

Revisión

Bodas de plata: 25 años de la primera demostración del efecto directo del fósforo en la célula paratiroidea

Jordi Bover^{a,*}, Pedro Trinidad^b, Aquiles Jara^c, Jordi Soler-Majoral^a, Alejandro Martín-Malo^d, Armando Torres^e, João Frazão^f, Pablo Ureña^g, Adriana Dusso^h, Carolt Aranaⁱ, Fredzzia Graterol^a, Gregorio Romero^a, Maribel Troya^a, Diana Samaniego^a, Luis D'Marco^j, José Manuel Valdivielso^k, Elvira Fernández^{k,l}, María Dolores Arenas^m, Vicente Torregrosaⁱ, Juan F. Navarro-Gonzálezⁿ, María Jesús Lloret^o, J.A. Ballarín^o, Ricardo J. Bosch^p, José L. Górriz^q, Angel Luis Martín de Francisco^r, Orlando Gutiérrez^s, Jordi Ara^a, Arnold Felsenfeld^t, Antonio Canalejo^u e Yolanda Almadén^v

^a Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Germans Trias i Pujol, RICORS, Institut d'Investigació en Ciències de la Salut Germans Trias i Pujol (IGTP), Universitat Autònoma de Barcelona, Badalona, Barcelona, España

^b Departamento de Nefrología, HECMN siglo XXI, IMSS, Ciudad de México, México

^c Departamento de Nefrología, Facultad de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile

^d Unidad de Gestión Clínica Nefrología, Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC), Hospital Universitario Reina Sofía, Universidad de Córdoba, España, Red Nacional de Investigación en Nefrología (REDinREN), Instituto de Salud Carlos III, España

^e Servicio de Nefrología, Hospital Universitario de Canarias, Instituto de Tecnologías Biomédicas, Universidad de La Laguna, Tenerife, España

^f Department of Nephrology, Centro Hospitalar Universitário São João, Institute for Innovation and Health Research (I3S), Institute of Biomedical Engineering (INEB), Nephrology and Infectious Diseases Research Group, University of Porto, Porto, Portugal

^g AURA Nord Saint Ouen Dialysis Service, Saint Ouen, Francia y Service d'Explorations Fonctionnelles Rénales, Hôpital Necker, Université Paris V, René Descartes, París, Francia

^h Division of Endocrinology, Metabolism and Lipid Research, Washington University School of Medicine, St Louis, MO, EE. UU.

ⁱ Departamento de Nefrología y Trasplante Renal, Hospital Clínic, Barcelona, España

^j CEU Cardenal Herrera University, Valencia, España

^k Vascular and Renal Translational Research Group, Biomedical Research Institute, IRBLLEIDA, Lleida, España, Red Nacional de Investigación en Nefrología (REDinREN, RETIC), Instituto de Salud Carlos III, España

^l Grupo de Investigación Traslacional Vascular y Renal, Fundación Renal Jaume Arnó, Lleida, España

^m Servicio de Nefrología, Fundación Renal Iñigo Álvarez de Toledo, Madrid, España

ⁿ Unidad de Investigación y Servicio de Nefrología, Hospital Universitario Nuestra Señora de la Candelaria; Instituto Universitario de Tecnologías Biomédicas, Universidad de La Laguna, Santa Cruz de Tenerife, España, Red Nacional de Investigación en Nefrología (REDinREN, RICORS), Instituto de Salud Carlos III, España

^o Servicio de Nefrología, Fundació Puigvert, IIB Sant Pau, Barcelona, España

^p Unidad de Fisiología, Departamento de Biología de Sistemas, Facultad de Medicina, Universidad de Alcalá, Alcalá de Henares, Madrid, España

* Autor de correspondencia.

Correo electrónico: jbover.ics@gencat.cat (J. Bover).

<https://doi.org/10.1016/j.nefro.2021.12.005>

0211-6995/© 2022 Sociedad Española de Nefrología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

^q Servicio de Nefrología, Hospital Clínico Universitario, INCLIVA, Universidad de Valencia, Valencia, España

^r Universidad de Cantabria, Santander, España

^s Division of Nephrology, Department of Medicine, Universidad de Alabama en Birmingham, Birmingham, EE. UU.

^t Department of Medicine, Veterans Affairs Greater Los Angeles Healthcare System and David Geffen School of Medicine, University of California, Los Angeles, California, EE. UU.

^u Departamento de Ciencias Integradas/Centro de investigación RENSMA, Facultad de Ciencias Experimentales, Universidad de Huelva, Huelva, España

^v Instituto Maimónides de Investigación Biomédica de Córdoba (IMIBIC), Hospital Universitario Reina Sofía, Universidad de Córdoba, Córdoba, España

INFORMACIÓN DEL ARTÍCULO

On-line el xxx

Palabras clave:

Fósforo

Fosfato

Hormona paratiroidea

PTH

Receptor de la PTH

CKD-MBD

Paratiroides

R E S U M E N

Aunque el fósforo es un elemento indispensable para la vida, en la naturaleza no se encuentra en estado nativo sino combinado en forma de fosfatos inorgánicos (PO_4^{3-}), con niveles plasmáticos estrechamente regulados que se asocian a efectos deletéreos y mortalidad cuando estos se encuentran fuera de la normalidad. El interés creciente sobre el acúmulo de PO_4^{3-} en la fisiopatología humana se originó en el papel que se le atribuyó en la patogenia del hiperparatiroidismo secundario a la enfermedad renal crónica. En este artículo revisamos los mecanismos por los cuales se justificaba dicho efecto y conmemoramos la importante contribución de un grupo español liderado por el Dr. M. Rodríguez, ahora hace justo 25 años, cuando demostraron por primera vez el efecto directo del PO_4^{3-} sobre la regulación de la síntesis y secreción de hormona paratiroidea (manteniendo la integridad estructural de las glándulas paratiroides en su nuevo modelo experimental. Además de demostrar la importancia del ácido araquidónico (AA) y la vía de la fosfolipasa A2-AA como mediadora de respuestas en la glándula paratiroidea, estos hallazgos fueron predecesores de la reciente descripción del importante papel del PO_4^{3-} sobre la actividad del receptor-sensor de calcio y alimentaron asimismo diversas líneas de investigación sobre la importancia de la sobrecarga de PO_4^{3-} , no solo en la fisiopatología del hiperparatiroidismo secundario sino también en su papel patogénico sistémico.

© 2022 Sociedad Española de Nefrología. Publicado por Elsevier España, S.L.U. Este es un artículo Open Access bajo la licencia CC BY-NC-ND (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Silver jubilee: 25 years of the first demonstration of the direct effect of phosphate on the parathyroid cell

A B S T R A C T

Although phosphorus is an essential element for life, it is not found in nature in its native state but rather combined in the form of inorganic phosphates (PO_4^{3-}), with tightly regulated plasma levels that are associated with deleterious effects and mortality when these are out of bounds. The growing interest in the accumulation of PO_4^{3-} in human pathophysiology originated in its attributed role in the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism in chronic kidney disease. In this article, we review the mechanisms by which this effect was justified and we commemorate the important contribution of a Spanish group led by Dr. M. Rodríguez, just 25 years ago, when they first demonstrated the *direct* effect of PO_4^{3-} on the regulation of the synthesis and secretion of parathyroid hormone by maintaining the structural integrity of the parathyroid glands in their original experimental model. In addition to demonstrating the importance of arachidonic acid (AA) and the phospholipase A2-AA pathway as a mediator of parathyroid gland response, these findings were predecessors of the recent description of the important role of PO_4^{3-} on the activity of the calcium sensor-receptor, and also fueled various lines of research on the importance of PO_4^{3-} overload not only for the pathophysiology of secondary hyperparathyroidism but also of its systemic pathogenic role.

© 2022 Sociedad Española de Nefrología. Published by Elsevier España, S.L.U. This is an open access article under the CC BY-NC-ND license (<http://creativecommons.org/licenses/by-nc-nd/4.0/>).

Keywords:

Phosphorus

Phosphate

Parathyroid hormone

PTH

PTH receptor

CKD-MBD

Parathyroid gland

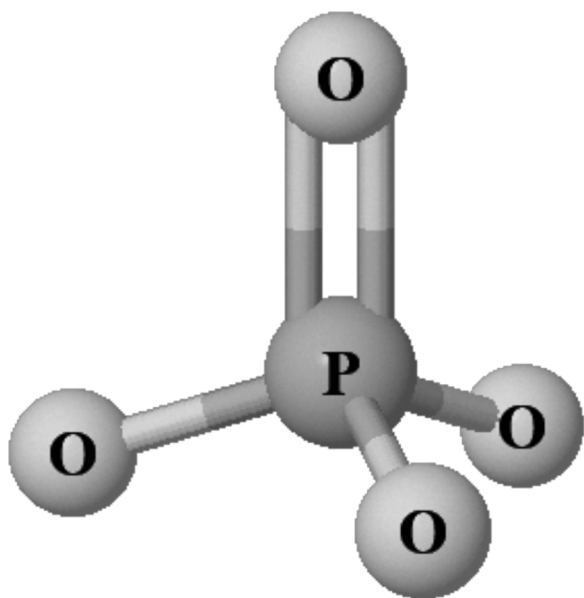


Figura 1 – Estructura molecular del anión fosfato (ésteres de ácido fosfórico): compuesto por un átomo de fósforo y átomos de oxígeno en forma tetraédrica. Realizada con el JSME Molecular Editor (<http://biomodel.uah.es/en/DIY/JSME/draw.en.htm>).

Introducción

El fósforo (P), (en griego *phos phorus* o portador de luz), es un elemento indispensable (número atómico 15, peso molecular 30,9 u) que se encuentra en todos los organismos vivos. En estos tiene una doble función: a) estructural, en los ácidos nucleicos (ADN y ARN), las membranas celulares (fosfolípidos) y la fase mineral del hueso (junto al calcio constituye los cristales de hidroxiapatita); b) reguladora, constituyendo el principal intermediario energético en procesos celulares como el metabolismo y activación de proteínas (fosforilación), participando en la curva de disociación del oxígeno de la hemoglobina (2,3-difosfoglicerato) y en procesos de señalización celular (segundos mensajeros como el AMP y GMP cíclicos). En la naturaleza, incluidos los seres vivos, el fósforo no se encuentra en estado nativo, sino combinado principalmente en forma de diversos fosfatos inorgánicos (PO_4^{3-}) (fig. 1), no inflamables, siendo esta la forma en que medimos los niveles de fósforo en el organismo. Su importancia biológica determina que los niveles de PO_4^{3-} deban estar estrictamente controlados dentro de un rango fisiológico óptimo y que fuera de este se asocie con efectos deletéreos. De este modo, múltiples estudios epidemiológicos muestran que no solo su carencia es causa de patología, sino que también niveles de PO_4^{3-} elevados (incluso en rangos de normalidad) se han asociado de forma independiente con enfermedad cardiovascular y mortalidad en la población general y, especialmente, en pacientes con enfermedad renal crónica (ERC), ya sea en diálisis o no¹⁻⁷.

Si consideramos que los riñones tienen un papel fundamental en la regulación del PO_4^{3-} , las alteraciones de su homeostasis en la ERC son esperables debido a que el balance

depende de su ingesta y excreción. El acúmulo intra- y extracelular de PO_4^{3-} tiene un rol esencial no solo en la patogenia del hiperparatiroidismo secundario (HPTS) y del complejo *chronic kidney disease-mineral and bone disorders* (CKD-MBD) sino que además, directa o indirectamente, se puede considerar como un factor de riesgo (no clásico) de morbilidad cardiovascular e incluso infecciosa, a través de diversos mecanismos como la inflamación, el estrés oxidativo, las calcificaciones vasculares y valvulares o la fibrosis miocárdica, así como también parece contribuir a la disfunción celular del sistema inmune, a la arterioesclerosis-ateromatosis e incluso al envejecimiento acelerado en los pacientes con ERC^{1,8-10}. Recientemente ha tomado también relevancia el papel del PO_4^{3-} y los microcristales de fosfato cálcico en la luz tubular renal no solo como efecto secundario sino también como factor causal de la propia progresión de la ERC^{11,12}.

No obstante, el interés creciente sobre el acúmulo de PO_4^{3-} en la fisiopatología humana se originó en el papel que se le atribuyó en la mencionada patogenia del HPTS. Por ello, el objetivo de este artículo es revisar los mecanismos por los cuales se justificaba dicho efecto y conmemorar la importante contribución de un grupo español a la primera demostración en estudios experimentales del efecto directo del PO_4^{3-} sobre la regulación de la síntesis y secreción de hormona paratiroidea (PTH) en las glándulas paratiroides, ahora hace justo 25 años¹³.

El fósforo en la patogenia del hiperparatiroidismo secundario: mecanismos indirectos

Durante muchos años ha existido un gran debate, casi bipolar, sobre si la retención de PO_4^{3-} o la disminución de la síntesis de calcitriol ($1,25\text{-(OH)}_2\text{-vitamina D}$), presentes ambos en los pacientes con ERC, eran los factores iniciadores o más importantes en la patogenia del HPTS¹⁴⁻¹⁶. Hace ahora exactamente cinco décadas (bodas de oro), Slatopolsky et al.¹⁴ observaron un incremento significativo de la PTH en un modelo experimental en perros con ERC alimentados con una dieta alta en PO_4^{3-} . La interpretación de estos hallazgos fue que elevaciones transitorias de PO_4^{3-} posprandiales disminuirían el calcio ionizado en sangre, y esta disminución de calcio sería la que estimularía la secreción de PTH. El aumento de PTH no solo normalizaría los niveles de calcio, sino que también disminuiría la reabsorción tubular de fósforo, con el consiguiente incremento de la fosfatúria, y así se normalizarían los valores séricos de ambos iones a expensas de la elevación de la PTH sérica. Ulteriores disminuciones del filtrado glomerular (FG), conducirían a un aumento progresivo de los valores de PTH necesarios para normalizar las cifras de calcio y PO_4^{3-} en sangre. Estas observaciones constituyeron la «*trade-off hypothesis*» («hipótesis del trueque» o elevación de PTH –y sus efectos deletéreos consecuentes– a expensas de intentar mantener la homeostasis del calcio y PO_4^{3-})^{17,18} (fig. 2). Estos mismos autores demostraron en otro estudio experimental que la reducción proporcional en la ingesta de PO_4^{3-} ajustada a la disminución gradual del FG fue capaz de prevenir el HPTS, evidenciado por la presencia de niveles plasmáticos normales de calcio, PO_4^{3-} , PTH y reabsorción tubular de

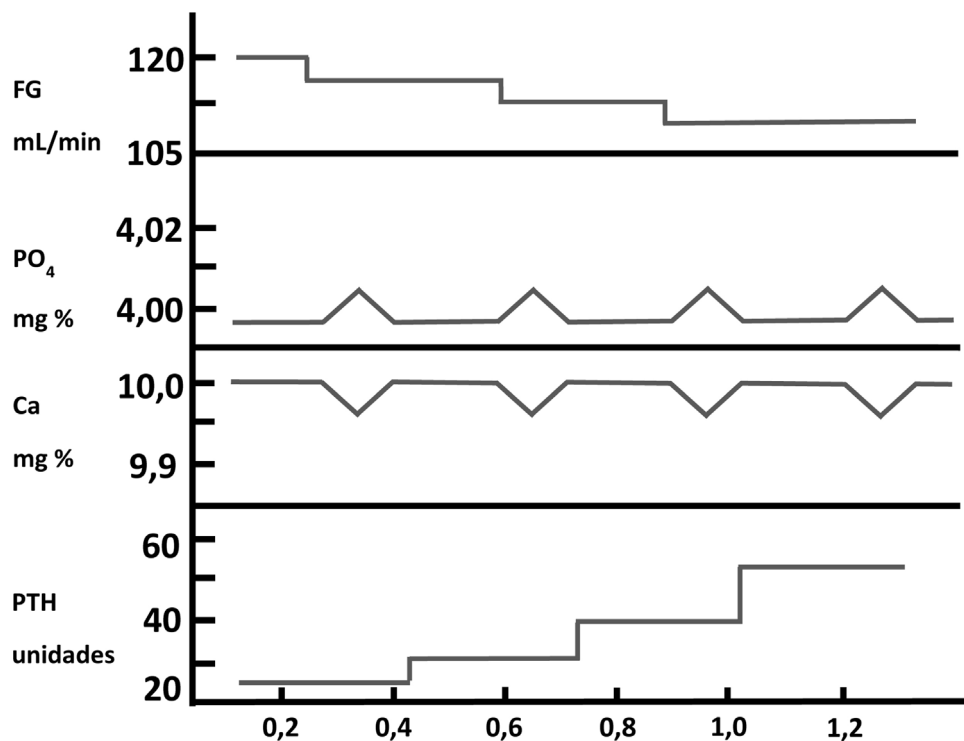


Figura 2 – Patogénesis del hiperparatiroidismo secundario en la enfermedad renal crónica. Representación de la «trade-off hypothesis». Adaptada de Bricker et al.¹⁸).

fósforo en comparación con los controles¹⁹. En este modelo experimental, la explicación a las observaciones realizadas se fundamentaron en que no era necesaria la adaptación de las nefronas remanentes al estadio de ERC, en el que dichas nefronas deben responder a una mayor fracción de excreción renal de PO_4^{3-} con una disminución de su reabsorción tubular (como suele suceder en la ingesta no ajustada de PO_4^{3-} u otros elementos)²⁰. Esta hipótesis fue postulada por Bricker bajo la denominada «hipótesis de la nefrona intacta»²⁰ y los hallazgos sugirieron entonces que una ingesta constante de PO_4^{3-} ante una población de nefronas disminuida (ERC) jugaría un papel importante en la patogenia del HPTS^{20,21}.

Aunque en el estudio mencionado¹⁹ la reducción en la ingesta de PO_4^{3-} previno el HPTS, no podía descartarse la posibilidad de la contribución de una síntesis mayor de calcitriol inducida por la dieta baja en PO_4^{3-} . Este hecho sería especialmente relevante sobre todo en etapas tempranas del daño renal, tal y como fue demostrado por Portale et al.¹⁵ años más tarde en niños con ERC moderada. El PO_4^{3-} es un conocido inhibidor de la 1α -hidroxilasa (CYP27B1) y en estos niños se evidenció que una dieta alta en PO_4^{3-} estimulaba la PTH y disminuía los niveles de calcitriol, mientras que una dieta baja en PO_4^{3-} estimulaba el calcitriol con descenso secundario de la PTH. Por otra parte, es frecuente que una dieta baja en PO_4^{3-} se acompañe de un incremento del calcio sérico derivado de la mayor absorción intestinal de calcio secundaria al aumento del calcitriol, de forma que este aumento en el calcio sérico podría explicar al menos en parte el descenso de la PTH. De este modo, Llach y Massry¹⁶ demostraron en cuatro pacientes con ERC moderada que la restricción de PO_4^{3-} interfería con la acción y producción de calcitriol, modificando no solo la

absorción intestinal de calcio sino también la respuesta calcémica a la PTH, sugiriendo así un papel importante de la alteración del metabolismo de la vitamina D en la patogenia del HPTS en la ERC.

La entonces denominada disminución de la respuesta calcémica o resistencia esquelética a la acción de la PTH (endógena y exógena) fue otro mecanismo *indirecto* descrito por el cual la retención de PO_4^{3-} y/o la hiperfosfatemia podrían contribuir al origen y progresión del HPTS en la ERC^{22,23}, y fue ampliamente estudiada por Rodríguez et al.²⁴⁻²⁷. Actualmente denominada «hiporrespuesta» a la PTH²⁸, diversos trabajos han demostrado la importancia relativa de la retención de PO_4^{3-} en la resistencia a la acción de la PTH, entre otros factores²⁴⁻³⁰. Tal y como se ha revisado en un artículo reciente en esta revista³⁰, la existencia de hiporrespuesta a la acción de la PTH, a través de diversos mecanismos entre los que destaca la retención de PO_4^{3-} , demandan una mayor síntesis y secreción de PTH para mantener el equilibrio homeostático mineral.

El fósforo en la patogenia del hiperparatiroidismo secundario: mecanismo directo

Hasta ahora, los mecanismos descritos en la presente revisión sobre el papel del PO_4^{3-} en la patogenia del HPTS han sido de tipo *indirecto* (disminución del calcio iónico, disminución en la síntesis de calcitriol o la hiporrespuesta multifactorial a las acciones de la PTH en la ERC). Es bien conocido que tanto la disminución de la concentración de calcio extracelular como la disminución de los niveles de calcitriol tienen un efecto

directo estimulador de la síntesis de PTH y la proliferación de las células paratiroides, mediado a través de sus respectivos receptores (el receptor sensor de calcio [RSCa] y el de la vitamina D [RVD])³¹⁻³⁴. De hecho, Sherwood et al.³⁵ no consiguieron encontrar evidencias de un efecto *directo* del PO_4^{3-} en la regulación de la PTH *in vivo*.

Sin embargo, López-Hilker et al.³⁶, en otro trabajo experimental en perros con ERC sujetos a una restricción de PO_4^{3-} y calcio para evitar la hipercalcemia, observaron que el nivel sérico de PTH descendió aun sin cambios en el calcio y calcitriol. Estos hallazgos sugerían que el control del HPTS era independiente de los niveles plasmáticos de calcio y calcitriol. Años más tarde, en un modelo experimental en ratas, Yi et al.³⁷, también observaron datos consistentes de la existencia de mecanismos independientes de calcio y calcitriol y, por tanto, de un posible efecto *directo* del PO_4^{3-} sobre la función paratiroidea.

Por otra parte, siendo difícil soslayar el efecto directo del calcitriol en la disminución de la síntesis y secreción de PTH cuando se prescribe una dieta baja en PO_4^{3-} , Kilav et al.³⁸ también demostraron que ratas deficientes en vitamina D de segunda generación, alimentadas con una dieta baja en PO_4^{3-} y calcio, presentaban hipofosfatemia asociada a niveles bajos de ARNm de PTH en ausencia de hipercalcemia o aumento de niveles de calcitriol, sugiriendo un efecto no transcripcional del PO_4^{3-} , a diferencia de los efectos directos del calcitriol disminuyendo la transcripción del gen de la pre-pro-PTH. Posteriormente se ha demostrado que este efecto no transcripcional del PO_4^{3-} es en realidad *postranscripcional*, implicando la unión de proteínas transactivantes (proteínas que actúan en trans o adenosine-uridine-rich binding factor [AUF1]) a dominios cis (elemento cis) ubicados en la región 3' no traducida del ARNm de la PTH, orquestadas por la isomerasa Pin1, induciendo en último término un aumento de la estabilidad del ARNm de PTH³⁹⁻⁴².

Finalmente, Hernández et al.⁴³ también habían descrito en un trabajo preliminar los efectos de una dieta alta en PO_4^{3-} en un modelo de rata *in vivo* y encontraron, respecto a las ratas que ingirieron una dieta estándar en PO_4^{3-} , un incremento significativo de los niveles de PTH asociado a un rápido incremento de la expresión del ARNm de PTH sin afectar los niveles de calcio o calcitriol. Como demostraron posteriormente, esta observación no se acompañaba de modificaciones en la expresión del RVD o del RSCa⁴³⁻⁴⁵, sugiriendo que una carga oral de PO_4^{3-} podría estimular *directamente* la síntesis de PTH y que no era mediada por una menor expresión de los receptores de calcio o calcitriol.

De este modo y empleando un modelo experimental completamente original, basado en el mantenimiento de la integridad estructural de la glándula paratiroidea, un grupo español liderado por el doctor M. Rodríguez describió por primera vez *in vitro* y de un modo indudable el efecto *directo* del PO_4^{3-} sobre la secreción de PTH (IX Congreso Latinoamericano de Nefrología en San Juan de Puerto Rico, octubre 20-23, [1994] y el XIIIth International Congress of Nephrology en Madrid, julio 2-6, [1995]). Así, Almadén et al.¹³ publicaron en 1996 su trabajo en el que usaron glándulas paratiroides íntegras frescas de rata que fueron incubadas con diferentes concentraciones de PO_4^{3-} (1,2,3, y 4 mM) y subsecuentemente fueron expuestas a diferentes concentraciones de calcio en

un rango de 0,4 a 1,35 mM. Los autores observaron que, con una concentración de calcio de 1,25 mM, la secreción de PTH fue similar con las concentraciones de PO_4^{3-} de 1 y 2 mM; sin embargo, concentraciones de PO_4^{3-} de 3 y 4 mM produjeron un aumento en la secreción de PTH tres a cuatro veces mayor, respectivamente, en comparación al PO_4^{3-} 1 mM (fig. 3). Asimismo, mientras que las concentraciones de 1 o 2 mM de PO_4^{3-} con incremento en la concentración de calcio de 0,6 a 1,35 mM redujeron la secreción de PTH al 37%, en PO_4^{3-} 4 mM el mismo aumento de la concentración de calcio solo inhibió la secreción de PTH al 75% (fig. 3). Esta demostración pionera del rol esencial de la integridad estructural de la glándula paratiroidea y de mantener los contactos célula-célula constituyó un punto de partida fundamental para acelerar el avance del conocimiento del impacto del PO_4^{3-} en la patogénesis del HPTS en laboratorios de todo el mundo. De hecho hasta entonces, con el mismo objetivo de evaluar el posible efecto directo del PO_4^{3-} en la función paratiroidea, los estudios *in vitro* utilizaban células paratiroides dispersas, con menos respuesta a cambios en el calcio extracelular que las glándulas paratiroides intactas de Almadén et al.¹³, debido a la disminución de la expresión del RSCa⁴⁶.

En dicho estudio seminal de Almadén et al.¹³, los autores también abordaron el estudio de los mecanismos de señalización intracelular que mediaban el efecto directo del PO_4^{3-} sobre la secreción de PTH. Así, la adición de ácido araquidónico (AA, sustrato que inhibe la vía de señal intracelular), al medio de incubación de PO_4^{3-} 4 mM y calcio 1,35 mM redujo la secreción de PTH al 34,5%. La conclusión del estudio fue pues que en este modelo que usaba glándulas paratiroides íntegras frescas de rata, la elevación de PO_4^{3-} *in vitro* aumentaba *directamente* la secreción de PTH actuando a través de la vía de la fosfolipasa A2 (PLA2)-AA.

Posteriormente, también demostraron *in vitro* que, en glándulas de pacientes con HPTS severo, la secreción de PTH aumentó en respuesta al PO_4^{3-} 3 y 4 mM en comparación a 2 mM a pesar de la presencia de una alta concentración de calcio en el medio, lo que se acompañaba de un aumento de los niveles de pre-pro-PTH⁴⁷. Asimismo, este mismo grupo demostró cómo una elevación *aguda* de PO_4^{3-} sérico sin cambios en la concentración de calcio iónico estimuló también la secreción de PTH *in vivo*⁴⁸, el efecto de elevadas concentraciones de PO_4^{3-} en la producción de AA en tejido paratiroideo *in vitro*⁴⁹, la regulación de la producción de AA por el calcio intracelular⁵⁰, evidenciando que la estimulación de la secreción de PTH por niveles de PO_4^{3-} elevados podía prevenirse aumentando los niveles de calcio intracelular. Asimismo revisaron la importancia del AA y la vía fosfolipasa A (2)-AA como mediadora de respuestas en la glándula paratiroidea⁵¹. Además, se demostró que el mantenimiento de niveles elevados de PO_4^{3-} sérico durante la construcción de curvas calcio-PTH en hemodiálisis (utilizando un líquido de diálisis con alto contenido o libre de PO_4^{3-}) previno en parte la inhibición de la secreción de PTH por el calcio (normal o elevado)⁵².

Por otra parte, desde el laboratorio de Slatopolsky et al. (J of Investigative Medicine, abril [1995]), usando el mismo modelo experimental de glándulas paratiroides intactas de Almadén et al.¹³, se publicó en este mismo año 1996 el efecto del PO_4^{3-} en la dieta sobre los niveles de PTH, ARNm de la PTH y la hiperplasia paratiroidea en ratas urémicas y normales⁵³. Los

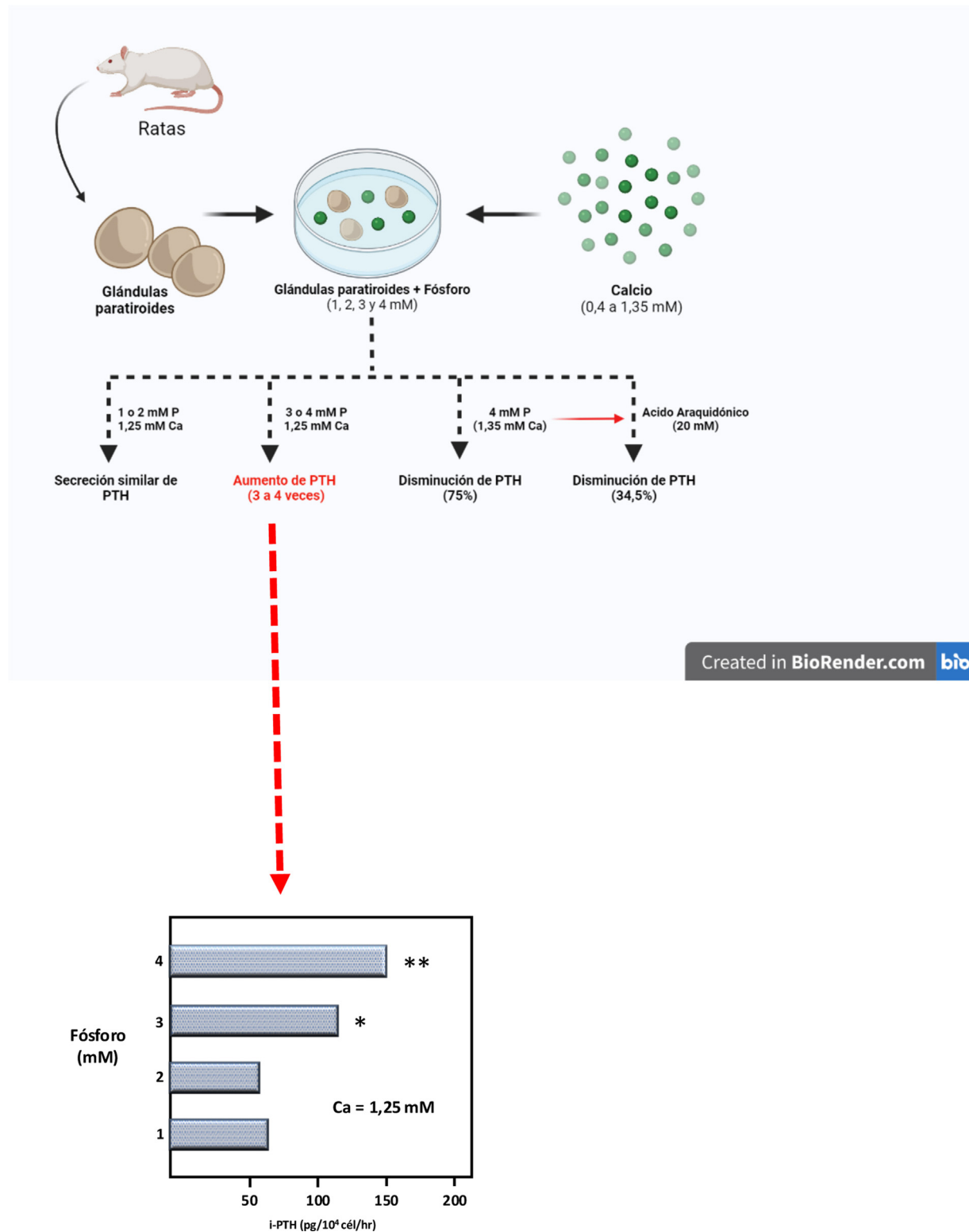


Figura 3 – Representación teórica del modelo usado por Almadén et al.¹³ para la demostración del efecto directo del fósforo (P), independiente del calcio (Ca), sobre la estimulación de la secreción de hormona paratiroidea (PTH) en la glándula paratiroidea. Las glándulas fueron incubadas durante 1 hora en concentración de calcio de 1,25 mM y concentración variable de fósforo de 1,2,3 y 4 mM.

autores observaron que el peso de las glándulas y la PTH sérica fueron similares en ambos grupos expuestos a una dieta baja en PO_4^{3-} (0,2%), pero hubo un aumento significativo de la PTH sérica, peso y ADN de las glándulas paratiroides procedentes de las ratas urémicas alimentadas con una dieta alta en PO_4^{3-} (0,8%) comparadas con ratas urémicas alimentadas con dieta baja en PO_4^{3-} . Adicionalmente observaron que el efecto estimulador del PO_4^{3-} extracelular sobre la producción de PTH no se produjo cuando la síntesis de proteínas fue inhibida con cicloheximida, sugiriendo que la acción del PO_4^{3-} en las células paratiroides requería de síntesis proteica. Asimismo, la tasa de crecimiento de las células paratiroides fue independiente de los niveles de calcio y calcitriol. Previamente, Denda et al.⁵⁴ ya habían demostrado que el efecto del PO_4^{3-} sobre el crecimiento de las glándulas paratiroides era muy rápido en ratas urémicas, tras dos meses de la inducción de insuficiencia renal, y que el 90% del crecimiento ocurría durante los primeros tres días, potencialmente atribuido a la participación de protooncogenes como *c-fos*, *c-jun* y *PRAD-1*.

Curiosamente en el mismo año, reconociendo los trabajos de los dos grupos liderados por los doctores Rodríguez y Slatopolsky, y con el mismo objetivo de investigar el efecto directo del PO_4^{3-} sobre las células paratiroides *in vitro*, Kjaerulf et al. del grupo danés del Dr Olgaard⁵⁵, utilizaron dos tipos de preparaciones de tejido paratiroideo bovino: células paratiroides dispersas y cortes de tejido paratiroideo, ambas incubadas durante cuatro h en un medio normal (1,0 mM) o alto en PO_4^{3-} (3,5 mM) y observaron un incremento significativo de la liberación de PTH en los cortes de tejido paratiroideo incubados en medio alto en PO_4^{3-} pero no en la preparación con células dispersas, sin observarse cambios en el «set-point» de calcio. El grado de estimulación de la liberación de PTH con medio alto en PO_4^{3-} fue significativamente mayor comparado con un medio bajo en calcio (0,8 mM), un 172% por encima del valor basal (1,0 mM de PO_4^{3-}) y un 139% por encima en un medio con un nivel elevado de calcio (1,8%). Sus resultados también demostraron que el PO_4^{3-} estimula directamente la liberación de PTH en cortes de glándulas paratiroides bovinas y no en preparaciones de células dispersas, lo que confirmó que el mantenimiento de una arquitectura normal en las paratiroides era esencial para reproducir el efecto estimulador de la elevación del PO_4^{3-} en la secreción de PTH.

Efecto del fósforo sobre las glándulas paratiroides

En condiciones normales, las células paratiroides están en estado quiescente, raramente entran en mitosis; sin embargo, es bien conocido que en la ERC varios factores como la hipocalcemia y el déficit de calcitriol, inducen el crecimiento de las glándulas paratiroides, estimulando la proliferación de células paratiroides, inicialmente a expensas de hiperplasia celular y, consecuentemente, la síntesis y secreción de PTH⁵⁶⁻⁵⁹. Ya hemos mencionado que una dieta alta en PO_4^{3-} , ya sea por mecanismos directos o indirectos, promovía el crecimiento de las paratiroides desde etapas tempranas tal y como lo demostraron Denda et al. en estudios experimentales en ratas⁵⁴. Por el contrario, también se demostró que una dieta baja en PO_4^{3-} y la administración de calcitriol prevenían la hiperplasia

inducida por la uremia y la secreción de PTH. Así, Dusso et al.⁶⁰ demostraron en ratas urémicas que una dieta baja en PO_4^{3-} fue capaz de prevenir la hiperplasia de las glándulas paratiroides a través de un aumento de la proteína y el ARNm de p21 en tejido paratiroideo. La proteína codificada por el gen p21 es un inhibidor de las quinasas dependientes de ciclinas (complejos Cdk) y, por lo tanto, un regulador del ciclo celular. Asimismo, se demostró en este estudio que una dieta alta en PO_4^{3-} indujo la expresión del factor de crecimiento transformante- α (TGF- α) como señal autocrina que estimulaba el crecimiento de las paratiroides. Tales elevaciones de TGF- α en la glándula paratiroidea inducidas por dietas hiperfosfatemiantes y la consecuente activación del receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR por su acrónimo inglés) fueron identificadas como el factor determinante de las disminuciones del RVD y el origen de la resistencia al control del HPTS con el calcitriol o sus análogos con el avance de la ERC⁶¹. Es importante también resaltar que, a medida que progresa la ERC, no solo disminuye la expresión del RVD sino también la expresión del RSCa y del receptor del factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23-FGFR) durante su evolución desde la hiperplasia difusa a hiperplasia nodular⁵⁹. Más recientemente, también se demostró que una alta demanda de secreción de PTH, promovida bien por una dieta muy rica en PO_4^{3-} o pobre en calcio, inducía diferentes patrones de hiperplasia paratiroidea en ausencia de uremia, una situación que podría ser importante en estadios precoces de ERC⁶².

Es también interesante destacar en este punto que la regulación de la PTH por el PO_4^{3-} implica también ciertos *micro-ARN* (miARN)^{63,64}. Los miARN son ARN pequeños no codificantes con funciones vitales en la homeostasis y el desarrollo del organismo y sabemos que la enzima *Dicer* está involucrada en la etapa final del procesamiento de los miARN. En este sentido, por ejemplo, hemos aprendido recientemente que los ratones *knockout* específicos de *Dicer* en las células paratiroides (PT-*Dicer* -/-) tienen niveles séricos normales de PTH, pero no pueden aumentar la PTH en hipocalcemia o insuficiencia renal, a diferencia de los controles⁶⁴. También, además de modular la secreción de PTH, los miARN son esenciales para mantener intactas las glándulas paratiroides. Los ratones sin gen *Dicer* no expresan miARN en las células paratiroides y pierden sus glándulas paratiroides después del nacimiento. Esto indica que los miARN no son esenciales para el desarrollo embrionario de las glándulas paratiroides, sino más bien para su integridad durante el período posnatal. En ausencia de glándulas paratiroides, los ratones adultos PT-*Dicer* -/-, una fuente adicional de PTH, distinta de las células tiroideas o del timo, contribuye al mantenimiento de la concentración sérica normal de PTH, pero no puede ser estimulada por hipocalcemia o estado urémico⁶⁴.

Otros aspectos relacionados con la sobrecarga de fósforo en la enfermedad renal crónica

No es el propósito de este artículo revisar toda la compleja fisiopatología del HPTS sino, como se ha mencionado, conmemorar los 25 años del importante descubrimiento del efecto directo del PO_4^{3-} sobre la glándula paratiroides, en la que tuvieron un papel tan relevante investigadores españoles^{13,53}.

Sin embargo, sí es necesario mencionar la importancia del descubrimiento de una *fosfatonina*, el factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23)^{65,66}, una hormona producida por los osteocitos y cuya producción es estimulada principalmente por la sobrecarga de PO_4^{3-} , entre otros factores^{67,68}. Hoy sabemos que su elevación se produce desde estadios precoces de la ERC, incluso antes de la elevación de la PTH sérica, la cual también estimula a su vez la producción de FGF23⁶⁹⁻⁷¹. Como fosfatonina, el FGF23 tiene una acción no solo fosfatúrica al inhibir la expresión de los canales Na-Pi 2a y 2c a nivel tubular renal (disminuyendo la reabsorción tubular de PO_4^{3-} y aumentando así su excreción urinaria) sino que también inhibe la 1α -hidroxilasa (CYP27B1) renal (responsable de la síntesis de calcitriol) como estimula la 24-hidroxilasa (CYP24A1) (aumentando su catabolismo)^{69,70}. Este nuevo mecanismo de contrarregulación de la sobrecarga de PO_4^{3-} nos permite revisar la ya antigua, pero aún vigente, hipótesis del «trade-off»^{17,21,70,72} y la importancia del PO_4^{3-} en la patogenia del HPTS en la ERC, al aportar un nuevo mediador anteriormente desconocido. Este incremento de FGF23, a su vez, se explica al menos en parte asociado a la menor expresión de su correceptor Klotho, necesario para ejercer su acción en los tejidos diana (paratiroideo, vascular, cerebral, tubular renal) demostrados en varios estudios y que, en el caso del tejido renal, produciría a su vez resistencia a la acción del FGF23⁷³. Como ya es conocido ahora, la acción del FGF23 está mediada normalmente por una afinidad canónica entre su receptor FGFR y su correceptor Klotho^{10,74}, de modo que al disminuir la producción de Klotho y/o la expresión del FGFR como consecuencia de la ERC⁷³⁻⁷⁶, se producirá otra hiporrespuesta hormonal (resistencia) que se une a la de la PTH u otras hormonas como la insulina o la hormona del crecimiento³⁰. Esta hiporrespuesta al FGF23 conducirá a un aumento adicional de los niveles de FGF23 necesarios para ejercer su acción adaptativa fosfatúrica en presencia de ERC y/o sobrecarga de fósforo, pero con efectos deletéreos secundarios (como otro «trade-off», en este caso a expensas de FGF23)^{68,73,77-79}. De hecho, tanto la disminución de Klotho como el aumento de FGF23 propios de la ERC han sido claramente asociados con el envejecimiento acelerado y la desproporcionadamente alta mortalidad de los pacientes con ERC, especialmente en sus estadios avanzados o en diálisis^{2,10,80}, convirtiendo la ERC en un desafortunado modelo experimental humano de senescencia^{8,9}. De este modo, la retención intra- y extracelular de PO_4^{3-} constituye uno de los estímulos principales para la síntesis y secreción de ambas hormonas (PTH y FGF23), ya sea de forma directa e indirecta, con el fin de aumentar la fosfatúria, entre otros efectos. Por otra parte, PTH y FGF23 actúan de manera competitiva en la regulación enzimática de la producción y catabolismo de la vitamina D. Esta interrelación hormonal compleja se exagera con la disminución progresiva del parénquima renal al progresar la ERC. Adicionalmente, la reducción secundaria de klotho, el aumento de PO_4^{3-} y el incremento de FGF23, actúan como estímulos proinflamatorios, siendo elementos clave en el estado inflamatorio consustancial a la ERC e involucrado en múltiples efectos deletéreos asociados a la pérdida de la función renal (desarrollo de anemia y resistencia a la acción de los agentes estimulantes de la eritropoyesis, aparición de un síndrome de malnutrición proteico-energética, disfunción

endotelial), así como a las calcificaciones y aterosclerosis precoces y aceleradas⁸¹⁻⁸³.

Corolario

En condiciones normales, la homeostasis del PO_4^{3-} extracelular está coordinada entre la absorción intestinal, la excreción renal, así como su entrada y salida del hueso⁸⁴. Tanto las glándulas paratiroides como el hueso detectan el aumento de PO_4^{3-} extracelular respondiendo a través de un incremento en los niveles de PTH y FGF23, respectivamente, con el propósito de aumentar la fosfatúria; sin embargo, el mecanismo molecular intrínseco es desconocido a diferencia de lo que ocurre con las interacciones del calcio o los calcimiméticos con el RSCa, la vitamina D con el RVD e incluso con el FGF23 y su propio receptor^{33,46,59,75}. Durante muchos años se ha intentado encontrar el receptor del PO_4^{3-} en la glándula paratiroides para intentar explicar su efecto directo, postulándose incluso la posibilidad de la existencia de un canal transportador.

No ha sido hasta recientemente que se ha demostrado la importancia del RSCa en este papel. Este receptor se encuentra en la superficie de las membranas de múltiples células y pertenece a la familia de proteínas denominadas receptores acoplados a proteínas G. Ya era sabido también que los calcimiméticos podían superar el efecto estimulador de la elevación de PO_4^{3-} sobre la secreción de PTH *in vitro* e *in vivo*⁸⁵. Recientemente, Geng et al.⁸⁶ usaron una técnica de cristalografía de rayos X, para estudiar la estructura tridimensional del dominio exterior del RSCa en estado activo y en reposo. Se observó que los iones de calcio son los principales activadores del RSCa pero requiere de la fijación de aminoácidos en su forma activa. Asimismo, se detectó que el dominio extracelular del RSCa tenía cuatro puntos de fijación de aniones multivalentes ocupados por el PO_4^{3-} y SO_4^{2-} y que los iones PO_4^{3-} mantenían estable la forma inactiva, promoviendo así la secreción de PTH. Por otra parte, Centeno et al.⁸⁷, recientemente mostraron en modelos experimentales murinos que el aumento de PO_4^{3-} en concentraciones fisiopatológicas para la ERC inhibe la actividad del RSCa de forma antagónica no competitiva. De este modo, estos resultados nos muestran finalmente que el RSCa es un sensor también del PO_4^{3-} , explicando el mecanismo intrínseco por el que el PO_4^{3-} estimula directamente la secreción de PTH y proporciona un mecanismo por el cual las concentraciones elevadas de PO_4^{3-} pueden ejercer efectos directos en los tejidos que expresan el RSCa.

En resumen, la sobrecarga de PO_4^{3-} conduce a la activación de diversos mecanismos, directos e indirectos, encaminados a mantener su homeostasis⁸⁸. La presencia de ERC no hace sino crear al menos dos círculos viciosos en lo que al complejo CKD-MBD se refiere (aumento de PTH y de FGF23), con sus efectos deletéreos sistémicos (doble «trade-off» que no solo afecta al hueso sino también al sistema cardiovascular)^{1,8,68}, en un intento de normalizar el metabolismo mineral. Con la progresión de la ERC, la acumulación de PO_4^{3-} (y por ende la importancia de la restricción de las fuentes de PO_4^{3-} fundamentalmente inorgánico para prevenir el desarrollo de HPTS),

ya sea a través del estímulo del FGF23, la inhibición de la síntesis de calcitriol, la hipocalcemia resultante, su efecto negativo sobre la respuesta calcémica a la acción de la PTH o la estabilización de la forma inactiva del RSCa, claramente bloquea todos los mecanismos conocidos de contrarregulación diseñados para mantener la homeostasis del metabolismo mineral en situaciones de salud. Además, esta acumulación de PO_4^{3-} contribuye directamente a producir efectos claramente nocivos mediados por múltiples mecanismos que inciden sobre el sistema cardiovascular o el propio riñón^{1-8,12,89-92} y que parecen explicar la importantísima asociación de la sobrecarga de PO_4^{3-} sobre la morbilidad, especialmente en pacientes con ERC.

Conflicto de intereses

JB ha recibido honorarios como consultor, ponente o ayudas de viaje de Amgen, Abbvie, Sanofi y Vifor-Fresenius-Renal Pharma. PU ha recibido honorarios como consultor o ponente de Amgen, Astellas, GSK, Hemotech, Leo-Pharma, Sanofi y Vifor-Fresenius-Renal Pharma. AT ha recibido honorarios como consultor de Alnylan Pharm. JFNG ha recibido honorarios como consultor, ponente o ayudas de viaje de Abbvie, Amgen, Sanofi-Genzyme, Shire y Vifor-Pharma. JF ha recibido honorarios como consultor de Vifor-Pharma.

Agradecimientos

Algunos autores pertenecen a la Red de Investigación Renal (REDINREN RD 16/0009/0022) y RICORS2040 (RD21/0005/0013), Instituto de Salud Carlos III. Asimismo agradecemos al Sr. Ricard Pellejero su inestimable ayuda bibliográfica.

BIBLIOGRAFÍA

- Vervloet MG, Sezer S, Massy ZA, Johansson L, Cozzolino M, Fouque D, et al. The role of phosphate in kidney disease. *Nat Rev Nephrol*. 2017;13:27–38.
- Gutiérrez OM, Mannstadt M, Isakova T, Rau-Hain JA, Tamez H, Shah A, et al. Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *N Engl J Med*. 2008;359:584–92.
- 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;15:2208–18.
- 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*. 2011;305:1119–27.
- Tonelli M, Sacks F, Pfeffer M, Gao Z, Curhan G. Cholesterol And Recurrent Events Trial Investigators Relation between serum phosphate level and cardiovascular event rate in people with coronary disease. *Circulation*. 2005;112:2627–33.
- Lloret MJ, Bover J, DaSilva I, Furlano M, Ruiz-García C, Ayasreh N. Papel del fósforo en la enfermedad renal crónica. *Nefrología Sup Ext*. 2013;4:2–10.
- Danese MD, Belozeroff V, Smirnakis K, Rothman KJ. Consistent control of mineral and bone disorder in incident hemodialysis patients. *Clin. J. Am. Soc. Nephrol*. 2008;3:1423–9.
- Covic A, Vervloet M, Massy ZA, Torres PU, Goldsmith D, Brandenburg V, et al. Bone and mineral disorders in chronic kidney disease: implications for cardiovascular health and ageing in the general population. *Lancet Diabetes Endocrinol*. 2018;6:319–31.
- Kuro OM. Phosphate as a Pathogen of Arteriosclerosis and Aging. *J Atheroscler Thromb*. 2021;28:203–13.
- Klotho Kuro-OM. Calciprotein particles as therapeutic targets against accelerated ageing. *Clin Sci*. 2021;135:1915–27.
- Shiizaki K, Tsubouchi A, Miura Y, Seo K, Kuchimaru T, Hayashi H, et al. Calcium phosphate microcrystals in the renal tubular fluid accelerate chronic kidney disease progression. *J Clin Invest*. 2021;131.
- Letavernier E, Drüeke TB. Kidney toxicity of phosphate: is that crystal clear yet? *Kidney Int*. 2021;100:1155–7.
- Almaden Y, Canalejo A, Hernandez A, Ballesteros E, Garcia-Navarro S, Torres A, et al. Direct effect of phosphorus on PTH secretion from whole rat parathyroid glands in vitro. *J Bone Miner Res*. 1996;11:970–6.
- Slatopolsky E, Caglar S, Pennell JP, Taggart DD, Canterbury JM, Reiss E, et al. On the pathogenesis of hyperparathyroidism in chronic experimental renal insufficiency in the dog. *J Clin Invest*. 1971;50:492–9.
- Portale AA, Booth BE, Halloran BP, Morris RC Jr. Effect of dietary phosphorus on circulating concentrations of 1,25-dihydroxyvitamin D and immunoreactive parathyroid hormone in children with moderate renal insufficiency. *J Clin Invest*. 1984;73:1580–9.
- Llach F, Massry SG. On the mechanism of secondary hyperparathyroidism in moderate renal insufficiency. *J Clin Endocrinol Metab*. 1985;61:601–6.
- Bricker NS. On the pathogenesis of the uremic state An exposition of the “trade-off hypothesis”. *N Engl J Med*. 1972;286:1093–9.
- Bricker NS, Slatopolsky E, Reiss E, Avioli LV. Calcium, phosphorus and bone in renal disease and transplantation. *Arch Intern Med*. 1969;123:543–53.
- Slatopolsky E, Caglar S, Gradowska L, Canterbury J, Reiss E, Bricker NS. On the prevention of secondary hyperparathyroidism in experimental chronic renal disease using “proportional reduction” of dietary phosphorus intake. *Kidney Int*. 1972;2:147–51.
- Bricker NS, Morrill PA, Kime SW Jr. The pathologic physiology of chronic Bright's disease An exposition of the “intact nephron hypothesis”. *Am J Med*. 1960;28:77–98.
- Slatopolsky E. The intact nephron hypothesis: the concept and its implications for phosphate management in CKD-related mineral and bone disorder. *Kidney Int Suppl*. 2011;S3–8.
- Evanson JM. The response to the infusion of parathyroid extract in hypocalcaemic states. *Clin Sci*. 1966;31:63–75.
- Llach F, Massry SG, Singer FR, Kurokawa K, Kaye JH, Coburn JW. Skeletal resistance to endogenous parathyroid hormone in patients with early renal failure. A possible cause for secondary hyperparathyroidism. *J Clin Endocrinol Metab*. 1975;41:339–45.
- Rodríguez M, Felsenfeld AJ, Llach F. Calcemic response to parathyroid hormone in renal failure: role of calcitriol and the effect of parathyroidectomy. *Kidney Int*. 1991;40:1063–8.
- Rodríguez M, Martín-Malo A, Martínez ME, Torres A, Felsenfeld AJ, Llach F. Calcemic response to parathyroid hormone in renal failure: role of phosphorus and its effect on calcitriol. *Kidney Int*. 1991;40:1055–62.
- Bover J, Jara A, Trinidad P, Rodríguez M, Martín-Malo A, Felsenfeld AJ. The calcemic response to PTH in the rat: effect of elevated PTH levels and uremia. *Kidney Int*. 1994;46:310–7.

27. Bover J, Rodriguez M, Trinidad P, Jara A, Martinez ME, Machado L, et al. Factors in the development of secondary hyperparathyroidism during graded renal failure in the rat. *Kidney Int.* 1994;45:953–61.
28. Evenepoel P, Bover J, Ureña Torres P. Parathyroid hormone metabolism and signaling in health and chronic kidney disease. *Kidney Int.* 2016;90:1184–90.
29. Ureña P, Kubrusly M, Mannstadt M, Hruby M, Trinh MM, Silve C et al. The renal PTH/PTHrP receptor is down-regulated in rats with chronic renal failure. *Kidney Int.* 1994;45:605–11.
30. Hiporrespuesta o resistencia a la acción de la hormona paratiroidea en la enfermedad renal crónica. *Nefrología.* 2021;41:514–28.
31. Brown AJ, Ritter CS, Finch JL, Slatopolsky EA. Decreased calcium-sensing receptor expression in hyperplastic parathyroid glands of uremic rats: role of dietary phosphate. *Kidney Int.* 1999;55:1284–92.
32. Brown AJ, Dusso A, Lopez-Hilker S, Lewis-Finch J, Grooms P, Slatopolsky E. 1,25-(OH)₂D receptors are decreased in parathyroid glands from chronically uremic dogs. *Kidney Int.* 1989;35:19–23.
33. Dusso AS, Brown AJ, Slatopolsky E. Vitamin D. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2005;289:F8–28.
34. Brown AJ, Zhong M, Finch J, Ritter C, McCracken R, Morrissey J et al. Rat calcium-sensing receptor is regulated by vitamin D but not by calcium. *Am J Physiol.* 1996;270 3 Pt 2:F454–60.
35. Sherwood LM, Mayer GP, Ramberg CF Jr, Kronfeld DS, Aurbach GD, Potts JT Jr. Regulation of parathyroid hormone secretion: proportional control by calcium, lack of effect of phosphate. *Endocrinology.* 1968;83:1043–51.
36. Lopez-Hilker S, Dusso AS, Rapp NS, Martin KJ, Slatopolsky E. Phosphorus restriction reverses hyperparathyroidism in uremia independent of changes in calcium and calcitriol. *Am J Physiol.* 1990;259:F432–7.
37. Yi H, Fukagawa M, Yamato H, Kumagai M, Watanabe T, Kurokawa K. Prevention of enhanced parathyroid hormone secretion, synthesis and hyperplasia by mild dietary phosphorus restriction in early chronic renal failure in rats: possible direct role of phosphorus. *Nephron.* 1995;70:242–8.
38. Kilav R, Silver J, Naveh-Many T. Parathyroid hormone gene expression in hypophosphatemic rats. *J Clin Invest.* 1995;96:327–33.
39. Naveh-Many T, Sela-Brown A, Silver J. Protein-RNA interactions in the regulation of PTH gene expression by calcium and phosphate. *Nephrol Dial Transplant.* 1999;14:811–3.
40. Naveh-Many T. Minireview: the play of proteins on the parathyroid hormone messenger ribonucleic Acid regulates its expression. *Endocrinology.* 2010;151:1398–402.
41. Nechama M, Uchida T, Mor Yosef-Levi I, Silver J, Naveh-Many T. The peptidyl-prolyl isomerase Pin1 determines parathyroid hormone mRNA levels and stability in rat models of secondary hyperparathyroidism. *J Clin Invest.* 2009;119:3102–14.
42. Kilav-Levin R, Hassan A, Nechama M, Shilo V, Silver J, Ben-Dov IZ, et al. Post-transcriptional mechanisms regulating parathyroid hormone gene expression in secondary hyperparathyroidism. *FEBS J.* 2020;287:2903–13.
43. Hernández A, Salido E, Rodríguez M, Torres A. High phosphate diet increases prepro PTH ARNm independent of 1,25 (OH)₂D₃ and calcium in normal rats. *J Am Soc Nephrol.* 1995;6:963 (abstract).
44. Hernández A, Torres A, Concepción MT, Salido E. Parathyroid gland calcium receptor gene expression is not regulated by increased dietary phosphorus in normal and renal failure rats. *Nephrol Dial Transplant.* 1996;11 Suppl 3:11–4.
45. Hernández A, Concepción MT, Rodríguez M, Salido E, Torres A. High phosphorus diet increases preproPTH mRNA independent of calcium and calcitriol in normal rats. *Kidney Int.* 1996;50:1872–8.
46. Brown AJ, Zhong M, Ritter C, Brown EM, Slatopolsky E. Loss of calcium responsiveness in cultured bovine parathyroid cells is associated with decreased calcium receptor expression. *Biochem Biophys Res Commun.* 1995;212:861–7.
47. Almadén Y, Hernandez A, Torregrosa V, Canalejo A, Sabate L, Fernandez Cruz L, et al. High phosphate level directly stimulates parathyroid hormone secretion and synthesis by human parathyroid tissue in vitro. *J Am Soc Nephrol.* 1998;9:1845–52.
48. Estepa JC, Aguilera-Tejero E, Lopez I, Almadén Y, Rodriguez M, Felsenfeld AJ. Effect of phosphate on parathyroid hormone secretion in vivo. *J Bone Miner Res.* 1999;14:1848–54.
49. Almadén Y, Canalejo A, Ballesteros E, Añón G, Rodríguez M. Effect of high extracellular phosphate concentration on arachidonic acid production by parathyroid tissue in vitro. *J Am Soc Nephrol.* 2000;11:1712–8.
50. Almadén Y, Canalejo A, Ballesteros E, Añón G, Cañadillas S, Rodríguez M. Regulation of arachidonic acid production by intracellular calcium in parathyroid cells: effect of extracellular phosphate. *J Am Soc Nephrol.* 2002;13:693–8.
51. Canalejo A, Cañadillas S, Ballesteros E, Rodriguez M, Almadén Y. Importance of arachidonic acid as a mediator of parathyroid gland response. *Kidney Int Suppl.* 2003:S10–3.
52. De Francisco AL, Cobo MA, Setien MA, Rodrigo E, Fresneda GF, Unzueta MT, et al. Effect of serum phosphate on parathyroid hormone secretion during hemodialysis. *Kidney Int.* 1998;54:2140–5.
53. Slatopolsky E, Finch J, Denda M, Ritter C, Zhong M, Dusso A, et al. Phosphorus restriction prevents parathyroid gland growth High phosphorus directly stimulates PTH secretion in vitro. *J Clin Invest.* 1996;97:2534–40.
54. Denda M, Finch J, Slatopolsky E. Phosphorus accelerates the development of parathyroid hyperplasia and secondary hyperparathyroidism in rats with renal failure. *Am J Kidney Dis.* 1996;28:596–602.
55. Nielsen PK, Feldt-Rasmussen U, Olgaard K. A direct effect in vitro of phosphate on PTH release from bovine parathyroid tissue slices but not from dispersed parathyroid cells. *Nephrol Dial Transplant.* 1996;11:1762–8.
56. Almadén Y, Felsenfeld AJ, Rodriguez M, Cañadillas S, Luque F, Bas A, et al. Proliferation in hyperplastic human and normal rat parathyroid glands: role of phosphate, calcitriol, and gender. *Kidney Int.* 2003;64:2311–7.
57. Rodriguez M, Cañadillas S, Lopez I, Aguilera-Tejero E, Almadén Y. Regulation of parathyroid function in chronic renal failure. *J Bone Miner Metab.* 2006;24:164–8.
58. Lau WL, Obi Y, Kalantar-Zadeh K. Parathyroidectomy in the Management of Secondary Hyperparathyroidism. *Clin J Am Soc Nephrol.* 2018;13:952–61.
59. Rodriguez ME, Almadén Y, Cañadillas S, Canalejo A, Siendones E, Lopez I et al. The calcimimetic R-568 increases vitamin D receptor expression in rat parathyroid glands. *Am J Physiol Renal Physiol.* 2007;292:F1390–5.
60. Dusso AS, Pavlopoulos T, Naumovich L, Lu Y, Finch J, Brown AJ, et al. p21(WAF1) and transforming growth factor- α mediate dietary phosphate regulation of parathyroid cell growth. *Kidney Int.* 2001;59:855–65.
61. Arcidiacono MV, Sato T, Alvarez-Hernandez D, Yang J, Tokumoto M, Gonzalez-Suarez I, et al. EGFR activation increases parathyroid hyperplasia and calcitriol resistance in kidney disease. *J Am Soc Nephrol.* 2008;19:310–20.
62. Canalejo A, Canalejo R, Rodriguez ME, Martinez-Moreno JM, Felsenfeld AJ, Rodríguez M, et al. Development of parathyroid gland hyperplasia without uremia: role of dietary calcium and phosphate. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25:1087–97.

63. Shilo V, Ben-Dov IZ, Nechama M, Silver J, Naveh-Many T. Parathyroid-specific deletion of dicer-dependent microRNAs abrogates the response of the parathyroid to acute and chronic hypocalcemia and uremia. *FASEB J*. 2015;29:3964–76.
64. Hassan A, Levin R, Fisher Y, Silver J, Ben-Dov I, Naveh-Many T. The essential role of miRNA in maintaining an intact parathyroid in the adult. *Kidney Week*. 2021, virtual only, poster (PO0518) (abstract).
65. ADHR Consortium. Autosomal dominant hypophosphataemic rickets is associated with mutations in FGF23. *Nat Genet*. 2000;26:345–8.
66. Shimada T, Mizutani S, Muto T, Yoneya T, Hino R, Takeda S, et al. Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. *Proc Natl Acad Sci U S A*. 2001;98:6500–5.
67. Richter B, Faul C. FGF23 Actions on Target Tissues-With and Without Klotho. *Front Endocrinol*. 2018;9:189.
68. Vervloet M. Fibroblast growth factor 23, the time is right for a second wind. *Kidney Int*. 2021;100:986–9.
69. Wolf M. Update on fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2012;82:737–47.
70. Gutiérrez OM. Fibroblast growth factor 23 and disordered vitamin D metabolism in chronic kidney disease: updating the “trade-off” hypothesis. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2010;5:1710–6.
71. Lavi-Moshayoff V, Wasserman G, Meir T, Silver J, Naveh-Many T. PTH increases FGF23 gene expression and mediates the high-FGF23 levels of experimental kidney failure: a bone parathyroid feedback loop. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2010;299:F882–9.
72. Llach F. Secondary hyperparathyroidism in renal failure: the trade-off hypothesis revisited. *Am J Kidney Dis*. 1995;25:663–79.
73. Komaba H, Fukagawa M. FGF23-parathyroid interaction: implications in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2010;77:292–8.
74. Kuro OM, Moe OW. FGF23- α Klotho as a paradigm for a kidney-bone network. *Bone*. 2017;100:4–18.
75. Ben-Dov IZ, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V, Goetz R, Kuro-o M, Mohammadi M et al. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *J Clin Invest*. 2007;117:4003–8.
76. Canalejo R, Canalejo A, Martínez-Moreno JM, Rodríguez-Ortiz ME, Estepa JC, Mendoza FJ, et al. FGF23 fails to inhibit uremic parathyroid glands. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21:1125–35.
77. Navarro-García JA, Delgado C, Fernández-Velasco M, Val-Blasco A, Rodríguez-Sánchez E, Aceves-Ripoll J, et al. Fibroblast growth factor-23 promotes rhythm alterations and contractile dysfunction in adult ventricular cardiomyocytes. *Nephrol Dial Transplant*. 2019;34:1864–75.
78. Patel RB, Ning H, de Boer IH, Kestenbaum B, Lima JAC, Mehta R, et al. Fibroblast Growth Factor 23 and Long-Term Cardiac Function: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. *Circ Cardiovasc Imaging*. 2020;13:e011925.
79. Faul C, Amaral AP, Oskouei B, Hu M-C, Sloan A, Isakova T, et al. FGF23 induces left ventricular hypertrophy. *J Clin Invest*. 2011;121:4393–408.
80. Scialla JJ, Wolf M. Roles of phosphate and fibroblast growth factor 23 in cardiovascular disease. *Nat Rev Nephrol*. 2014;10:268–78.
81. Navarro-González JF, Mora-Fernández C, Muros M, Herrera H, García J. Mineral metabolism and inflammation in chronic kidney disease patients: a cross-sectional study. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2009;4:1646–54.
82. Munoz Mendoza J, Isakova T, Ricardo AC, Xie H, Navaneethan SD, Anderson AH, et al. Fibroblast growth factor 23 and Inflammation in CKD. *Clin J Am Soc Nephrol*. 2012;7:1155–62.
83. Izquierdo MC, Perez-Gomez MV, Sanchez-Niño MD, Sanz AB, Ruiz-Andres O, Poveda J, et al. Klotho, phosphate and inflammation/ageing in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant*. 2012;27Suppl4:iv6–10.
84. Cozzolino M, Elli F, Ciceri P, Ottaviano E, Conte F. Chapter 58 - Calcium and Phosphate Physiology, Editor(s): Claudio Ronco, Rinaldo Bellomo, John A. Kellum, Zaccaria Ricci, Critical Care Nephrology (Third Edition). Elsevier. 2019:345–9, e1, ISBN 9780323449427.
85. Almaden Y, Rodríguez-Ortiz ME, Canalejo A, Cañadillas S, Canalejo R, Martín D, et al. Calcimimetics normalize the phosphate-induced stimulation of PTH secretion in vivo and in vitro. *J Nephrol*. 2009;22:281–8.
86. Geng Y, Mosyak L, Kurinov I, Zuo H, Sturchler E, Cheng TC, et al. Structural mechanism of ligand activation in human calcium-sensing receptor. *Elife*. 2016:5.
87. Centeno PP, Herberger A, Mun H-C, Tu C, Nemeth EF, Chang W, et al. Phosphate acts directly on the calcium-sensing receptor to stimulate parathyroid hormone secretion. *Nat Commun*. 2019;10:4693.
88. Rodríguez M, Almaden Y, Hernandez A, Torres A. Effect of phosphate on the parathyroid gland: direct and indirect? *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 1996;5:321–8.
89. Montes de Oca A, Madueño JA, Martínez-Moreno JM, Guerrero F, Muñoz-Castañeda J, Rodríguez-Ortiz ME, et al. High-phosphate-induced calcification is related to SM22 α promoter methylation in vascular smooth muscle cells. *J Bone Miner Res*. 2010;25:1996–2005.
90. Guerrero F, Herencia C, Almadén Y, Martínez-Moreno JM, Montes de Oca A, Rodríguez-Ortiz ME, et al. TGF- β prevents phosphate-induced osteogenesis through inhibition of BMP and Wnt/ β -catenin pathways. *PLoS One*. 2014;9:e89179.
91. Martínez-Moreno JM, Herencia C, de Oca AM, Díaz-Tocados JM, Vergara N, Gómez-Luna MJ, et al. High phosphate induces a pro-inflammatory response by vascular smooth muscle cells and modulation by vitamin D derivatives. *Clin Sci*. 2017;131:1449–63.
92. Muñoz-Castañeda JR, Herencia C, Pendón-Ruiz de Mier MV, Rodríguez-Ortiz ME, Díaz-Tocados JM, Vergara N, et al. Differential regulation of renal Klotho and FGFR1 in normal and uremic rats. *FASEB J*. 2017;31:3858–67.