



**FACULTAD DE FARMACIA**  
**UNIVERSIDAD COMPLUTENSE**

**TRABAJO FIN DE GRADO**

**FGF23: Nueva diana terapéutica en los trastornos  
de la homeostasis del fósforo.**

Autor: Gonzalo Murillo García.

Tutor: Vicente Ramón Sánchez de Rojas Fernández Cabrera.

Convocatoria: Febrero.

## RESUMEN:

La homeostasis del calcio ( $\text{Ca}^{2+}$ ) y del fosfato ( $\text{PO}_4^{3-}$ ) está coordinada por factores sistémicos y locales que regulan la absorción intestinal, la afluencia y el flujo de salida del hueso y la excreción renal y la reabsorción de estos iones a través de una compleja red hormonal. Tradicionalmente, el eje de la hormona paratiroidea (PTH)/vitamina D proporcionó el marco conceptual para entender el metabolismo mineral. La PTH secretada por la glándula paratiroides en respuesta a bajos niveles de calcio produce un aumento de la reabsorción de  $\text{Ca}^{2+}$  y un aumento de producción de 1,25-dihidroxitamina D ( $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$ ) por el riñón, aumentando la absorción intestinal de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  y aumentando el flujo de  $\text{Ca}^{2+}$  y  $\text{PO}_4^{3-}$  del hueso, manteniendo el equilibrio de fosfato a través éstos efectos. El Factor de Crecimiento Fibroblástico (FGF23) es una hormona producida predominantemente por osteoblastos/osteocitos, cuyas principales funciones son inhibir la reabsorción de fosfato tubular renal y suprimir los niveles circulantes de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$ . FGF23 participa en un eje óseo/renal que protege al organismo del exceso de vitamina D y coordina el fosfato renal con la mineralización ósea. Las anomalías de la producción de FGF23 subyacen a muchos trastornos hereditarios y adquiridos de la homeostasis de los fosfatos. Este trabajo discute las funciones conocidas de FGF23, su regulación en respuesta a señales sistémicas y locales, así como las implicaciones de FGF23 en diferentes contextos patológicos y fisiológicos.<sup>1</sup>

## INTRODUCCIÓN:

El eje de la hormona paratiroidea PTH-vitamina D ha proporcionado la base para nuestra conceptualización de la homeostasis ósea y mineral, pero el descubrimiento reciente del eje óseo-renal del FGF23 que regula el metabolismo de la vitamina D y la gestión del fosfato renal han conducido a nuevos conocimientos sobre fisiología y fisiopatología del metabolismo mineral.

En el hueso, la PTH aumenta el flujo de calcio y fosfato a través de la estimulación del ligando del receptor activador para el factor nuclear  $\kappa\text{B}$  (RANKL) por osteoblastos, que a su vez estimula la reabsorción ósea mediada por osteoclastos. Además, el aumento de la producción de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$  por el riñón se dirige al intestino delgado para aumentar la absorción de calcio y fosfato. El aumento del flujo de fosfato del hueso y la afluencia de la vía gastrointestinal se equilibra con los efectos de la PTH, disminuyendo la reabsorción de fosfato tubular renal para mantener neutro el equilibrio de fosfato.

Además, el eje FGF23 óseo-renal forma parte de sistemas biológicos que enlazan el hueso con otras funciones orgánicas a través de una compleja red endocrina integrada con el eje PTH/vitamina D y que desempeña un papel igualmente importante en la salud y la enfermedad. El descubrimiento de que los osteoblastos y osteocitos son el sitio principal para la producción y secreción de FGF23 identificó el hueso, no sólo como el principal reservorio de calcio y fósforo, sino como un órgano endocrino que se comunica con otros órganos involucrados en la homeostasis mineral. El FGF23 secretado por el hueso se dirige al riñón para regular el suministro de fósforo renal y el metabolismo de la vitamina D.<sup>2</sup>

### **OBJETIVOS:**

Este trabajo está enfocado a revisar y actualizar el papel del FGF23 en la homeostasis del fósforo, desarrollando en primer lugar qué es el FGF23, sus funciones, su regulación, su implicación fisiológica y patológica en el organismo y sus aplicaciones terapéuticas.

### **METODOLOGÍA:**

Para ello he llevado a cabo una revisión bibliográfica de numerosos artículos científicos todos ellos de relativa actualidad dónde he podido encontrar y recopilar información acerca del FGF23, de su función, de su regulación, de sus implicaciones en los procesos fisiológicos y patológicos del organismo y de sus posibles aplicaciones como fármaco.

El sistema de Medline utilizado fue PubMed. Se realizó una búsqueda inicial por lenguaje libre y se introdujeron los siguientes términos de búsqueda (en español y en inglés): FGF23, Fibroblast growth factor 23, FGF23-Klotho signaling, Phosphate transport in proximal tubules.

### **RESULTADOS**

1. FGF 23

El descubrimiento reciente del eje óseo-renal del FGF23 que regula el metabolismo de la vitamina D y la gestión del fosfato renal ha conducido a nuevos conocimientos sobre fisiología y fisiopatología del metabolismo mineral.

El FGF23 es un regulador derivado del hueso, clave en el metabolismo del fosfato y la vitamina D. El FGF23 promueve la fosfaturia regulando negativamente la expresión de transportadores de fosfato dependientes de sodio en el lado luminal del túbulo renal proximal, y reduce la síntesis de la forma activa de vitamina D regulando negativamente la  $1\alpha$ -hidroxilasa y regulando la actividad de la 24-hidroxilasa. FGF23 es una proteína que consiste en 251 aminoácidos que comprenden una única secuencia C-terminal que media la unión de alta afinidad al complejo receptor de FGFR/ $\alpha$ -Klotho. Esta hormona se secreta en el fluido extracelular en una forma de beta-trébol madura de 32,5 kDa. El FGF23 se degrada por las proteasas proteicas intracelulares (PC) antes de la secreción por osteoblastos/osteocitos y por furina, una enzima proteolítica que reconoce la secuencia Arg176-X-X-Arg179. Esta escisión suprime la acción FGF23 fosfatúrica. La escisión intracelular de FGF23 se considera el mecanismo más importante de la regulación de FGF23.<sup>3</sup>

## 2. La familia FGF

Aunque los FGF están implicados en diversas funciones, todos derivan de un gen ancestral similar al FGF13 y comparten un dominio estructural de unos 120 residuos de aminoácidos con una identidad de alrededor del 30-60% que proporciona la base para su clasificación.

La familia de FGF se puede dividir en siete subfamilias filogenéticas que componen tres grupos de acuerdo a sus mecanismos de acción: el intracelular, el canónico y los genes FGF similares a las hormonas.

El grupo intracelular de FGF incluye la subfamilia Fgf11/12/13/14. Estos FGF actúan como moléculas de señalización intracelular sobre un receptor de FGF (FGFR) de manera independiente.

El grupo canónico FGF incluye las subfamilias FGF 1/2/5, FGF 3/4/6, FGF 7/10/22, FGF 8/17/18 y FGF 9/16/20. Los FGF canónicos median sus respuestas biológicas como proteínas extracelulares uniéndose y activando la tirosina quinasa a FGFRs de la superficie celular con heparina/heparán sulfato como cofactor. Actúan como moléculas de señalización local de manera autocrina/paracrina.<sup>1</sup>

El grupo FGF de tipo hormonal o endocrino incluye la subfamilia Fgf19/21/23. En contraste con el grupo de FGF canónico, los FGF similares a las hormonas actúan sistemáticamente como factores endocrinos. Sin embargo, también median su respuesta a través de mecanismos dependientes de FGFR.

Los FGF similares a las hormonas adquirieron funciones endocrinas mediante la reducción de la afinidad de unión a heparina y la presencia de un nuevo grupo carboxílico COOH que permite la activación de receptores de FGF en ausencia de heparina.<sup>4</sup>

Por un lado, la afinidad débil de unión a heparina de los FGF endocrinos impide que sean capturados en la matriz extracelular y, por tanto, les permita funcionar como factores endocrinos circulantes. Por otro lado, la afinidad reducida por heparin/heparán sulfato también evita la interacción directa entre FGFs endocrinos y FGFRs. En lugar de heparina, los FGF endocrinos requieren cofactores alternos para mediar sus efectos a través de FGFRs. Muchos tejidos expresan una o más isoformas de FGFR que potencialmente funcionan como receptores para FGF. De este modo, la expresión del cofactor en un tejido determina el órgano diana de cualquier FGF endocrino para controlar el metabolismo y asegurar la especificidad hormonal.

Finalmente, el FGF23 requiere el cofactor  $\alpha$ -Klotho. La función del FGF23 y su regulación por factores locales y sistémicos juegan un papel importante de la presente investigación.<sup>1</sup>

### 3. Localización:

FGF23 se identificó por primera vez en el núcleo ventrolateral talámico del cerebro del ratón, y su importancia se reveló en pacientes con raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante.

FGF23 se expresa principalmente por osteocitos y osteoblastos en el hueso, pero también se expresa por las glándulas salivales, el estómago y a concentraciones mucho más bajas por otros tejidos, incluyendo el músculo esquelético, el cerebro, la glándula mamaria, el hígado y el corazón.<sup>5</sup>

El gen del FGF23 se localiza en el cromosoma 12 humano y el cromosoma 6 de ratón. Está compuesto por 3 exones separados por 2 intrones y codifica una glicoproteína de 32 kDa que contiene 251 residuos de aminoácidos. La proteína comprende una secuencia señal hidrófoba de 24 aminoácidos, una región amino-terminal de 154

aminoácidos que contiene la región homóloga del núcleo FGF y una región característica carboxi-terminal de 73 aminoácidos. Después de la escisión de la secuencia señal de 24 aminoácidos y O-glicosilación por UDP-N-acetil- $\alpha$ -D-galactosamina, la proteína madura FGF23 se secreta en la circulación. En el torrente sanguíneo, la proteína FGF23 circula en dos formas distintas: una forma madura de longitud completa FGF23 y una forma más corta FGF23 que carece del único extremo terminal COOH de 73 aminoácidos. La forma más corta surge de la escisión proteolítica en el sitio RXXR, que sigue a la región  $\beta$ 10- $\beta$ 12 de la región homóloga del núcleo FGF de FGF23. Sólo la forma de longitud completa de FGF23 es activa, ya que el grupo carboxi-terminal es esencial para la interacción con el cofactor  $\alpha$ -Klotho y la activación de la señalización con el FGFR. La O-glicosilación de FGF23 se produce en la región 162-228 que se superpone al sitio de escisión de RXXR y esta modificación postransduccional parece proteger FGF23 de la escisión por las convertasas de proteínas similares a la subtilisina cuando se usan péptidos recombinantes *in vitro*.<sup>2</sup>

Se han creado ratones mutantes FGF23 para determinar la función de FGF23. La sobreexpresión en animales transgénicos o la administración parenteral de FGF23 a roedores suprime la reabsorción de fosfato e inhibe la síntesis de 1,25[OH]<sub>2</sub>D en los túbulos renales proximales. Por el contrario, los ratones que no poseían FGF23 o humanos con mutaciones homocigóticas en el FGF23 desarrollaron hiperfosfatemia severa, niveles elevados de 1,25[OH]<sub>2</sub>D y calcificaciones de tejidos blandos.

Los genes Klotho codifican proteínas cofactoras que focalizan la acción específica en un tejido para el FGF endocrino independiente de heparina.

Así,  $\alpha$ -Klotho se descubrió mientras se estudiaba el fenotipo de ratones transgénicos que sobreexpresaban el canal de Na-H<sup>+</sup> de tipo I.<sup>6</sup>

Los cinco exones del gen  $\alpha$ -klotho codifican una proteína tipo I transmembrana, y una proteína similar a  $\beta$ -glicosidasa con actividad  $\beta$ -glucuronidasa. La proteína  $\alpha$ -klotho comparte una identidad del 41% de aminoácidos con  $\beta$ -klotho.  $\alpha$ -Klotho se expresa predominantemente en el riñón y el epitelio del plexo coroideo en el cerebro. Además de estos tejidos, se ha observado una baja expresión de  $\alpha$ -klotho en la glándula pituitaria, placenta, músculo esquelético, vejiga urinaria, aorta, páncreas, testículo, ovario y colon.

Los órganos diana para FGF23 se caracterizan por la coexpresión conjunta en la membrana del conjugado  $\alpha$ -Klotho y FGFRs. La importancia de la proteína de membrana  $\alpha$ -Klotho en la señalización de FGF23 está ilustrada por trastornos genéticos

humanos y de ratón en los que la pérdida de  $\alpha$ -Klotho resulta en una resistencia a FGF23 por parte de los órganos a los cuales se enfoca su acción, pero las anomalías se asemejan a la deficiencia de FGF23. Estudios posteriores han identificado a  $\alpha$ -Klotho como el cofactor necesario para FGF23, formando complejos con FGFRs y aumentando su afinidad por FGF23.<sup>6</sup>

El  $\alpha$ -Klotho soluble actúa como un factor humoral y como una enzima que regula varias glicoproteínas de la superficie celular. De hecho, el  $\alpha$ -Klotho secretado inhibe *in vitro* la autofosforilación del receptor de la insulina inducida por insulina y factor de crecimiento tipo insulina-1 (FCI-1). Este efecto se puede relacionar con un papel anti-envejecimiento para  $\alpha$ -klotho ya que la regulación negativa de la vía de señalización de FCI-I prolonga la vida útil. Una función bien establecida de la proteína secretada es inhibir la internalización del canal catiónico del potencial de receptores transitorios de calcio de la superficie celular, subfamilia V, miembro 5 (TRPV5), principal responsable de la entrada de  $\text{Ca}^{2+}$  en la reabsorción de  $\text{Ca}^{2+}$  transepitelial en el riñón.

Finalmente, los últimos estudios revelan que la deficiencia de Klotho es un biomarcador temprano para la enfermedad renal crónica (ERC). De hecho, la deficiencia de  $\alpha$ -Klotho se asocia con progresión y complicaciones crónicas en la ERC incluyendo calcificación vascular e hipertrofia cardíaca en estudios en animales y humanos, y la sustitución de Klotho soluble y/o sobreexpresión forzada protege al riñón de lesiones renales, preserva la función renal y suprime la fibrosis renal.<sup>5</sup>

#### 4. Receptores de FGF.

Los FGFRs de mamíferos están codificados por cuatro genes distintos (FGFR1-FGFR4).

FGF23 se une a múltiples isoformas de FGFRc *in vitro*, pero tiene baja afinidad por sí solo a los receptores y cofactores tales como heparina/sulfato de heparán, que no funcionan como con las interacciones FGF/FGFR clásicas para activar la señalización de FGF.

El extremo carboxi-terminal de FGF23 forma un complejo trimérico con  $\alpha$ -Klotho y las isoformas de FGFR 1, 3 y 4. La capacidad de  $\alpha$ -Klotho de unirse a FGFR2 es menor que con los otros FGFR. La unión de  $\alpha$ -Klotho a FGFRs cambia la afinidad de FGFs por sus receptores. FGF23 se une a un complejo FGFR- $\alpha$ -Klotho con una afinidad mucho mayor que FGFR por sí solo, y la señalización FGF23 es máxima cuando se une

a complejos FGFR1c- $\alpha$ -Klotho. El mecanismo de hipótesis para la bioactividad FGF23 con  $\alpha$ -Klotho es el reclutamiento de FGFRs para formar complejos heteroméricos a través de la señal de una proteína quinasa activada por mitógeno (MAPK). Al interactuar con complejos FGFR- $\alpha$ -Klotho, FGF23 inicia una cascada de señalización a través de una variedad de proteínas de señalización intracelular incluyendo FRS2, GAB1, SHC, PLC o STAT1. Éstos son fosforilados en respuesta a la activación de FGFRs que conducen a mecanismos para la posterior expresión génica diferencial y/o aditiva y sugieren respuestas diferenciales según la implicación aditiva de múltiples FGFRs.<sup>7</sup>

## 5. Función renal

Las principales consecuencias del exceso de FGF23 son la hipofosfatemia, el metabolismo anormal de la vitamina D, el crecimiento anormal y el raquitismo/osteomalacia. A la inversa, la falta de FGF23 en ratones produce hiperfosfatemia, exceso de 1,25[OH]<sub>2</sub>D, y calcificaciones de tejido blando.

Por un lado, la reducción de los niveles circulantes de 1,25[OH]<sub>2</sub>D en respuesta al exceso de FGF23 se debe a la regulación de los procesos anabólicos y catabólicos mediante la inhibición de la 25-hidroxivitamina D 1- $\alpha$ -hidroxilasa (CYP27b1) y la estimulación de 1,25-dihidroxivitamina D 24-hidroxilasa (CYP24a1) en los túbulos proximales. CYP27b1 y CYP24a1 son las enzimas renales responsables respectivamente de la síntesis de la forma bioactiva de la vitamina D y de la degradación de la forma bioactiva de la vitamina D en ácido calcitroico. Por otra parte, la hipofosfatemia inducida por el exceso de FGF23 está mediada por la inhibición de los cotransportadores de fosfato dependientes de sodio en los túbulos renales proximales.<sup>7</sup>

### A. Metabolismo de la vitamina D

La función fisiológica más caracterizada del FGF23 es actuar como una hormona contra-reguladora de la vitamina D.

En los trastornos hipofosfatémicos causados por el exceso de FGF23, los niveles de 1,25[OH]<sub>2</sub>D se encuentran suprimidos por el grado de hipofosfatemia, que debería aumentar los niveles de 1,25[OH]<sub>2</sub>D. FGF 23 reduce los niveles de 1,25[OH]<sub>2</sub>D debido a los efectos reguladores en CYP27b1 y CYP24a1 para disminuir la producción y aumentar el catabolismo de 1,25[OH]<sub>2</sub>D. Los estudios demuestran que el aumento de



FGF23 inhibe las expresiones de CYP27b1 y estimula las de CYP24a1, que resulta lo opuesto a lo que se esperaría en presencia de altos niveles circulantes de PTH y hipofosfatemia concomitante.

Curiosamente, el efecto estimulador de FGF23 en la expresión de CYP24a1 y la reducción de los niveles séricos de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$  son mecanismos dependientes del receptor de vitamina D (VDR).<sup>8</sup>

En conjunto, estos estudios sugieren que el mecanismo de acción del FGF23 sobre las enzimas que regulan la producción y degradación de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$  puede diferir del exceso de FGF23 agudo a crónico. Finalmente, la acción del FGF23 sobre el metabolismo de la vitamina D no depende de un sistema funcional de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$ -VDR, ya que el tratamiento de ratones carentes de VDR con FGF23 disminuyó aún más la hipofosfatemia debido a la reducción de la absorción renal e intestinal de fosfato acompañada de una disminución de NaPi2a, NaPi2b y Cyp27b1.<sup>4</sup>

#### B. Reabsorción de fosfato

El fosfato se reabsorbe casi exclusivamente en el túbulo proximal renal a través de una vía transcelular. El paso limitante de este sistema de transporte transepitelial es la entrada de fosfato en el dominio apical de las células tubulares proximales. Este proceso requiere cotransportadores de fosfato dependientes de sodio que utilizan el gradiente de sodio entrante establecido y mantenido por la actividad de la bomba  $\text{Na}^+/\text{K}^+$  ATPasa. Existen tres tipos de cotransportadores de fosfato dependientes de sodio en células renales tubulares proximales: el cotransportador de tipo 1 (NPT1), los de tipo 2 (NPT2a, NPT2b y NPT2c), y el tipo 3 comprende dos transportadores, PiT1 y PiT2.

Se ha demostrado que FGF23 suprime la expresión de NPT2a y NPT2c y, en consecuencia, puede aumentar la excreción de fosfato urinario.<sup>4</sup>

Mientras que los efectos de FGF23 sobre la isoforma de NPT2c parecen ser variables, se demostró que la exposición continua al FGF23 recombinante produce una mayor eliminación de fosfato renal resultante de la disminución de la expresión renal de NPT2a. El efecto sobre el fosfato de FGF23 se demuestra además convincentemente *in vivo*. Por ejemplo, los ratones transgénicos que sobreexpresan FGF23 tienen un desgaste severo en la cantidad de fosfato urinario debido a la supresión de la expresión y/o actividad renal de NPT2. A la inversa, los ratones nulos de FGF23 caracterizados por

hiperfosfatemia severa y calcificación de tejidos blandos ectópicos exhiben una expresión renal aumentada de NPT2a.

Al menos tres FGFR diferentes han mostrado una mayor afinidad por FGF23 cuando se acomplejan con  $\alpha$ -Klotho. Además, el cofactor limitante  $\alpha$ -Klotho se localiza predominantemente en el túbulo distal renal, y se observan respuestas biológicas de FGF23 sobre las isoformas de NPT2 y enzimas metabolizantes de vitamina D dentro de los túbulos proximales (PT).<sup>4</sup>

Independientemente de estos hallazgos, los niveles más altos de los complejos (FGFR,  $\alpha$ -Klotho) se encuentran en los túbulos distales, mientras que las acciones biológicas de FGF23 se observan en los túbulos proximales, lo que teóricamente excluye un efecto directo mayor de FGF23 en los túbulos proximales. Alternativamente, las acciones de FGF23 en el túbulo proximal pueden ser indirectas, posiblemente a través de la estimulación FGF23 del túbulo distal y la liberación de factores paracrinos que regulan la función del túbulo proximal.<sup>4</sup>

FGF23 disminuye la expresión de  $\alpha$ -Klotho por el riñón, creando así complejas vías de retroalimentación para regular el metabolismo de fosfato y calcio. La sobreexpresión de  $\alpha$ -Klotho provoca fosfaturia y la expresión forzada de  $\alpha$ -Klotho en las células del túbulo proximal o en las vesículas de membrana libres de células disminuye la inserción de NPT2a en la membrana.

Como se discutió anteriormente, parece que el FGF23 sirve principalmente como un factor sistémico para regular la homeostasis del fosfato y el metabolismo de la vitamina D, pero el FGF23 también puede señalar directamente a través de complejos extrarrenales formados por FGFR/ $\alpha$ -Klotho. Aunque se describe menos, el FGF23 también puede regular otros genes tanto en el túbulo proximal como distal, además de los efectos renales en los cotransportadores de fosfato y las enzimas del metabolismo de la vitamina D.

FGF23 es capaz de unirse a receptores de FGF en ausencia de  $\alpha$ -Klotho, aunque con baja afinidad, es plausible que la activación de receptores de FGF también se produzca en presencia de altos niveles de FGF23 en órganos donde  $\alpha$ -Klotho está ausente.

Poco se sabe sobre los efectos de FGF23 sobre los órganos que expresan  $\alpha$ -Klotho como el cerebro y el sistema cardiovascular. La falta de estudios en estas áreas es probablemente debido al enmascaramiento de los efectos tóxicos de la hiperfosfatemia y elevación de los niveles de 1,25[OH]<sub>2</sub>D que se admite como principal responsable del aumento de la mortalidad en ausencia de señalización de FGF23.

Teóricamente FGF23 también puede tener efectos centrales en los complejos FGFR/ $\alpha$ -Klotho en el plexo coroideo y la hipófisis, donde también se expresa FGF23. A pesar de que en estadios con FGF23 muy alto, como la insuficiencia renal terminal (ESRD), la disfunción cognitiva es muy prevalente en los pacientes en comparación con la población general, no se estableció relación directa entre FGF23 y el deterioro cognitivo.

## DISCUSIÓN

### 6. Regulación del FGF23

#### A. Activación del promotor por 1,25[OH]<sub>2</sub>D

1,25[OH]<sub>2</sub>D es el factor sistémico más importante que regula FGF23. La administración de 1,25[OH]<sub>2</sub>D aumenta los niveles de FGF23, mientras que la interrupción de las vías 1,25[OH]<sub>2</sub>D reduce el FGF23 circulante en ratones.

La disminución de los niveles de PTH disminuye la excreción de fosfato y podría resultar en un balance positivo de fosfato a partir del aumento mediado por la vitamina D en la absorción de fosfato gastrointestinal si no es por elevaciones compensatorias de FGF23, que también suprime 1,25[OH]<sub>2</sub>D para contrarrestar el aumento de Vitamina D. Esto constituye un bucle hormonal clásico: aumento de 1,25[OH]<sub>2</sub>D conduce a un aumento de FGF23 lo que conduce a su vez a una disminución de 1,25[OH]<sub>2</sub>D. La expresión de FGF23 se regula tanto por la señalización dependiente de VDR como independiente de VDR. La estimulación de la vía 1,25[OH]<sub>2</sub>D-VDR induce la expresión de FGF23, como se evidencia por un aumento de los niveles de FGF23 después de la administración de 1,25[OH]<sub>2</sub>D. En consonancia con estos hallazgos, los ratones VDR nulos mostraron niveles indetectables de FGF23. Además, la normalización de los niveles séricos de calcio y fosfato por medio de la dieta aumentó los niveles de FGF23 en ratones VDR nulos, lo que indica que la expresión de FGF23 también está regulada por una vía independiente de VDR.

#### B. Regulado por fosfato

En humanos, se demostró que el FGF23 sérico estaba regulado por fosfato dietético, mientras que un estudio siguiente demostró que los seres humanos que consumían

dietas que contenían cantidades crecientes de fosfato mostraron una concentración de FGF23 disminuida. En general, en humanos, los cambios del FGF23 secretado son bastante variables y modestos cuando se miden después de dietas con alto o bajo contenido de fosfato de larga duración.

Los niveles de FGF23 también están elevados en insuficiencia renal y el grado de elevación se correlaciona con el grado de hiperfosfatemia.

En conjunto, estos datos muestran que FGF23 puede variar en animales y pacientes sin cambios en los niveles de fosfato sérico, lo que sugiere que la carga de fosfato, en lugar de los niveles plasmáticos, debe ser considerada para la regulación de FGF23. Si esto es cierto, también sugiere que los niveles de fósforo circulante no reflejan adecuadamente el balance de fósforo y que el fosfato sérico no es el principal regulador del FGF23, al menos en la ERC. Además, la ingesta baja de calcio también se asocia con hipofosfatemia y niveles elevados de FGF23 en ausencia de deficiencia de vitamina D en las poblaciones africana y asiática. Sin embargo, ni el calcio extracelular ni el fosfato estimulan directamente la expresión de FGF23 en osteoblastos.<sup>6</sup>

#### C. Regulación por la PTH

El FGF23 está aumentado en el hiperparatiroidismo primario, en la condrodisplasia metafisaria de Jansens causada por la activación de las mutaciones del receptor PTH/PTHrP, y la paratiroidectomía da como resultado una disminución del FGF23 en la ERC. Además, la PTH estimula directamente la expresión del gen FGF23 *in vitro*.

#### D. Regulación por PHEX y DMP1

El gen regulador de fosfato, el cual posee secuencias homólogas de aminoácidos con endopeptidasas en el cromosoma X (PHEX), es un miembro proteico de 106 kDa de la familia de enzimas de conversión de endotelina expresada por osteoblastos y osteocitos en hueso. Inactivar la mutación de PHEX conduce a un aumento de la transcripción de genes FGF23 por el hueso. La eliminación de PHEX en los osteoblastos *in vivo* es suficiente para aumentar la expresión de FGF23, lo que sugiere que PHEX participa en los mecanismos locales que regulan FGF23. Hasta la fecha, los mecanismos por los cuales PHEX regula la transcripción del gen FGF23 en el hueso todavía no están claros, y la relevancia para la producción de FGF23 por osteoblastos y osteocitos no se conoce.

## E. Regulación por FGFs/FGFRs vía FGFR dependiente

Las vías de señalización también han surgido como importante regulador de la expresión de FGF23 en los osteocitos. En este sentido, la displasia osteoglofónica (OGD), un trastorno displásico óseo autosómico dominante causado por la activación de mutaciones en FGFR1, también produce hipofosfatemia y niveles elevados de FGF23.

## DISCUSIÓN

### 7. Implicaciones fisiológicas y patológicas del FGF23

El descubrimiento del FGF23 y su regulación y función, además de definir nuevas vías y redes fisiológicas, ha conducido a un nuevo marco fisiopatológico para la clasificación de trastornos hipo e hiperfosfatémicos hereditarios y adquiridos.

#### A. Implicaciones Fisiológicas del FGF23

Más del 85% del total del fosfato corporal se almacena en hueso tanto en la matriz mineralizada como en los lugares de intercambio. El fosfato se mueve dentro y fuera del hueso (normalmente con calcio) de manera coordinada con la mineralización ósea y remodelación ósea, el manejo renal de fosfato, la absorción dietética de fosfato y el estado ácido-base. Además de que el fosfato extracelular es crítico para la mineralización de la matriz ósea, el fosfato intracelular es fundamental para el metabolismo energético y la señalización intracelular. Las funciones metabólicas relacionadas con el fosfato intracelular son más sensibles a la hipofosfatemia.

La capacidad de amortiguación ósea del fosfato es una entidad difícil de cuantificar, pero sus efectos sobre la homeostasis sistémica de fosfato se observan indirectamente en trastornos clínicos, como el hiperparatiroidismo severo en la enfermedad renal crónica, donde el exceso de flujo de fosfato del hueso contribuye tanto a la hiperfosfatemia como al calcio sérico. Niveles bajos y reducciones rápidas de la PTH como ocurre con la paratiroidectomía, resulta en una hipofosfatemia profunda y hipocalcemia debido al aumento de la absorción de calcio y fosfato en el "síndrome del hueso hambriento". Dado el reservorio y la función amortiguadora del hueso en la

homeostasis de fosfato y la toxicidad del exceso de fosfato circulante, las señales reguladoras procedentes del hueso para coordinar el flujo mineral entrante y saliente para controlar la homeostasis sistémica del fosfato.<sup>6</sup>

El exceso de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$  puede presentar toxicidad que es mediada a través de sus efectos para aumentar la absorción gastrointestinal de calcio y fosfato y para estimular RANKL en hueso, lo cual conduce a un aumento de la osteoclastogénesis y del flujo de calcio y fosfato desde el esqueleto hacia el plasma. El aumento de calcio inhibirá la PTH a través de la activación del CASR en la glándula paratiroides. La reducción de la PTH reducirá la producción renal de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$  a través de la pérdida de la estimulación sobre la PTH de CYP27b1. La reducción en la concentración de la PTH también producirá la pérdida de los efectos tónicos de la PTH para aumentar la restricción del fosfato renal. Para prevenir la hiperfosfatemia en un contexto con aumento de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$  y reducción de la PTH se requiere un regulador adicional de la regulación de fosfato renal.

Se ha avanzado en la hipótesis de que las principales funciones fisiológicas del FGF23 y la razón de su expresión predominante en el hueso es que esta hormona funciona para proteger al organismo de los efectos tóxicos del exceso de fosfato y  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$ . Por ello, la  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$  regula directamente la transcripción de FGF23 en osteoblastos / osteocitos, pero el fosfato, en lugar de modular directamente FGF23, tiene efectos indirectos que están mediados a través de los efectos del fosfato sobre la mineralización de la matriz extracelular. Además, el desarrollo óseo y la capacidad de amortiguamiento ósea proporciona el vínculo entre el fosfato y la regulación de FGF23 a través de la regulación de los factores de la matriz extracelular que implican la endopeptidasa PHEX y la proteína de matriz de dentina 1 (DMP1) de la proteína SIBLING. Por último, la regulación de FGF23 se integra con el metabolismo mineral y energético a través del cruce entre PTH,  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$ , Leptina y Klotho secretado.<sup>6</sup>

#### B. Trastornos hipofosfatémicos causados por exceso de FGF23

Existen cuatro trastornos hereditarios causados por mutaciones de un solo gen que están asociadas con niveles incrementados de FGF23 por hueso en células de tipo osteoblástico (típicamente osteocitos). Estas incluyen 1) mutaciones del sitio RXXR de la escisión de FGF23 en raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante (ADHR); 2) mutaciones inactivadoras de Phex, una endopeptidasa de superficie celular; 3)

mutaciones de inactivación de DMP1 en raquitismo hipofosfatémico autosómico recesivo 1 (ARHR1); y 4) inactivación de ectonucleótido-pirofosfatasa / fosfodiesterasa 1 (ENPP1), una enzima que genera pirofosfato, en raquitismo hipofosfatémico autosómico recesivo 2 (ARHR2). Las características bioquímicas del exceso de FGF23 en estos trastornos son la hipofosfatemia, una bajos niveles inapropiados de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$  y el raquitismo y/o osteomalacia que reflejan principalmente los efectos esqueléticos de la fosfatemia.

El PPI es un sustrato para la fosfatasa alcalina, que incrementa Pi local en el hueso. Paradójicamente, la alteración de la mineralización del hueso es probable debido a una disminución de la producción local de Pi por la fosfatasa alcalina debido a las reducciones en el sustrato PPI.<sup>6</sup>

### C. Trastornos hiperfosfatémicos debidos a alteraciones del FGF23

En contraste con los trastornos hipofosfatémicos mediados por FGF23, también hay varias enfermedades hiperfosfatémicas causadas por la deficiencia de FGF23 incluyendo mutaciones inactivadoras de GALNT3, FGF23 y Klotho. Todas estas mutaciones conducen al síndrome clínico de calcinosis tumoral hiperfosfatémica (OMIM), que se caracteriza por calcificaciones de tejidos blandos y periarticulares, hiperfosfatemia y niveles séricos elevados de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$ , causados por la pérdida de funcionalidad FGF23. Las mutaciones de GALNT3 disminuyen la estabilidad de FGF23, mientras que las mutaciones de Klotho previenen la formación de complejos con FGF23 y conducen a una disminución de la señalización de FGF23.<sup>6</sup>

#### 1. CKD.

CKD conduce a un aumento de PTH y FGF23 y disminución de la circulación de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$ , hipocalcemia, hiperfosfatemia, enfermedad ósea con calcificaciones vasculares y morbilidad cardiovasculares, denominados colectivamente enfermedad renal crónica-mineral y trastorno óseo (CKD- MBD).

La patogénesis de la CKD-MBD se ve tradicionalmente desde la perspectiva del eje PTH-vitamina D, y los tratamientos actuales se centran en la supresión de la PTH con análogos activos de la vitamina D.

Hay evidencia de que el FGF23 aumentado es el evento inicial que conduce a

reducciones en  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$  y elevaciones de PTH en respuesta a la pérdida de la función renal. Estudios transversales en humanos muestran elevaciones tempranas de FGF23 en la ERC en proporción a la reducción de la TFG y elevaciones mayores en la ERT. Los niveles de FGF23 se correlacionan con el grado de hiperfosfatemia y predicen hiperparatiroidismo refractario en pacientes con ESRD.

Dado que el FGF23 inhibe la producción y estimula el catabolismo de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$  a través de su respectiva inhibición de Cyp27b1 y la estimulación de Cyp24, los niveles reducidos de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$  en CKD pueden no representar una verdadera deficiencia de vitamina D. Más bien, la supresión mediada por FGF23 de los niveles circulantes de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$  es una respuesta adaptativa, que protege contra la hiperfosfatemia mediante la reducción de los efectos de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$  sobre la absorción de fosfato gastrointestinal. Este mecanismo activo está respaldado por estudios que muestran que el tratamiento con anticuerpos neutralizantes FGF23 previene la disminución del calcitriol sérico en ratas con IRC progresiva. Además, la disminución de los niveles de  $1,25[\text{OH}]_2\text{D}$  aumenta la producción de PTH, que actúa en consonancia con FGF23 para estimular la fosfaturia. El enfoque del tratamiento para prevenir las elevaciones de FGF23 pueden convertirse en el objetivo terapéutico inicial. El tratamiento con paracalcitol eleva aún más el FGF23 en la ESRD. Dado que el calcitriol aumenta el FGF23, pueden justificarse las terapias de reserva del calcitriol, como la combinación de dosis bajas de paracalcitol y calcimiméticos, lo que ha demostrado que disminuye los niveles de FGF23 en los pacientes con ERT.<sup>6</sup>

## 2. Aclaración de la asociación entre el FGF23 elevado y la mortalidad .

A medida que el CKD avanza a ESRD, el aumento progresivo del FGF23 se vuelve desadaptativo, contribuyendo posiblemente a un progreso más rápido de la insuficiencia renal, disfunción cardíaca y calcificaciones vasculares, contribuyendo a una morbilidad y mortalidad excesivas. El análisis de cohortes con ESRD muestra que el aumento de FGF23 también se asocia con un aumento de la mortalidad, independiente de los niveles de fosfato sérico. Un elevado FGF23 puede tener efectos adversos sobre la mortalidad y los resultados cardiovasculares en pacientes sin insuficiencia renal.

El aumento de FGF23 se asocia con enfermedad cardiovascular, una mayor mortalidad en pacientes ancianos con "función renal normal" y en pacientes con ERC avanzada. FGF23 también puede explicar la asociación entre una pobre remodelación ósea y



calcificaciones cardiovasculares, ya que la baja expresión de la osteocalcina, como marcador de la rotación ósea, se asocia con altos niveles de FGF23 y mortalidad cardiovascular. Además, existe una asociación entre elevaciones de FGF23 con hipertensión e hipertrofia cardíaca en pacientes con XLH. Existe también una asociación entre el aumento del FGF23 con la progresión de la fibrosis renal en la ERC.

Los mecanismos de los efectos tóxicos del FGF23 no están claros. La asociación entre FGF23 elevado y un aumento de la mortalidad es independiente de los niveles de fosfato en la ESRD, lo que sugiere que están involucrados otros factores. En este punto, no está claro si los efectos adversos de FGF23 están mediados por la supresión de la expresión de  $\alpha$ -Klotho por el riñón u otros factores derivados de riñón regulados por FGF23, o debido a efectos fuera de objetivo con respecto a niveles muy altos de FGF23 encontrados en CKD.<sup>4</sup>

### 3. TIO

También llamada osteomalacia oncogénica, TIO es un trastorno paraneoplásico adquirido caracterizado por hipofosfatemia, osteomalacia y metabolismo anormal de vitamina D, similar a los trastornos hipofosfáticos hereditarios, pero causado por el aumento de la producción de FGF23 por tumores benignos. El FGF23 se clonó y caracterizó a partir de tumores que causaban osteomalacia hipofosfática, y la extirpación de los tumores produjo una disminución de los niveles de FGF23. Los niveles séricos de FGF23 son útiles para diagnosticar TIO en pacientes con hipofosfatemia inexplicada, y las exploraciones mediante escáner de ocreótidos pueden ser útiles para identificar el lugar de las neoplasias mesenquimatosas benignas ocultas que secretan FGF23.

### 4. Efectos del tratamiento farmacológico

El eje del riñón óseo del FGF23 ofrece explicaciones para la hipofosfatemia y la hiperfosfatemia observadas en otros contextos clínicos. Existen varios fármacos que causan hiper o hipofosfatemia a través de la modulación de la expresión de FGF23. Estos incluyen inhibidores de las quinasas de FGFR que se están desarrollando para terapias contra el cáncer que se ha revelado que conducen a hiperfosfatemia así como

preparaciones de hierro inyectadas por vía intravenosa usadas para tratar la anemia y glucocorticoides que causan hipofosfatemia. El mecanismo de estos efectos no está del todo claro, pero los efectos de la administración parenteral de hierro para causar hipofosfatemia a través del aumento de FGF23 podrían estar mediados por la inhibición de PHEX y/o mineralización ósea. Los efectos de los inhibidores del receptor de la tirosina quinasa podrían deberse a el resultado de bloquear los efectos finales que FGF23 tiene sobre los órganos diana. Además, la prednisona se asocia con un FGF23 aumentado así la osteólisis, posiblemente proporcionando la evidencia adicional para un acoplamiento entre la mineralización del hueso y la expresión de FGF23.<sup>4</sup>

Aplicación terapéutica:

En la hipofosfatemia ligada al cromosoma X (HLX), los niveles de FGF23 se encuentran aumentados y como resultado se produce un disminución del valor umbral de reabsorción de fosfato, una cantidad de fosforo inorgánico reducido en el plasma y unos niveles bajos de 1,25[OH]<sub>2</sub>D en sangre, todo esto con un desarrollo posterior de raquitismo e osteomalacia. Así, se ha desarrollado el KRN23, un anticuerpo monoclonal recombinante que se une a FGF23 y bloquea su actividad. Como consecuencia de su acción se produce un aumento lineal de los niveles de 1,25[OH]<sub>2</sub>D y fosfato sérico con respecto a los niveles de KRN23, lo que demuestra su eficacia en el tratamiento del HLX.<sup>2,9</sup>

## CONCLUSIONES:

El descubrimiento del FGF23 ha cambiado nuestra comprensión del metabolismo mineral mediante la identificación de bucles de retroalimentación entre la glándula paratiroides, intestinos, hueso y riñón para mantener la homeostasis sistémica, el metabolismo energético y la salud ósea. Todavía queda por dilucidar la comprensión de las funciones integradoras de estas redes hormonales, pero la importancia del FGF23 se revela por los profundos efectos de su exceso o deficiencia en la homeostasis mineral y la integración de muchos factores locales y sistémicos para regular la expresión del FGF23.

En la hipofosfatemia ligada al cromosoma X (HLX), los niveles de FGF23 se encuentran aumentados y como resultado se produce una disminución del valor umbral de reabsorción de fosfato, una cantidad de fosforo inorgánico reducido en el plasma y unos niveles bajos de 1,25[OH]<sub>2</sub>D en sangre, todo esto con un desarrollo posterior de raquitismo e osteomalacia. Así, se ha desarrollado el KRN23, un anticuerpo monoclonal recombinante que se une a FGF23 y bloquea su actividad. Como consecuencia de su acción se produce un aumento lineal de los niveles de 1,25[OH]<sub>2</sub>D y fosfato sérico con respecto a los niveles de KRN23, lo que demuestra su eficacia en el tratamiento del HLX.

#### **BIBLIOGRAFÍA:**

1. Bożentowicz-Wikarek M, Owczarek A, Kocełak P, Olszanecka-Glinianowicz M, Więcek A, Chudek J. C-Terminal to Intact Fibroblast Growth Factor 23 Ratio in Relation to Estimated Glomerular Filtration Rate in Elderly Population. *Kidney Blood Press Res* 2016;41:519-526. Acceso: <http://www.karger.com/Article/FullText/443452>
2. Xiaoping Zhang, PhD1 , Erik A. Imel, MD2 , Mary D. Ruppe, MD3 , Thomas J. Weber. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of a Human Monoclonal Anti-FGF23 Antibody (KRN23) in the First Multiple Ascending-Dose Trial Treating Adults With X-Linked Hypophosphatemia <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC5042055/pdf/JCPH-56-176.pdf>
3. Hodaka Yamada, Makoto Kuro , Kazuo Hara , Yuichiro Ueda , Ikuyo Kusaka, Masafumi Kakei, San-e Ishikawa. FGF23-Klotho signaling axis in the kidney: [http://www.thebonejournal.com/article/S8756-3282\(16\)30256-3/pdf](http://www.thebonejournal.com/article/S8756-3282(16)30256-3/pdf)
4. Hodaka Yamada1 , Makoto Kuro-o , Kazuo Hara , Yuichiro Ueda , Ikuyo Kusaka , Masafumi Kakei , San-e Ishikawa. The Urinary Phosphate to Serum Fibroblast Growth Factor 23 Ratio Is a Useful Marker of Atherosclerosis in Early-Stage Chronic Kidney Disease. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4978402/>

5. Fgf23 and parathyroid hormone signaling interact in kidney and bone. <http://www.sciencedirect.com/science/article/pii/S0303720716302751>
6. Araya K, Fukumoto S, Backenroth R, Takeuchi Y, Nakayama K, Ito N, Yoshii N, Yamazaki Y, Yamashita T, Silver J, Igarashi T, Fujita T. A novel mutation in fibroblast growth factor 23 gene as a cause of tumoral calcinosis. *J Clin Endocrinol Metab.* 2005;90:5523–5527. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=16030159>
7. Baum M, Schiavi S, Dwarakanath V, Quigley R. Effect of fibroblast growth factor-23 on phosphate transport in proximal tubules. *Kidney Int.* 2005; 68:1148–1153. [PubMed: 16105045] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=16105045>
8. Brown WW, Juppner H, Langman CB, Price H, Farrow EG, White KE, McCormick KL. Hypophosphatemia with elevations in serum fibroblast growth factor 23 in a child with Jansen's metaphyseal chondrodysplasia. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009; 94:17–20. [PubMed: 18854401] <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=18854401>
9. Carpenter TO, Imel EA, Ruppe MD, Weber TJ, Klausner MA, Wooddell MM, Kawakami T, Ito T, Zhang X, Humphrey J, Insogna KL, Peacock M. Randomized trial of the anti-FGF23 antibody KRN23 in X-linked hypophosphatemia. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24569459>