M, et al. Serum parathyroid hormone is related to genetic variation in vitamin D binding protein with respect to total, free, and bioavailable 25-hydroxyvitamin D in middle-aged Caucasians - A cross-sectional study. *BMC Nutr*. 2016;2(1):1–9.
 167. Saarnio E, Pekkinen M, Itkonen ST, Kemi V, Karp H, Kärkkäinen M, et al. Serum parathyroid hormone is related to genetic variation in vitamin D binding protein with respect to total, free, and bioavailable 25-hydroxyvitamin D in middle-aged Caucasians - A cross-sectional study. *BMC Nutr*. 2016;2(1).
 168. Constans J, Arlet P, Viau M, Bouissou C. Unusual sialylation of the serum DBP associated with the Gc 1 allele in alcoholic cirrhosis of the liver. *Clin Chim Acta*. 1983;130(2):219–30.
 169. Peršić V, Raljević D, Markova-Car E, Cindrić L, Miškulin R, Žuvić M, et al. Vitamin D-binding protein (rs4588) T/T genotype is associated with anteroseptal myocardial infarction in coronary artery disease patients. *Ann Transl Med*. 2019;7(16):374.
 170. Rozmus D, Płomiński J, Augustyn K, Cieślińska A. Rs7041 and rs4588 Polymorphisms in Vitamin D Binding Protein Gene (VDBP) and the Risk of Diseases. *Int J Mol Sci*. 2022;23(2).
 171. Zawierucha J, Małyszko J, Małyszko JS, Prystacki T, Marcinkowski W, Dryl-Rydzynska T. Treatment of secondary hyperparathyroidism with paricalcitol with or without cinacalcet in hemodialysis patients. *Polish Arch Intern Med*. 2017;127(12):840–5.
 172. Harris RZ, Salfi M, Posvar E, Hoelscher D, Padhi D. Pharmacokinetics of desipramine HCl when administered with cinacalcet HCl. *Eur J Clin Pharmacol*. 2007;63(2):159–63.
 173. Bajpai M, Esmay J, Chi V, Hayashi M, Poppe L, Kumar G. In vitro metabolism and prediction of drug-drug interactions of the calcimimetic agent cinacalcet HCl. *Drug Metab Rev*. 2005;37(Suppl 2):124.
 174. Padhi D, Harris R. Clinical pharmacokinetic and pharmacodynamic profile of cinacalcet hydrochloride. *Clin Pharmacokinet*. 2009;48(5):303–11.
 175. Manikandan P, Nagini S. Cytochrome P450 Structure, Function and Clinical Significance: A Review. *Curr Drug Targets*. 2017;19(1).
 176. Werk AN, Cascorbi I. Functional gene variants of CYP3A4. *Clin Pharmacol Ther*. 2014;96(3):340–8.
 177. Robinson-Cohen C, Lutsey PL, Kleber ME, Nielson CM, Mitchell BD, Bis JC, et al. Genetic variants associated with circulating parathyroid hormone. *J Am Soc Nephrol*. 2017;28(5):1553–65.

IX. ANEXOS

IX. ANEXOS

Anexo 1.



Hospital General Universitario
Santa Lucía



Consentimiento Informado para Participantes de Investigación

El propósito de esta ficha de consentimiento es proveer a los participantes en esta investigación con una clara explicación de la naturaleza de la misma, así como de su rol en ella como participantes.

La presente investigación es conducida por la Dra. Rosa Maria de Alarcón Jimenez, del Servicio de Nefrología junto con la Unidad de Genética del HUSL (Cartagena) . La meta de este estudio es conocer la variabilidad genética de la respuesta a tratamiento con Cinacalcet (Mimpara) usado como fármaco para tratamiento del Hiperparatiroidismo Secundario a su Enfermedad Renal Crónica y relación con la presencia de eventos cardiovasculares

Si usted accede a participar en este estudio, se le solicitará una muestra sanguínea y de saliva así como el acceso a su historial clínico. La participación en este estudio es estrictamente voluntaria. La información que se recoja será confidencial y no se usará para ningún otro propósito fuera de los de esta investigación.

Si tiene alguna duda sobre este proyecto, puede hacer preguntas en cualquier momento durante su participación en él. Igualmente, puede retirarse del proyecto en cualquier momento sin que eso lo perjudique en ninguna forma.

Desde ya le agradecemos su participación.

Acepto participar voluntariamente en esta investigación:

Nombre y Apellidos: -----

Firma del Participante

Fecha: Cartagena / /

Anexo 2.



DOCUMENTO DE INFORMACIÓN AL DONANTE (v.3)

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

En el *Hospital General Universitario Santa Lucía*, igual que en la mayoría de hospitales, además de la asistencia a los pacientes, se realiza investigación biomédica. La finalidad de esta investigación es progresar en el conocimiento de las enfermedades y en su prevención, diagnóstico, pronóstico y tratamiento. Esta investigación biomédica requiere recoger datos clínicos y muestras biológicas de pacientes y donantes sanos para analizarlos y obtener conclusiones con el objetivo de conocer mejor las enfermedades y avanzar su diagnóstico y/o tratamiento.

Las muestras y datos clínicos obtenidos para el diagnóstico o control de las enfermedades, una vez utilizadas con esta finalidad, resultan también útiles y necesarias para la investigación. De hecho, muchos de los avances científicos obtenidos en los últimos años en medicina son fruto de este tipo de estudios.

Solicitamos su autorización para incorporar al *Biobanc-Mur Nodo Área II* del hospital el material biológico sobrante de las pruebas que, como parte del actual proceso asistencial, se le han realizado o se le van a realizar en este centro, con el fin de que puedan ser utilizadas en investigación biomédica.

Siguiendo lo establecido por la Ley 14/2007, de Investigación Biomédica, la Ley Orgánica 15/1999, de Protección de Datos Personales, y sus normas de desarrollo, le solicitamos que lea detenidamente este documento de información y el consentimiento informado que se le adjunta al final para su firma, si está de acuerdo en participar en esta propuesta

¿Qué es un biobanco?: Institución para favorecer la investigación y la salud.

Un biobanco es una institución, regulada por leyes específicas, que facilita la investigación biomédica, es decir, aquella dirigida a promover la salud de las personas.

Las muestras incluidas en un biobanco pueden ser cedidas para investigación en Medicina, siempre bajo la supervisión de un comité científico y otro de ética. Las muestras se cederán generalmente sin información personal asociada, aunque a veces podrá ser necesario el acceso a la historia clínica o al resultado de otras pruebas para completar la investigación.

La investigación biomédica es, hoy en día, un fenómeno global por lo que ocasionalmente estas muestras podrán ser cedidas a grupos de investigación fuera de España, siempre que se cumplan los requisitos de la legislación española y lo aprueben los correspondientes comités.

Muestras biológicas e información asociada: *En ningún caso se le practicarán más pruebas de las imprescindibles para su adecuada atención médica.*

Se guardará y dispondrá del material biológico sobrante que se le extraiga durante el proceso asistencial (muestras de sangre, líquidos biológicos y/o tejidos), sin que este hecho le cause molestias adicionales. La donación de muestras excedentes de este proceso asistencial no impedirá que usted o su familia puedan usarlas, cuando sea necesario por motivos de salud, siempre que estén disponibles. Las muestras y la información asociada a las mismas se custodiarán y/o guardarán en el Biobanco ***Biobanc-Mur Nodo Área II*** del ***Hospital General Universitario Santa Lucía*** hasta su extinción. Este Biobanco forma parte como nodo de la Red Temática de Investigación Cooperativa (RETIC) de Biobancos del Instituto de Salud Carlos III con la referencia ***RD09/0076/00065***, y está en proceso de Registro con el desarrollo de la normativa regional de Biobancos que aplica la normativa nacional.

Este biobanco acoge colecciones organizadas de muestras biológicas e información asociada en las condiciones y garantías de calidad y seguridad que exige la legislación anteriormente referida y los códigos de conducta aprobados por los Comités de Ética. Dichas muestras y su información asociada quedan disponibles para aquellos investigadores que lo soliciten al biobanco.

Cualquier estudio de investigación para el que se solicite la utilización de estos datos o muestras deberá disponer siempre de la aprobación del Comité de Ética de la Investigación (CEI) competente, que velará para que los investigadores desarrollen sus estudios siguiendo siempre las más estrictas normas éticas y legales. Además, el comité científico del biobanco garantizará que los proyectos sean de excelencia científica.

A partir de las muestras donadas, en los casos en que la investigación lo requiera, se realizarán estudios genéticos, y a partir de ellos se puede obtener información acerca de

su salud y la de sus familiares. Siempre se actuará velando por la protección de esta información (ver apartado de protección de datos y confidencialidad).

Por este consentimiento, los responsables del Biobanco del Hospital podrán consultar su historial clínico, solamente en el caso de que ello sea imprescindible para la realización del proyecto para el que se soliciten las muestras y previa autorización por parte del Comité de Ética correspondiente.

En caso de ser necesaria alguna muestra adicional, la institución sanitaria se podría poner en contacto con usted para solicitarle nuevamente su colaboración. En este caso se le informará de los motivos y se le solicitará de nuevo su consentimiento.

Protección de datos y confidencialidad: Las muestras se conservarán codificadas.

Los datos personales que se recojan serán obtenidos, tratados y almacenados cumpliendo en todo momento el deber de secreto, de acuerdo con la legislación vigente en materia de protección de datos de carácter personal.

La identificación de las muestras biológicas del Biobanco será sometida a un proceso de codificación. A cada muestra se le asigna un código de identificación, que será el utilizado por los investigadores. Únicamente el personal autorizado por el biobanco podrá relacionar su identidad con los citados códigos. Mediante este proceso los investigadores que soliciten muestras al biobanco no podrán conocer ningún dato que revele su identidad. Asimismo, aunque los resultados obtenidos de la investigación realizada con sus muestras se publiquen en revistas científicas, su identidad no será facilitada. En aquellos estudios en los que no se prevean resultados potencialmente útiles para su salud, y de acuerdo con el correspondiente Comité de Ética, las muestras y datos podrán ser anonimizadas, es decir, no habrá ninguna posibilidad de volver a asociar la muestra con su identidad.

Sus muestras y los datos clínicos asociados a las mismas, pasarán a formar parte del fichero del Biobanco, inscrito en la Agencia de Protección de datos.

Responsable del fichero : Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia.

Dirección Postal: Calle Luis Fontes Pagan, 9-1, 30003 Murcia

Usted podrá ejercer sus derechos de acceso, rectificación, cancelación y objeción, así como obtener información sobre el uso de sus muestras y datos asociados, dirigiéndose a:

Fundación para la Formación e Investigación Sanitarias de la Región de Murcia

Responsable del nodo Calle Luis Fontes Pagan, 9-1, 30003 Murcia

Tel.: 968359757 E-mail: juanp.serna@carm.es

Carácter altruista de la donación. La cesión de muestras biológicas que usted realiza al Biobanco del Hospital General Universitario Santa Lucía es gratuita.

La donación tiene por disposición legal carácter altruista, por lo que usted no obtendrá ni ahora ni en el futuro ningún beneficio económico por la misma, ni tendrá derechos sobre posibles beneficios comerciales de los descubrimientos que puedan conseguirse como resultado de la investigación biomédica. Sin embargo, los conocimientos obtenidos gracias a los estudios llevados a cabo a partir de su muestra y de muchas otras pueden ayudar al avance médico y, por ello, a otras personas.

Participación voluntaria. Su negativa NO repercutirá en su asistencia médica, presente o futura

Su participación es totalmente voluntaria. Si firma el consentimiento informado, confirmará que desea participar. Puede negarse a participar o retirar su consentimiento en cualquier momento posterior a la firma sin tener que explicar los motivos y esto no repercutirá negativamente en su asistencia médica, presente o futura.

Revocación del consentimiento: si usted decide firmar este consentimiento, podrá también cancelarlo libremente.

Si en un futuro usted quisiera anular su consentimiento, sus muestras biológicas serían destruidas y los datos asociados a las mismas serían retirados del biobanco. También podría solicitar la anonimización de las muestras, en cuyo caso se eliminaría la relación entre sus datos personales (que revelan su identidad) y sus muestras biológicas y datos clínicos asociados. Los efectos de esta cancelación o anonimización no se podrían extender a la investigación que ya se hubiera llevado a cabo.

Si deseara anular su consentimiento, deberá solicitarlo por escrito al Director del Biobanco, en la dirección anteriormente indicada.

Información sobre los resultados de la investigación: se le proporcionará información si usted desea recibirla

En el caso de que usted lo solicite expresamente, el Biobanco podrá proporcionarle información acerca de cuáles son las investigaciones en que se han utilizado sus muestras y de los resultados globales de dichas investigaciones, salvo en el caso de cancelación o anonimización.

Los métodos utilizados en investigación Biomédica suelen ser diferentes de los aprobados para la práctica clínica, por lo que no deben de ser considerados con valor clínico para usted. Sin embargo, en el caso que estas investigaciones proporcionen datos que pudieran ser clínica o genéticamente relevantes para usted e interesar a su salud o a la de su familia, le serán comunicados si así lo estima oportuno. Asimismo, podría darse el caso de obtenerse información relevante para su familia, le corresponderá a usted decidir si quiere o no comunicárselo. Si Ud. quiere que se le comunique dicha información relevante debe consignarlo en la casilla que aparece al final de este documento.

Si usted no desea recibir esta información, tenga en cuenta que la ley establece que, cuando la información obtenida sea necesaria para evitar un grave perjuicio para la salud de sus familiares biológicos, un Comité de expertos estudiará el caso y deberá decidir si es conveniente informar a los afectados o a sus representantes legales.

Le agradecemos su desinteresada colaboración con el avance de la ciencia y la medicina. De esta forma está usted colaborando a vencer las enfermedades y ayudar a multitud de enfermos actuales y futuros.

CONSENTIMIENTO INFORMADO

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO

Nombre y Apellidos (donante).....	Persona del centro que informa
--------------------------------------	---

El abajo firmante autoriza al **Hospital General Universitario Santa Lucía** a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanco Biobanc-Mur Nodo Área II**, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

Confirmo que:

1. Autoriza al **Hospital General Universitario Santa Lucía** a que el material biológico sobrante de las pruebas que se le han realizado o se le van a realizar como parte del

actual proceso asistencial sean incorporadas en el **Biobanc-Mur Nodo Área II**, y que sea cedido desde el mismo con la finalidad de llevar a cabo proyectos de investigación biomédica, siempre que éstos cuenten con la obligada aprobación del Comité de Ética de Investigación competente. Esta autorización la concede tras haber sido informado verbalmente y haber leído la información adjunta.

SI NO

2. Desea que se le comunique la información derivada de la investigación que realmente sea relevante y aplicable para su salud o la de su familia SI NO

Teléfono o E-mail de contacto.....

3. Autoriza a ser contactado en el caso de necesitar más información o muestras biológicas adicionales

SI NO Teléfono o E-mail de

contacto:

4. He expresado mi deseo de que se respeten las siguientes excepciones respecto al objetivo y métodos de las investigaciones:

.....

DONANTE	PERSONA QUE INFORMA
Firma	Firma

En....., a..... de..... de.....

REVOCACIÓN DEL CONSENTIMIENTO

UTILIZACIÓN DE DATOS CLÍNICOS Y MATERIAL BIOLÓGICO EXCEDENTE DEL PROCESO ASISTENCIAL PARA INVESTIGACIÓN BIOMÉDICA Y SU CONSERVACIÓN EN UN BIOBANCO.

POR EL DONANTE:

Yo, D./Dña. con DNI Anulo el consentimiento prestado en fecha..... de.....de 20..... y no deseo proseguir la donación voluntaria al biobanco **Biobanc-Mur Nodo Área II**, que doy por finalizada al día de hoy.

- SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE LA MUESTRA.
- SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE MIS DATOS PERSONALES.

La muestra quedará anonimizada irreversiblemente y podrá ser utilizada en proyectos de investigación.

- SOLICITO ELIMINACIÓN TOTAL DE MIS DATOS Y MUESTRAS.

Fdo.:

En.....a.....de.....de 20.....

POR EL TUTOR/REPRESENTANTE LEGAL DEL DONANTE:

Yo, D./Dña. con DNI,
Como representante legal de D/Dña....., con
DNI....., anulo el consentimiento prestado en
fecha.....de.....de 20.....y no deseo proseguir la donación voluntaria al
biobanco **Biobanc-Mur Nodo Área II** , que doy por finalizada al día de hoy.

- SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO DE LA MUESTRA.
- SOLICITO ELIMINACIÓN SOLO LOS DATOS PERSONALES.

La muestra quedará anonimizada irreversiblemente y podrá ser utilizada en proyectos de investigación.

- SOLICITO ELIMINACIÓN TOTAL DE MIS DATOS Y MUESTRAS.

Fdo.:

En.....a.....de.....de 20.....

X. PRODUCCIÓN CIENTIFICA DERIVADA DE LA TESIS

X. PRODUCCIÓN CIENTÍFICA DERIVADA DEL TRABAJO

1. Comunicaciones a Congresos Nacionales:

-Comunicación Póster: **"VARIABLES DEMOGRAFICAS Y CLINICAS QUE INFLUYEN EN LA RESPUESTA A TRATAMIENTO CON CINACALCET EN LOS PACIENTES EN DIALISIS "**, en el XLVIII CONGRESO NACIONAL DE LA S.E.N. y IX CONGRESO IBEROAMERICANO DE NEFROLOGÍA, celebrado en Madrid del 16 al 19 de noviembre de 2018.

-Comunicación Póster: **"INFLUENCIA DE LOS POLIMORFISMOS DEL GEN CaRS EN LA SUSCEPTIBILIDAD DE RESPUESTA A CINACALCET EN DIALISIS"**, en el XLVIII CONGRESO NACIONAL DE LA S.E.N. y IX CONGRESO IBEROAMERICANO DE NEFROLOGÍA, celebrado en Madrid del 16 al 19 de noviembre de 2018.

-Comunicación Poster: **"PAPEL FARMACOGENETICO DE LOS POLIMORFISMOS DE LA PROTEINA DE UNIÓN A VITAMINA D (DBP) Y EL RECEPTOR DE LA VITAMINA D (VDR) EN LA RESPUESTA AL TRATAMIENTO DEL HIPERPARATIROIDISMO SECUNDARIO"**, en las IV JORNADAS CIENTIFICAS IMIB 2021, celebrado en Murcia 16 de noviembre 2021.

2. Artículos

-De **Alarcón R**, Albuquerque-González B, Fernández-Valera Á, Molina-Nuñez MÁlvarez Fernandez G, Consuegra-Sánchez L, Luengo-Gil G, Conesa-Zamora P. Pharmacogenetic role of vitamin D-binding protein and vitamin D receptor polymorphisms in the treatment response of dialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant.* 2022 Mar 25;37(4):792-795. doi: 10.1093/ndt/gfab353. PMID: 34888693

-Rosa M^a de Alarcón, Begoña Alburquerque-González, África Fernández-Valera, Manuel Molina-Núñez, Luciano Consuegra-Sánchez, Pablo Conesa-Zamora. Influencia de polimorfismos del gen receptor del calcio (*CASR*) en la variabilidad de respuesta a cinacalcet en hemodiálisis. *Rev Nefrol Dial Traspl*. En pre publicación.

Nephrol Dial Transplant (2022) 0: 1–4
<https://doi.org/10.1093/ndt/gfab353>
Advance Access publication date 9 December 2021



Pharmacogenetic role of vitamin D-binding protein and vitamin D receptor polymorphisms in the treatment response of dialysis patients with secondary hyperparathyroidism

Rosa de Alarcón¹, Begoña Alburquerque-González², África Fernández-Valera³, Manuel Molina-Nuñez¹, Gracia Álvarez Fernández¹, Luciano Consuegra-Sánchez⁴, Ginés Luengo-Gil^{3,5,6} and Pablo Conesa-Zamora ^{2,5,6}

¹Nephrology Department, Santa Lucia University Hospital, Cartagena, Spain, ²Facultad de Ciencias de la Salud, Universidad Católica de Murcia (UCAM), Guadalupe, Spain, ³Pathology Department, Santa Lucía General University Hospital (HGUSL), Cartagena, Spain, ⁴Cardiology Department, Santa Lucía General University Hospital (HGUSL), Cartagena, Spain, ⁵Group of Molecular Pathology and Pharmacogenetics, Instituto Murciano de Investigación Biosanitaria (IMIB), Hospital Universitario Santa Lucía, Cartagena, Spain and ⁶Clinical Analysis Department, Santa Lucia University Hospital, Cartagena, Spain

Correspondence to: Pablo Conesa-Zamora; E-mail: pablo.conesa@carm.es; Ginés Luengo-Gil; E-mail: ginesluengo@um.es

Secondary hyperparathyroidism (SHPT) is common in chronic kidney disease (CKD) and dialysis patients, and results in renal osteodystrophy, thus causing the decreased synthesis of calcitriol in kidneys and, therefore, reductions in bone density with increasing bone fractures and cardiovascular risks, partly due to increased serum levels of parathyroid hormone (PTH) [1, 2]. Some 10% of dialysed patients have high serum PTH concentrations (>300 pg/mL). Treatment is commonly based on phosphorus binders and vitamin D and its analogues [1, 2].

The discovery of calcium-sensing receptor (CaSR) facilitated the search for calcimimetic therapeutic agents, cinacalcet being the first to be commercialized [3–6]. Cinacalcet is a positive allosteric modulator of CaSR, which is expressed in multiple tissues, such as the parathyroid, kidney, bone and blood vessels, and is being used to treat SHPT [6, 7]. Although cinacalcet treatment shows considerable interindividual variability, pharmacogenetics studies aiming to correlate CaSR gene polymorphisms with cinacalcet response have yielded modest associations [8–11].

1,25-dihydroxycholecalciferol [1,25(OH)2D3], the active form of vitamin D, is one of the regulating factors of PTH levels and its deficiency is common in advanced CKD. In dialysed patients, supplementation with vitamin D is not always useful in achieving concentration levels of PTH recommended by ‘Renal Disease Guide: Improvement of the Global Results’ (KDIGO) [1]. Vitamin D and all its metabolites are bound to a specific vitamin D-binding protein (VDBP) [12]. Previous studies have shown that VDBP polymorphism rs7041 is

associated with 25-hydroxy vitamin D [25(OH)D] plasmatic levels [13]. Given the predominant role of PTH in the interplay between vitamin D and calcium metabolism, the poorly explained contribution of genetics in cinacalcet inter-individual response and the polymorphic nature of VDBP, we aimed to determine whether polymorphisms in the VDBP or vitamin D3 receptor genes influence the response to cinacalcet in dialysis patients by measuring PTH levels.

We conducted an observational study with a cross-sectional analysis. A total of 158 haemodialysis patients with SHPT, mostly treated with paricalcitol (selective activation of vitamin D receptor), initiated and received cinacalcet for more than a year. Information about clinical and biochemical variables [calcium, phosphorus, 25(OH)D, PTH], delivered dialysis dose (Kt) and treatment with phosphorus binders and paricalcitol, was collected at baseline and 12 months after cinacalcet treatment (Supplementary data, Table S1). Based on National Institute for Health and Care Excellence (NICE) guidance for the treatment of SHPT in patients with end-stage renal disease on maintenance dialysis therapy, response to treatment with cinacalcet was defined as a reduction of $\geq 30\%$ of intact PTH in the plasma levels within 12 months of treatment, including dose escalation as appropriate [14].

Polymorphisms in VDBP (rs4588, rs7041) or vitamin D3 receptor gene (rs7975232, rs1544410, rs2228570, rs731236) were determined by fluorescent allele discrimination from DNA from the patient blood samples as described in Supplementary data, Table S2. Statistical analysis was performed using SPSS 21 (IBM, USA), SNPstats [15] and GraphPad

Table 1. Clinical and biochemical characteristics and rs4588 and rs7041 genotypes of the study patients at baseline

Variables		Overall cohort	No response <i>n</i> = 53	Response <i>n</i> = 105	P-value
Sex	Male, <i>n</i> (%)	101	30 (29.7)	71 (70.3)	0.219
	Female, <i>n</i> (%)	57	23 (40.4)	34 (59.6)	
Age	Years \pm SD	63.9 \pm 15.6	62.1 \pm 16.1	64.8 \pm 15.2	0.299
Phosphorus binder	Lantane, <i>n</i> (%)	50	21 (42)	29 (58)	0.148
	Sevelamer, <i>n</i> (%)	48	16 (33.3)	32 (66.6)	
	Calcium acetate, <i>n</i> (%)	73	28 (38.4)	45 (61.6)	
	Calcium carbonate, <i>n</i> (%)	10	3 (30)	7 (70)	
Paricalcitol, <i>n</i> (%)		116	40 (75.5)	76 (72.4)	0.708
Months in dialysis		63.5 \pm 56.4	67.1 \pm 57.3	61.8 \pm 56.2	0.465
BMI (kg/m ²)		27.5 \pm 5.4	28.3 \pm 6.3	27.1 \pm 4.9	0.526
PTH level (pg/mL)		612.7 \pm 280.6	564.4 \pm 239.5	637 \pm 297.3	0.05
Calcium (mg/dL)		9.1 \pm 0.6	9.1 \pm 0.6	9.1 \pm 0.6	0.943
Phosphorus (mg/dL)		4.8 \pm 1.4	5.1 \pm 1.5	4.8 \pm 1.3	0.294
Calcitriol [25(OH)D] (μ g/L)		17.9 \pm 7.4	17.8 \pm 7.2	17.9 \pm 7.6	0.966
Haemoglobin (g/dL)		11.6 \pm 1.4	11.8 \pm 1.5	11.5 \pm 1.3	0.387
C-reactive protein (mg/dL)		4.3 \pm 7.8	2.9 \pm 3.9	5 \pm 9	0.389
Albumin (mg/dL)		4.1 \pm 1.6	4.2 \pm 2.6	4 \pm 0.3	0.089
rs4588 genotype frequencies, <i>n</i> (%)	G/G	75	11 (21)	64 (61)	<0.000007
	G/T	70	37 (70)	33 (31)	
	T/T	13	5 (9)	8 (8)	
rs7041 genotype frequencies, <i>n</i> (%)	A/A	45	8 (15)	37 (35)	0.012
	A/C	83	36 (68)	47 (45)	
	C/C	30	9 (17)	21 (20)	

BMI, body mass index; HD, haemodialysis.

Prism 9. A multiple linear regression model was performed to identify the predictors of PTH levels at 12 months in patients receiving cinacalcet. Those potentially associated variables were included, as well as the studied polymorphisms (after transformation into dummy variables). The covariates were handled with a backward step method and the non-standardized B coefficients as well as the P-value of each one were obtained. Dunn's test was applied for multiple comparisons as *post hoc* test. The study was designed according to the ethical guidelines of the Helsinki Declaration in 2013 and was approved by the Ethics Committee. Informed consent was obtained for all subjects in the study.

The study population consisted of 57 women (36.1%) and 101 men, with an average age of 63.9 \pm 15.5 years. According to NICE guidance criterion, 105 (66.5%) patients positively responded to cinacalcet and 53 patients (33.5%) failed to respond. No significant statistical differences ($P > 0.05$) between responders/non-responders in terms of gender, comorbidity, age, time in dialysis, body mass index, biochemistry variables, presence of cardiovascular disease/risk factors and phosphorus binders or paricalcitol usage were observed at baseline (Table 1). Complete analysis of polymorphisms and final reports was obtained (Supplementary data). No significant differences were found in single- or multiple-polymorphism analysis (linkage disequilibrium and haplotype analysis) for vitamin D receptor (VDR) polymorphisms. In contrast, the T436K variant (also known as Gc2) of VDBP rs4588 polymorphism showed an association with poorer response to treatment with cinacalcet in the codominant, dominant and over-dominant model, with the best fit achieved in the dominant model [G/T-T/T; odds ratio (OR) = 0.17; 95% confidence interval (CI) 0.08–0.36 Akaike Information Criterion = 181.6; $P < 0.000007$ (Figure 1)]. For rs7041

polymorphism, an association was observed with poorer response to treatment with cinacalcet in the same models, with the best fit achieved in the over-dominant model (A/C; OR = 0.38; 95% CI 0.19–0.77; AIC = 197.9; $P < 0.0055$; Supplementary data). Haplotype association with response to treatment with cinacalcet was observed for rs4588-T/rs7041-C (freq = 26%; OR = 0.35; 95% CI 0.19–0.67; $P = 0.0016$; Supplementary data). PTH concentration comparisons for each rs4588 genotype before and after cinacalcet treatment, as well as number of responders for each genotype, are shown in Figure 1. Moreover, when performing multivariate analysis, rs4588 polymorphism was obtained, along with baseline albumin, 25(OH)D and ferritin, as an independent predictor of serum PTH concentration [B coefficients for heterozygous and T/T homozygous carriers 166.9 ($P < 0.001$) and 173.1 ($P = 0.014$), respectively] and these findings were also observed when restricting the analysis to haemodialysis patients (Supplementary data). As expected, although the initial dose of cinacalcet was the same in all patients (30 mg/day), non-responders after 12 months required a higher dose than responders in order to reduce PTH levels. However, this parameter cannot be considered in a multivariate analysis as it has no predictive value.

Although the interplay between the calcium and vitamin D metabolism is not fully understood, genome-wide association studies have reported that polymorphisms from both pathways are implicated in serum PTH concentrations [7]. This finding raises the possibility that the effect of cinacalcet on PTH could be genetically determined by vitamin D transport and metabolism. Figure 1 in fact illustrates that, regardless of the genotype, cinacalcet treatment lowers PTH concentration and also suggests that T-allele confers resistance to cinacalcet in a dominant manner, as prior to its treatment T-allele

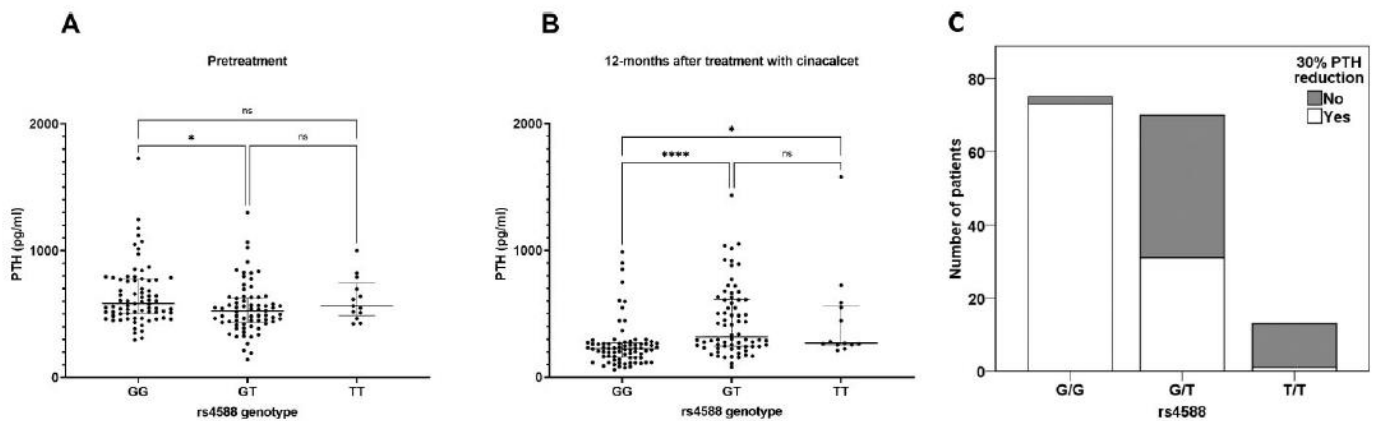


FIGURE 1: PTH concentrations before and after 12 months of treatment with cinacalcet according to the distribution of rs4588 genotypes and response to cinacalcet. **(A)** Before treatment, GG homozygous patients showed higher PTH concentration than heterozygous (adjusted $P = 0.013$). For a clearer representation, an outlier of 2773 pg/mL of a GG patient was removed from the graph. **(B)** After treatment, GG homozygous patients showed lower PTH levels than heterozygous or TT homozygous (adjusted $P < 0.0001$ and 0.0143 , respectively). **(C)** Number of responders/non-responders to cinacalcet according to rs4588 genotypes. Note that the association is dependent on the number of the T-allele.

carriers did not show higher PTH levels than G-allele carriers.

It is worth mentioning that rs4588 T/T genotype was previously associated with the lowest total and free levels of 25(OH)D, which also tends to have the lowest VDBP levels [8, 13, 16–19]; the first association being observed in our series for T-allele carriers ($P = 0.0097$). Interestingly, some authors have reported that T-allele carriers showed a lower response to vitamin D supplementation [9]. Whether the pharmacogenetic role of rs4588 polymorphism affects the response to cinacalcet or cinacalcet plus vitamin D supplement treatments deserves future study. This work has some limitations, such as the limited sample size or the lack of assessment of circulating levels of DBP and its relationship with the DBP gene polymorphisms, although several previous evidences report this association [8, 13, 16–19]. The association reported here, if validated, may partly explain interindividual differences in the response to cinacalcet treatment in CKD-related SHPT patients and may be helpful for dose adjustment.

SUPPLEMENTARY DATA

Supplementary data are available at *ndt* online.

FUNDING

This academic analysis was supported by the institutions of the respective co-authors and the reagents for genotyping were purchased from the funds of the teaching collaborative programme from the University of Murcia, Spain (UMU). Ginés Luengo-Gil holds a grant from the Spanish Society of Hematology and Hemotherapy (Fundación Española de Hematología y Hemoterapia, FEHH).

AUTHORS' CONTRIBUTIONS

R.A., B.A.-G., A.F.-V., M.M.-N., G.A.-F., G.L.-G. and P.C.-Z. collected clinical and biochemical data and performed the genotype analysis. L.C.-S. performed statistical analysis. G.L.-G. and P.C.-Z. performed data analysis and wrote the article.

CONFLICT OF INTEREST STATEMENT

None declared.

REFERENCES

1. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Update Work Group. KDIGO 2017 clinical practice guideline update for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney disease-mineral and bone disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl* 2017; 7: 1–59
2. Torregrosa JV, Bover J, Cannata Andía J. Spanish Society of Nephrology recommendations for controlling mineral and bone disorder in chronic kidney disease patients (S.E.N.-M.B.D.). Introduction. *Nefrología* 2011; 31 (Suppl 1): 1–2
3. Janicic N, Soliman E, Pausova Z *et al.* Mapping of the calcium-sensing receptor gene (CASR) to human chromosome 3q13.3-21 by fluorescence in situ hybridization, and localization to rat chromosome 11 and mouse chromosome 16. *Mamm Genome* 1995; 6: 798–801
4. Bai M. Structure-function relationship of the extracellular calcium-sensing receptor. *Cell Calcium* 2004; 35: 197–207
5. Block GA, Martin KJ, de Francisco ALM *et al.* Cinacalcet for secondary hyperparathyroidism in patients receiving hemodialysis. *N Engl J Med* 2004; 350: 1516–1525
6. Brown EM. Clinical lessons from the calcium-sensing receptor. *Nat Rev Endocrinol* 2007; 3: 122–133
7. Robinson-Cohen C, Lutsey PL, Kleber ME *et al.* Genetic variants associated with circulating parathyroid hormone. *J Am Soc Nephrol* 2017; 28: 1553–1565
8. Schwartz JB, Christopher Gallagher J, Jorde R *et al.* Determination of free 25(OH)D concentrations and their relationships to total 25(OH)D in

- multiple clinical populations. *J Clin Endocrinol Metab* 2018; 103: 3278–3288
9. Al-Daghri NM, Mohammed AK, Bukhari I *et al.* Efficacy of vitamin D supplementation according to vitamin D-binding protein polymorphisms. *Nutrition* 2019; 63–64: 148–154
 10. Jeong S, Kim IW, Oh KH *et al.* Pharmacogenetic analysis of cinacalcet response in secondary hyperparathyroidism patients. *Drug Des Devel Ther* 2016; 10: 2211–2225
 11. Moe SM, Wetherill L, Decker BS *et al.* Calcium-sensing receptor genotype and response to cinacalcet in patients undergoing hemodialysis. *Clin J Am Soc Nephrol* 2017; 12: 1128–1138
 12. Bouillon R, Schuit F, Antonio L, Rastinejad F. Vitamin D binding protein: a historic overview. *Front Endocrinol* 2020; 10: 910
 13. Saarnio E, Pekkinen M, Itkonen ST *et al.* Serum parathyroid hormone is related to genetic variation in vitamin D binding protein with respect to total, free, and bioavailable 25-hydroxyvitamin D in middle-aged Caucasians—A cross-sectional study. *BMC Nutr* 2016; 2: 1–9
 14. Pérez-Ricart A, Galicia-Basart M, Comas-Sugrañes D *et al.* Long-term effectiveness of cinacalcet in non-dialysis patients with chronic kidney disease and secondary hyperparathyroidism. *Kidney Res Clin Pract* 2019; 38: 229–238
 15. Solé X, Guinó E, Valls J *et al.* SNPStats: A web tool for the analysis of association studies. *Bioinformatics* 2006; 22: 1928–1929
 16. Daiger SP, Miller M, Chakraborty R. Heritability of quantitative variation at the group-specific component (Gc) locus. *Am J Hum Genet* 1984; 36: 663–676
 17. Lauridsen AL, Vestergaard P, Nexø E. Mean serum concentration of vitamin D-binding protein (Gc globulin) is related to the Gc phenotype in women. *Clin Chem* 2001; 47: 753–756
 18. Malik S, Fu L, Juras DJ *et al.* Common variants of the vitamin D binding protein gene and adverse health outcomes. *Crit Rev Clin Lab Sci* 2013; 50: 1–22
 19. Constans J, Arlet P, Viau M *et al.* Unusual sialylation of the serum DBP associated with the Gc 1 allele in alcoholic cirrhosis of the liver. *Clin Chim Acta* 1983; 130: 219–230

Received: 14.9.2021; Editorial decision: 6.12.2021