

# Regulación de la producción y liberación de parathormona en la insuficiencia renal crónica: De la biología molecular a la clínica

A. Torres, A. Hernández, M. T. Concepción\* y E. Salido

Laboratorio de Medicina Interna y Biología Molecular. Departamento de Medicina Interna, Universidad de La Laguna. Servicio de Nefrología, Hospital Universitario de Canarias. \*Servicio de Análisis Clínicos, Hospital Virgen de la Candelaria. Tenerife.

## Introducción

El proceso de síntesis de la PTH comienza con la *transcripción* del gen que da lugar a la síntesis de una molécula de RNA. Este transcrito primario sufre una serie de modificaciones en el núcleo (poliadenación y splicing) para convertirse finalmente en *RNA mensajero maduro*. Finalmente, una vez que el mRNA maduro alcanza el citoplasma, tiene lugar la síntesis peptídica a nivel ribosómico. Este es un proceso complejo en el que participan los tres tipos de RNA (tRNA, rRNA, mRNA), resultando destacable el hecho de que un mRNA pueda ser leído por numerosos ribosomas. Los ribosomas adheridos a una misma molécula de mRNA forman lo que se denomina un polisoma, donde aumentará el rendimiento, ya que por cada ribosoma que recorra un mRNA se construirá una cadena peptídica. En otras palabras, se construyen así numerosas cadenas peptídicas a partir de un solo mRNA (fig 1). El péptido así formado es la preproPTH. Después de sufrir varios cortes en su cadena se obtiene la PTH intacta (1-84 aminoácidos). Posteriormente, ésta puede almacenarse en gránulos, degradarse o secretarse a la circulación sistémica (fig 1). Básicamente, los niveles circulantes de la hormona son informativos del proceso de *secreción*. Si lo que pretendemos es analizar el proceso de *síntesis* de la misma, debemos recurrir a medir los niveles de mRNA de preproPTH, ya sea mediante

Northern blot, RT-PCR o ensayo de protección de RNAasa<sup>1</sup>.

Los factores más importantes que regulan la síntesis o/y secreción de PTH son el calcitriol, el calcio y el fósforo, y los analizaremos a continuación de manera pormenorizada.

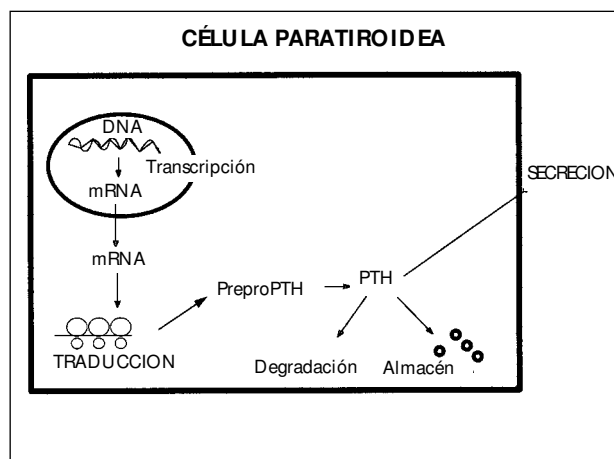


Fig. 1.—Síntesis y secreción de PTH.

## Regulación de la PTH por el calcitriol

En 1984, Slatopolsky y cols.<sup>2</sup> demostraron en enfermos en diálisis que la administración intravenosa de calcitriol disminuye de manera significativa los niveles de PTH antes de que se produzcan modificaciones en los niveles de calcio. Esto sugirió un efecto directo del calcitriol en la liberación de PTH en las paratiroides. Más tarde, Silver y cols.<sup>3</sup> demostraron

Dr. Armando Torres Ramírez.  
Servicio de Nefrología.  
Hospital Universitario de Canarias.  
Ofra, s/n.  
38320 La Laguna. Tenerife.

por vez primera, en células bovinas paratiroides en cultivo, que tras 48 horas de incubación con calcitriol se produce un descenso de los niveles de mRNA de PTH del 50 %. Esto fue confirmado posteriormente en estudios *in vivo* en la rata<sup>4</sup>. En este estudio se demostró además, mediante experimentos *run-off* de transcripción nuclear, que el calcitriol inhibe la transcripción del gen de la preproPTH. Este efecto se localiza en el flanco 5' del gen y no precisa de la síntesis de proteínas<sup>5</sup>. Todos estos estudios demostraron claramente que el calcitriol tiene un efecto directo sobre las paratiroides independiente de los niveles de calcio, consistente en una inhibición de la transcripción y, por tanto, de la síntesis de mRNA de preproPTH.

Shvil y cols.<sup>6</sup> demostraron más tarde que la insuficiencia renal producida mediante nefrectomía 5/6 en la rata induce una elevación de los niveles de mRNA de preproPTH. La administración de calcitriol resultó en un descenso dosis-dependiente de los mismos, tanto en las ratas sham como en las insuficientes renales. Finalmente, Reichel y cols.<sup>7</sup> han demostrado en un trabajo reciente que este efecto inhibitorio del calcitriol sobre la síntesis de PTH en la rata es más marcado cuando se administra en bolos intermitentes en lugar de infusión continua.

Szabo y cols.<sup>8</sup> han demostrado que el calcitriol administrado profilácticamente desde la producción de la insuficiencia renal en la rata inhibe eficazmente la incorporación de timidina tritiada y las mitosis, al tiempo que disminuye el peso de la glándula paratiroidea. Sin embargo, este efecto inhibitorio de la proliferación celular se pierde cuando se comienza el tratamiento después de 21 días de inducir la insuficiencia renal. Esto tiene importantes implicaciones prácticas y sugiere que cuando se adquiere una magnitud crítica de hiperplasia glandular, el calcitriol pierde su eficacia. De ahí que nos parezcan de interés prioritario aquellos estudios clínicos dirigidos a definir el perfil de los enfermos en diálisis con hiperparatiroidismo secundario severo, con un grado de hiperplasia crítico y que no van a responder a medio plazo al tratamiento con bolos de calcitriol. En estos enfermos estaría indicada la paratiroidectomía y se evitarían los riesgos del tratamiento con calcitriol, no siempre bien advertidos en la literatura, como son la hipercalcemia y las calcificaciones de partes blandas.

En resumen, el calcitriol inhibe la síntesis de PTH, y este efecto es más eficaz cuando se administra en bolos intermitentes que de forma continua. Además, la administración temprana de calcitriol previene la hiperplasia de la glándula. Por último, el clínico debe guiarse con los niveles circulantes de PTH intacta con el fin de evitar la enfermedad ósea adinámica o

grados significativos de hiperparatiroidismo y decidir adecuadamente el tratamiento con calcitriol<sup>9,10</sup>.

### Receptor de calcitriol en la paratiroides

El efecto a nivel de la transcripción génica del calcitriol está mediado por una proteína citosólica, el receptor de calcitriol (VDR). La respuesta de la célula diana al calcitriol está mediada por su contenido en VDR<sup>11</sup>. Merke y cols.<sup>12</sup> han demostrado en ratas urémicas que el contenido paratiroideo de VDR está reducido aproximadamente a la mitad en relación a los animales control con función renal normal (sham). Esto tiene una gran trascendencia, pues la disminución del número de receptores condiciona una menor respuesta inhibitoria al calcitriol, cuyos niveles circulantes se encuentran además disminuidos en la uremia.

Patel y cols.<sup>13</sup> han demostrado recientemente que cuando a ratas con función renal normal se les infunde ultrafiltrado de pacientes urémicos se produce un descenso notable en el contenido de VDR a nivel intestinal. Aunque aún no esté formalmente probado, es muy probable que este efecto de la «uremia» *per se* ocurra de manera similar a nivel paratiroideo. Los mecanismos implicados no están claros, aunque inicialmente se pensó en una acción a nivel transcripcional. En otras palabras, se barajó la hipótesis de que la uremia bloquea la transcripción del gen VDR disminuyendo su producto final, la proteína VDR. Sin embargo, disponemos de poca información en este sentido. Shvil y cols.<sup>6</sup> demostraron que las ratas urémicas desarrollan un aumento considerable del mRNA de preproPTH, sin modificarse el mRNA de VDR paratiroideo. Esto sugiere que en la uremia existe un desbalance entre la síntesis de PTH y la de VDR en la glándula, o, dicho de otra manera, que la síntesis de receptores es subóptima para ese grado de hiperparatiroidismo. A nivel intestinal, Patel y cols.<sup>13</sup> han confirmado que la proteína (el VDR) está disminuida en la uremia, pero el mRNA de VDR no sólo no se encuentra disminuido, sino aumentado. Este hallazgo sugiere que el déficit de VDR en la uremia se produce por un mecanismo postranscripcional, al menos a nivel intestinal. Sin duda, se requieren estudios adicionales que confirmen estas discrepancias.

El tratamiento con calcitriol induce a las 24 horas un aumento significativo de los niveles de mRNA de VDR en la paratiroides de ratas con función renal normal<sup>14</sup>. Además, la cantidad de VDR a nivel intestinal aumenta tras el tratamiento con calcitriol tanto en ratas urémicas como en las controles con función renal normal<sup>13</sup>, aunque en este estudio disminuyeron paralelamente los niveles de mRNA de VDR.

Independientemente del mecanismo subyacente, lo relevante es que el calcitriol produce una «sobre-regulación» (up-regulation) de sus propios receptores, con lo que se potencia su efecto inhibitorio sobre la síntesis de PTH.

### Regulación de la PTH por el calcio

La hipocalcemia es el estímulo fundamental para la secreción rápida de PTH (2-3 minutos), y entre los niveles extracelulares de calcio iónico y de PTH existe una relación sigmoidal bien definida<sup>15</sup>. En la uremia existe un desplazamiento de esta curva a la derecha, de tal manera que para un mismo nivel de calcio la PTH es más elevada<sup>15</sup>. Los cambios de los niveles de calcio no sólo afectan la secreción de PTH, sino también su síntesis. En efecto, Yamamoto y cols.<sup>16</sup> han demostrado *in vivo* en la rata que en la hipocalcemia prolongada (48 horas) se duplican los niveles de mRNA de preproPTH, mientras que en la hipercalcemia disminuyen significativamente. De la misma manera, estos autores demostraron una relación inversa entre calcemia y niveles de mRNA de preproPTH<sup>16</sup>.

Durante el tratamiento con calcitriol en bolos en los enfermos en hemodiálisis es necesario recurrir con frecuencia al uso de baños de diálisis con bajo contenido de calcio, con el fin de evitar la hipercalcemia. Debido al balance cálcico negativo, se ha documentado una elevación de los niveles de PTH al final de la diálisis<sup>17</sup>. Además de este efecto agudo sobre la secreción, no se puede descartar que una hipocalcemia intermitente de 3-5 horas de duración tres veces por semana, durante un período prolongado, estimule además la transcripción y, por tanto, la síntesis de PTH. Esto debe tenerse en cuenta en aquellos enfermos con hiperparatiroidismo severo y tendencia a la hipercalcemia a la hora de tratarlos con calcitriol.

Desde hace unos años se sabe que a nivel paratiroideo existe un *receptor específico de calcio* que actúa como un sensor de sus niveles extracelulares y que produce modificaciones de la fosfolipasa C de membrana y secundariamente de los niveles de IP<sub>3</sub> y calcio intracelulares<sup>18</sup>. Brown y cols.<sup>18</sup> han clonado recientemente el gen de este receptor, lo cual seguramente condicionará avances importantes sobre los mecanismos moleculares de muchas enfermedades o patologías. Así, se ha demostrado que la hipercalcemia hipocalciúrica familiar y su forma homocigota, el hiperparatiroidismo neonatal severo, así como la hipocalcemia autosómica dominante, obedecen a una mutación en dicho gen<sup>19</sup>. Por otro lado, una disminución o alteración de dicho receptor pueden justificar el desplazamiento a la derecha de la relación

sigmoidal calcio-PTH en la uremia. Sin embargo, tanto Fox y cols.<sup>20</sup> como nosotros mismos (fig. 2) no hemos observado una disminución del mRNA del receptor paratiroideo de calcio en la uremia. Esto sugiere que, de existir un efecto de la uremia sobre dicho receptor, debe estar localizado a nivel postranscripcional.

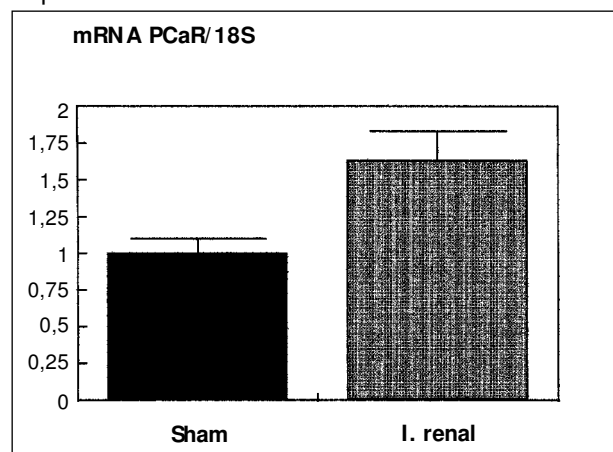


Fig. 2.—Niveles de mRNA (densidad óptica) del receptor paratiroideo de calcio corregidos por el RNA 18S y el tamaño de la glándula en ratas con función renal normal/sham y con nefrectomía 5/6.

### Efecto del fósforo sobre la PTH

La retención de fósforo en la insuficiencia renal es también un factor importante en la génesis del hiperparatiroidismo secundario. Este efecto de la hiperfosforemia está condicionado por la hipocalcemia, descenso de los niveles de calcitriol y resistencia esquelética a la acción de la PTH<sup>21</sup>. Sin embargo, López-Hilker y cols.<sup>22</sup> han demostrado que en animales urémicos la restricción de fósforo disminuye los niveles de PTH de manera independiente a cambios en los niveles de calcio o calcitriol, y recientemente Slatopolsky y cols. han confirmado que esta misma maniobra reduce además los niveles de mRNA de preproPTH<sup>23</sup>. Nosotros hemos analizado la respuesta de ratas con función renal normal a una dieta de alto contenido de fósforo (calcio, 0,6%; fósforo, 1,2 %) durante 18 días, comparándola con un grupo control que recibía una dieta estándar (calcio, 0,6 %; fósforo, 0,6 %). Al final del experimento, los niveles de calcio, fósforo y calcitriol fueron similares en ambos grupos de ratas gracias a la elevación significativa de los niveles de PTH en el grupo con dieta de alto contenido de fósforo (fig. 3). Por último, las

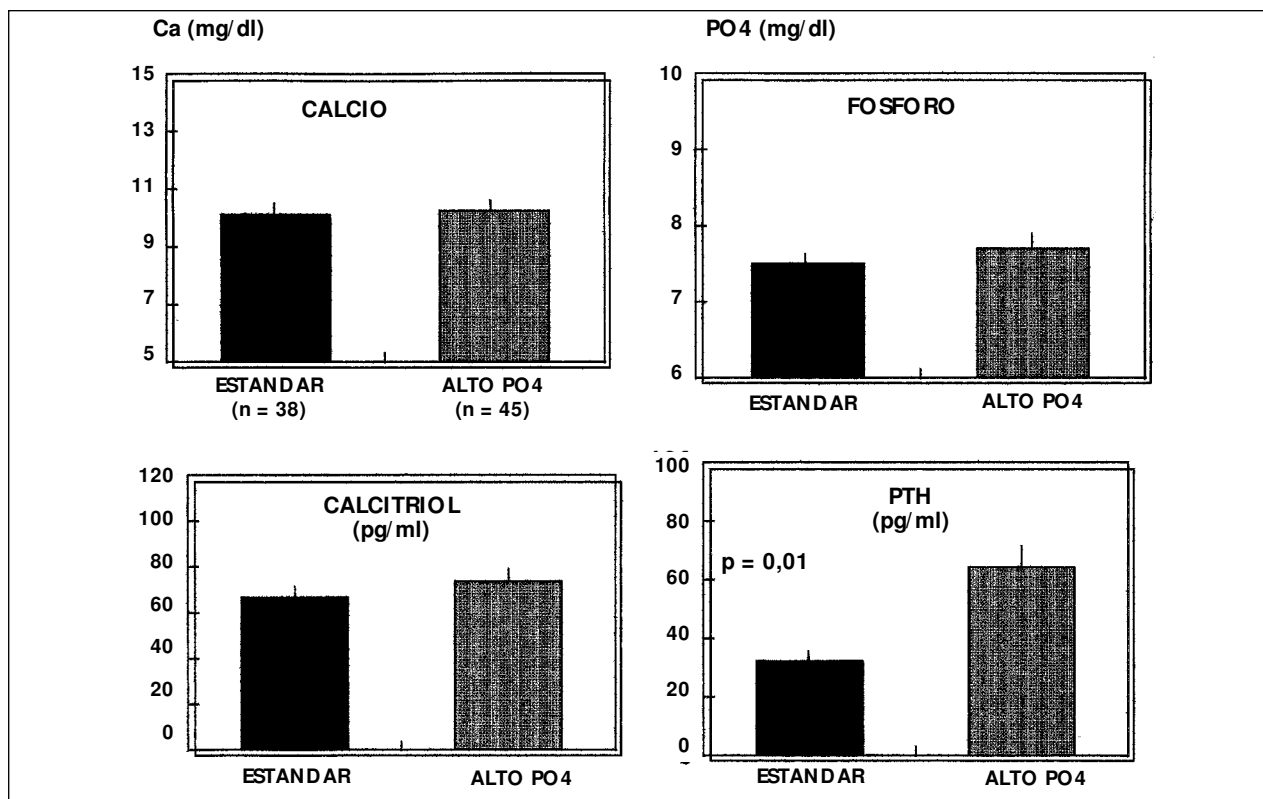


Fig. 3.-Niveles de calcio, fósforo, calcitriol y PTH en ratas con función renal normal alimentadas con dieta estándar o de alto fósforo.

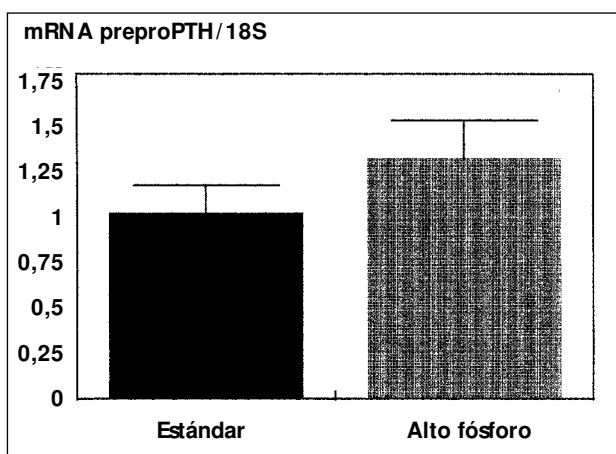


Fig. 4.-Niveles de mRNA (densidad óptica) de preproPTH corregidos para el RNA 18S y el tamaño de la glándula en ratas con función renal normal alimentadas con dieta estándar o de alto fósforo.

ratas con dieta de alto fósforo mostraron unas glándulas de mayor tamaño (1,32 veces) y unos mayores niveles de mRNA de preproPTH corregidos para el RNA 18S y el tamaño de la glándula (fig 4). En resumen, to-

dos estos datos sugieren que el fósforo puede afectar la síntesis y secreción de PTH de manera independiente a cambios en los niveles de calcio o calcitriol.

A nivel clínico, este efecto directo del fósforo queda reflejado por la mala respuesta al tratamiento con bolos de calcitriol de aquellos enfermos con un mal control de los niveles de fósforo. Además, varios estudios recientes han demostrado que la hiperfosforemia es un excelente marcador de los enfermos refractarios al tratamiento con bolos de calcitriol <sup>24-26</sup>.

#### Agradecimientos

Este trabajo ha sido realizado dentro del Proyecto FIS92/0153 del Ministerio de Sanidad y Consumo.

#### Bibliografía

1. Hernández A, Martín Vasallo P, Torres A y Salido E: Análisis del RNA: Estudio de la expresión génica. *Nefrología* 14:145-162, 1994.
2. Statopolsky E, Weerts C, Thielan J, Horst R, Harte H y Martin K.J: Marked suppression of secondary hyperparathyroidism by intravenous administration of 1,25 dihydroxycholecalciferol in uremic patients. *J Clin Invest* 74:2136-2143, 1984.

3. Silver J, Russell Jy Sherwood LM: Regulation by vitamin D metabolites of messenger RNA for pre-parathyroid hormone in isolated bovine parathyroid cells. *Proc Natl Acad Sci USA* 82:4270-4273, 1985.
4. Silver J, Naveh-Many T, Mayer H, Schmeizer HJy Popovtzer MM: Regulation by vitamin D metabolites of parathyroid gene transcription in vivo in the rat. *J Clin Invest* 78:1296-1301, 1986.
5. Okazaki T, Igarashi T y Kronenberg HM: 5'-flanking region of the parathyroid hormone gene mediates negative regulation by 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub>. *J Biol Chem* 263:2203-2208, 1988.
6. Shvil Y, Naveh-Many T, Barach P y Silver J Regulation of parathyroid cell gene expression in experimental uremia. *JAM Soc Nephrol* 1:99-104, 1990.
7. Reichel H, Szabo A, Uhl J, Pesian S, Schmutz A, Schmidt-Gayk y Ritz E: Intermittent versus continuous administration of 1,25 dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in experimental renal hyperparathyroidism. *Kidney Int* 44:1259-1265, 1993.
8. Szabo A, Merke J, Beier E, Mall G y Ritz E: 1,25(OH)<sub>2</sub> vitamin D<sub>3</sub> inhibits parathyroid cell proliferation in experimental uremia. *Kidney Int* 35:1049-1056, 1989.
9. Hernández D, Concepción MT, Lorenzo V, Martínez ME, Rodríguez A, De Bonis E, González-Posada JM, Felsenfeld A, Rodríguez M y Torres A: Non-aluminic aplastic bone disease in predialysis patients: Prevalence and evolution after maintenance dialysis. *Nephrol Dial Transpl* 9:517-523, 1994.
10. Torres A, Lorenzo V, Hernández D, Rodríguez JC, Concepción MT, Rodríguez AP, Hernández A, De Bonis E, Darias E, González-Posada JM, Losada M, Rufino M, Felsenfeld AJy Rodríguez M: Bone disease and intact PTH levels in predialysis, hemodialysis, and CAPD patients: Evidence of a better bone response to PTH in hemodialysis patients. *Kidney Int* (en revisión).
11. Hunziker W, Walters MR, Bishop JE y Norrnan AW: Effect of vitamin D status on equilibrium between occupied and unoccupied 1,25-dihydroxyvitamin D intestinal receptors in the chick. *J Clin Invest* 69:826-834, 1982.
12. Merke J, Hügel U, Zlotkowski A, Szabó A, Bommer J, Mall G y Ritz E: Diminished parathyroid 1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> receptors in experimental uremia. *Kidney Int* 32:350-353, 1987.
13. Patel SR, Ke HQ y Hsu CH: Regulation of calcitriol receptor and its mRNA in normal and renal failure rats. *Kidney Int* 45:1020-1027, 1994.
14. Naveh-Many T, Marx R, Keshet E, Pike JW y Silver J Regulation of 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> receptor gene expression by 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> in the parathyroid in vivo. *J Clin Invest* 86:1968-1975, 1990.
15. Brown EM, Wilkson RE, Eastman RC, Pallotta Jy Marynick SP: Abnormal regulation of parathyroid hormone release by calcium in secondary hyperparathyroidism due to chronic renal failure. *J Clin Endocrinol Metab* 54:172-179, 1982.
16. Yamamoto M, Igarashi T, Muramatsu M, Fukagawa M, Motokura T y Ogata E: Hypocalcemia increases and hypercalcemia decreases the steady-state level of parathyroid hormone messenger RNA in the rat. *J Clin Invest* 83:1053-1056, 1989.
17. Fernández E, Borrás M, Betriu A, País B y Montoliu J: Balance negativo de calcio y efecto estimulador del dializado bajo en calcio (2,5 mEq/L) sobre el hiperparatiroidismo secundario (HP2°). *Nefrología* 14(S3):57, 1994 (Abstract).
18. Brown EM, Gamba G, Riccardi D, Lombardi M, Butters R, Kiford O, Sun A, Hediger M, Lytton Jy Hebert S: Cloning and characterization of an extracellular Ca<sup>2+</sup>-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature* 366:575-580, 1993.
19. Pollack MR, Brown EM, Wu YH, Hebert SC, Seidman CE y Seidman JG: Mutations in the human Ca<sup>2+</sup>-sensing receptor gene cause familial hypocalciuric hypercalcemia, neonatal severe hyperparathyroidism, and autosomal dominant hypocalcemia. *JAM Soc Nephrol* 5:871, 1994 (Abstract).
20. Fox J, Brown EM, Hebert SC y Rogers K: Parathyroid gland calcium receptor gene expression is unaffected by chronic renal failure or low dietary calcium in rats. *JAM Soc Nephrol* 5:879, 1994 (Abstract).
21. Rodríguez M, Martín-Malo A, Martínez ME, Torres A, Felsenfeld AJy Llach F: Calcemic response to parathyroid hormone in renal failure: Role of phosphorus and its effect on calcitriol. *Kidney Int* 40:1055-1062, 1991.
22. López-Hilker S, Dusso A, Rapp N, Martín KJy Slatopolsky E: Phosphorus restriction reverses secondary hyperparathyroidism in chronic renal failure independent of changes in calcium and 1,25 dihydroxycholecalciferol. *Am J Physiol* 259:F432-437, 1990.
23. Slatopolsky E, Finch J, Ritter C, Zhong M, Denda M, Dusso A, MacDonald P y Brown A: Dietary phosphate restriction suppresses preproPTH mRNA independent of 1,25-(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> and ionized calcium in renal failure. *JAM Soc Nephrol* 5:889, 1994 (Abstract).
24. Quarles LD, Yohay DA, Carrol BA, Spritzer CE, Minda SA, Bartholomay D y Lobaugh BA: Prospective trial of pulse oral versus intravenous calcitriol treatment of hyperparathyroidism in ESRD. *Kidney Int* 45: 1710-1721, 1994.
25. Goggins MO, Rao DS, Bhat S, Zasuwa G y Narins RG: Hyperphosphatemia predicts a poor response to i.v. calcitriol in hemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *JAM Soc Nephrol* 5:879, 1994 (Abstract).
26. Lorenzo V, Rodríguez AP, Hernández D, Concepción MT, De Bonis E, González-Posada JM y Torres A: Pulsoterapia con calcitriol posthemodiálisis: Oral vs intravenoso. Eficacia y limitaciones. *Nefrología* 12(S):53-57, 1993.