Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

TESIS DOCTORAL

Relación entre el Factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23) y el fenómeno inflamatorio en la enfermedad vascular aterosclerótica.

Presentada por:

Carolina Hernández Carballo

Dirigida por:

Dr. Juan F. Navarro González

y

Dr. Javier Donate Correa

Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud

Unidad de Investigación

Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria

2021

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Más allá de la noche que me cubre
negra como el abismo insondable,
doy gracias a los dioses que pudieran existir
por mi alma invicta.
En las azarosas garras de las circunstancias
nunca me he lamentado ni he pestañeado.
Sometido a los golpes del destino
mi cabeza está ensangrentada, pero erguida.
Más allá de este lugar de cólera y lágrimas
donde yace el Horror de la Sombra,
la amenaza de los años
me encuentra, y me encontrará, sin miedo.
No importa cuán estrecho sea el portal,
cuán cargada de castigos la sentencia,
soy el amo de mi destino:
soy el capitán de mi alma.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este trabajo ha sido financiado a través de los proyectos PI13/01726 y PI16/00024 del Instituto de Salud Carlos III (ISCIII), el Premio a la investigación Biomédica 2016DISA012 de la Fundación DISA y el proyecto PIFUN05/18 de la Fundación Canaria Instituto de Investigación Sanitaria de Canarias (FIISC).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Escuela de Doctorado y Estudios de Posgrado
Universidad de La Laguna

Servicio Canario de la Salud

El **Dr. JUAN FRANCISCO NAVARRO GONZÁLEZ**, Jefe de Servicio de la Unidad de Investigación del Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria (HUNSC), Investigador Adscrito al Instituto Universitario de Tecnologías Biomédicas de la Universidad de La Laguna (ULL), tutor externo de prácticas del Departamento de Medicina Interna, Dermatología y Psiquiatría de la ULL y el **Dr. JAVIER DONATE CORREA**, Investigador Adscrito a la Unidad de Investigación del HUNSC, ambos integrados en la Línea "Investigación Biomédica Clínica" del Programa de Doctorado en Ciencias de la Salud (DCS) por la ULL,

CERTIFICAN:

- Que Dña. **CAROLINA HERNÁNDEZ CARBALLO**, Licenciada en Medicina, ha realizado bajo su dirección los trabajos de investigación correspondientes a la Tesis Doctoral titulada: "**Implicación del factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23) en la lesión vascular aterosclerótica",** que presenta para optar al grado de Doctor por la Universidad de La Laguna.

- Que, una vez revisada, consideramos esta memoria apta para ser presentada y defendida y autorizamos su presentación para ser juzgada por el Tribunal que sea designado al efecto por la Comisión Académica

Y para que conste y surta los efectos oportunos, en cumplimiento de las disposiciones vigentes, firmamos el presente certificado en San Cristóbal de La Laguna, a 1 de septiembre de 2021.

LOS DIRECTORES DE LA TESIS

Dr. Juan Francisco Navarro González

Dr. Javier Donate Correa

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

A mis padres y a mi hermana. Mi fortaleza y remanso. Os quiero.

A Don Juan Carballo, "El Maestro". Porque siempre confió en mí.

A mi abuela. Por sus caricias.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

AGRADECIMIENTOS

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

En el siglo 21, en medio de una pandemia, se culmina este proyecto. Muchos fueron los momentos de duda, en los que me planteé no seguir, me planteé abandonar. En esos momentos, recordaba poqué había llegado hasta aquí. Recordé la ilusión con la que mi madre me compraba, cada septiembre, el material del que sería mi nuevo y gran año escolar. Recordé a mi padre esperándome con un bocadillo de queso y membrillo cada tarde, a las 5, para llevarme a mis clases de inglés; dibujando una sonrisa con hoyuelos en las mejillas. Recordé cómo mi abuelo se sentaba a mi lado, para contemplarme con orgullo, mientras estudiaba y me encendía la estufa de leña para que no pasase frío. Recordé cómo mi abuela me hacía las más ricas comidas. Y entonces recordaba por qué estaba allí: por ellos. Porque siempre creyeron en mí.

En primer lugar, quisiera agradecer a mis directores de tesis, los Dres. Navarro y Donate, por haber aceptado que participase en este proyecto. Por sus palabras de aliento, por su fuerza, por su compresión. Juan, tengo que agradecerte tu infinita paciencia conmigo, y la oportunidad de haber sido parte de tu equipo. Javi, solo puedo decir que, indudablemente, esto ha sido posible gracias a ti. Simplemente, como ya sabes, siempre voy a estar.

Por supuesto, al resto del equipo de la unidad; en especial a Ernesto que, no solo ha sido compañero de fatigas, sino que ha pasado a ser un incondicional en mi vida. A Carla, que, entre otras cosas, ¡me enseñó a hacer tinciones! A Víctor, un auténtico descubrimiento. Debo, igualmente agradecer la indudable labor de Carol y Nayra, las analistas que siempre colaboraron con este proyecto.

Debo dar gracias a mi hermana. Zaida. ¡Podría decir tantas cosas de ti! Creo que una buena forma de resumirla es decirte que vivir tiene sentido gracias a ti. Te quiero.

Raquel, mi mitad. ¿Qué haría yo sin ti? Una vida no me basta para darte las gracias por, simplemente, existir. Mi amiga, mi confidente, mi pañuelo de lágrimas, mi todo. Desde luego, el mejor regalo que me hizo la medicina.

Sergio, mi muy mejor amigo de toda la vida. Gracias por recordarme constantemente que “todo está controlado”. Por creer en mí incluso cuando yo no lo hacía. Por escucharme, siempre.

A mis amigas, Irene y Bea. Mi rubia y mi pelirroja. Por estar, siempre. Por escucharme, siempre. Porque llegan de la nada, y de repente ya no sabes qué hacer sin ellas. Y no importa que pasen semanas sin hablar. Cuando las necesito, siempre están.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

A mis compañeros de trabajo, que se han convertido en amigos y familia: Paco, Marcelino, Máximo, Ana, Mari Luz, Lucy, Antonio, Marta, Melitón, Diego, Susana, Jose, Rubén, Javi, Juan Carlos, Esther. A vuestro lado, el trabajo lo es menos. Infinidad de gracias por ser mis mentores. Os admiro y quiero muchísimo.

Finalmente, a todos y cada uno de mis pacientes. Sin ellos, nada de esto tendría sentido.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

ÍNDICE

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

ÍNDICE

ABREVIATURAS **9**

ÍNDICE DE FIGURAS **11**

ÍNDICE DE TABLAS **13**

I. RESUMEN **17**

II. INTRODUCCIÓN **21**

II.1 Enfermedad aterosclerótica **21**

II.1.1. Epidemiología 21

II.1.2. Fisiopatología 23

II.1.3. Fenómeno inflamatorio 27

II.2 Calcificación vascular **30**

II.2.1 Fisiopatología 30

II.2.2. Manifestación aterosclerótica inflamatoria 33

II.3. El Factor de Crecimiento Fibroblástico 23 **35**

II.3.1 Papel del FGF23 en la regulación del metabolismo mineral 37

II.3.2 El FGF23 y la morbimortalidad cardiovascular 40

II.3.3 Determinación de los niveles circulantes de FGF23 42

III. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS **47**

IV. OBJETIVOS **51**

V. MATERIAL Y MÉTODOS **55**

V.1 Sujetos de estudio. 55

V.2 Muestras biológicas 56

VI.2.1 Muestras de sangre y orina**.** 56

VI.2.2 Fragmentos de pared vascular 56

V.3 Determinaciones 56

V.3.1 Parámetros bioquímicos rutinarios 56

V.3.2 Parámetros bioquímicos específicos. 57

V.3.3 Estudio de expresión génica en sangre periférica y tejido vascular. 58

V.3.3.a Extracción de ARN 58

V.3.3.b Determinación de la expresión génica. 60

V.3.4 Estudio histológico e inmunohistoquímico 60

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

V.3.4.a Tinciones histológicas. 61
V.3.4.b Análisis inmunohistoquímico 62
V.3.4.c Adquisición de imágenes 63
V.4 Análisis estadístico 63
VI. RESULTADOS **67**
VI.1 Características demográficas, clínicas y bioquímicas y estudio de expresión génica en sangre periférica 67
VI.2 Expresión génica, histología e inmunohistoquímica del sistema FGF23/KL y de parámetros inflamatorios en la pared vascular. 70
VI.2.1 Estudio de expresión génica en tejido vascular 70
VI.2.2 Estudio histológico e inmunohistoquímico 76
VI.3 Análisis estratificado 83
VI.4 Asociaciones entre los niveles séricos, la expresión en pared vascular y en células circulantes de sangre periférica del FGF23 con los parámetros clínicos e inflamatorios 88
VI.4.1 Análisis de correlaciones 88
VI.4.2. Análisis de regresión múltiple por pasos 92
VI.4.3. Análisis de regresión logística 93
VI.4.4 Curvas ROC 94
VII. DISCUSIÓN **99**
VIII. CONCLUSIONES **125**
IX. BIBLIOGRAFÍA **129**

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

ABREVIATURAS

ABI	Índice tobillo brazo.
ACLP/AEBP	Proteína tipo carboxipeptidasa aórtica.
ACVA	Accidente cerebrovascular agudo.
AGE	Productos terminales de glucosilación avanzada.
AHA	*American Heart Association*
AIT	Accidente isquémico transitorio.
α-SMA	Alfa-actina de músculo liso.
APEG-1	Proteína 1 preferencialmente expresada en aorta
Ca2+	Calcio
CE	Célula endotelial
cFGF23	Factor de crecimiento fibroblástico 23 carboxiterminal
CIE	Cardiopatía isquémica estable
CMVL	Célula de musculo liso vascular.
CRBP	Proteína celular de unión a retinol.
CRP-2	Proteína rica en cisteína.
CV	Calcificación vascular.
DAMP	Patrones moleculares asociados a daño
DL	Dislipemia.
DM	Diabetes mellitus.
EAP	Enfermedad arterial periférica.
ECV	Enfermedad cardiovascular.
eFGR	Filtrado glomerular estimado.
ERC	Enfermedad renal crónica.
FEO	Factores de expresión osteogénica.
FG	Filtrado glomerular.
FGFs	Factores de crecimiento fibroblásticos.
FGF2	Factor de crecimiento fibroblástico 2.
FGF 23	Factor de crecimiento fibroblástico 23.
FGFr	Receptores de factores de crecimiento fibroblásticos.
FRSCV	Factores de riesgo de la salud cardiovascular.
γ-SMA	Gama actina de músculo liso
HbA1c	Hemoglobina glicosilada
HDL.	Lipoproteínas de alta densidad
HDL-c	Colesterol de alta densidad.
HPO4 2-	Fostato
HS	Heparán sulfato.
Hs-CRP	Proteína C reactiva de alta sensibilidad.
HTA	Hipertensión arterial.
HVI	Hipertrofia ventrículo izquierdo
IAM	Infarto agudo de miocardio.
ICAM-1	Molécula 1 intracelular de adhesión celular.
iFGF23	Factor de crecimiento fibroblástico 23 intacto.
IL-1	Interleucina 1.
IL-6	Interleucina 6.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

IMC	Índice de masa corporal.
LDL	Lipoproteínas de baja densidad
LDL-c	Colesterol de baja densidad
MEC	Matriz extracelular.
MCP 1	Proteína quimiotáctica de monocitos 1
MGP	Proteína GLA de la matriz.
MMP	Metaloproteínas.
Na	Sodio
NF-κB	Factor nuclear kappa B
P	Fósforo
PiT-1	Transportador de fosfato inorgánico tipo 1.
PiT-2	Transportador de fosfato inorgánico tipo 2
PCR	Proteína C reactiva
PDFG	Factor de crecimiento derivado de plaquetas.
PDGF-A	Factor de crecimiento A derivado de plaquetas.
PTH	Parathormona
RCV	Riesgo cardiovascular.
ROS	Especies reactivas del oxígeno.
SCA	Síndrome coronario agudo.
SM-calponin	Calponina de músculo liso.
SMemb/MHC-B	Cadena pesada de la miosina de músculo liso.
TAD	Tensión arterial diastólica
TAS	Tensión arterial sistólica
TF	Factor tisular
TFPI	Inhibidor de la vía del factor tisular.
TFGe	Tasa de filtrado glomerular
TGFβ	Factor de crecimiento transformante beta
TLR	Receptores de tipo toll.
TNFα	Factor de necrosis tumoral alfa.
VCAM1	Molécula de adhesión vascular 1.
VOP	Velocidad de onda de pulso arterial.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura I-1.	Adhesión e internalización del macrófago. Importancia de su transformación a célula espumosa.	26
Figura I-2	Activación de los linfocitos T.	27
Figura I-3.	Representación esquemática de la generación de calcificación vascular dependiente de la inflamación.	33
Figura I-4.	Imágenes moleculares de aortas de ratones apoE$^{-/-}$.	35
Figura I-5.	Estructura del polipéptido FGF23.	36
Figura I-6.	Mecanismo de acción del FGF23.	39
Figura I-7.	Sitio de escisión del FGF23 y técnicas de ELISA utilizadas para detectar fragmentos intactos y C-terminales.	43
Figura R-1.	Diferencias en los niveles del FGF23 determinados mediante dos kits de ELISA en función de la presencia de calcificación.	75
Figura R-2.	Diferencias en los niveles de expresión génica de *FGF23,* y *RUNX2* en el tejido vascular en función de la presencia de calcificación.	76
Figura R-3.	Tinciones histológicas de los fragmentos de pared vascular.	78
Figura R-4.	Inmunohistoquímica de los fragmentos de pared vascular en función de la presencia de calcificación.	79
Figura R-5.	Detección intracelular del FGF23 y de Klotho.	80
Figura R-6.	Diferencias en los niveles de inmunorreactividad para el FGF23, KL, FGFR1 y FGFR3 en función de la presencia de calcificación.	83
Figura R-7	Análisis de correlación entre las concentraciones séricas de FGF23 y algunas de las variables analizadas.	90
Figura R-8.	Curvas ROC para la capacidad de predicción de los niveles de iFGF23 y de cFGF23 en la presencia de (A) placa de ateroma o de (B) calcificación vascular.	95

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla I-1.	Número de muertes anuales entre 1990 y 2013 por enfermedad cardiovascular en general y por causa específica.	22
Tabla I-2.	Factores de riesgo asociados al desarrollo de aterosclerosis.	23
Tabla I-3.	Estudios clínicos que relacionan el FGF23 circulante con la morbimortalidad cardiovascular.	40
Tabla MM-1.	Kits ELISA empleados.	57
Tabla MM-2.	Sondas TaqMan utilizadas.	60
Tabla MM-3.	Anticuerpos utilizados en el análisis inmunohistoquímico.	63
Tabla R-1.	Características clínicas y parámetros bioquímicos generales de los pacientes incluidos en el estudio**.**	68
Tabla R-2.	Parámetros específicos determinados en sangre.	70
Tabla R-3.	Territorios vasculares incluidos en el estudio.	71
Tabla R-4.	Presencia evidente de placas ateromatosas o calcificaciones en los fragmentos vasculares analizados procedentes del conjunto de pacientes con ECV.	71
Tabla R-5.	Expresión génica en tejido vascular.	72
Tabla R-6	Niveles séricos y de expresión génica en tejido vascular en el conjunto de pacientes con ECV en función de la presencia de placa ateromatosa.	73
Tabla R-7.	Niveles de expresión génica en las muestras de tejido vascular en el conjunto de pacientes con ECV en función de la presencia de calcificación.	74
Tabla R-8.	Fragmentos vasculares de pacientes con ECV incluidos en el estudio histológico con presencia evidente de placas ateromatosas o calcificaciones**.**	77
Tabla R-9.	Valores de inmunorreactividad en tejido vascular.	81
Tabla R-10.	Inmunorreactividad en muestras de tejido vascular de pacientes con ECV en función de la presencia de placa ateromatosa	81
Tabla R-11.	Inmunorreactividad en muestras de tejido vascular de pacientes con ECV en función de la presencia de calcificación.	82
Tabla R-12.	Características de los pacientes estratificados por terciles en función de las concentraciones del iFGF23 (pg/mL) y del cFGF23 (RU/mL) solubles.	85

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Tabla R-13. Inmunorreactividad, expresión génica en tejido vascular y función renal del grupo de pacientes con ECV estratificados por los terciles de los niveles solubles de iFGF23 (pg/mL) y cFGF23 (RU/mL). 87

Tabla R-14. Análisis de correlación entre la expresión génica y los niveles séricos del FGF23 y de citoquinas con los parámetros clínicos y bioquímicos generales. 89

Tabla R-15. Análisis de correlación entre la expresión génica y los niveles séricos del FGF23 y de citoquinas con los parámetros bioquímicos y de expresión génica específicos. 91

Tabla R-16. Análisis de regresión múltiple por pasos con las variables con los niveles de la forma intacta del FGF23 en sangre y de expresión génica en tejido vascular como variables dependientes. 92

Tabla R-17. Análisis de regresión logística múltiple multivariable para la presencia de placa aterosclerótica 93

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

I. RESUMEN

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

I. RESUMEN

Antecedentes: La aterosclerosis es el proceso que subyace a las diferentes manifestaciones clínicas de la enfermedad cardiovascular (ECV), siendo ésta la principal causa de muerte a nivel mundial. Actualmente la ateroesclerosis se considera un proceso inflamatorio crónico que se suele acompañar de un ambiente inflamatorio sistémico de bajo grado y que precede a las manifestaciones clínicas (cardiopatía isquémica, ictus o enfermedad arterial periférica) en varias décadas. El proceso inicial que promueve el desarrollo de la placa es la disrupción de la integridad del endotelio y su función, favoreciendo el acúmulo de partículas lipídicas en zonas predispuestas, que se perpetuán y amplifican por la respuesta inflamatoria, y la aparición de procesos de necrosis, fibrosis y calcificación. El papel central que juega el fenómeno inflamatorio en la aterogénesis lo señala como un proceso biológico susceptible de proporcionar dianas terapéuticas útiles en el tratamiento de esta patología. De ahí los esfuerzos por elucidar efectores, reguladores y vías de señalización implicadas capaces de modular dicho proceso inflamatorio. En este sentido, en los últimos años se ha despertado un gran interés en el papel jugado por los desajustes del metabolismo del fósforo y sus elementos reguladores, en la aparición de la inflamación. En este sentido, la aparición del FGF23, además de promover una revisión en los modelos actuales del control del metabolismo mineral.

Objetivo: El principal objetivo de esta tesis doctoral es la caracterización de la relación entre FGF23 y la enfermedad vascular aterosclerótica, así como sus interrelaciones con el fenómeno inflamatorio.

Metodología: Se ha desarrollado un estudio de casos y controles, que incluyó, respectivamente, apacientes con diagnóstico de enfermedad vascular aterosclerótica clínica, sometidos a cirugía vascular electiva y a individuos donantes de órganos cadavéricos sin antecedentes médicos indicativos de enfermedad cardiovascular. Los individuos de ambos grupos tuvieron un rango de edad (55-76 años) y función renal preservada en todos (FGe ≥ 60mL/min/1.73m^2). Se ha determinado el perfil de expresión del FGF3 y de su correceptor Klotho en células circulantes de sangre periférica (CCSP) y en la pared arterial mediante qPCR, y en esta última además mediante inmunohistoquímica, así como sus concentraciones séricas mediante inmunoensayo ELISA, estudiándose la relación de estos con la presencia de lesión vascular y marcadores inflamatorios: proteína C reactiva (PCR), interleucina 10 (IL10), factor de necrosis tumoralα (TNFα), expresión vascular y en CCSP de los genes *TNFα* e *IL10* y de sus proteínas en vasculatura. Además, se llevó a cabo estudio histológico de un

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

porcentaje de las muestras, para conocer la estructura anatómica y evidenciar presencia de placas de ateroma y de calcificación vascular.

Resultados: El principal hallazgo de esta tesis es que los pacientes con arteriopatía aterosclerótica clínica y calcificación vascular (CV) presentan concentraciones séricas significativamente más altas del FGF23, así como una mayor inmunorreactividad y expresión génica en la pared vascular en comparación con los pacientes sin CV. La detección del FGF23 en las paredes vasculares calcificadas sugiere que la expresión local de esta proteína podría jugar un potencial papel directo en el mantenimiento de la salud vascular o en el desarrollo de procesos patológicos. En esta tesis, se ha investigado la relación del FGF23 con marcadores de inflamación, determinando que, dentro del grupo de pacientes con ECV, la inflamación es el factor que contribuye a la producción de esta hormona. Además, la relación directa mostrada entre los niveles del FGF23 y los niveles séricos y de expresión génica en CCSP de distintas citoquinas inflamatorias apoya la existencia de un mecanismo de retroalimentación entre el FGF23 y la inflamación. Aunque los resultados de esta tesis no permiten aclarar los mecanismos por los que una reducción de los niveles del FGF23 podría tener efectos beneficiosos sobre el *estatus* inflamatorio, un posible mecanismo podría deberse a un efecto directo del FGF23 en las CCSP, especulando que una reducción de los niveles de esta hormona puede inducir una regulación a la baja de los niveles de expresión de ARNm de citoquinas proinflamatorias en las mismas. En definitiva, los hallazgos observados en esta tesis vinculan la CV con la mayor expresión del FGF23 en los vasos y con la elevación de los niveles circulantes de esta hormona. Además, el aumento en la expresión vascular del FGF23 ocurre junto con algunos de los miembros del sistema FGF23/Klotho, lo que respalda la idea de que las vías de señalización que median los efectos del FGF23 permanecen activas en el tejido calcificado.

Conclusiones: La ECV se caracteriza por un incremento en los niveles del FGF23 circulante, siendo este incremento mayor en los pacientes con calcificación vascular. Dado que el FGF23 se sintetiza en los osteocitos y osteoblastos, este hallazgo permite especular que el tejido vascular calcificado puede constituir una fuente extra-ósea para esta hormona. Además, tanto los niveles en sangre como la expresión vascular del FGF23 están regulados por diversos parámetros inflamatorios; existiendo una asociación directa entre los niveles sistémicos del FGF23 y la inflamación, lo que puede indicar que existe un efecto modulador sobre sus niveles ejercido por el proceso inflamatorio.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

II. INTRODUCCIÓN

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

II. INTRODUCCIÓN

II-1. ENFERMEDAD ATEROSCLERÓTICA.

II.1.1. Epidemiología de la enfermedad aterosclerótica.

La enfermedad cardiovascular (ECV) engloba numerosas afecciones, tales como la enfermedad coronaria, la insuficiencia cardíaca, la cardiopatía valvular, el accidente cerebrovascular, los defectos cardíacos congénitos, los trastornos del ritmo cardíaco y el paro cardíaco súbito.

Desde el punto de vista epidemiológico, representa la primera causa de muerte por enfermedad no transmisible a escala global (48.8%). En términos estadísticos, la Organización Mundial de la Salud (OMS) estima que, en el 2016, último año del que se han publicado datos, murieron 177 millones de personas por ECV, lo que representa el 31% de todas las muertes registradas en el mundo y una importante carga social y económica (Capewell S., y cols 2010; Lancet 2015; World Health Statistics, 2018). En Europa se estima que el 55% de las muertes en mujeres y el 43% en varones son atribuibles a la enfermedad cardiovascular.

España no es una excepción. En el último informe 'Defunciones según causa de la muerte', elaborado por el Instituto Nacional de Estadística, se advierte que en nuestro país la ECV también es la primera causa de muerte, por delante incluso del cáncer y las enfermedades respiratorias. Según datos del Instituto de Salud Carlos III, la ECV es responsable del 39% de todas las muertes femeninas y del 29% del total de defunciones en varones (Instituto de Salud Carlos III. Centro Nacional de Epidemiología; 2019). En el 2018, la tasa media estandarizada de mortalidad cardiovascular se situó en 203,5 fallecimientos por cada 100.000 habitantes (INE Indicadores de salud Ministerio de Sanidad, 2019).

En los últimos años, la mortalidad por ECV, tanto en hombres como en mujeres, muestra una tendencia decreciente en los países desarrollados, fenómeno que también se ha confirmado en nuestro país (Villar Álvarez F y cols.; 1998; Olalla MT y cols., 1999; Ministerio de Sanidad y Consumo; 2019). Cada vez ingresan más enfermos por ECV en los hospitales, pero factores como la mejora en los tratamientos, hace que la mortalidad disminuya. No se prevén cambios significativos en este escenario en el futuro próximo, considerando un aumento progresivo e importante de la ECV debido al envejecimiento de la población, al aumento en la frecuencia de los factores de riesgo (especialmente, los estilos de vida no saludables, como la obesidad y el sedentarismo)

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

y a las mejoras en el tratamiento con la consecuente cronificación de la enfermedad. Se estima que en el 2030 morirán en el mundo cerca de 25 millones de personas por ECV (Mathers y cols., 2006).

Tabla I.1. Número de muertes anuales entre 1990 y 2013 por enfermedad cardiovascular en general y por causa específica (Adaptado de Roth GA y cols., 2015).

Enfermedad	Muertes 1990	Muertes 2013	Aumento de muertes (%)
Cardiopatía isquémica	**5,737,483**	**8,139,852**	**41,7**
Evento cerebral isquémico	**2,182,865**	**3,272,924**	**50,2**
Evento cerebral hemorrágico	**2,401,931**	**3,173,951**	**30,7**
Cardiopatía hipertensiva	622,148	1,068,585	74,1
Cardiomiopatía y miocarditis	293,896	443,297	51,4
Aneurisma aórtico	99,644	151,493	52,1
Fibrilación auricular	28,916	112,209	288,1
Endocarditis	45,053	65,036	4,.3
Enfermedad vascular periférica	**15,875**	**40,492**	**155,3**
Otras enfermedades cardiovasculares y circulatorias	478,261	554,588	15,2
TOTAL	12,279,565	17,297,480	40,8

El sustrato responsable del desarrollo y progresión del daño vascular en la mayoría de los eventos cardiovasculares es la **aterosclerosis**, un grave problema epidemiológico que subyace, como se ha indicado, en las entidades que representan la causa más importante de mortalidad en los países desarrollados (Murray CJ y cols., 1999; Labarthe DR. y cols., 1999; Stramba A y cols., 2006; Lahoz C y cols., 2007). La enfermedad vascular aterosclerótica es un proceso inflamatorio crónico, generalizado y progresivo que afecta a las arterias de diferentes lechos vasculares (Stary y cols., 1995).

En nuestro país es la causa de 124.000 muertes anuales. Presenta una incidencia particularmente elevada en ciertas condiciones, como la edad avanzada, así como en relación a ciertas patologías como la hipertensión arterial (HTA); la diabetes mellitus (DM) o la enfermedad renal crónica (ERC) (Stamler J y cols., 1993; London GM y cols., 1997; Munzel T y cols., 1997; Prewitt RL, 1999; Mombouli JV y cols., 1999; Luft FC, 2001; Ruiz-Ortega M y cols., 2001; Snell-Bergeon JK y cols., 2013;). Además, se debe señalar que estas condiciones clínicas se relacionan con el progreso y desarrollo de complicaciones ateroscleróticas tales como la calcificación vascular (London GM y cols., 1997; London GM y cols., 2003; Perk J y cols., 2012; Snell-Bergeon JK y cols., 2013).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Los factores de riesgo asociados con el desarrollo de aterosclerosis se pueden agrupar en factores modificables y no modificables (ver Tabla I-2)

Tabla I. 2. Factores de riesgo asociados al desarrollo de aterosclerosis.

Factores de riesgo modificables	Factores de riesgo no modificables
Hipertensión (HTA)	Edad
Diabetes mellitus (DM)	Sexo
Dislipemia (DLP)	Genética
Tabaquismo	
Obesidad	

Anualmente, la aterosclerosis supone un 26% de la mortalidad global mundial a pesar de los avances terapéuticos (Winkel TA y cols., 2010). El estudio "*The Cardiovascular Health Study*' (Cushman M y cols., 1999) mostró una correlación significativa entre la severidad de la enfermedad vascular y el riesgo relativo de padecer eventos aterotrombóticos, siendo entre 4 y 5 veces mayor la probabilidad de sufrir un ictus u otro tipo de evento tromboembólico. Por su parte, los resultados *del Trans-Atlantic Inter-Society Consensus (TASC) II* para el manejo de la enfermedad arterial periférica (EAP) (Norgren L y cols., 2007) mostró que, entre el 40-60% de los pacientes con arteriosclerosis periférica acaba desarrollando, de forma paralela, otras condiciones clínicas, que incrementan considerablemente la severidad y riesgo de evento trombótico (Kuller LH y cols., 2000; Jover E y cols., 2013). En este sentido, el estudio Framingham demostró que factores de riesgo como el tabaquismo, la dislipemia (DLP), la hipertensión arterial (HTA) y la diabetes (DM) son los principales determinantes del desarrollo de la enfermedad aterosclerótica (Cupples LA y cols., 1987; Uchiyama S y cols., 2010).

II.1.2 Fisiopatología de la enfermedad aterosclerótica.

La enfermedad arteriosclerótica se caracteriza por el engrosamiento y endurecimiento arterial debido a la formación de las placas de ateroma. Es una enfermedad vascular proliferativa, severa y crónica, con afectación de arterias de distintos lechos vasculares de manera simultánea y con distinto grado de progresión (Fuster V y cols., 1997). Clínicamente presenta un curso silente y asintomático, presentándose habitualmente de forma crónica a causa de la estenosis progresiva de la luz arterial, pero también puede hacerlo de manera aguda, debido a la desestabilización y ruptura de la placa aterosclerótica, con el desarrollo de un evento tromboembólico,

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

una de las principales causas de isquemia e infarto (Stary HC y cols., 1995; Lahoz y col. 2007).

La aterosclerosis se inicia en etapas tempranas de la vida con la aparición y falta de control de uno o varios de los factores de riesgo cardiovascular (FRSCV), pasando por la lesión subclínica del órgano diana, el desarrollo en fases más avanzadas de la ECV propiamente dicha, y con la aparición final de los eventos clínicos que pueden conducir a la muerte (Dzau & Braunwald, 1991). Es la formación de la placa de ateroma, lesión de carácter proliferativo compuesta fundamentalmente por lípidos, tejido fibroso y células vasculares, inmunitarias e inflamatorias (Fuster y cols., 1997), la responsable tanto de la pérdida de la elasticidad como del engrosamiento de la pared arterial.

Clásicamente, se había considerado que la aterosclerosis era una enfermedad pasiva, debida al depósito y almacenamiento de lípidos en la pared arterial, postulándose diferentes teorías a lo largo de la historia. Tradicionalmente, las más aceptadas han sido las teorías lipídica y trombogénica. Sin embargo, recientemente se ha podido caracterizar que el proceso aterosclerótico es principalmente un **fenómeno inflamatorio crónico** en el que participan diversas vías y moléculas, destacando, entre ellas, las citoquinas inflamatorias (Ross, 1999).

Diferentes estudios clínicos han demostrado que el fenómeno inflamatorio es un determinante crucial en el inicio, desarrollo y progresión de la lesión aterosclerótica, así como en el proceso final que conducen a la erosión superficial y ruptura de la placa de ateroma, desembocando finalmente en el evento cardiovascular (van der Wal et al., 1994). Junto a ello, en los años recientes han aparecido diversos estudios que indican la importancia de las alteraciones del metabolismo mineral, fundamentalmente relacionadas con las anormalidades del fósforo y de sus elementos reguladores, en el desarrollo y progresión del daño vascular, mostrando además llamativas relaciones con el fenómeno inflamatorio (Blacher J. y cols., 2001; London GM y cols., 2003; Block GA y cols., 2004; Goldsmith D, y cols.,2004; Slinin Y y cols., 2005; Evenepoel P, 2007; Navarro-González y cols., 2009 y 2011).

El pilar sobre el que se fundamenta el origen de la lesión arteriosclerótica es la **disfunción endotelial**. Actualmente el endotelio es considerado como fuente y diana para una serie de agentes vasoactivos, de tal forma que tiene acción endocrina y paracrina, pero no únicamente sobre el endotelio sino también sobre las células musculares lisas vecinas. Como agente mediador de estas acciones juega un papel fundamental el óxido nítrico (NO), tras la activación de la NO sintasa (eNO), con un predominante efecto protector frente a la arteriosclerosis a través de mecanismos como

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

la inhibición de la agregación plaquetaria, de la oxidación de lipoproteínas de baja densidad (LDL), de la expresión de moléculas de adhesión, etc., manteniendo un equilibrio entre procesos pro y anti-aterogénicos.

La disfunción endotelial, determinada por la presencia de factores de riesgo vascular como la hiperlipidemia, la hipertensión, el tabaquismo, la diabetes o los radicales libres (Ku DN y cols., 1985; Malek AM y cols. 1999), induce una disminución en la síntesis de NO con la consiguiente reducción de sus actividades beneficiosas, creando un ambiente pro-aterosclerótico. Como consecuencia, se favorece una mayor permeabilidad del endotelio a proteínas plasmáticas, principalmente para las LDL, que se acumulan en la capa íntima (Camejo G y cols., 1998) y se oxidan a través de radicales libres. Esta transformación de las LDL es un estímulo inflamatorio importante para el endotelio que da lugar a la expresión de proteínas adhesivas de la familia de las selectinas (L-selectina y P-selectina), iniciándose de este modo la fase de reclutamiento de leucocitos. Estas proteínas se unen a los carbohidratos de la superficie de los leucocitos y estimulan la migración de los monocitos del torrente sanguíneo hacia la superficie endotelial donde se van a adherir. Tras la expresión de selectinas, se produce la expresión de otro tipo de proteínas adhesivas, las ELAM (moléculas de adhesión endotelio-leucocito), siendo las más importantes la ICAM-1 (molécula de adhesión intercelular-1) y la VCAM-1 (molécula de adhesión vascular-1), que facilitan la migración de los monocitos-linfocitos adheridos a la pared endotelial (Göran K y cols., 2005)**.**

Tras su interiorización, los monocitos/macrófagos de la pared se transforman en macrófagos espumosos (Robbins CS y cols.,2013) al incrementar su contenido lipídico tras fagocitar las LDL oxidadas acumuladas en la pared arterial, representando el componente celular más importante de la estría grasa (Khera A y cols; 2006; Virmani R, y cols 2000). Este proceso de interiorización de las LDL oxidadas en los macrófagos se realiza a través de tres tipos de receptores:

- Receptor de LDL clásico (Virmani R y cols., 2000), que es regulable por los valores de colesterol intracelular.

- Receptores *scavengers*, que interiorizan el material lipídico por un mecanismo no regulable, de tal forma que mientras que las células estén en un medio rico en material lipídico, continuarán interiorizándolo independientemente del contenido lipídico intracelular.

- Finalmente, otro receptor que va a ser básico en el proceso inflamatorio es el *toll-like* receptor (también presente en células dendríticas, mastocitos y células endoteliales), que se caracteriza por iniciar una cascada de señales

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

proinflamatorias como citocinas, proteasas y radicales libres (Göran K y cols., 2005) **(Figura I-1).**

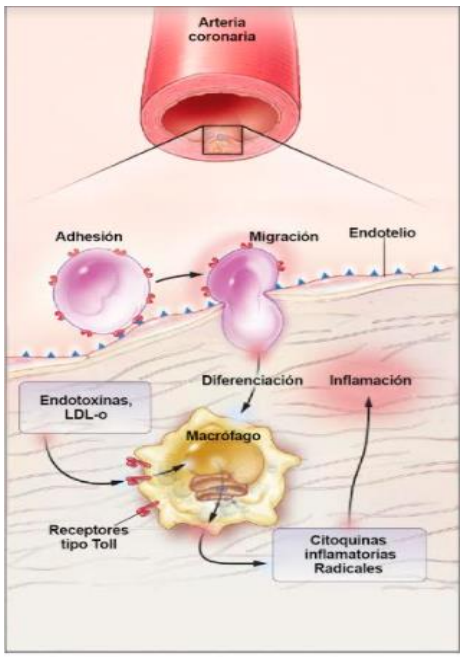

Figura I-1. Adhesión e internalización del macrófago. Importancia de su transformación a célula espumosa (Adaptado de Göran, 2005).

Estas citocinas estimulan la proliferación de las células del músculo liso y la producción de matriz extracelular (Figura I-2). Las células musculares lisas de la capa media activadas emigran hacia la íntima, sufriendo un cambio en su fenotipo, de tal forma que pasan de tener una función vasoconstrictora a presentar una función estática, consistente en la síntesis de los componentes de la matriz extracelular (colágeno, elastina) que van a dar lugar al engrosamiento de la capa intima reduciendo el lumen arterial. Así, citocinas como la interleuquina (IL)-1 y el factor de necrosis tumoral-alfa (TNFα), liberadas por los macrófagos, favorecen la producción local de factores de crecimiento, como el factor de crecimiento plaquetario y el fibroblástico (Göran K y cols., 2005).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

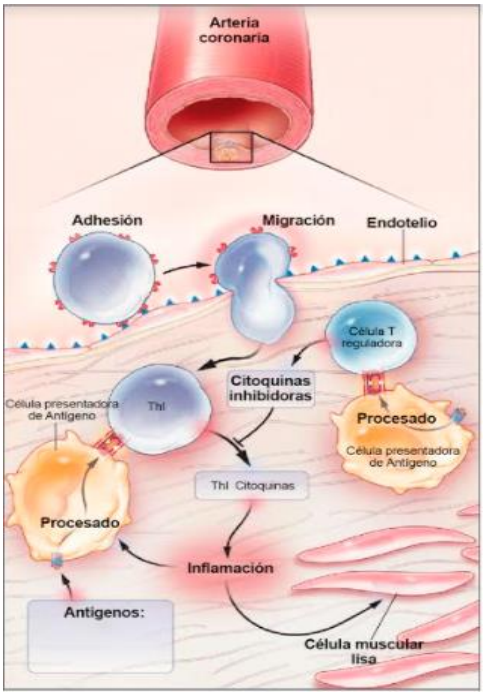

Figura I-2. Activación de los linfocitos T (Adaptado de Göran, 2005).

En definitiva, la aterosclerosis es un proceso dinámico, donde la inflamación y diferentes mecanismos celulares y moleculares con ella relacionados juegan un papel fundamental.

II.1.3 El fenómeno inflamatorio en la enfermedad aterosclerótica.

La aterosclerosis es una patología de origen multifactorial y compleja, que ha pasado de ser considerada como una enfermedad pasiva secundaria al depósito de lípidos en la pared arterial, a ser reconocida como una enfermedad dinámica y progresiva, resultado de la interacción entre inflamación y disfunción endotelial (Ross R. y cols, 1999; Behrendt D y cols; 2002; Libby P y cols., 2002), con manifestaciones clínicas locales y sistémicas, en la que participan diversas vías y moléculas, destacando las citoquinas inflamatorias (Ross, 1999). De este modo, hoy sabemos que la placa

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

aterosclerótica surge como consecuencia de una respuesta inflamatoria de la pared del vaso frente a distintas formas de daño sobre el endotelio vascular

Recientes evidencias, clínicas y experimentales, atribuyen a los procesos inflamatorios de la pared vascular un papel determinante en el grado de desarrollo de las lesiones, así como en las manifestaciones clínicas en pacientes con enfermedad aterosclerótica (Ridker PM y cols., 1998; Willerson JT y cols., 2004;). Estímulos tanto sistémicos (por ejemplo, hipercolesterolemia, hipertensión, infecciones virales, inmunocomplejos, etc.) como locales (hemodinámicos), inducen una respuesta inflamatoria crónica de la pared vascular, que lleva desde la disfunción endotelial, a la infiltración de monocitos/macrófagos y linfocitos, y al acúmulo de lipoproteínas modificadas, a la expresión de componentes de matriz extracelular y a la proliferación y migración de células musculares lisas (CML) en la íntima arterial, procesos que contribuyen al desarrollo de las lesiones vasculares (Ross R. y cols, 1999; Behrendt D y cols;. 2002¸ Libby P y cols., 2002; Willerson JT y cols., 2004; Ridker PM y cols., 1998; Altman R. y cols., 2003). Desde un punto de vista fisiopatológico, los procesos inflamatorios caracterizan las diferentes fases de la enfermedad aterosclerótica y establecen un vínculo entre la formación de la placa y su progresión, a la erosión o rotura de la misma, lo que lleva al desarrollo de complicaciones trombóticas, siendo estas últimas la causa de síndromes isquémicos agudos como el infarto de miocardio, el accidente cerebrovascular o la muerte súbita (Corti R, y cols., 2003; Libby P. y cols., 2001).

La mayoría de factores de riesgo cardiovascular y de disfunción endotelial se han asociado a estados proinflamatorios (Libby P y cols., 2002, Piek JJ y cols., 2000). Así, niveles elevados de LDL e hipertensión se han relacionado con marcadores de inflamación como la proteína C reactiva (PCR) (Otto C, y cols., 2004) y los componentes del sistema del factor nuclear kappa B (NF-κB) (Rouet-Benzineb P y cols., 2000), factor de transcripción regulador de gran número de genes proinflamatorios que codifican para proteínas como IL6 y MPC-1 (proteína quimiotáctica de monocitos) (Xiao W y cols., 2004; Schmeisser A y cols.,2004).

Estudios clínicos muestran que pacientes con enfermedad coronaria tienen un nivel elevado de PCR, un buen marcador pronóstico en estos pacientes (Liuzzo G y cols., 1994), y, además, un factor importante en la predicción de enfermedad cardiovascular en adultos aparentemente sanos (Ridker PM y cols., 1997), siendo su valor como marcador aparentemente superior al de colesterol-LDL, añadiendo así valor

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

predictivo al análisis de los factores de riesgo convencionales, tal y como se observó en el estudio Framingham (Ridker PM y cols., 2002).

La PCR aumenta varias veces su potencia como factor de riesgo aterógeno cuando se asocia a niveles plasmáticos bajos de lipoproteínas de alta densidad (HDL) (Ridker PM y cols., 1999). Diferentes estudios sugieren una participación directa de la PCR en la respuesta inflamatoria de las células endoteliales (CE) y de los monocitos/macrófagos residentes en la pared arterial, así como un efecto proaterogénico sobre las CML tanto in vitro como in vivo (Szmitko PE y cols., 2003). La producción de especies reactivas del oxígeno (ROS) está significativamente aumentada en la aterosclerosis, al igual que en presencia de factores de riesgo como hipercolesterolemia, hipertensión, diabetes o el hábito tabáquico (Harrison D y cols., 2003). Los diferentes componentes celulares de la pared vascular arterial (CE, CML, leucocitos infiltrados) son capaces de generar ROS, especialmente en regiones de elevada relevancia fisiopatológica, como son las zonas laterales de las placas ateroscleróticas (Zalba G y cols., 2000). Esta producción de ROS afecta a la transcripción de genes, daña el ADN e induce la expresión de factores de transcripción inflamatorios (Griendling KK y cols., 2001).

Las alteraciones del endotelio se consideran como un proceso causal en el desarrollo de lesiones ateroscleróticas, ya que comprometen la capacidad de las células endoteliales para regular su función y mantener la homeostasis de la pared vascular. El endotelio vascular es responsable del mantenimiento de una superficie antitrombótica a través de la expresión de moléculas como la antitrombina III, el inhibidor de la vía del factor tisular (TFPI) y el activador tisular del plasminógeno. Sin embargo, la incubación de células endoteliales con citocinas como IL-1 y TNF-α resulta en el aumento de la actividad procoagulante, posiblemente debida a la expresión de factor tisular (TF) (Bevilacqua MP y cols., 1986)

El NO liberado por el endotelio es un componente clave en el mantenimiento de la homeostasis vascular. Además de su función vasorreguladora, tiene una importante función antiinflamatoria, impidiendo la adhesión e infiltración de leucocitos (Lefer DJ y cols., 1999) y la expresión de moléculas proinflamatorias como el factor NF-kB, moléculas de adhesión (ICAM-1, VCAM-1) (Ho CY y cols., 2003), y la oxidación de LDL (Rubbo H y cols., 2002).

Una vez constituido, este proceso de inflamación sistémica de bajo grado actuará como un factor adicional de afectación vascular que puede contribuir al proceso aterogénico, junto con el resto de factores de riesgo cardiovascular. Esta aportación del

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

proceso meta-inflamatorio al riesgo cardiovascular se hace patente en pacientes con patologías caracterizadas por una base inflamatoria sistémica crónica (Steinberg D, 2002).

II-2. CALCIFICACIÓN VASCULAR

La calcificación cardiovascular, una enfermedad relacionada con las alteraciones del metabolismo mineral, no es un problema nuevo en nuestra sociedad. De hecho, algunos informes fechan su existencia ya en la Edad del Hielo (Willerson JT y cols., 2003). Sin embargo, el estilo de vida y el aumento de la edad media de la población han favorecido un mayor impacto de este trastorno, que se traduce en un gran coste a todos los niveles (Otto, Catherine M., 2008; Linda L Demer , Yin Tintut, 2008 Towler, Dwight A., 2008).

Considerada durante mucho tiempo como una enfermedad degenerativa pasiva, la calcificación cardiovascular ahora se reconoce como un proceso activo, con evidencias que sugieren que sigue un mecanismo similar al de la formación ósea. Afecta principalmente a la aorta, las arterias coronarias, las arterias periféricas y la válvula aórtica llegando, en casos muy avanzados, a la generación de hueso completamente formado en placas ateroscleróticas y válvulas cardiacas estenóticas (Linda L Demer y Yin Tintut., 2009). A pesar de que la calcificación vascular se asocia con un aumento de eventos cardiovasculares (Terese M y cols., 2003), es una patología desatendida y no se dispone de tratamientos anticalcificantes eficaces. Se han investigado varios agentes terapéuticos, incluidas las estatinas, que han mostrado capacidad para disminuir la diferenciación osteoblástica y la mineralización celular *in vitro* (Lana O y cols., 2006; Elyssa L y cols., 2009), así como, para, además, reducir el incremento de la infiltración de macrófagos y la osteogénesis *in vivo* (Nalini M y cols., 2005; Elena A y cols., 2007). Sin embargo, la terapia con estatinas no ha demostrado ser beneficiosa en los ensayos clínicos realizados hasta ahora (Otto, Catherine M., 2008; Rossebø A y cols., 2008).

II.2.1. Fisiopatología de la calcificación vascular.

Tradicionalmente se ha relacionado la mineralización progresiva de las grandes arterias con el envejecimiento por lo que, durante mucho tiempo, se ha entendido la calcificación vascular (CV) como como un proceso pasivo y degenerativo sin opciones terapéuticas (Virchow R. 1989; Abedin M y cols., 2004). Sin embargo, estudios recientes han evidenciado que la historia natural de la CV presenta una fase

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

preclínica que puede durar décadas, llegando a estar presente hasta en un 55% de los hombres y mujeres menores de 40 años (Shanahan CM y cols., 2006). La investigación más reciente demuestra que se trata de un proceso biológicamente activo y regulado por diferentes mecanismos moleculares comunes al metabolismo óseo y a sus elementos reguladores, con una participación activa del componente celular vascular (Shanahan CM y cols., 1993; Shanahan CM y cols., 1999; Shanahan CM y cols., 2006; Vattikuti R y cols., 2004; Hruska KA y cols., 2005; Demer LL y cols., 2008; Sage AP y cols., 2011; Zhu D y cols., 2011; Speer MY y cols., 2009; Demer LL. 2002; Boström K y cols., 1993).

A nivel fisiopatológico, la CV consiste en la deposición de cristales de fosfato de calcio en cualquier parte del territorio vascular, tanto en los vasos sanguíneos, como en el miocardio o en las válvulas cardiacas (Shanahan CM y cols., 2000; Shanahan CM., 2006; Shao JS y cols., 2006; Farzaneh-Far A y cols., 2005; Giachelli CM., 2004). La esclerosis vascular resultante conlleva una disminución de la elasticidad del vaso y un incremento significativo de la morbimortalidad, que justifica que la CV *per se* sea considerada como un factor de riesgo cardiovascular independiente (Wilson PW y cols., 2001; Margolis JR y cols., 1980; Wexler L y cols., 1996; Mazzini MJ y cols., 2006).

Este proceso comparte ciertas similitudes con la formación de hueso (u osteogénesis). En términos estructurales y de análisis elemental, no hay diferencias significativas entre la osteogénesis y la calcificación ectópica (Epple M y cols., 2007). Durante la osteogénesis existen dos tipos mayoritarios de osificación: la osificación endocondral, que requiere de intermediarios condroblásticos y formación de cartílago, previos a la mineralización u osificación y el reemplazamiento osteoblástico; y la osificación intermembranosa, en la que los osteoblastos son capaces de inducir la mineralización de la matriz extracelular (MEC) sin la presencia de intermediarios cartilaginosos (Kagan HMy Li W; 2003).

La fisiopatología de la CV muestra dos rasgos definitorios principales en los que acontecen diferentes eventos biomoleculares:

1) La formación y deposición de fosfato de calcio en la MEC, generalmente como formas cristalizadas de hidroxiapatita de calcio.

2) La diferenciación osteo/condroblástica de la CMLV y otras células de origen mesodérmico.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Estudios recientes sugieren una relación entre las vías moleculares propias de la CV y de la osteogénesis, pues la diferenciación de la CMLV en condroblastos y osteoblastos requiere la activación de señales características del proceso osteogénico (Moe SM y cols., 2003; Moe SM y cols., 2002; Steitz SA y cols., 2001).

Paradójicamente, a pesar de las similitudes entre la calcificación ectópica vascular y la fisiológica ósea, la CV se asocia con la resorción ósea en el sistema esquelético y con algunos desórdenes del metabolismo mineral ('paradoja de la calcificación') (Bucay N y cols., 1998). Así, los valores circulantes elevados de calcio (Ca), fósforo (P) y del producto calcio-fósforo (CaxP) promueven la deposición, nucleación y crecimiento de cristales de hidroxiapatita en la matriz extracelular (Block GA y cols., 2000; Yang H y cols., 2004; Reynolds JL y cols., 2004). Además, como se ha citado previamente, el desequilibrio entre los inhibidores y los agentes pro-calcificantes endógenos se asocia con el desarrollo de CV (Speer MY y cols., 2004).

Otros procesos como la alteración de la matriz extracelular susceptible de mineralizarse, la inducción de fenómenos apoptóticos, la secreción de microvesículas y la expresión de factores de expresión osteogénica (FEO), incluyendo morfógenos procalcificantes y factores transcripcionales implicados en la expresión de genes osteo/condroblásticos, pueden converger durante la iniciación, el desarrollo y la progresión de la calcificación vascular. Sin embargo, todavía hoy no existe un consenso que defina la calcificación ectópica como un proceso fisiológicamente activado o inhibido (Schinke T y cols., 1999; Schinke T y cols., 2007).

La forma predominante de mineralización ectópica de la pared vascular consiste en una combinación de depósitos de fosfato cálcico (no cristalizados y amorfos) y de cristales insolubles de apatita (Moe SM y cols., 2004). Este es un proceso termodinámicamente favorable a concentraciones normales de calcio y fosfato. Ahora bien, se sugiere que esta formación de cristales de hidroxiapatita a partir del calcio y fósforo no ocurre directamente (O'Neil WC y cols., 2010; O'Neill WC. 2007 (I); Schinke T y cols., 1999), pues las concentraciones plasmáticas normales de estos iones se encuentran próximas al punto de saturación, pero, paradójicamente, por debajo de su constante de solubilidad en los fluidos extracelulares.

Todo esto sugiere que la CV debe ser un proceso activamente inhibido (O'Neill WC y cols., 2010), si bien los resultados in vitro sugieren que la mineralización de la matriz extracelular también es, al menos en parte, un proceso activamente regulado por productos génicos específicos, donde diversos componentes de matriz extracelular deben contribuir potencialmente (O'Neill WC. 2007 (II); Schinke T y cols., 2007).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

II.2.2. La calcificación vascular como manifestación aterosclerótica inflamatoria.

Estudios clínicos e *in vitro* han sugerido que la calcificación cardiovascular es el resultado de una secuencia de procesos osteogénicos activos iniciados por la inflamación (**Figura I-3**). De forma resumida, los factores aterogénicos y las fuerzas mecánicas pueden activar las células endoteliales vasculares e iniciar el reclutamiento de monocitos/macrófagos inflamatorios, que al activarse producen un cóctel de citoquinas pro-osteogénicas, factores de crecimiento y enzimas proteolíticas. Los cambios resultantes pueden inducir aún mayor inflamación, así como la activación de fibroblastos en miofibroblastos y posteriormente en células similares a osteoblastos mediante el aumento de la vía RUNX2. El resultado final sería la deposición de calcio en estas zonas y la aparición de una calcificación vascular franca.

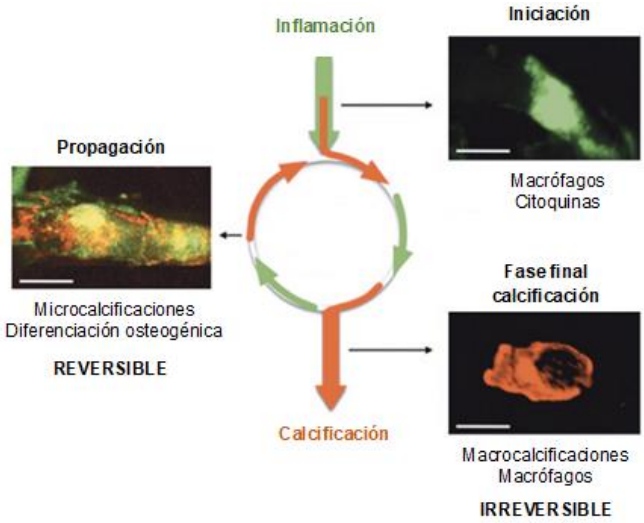

Figura I-3. Representación esquemática de la generación de CV dependiente de la inflamación. Las imágenes, obtenidas mediante microscopía secuencial de fluorescencia intravital, representan cambios en la inflamación y la osteogénesis en las arterias ateroscleróticas de ratones apoE$^{-/-}$ alimentados con una dieta rica en grasas. Inflamación (verde), calcificación (rojo), superposición de ambas (amarillo). La inflamación, en paralelo con el avance de la placa, induce la formación de microcalcificaciones que, a su vez, provocan respuestas proinflamatorias adicionales por parte de macrófagos. Esto genera un bucle de amplificación que impulsa la progresión de la enfermedad. La reducción de la inflamación en esta etapa puede retrasar la osteogénesis y la calcificación posterior. La fase final (irreversible) se asocia con un una disminución de macrófagos y la aparición de macrocalcificaciones (Adaptado de New y Aikawa, 2011).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Se ha demostrado que las citoquinas derivadas de macrófagos (incluyendo IL1, IL6, IL8 y TNFα, así como el IGF-1 y TGFß) son capaces de inducir la diferenciación osteogénica y la mineralización de las células del músculo liso vascular (KE Watson y cols., 1994; Farhad P y cols., 2002; Tintut Y y cols., 2000; Kristen y cols., 2005). Los resultados de estos estudios llevaron a generar la teoría de que las citoquinas proinflamatorias promueven la calcificación asociada a la aterosclerosis al regular la diferenciación de las células calcificantes del músculo liso vascular. Estudios de imágenes moleculares *in vivo* han corroborado estos resultados, vinculando aún más a los macrófagos con la osteogénesis (**Figura I-4**) (Elena A y cols., 2007; B. Fendley S y cols., 1997).

La calcificación dependiente de la inflamación se puede dividir en 3 fases distintas: inicio, propagación y calcificación en etapa terminal. En la fase de inicio, la infiltración de macrófagos y la inflamación preceden a la calcificación, y las vías proinflamatorias activadas inducen la transformación osteogénica de las células de la pared vascular. Esta fase se puede caracterizar por la expresión de citoquinas pro-osteogénicas por macrófagos y otras células inflamatorias (Linda M Demer, 2008; Linda M Demer, 2005). En la fase de propagación, las células del músculo liso vascular experimentan una diferenciación osteogénica, caracterizada por la expresión de factores de transcripción normalmente asociados con osteoblastos y condrocitos diferenciados (p. ej., Runx2, Osterix y Sox 9) (Linda M Demer, 2008; Elena A y cols., 2007; Jacqueline D y cols., 2010) y proteínas reguladoras de la mineralización (p. ej., fosfatasa alcalina, osteopontina, osteocalcina, osteonectina, colágeno I y II y proteínas morfogénicas óseas) (El-Abbadi y cols.,2007). Además, en ausencia de inhibidores, las vesículas de matriz liberadas a partir de células vivas y los cuerpos apoptóticos derivados de macrófagos y de células del músculo liso pueden proporcionar un nido para la calcificación (D Proudfoot y cols., 2000; Shanahan C; 2007). De hecho, estos eventos están asociados con la generación de microcalcificaciones. En esta fase, la deposición de hidroxiapatita progresa rápidamente (Elena Aikawa y cols (II), 2007) y las microcalcificaciones provocan respuestas proinflamatorias adicionales de macrófagos, lo que genera un ciclo de retroalimentación positiva de calcificación e inflamación que impulsa la progresión de la enfermedad (Imad Nadra y cols., 2005; Boström, Kristina; 2005). Según este modelo de progresión, la utilización de una terapia antiinflamatoria en las primeras etapas podría retrasar la osteogénesis posterior y estabilizar la placa; sin embargo, su utilización en etapas más tardías para detener el proceso de mineralización sobre trastornos ya avanzados se considera inútil, dado que la calcificación en etapa

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

terminal es clásicamente considerada como irreversible. De hecho, esta fase final se asocia con una mineralización tisular avanzada y una inflamación reducida.

En el caso de los pacientes con ERC, a los factores de riesgo clásicos mencionados anteriormente hay que sumar la hiperfosfatemia, un factor de riesgo independiente para el desarrollo de calcificación y muerte cardiovascular. Las lesiones de CV en estos pacientes, sobre todo en aquellos en etapas avanzadas de la enfermedad, y especialmente en los que reciben tratamiento renal sustitutivo mediante diálisis, aparecen a una edad mucho más temprana que en el resto de la población (Goodman, William G.2001; Shroff, Rukshana C y cols., 2008).

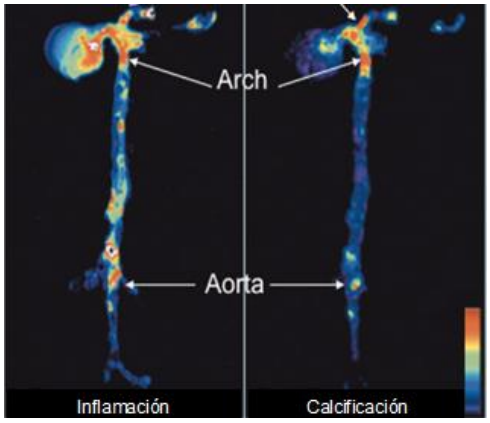

Figura I-4. Imágenes moleculares de aortas de ratones apoE$^{-/-}$ correlacionando la actividad inflamatoria, definida como acumulación de macrófagos, con la osteogénesis.

II-3. EL FACTOR DE CRECIMIENTO FIBROBLÁSTICO 23 (FGF23)

Los factores de crecimiento fibroblásticos (FGFs) son una familia de péptidos que ejercen sus efectos en procesos biológicos relacionados con el desarrollo, la organogénesis y el metabolismo (Eswarakumar VP y cols., 2005).

En humanos se han identificado 22 FGFs que se dividen en 7 subfamilias (Itoh N y Ornitz D., 2008). La mayor parte ejercen sus efectos de manera autocrina/paracrina al poseer un dominio de unión con el heparán sulfato (HS) presente en la matriz extracelular, el cual aumenta la afinidad de los FGFs por sus receptores (FGFRs). Los FGFs de la subfamilia 19, al carecer de dicho dominio, pueden ser liberados para ejercer su acción en órganos alejados de su lugar de producción; es decir, ejercen sus acciones

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

de forma endocrina y son fundamentalmente reguladores del metabolismo mineral. En esta última subfamilia se engloba el factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23).

El FGF23 es la más potente de las fostatoninas conocidas hasta la fecha (Evenopoel P y cols., 2010). Consta de 251 aminoácidos, incluida una secuencia líder de 24 aminoácidos que codifica un péptido señal, con un peso de 32 kDa. Fue identificada por primera vez en el año 2000 por Shimada y cols., como la hormona responsable de la hipofosfatemia en el contexto de la osteomalacia tumoral (Shimada, T. y cols.; 2001).

Estructuralmente, el FGF23 consta de un dominio amino-terminal (residuos 1-24), un dominio homólogo a otros FGFs de 155 aminoácidos (residuos 25-179) y un dominio carboxi-terminal (residuos 180-251) exclusivo del FGF-23, y que es esencial para la unión con el complejo FGFR-Klotho (Yamashita, 2005; Goetz R y cols., 2010). La molécula de FGF23 puede ser escindida por proteasas dando lugar a los fragmentos inactivos N y C terminal. El fragmento C terminal puede competir con la proteína intacta por la unión con el complejo FGFR-Klotho y actuar, así como un inhibidor competitivo de FGF23 (Goetz R y cols., 2010). **(Figura I-5**)

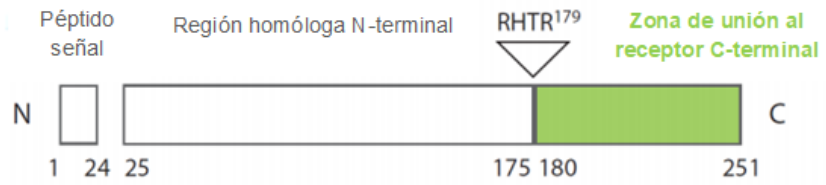

Figura I-5. Estructura del polipéptido FGF23 con sus dominios. El dominio N terminal es homólogo al presente en otros FGFs, mientras que el dominio C terminal es exclusivo del FGF23 y le permite la unión a su receptor (Adaptado de Hu y cols., 2013).

El FGF23 es sintetizado por osteocitos y osteboblastos (Rhee Y y cols., 2011; Masuyama R y cols., 2006). La síntesis de FGF23 se ve estimulada por el calcitriol, la PTH, el calcio y los niveles bajos de Klotho (Masuyama R y cols., 2006; Barthel TK y cols., 2007; Rhee Y y cols., 2011; López I y cols., 2011; Rodríguez-Ortiz ME y cols., 2012; Shimamura Y y cols., 2012). Sin embargo, es la presencia de fósforo en la dieta el estímulo más importante para la producción del FGF23 (Burnett SA M y cols., 2006), aunque, curiosamente, la inyección intravenosa de fósforo no induce la elevación de sus niveles (Ito N y cols., 2007), siendo aún desconocido el mecanismo por el cual los osteocitos/osteoblastos detectan la carga de fósforo en la dieta.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

El FGF23 circulante se puede encontrar tanto en una forma activa como en otra inactiva. Esta última resulta de una escisión proteolítica entre Arg179 y Ser180 llevada a cabo por convertasas durante la secreción, generando un fragmento amino-terminal y otro carboxilo-terminal (Donate Correa J y cols., 2014).

II.3.1. Papel del FGF23 en la regulación del metabolismo mineral.

El FGF23 es considerado como uno de los principales reguladores del metabolismo del fósforo, pues su principal función es contribuir a mantener los niveles del mismo dentro de la normalidad (Liu S y cols., 2006; Shroff R y cols., 2013). Para ello:

1. Favorece la fosfaturia al disminuir la absorción tubular renal de fósforo mediante la supresión de los cotransportadores NaPi 2a y 2c en el túbulo proximal renal (Hu MC y cols., 2010; Murer H y cols., 2003).

2. Inhibe la actividad de la 1-alfa hidroxilasa (enzima que convierte la 25-OH-vtamina D en 1,25-OH2 vitamina D), reduciendo así la síntesis de 1-25 dihidroxicolecalciferol (la forma activa de la vitamina D), y promueve la degradación de la misma mediante la inhibición de la expresión del gen Cyp27b1 (codifica la enzima 1-α-hidroxilasa) y estimulando la expresión del gen Cyp24 en las células del túbulo proximal renal (Liu S., 2006-II; Dusso AS y cols., 2005). El hecho de que las acciones del FGF23 sobre el riñón tengan lugar en el túbulo proximal, cuando la expresión de Klotho suele ser mayor en el túbulo distal, se podrían explicar por acción directa del FGF23 sobre el túbulo proximal (Hu MC y cols, 2010) (donde se expresa Klotho, aunque en menor cantidad) o por acción de FGF23 sobre el túbulo distal y posterior liberación de factores que actúen de manera paracrina sobre el túbulo proximal (Farrow EG y cols., 2009). Ambas opciones no son excluyentes entre sí y deben ser todavía estudiadas.

3. Aumenta la PTH, con el fin de reducir la absorción intestinal y renal de fósforo (Dazinger J., 2008). Se ha evidenciado que, en ratones paratiroidectomizados, FGF-23 continúa ejerciendo este efecto, por lo que se cree que la PTH no es imprescindible para que FGF-23 provoque fosfaturia (Shimada T y cols., 2004). El FGF23 y PTH se regulan mutuamente existiendo un feed-back negativo, donde PTH estimula la producción de FGF-23 (Rhee Y y cols., 2011; López I y cols., 2011; Lavi-Moshayoff V y cols., 2010) mientras que FGF-23 suprime la síntesis de PTH (Ben-Dov y cols., 2007). De esta manera, la glándula paratiroidea es también una de las dianas de acción de FGF-23 a través de su interacción con el complejo receptor

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

FGFR1-Klotho y, en ausencia de Klotho, a través de la activación de una vía dependiente de la calcineurina (Olauson H y cols., 2013).

Para ejercer su efecto, el FGF23 se une a sus receptores cognados (FGFR-23), los cuales, a pesar de ser ubicuos, solamente resultan activados en presencia del co-receptor de membrana Klotho (Dazinger J y cols., 2008). Esta es una proteína transmembrana de 130kDa descubierta en 1997 (Kuro-o M y cols., 1997), que se expresa predominantemente en el riñón (túbulo distal, proximal y colector), siendo también expresada en las glándulas paratiroideas, plexo coroideo y a nivel endotelial, confiriendo a FGF-23 selectividad por estos tejidos a pesar de la ubiquidad de sus receptores (Kuro-o M y cols., 1997; Li SA y cols., 2004; Urakawa I y cols., 2006; Donate-Correa J y cols., 2013). De este modo, la expresión diferencial de Klotho en los citados órganos restringe la actividad del FGF23 a determinados tejidos.

Klotho puede presentarse en 2 formas diferentes (Matsumura Y y cols., 1998; Hu MC y cols., 2012): 1) la forma completa, que sería la forma transmembrana que actúa como correceptor de FGF23; y 2) la forma secretada, producida por un procesamiento alternativo del ARN mensajero. Actualmente se han identificado tres miembros en la familia Klotho que son proteínas transmembrana de diversas longitudes: αKlotho (en riñón, plexo coroideo, paratiroides y células βpancreáticas), βKlotho (en hígado, páncreas, piel, tracto gastrointestinal, y músculo esquelético) y γKlotho (en riñón, piel, cerebro, corazón, arterias, hígado, pulmón, estómago y testículos) (Hu MC y cols., 2013) y, recientemente también se ha descrito su expresión en la pared vascular (Lim K y cols., 2012; Donate Correa y cols., 2013).

Es la forma transmembrana de αKlotho la que forma complejos con FGFR1c, FGFR3c y FGFR4 para unirse a FGF-23 con mayor afinidad (Goetz R y cols., 2007). Hasta ahora no se han identificado formas solubles para βKlotho ni γKlotho. Sin embargo, existen formas solubles de αKlotho como resultado de procesamientos alternativos en la transcripción o por escisión proteolítica de la forma transmembrana por βsecretasas (Hu MC y cols., 2013), que se han identificado en plasma, orina y en líquido cefalorraquídeo (Hu MC y cols., 2010; Hu MC y cols., 2011; Imura A y cols., 2004). Actualmente no está claro si la forma soluble de αKlotho podría actuar como correceptor de FGFR.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

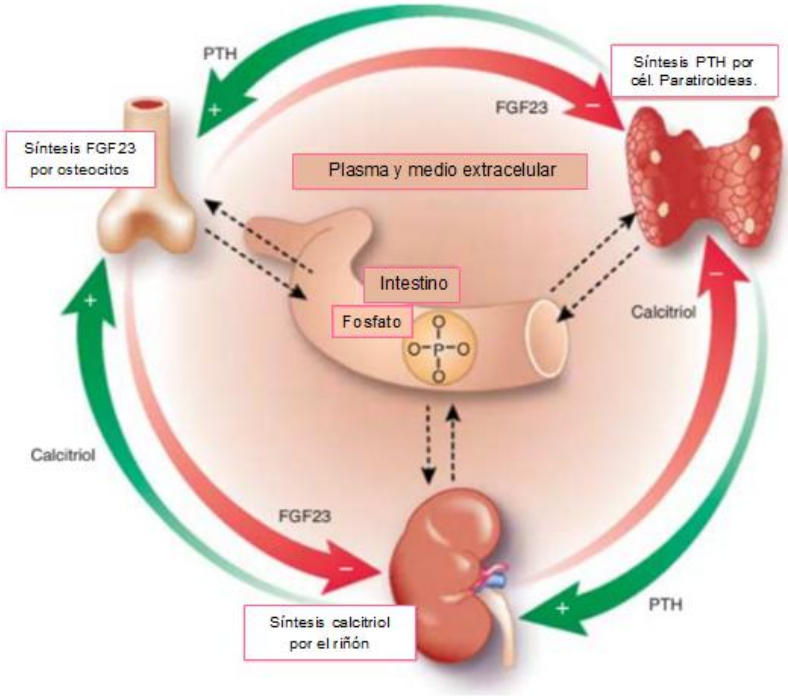

Figura I-6. Mecanismo de acción y regulación del FGF23 (Adaptado de Ureña-Torres y De Brauwere, 2011)

No obstante, la evidencia actual sugiere que el impacto del FGF23 va más allá de su papel en la regulación del metabolismo fosfocálcico, pues se ha asociado con la progresión del deterioro de la función renal (Fliser D y cols., 2007; Isakova T y cols; 2011; Scialla JJ y cols; 2014), con la hipertrofia miocárdica a través de mecanismos dependientes de la calcineurina e independientes de Klotho (Faul, C. y cols., 2011), y con la mortalidad en pacientes con ERC (Gutiérrez OM y cols., 2008, Seiler S y cols., 2010; Scialla J y cols., 2014) de forma independiente a la tasa de filtrado glomerular (FG) (Ärnlöv J y cols., 2013). Ello puede ser debido a varios factores, como la reducción de los niveles de vitamina D activa (Shimada T y cols., 2004; Moorthi RN y cols.,2011), su relación con el proceso inflamatorio (Dai B y cols., 2012; NasrAllah M y cols., 2013) y de estrés oxidativo, asociándose a calcificación vascular (NasrAllah M y cols., 2013), o su relación con la proteinuria (Vervloet MG y cols., 2012).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

II.3.2. FGF23 y morbilidad y mortalidad cardiovascular. Relaciones con el componente inflamatorio en el daño vascular.

En pacientes con ERC, el FGF23 se ha relacionado con hipertrofia ventricular izquierda (Christian Faul y cols., 2011), estenosis arteria coronaria (Mehmet K y cols.,2010) y mortalidad (Majd AIM y cols., 2009), mientras que en estudios realizados en población con función renal conservada, el FGF23 se ha asociado con disfunción vascular (Majd AIM y cols., 2009; Mirza MA y cols., 2009), aterosclerosis (Johan Ärnlöv y cols., 2013) y mortalidad (Richard D y cols., 2011). **Tabla I-3**

Tabla I-3. Estudios clínicos que relacionan el FGF23 circulante con la morbimortalidad cardiovascular.

Población de estudio	Efecto adverso	Referencia
Población general	Disfunción vascular	Mirza MA y cols. (II). 2009.
Población general	Aterosclerosis	Mirza MA, y cols. 2009.
Pacientes ERC	Incremento del riesgo de HVI	Gutiérrez OM, y cols. 2008. Faul, C y cols. 2011.
Pacientes ERC	Enfermedad arterial coronaria	Kanbay M y cols. 2010; Morena M, y cols.2012.
Pacientes ERC	Incremento del riesgo de mortalidad y de episodios cardiovasculares	Kendrick J y cols. 2011.
Pacientes HD	Mayor riesgo de mortalidad	Gutierrez, OM y cols.2011. Isakova T y cols. 2011.
Pacientes HD	Mayor riesgo de mortalidad y de calcificación vascular	Jean G y cols. 2009.
Pacientes con enfermedad coronaria estable	Mayor riesgo de mortalidad y de episodios cardiovasculares	Parker BD y cols.2010.

Más allá de la utilidad potencial que puede tener el FGF23 como biomarcador de disfunción cardiovascular, se ha sugerido que podría tener un papel patogénico en relación a dicha patología. Estos efectos podrían deberse a una acción directa de esta hormona, independiente de su correceptor Klotho, mediada por la existencia enlaces de baja afinidad con su receptor en condiciones de concentraciones aumentadas del FGF23, como lo que se ha indicado que ocurre en situaciones como la ERC avanzada. Esta posibilidad ha sido confirmada recientemente por estudios experimentales que demuestran que la administración intravenosa o intramiocárdica del FGF23 induce el desarrollo de hipertrofia de cardiomiocitos de rata y posteriormente de hipertrofia ventricular izquierda (Christian D y cols., 2011). Estos hallazgos sugieren que, en situaciones de concentraciones suprafisiológicas del FGF23, un componente del riesgo cardiovascular puede atribuirse directamente a esta fosfatonina.

Con respecto al daño vascular, solo unos pocos estudios han investigado los efectos del FGF23 sobre la integridad de los vasos. La reciente demostración de la

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

expresión de los receptores para los FGF (FGFRs) y de la proteína Klotho en la pared vascular humana refuerza la posibilidad de que el FGF23 pueda tener algún efecto sobre la estructura y/o funcionalidad vascular (Donate Correa J y cols., 2013; Navarro Glez JF y cols., 2014). En este contexto, las estrategias encaminadas a disminuir las elevadas concentraciones del FGF23 podrían suponer un novedoso enfoque terapéutico.

La inflamación es un factor patogénico principal para la aparición y el desarrollo de la aterosclerosis y la CV, y está directamente asociada a la carga excesiva de morbilidad y mortalidad cardiovascular. Dada su particular prevalencia en los pacientes con enfermedad renal (Peter Stenvinkel y cols., 2005), se ha sugerido que las alteraciones del metabolismo mineral, específicamente los incrementos en los niveles de fosfato sérico, pueden constituir agentes inductores de inflamación en esta población (Navarro Glez JF y cols., 2009; Navarro Glez JF y cols., 2011). En estos pacientes, el deterioro de la función renal se acompaña de una elevación progresiva del FGF23 (Wolf Myles., 2009), que se inicia en las primeras etapas de la ERC, alcanzando las concentraciones más altas en pacientes con enfermedad renal en etapa terminal y, sobre todo, en aquellos en tratamiento renal sustitutivo (Junichiro J Kazama y cols., 2005). Como se ha comentado, los niveles elevados de esta hormona se asocian con la aparición de efectos cardiovasculares deletéreos, que incluyen calcificación vascular, hipertrofia ventricular izquierda y aumento de la mortalidad (Guillaume J y cols., 2009; Gutiérrez OM y cols., 2008; Gutiérrez OM y cols., 2009). De forma interesante, esta relación parece ser independiente de los niveles de fosfato, lo que sugiere la existencia de mecanismos desconocidos que median esta acción. Un estudio reciente de Mendoza et al (Munoz Mendoza J y cols., 2012). en una amplia cohorte de pacientes con ERC, demostró que niveles elevados del FGF23 se asocian de forma independiente con concentraciones más altas de PCR, TNFα e IL6, y con mayores probabilidades de presentar inflamación severa.

La utilización de quelantes de fosfato, un tratamiento habitual en pacientes con ERC, se ha relacionado con diversas acciones pleiotrópicas más allá de la reducción de la fosfatemia; algunos de estos efectos describen la reducción del estatus inflamatorio en estos pacientes (Navarro Glez JF y cols., 2011; Elsharkawy MM y cols., 2006) y de las concentraciones del FGF23 circulante (Navarro Glez JF y cols., 2011; Mahmut IY y cols., 2012; Stanley MH y cols., 2020). Un estudio posterior desarrollado por nuestro grupo demuestra que el efecto anti-inflamatorio de los quelantes de fosfato, en concreto del carbonato de lantano, está relacionado con su capacidad para reducir las concentraciones del FGF23 (Navarro Glez JF y cols., 2013-II). En este mismo estudio, los niveles del FGF23 se relacionaron directamente con las concentraciones de PCR y

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

de las citoquinas inflamatorias TNFα e IL6, así como con los niveles de expresión génica de estas citoquinas en células circulantes de sangre periférica. Es importante destacar que, en este mismo estudio, el análisis de regresión multivariante demostró que los cambios en los niveles del FGF23 constituyeron el único determinante independiente de la reducción tanto de los niveles séricos de estas citoquinas inflamatorias como de los niveles de expresión en CCSP (Navarro Glez JF y cols., 2013-II). Estas células circulantes juegan un papel crítico en el desarrollo y progresión de la aterosclerosis (Galkina y cols., 2009; Swaminathan y cols., 2011) y, además, el aumento de la expresión de citoquinas inflamatorias en las mismas se ha asociado directamente con la aparición de eventos cardiovasculares (Navarro Glez JF 2013-I; Akatsu T y cols., 2003).

Todo ello sugiere que la elevada concentración de FGF23 puede influir en la transcripción de genes de citoquinas inflamatorias, proporcionando una potencial visión de los mecanismos celulares subyacentes en la asociación descrita anteriormente entre el FGF23 y la inflamación, así como entre el FGF23 y resultados cardiovasculares

II.3.3. Determinación de los niveles circulantes del FGF23.

Los kits de ensayo para medir el FGF23 circulante pueden detectar únicamente su forma intacta (iFGF23) o pueden detectar tanto ésta como los fragmentos carboxilo-terminales (cFGF23). La mayoría de los ensayos se basan en un ELISA sándwich de doble anticuerpo con lectura colorimétrica.

Los anticuerpos de las pruebas para el iFGF23 detectan epítopos dentro de las porciones amino-terminal y carboxilo-terminal, mientras que, en el ensayo para el cFGF23, los anticuerpos detectan 2 epítopos diferentes en la porción carboxilo-terminal. Por lo tanto, el ensayo para el cFGF23 mide tanto la molécula intacta como el fragmento carboxilo terminal del FGF23 humano.

La **Figura I-7** muestra el fundamento de los ensayos más ampliamente referenciados que detectan el iFGF23 (kit de *ELISA Kainos® FGF23* y kit *ELISA Immutopics® Human Intact FGF23*) y el cFGF-23 *[Immutopics Human FGF23 (C-terminal)*]. Los estudios desarrollados hasta la fecha no aclaran si el ensayo para el cFGF23 proporciona una sensibilidad comparable a la del iFGF23 en pacientes con diferentes etapas de la función renal. Algunos estudios sugieren que las mediciones del iFGF23 pueden ser más relevantes fisiológicamente, mientras que otras investigaciones

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

muestran asociaciones significativas solo con los niveles del cFGF23. Es posible que el uso de un solo ensayo pueda resultar en una subestimación significativa de señales biológicas importantes en el desarrollo de algunos procesos como las lesiones vasculares.

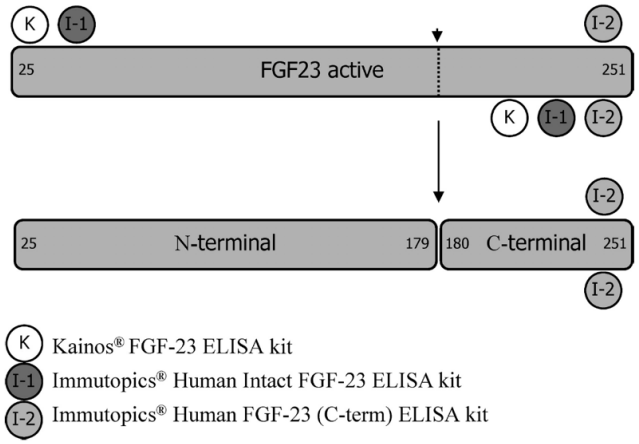

Figura I-7. Sitio de escisión del FGF23 y técnicas de ELISA utilizadas para detectar fragmentos intactos y C-terminales. La escisión enzimática del FGF23 ocurre en el aminoácido 180 (flecha), generando la forma inactiva de la molécula. Los kits de ELISA de la empresa Kainos y uno de los comercializados por Immutopics (Human Intact FGF23) contienen anticuerpos dirigidos a las porciones N- y C-terminales, lo que permite la detección de molécula intacta exclusivamente. Sin embargo, el segundo kit ELISA comercializado por Immutopics, *Human FGF23 (C-term)*, contiene anticuerpos dirigidos exclusivamente a la parte C-terminal, lo que permite la detección tanto de la molécula intacta como de los fragmentos carboxilo (Adaptado de Donate-Correa y cols., 2014).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

III. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

III. JUSTIFICACIÓN E HIPÓTESIS

La enfermedad cardiovascular (ECV) es la principal causa de morbimortalidad en nuestra sociedad y la primera causa de muerte a nivel mundial. La aterosclerosis es el proceso subyacente y responsable del daño vascular en la inmensa mayoría de los eventos clínicos. Con respecto a su fisiopatología se sabe que un proceso dinámico, en el que la inflamación y los diferentes mecanismos celulares y moleculares con ella relacionados juegan un papel fundamental, caracterizado por la pérdida de la elasticidad y el engrosamiento de la capa íntima y media de las arterias. De esta forma, la aterosclerosis se entiende como una enfermedad inflamatoria crónica. A ello se añade el reciente descubrimiento de la potencial importancia de las alteraciones del metabolismo mineral, fundamentalmente relacionadas con el fósforo y sus elementos reguladores, en el desarrollo y progresión del daño vascular, mostrando además llamativas relaciones con el fenómeno inflamatorio.

Uno de los avances más recientes en este sentido ha sido el descubrimiento del FGF23 como principal elemento regulador en la homeostasis del fósforo. Los procesos patológicos crónicos en los que se producen alteraciones de la fosfatemia muestran importantes alteraciones en los niveles de esta hormona. Es importante conocer las consecuencias de los desajustes en este mecanismo regulador dado que la hiperfosfatemia es considerada en la actualidad no solamente como un factor emergente de calcificación vascular, sino que también ha sido implicado en el aumento de la mortalidad cardiovascular en pacientes con insuficiencia renal. Además, trabajos recientes sugieren que el FGF23 puede ejercer efectos directos sobre el sistema cardiovascular, relacionándose tanto con la enfermedad vascular como con el fenómeno inflamatorio.

Es posible especular, por tanto, que las alteraciones del FGF23, tanto a nivel sistémico como de forma localizada en la pared arterial, pueden determinar la pérdida de mecanismos de protección y condicionar respuestas de mala adaptación que jueguen un papel relevante en la patogénesis y fisiopatología de la enfermedad vascular.

Así, la **hipótesis** del presente Proyecto de Tesis Doctoral es que el **FGF23 participa de forma determinante en la patogénesis y fisiopatología de la ECV, siendo un elemento clave en la aparición y desarrollo de la enfermedad aterosclerótica y en su consideración como una enfermedad inflamatoria.**

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

IV. OBJETIVOS

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

IV. OBJETIVOS

Objetivos específicos:

1. Caracterización bioquímica mediante la determinación de las concentraciones séricas del FGF23, así como de los niveles de parámetros inflamatorios (PCR, TNFα e IL10), en pacientes con enfermedad vascular aterosclerótica clínica.

2. Análisis de expresión génica a nivel de la pared vascular y de las células de sangre periférica del FGF23, de sus receptores, y de su co-receptor Klotho, así como de las citoquinas inflamatorias TNFα e IL10.

3. Determinación en la pared vascular de los niveles proteicos del FGF23, de sus receptores y de Klotho.

4. Estudiar las relaciones del FGF23 con diferentes factores de riesgo cardiovascular, así como con la incidencia de lesión aterosclerótica y calcificación vascular.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

V. MATERIAL Y MÉTODOS

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

V. MATERIAL Y MÉTODOS

Esta Tesis Doctoral se basa en un estudio transversal con un diseño comparativo de casos y controles realizado en el ámbito hospitalario. Se ha desarrollado a partir del proyecto de investigación PI13/01726, financiado por el Instituto de Salud Carlos III, dentro de la convocatoria correspondiente al año 2013 de concesión de subvenciones de la Acción Estratégica en Salud 2013-2016, en el marco del Plan Estatal de Investigación Científica y Técnica y de Innovación 2013-2016.

V.1 Sujetos de estudio.

Los sujetos participantes en este estudio fueron reclutados en los servicios de Cirugía Vascular y Coordinación de Trasplantes del Hospital Universitario Nuestra Señora de Candelaria (HUNSC) de forma consecutiva desde noviembre de 2014 a septiembre de 2017. El protocolo del estudio fue aprobado por el Comité Ético de Investigación Clínica del HUNSC y cumple con los estándares éticos de la Declaración de Helsinki. Se obtuvo el consentimiento informado por escrito de todos los participantes o de sus familiares.

Para el grupo de casos, se reclutó a un total de 181 pacientes mayores de edad y afectos de enfermedad vascular aterosclerótica clínica sometidos a cirugía vascular abierta electiva en el Servicio de Cirugía Vascular del (HUNSC).

Los criterios de exclusión para el grupo de casos fueron:

- Rechazo voluntario del paciente o incapacidad o disconformidad para aportar consentimiento informado.
- Inestabilidad hemodinámica durante el procedimiento quirúrgico.
- Antecedentes de enfermedad inflamatoria crónica, inmunológica o tumoral.
- Serología positiva a hepatitis B, hepatitis C o virus de inmunodeficiencia humana.
- Episodios infecciosos inflamatorios agudos o intercurrentes en el mes previo.
- Institucionalización.
- Tratamiento con inmunoterapia o fármacos inmunosupresores.
- Trasplante de órganos sólido o hematopoyético.

Tras la evaluación inicial, 48 de los pacientes reclutados fueron excluidos, por lo que el número total de participantes en el grupo de casos fue de 133. Para constituir el grupo control, se reclutaron 20 individuos dentro del programa de donación de órganos en el mismo hospital, pareados por sexo y edad con el grupo de casos, que no tenían

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

antecedentes de enfermedad vascular clínica ni estudios complementarios indicativos de la presencia de esta alteración. Todos ellos fueron donantes de órganos cadavéricos.

V.2 Muestras biológicas.

V.2.1 Muestras de sangre y orina.

A todos los participantes en el estudio se les extrajo un volumen de 10 mL de sangre venosa a partir del que se recuperó el suero mediante centrifugación a 5000 rpm durante 5 minutos a 4ºC, procediéndose inmediatamente después a su congelación a -80°C. Todas las muestras se identificaron y codificaron adecuadamente para un correcto anonimizado. Al mismo tiempo, se obtuvo una muestra de la primera orina de la mañana para el cálculo del cociente albúmina/creatinina.

Además de la muestra de sangre obtenida para recuperar el suero, se extrajo una segunda muestra de sangre total (2,5 mL) en tubos PAXgene Blood RNA (PreAnalytiX GmbH), los cuales se almacenaron a 4°C toda la noche, para posteriormente ser congelados a -80°C.

V.2.2 Fragmentos de pared vascular.

Durante el acto quirúrgico, además de extraer las muestras de sangre anteriormente comentadas, se procedió a la obtención de las muestras vasculares de ambos grupos de estudio. Las muestras de tejido vascular correspondían a fragmentos sobrantes obtenidos durante los procedimientos quirúrgicos correspondientes. Dichas muestras se procesaron inmediatamente tras su extracción del siguiente modo: fueron lavadas con suero salino y divididas en dos porciones. Una de ellas se incluyó en solución RNAlater® (Ambion (Europe) Limited, Reino Unido) y se congeló a -80ºC hasta el momento de la extracción del ARN. La segunda muestra se empleó para el estudio histopatológico, por lo que fue fijada en formalina tamponada al 4% durante 24 horas y posteriormente mantenida en etanol al 70% hasta su inclusión en parafina y construcción de los bloques correspondientes.

V.3 Determinaciones

V.3.1 Parámetros bioquímicos rutinarios.

La determinación de los parámetros bioquímicos de rutina se llevó a cabo en el Servicio de Análisis Clínicos del HUNSC utilizando pruebas estandarizadas. El conjunto de estas determinaciones incluyó parámetros hematológicos (niveles de hemoglobina,

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

hematocrito, recuento de neutrófilos y de linfocitos) y bioquímicos generales (glucosa, hemoglobina glicosilada, colesterol total, HDL, LDL, creatinina, albúmina, ácido úrico, calcio y fósforo). Los niveles de proteína C reactiva (PCR) se determinaron mediante una prueba inmunoturbidimétrica automatizada de alta sensibilidad en un analizador Cobas 6000 (Roche Diagnostics GmbH), con una sensibilidad de 0,3 mg/L y una precisión (indicada como coeficientes de variación) intra- e inter-ensayo, de 1,6 y 8,4%, respectivamente.

V.3.2 Parámetros bioquímicos específicos.

Las variables bioquímicas específicas consideradas en este estudio, en concreto los niveles circulantes del FGF-23, de Klotho y de las citoquinas TNFα e IL10, se determinaron mediante técnicas de ELISA (Enzyme Linked Inmunoabsorvent Assay) (**Tabla MM-1**). Las lecturas de la absorbancia, a las longitudes de onda indicadas en las instrucciones del fabricante de cada kit, se llevaron a cabo en un lector de microplacas SunriseTM (Tecan Trading AG).

Tabla MM-1. Kits ELISA empleados.

Parámetro	Kit	Marca
Forma intacta del FGF23	Human FGF23 ELISA Kit	EMD Millipore
Extremo carboxilo del FGF23	Human FGF23 (C-term) ELISA kit	Immutopics Inc.
Klotho	Human soluble α-Klotho	IBL
TNFα	Human TNFα Quantikine HSTA00D	R&D Systems
IL10	Human IL10 Quantikine HS100C	R&D Systems

Para la medición del FGF23 se emplearon dos kits. El primero de ellos, *Human FGF23* (*EMD Millipore Corporation, Milford, MA, EEUU*), detecta únicamente la forma intacta (iFGF-23), y por tanto activa de la hormona, y no la que ha sido sometida a proteólisis. Este kit presenta una sensibilidad de 3,5 pg/mL y unos coeficientes de variación (CV) intra-ensayo e inter-ensayo de 9,5% y 6,85%, respectivamente. Con este kit se determinó la concentración sérica de iFGF23 en todos los sujetos incluidos en el estudio.

Las instrucciones del fabricante para el kit de determinación del iFGF23 pueden descargarse en https://www.merckmillipore.com/ES/es/product/Human-FGF-23-ELISA-Kit,MM_NF-EZHFGF23-32K?ReferrerURL=https%3A%2F%2Fwww.google.es%2F&bd=1#anchor_PR

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

El segundo kit empleado fue *Immutopics Human FGF23 (C-term) ELISA kit* (*Immutopics Inc., San Clemente, CA*), el cual detecta el extremo carboxilo del FGF23 (cFGF23), por lo que sus lecturas corresponden tanto a la forma intacta como a los fragmentos C-terminales de la misma. Este kit presenta una sensibilidad de 1,5 unidades relativas (UR)/mL y unos CV intra-ensayo e inter-ensayo de 1,9% y de 3,55%, respectivamente. Se determinaron los niveles séricos del cFGF23 en todos los sujetos incluidos en el grupo control. Sin embargo, la escasez de un volumen suficiente de suero en algunas de las muestras del grupo ECV determinó que esta medición fuera realizada en únicamente 66 pacientes de este grupo.

Las instrucciones del kit para la determinación del cFGF23 pueden descargarse en https://www.quidel.com/sites/default/files/product/documents/PI6061001EN00.pdf

La determinación de los niveles de TNFα y de IL10 se realizó empleando kits de ELISA de alta sensibilidad. En concreto, se utilizaron los kits *Human TNFα Quantikine HSTA00D* y *Human IL10 Quantikine HS100C* (ambos de Quantikine Human, R&D Systems, Minneapolis, EEUU). Las concentraciones mínimas detectables para estos kits, respectivamente: 0,106 pg/mL y 0,090 pg/mL. Los CV intra- e inter-ensayo son menores de 10,8% para ambos casos.

Las instrucciones del fabricante para el kit de determinación de TNFα pueden descargarse en https://resources.rndsystems.com/pdfs/datasheets/hsta00d.pdf. Las instrucciones para kit de determinación de IL10 pueden descargarse en https://resources.rndsystems.com/pdfs/datasheets/hs100c.pdf.

Finalmente, para la determinación de los niveles solubles de Klotho se utilizó el kit *Human soluble α-Klotho* (Immuno-Biological Laboratories, Takasaki, Japan). Para este ensayo, el límite inferior de detección es 6,15 pg/mL y los CV intra- e inter-ensayo son 3,1% y 6,9%, respectivamente. Las instrucciones del fabricante pueden encontrarse en https://www.ibl-japan.co.jp/files/topics/1705_ext_02_en_0.pdf.

V.3.3 Estudio de expresión génica en sangre periférica y tejido vascular.

V.3.3.a Extracción de ARN.

El aislamiento y purificación del ARN de células circulantes de sangre periférica (CCSP) a partir de las muestras sangre total recogidas en tubos PAXgene Blood RNA, se realizó utilizando el sistema de columnas de sílica del kit PAXgene Blood RNA (PreAnalytiX GmbH) siguiendo las instrucciones del fabricante

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

(https://www.qiagen.com/at/resources/download.aspx?id=6e32307d-7e54-4767-8f25-4d9e6b9e0d15&lang=en).

La extracción de ARN de tejido vascular se llevó a cabo mediante un protocolo manual que incluyó la utilización del reactivo RNAzol® RT (Sigma-Aldrich). Este reactivo es una solución monofásica de tiocianato de guanidina y fenol ácido, capaz de disolver ARN, ADN y proteínas a partir de un homogeneizado de muestras biológicas. La adición de agua a la mezcla permite la precipitación de ADN, proteínas, polisacáridos y otras moléculas que son eliminadas tras centrifugación. El aislamiento del ARN, obtenido a partir del sobrenadante, se consigue mediante precipitación en alcohol, lavado y posterior solubilizado.

De forma resumida, se pesaron muestras del tejido vascular de aproximadamente 100 mg que fueron posteriormente troceadas y homogeneizadas con nitrógeno líquido en un mortero de porcelana hasta obtener un polvo fino. Al homogeneizado se le añadió 1 mL de RNAzol, se agitó la mezcla con vórtex durante 1 min y se centrifugó a 14.000 x g. Se recuperó el sobrenadante, al que se le añadieron 400 µL de agua libre de nucleasas (tratada con DEPC) y se mezcló con vórtex, dejándolo incubar a temperatura ambiente 15 min. Tras posterior centrifugación, se recuperó de nuevo el sobrenadante y se procedió a precipitar el ARN añadiendo isopropanol 100% al volumen de sobrenadante recuperado en una relación 1:1, agitando por inversión hasta obtener una solución homogénea, incubando a temperatura ambiente 10 min y centrifugando en dos ocasiones de forma consecutiva. A continuación, se descartó el sobrenadante y se lavó el sedimento de ARN otras dos veces consecutivamente añadiendo 500 µL de etanol 75%, agitando por inversión y centrifugando. Tras el último lavado, se descartó el sobrenadante y se resuspendió el ARN obtenido en agua DEPC.

Una vez extraídas las muestras, se utilizaron 1-2 µL del ARN total extraído para la valoración de su concentración y pureza empleando un espectrofotómetro NanoDrop Lite (Thermo Scientific). Se consideraron los valores de las relaciones de absorbancias 260/280 y 260/230, que debían ser de 1,8-2,20, para descartar la presencia de contaminantes orgánicos e inorgánicos, respectivamente. Finalmente, las muestras se separaron en alícuotas para ser posteriormente conservadas a -80°C.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

V.3.3.b Determinación de la expresión génica.

De forma previa al estudio de la expresión génica, se procedió a retrotranscribir entre 100 y 500 ng de ARN total utilizando el kit High Capacity RNA-to-cDNA (Applied Biosystems) siguiendo las indicaciones del fabricante (https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/4388950#/4388950). El equipo utilizado fue un termociclador GeneAmp PCR System 9700 (Applied Biosystems).

Para la determinación de la expresión génica de los distintos *loci*, se empleó la técnica de PCR cuantitativa a tiempo real (qPCR). En la misma, se utilzó el sistema PerfeCTa FastMix II Low ROX (Quantabio) y ensayos TaqMAn (Applied Biosystems) dirigidos a cada *locus* estudiado. Las sondas TaqMan utilizadas en esta tesis se detallan en la **Tabla MM-2**.

Tabla MM-2. Sondas TaqMan utilizadas.

Gen	Referencia
FGF23	Hs00221003_m1
KL	Hs00183100 m1
ADAM17	Hs01041915_m1
TNF	Hs00174128 m1
IL10	Hs00961622 m1
RUNX2	Hs00231692_m1
GAPDH	Hs99999905_m1

Se utilizaron las muestras de ADNc diluidas y las reacciones de qPCR se realizaron en un termociclador 7500 Real-Time PCR Systems (Applied Biosystems) según las siguientes condiciones: 50°C, 2 min; 95°C, 20 s; (95°C, 3 s; 60°C, 30 s) x 45 ciclos. El nivel de ARNm fue estimado utilizando el método comparativo ($2^{-\Delta\Delta Ct}$) mediante normalización a la expresión *GAPDH*. Los niveles de ARNm se expresaron como unidades arbitrarias (a.u.). La cuantificación de cada muestra de ADNc se probó por triplicado. Se incluyó una reacción de transcriptasa no inversa correspondiente como control frente a la contaminación con ADN.

V.3.4 Estudio histológico e inmunohistoquímico.

El procesamiento e inclusión de los fragmentos vasculares en bloques de parafina se realizó de forma automatizada en el Servicio de Anatomía Patológica del HUNSC, donde las muestras fueron deshidratadas en concentraciones crecientes de

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

etanol (70%, 96% y 100%) y lavadas en xileno, para posteriormente ser incluidas en parafina en una estación de parafinado.

En base a la colaboración establecida con el Departamento de Anatomía e Histología Humanas de la Universidad de Salamanca, tanto el estudio histológico como el inmunohistoquímico se realizaron en este centro. Para ello, se realizaron cortes histológicos seriados de 2-3 µm de espesor mediante empleando un micrótomo de rotación (Leica RM2255, Leica Biosystems). Los cortes seriados fueron posteriormente desparafinados en estufa a 65°C durante aproximadamente una hora, sumergidos en xileno durante 20 min y rehidratados por inmersiones de 5 minutos en series decrecientes de etanol (100%, 96%, 70% y 60%) y lavado final en agua destilada.

V.3.4.a Tinciones histológicas.

Con el objetivo de evidenciar las características histológicas de la pared del vaso, se realizaron tinciones de las muestras mediante técnicas de tinción convencionales: hematoxilina-eosina (HE), para una identificación general, y tinción tricrómica de Masson (TCM), para destacar el componente colágeno que predomina en la capa adventicia.

- *Hematoxilina-eosina*

  Los cortes, una vez rehidratados, se sumergieron en hematoxilina durante 10 min, se permitió diferenciar el color en agua corriente durante 15 min, y se eliminó el exceso de colorante mediante 2 lavados de 1 minuto en agua destilada. A continuación, se sumergieron en eosina 0,2% durante 1 min y se dejó diferenciar alcohol en alcohol de baja gradación durante 30 s. Tras esto se procedió a la deshidratación y montaje de las muestras.

- *Tricrómico de Masson*

  Los cortes rehidratados se sumergieron en solución de Bouin (Sigma-Aldrich) durante 1 h a 56-60°C y, tras enfirarse, se lavaron con agua corriente para eliminar el exceso de colorante. A continuación, las muestras se sumergieron en hematoxilina férrica de Weigert (Sigma-Aldrich) durante 5-10 min, dejando diferenciar el color posteriormente en agua durante otros 5 min, para luego lavarlas en agua destilada durante 3 min. Seguidamente, se realizó la tinción en solución escarlata-fucsina ácida (Sigma-Aldrich) durante 2-5 min y posterior lavado en agua destilada durante 2 min. Por último, se incubaron las muestras en una solución ácido fosfomolíbdico/ácido fosfotúngstico/agua destilada (en una relación 1:1:2) durante

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

10 min, para asegurar una correcta tinción del colorante, y luego se sumergieron en solución azul de anilina (Sigma-Aldrich) durante 10 min. Tras esto, se eliminó el exceso de colorante con agua destilada. Se permitió diferenciar el color de las muestras en ácido acético 1% durante 1-2 min. Finalmente, se procedió a la deshidratación y montaje de las muestras.

- *von Kossa*

Esta tinción se empleó para constatar la presencia de calcificación vascular. De forma resumida, tras ser desparafinadas y rehidratadas, las secciones de las muestras se incubaron en nitrato de plata al 1% bajo luz ultravioleta durante 20 min. A continuación, y tras lavar en agua destilada, se eliminó la plata que no reaccionó mediante la adición de una solución de tiosulfato sódico al 5% durante 5 min. Tras volver a lavar las muestras con agua destilada, se les dio contraste utilizando hematoxilina y se volvió a lavar. Para finalizar, se deshidrató con alcohol, se aclaró con xileno y se montó la muestra para su observación. La presencia de sales de calcio se constató por la presencia depósitos de color negro o marrón oscuro.

V.3.4.b Análisis inmunohistoquímico

En primer lugar, se realizó el desenmascaramiento antigénico de las muestras mediante incubación en tampón citrato sódico 10 mM a pH 6,0 (Biocare Medical) en olla a presión durante 20 min. A continuación, los cortes fueron permeabilizados en Triton X-100-PBS 0,1% en agitación durante 15 min, y lavados en PBS durante 5 min tres veces. Se realizó el bloqueo antigénico con una solución de albúmina sérica bovina en PBS al 3% (solución de bloqueo) durante 30-60 min a temperatura ambiente. Luego, se incubó con los anticuerpos primarios en su dilución correspondiente en solución de bloqueo, a temperatura ambiente durante 1 h. La actividad de las enzimas peroxidasa endógenas fue inactivada incubando las muestras en una solución de H_2O_2 al 0,3% en etanol durante 15 min y, luego, lavando en PBS. Se incubó con el anticuerpo secundario durante 30 min a temperatura ambiente, y la reacción inmunohistoquímica se realizó utilizando 3,3'-diaminobencidina (DAB) como sustrato durante 10 min a temperatura ambiente. Tras esto se procedió a la deshidratación y montaje de las muestras.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Los anticuerpos primarios se detallan en la **Tabla MM-3**:

Tabla MM-3. Anticuerpos utilizados en el análisis inmunohistoquímico.

Anticuerpo	**Marca**	**Dilución**
Policlonal de conejo anti-FGF23	Bi-Orbit	1:250
Monoclonal de ratón anti-FGFR1	Abcam	1:400
Policlonal de conejo anti-FGFR3	Abcam	1:300
Policlonal de conejo anti-Klotho	Abcam	1:100
Monoclonal de ratón anti-L10	Santa Cruz Biotechnology	1:300
Monoclonal de conejo anti-TNFα	Santa Cruz Biotechnology	1:100

V.3.4.c Adquisición de imágenes

Las muestras se montaron en medio Eukitt para procesamiento histológico (Sigma-Aldrich), colocando una gota sobre el cubreobjetos y distribuyéndola homogéneamente sobre la muestra. Se capturó un total de 5 imágenes por muestra, que incluyeron las capas íntima y media de la pared vascular, con una cámara de alta resolución Sony DF-W-X710 (Konan) conectada a un microscopio Nikon Eclipse 20i (Nikon). Las imágenes se digitalizaron y el área del tejido teñido con los anticuerpos se cuantificó utilizando el software ImageJ (Rasband, W.S., ImageJ, Institutos Nacionales de la Salud, Bethesda, MD, EE. UU.).

V.4 Análisis estadístico.

Todos los análisis se llevaron a cabo utilizando los programas de análisis estadístico SPSS versión 25 (SPSS Inc., Armonk, NY, EEUU) y GraphPad Prism 6.01 (GraphPad Software). Se empleó el test de D'Agostino–Pearson para determinar la normalidad en la distribución de los datos de las distintas variables. Las variables continuas se expresaron como media ± desviación estándar o como mediana y rango intercuartílico (IQR), según correspondiera. Las variables categóricas se presentaron como valores totales y/o porcentajes de frecuencia.

Para comparar variables continuas con distribución normal entre dos grupos, se empleó el test t-Student para muestras independientes no apareadas. En el caso de variables continuas que no siguen distribución normal, se empleó el test no paramétrico U de Mann-Whitney. Las comparaciones entre más de dos grupos se realizaron con los test ANOVA y posthoc de Tukey.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Las diferencias entre grupos para las variables discretas se testaron mediante el test Chi cuadrado o mediante la prueba exacta de Fisher, según correspondiera.

En el estudio de correlaciones entre variables, se emplearon los test de Pearson o Spearman, según si las variables presentaban distribuciones normales o no.

Se realizaron distintos modelos de regresión lineal múltiple para valorar las asociaciones de distintas variables clínicas y bioquímicas tanto específicas como particulares con los niveles séricos del FGF23, y con su expresión génica en tejido vascular y CCSP, tomando a estas tres últimas como variables dependientes. Para evaluar el carácter protector o de riesgo de distintas variables en relación a la presencia de placa de ateroma desarrollada o de calcificaciones vasculares, se llevó a cabo un análisis de regresión logística empleando distintos modelos aditivos.

Finalmente, se realizaron análisis de curvas ROC (*receiver operating characteristic curve*) con el objetivo de determinar la capacidad pronóstica de los niveles séricos y de expresión génica en CCSP del FGF23 frente a la presencia de placas de ateroma y de calcificaciones vasculares.

Un valor de P inferior a 0,05 se consideró estadísticamente significativo.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

VI. RESULTADOS

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

VI. RESULTADOS

VI.1 Características demográficas, clínicas y bioquímicas, y estudio de expresión génica en sangre periférica.

Las características clínicas, demográficas y bioquímicas de los dos grupos considerados en este estudio se muestran en la **Tabla R-1.** De los 180 sujetos potencialmente elegibles para conformar el grupo de pacientes con ECV, 47 fueron excluidos de acuerdo con los criterios de exclusión por lo que, finalmente, se incluyeron un total de 133. El grupo control estuvo constituido por 20 donantes de órganos.

La edad media de los pacientes con ECV fue de 68,4 ± 8,5 años, con un 75% de hombres. Por su parte, el grupo control estuvo constituido por un 70% de hombres con una edad media de 61,9 ± 6,5 años.

La proporción de hipertensos fue estadísticamente superior en el grupo de pacientes con ECV (83% *vs.* 45%, *P*<0,001). Sin embargo, los niveles de las presiones arteriales sistólica y diastólica fueron significativamente menores en el grupo con ECV respecto al grupo control (129 ± 20,1 *vs.* 144,2 ± 25,8 mmHg, *P*<0,01 y 68,4 ± 12,3 *vs*. 82,05 ± 18,4 mmHg, *P*<0,05, respectivamente). Esto se debe, muy probablemente, al tratamiento anti-hipertensivo recibido por la mayoría de los pacientes con ECV. Las diferencias en el tratamiento farmacológico recibido por los dos grupos derivaron del uso de antiagregantes (91% *vs.* 25%; *P*<0,0001), de inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA) o antagonistas del receptor de angiotensina (ARA2) (54% *vs.* 31,3%; *P*<0,05) y del uso de estatinas (86% *vs.* 6,3%; *P*<0,0001). No hubo diferencias significativas entre ambos grupos ni en los valores promedio del índice de masa corporal (IMC) ni en las proporciones de pacientes diabéticos y de sujetos fumadores o con hábito alcohólico. La presencia de calcificación vascular fue diagnosticada en 62 (46,6%) de los pacientes ECV mediante técnicas de imagen que incluyeron rayos X, ultrasonografía, ecocardiografía y/o tomografía computarizada. La calcificación en el tejido recuperado se confirmó posteriormente mediante la tinción von Kossa (**Sección VI.2**). Ninguno de los individuos del grupo control presentó calcificaciones vasculares.

En cuanto a los valores bioquímicos, tanto las concentraciones séricas de colesterol como de LDL, fueron significativamente menores en el grupo con ECV (168 ± 45 vs. 190,9 ± 39,1 mg/dL, P<0,05; 93,8 ± 39,3 vs. 114,4 ± 41,5 mg/dL, P<0,05, respectivamente). De nuevo, el elevado porcentaje de pacientes tratados con estatinas en el grupo de pacientes con ECV puede explicar estas diferencias.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Tabla R-1. Características clínicas y parámetros bioquímicos generales.

	ECV	Control	*P*-valor
Características de los pacientes			
N	133	20	-
Edad (años)	68,4 ± 8,5	61,9 ± 6,5	0,07
Hombres, n (%)	100 (75%)	14 (70)	0,785
PA sistólica (mmHg)	129 ± 20,1	144,2 ± 25,8	**<0,01**
PA diastólica (mmHg)	68,4 ±12,3	82,05 ± 18,4	**<0,05**
IMC (kg/m^2)	28,2 ± 4,1	27,8 ± 3	0,615
Co-morbilidades			
Fumador (%)	93 (70)	13 (65)	0,795
Alcoholismo (%)	56 (42)	6 (30)	0,34
HTA (%)	111 (83)	9 (45)	**<0,001**
DM (%)	62 (47)	7 (35)	0,47
Tratamientos farmacológicos			
Antiagregantes (%)	91,0	25,0	**<0,0001**
Beta-bloqueantes (%)	26,0	18,8	0,40
IECA/ARA2 (%)	53,0	31,3	**<0,05**
Ca-Antagonistas (%)	26,0	18,8	0,40
Estatinas (%)	86,0	6,3	**<0,0001**
Bioquímica			
Colesterol (mg/dL)	168 ± 45	190,9 ± 39,1	**<0,05**
HDL (mg/mL)	44,6 ± 14,2	47,7 ± 14	0,511
LDL (mg/dL)	93,8 ± 39,3	114,4 ± 41,5	**<0,05**
Triglicéridos (mg/dL)	148,2 ± 91	109,8 ± 45,6	0,06
HbA1c (%)	6,3 ± 1,43	6,4 ± 1,5	0,845
FGe (mL/min/1,73 m^2)	76,3 ± 15,2	97,4 ± 25,8	**<0,001**
Albúmina (g/dL)	3,8 ± 0,6	4,0 ± 05	0,245
Albuminuria (mg/24h)	110,48 ± 357,9	47,3 ± 46,3	**<0,001**
Creatinina sérica (mg/dL)	1,13 ± 0,9	0,86 ± 0,3	**<0,05**
Calcio (mg/dL)	9,1 ± 0,5	9,3 ± 0,6	0,062
Fósforo (mg/dL)	3,6 ± 0,5	3,4 ± 0,9	0,088
Fosfatasa alcalina (UI/L)	65 (44-84)	73 (60,8-100,5)	0,078
Glucosa (mg/dL)	119,1 ± 37,8	125,9 ± 44,1	0,460
Ácido úrico (mg/dL)	5,9 ± 1,6	5,9 ± 1,2	0,986

PA: presión arterial; IMC: índice masa corporal; HTA: hipertensión arterial; DM: diabetes mellitus; IECA/ARA2: inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina/antagonistas del receptor de angiontesina 2; HDL: lipoproteína de alta densidad; LDL: lipoproteína de baja densidad; HbA1c: hemoglobina glicosilada; FGe: filtrado glomerular estimado.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Por otra parte, el grupo ECV presentó valores de filtrado glomerular estimado (FGe) significativamente menores (76,3 ± 15,2 *vs*. 97,4 ± 25,8 mL/min/1,73m^2, *P*<0,001) y valores de creatinina sérica mayores a los del grupo control (1,13 ± 0,9 *vs.* 0,86 ± 0,3 mg/dL, *P*<0,05). Asimismo, la excreción urinaria de albúmina en los pacientes del grupo ECV fue significativamente mayor que la observada en el grupo control.

No hubo diferencias significativas en los valores de HbA1c, albúmina, glucosa o ácido úrico, aunque sí que se observó una tendencia a una mayor concentración sanguínea de fósforo y menor de calcio en los pacientes con ECV, aunque estas diferencias no alcanzaron valor estadístico.

Respecto a los parámetros específicos objeto de estudio en esta tesis, los resultados obtenidos muestran, en general, el estado inflamado de los pacientes con ECV con respecto al grupo control (**Tabla R-2**). En particular, se observa una reducción de los niveles de la citoquina anti-inflamatoria IL10, tanto en sus niveles séricos (3,9 (0,6-7,5) *vs.* 10,1 (2,5-24,8) pg/mL, *P*<0,05) como en la expresión génica en sangre periférica (0,52 (0,3-0,96) *vs.* 1,75 (0,63-3,61) log U.A., *P*<0,001). Con respeto a la citoquina pro-inflamatoria TNFα, aunque no hay diferencias en su título en sangre, sí que se observa una mayor expresión génica en CCSP (2,14 (1,14-3,15) *vs.* 0,94 (0,51-1,15) log U.A., *P*<0,001) en los pacientes del grupo ECV. Además, los valores del cociente entre TNFα e IL10 muestran valores significativamente mayores en estos pacientes, tanto en sus niveles séricos (0,348 (0,143-1,89) *vs.* 0,129 (0,045-0,489) pg/mL, *P*<0,05) como en la expresión en CCSP (4,2 (1,59-8,48) *vs.* 0,346 (0,242-2,05) log U.A., *P*<0,001).

También en relación con los parámetros inflamatorios, ni los niveles de expresión de ADAM17 en sangre periférica (1,87 (1,26-2,94) *vs.* 2,28 (1-4,45) log U.A., *P*=0,521) ni los de PCR en suero 4,6 (1,9-10,5) *vs.* 1,8 (1,1-8,2) mg/L, *P*=0,104), mostraron diferencias significativas entre los dos grupos considerados, aunque en el caso de la PCR, los pacientes del grupo ECV mostraban una tendencia a presentar niveles séricos más elevados de esta molécula. Finalmente, también se observó una tendencia a un valor mayor del cociente neutrófilo/linfocito en los pacientes con ECV (2,95 (1,96-5,67) *vs.* 2,48 (1,41-4,42), *P*=0,112).

Con respecto a los componentes del sistema FGF23/KL considerados en este estudio (**Tabla R-2**), tanto la forma intacta del FGF23 (20,66 (14,62-26,35) *vs.* 14,05 (8,75-19,63) pg/mL, *P*<0,01) como la forma carboxiterminal del mismo (34,81 (19,3-61,8) *vs.* 23,6 (16,2-28,8) UR/mL, *P*<0,05), presentaron valores significativamente superiores en los pacientes del grupo ECV. Por el contrario, tanto los niveles séricos de

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

KL (492,6 (338,3-641,2) *vs.* 966,3 (599,6-1575,6) pg/mL, *P*<0,001) como la expresión génica del mismo en las CCSP (4,51 (2,96-8,78) *vs.* 12,9 (5,97-36,04) log U.A., *P*<0,01) mostraron valores significativamente menores en el grupo de pacientes al ser comparados con el grupo control.

Tabla R-2. Parámetros específicos determinados en sangre.

	ECV (N=133)	Control (N=20)	*P*-valor
Parámetros Inflamatorios			
TNFα sérico (pg/mL)	1,13 (0,81-1,7)	1,19 (0,56-1,87)	0,614
IL10 sérico (pg/mL)	3,9 (0,6—7,5)	10,1 (2,5-24,8)	**<0,05**
TNFα/IL10 séricos (pg/mL)	0,348 (0,143-1,89)	0,129 (0,045-0,489)	**<0,05**
TNF ARNm CCSP (U.A.)	2,14 (1,14-3,15)	0,94 (0,51-1,15)	**<0,001**
IL10 ARNm CCSP (U.A.)	0,52 (0,3-0,96)	1,75 (0,63-3,61)	**<0,001**
TNF/IL10 ARNm CCSP	4,2 (1,59-8,48)	0,346 (0,242-2,05)	**<0,001**
ADAM17 ARNm CCSP (U.A.)	1,87 (1,26-2,94)	2,28 (1-4,45)	0,521
PCR (mg/L)	4,6 (1,9-10,5)	1,8 (1,1-8,2)	0,104
Neutrófilos	5550 (4175-8095)	4650 (3022,5-7070)	**<0,05**
Linfocitos	1780 (1255-2340)	1860 (1197,5-2490)	0,963
Neutrófilos/linfocitos	2,95 (1,96-5,67)	2,48 (1,41-4,42)	0,112
FGF23			
iFGF23 (pg/mL)	20,66 (14,62-26,35)	14,05 (4,11-29,63)	**<0,01**
cFGF23 (UR/mL)*****	34,81 (19,3-61,8)	20,6 (14,2-29,8)	**<0,05**
KLOTHO			
KL sérico (pg/mL)	492,6 (338,3-641,2)	966,3 (599,6-1575,6)	**<0,001**
KL ARNm CCSP (U.A.)	4,51 (2,96-8,78)	12,9 (5,97-36,04)	**<0,01**

TNFα, factor de necrosis tumoral α; IL10, interleucina 10; CCSP, células circulantes de sangre periférica; PCR, proteína C reactiva; iFGF23, forma intacta de la molécula del factor de crecimiento fibroblástico 23; cFGF23, extremo carboxilado de la molécula del factor de crecimiento fibroblástico 23; KL, Klotho. *****Valores correspondientes a los niveles séricos de 66 pacientes (37 con calcificaciones vasculares y 29 sin ellas).

VI.2. Expresión génica, histología e inmunohistoquímica del sistema FGF23/KL y de parámetros inflamatorios en la pared vascular.

VI.2.1 Estudio de expresión génica en tejido vascular.

De todos los sujetos incluidos en el estudio se obtuvo una muestra de tejido vascular que correspondía a fragmentos sobrantes obtenidos durante los procedimientos quirúrgicos correspondientes. Para el caso de los pacientes sometidos a cirugía vascular, las regiones de las que se extrajo el tejido incluyeron femoral (51,9%), aorta (30,8%) y carótida (17,3%), en función del área que estuviese afectada por la enfermedad aterosclerótica y para la que se indicó la cirugía (**Tabla R-3**). En el caso del

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

grupo control (donantes de órganos), los fragmentos que se obtuvieron durante el procedimiento quirúrgico de la extracción de órganos provinieron de la región aortoilíaca (un 60% de ilíacas y un 40% de aortas).

Tabla R-3. Territorios vasculares incluidos en el estudio.

	N	%
Grupo ECV		
Femoral	69	51,9
Carótida	41	30,8
Aorta	23	17,3
Grupo control		
Ilíaca	12	60
Aorta	8	40

Dentro del grupo con ECV, un elevado porcentaje de las muestras recuperadas presentaba placas ateromatosas o calcificaciones, ambas claramente identificables: 67 muestras con placa claramente desarrollada y 62 con calcificaciones evidentes (**Tabla R-4**). Ninguno de los 20 fragmentos recuperados del grupo control presentó placas o calcificaciones vasculares.

Tabla R-4. Presencia evidente de placas ateromatosas o calcificaciones en los fragmentos vasculares analizados procedentes del conjunto de pacientes con ECV.

	Placa ateromatosa		Calcificación	
	N	%	N	%
Grupo ECV	67	50,4	62	46,6
Femoral	7	5,3	26	19,5
Carótida	35	26,3	23	17,4
Aorta	25	18,8	13	9,7

El estudio de expresión génica de los fragmentos vasculares reveló diferencias significativas en los niveles de expresión de varios de los *loci* estudiados (**Tabla R-5**). Así, tanto los niveles de expresión del gen *TNF* como del cociente *TNF/IL10* fueron estadísticamente superiores en los fragmentos obtenidos de los pacientes con ECV respecto a los observados en el grupo control (1,17 (0,68-2,3) *vs.* 0,26 (0,06-0,77) U.A, *P*<0,001; y 8,4 (4,43-20,9) *vs*. 1,48 (0,93-8,1) U.A., *P*<0,001, respectivamente). De igual modo, los niveles de expresión del gen *FGF23* fueron también superiores en el grupo de pacientes con ECV (25,5 (9,8-140,5) *vs*. 9,79 (4,44-31,5) U.A., *P*<0,01), a diferencia de los niveles de expresión de KL, que estaban disminuidos en estos mismos pacientes (1,1 (0,44-2,44) *vs*. 1,65 (1,29-3,58) U.A., *P*<0,01).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Con el objetivo de disponer de un parámetro cuantitativo de calcificación vascular, se estudió también la expresión del gen *RUNX2*, determinándose un incremento en sus niveles en los fragmentos vasculares procedentes de pacientes con ECV (1,3 (0,92-2,31) *vs.* 0,4 (0,23-1,1) U.A., *P*<0,01).

Tabla R-5. Expresión génica en tejido vascular.

	ECV (N=133)	**Control** (N=20)	***P*-valor**
Parámetros Inflamatorios			
TNF ARNm (U.A.)	1,17 (0,68-2,3)	0,26 (0,06-0,77)	**<0,001**
IL10 ARNm (U.A.)	0,13 (0,06-0,33)	0,18 (0,14-0,31)	0,286
TNF/IL10 ARNm	8,4 (4,43-20,9)	1,48 (0,93-8,1)	**<0,001**
ADAM17 ARNm (U.A.)	1,1 (0,84-1,6)	0,95 (0,38-1,36)	0,145
FGF23/KL			
FGF23 ARNm (U.A.)*****	25,5 (9,8-140,5)	9,79 (4,44-31,5)	**<0,01**
KL ARNm (U.A.)	1,1 (0,44-2,44)	1,65 (1,29-3,58)	**<0,01**
Marcador de calcificación			
RUNX2 (U.A.)	1,3 (0,92-2,31)	0,4 (0,23-1,1)	**<0,01**

TNF, gen humano codificante para el factor de necrosis tumoral α; *IL10*, gen humano codificante para la interleucina 10; *ADAM17*, gen humano codificante para la proteína ADAM17; KL, gen humano codificante para la proteína Klotho; RUNX2, gen humano codificante para el actor de transcripción 2 relacionado con Runt; U.A., unidades arbitrarias. *****Solamente se detectó expresión del gen *FGF23* en 7 de los fragmentos provenientes de sujetos control y en 78 de los pacientes con ECV.

Al clasificar a los pacientes con ECV en función de la presencia de placa de ateroma o de calcificación evidente en el fragmento vascular recuperado, se observan algunas diferencias tanto en los niveles séricos de diferentes parámetros, así como de expresión de varios de los *loci* específicos analizados, tal y como se muestran en las **Tablas R-6 y R-7**. No se observaron diferencias en los valores de ninguno de los parámetros inflamatorios considerados en función de la presencia de placa de ateroma; tan solo se objetivó una tendencia a mayores niveles de la IL10 en el suero de los pacientes sin placa [0,59 (-0,295 - 0,745) *vs.* 0,680 (-0,098 - 1,170) log pg/mL, *P*=0,1] y a una menor expresión de *ADAM17* en el tejido vascular de estos mismos pacientes [0,121 (-0,071 - 0,354) *vs.* -0,018 (-0,086 - 0,146) log U.A., *P*=0,13]. Por el contrario, sí se encontraron diferencias en los niveles de los componentes del sistema FGF23/Kl estudiados, aunque solamente en lo referente a los niveles séricos y a la expresión en CSSP de Klotho. Así, los niveles circulantes de esta proteína eran significativamente menores en los pacientes con placa de ateroma en comparación con el grupo sin placas [2,68 (2,505 - 2,79) *vs*. 2,73 (2,60 - 2,89) log pg/mL, *P*<0,05], de forma similar a lo observado en su expresión en CSSP [0,559 (0,409 - 0,814) *vs.* 0,832 (0,527 - 1,067) log U.A., *P*<0,05] (**Tabla R-6**).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Tabla R-6. Niveles séricos y de expresión génica en tejido vascular en el conjunto de pacientes con ECV en función de la presencia de placa ateromatosa.

	ECV (N=133)		
	Placas de ateroma (N=67)	**Sin placa de ateroma** (N=66)	***P*-valor**
Parámetros Inflamatorios			
TNFα sérico (log pg/mL)	0,02 (-0,09 – 0,135)	0,05 (-0,065 – 0,185)	0,69
IL10 sérico (log pg/mL)	0,59 (-0,295 – 0,745)	0,680 (-0,098 – 1,170)	0,1
TNFα/IL10 séricos (log pg/mL)	0,381 (-0,742 – 0,213)	-0,55 (-1,325 – 0,212)	0,12
TNF ARNm vascular (log U.A.)	0,234 (-0,09 – 0,365)	0,068 (-0,092 – 0,24)	0,86
IL10 ARNm vascular (log U.A.)	-0,824 (-1,07 – -0,23)	-0,886 (-1,3 – -0,51)	0,62
TNF/IL10 ARNm vascular (log)	0,822 (0,61 – 1,25)	0,886 (-1,301 – -0,51)	0,86
ADAM17 ARNm vascular (log U.A.)	0,121 (-0,071 – 0,354)	-0,018 (-0,086 – 0,146)	0,13
TNF ARNm CCSP (log U.A.)	0,376 (0,235 – 0,490)	0,314 (0,029 – 0,491),	0,68
IL10 ARNm CCSP (log U.A.)	-0,284 (-0,54 – -0,051)	-0,383 (-0,523 – 0,122)	0,84
TNF/IL10 ARNm CCSP (log)	0,668 (0,389 – 0,928)	0,549 (-0,032 – 0,912	0,45
ADAM17 ARNm CCSP (log U.A.)	0,288 (0,096 – 0,379)	0,321 (0,141 – 1,57)	0,59
FGF23/KL			
iFGF23 (pg/mL)	20,4 (14,2 – 25,6)	19,5 (10,7 – 24,3)	0,45
cFGF23 (UR/mL)*****	26,2 (22,5 – 41,4)	25,5 (19,2 – 36,4)	0,65
KL sérico (log pg/mL)	2,68 (2,505 – 2,79)	2,73 (2,60 – 2,89)	**<0,05**
FGF23 ARNm vascular (U.A.)******	22,4 (16,7 – 106,2)	20,9 (23,51 – 287,2)	0,31
KL ARNm vascular (log U.A.)	0,0019 (-0,24 – 0,5)	0,076 (-0,253 – 0,31)	0,98
KL ARNm CCSP (log U.A.)	0,559 (0,409 – 0,814)	0,832 (0,527 – 1,067)	**<0,05**

TNFα, factor de necrosis tumoral α; IL10, interleucina 10; *ADAM17*, gen humano codificante para la proteína ADAM17; KL, Klotho; U.A., unidades arbitrarias; CCSP, células circulantes de sangre periférica; iFGF23, forma intacta de la molécula del factor de crecimiento fibroblástico 23; cFGF23, extremo carboxilado de la molécula del factor de crecimiento fibroblástico 23**; ***Valores correspondientes a los niveles séricos de 66 pacientes (37 con calcificaciones vasculares y 29 sin ellas).**; ****Solamente se detectó expresión del gen *FGF23* en 7 de los fragmentos provenientes de sujetos control y en 78 de los pacientes con ECV.

Al analizar las diferencias en función de la presencia de calcificaciones en el tejido vascular (**Tabla R-7**), se observó que los pacientes con ECV con dichas calcificaciones presentaban valores significativamente menores de IL10 sérico [0,033 (0,691 – -0,3) *vs*. 0,71 (-0,06 – 1,1) log pg/mL, *P*<0,001] y mayores del cociente TNFα/IL10 sérico [-0,19 (-0,74 – 0,49) *vs.* -0,65 (-0,18 – 0,11) log, *P*<0,01]. En cuanto a la expresión génica de los parámetros inflamatorios, solo se observó una mayor expresión de *TNF* en el tejido vascular que presentaba calcificaciones [0,17 (-0,11 – 0,45) *vs.* 0,037 (-0,26 – 0,21) log U.A., *P*<0,05]

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Tabla R-7. Niveles de expresión génica en las muestras de tejido vascular en el conjunto de pacientes con ECV en función de la presencia de calcificación.

	ECV (N=133)		
	Calcificación (N=62)	**Sin calcificación** (N=71)	***P*-valor**
Parámetros Inflamatorios			
TNFα sérico (log pg/mL)	0,04 (-0,09 – 0,23)	0,053 (-0,09 – 0,22)	0,9
IL10 sérico (log pg/mL)	0,033 (0,691 – -0,3)	0,71 (-0,06 – 1,1)	**<0,001**
TNFα/IL10 séricos (log)	-0,19 (-0,74 – 0,49)	-0,65 (-0,18 – 0,11)	**<0,01**
TNF ARNm vascular (log U.A.)	0,17 (-0,11 – 0,45)	0,037 (-0,26 – 0,21)	**<0,05**
IL10 ARNm vascular (log U.A.)	-0,88 (-1,22 – -0,41)	-0,95 (-1,3 – -0,57)	0,633
TNF/IL10 ARNm vascular (log)	0,841 (0,52 – 1,51)	0,851 (0,41 – 1,1)	0,86
ADAM17 ARNm vascular (log U.A.)	0,09 (-0,06 – 0,28)	0,009 (0,19 – -0,11)	0,136
TNF ARNm CCSP (log U.A.)	0,39 (0,22 – 0,5)	0,23 (-0,04 – 0,49)	0,058
IL10 ARNm CCSP (log U.A.)	-0,32 (0,55 – -0,055)	-0,23 (-0,5 – 0,13)	0,222
TNF/IL10 ARNm CCSP (log)	0,72 (0,35 – 0,94)	0,47 (0,004 – 0,89)	0,071
ADAM17 ARNm CCSP (log U.A.)	0,25 (0,089 – 0,41)	0,33 (0,1 – 0,53)	0,149
FGF23/KL			
iFGF23 (log pg/mL)	1,51 (1,22 – 1,58)	1,37 (0,98 – 1,52)	**<0,01**
cFGF23 (log UR/mL) *****	1,55 (1,36 – 1,67)	1,32 (1,26 – 1,52)	**<0,01**
KL sérico (log pg/mL)	2,68 (2,52 – 2,7)	2,73 (2,56 – 2,86)	**<0,05**
FGF23 ARNm vascular (log U.A.)*	26,11 (14,3 – 67,4)	18,79 (8,75 – 312,9)	**<0,01**
KL ARNm vascular (log U.A.)	1,15 (0,48 – 3,18)	1,14 (0,5 – 2,18)	0,745
KL ARNm CCSP (log U.A.)	4,39 (2,76 – 7,16)	6,87 (3,49 – 11,9)	**<0,05**
Marcador de calcificación			
RUNX2 (log U.A.)	1,88 (1,12 – 2,8)	0,91 (0,68 – 1,43)	**<0,01**
Marcador de recambio óseo			
Fosfatasa alcalina (mU/mL)	70,5 (47 – 91,5)	61 (32 – 75)	0,07

TNFα, factor de necrosis tumoral α; IL10, interleucina 10; *ADAM17*, gen humano codificante para la proteína ADAM17; KL, Klotho; U.A., unidades arbitrarias; CCSP, células circulantes de sangre periférica; iFGF23, forma intacta de la molécula del factor de crecimiento fibroblástico 23; cFGF23, extremo carboxilado de la molécula del factor de crecimiento fibroblástico 23**;** RUNX2, gen humano codificante para el actor de transcripción 2 relacionado con Runt; *****Valores correspondientes a los niveles séricos de 66 pacientes (37 con calcificaciones vasculares y 29 sin ellas).**; ****Solamente se detectó expresión del gen *FGF23* en 7 de los fragmentos provenientes de sujetos control y en 78 de los pacientes con ECV.

Por el contrario, tanto los niveles séricos como la expresión de los componentes del sistema FGF23/KL mostraron importantes diferencias en función de la presencia de calcificaciones vasculares; así, las dos formas del FGF23 determinadas en suero presentaron niveles significativamente mayores en los pacientes con calcificación vascular: iFGF23: 1,51 (1,22 – 1,58) *vs.* 1,37 (0,98 – 1,52) pg/mL, *P*<0,01; cFGF23:

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

1,55 (1,36 – 1,67) *vs.* 1,32 (1,26 – 1,52) UR/mL, *P*<0,01, respectivamente (**Tabla R-7** y **Fig. R-1**).

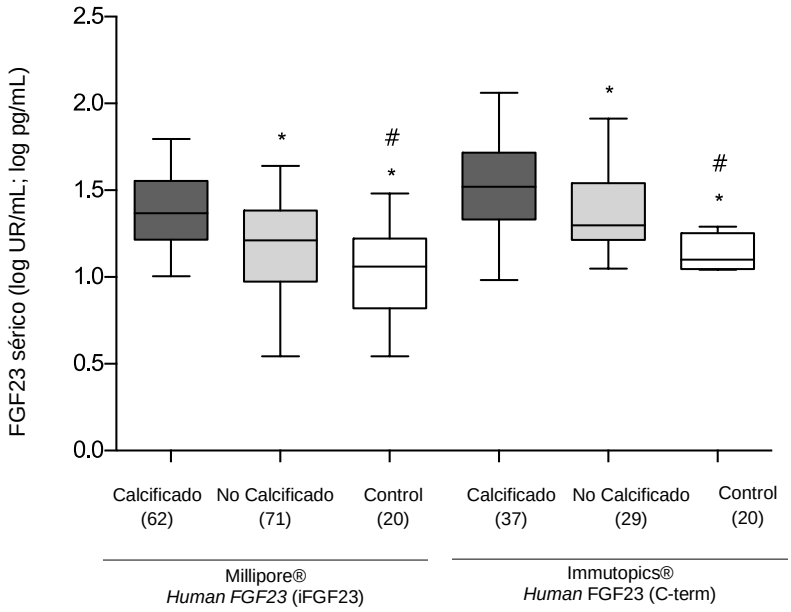

Figura R-1. Diferencias en los niveles del FGF23 intacto y C-terminal en función de la presencia de calcificación. Las figuras representan la mediana, el rango intercuartílico y los valores máximo y mínimo. **P*<0.01 *vs.* grupo calcificado; #*P*<0.01 *vs.* grupo no calcificado.

De forma similar, la expresión génica de *FGF23* en tejido vascular era significativamente superior en los pacientes con calcificación [26,11 (14,3 - 67,4) *vs.* 18,79 (8,75 - 312,9) U.A., *P*<0,01]. Además, también se observaron diferencias significativas en los niveles de Klotho sérico [2,68 (2,52 - 2,7) *vs.* 2,73 (2,56 – 2,86) pg/mL, *P*<0,05] y en los valores de expresión de su gen codificante en células de sangre periférica [4,39 (2,76 - 7,16) *vs.* 6,87 (3,49 - 11,9) log U.A., *P*<0,05], que eran mayores en los pacientes sin calcificación vascular (**Tabla R-7** y **Fig. R-2**). Finalmente, y como era previsible, la expresión de *RUNX2* fue significativamente mayor en el tejido vascular calcificado [1,88 (1,12 – 2,8) *vs.* 0,91 (0,68-1,43) log U.A., *P*<0,01] (**Tabla R-7**).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

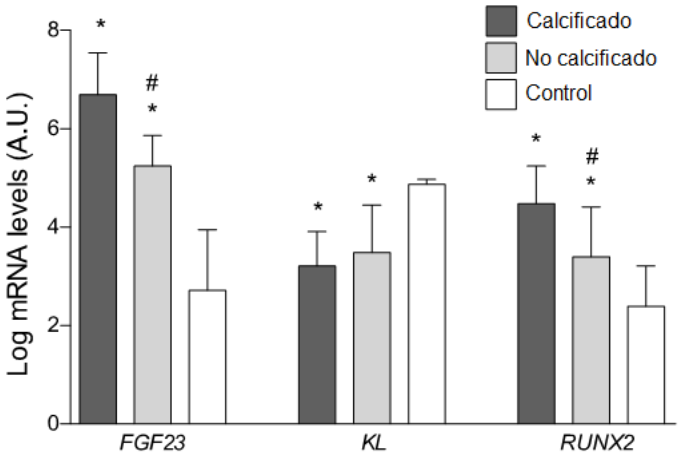

Figura R-2. Diferencias en los niveles de expresión génica de *FGF23, KL* y *RUNX2* en el tejido vascular en función de la presencia de calcificación. Las columnas representan la media y la desviación estándar. *P<0.01 *vs.* control; #P<0.01 *vs.* grupo con calcificación. U.A., unidades arbitrarias.

VI.2.2 Estudio histológico e inmunohistoquímico.

El pequeño tamaño de los fragmentos recuperados condicionó la disponibilidad de una cantidad suficiente de los mismos que permitiera llevar a cabo todos los bloques de este estudio. Por este motivo, para el estudio histológico e inmunohistoquímico de los fragmentos de pared vascular, sólo se pudo disponer de un total de 51 muestras de pacientes con ECV (6 aortas, 17 carótidas y 28 femorales) y de 17 muestras de sujetos control (6 aortas y 11 ilíacas). No se evidenciaron diferencias significativas entre estos dos grupos ni en la edad (70 ± 10 *vs.* 68.4 ± 11 años), el FGe (87 ± 11 *vs.* 91 ± 9 mL/min/1.73 m^2), la distribución por sexos (80% *vs.* 75%, hombres), la incidencia de diabetes (46% *vs.* 51%) o el antecedente de tabaquismo (61% *vs.* 56%).

Las muestras utilizadas para este estudio histológico e inmunohistoquímico, presentaron una distribución de las incidencias de placas de ateroma y de calcificación vascular similar a la observada en el estudio de expresión génica, con un porcentaje de fragmentos con placa de ateroma de un 45,1% (23 fragmentos) y de segmentos con calcificaciones vasculares de un 51% (26 fragmentos) (**Tabla R-8**).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Tabla R-8. Fragmentos vasculares de pacientes con ECV incluidos en el estudio histológico con presencia evidente de placas ateromatosas o calcificaciones.

	Placa ateromatosa		Calcificación vascular	
	N	**%**	**N**	**%**
Grupo ECV	23	45,1	26	51
Femoral	3	5,9	3	5,9
Carótida	11	21,6	13	25,5
Aorta	9	17,6	10	19,6

El análisis histológico mediante tinciones HE y TCM permitió determinar la estructura de la pared vascular, evidenciando las capas adventicia, media e íntima en cada muestra. De este modo, se pudo confirmar la presencia de daño vascular aterosclerótico en las muestras que previamente se clasificaron como con lesión observable. Por otra parte, la tinción von Kossa permitió confirmar la presencia de calcificaciones vasculares (**Fig. R-3**).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

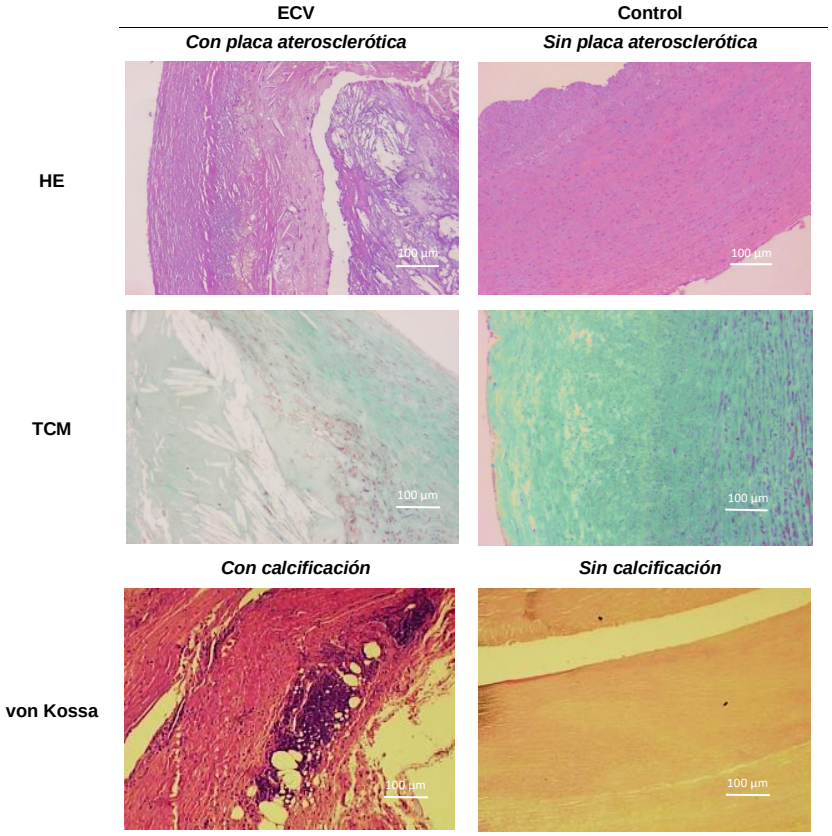

Figura R-3. Tinciones histológicas de los fragmentos de pared vascular. HE, tinción hematoxilina-eosina; TCM, tinción tricrómica.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Los resultados del estudio inmunohistoquímico mostraron que los componentes del sistema FGF23/KL están presentes en el tejido vascular, principalmente en las capas íntima y media (**Fig. R-4**).

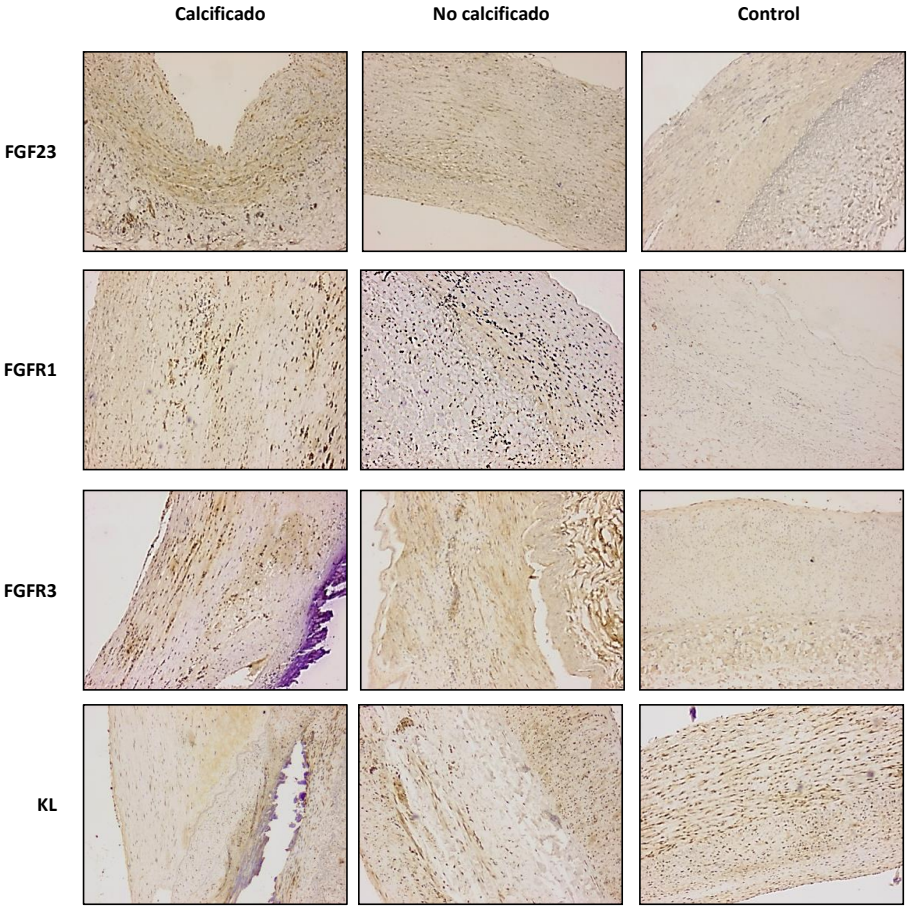

Figura R-4. Inmunohistoquímica de los fragmentos de pared vascular en función de la presencia de calcificación

De este modo, se detectó la presencia de KL, FGFR1 y FGFR3 en todas las muestras estudiadas. Cabe señalar que el 84% (43 muestras) de los pacientes con ECV mostró positividad para la tinción con anticuerpos para el FGF23 en contraste con el 35% (6 muestras) de las muestras positivas recuperadas del grupo control. En las muestras que presentaron inmunorreactividad para FGF23 y KL, la señal de estas proteínas se detectó tanto intra- como extra-celularmente (**Fig. R-5**).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

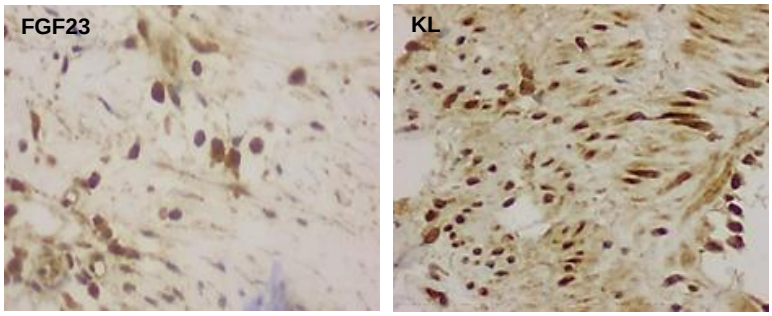

Figura R-5. Detección intracelular del FGF23 y de Klotho (aumento x200).

Cuantitativamente, y de forma similar a lo observado tanto en el análisis de expresión génica como en el de los niveles séricos, la inmunorreactividad para la proteína FGF23 fue superior en los pacientes con ECV que en los sujetos del grupo control [3,9535 (3,3083 - 4,3064) *vs.* 1,05 (0,81 - 1,21) log μm^2, *P*<0,001] (**Tabla R-9**). De forma similar, los dos receptores cognados FGFR1 y FGFR3 también presentaron niveles superiores de inmunorreactividad en los tejidos procedentes de pacientes con ECV [4,39 (3,97 - 4,7) *vs.* 3,99 (3,29 - 4,53) log μm^2, *P*<0,05; 3,87 (2,67 - 3,99) *vs.* 3,21 (2,97 - 4,09) log μm^2, *P*<0,05, respectivamente]. Finalmente, el correceptor KL presentó niveles disminuidos en los pacientes con ECV [4,15 (3,7 - 4,54) *vs.* 4,09 (1,82 - 4,69) log μm^2, *P*<0,05].

Con respecto a los parámetros inflamatorios considerados, los niveles de inmunorreactividad para TNFα en la pared vascular de pacientes con ECV fueron significativamente mayores que los del grupo control [4,462 (4,36 - 4,58) *vs*. 3,96 (3,36 - 4,06) log μm^2, *P*<0,0001]. Por el contrario, lo niveles de IL10 fueron similares en los dos grupos [4,54 (4,34 - 4,88) *vs*. 4,39 (4,17 - 5,03) log μm^2, *P*=0,72]. Al considerar los valores del cociente TNFα/IL10, estos fueron significativamente mayores en pacientes ECV respecto a individuos del grupo control [0,093 (-0,309 - 0,292) *vs*. -0,432 (-0,903 ─ -0,293) log μm^2, *P*<0,0001].

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Tabla R-9. Valores de inmunorreactividad en tejido vascular.

	ECV (N=51)	Control (N=17)	*P*-valor
Parámetros Inflamatorios			
TNFα (log μm^2)	4,46 (4,36-4,58)	3,96 (3,36-4,06)	**<0,0001**
IL10 (log μm^2)	4,54 (4,34-4,88)	4,39 (4,17-5,03)	0,72
TNFα/IL10 (log)	0,09 (-0,31-0,29)	-0,43 (-0,9 - 0,29)	**<0,0001**
FGF23/KL			
FGF23 (log μm^2)	4,19 (3,37-4,46)	2,15 (0,81-4,21)	**<0,001**
KL (log μm^2)	4,15 (3,7-4,54)	4,09 (1,82-4,69)	**<0,05**
FGFR1 (log μm^2)	4,39 (3,97-4,7)	3,99 (3,29-4,53)	**<0,05**
FGFR3 (log μm^2)	3,87 (2,67-3,99)	3,21 (2,97-4,09)	**<0,05**

TNFα, factor de necrosis tumoral α; IL10, interleucina 10; KL, Klotho; FGFR1, receptor 1 para factores de crecimiento fibroblástico; FGFR3, receptor 3 para factores de crecimiento fibroblástico.

Al considerar las muestras vasculares del grupo ECV en función de la presencia de placa ateromatosa patente, no se constataron diferencias significativas en ninguno de los componentes del sistema FGF23/KL ni en los parámetros inflamatorios. Así, los niveles de inmunorreactividad para el FGF23 [4,1 (3,25 - 4,67) *vs.* 3,9 (3,5 - 4,11) log μm^2, *P*=0,11], para su co-receptor KL [4,57 (4,36 - 4,78) *vs.* 4,55 (4,28 - 4,78) log μm^2, *P*=0,61] y para sus dos receptores FGFR1 [4,57 (3,9-4,8) *vs.* 4,3 (3,1-4,2) log μm^2, *P*=0,41] y FGFR3 [3,94 (2,74-4,2) *vs.* 3,44 (2,41-3,81) log μm^2, P=0,62] fueron similares independientemente de que correspondieran a fragmentos con o sin placa. Por su parte, tampoco hubo diferencias en los niveles del TNFα [4,49 (4,376 - 4,575) *vs.* 4,437 (4,361 - 4,597) log μm^2, *P*=0,77], IL10 [4,45 (4,173 - 4,974) *vs.* 4,346 (4,146 - 4,616) log μm^2, *P*=0,59] o para el cociente entre estas últimas [0,08 (-0,39 - 0,32) *vs.* 0,079 (-0,16 - 0,28) log μm^2, *P*=0,69] (**Tabla R-10**).

Tabla R-10. Inmunorreactividad en muestras de tejido vascular de pacientes con ECV en función de la presencia de placa ateromatosa.

	ECV (N=51)		
	Placa de ateroma (N=23)	Sin placa de ateroma (N=28)	*P*-valor
Parámetros Inflamatorios			
TNFα (log μm^2)	4,49 (4,38 - 4,58)	4,437 (4,36 - 4,6)	0,77
IL10 (log μm^2)	4,45 (4,17 - 4,97)	4,35 (4,15 - 4,62)	0,59
TNF/IL10	0,08 (-0,39 - 0,32)	0,08 (-0,15 - 0,28)	0,69
FGF23/KL			
FGF23 (log μm^2)	4,1 (3,25 - 4,67)	3,9 (3,5 - 4,11)	0,11
KL (log μm^2)	4,57 (4,36 - 4,78)	4,55 (4,28 - 4,78)	0,61
FGFR1 (log μm^2)	4,57 (3,9 - 4,8)	4,3 (3,1 - 4,2)	0,41
FGFR3 (log μm^2)	3,94 (2,74 - 4,2)	3,44 (2,41 - 3,81)	0,62

TNFα, factor de necrosis tumoral α; IL10, interleucina 10; FGF23, factor de crecimiento fibroblástico 23; KL, Klotho; FGFR1, receptor 1 para factores de crecimiento fibroblástico; FGFR3, receptor 3 para factores de crecimiento fibroblástico.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por: CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 09/09/2021 10:14:05

Javier Donate Correa
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 09/09/2021 13:11:43

Juan Francisco Navarro González
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 09/09/2021 13:37:05

María de las Maravillas Aguiar Aguilar
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Por el contrario, al clasificar a los pacientes en función de la presencia de calcificación, sí que se observaron importantes diferencias en los niveles de inmunorreactividad para el FGF23. De hecho, se detectó inmunorreactividad para FGF23 en 24 de las 26 muestras calcificadas (92,3%) y solamente en 15 de las 28 (53,6%) muestras de pacientes sin calcificación. En términos cuantitativos, la inmunorreactividad para el FGF23 en el tejido vascular fue significativamente mayor en el tejido calcificado [4,6 (3,8-4,91) *vs.* 3,7 (3,1-4,1) log μm^2, *P*<0,05] (**Tabla R-11** y **Fig. R-6**). Para el resto de parámetros no se observaron diferencias significativas.

Tabla R-11. Inmunorreactividad en muestras de tejido vascular de pacientes con ECV en función de la presencia de calcificación.

	ECV (N=51)		
	Calcificación (N=26)	**Sin calcificación** (N=25)	***P*-valor**
Parámetros Inflamatorios			
TNFα (log μm^2)	4,61 (4,51 - 4,74)	4,42 (4,31 - 4,71)	0,31
IL10 (log μm^2)	4,21 (4,31 - 4,42)	4,45 (4,42 - 4,76)	0,32
TNF/IL10	0,09 (-0,43 - 0,37)	0,08 (-0,12 - 0,26)	0,21
FGF23/KL			
FGF23 (log μm^2)	4,6 (3,8 - 4,91)	3,7 (3,1 - 4,1)	**<0,05**
KL (log μm^2)	4,13 (4,01 - 4,45)	4,61 (4,16 - 4,54)	0,37
FGFR1 (log μm^2)	4,3 (3,8 - 4,6)	4,21 (3,3 - 4,3)	0,52
FGFR3 (log μm^2)	4,01 (3,51 - 4,4)	3,8 (2,71 - 4,1)	0,41

TNFα, factor de necrosis tumoral α; IL10, interleucina 10; KL, Klotho; FGF23, factor de crecimiento fibroblástico 23; FGFR1, receptor 1 para factores de crecimiento fibroblástico; FGFR3, receptor 3 para factores de crecimiento fibroblástico.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

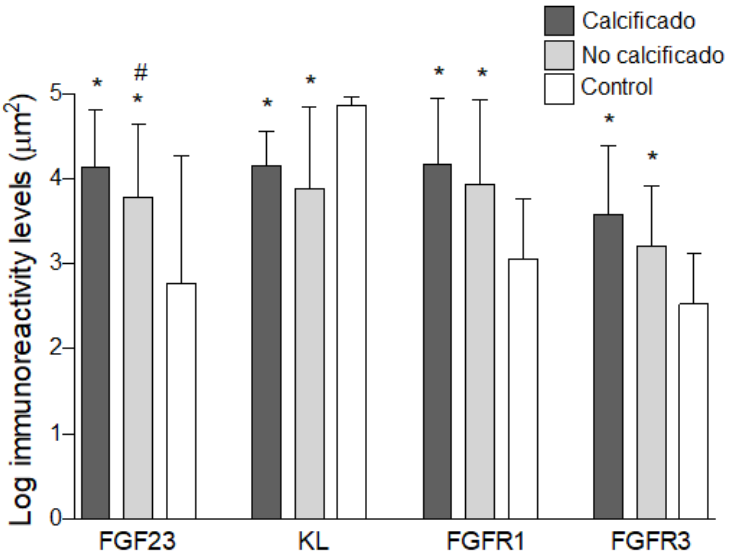

Figura R-6. Diferencias en los niveles de inmunorreactividad para el FGF23, KL, FGFR1 y FGFR3 en función de la presencia de calcificación. Los valores representan la media y la desviación estándar. **P*<0,01 *vs.* control; # *P*<0,05 *vs.* grupo calcificado.

VI.3. Análisis estratificado.

Con el objeto de estudiar el efecto de las concentraciones sistémicas del FGF23 sobre las variables clínicas y bioquímicas de mayor interés, así como de los parámetros inflamatorios y del sistema FGF23/KL considerados, se procedió a estratificar a los pacientes con ECV en función de los niveles solubles de las dos formas del FGF23 analizadas (**Tabla R-12**). Se observó así una mayor prevalencia de pacientes con diabetes mellitus en los terciles superiores de FGF23 (*P*<0,01, para ambas determinaciones). La distribución de los pacientes que presentaron placas de ateroma observables en el momento del procesamiento del tejido no mostró diferencias significativas. Por el contrario, los pacientes con calcificaciones vasculares se encuadraron en su mayor parte en los terciles superiores, con un 75% para el 3er tercil correspondiente a iFGF23 y de un 95,5% para el 3er tercil correspondiente a la forma cFGF23 (*P*<0,01, para ambos). Con respecto a la función renal, se observó un incremento significativo en los niveles de albuminuria (*P*<0,05 para ambas determinaciones) y un descenso en el FGe (*P*<0,05, para ambas determinaciones) a medida que aumentaba el tercil de ambas formas de FGF23.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Respecto a los parámetros específicos considerados, se observó que los niveles solubles del TNFα fueron significativamente mayores en los terciles superiores del FGF23 (P<0,0,5 para ambas determinaciones) y que, por el contrario, los niveles de KL fueron significativamente menores (P<0,01, para ambas determinaciones). En cuanto a la expresión génica en el tejido vascular, solo se observaron diferencias significativas en la expresión del *locus FGF23*, que presentó niveles mayores en los terciles superiores de ambas formas solubles del FGF23 determinadas (P<0,05 para ambas determinaciones).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Tabla R-12. Características de los pacientes estratificados por terciles en función de las concentraciones del iFGF23 (pg/mL) y del cFGF23 (RU/mL) solubles.

Variable	Tercil 1 (<12 pg/mL / <23 RU/mL)	Tercil 2 (12-23 pg/mL / 23-47 RU/mL)	Tercil 3 (>23 pg/mL / >47 RU/mL)	*P*-valor
Características				
N (%)	44 (33,1) / 22 (16,5)	45 (33,8) / 22 (16,5)	44 (33,1) / 22 (16,5)	
Edad (años)	67,1±9,1 / 70±9	67,6±11 / 69,1±13,3	69,5±9,8 / 68,3±10,1	NS / NS
Hombres (%)	34 (77,2) / 18 (81,8)	35 (77,7) / 17 (77,3)	31 (70,5) / 17 (77,3)	NS / NS
PA sistólica (mm Hg)	128,3±20,1 / 121,7±15,1	131,5±19,9 / 131,1±18,3	126,2±20 / 125±22,5	NS / NS
PA diastólica (mm Hg)	68,7±10,3 / 65,3±11,3	69,5±13,5 / 68,5±8,4	67,1±12,8 / 64,9±12	NS / NS
IMC (kg/m^2)	27,5±2,9 / 29,2±3,7	27,9±4,6 / 27,4±3,2	29,2±4,4 / 30,6±4,4	NS / NS
Placa aterosclerótica visible (%)	23 (52,3) / 13 (59,1)	24 (53,3) / 12 (54,5)	20 (45,5) / 12 (54,5)	NS / NS
Calcificación vascular (%)	10 (22,7) / 6 (27,3)	19 (42,2) / 10 (45,5)	33 (75) / 21 (95,5)	**<0,01 / <0,01**
Comorbilidades				
HTA (%)	33 (75) / 18 (81,8)	39 (88,8) / 15 (68,2)	39 (88,6) / 19 (86,4)	NS / NS
DM (%)	17 (38,6) / 3 (13,6)	19 (42,2) / 8 (36,4)	23 (52,3) / 13 (59)	**<0,01 / <0,01**
Alcoholismo (%)	20 (45,4) / 10 (45,4)	20 (44,4) / 8 (36,4)	16 (36,3) / 9 (40,9)	NS / NS
Tabaquismo (%)	36 (81,8) / 17 (77,2)	33 (73,3) / 18 (81,8)	34(77,2) / 16 (72,7)	NS / NS
Dislipemia (%)	9 (20,5) / 4 (18,1)	9 (20) / 5 (22,7)	10 (22,7) / 4 (18,1)	NS / NS
Bioquímica general				
Colesterol total (mg/dL)	159,6±46,3 / 158,9±40,2	158,2±44,9 / 173,2±40,9	166,4±43,3 / 153,2±35,8	NS / NS
HDL-C (mg/dL)	44,4±12,6 / 41,1±14,8	44,6±15,9 / 51,8±19,6	43,7±12,5 / 43±11,1	NS / NS
LDL-C (mg/dL)	98,7±44,2 / 84,6±36,5	81,8±34,2 / 91,5±38	96,9±33,4 / 83,2±30,3	NS / NS
Triglicéridos (mg/Dl)	156,9±125,6 / 147,8±80,3	158,2±87,8 / 125,7±55,2	129,2±37 / 137,2±56,9	NS / NS
HbA1c (%)	6,3±1,4 / 6,5±1,7	6,2±1,4 / 6,1±1,2	6,4±1,3 / 6,5±1,3	NS / NS
Albuminuria	22,1 (4,9-70,7) / 31 (5,3-132)	22 (0,6-63,2) / 28,2 (4,8-69,1)	56,5 (13,8-83) / 55,4 (25-88,4)	<0,05 / <0,05
Calcio (mg/L)	9,1±0,6 / 9,2±0,5	8,9±0,6 / 8,7±0,7	9,1±0,4 / 8,9±0,6	NS / NS

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por: CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA Fecha: 09/09/2021 10:14:05

Javier Donate Correa
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 09/09/2021 13:11:43

Juan Francisco Navarro González
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 09/09/2021 13:37:05

María de las Maravillas Aguiar Aguilar
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA 11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Fósforo (mg/dL)	3,5±0,5 / 3,6±0,5	3,6±0,5 / 3,5±0,4	3,7±0,5 / 3,7±0,6	NS / NS
Fosfatasa alcalina (mU/mL)	66 (52,2-79,2) / 63 (52,7-74,2)	56 (30,5-85,5) / 80,5 (56,5-101)	66 (32-80,2) / 64,5 (23,5-86,8)	NS / NS
Parámetros específicos				
PCR (mg/dL)	4,1 (0,9-11) / 4,4 (0,4-13,1)	5,6 (2,1-12,9) / 5,2 (2,1-12,9)	4,1 (2,1-8,1,9) / 4,6 (0,9-6,3)	NS / NS
TNFα sérico (pg/mL)	0,91 (0,7-1,2) / 1,12 (0,8-1,6)	1,29 (0,83-1,73) / 1,25 (0,9-1,6)	1,48 (0,93-2,13) / 1,5 (1-2)	**<0,05 / <0,05**
IL10 sérico (pg/mL)	3,9 (0,64-5,5) / 0,98 (0,5-4,6)	4,92 (0,83-8,46) / 0,6 (0,1-4,4)	2,19 (0,48-8,4) / 0,73 (0,5-3,9)	NS / NS
TNFα/IL10 séricos (pg/mL)	0,47 (0,2-1,5) / 0,86 (0,2-1,9)	0,27 (0,09-1,66) / 3,1 (0,2-10,5)	0,77 (0,18-2,91) / 1,25 (0,5-3,5)	NS / NS
Neutrófilos/linfocitos	3,5 (1,3-9,5) / 3,4 (2,8-6,5)	3,66 (1,85-5,9) / 3,5 (2,1-5,6)	3,4 (2,25-6,73) / 3,3 (2,3-5,8)	NS / NS
KL sérico (pg/mL)	683 (357-750) / 447 (346-560)	558 (355-662) / 398 (302-493)	473 (329-591) / 338 (304-564)	**<0,01 / <0,01**
Expresión génica en CCSP				
TNF ARNm (U.A.)	2,33 (1,1-3,2) / 2,5 (1,2-3,8)	2,01 (0,89-2,92) / 2,1 (1,5-3,2)	2,18 (1,54-3,27) / 2,8 (1,9-3,4)	NS / NS
IL10 ARNm (U.A.)	0,52 (0,3-1,1) / 0,84 (0,4-1,3)	0,38 (0,23-0,88) / 0,49 (0,2-0,8)	0,56 (0,31-0,9) / 0,48 (0,31-0,7)	NS / NS
TNF/IL10 ARNm	4,64 (1,7-8,3) / 2,97 (1,1-8,7)	3,21 (1,46-12,83) / 5,7 (1,98-13)	4,76 (1,97-7,42) / 5,54 (3,3-8,1)	NS / NS
KL ARNm (U.A.)	5,7 (2,9-12,9) / 5,5 (3,5-12)	4,31 (2,76-7,1) / 4,5 (2,9-9,9)	4,66 (3,47-9,1) / 4,5 (3,7-8,9)	NS / NS
Expresión génica en tejido vascular				
TNF ARNm (U.A.)	1,25 (0,78-2,1)	1,4 (0,38-2,4)	1,15 (0,83-2,3)	NS / NS
IL10 ARNm (U.A.)	0,15 (0,16-0,43)	0,13 (0,09-0,23)	0,13 (0,05-0,33)	NS / NS
TNF/IL10 ARNm	9,1 (6,31-26,9)	8,9 (5,43-19,9)	8,8 (5,71-21,7)	NS / NS
FGF23 ARNm (U.A.)	13,7 (10,1 - 86,6)	18,6 (11,7 - 102,8)	24,6 (19,8 - 121,2)	**<0.05 / <0.05**
KL ARNm (U.A.)	1,11 (0,39-2,13)	1,02 (0,48-2,31)	1,13 (0,81-2,41)	NS / NS
Función renal				
FGe (mL/ min/1,73m^2)	87,3±20,5 / 81±22,4	77,8±21,9 / 78,9±21,1	67,5±25,4 / 72,5±30,8	<0,05 / <0,05

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Los pacientes seleccionados para el estudio inmunohistoquímico también se estratificaron en función de los niveles solubles de iFGF23 y de cFGF23. Los resultados indican que el grado de inmunorreactividad para FGF23 es significativamente superior en los terciles superiores de ambas formas del FGF23 soluble determinadas (*P*<0,05, para ambos casos). Por el contrario, la señal de Klotho se redujo significativamente en esos terciles (*P*<0,05, para ambos casos). No se observaron diferencias en los niveles de inmunorreactividad para FGFR1 y para FGFR3 (**Tabla R-13**).

De forma similar al análisis estratificado de la población total incluida en el estudio, los terciles superiores de las formas solubles del FGF23 de este subgrupo de pacientes también presentaron una mayor expresión génica vascular del *locus FGF23* (*P*<0,05 para ambas determinaciones), y una menor función renal (*P*<0,05 para ambas determinaciones).

Tabla R-13. Inmunorreactividad, expresión génica en tejido vascular y función renal del grupo de pacientes con ECV estratificados por los terciles de los niveles solubles de iFGF23 (pg/mL) y cFGF23 (RU/mL).

	Tercil 1 (<15 pg/mL / <24 RU/mL)	**Tercil 2** (15-25 pg/mL / 24-46 RU/mL)	**Tercil 3** (>25 pg/mL / >46 RU/mL)	***P*-valor**
N (%)	22 (34,4) / 21 (32,8)	21 (32,8) / 22 (34,4)	21 (32,8) / 22 (34,4)	
Niveles de inmunorreactividad (log µm²)				
FGF23	3,5±0,3 / 3,8±0,3	4,1±0,3 / 4,5±0,3	4,8±0,3 / 4,9±0,3	**<0,05 / <0,05**
FGFR1	4,5±0,5 / 4,6±0,3	4,4±0,3 / 4,6±0,3	4,2± 0,4 / 4,5±0,3	NS / NS
FGFR3	3,5±0,4 / 3,4±0,7	3,5±0,4 / 3,4±0,9	3,6±0,3 / 3,5±0,8	NS / NS
KLOTHO	4,6±0,5 / 4,7±0,2	4,1±0,4 / 4,3±0,4	3,6±0,4 / 3,8±0,4	**<0,05 / <0,05**
TNF	4,61±0,5 / 4,29±0,1	4,51±0,3 / 4,30±0,7	4,74±0,5 / 4,34±0,4	NS / NS
IL10	4,21±0,3 / 4,32±0,1	4,31±0,5 / 4,3±0,7	4,42±0,6 / 4,25±0,1	NS / NS
Expresión génica en tejido vascular (log U.A.)				
FGF23	5,1±2,1 / 4,8±3,3	6,1±2.3 / 6,5 ±0,3	7,2±3,6 / 4,9±0,3	**<0,05 / <0,05**
KL	4,3±0,5 / 4,5±0,3	4,1±0,3 / 4,2±0,3	4± 1,4 / 3,9±0,3	NS / NS
Función renal				
FGe (mL/ min/1,73 m²)	85,3±21,3 / 84±14,2	74,5±11,1 / 77,7±11,2	68,3±6,6 / 70,7±4,2	**<0,05 / <0,05**

TNFα, factor de necrosis tumoral α; IL10, interleucina 10; KL, Klotho; *ADAM17*, gen humano codificante para la proteína; FGFR1, receptor 1 para factores de crecimiento fibroblástico; FGFR3, receptor 3 para factores de crecimiento fibroblástico; U.A., unidades arbitrarias; iFGF23, forma intacta de la molécula del factor de crecimiento fibroblástico 23; cFGF23, extremo carboxilado de la molécula del factor de crecimiento fibroblástico 23; FGe: filtrado glomerular estimado.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

VI.4. Asociaciones entre los niveles séricos, la expresión en pared vascular y en células circulantes de sangre periférica del FGF23 con los parámetros clínicos e inflamatorios.

VI.4.1. Análisis de correlaciones

Con el objetivo de determinar las relaciones entre la expresión génica y los niveles séricos de FGF23 y de citoquinas con los parámetros clínicos y bioquímicos generales, se realizó un análisis de correlación bivariante (**Tabla R-14** y **Fig. R-7**). Los resultados más destacables muestran que las dos formas del FGF23 están relacionados de forma directa tanto con la presión arterial sistólica (r=0,151 para iFGF23 y r=0,263 para cFGF23, *P*<0,05) como con la diastólica (r=0,166 para iFGF23 y r=0,2510 para cFGF23, *P*<0,05). Además, ambas formas del FGF23 también se relacionan con los niveles de fósforo (r=0,128 para iFGF23 y r=0,195 para cFGF23, *P*<0,05) y con la función renal, mostrando en este último caso una correlación inversa y sginificativa con el FGe (r=-0,437 para iFGF23 y r=-0,483 para cFGF23, *P*<0,001), mientras existía una correlación directa con la albuminuria (r=0,585 para iFGF23 y r=0,590 para cFGF23, *P*<0,001) y con los niveles de creatinina sérica (r=0,803 para iFGF23 y r=0,79 para cFGF23, *P*<0,001). Respecto al TNFα, sus niveles séricos estuvieron significativamente relacionados en el mismo sentido que el FGF23 con el FGe, la albuminuria y los niveles de creatinina sérica (r=-0,431, *P*<0,001; r=0,211, *P*<0,01; r=0,45, *P*<0,001, respectivamente). Asimismo, se observó una correlación significativa con la HbA1c y con los niveles séricos de albúmina, de calcio y de fosfatasa alcalina (r=0,261, *P*<0,001; r=-0,255, *P*<0,01; r=-0,3, *P*<0,001; r=0,275, *P*<0,001, respectivamente). Por su parte, la concentración sérica de la citoquina IL10 solo estuvo relacionada con la HbA1c (r=-0,143, *P*<0,05). El estudio de expresión en células de sangre periférica, solo mostró correlaciones de la expresión de *IL10* con la edad y los niveles de albúmina y de calcio en sangre (r=0,199, *P*<0,05; R=-0,241, *P*<0,01; r=-0,154, *P*<0,05, respectivamente). El estudio de expresión en tejido vascular mostró correlaciones significativas entre la expresión del gen *FGF23* y los niveles de albúmina, calcio y glucemia (r=-0,350, *P*<0,05; r=-0,307, *P*<0,05; r=0,385, *P*<0,01, respectivamente). La expresión vascular de *TNF* se correlacionó de forma directa con los niveles de PAD (r=0,156, *P*<0,05) y la de *IL10* con los niveles de colesterol, LDL y calcio (r=0,164, *P*<0,05; r=0,175, *P*<0,05; r=-0,203, P<0,05, respectivamente)

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Tabla R-14. Análisis de correlación entre la expresión génica y los niveles séricos del FGF23 y de citoquinas con los parámetros clínicos y bioquímicos generales.

	Niveles séricos (pg/ml)								Expresión CCSP (U.A.)				Expresión vascular (U.A.)							
	iFGF23		cFGF23*		TNFα		IL10		*TNF*		*IL10*		*FGF23*		*TNF*		*IL10*	
	r	*P*	r	*P*	r	*P*	r	*P*	r	*P*	r	*P*	r	*P*	r	*P*	r	*P*
Edad (años)	-0,28	0,375	-0,54	0,329	0,124	0,079	-0,026	0,385	-0,075	0,204	**0,199**	**<0,05**	0,182	0,119	0,043	0,317	0,01	0,458
PAS (mm Hg)	**0,151**	**<0,05**	**0,263**	**<0,05**	-0,72	0,206	0,004	0,481	0,041	0,325	0,017	0,428	-0,025	0,435	0,089	0,162	0,119	0,093
PAD (mm Hg)	**0,166**	**<0,05**	**0,251**	**<0,05**	0,035	0,346	-0,14	0,055	-0,083	0,178	0,079	0,197	-0,092	0,276	**0,156**	**<0,05**	0,068	0,224
IMC (kg/m²)	0,071	0,207	0,219	0,135	0,095	0,141	-0,121	0,084	0,104	0,123	-0,091	0,163	0,055	0,361	-0,128	0,77	-0,079	0,192
Colesterol (mg/dL)	-0,082	0,173	-0,269	0,145	-0,043	0,311	0,064	0,232	-0,02	0,410	-0,033	0,359	-0,035	0,41	0,078	0,195	**0,164**	**<0,05**
HDL (mg/dL)	0,105	0,115	0,041	0,369	-0,103	0,121	-0,118	0,089	0,071	0,215	-0,038	0,342	0,082	0,298	0,028	0,377	0,013	0,442
LDL (mg/dL)	**-0,129**	**0,069**	**-0,219**	**0,055**	-0,05	0,286	0,092	0,148	-0,036	0,346	-0,041	0,33	-0,074	0,317	0,084	0,174	**0,175**	**<0,05**
TG (mg/dL)	-0,076	0,193	0,232	0,054	0,092	0,147	0,002	0,489	0,022	0,405	0,006	0,473	0,048	0,379	0,02	0,412	0,026	0,386
HbA1c (%)	0,052	0,276	0,164	0,089	**0,261**	**<0,001**	**-0,143**	**<0,05**	0,095	0,146	-0,14	0,065	0,029	0,425	-0,026	0,389	0,01	0,458
FGe (mL/min/m²)	**-0,437**	**<0,001**	**-0,483**	**<0,001**	**-0,431**	**<0,001**	-0,043	0,313	-0,026	0,386	-0,018	0,422	-0,238	0,06	-0,059	0,258	0,033	0,356
Albúmina (g/dL)	0,023	0,235	0,033	0,394	**-0,255**	**<0,01**	-0,82	0,175	0,031	0,366	**-0,241**	**<0,01**	**-0,350**	**<0,05**	0,064	0,24	-0,008	0,466
Albuminuria	**0,585**	**<0,001**	**0,590**	**<0,001**	**0,211**	**<0,01**	-0,035	0,343	0,035	0,35	-0,055	0,276	0,066	0,336	-0,042	0,323	-0,015	0,436
Cr sérica (mg/dL)	**0,803**	**<0,001**	**0,79**	**<0,001**	**0,45**	**<0,001**	-0,005	0,477	0,031	0,366	-0,068	0,231	0,018	0,454	-0,054	0,273	-0,031	0,367
Calcio (mg/dL)	0,038	0,331	-0,58	0,318	**-0,3**	**<0,001**	-0,14	0,435	-0,054	0,276	**-0,154**	**<0,05**	**-0,307**	**<0,05**	0,099	0,135	**-0,203**	**<0,05**
Fósforo (mg/dL)	**0,128**	**0,041**	**0,195**	**0,034**	0,091	0,152	0,112	0,101	0,072	0,211	0,130	0,08	0,147	0,171	0,091	0,156	0,145	0,054
FA (UI/L)	0,057	0,256	0,076	0,268	**0,275**	**<0,001**	-0,102	0,123	0,112	0,107	-0,08	0,194	0,059	0,352	-0,052	0,281	-0,023	0,401
Glucosa (mg/dL)	0,011	0,45	0,041	0,368	0,116	0,094	0,103	0,12	-0,011	0,452	0,081	0,192	**0,385**	**<0,01**	0,082	0,181	0,802	0,183
Ácido úrico (mg/dL)	-0,115	0,093	-0,065	0,297	0,002	0,49	0,109	0,107	0,06	0,252	0,128	0,082	0,22	0,076	-0,047	0,302	-0,33	0,357

PAS: presión arterial sistólica; PAD: presión arterial diastólica; IMC: índice masa corporal; HDL: lipoproteína de alta densidad; LDL: lipoproteína de baja densidad; TG: triglicéridos; HbA1c: hemoglobina glicosilada; TNFα, factor de necrosis tumoral α; IL10, interleucina 10; U.A., unidades arbitrarias; CCSP, células circulantes de sangre periférica; iFGF23, forma intacta de la molécula del factor de crecimiento fibroblástico 23; cFGF23, extremo carboxilado de la molécula del factor de crecimiento fibroblástico 23; FGe: filtrado glomerular estimado; Cr, creatinina; FA, fosfatasa alcalina. *Valores correspondientes a los niveles séricos de 66 pacientes.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por: CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Fecha: 09/09/2021 10:14:05

Javier Donate Correa
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
09/09/2021 13:11:43

Juan Francisco Navarro González
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
09/09/2021 13:37:05

María de las Maravillas Aguiar Aguilar
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

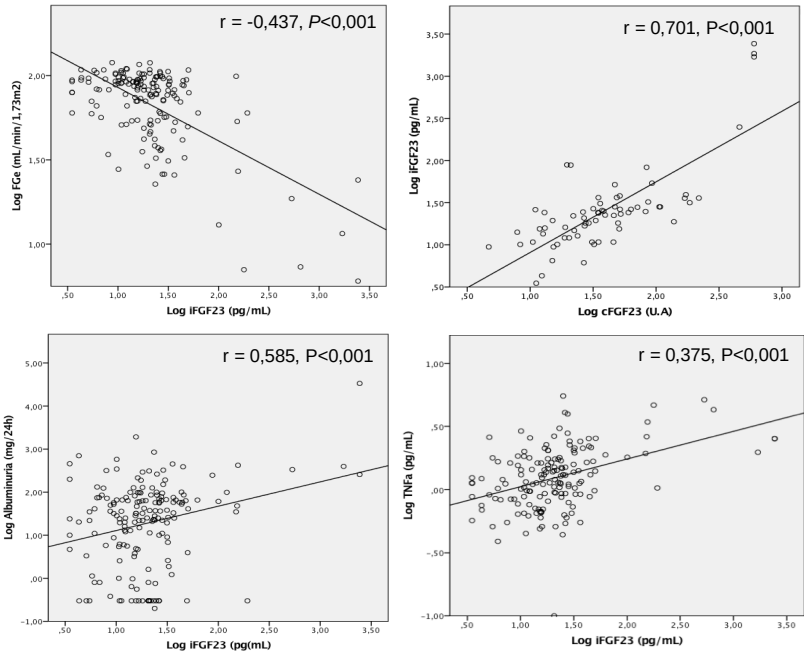

Figura R-7. Análisis de correlación entre las concentraciones séricas de FGF23 y algunas de las variables analizadas.

Los resultados más destacables del estudio de correlación de estas mismas variables con las variables específicas (**Tabla R-15** y **Fig. R-7**), muestran una clara asociación entre las dos formas del FGF23 determinadas (r=0,701, *P*<0,001) y entre ambas formas y los niveles circulantes de TNFα (r=0,375 para iFGF23 y r=0,217 para cFGF23, *P*<0,001), el cociente neutrófilo/linfocito (r=0,1420 para iFGF23 y r=0,363, *P*<0,05), la expresión vascular de RUNX2 (r=0,555 para iFGF23 y r=0,362, *P*<0,05) y la inmunorreactividad en tejido vascular de la proteína FGF23 (r=0,281 para iFGF23 y r=0,267 para cFGF23, *P*<0,05). Respecto a la expresión génica del *locus FGF23* en tejido vascular, sus niveles se correlacionaron de forma significativa con la expresión de *RUNX2* (r=0,315, *P*<0,05) y con los niveles de inmunorreactividad para el FGF23 en este mismo tejido (r=0,254, *P*<0,05).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Tabla R-15. Análisis de correlación entre la expresión génica y los niveles séricos del FGF23 y de citoquinas con los parámetros bioquímicos y de expresión génica específicos.

	Niveles séricos (pg/ml)								Expresión CCSP (U.A.)				Expresión vascular (U.A.)							
	iFGF23		cFGF23*		TNFα		IL10		*TNF*		*IL10*		*FGF23*		*TNF*		*IL10*	
	r	*P*	r	*P*	r	*P*	r	*P*	r	*P*	r	*P*	r	*P*	r	*P*	r	*P*
Bioquímicos																		
iFGF23 (pg/mL)	**1**																	
cFGF23 (UR/mL)*	**0,701**	**<0,001**	**1**															
TNFα (pg/mL)	**0,375**	**<0,001**	**0,217**	**<0,001**	**1**													
IL10 (pg/mL)	-0,68	0,22	-0,26	0,135	-0,114	0,316	**1**											
TNFα/IL10	0,135	0,061	0,28	0,116	**0,379**	**0,049**	**-0,94**	**<0,001**	**0,448**	**<0,05**	-0,189	0,234	0,241	0,121	-0,26	0,141	-0,216	0,187
Neutrófilos/linfocitos	**0,142**	**<0,05**	**0,363**	**<0,05**	-0,053	0,411	**0,358**	**0,061**	-0,228	0,189	-0,129	0,311	0,113	0,211	0,236	0,165	0,152	**0,267**
KL (pg/mL)	-0,120	0,089	-0,066	0,391	-0,133	0,288	**0,331**	**0,077**	**-0,41**	**<0,05**	**0,386**	**0,063**	0,01	0,51	-0,243	0,158	-0,05	0,491
PCR (mg/dL)	-0,021	0,407	-0,031	0,449	**0,552**	**<0,01**	0,114	0,321	**0,385**	**0,071**	**-0,529**	**0,018**	-0,2	0,4	0,226	0,183	-0,065	0,399
Expresión en CCSP (U.A.)																		
TNF	-0,006	0,474	-0,148	0,285	0,166	0,262	**-0,459**	**<0,05**	**1**									
IL10	0,037	0,345	-0,163	0,266	-0,251	0,166	0,076	0,386	-0,318	0,106	**1**							
TNF/IL10	-0,066	0,239	-0,007	0,489	0,173	0,253	-0,475	0,027	**0,851**	**<0,001**	**-0,633**	**<0,01**	0,211	0,31	0,088	0,373	-0,276	0,15
KL	-0,006	0,472	-0,097	0,36	-0,054	0,421	-0,003	0,496	-0,238	0,187	**0,861**	**<0,001**	-0,5	0,33	**-0,621**	**<0,01**	0,244	0,19
ADAM17	-0,31	0,367	-0,219	0,191	-0,341	0,083	-0,12	0,318	-0,078	0,383	**0,509**	**<0,05**	-0,5	0,246	-0,208	0,211	0,135	0,302
Expresión vascular (U.A.)																		
FGF23	0,098	0,262	0,4	0,3	0,35	0,26	0,26	0,17	0,231	0,082	-0311	0,153	**1**					
TNF	0,002	0,491	0,053	0,415	-0,085	0,364	0,299	0,107	-0,203	0,225	**-0,527**	**<0,05**	-0,8	0,1	**1**			
IL10	-0,09	0,46	-0,122	0,309	0,096	0,348	0,241	0,16	-0,238	0,187	0,089	0,371	0,2	0,4	**0,419**	**<0,05**	**1**	
TNF/IL10	0,06	0,51	0,121	0,435	0,211	0,243	0,231	0,15	0,324	0,121	-0,341	0,098	-0,45	0,31	**0325**	**<0,05**	**-0,123**	**<0,05**
KL	0,099	0,139	0,04	0,435	-0,053	0,415	**0,349**	**0,071**	-0,327	0,109	-0,341	0,098	0,74	0,11	**-0,709**	**<0,05**	0,303	0,104
ADAM17	-0,06	0,254	-0,116	0,318	0,115	0,32	**0,364**	**0,063**	-0,097	0,36	-0,355	0,089	0,81	0,21	**0,558**	**<0,01**	0,318	0,092
RUNX2	**0,555**	**<0,05**	**0,362**	**<0,05**	**0,213**	**<0,05**	-0,273	0,089	0,214	0,113	-0,311	0,115	**0,315**	**<0,05**	**0,256**	**<0,05**	-0,321	0,18
Inmunorreactividad (µm²)**																		
FGF23	**0,281**	**<0,05**	**0,267**	**<0,05**	0,17	0,249	**-0,366**	**0,067**	0,059	0,414	-0,071	0,397	**0,254**	**<0,05**	**0,437**	**<0,05**	0,095	0,353
FGFR1	-0,39	0,408	-0,317	0,1	0,006	0,490	**-0,467**	**<0,05**	0,3	0,129	-0,302	0,128	0,04	0,52	0,085	0,369	-0,341	0,083
FGFR3	0,018	0,462	-0,267	0,189	-0,157	0,304	**-0,511**	**<0,05**	0,482	0,067	0,251	0,229	0,5	0,33	0,547	0,12	-0,262	0,194
KLOTHO	-0,191	0,116	0,034	0,447	0,008	0,487	0,028	0,456	-0,203	0,225	**0,568**	**<0,05**	-0,2	0,4	0,081	0,375	0,336	0,087
TNFα	0,211	0,121	0,31	0,132	0,267	0,078	**-0,325**	**<0,05**	0,311	0,182	-0,311	0,071	0,41	0,311	-0,32	0,11	-0,431	0,124
IL10	-0,036	0,413	0,097	0,351	-0,142	0,288	0,370	0,065	-0,271	0,155	0,13	0,316	-0,8	0,11	0,367	0,067	0,237	0,172

iFGF23, forma intacta de la molécula del factor de crecimiento fibroblástico 23; cFGF23, extremo carboxilado de la molécula del factor de crecimiento fibroblástico 23; TNFα, factor de necrosis tumoral α; IL10, interleucina 10; *ADAM17*, gen humano codificante para la proteína ADAM17;U.A., unidades arbitrarias; CCSP, células circulantes de sangre periférica; KL, Klotho; *valores correspondientes a los niveles séricos de 66 pacientes ECV; ** valores correspondientes a 51 muestras de pacientes con ECV.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por: CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
Fecha: 09/09/2021 10:14:05

Javier Donate Correa
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
09/09/2021 13:11:43

Juan Francisco Navarro González
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
09/09/2021 13:37:05

María de las Maravillas Aguiar Aguilar
UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA
11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

VI.4.2. Análisis de regresión múltiple por pasos

Con el objetivo de determinar las asociaciones independientes que pudieran existir tanto entre la concentración de la forma intacta del FGF23 en sangre como de su nivel de expresión en pared vascular con diversas variables clínicas y parámetros inflamatorios, se realizaron dos análisis de regresión lineal múltiple por pasos. En ellos se emplearon, como variable dependiente, los niveles del iFGF23 a la expresión de su gen codificante en tejido vascular, respectivamente (**Tabla R-16**)

Tabla R-16. Análisis de regresión múltiple por pasos con las variables con los niveles de la forma intacta del FGF23 en sangre y de expresión génica en tejido vascular como variables dependientes.

	R^2 ajustado	β	Error estándar	t	*P*-valor
iFGF23 (pg/mL)	0.473				**<0.0001**
Albuminuria (mg/24h)		0,539	0,146	6,87	**<0,001**
HDL (mg/dL)		0,208	0,135	2,81	0,006
FGe (mL/min/1,73 m^2)		-0,103	0,722	-1,173	0,038
Calcio (mg/dL)		0,23	1,231	2,91	0,043
TNFα (pg/mL)		0,188	1,541	2,101	0,045
***FGF23* ARNm vascular (A.U.)**	0.795				**<0.0001**
TNFα (pg/mL)		0,372	1,451	3,877	**<0,001**
IL10 ARNm CCSP (U.A.)		0,399	1,782	4,353	**<0,001**
PCR (mg/L)		0,285	1,566	3,587	**<0,001**
Glucosa (mg/dL)		0,243	1,624	2,971	0,006
Edad (años)		0,231	2,145	2,832	0,008
ADAM17 ARNm CCSP (U.A.)		0,174	2,831	2,17	0,038

iFGF23, forma intacta de la molécula del factor de crecimiento fibroblástico 23; HDOL, lipoproteína de alta densidad; FGe, filtrado glomerular estimado; TNFα, factor de necrosis tumoral α; IL10, interleucina 10; *ADAM17*, gen humano codificante para la proteína ADAM17; U.A., unidades arbitrarias.

Los resultados de estos análisis señalan a los valores de albuminuria, de HDL, de FGe, calcio y de TNFα sérico como componentes del mejor modelo que explica los niveles séricos del iFGF23 (R^2 ajustado=0,473, *P*<0,0001). De forma pormenorizada, la concentración de iFGF23 se asoció de manera directa tanto con el grado de albuminuria (β=0,539, *P*<0,0001), como con los niveles en sangre de HDL (β=0,208, *P*=0,135), calcio (β=0,23, *P*=0,043) y TNFα (β=0,188, *P*=0,045). Y de manera inversa con los valores de FGe (β=-0,103, *P*<0,038).

El modelo que mejor explicó los niveles de expresión del *locus* FGF23 a nivel vascular fue el compuesto por la edad, los niveles en sangre del TNFα, de la PCR, de glucosa, y por la expresión en CCSP de *IL10* y de *ADAM17* (R^2 ajustado=0,795, *P*<0,0001). En concreto, la expresión vascular de *FGF23* se asoció de manera directa tanto con los niveles en sangre del TNFα (β=0,372, *P*<0,001), con la expresión de *IL10*

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

en sangre periférica (β=0,399, *P*<0,001), los niveles de la PCR (β=0,285, *P*<0,001) y de glucosa (β=0,243, *P*=0,006), con la edad (β=0,231, *P*=0,008) y con la expresión en de *ADAM17* en CCSP (0,174, *P*<0,038).

VI.4.3. Análisis de regresión logística

Finalmente, se realizó un análisis de regresión logística múltiple para evaluar el potencial predictor de diversas variables para la presencia de placa aterosclerótica desarrollada o de calcificación vascular en la pared vascular. Se adoptaron diversos modelos que incluyeron como variables independientes a FRCV, parámetros inflamatorios y componentes del sistema FGF23/KL. De este modo, se generaron 3 modelos (**Tabla R-17**): modelo 1, que incluyó como variables independientes a la edad, el IMC, la presencia de HTA, DM, tabaquismo, y los valores de colesterol, FGe y albuminuria; el modelo 2 incluyó las variables incluidas en el modelo 1 a las que se añadió los parámetros inflamatorios; y, finalmente, el modelo 3 incluyó al modelo 2 y a los componentes del sistema FGF23/KL analizados.

Los resultados del último de los modelos de este análisis muestran que tanto los niveles circulantes de iFGF23 como su grado de expresión en tejido vascular constituyen factores de riesgo independientes para la existencia de calcificación arterial, no así para la presencia de placa de ateroma.

Tabla R-17. Análisis de regresión logística múltiple multivariable para la presencia de placa aterosclerótica

Modelo / Variable independiente	*Variable dependiente:* ***calcificación***		*Variable dependiente:* ***placa de ateroma***	
	OR (95% IC)	***P*-valor**	**OR (95% IC)**	***P*-valor**
Modelo 1				
Edad (años)	0,983 (0,95-1,028)	0,445	1,02 (0,97-1,07)	0,51
IMC	0,979 (0,888-1,08)	0,668	0,752 (0,71-0,91)	0,581
HTA	**2,78 (0,92-8,33)**	**0,038**	**1,19 (0,85-1,25)**	**0,080**
DM	1,665 (0,283-1,56)	0,349	0,82 (0,37-1,82)	0,62
Tabaquismo	1,04 (0,64-1,68)	0,879	2,14 (0,83-5,53)	0,12
Colesterol	**1,13 (0,984-1,21)**	**0,027**	0,99 (0,99-1,01)	0,39
FGe	1,01 (0,98-1,02)	0,115	1,01 (0,98-1,02)	0,115
Albuminuria	**1,03 (0,99-1,07)**	**0,043**	1,10 (0,87-1,27)	0,321
Modelo 2 (modelo 1 + parámetros inflamatorios)				
Edad (años)	0,98 (0,919-1,045)	0,532	1,05 (0,97-1,12)	0,22
IMC	1 (0,875-1,142)	0,994	1,12 (0,951-1,223)	0,564
HTA	**4,441 (1,01-19,51)**	**0,048**	1,5 (1,33-1,78)	0,13
DM	**1,0273 (0,078-0,96)**	**0,042**	0,81 (0,31-2,10)	0,67
Tabaquismo	0,958 (0,497-1,845)	0,897	**4,38 (1,30-14,80)**	**0,031**
Colesterol	1,289 (0,976-1,314)	0,066	0,99 (0,99-1,01)	0,64
FGe	1,014 (0,991-1,037)	0,252	1,134 (1,081-1,143)	0,125
Albuminuria	1,004 (0,999-1,009)	0,081	1,141 (1,09-1,291)	0,172
TNFα (pg/mL)	1,436 (0,665-3,1)	0,357	**2,53 (1,34-4,75)**	**0,006**

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

IL10 (pg/mL)	**0,898 (0,829-0,973)**	**<0,01**	**0,916 (0,891-0,933)**	**0,013**
PCR (mg/L)	1,007 (0,944-1,074)	0,834	0,88 (0,77-2,99)	0,41
Neutrófilo /linfocito	0,953 (0,841-1,080)	0,452	0,96 (0,80-1,14)	0,63
TNF/IL10 ARNm CCSP (A.U.)	0,987 (0,904-1,076)	0,761	1,071 (0,945-1,161)	0,811
TNF ARNm vascular (A.U.)	**1,460 (0,979-2,177)**	**0,064**	1,201 (1,09-1,751)	0,624
IL10 ARNm vascular (A.U.)	0,841 (0,635-1,115)	0,229	0,761 (0,742- 0,931	0,312
Modelo 3 (modelo 2 + componentes FGF23/KL)				
Edad (años)	0,985 (0,918-1,058)	0,686	1,03 (0,95-1,11)	0,51
IMC	0,953 (0,82-1,108)	0,53	0,524 (0,422-0,618)	0,53
HTA	3,157 (0,553-18,03)	0,196	1,01 (0,29-3,44)	0,93
DM	0,349 (0,082-1,48)	0,154	0,66 (0,23-1,88)	0,44
Tabaquismo	1,29 (0,617-2,697)	0,498	**5,42 (1,30-22,59)**	**0,036**
Colesterol	0,99 (0,977-1,003)	0,138	0,99 (0,99-1,01)	0,74
FGe	**1,027 (0,997-1,058)**	**0,082**	1,154 (1,04-1,21)	0,125
Albuminuria	1,003 (0,998-1,008)	0,242	1,16 (1,03-1,19)	0,162
TNFα (pg/mL)	0,78 (0,268-2,269)	0,649	**2,77 (1,36-5,65)**	**<0,01**
IL10 (pg/mL)	**0,897 (0,816-0,985)**	**0,024**	0,792 (0,782-0,986)	0,257
PCR (mg/L)	1,018 (0,947-1,093)	0,633	0,87 (0,86-3,99)	0,39
Neutrófilo/linfocito	0,955 (0,845-1,08)	0,465	0,89 (0,71-1,12)	0,32
TNF/IL10 ARNm CCSP (A.U.)	0,983 (0,895-1,08)	0,721	0,952 (0,889-1,04)	0,524
TNF ARNm vascular (A.U.)	1,595 (0,904-2,814)	0,107	1,299 (0,967-2,43)	0,218
IL10 ARNm vascular (A.U.)	0,816 (0,599-1,11)	0,197	0,864 (0,587-1,03)	0,271
iFGF23 (pg/mL)	**1,05 (0,995-1,108)**	**0,036**	1,03 (0,989-1,111)	0,162
FGF23 ARNm vascular (A.U.)	**1,12 (0,894-1,19)**	**0,081**	1,21 (0,831-1,36)	0,252
Klotho (pg/mL)	0,999 (0,997-1,002)	0,49	**0,08 (0,01-0,99)**	**0,041**
KL ARNm CCSP (A.U.)	0,991 (0,954-1,03)	0,65	**0,25 (0,06-0,99)**	**0,037**
KL ARNm vascular (A.U.)	1,045 (0,93-1,175)	0,458	2,62 (0,69-9,92)	0,16

IMC: índice masa corporal; HTA, hipertensión arterial; DM, diabetes mellitus; FGe: filtrado glomerular estimado; TNFα, factor de necrosis tumoral α; IL10, interleucina 10; PCR, proteína C reactiva; U.A., unidades arbitrarias; CCSP, células circulantes de sangre periférica; iFGF23, forma intacta de la molécula del factor de crecimiento fibroblástico 23; KL, Klotho.

VI.4.4. Curva ROC

Los análisis de las curvas ROC que describen las relaciones entre los niveles de las dos formas de FGF23 analizadas y la presencia de placas de ateromas o de calcificaciones vasculares se pueden ver en la **Figura R-8**. Para la presencia de placa de ateroma (**A**), las áreas bajo la curva (AUC) para los niveles de la forma intacta y del extremo carboxilo del FGF23 fueron 0,490 (95% CI: 0,352–0,628, P=0,885) y 0,408 (95% CI: 0,266–0,550, P=0,191), respectivamente. Para la presencia de calcificaciones vasculares (**B**), las AUC para los niveles de la forma intacta y del extremo carboxilo del FGF23 fueron 0,576 (95% CI: 0,437–0.714, P=0,342) y 0,550 (95% CI: 0,397–0,702, P=0,534), respectivamente.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

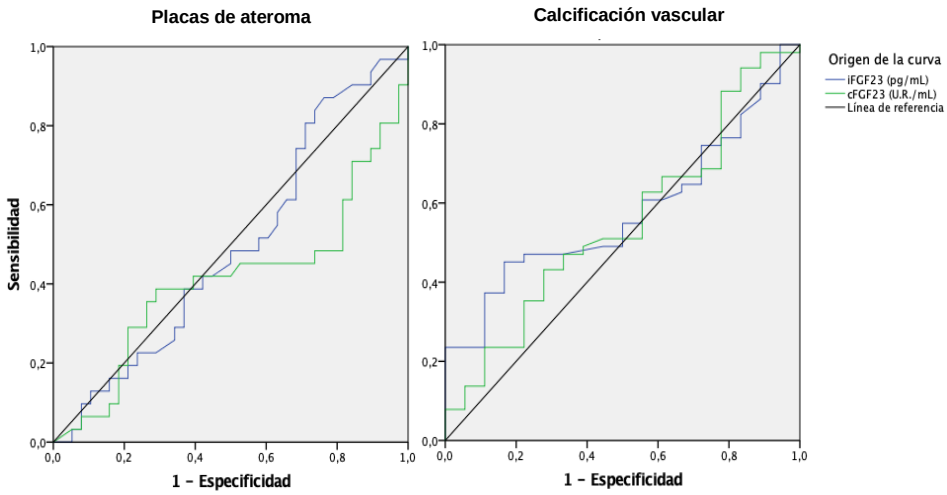

Figura R-8. Curvas ROC para la capacidad de predicción de los niveles de iFGF23 y de cFGF23 en la presencia de (A) placa de ateroma o de (B) calcificación vascular.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

VII. DISCUSIÓN

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

VII. DISCUSIÓN

Esta tesis doctoral ha pretendido caracterizar, desde diversos abordajes, el estudio de la relación existente entre la hormona FGF23 y la incidencia de placa de ateroma y de calcificación vascular en pacientes con enfermedad cardiovascular, así como sus interrelaciones con diversos elementos de la respuesta inflamatoria asociada a estos eventos. Con ese objetivo en mente, se diseñó un estudio de casos y controles, que incluyó a pacientes con enfermedad vascular aterosclerótica clínica y a donantes de órganos sin antecedentes médicos de enfermedad cardiovascular. El abordaje en ambos grupos fue similar, determinando las concentraciones séricas del FGF23 y de las citoquinas TNFα e IL10, así como el perfil de expresión génica de estos parámetros tanto en el tejido vascular como en células de sangre periférica. Junto con estas determinaciones, se han incluido en el estudio los valores de numerosos parámetros bioquímicos e inflamatorios complementarios. Finalmente, se han analizado las asociaciones entre estas variables y con otros parámetros clínicos.

Consideraciones previas

De forma previa la discusión de los resultados, cabe señalar una serie de consideraciones sobre las características de los sujetos incluidos en el mismo. Los niveles circulantes del FGF23 están claramente determinados por la función renal (Donate Correa J y cols., 2012). Con el fin de evitar, en la medida de los posible, la influencia de dicha función renal en los resultados obtenidos, todos los individuos seleccionados para el estudio presentaron una función renal preservada (FGe>60mL/min/1,73m^2). Otro factor a tener en cuenta, y ya comentado en la sección de resultados, fue el elevado porcentaje de pacientes sometidos a tratamientos antiagregantes, antihipertensivos e hipolipemiantes; esta prescripción, por otra parte, ineludible en estos pacientes con ECV, explica varias de las diferencias observadas en diversos parámetros clínicos y bioquímicos entre los grupos de casos y controles. Este fue el caso de las presiones arteriales sistólica y diastólica, y de los niveles de creatinina sérica y de albuminuria; las primeras fueron significativamente menores y los segundos significativamente mayores en el grupo con ECV. El tratamiento con IECA/ARA II podría explicar la elevación de los niveles de creatinina en sangre (Bakris GL y cols., 2000) lo que explicaría, al menos en parte, las diferencias en el FGe observadas entre los grupos. Finalmente, los tratamientos con estatinas podrían también determinar los menores niveles de colesterol y de LDL observados el grupo de casos.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Un aspecto novedoso de esta tesis es la utilización de dos kits de ELISA distintos para el estudio de dos de las formas circulantes del FGF23: uno de ellos mide únicamente la forma intacta de la molécula y el segundo mide tanto dicha forma intacta como los fragmentos carboxilo fruto de la degradación enzimática. La mayor parte de los estudios solo miden una de las dos, lo que dificulta enormemente comparar los resultados de distintos estudios. Pese a que no se pudo utilizar el segundo kit para determinar los niveles del FGF23 en todos los sujetos incluidos en el estudio, se observó una fuerte correlación directa entre los resultados obtenidos para ambas determinaciones, lo que hace suponer que cualquiera de ambas puede constituir un buen indicador de los niveles circulantes de la proteína. Además, un estudio clínico reciente ha demostrado que prácticamente todo el FGF23 detectable en sangre se encuentra en su forma activa y que, por lo tanto, las mediciones obtenidas con los ensayos para el iFGF23 y el cFGF23 reflejarían valores muy similares (Shimada T y cols., 2010). En cualquier caso, se necesitan más estudios que permitan determinar si esta observación se da independientemente de la función renal. Por otra parte, aunque se acepta que la actividad total del FGF23 solamente reside en su forma intacta, diversos trabajos apuntan la existencia de una posible actividad de los fragmentos carboxilo terminales, desde una actividad mantenida (Berndt TJ y cols, 2007) a un efecto antagonista (Goetz R y cols., 2009).

El uso potencial de esta proteína como biomarcador ha estimulado un gran interés en el desarrollo de métodos automatizados para mejorar el rendimiento de los inmunoensayos destinados a determinar los niveles del FGF23 en la práctica clínica, superando las limitaciones de los kits de ELISA. Estos nuevos ensayos requieren cantidades más pequeñas de muestra y presentan mejoras analíticas tanto en la sensibilidad y como en la especificidad. Es de esperar que, a medida que aparezcan nuevos estudios que apoyen la utilidad clínica de la determinación del FGF23, el uso de estos nuevos instrumentos de detección será cada vez más generalizado.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Discusión de los resultados.

La discusión de los resultados se desarrolla a continuación de acuerdo a los objetivos planteados.

1. Caracterización bioquímica mediante la determinación de las concentraciones séricas del FGF23, así como de los niveles de parámetros inflamatorios (PCR, TNFα e IL10), en pacientes con enfermedad vascular aterosclerótica clínica.

El FGF23 es una hormona proteica, producida por las células óseas y cuya principal función en promover la fosfaturia y regular la producción del calcitriol y de la hormona paratiroidea (Shimada, T., y cols., 2004). Pero, más allá de este papel crucial, estudios recientes muestran una asociación independiente entre el incremento de los niveles del FGF23 con la presencia de diversos factores de riesgo cardiovascular (Mirza MA y cols., 2010) que incluyen la aparición de hipertrofia ventricular izquierda, de disfunción vascular y la progresión de la ECV (Mirza MA y cols., 2009; Mirza MA y cols (II), 2009; Mirza MA y cols (IIII), 2009) así como la incidencia de eventos cardiovasculares y mortalidad (Isakova T 2012; Drazen JM y cols., 2008; Isakova T y cols., 2011; Jean G y cols., 2009). Un meta-análisis recientemente publicado que incluyó a más de 20.000 pacientes, tanto con ERC como con función renal conservada, puso de manifiesto la asociación entre las elevadas concentraciones del FGF23 con una mayor morbimortalidad cardiovascular (Marthi A y cols., 2018). La implicación de las alteraciones de los niveles del FGF23 en sangre en este pronóstico adverso son objeto de estudio en la actualidad y han llevado a dejar de considerar al FGF23 exclusivamente como un biomarcador de desajustes en el metabolismo mineral (Larsson TE.,2011). Los resultados de esta tesis abundan en los trabajos citados anteriormente ya que muestran que el grupo de pacientes con ECV incluido en la misma presenta niveles significativamente mayores del FGF23 circulante que el grupo de pacientes control. Más aún esta diferencia estuvo presente en los resultados obtenidos con dos técnicas ELISA para la determinación del FGF23 sistémico: una que mide su forma intacta y biológicamente activa de 32-kDa y 251 aminoácidos, y otra que mide tanto la forma intacta como el fragmento C-terminal generado tras la proteólisis de la forma completa. Como se comentó en la introducción, la escisión enzimática por proproteína-convertasas (SPC) de tipo substilisina genera dos fragmentos biológicamente inactivos, un fragmento N-terminal y un fragmento C-terminal. A pesar de que ninguno de ellos tiene un impacto directo sobre el metabolismo mineral (Benet-Pagès A y cols., 2004), se ha propuesto que el fragmento C-terminal puede tener una influencia indirecta a

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

través de un mecanismo de competencia con la actividad de la molécula intacta. Al igual que la PTH, parece que el FGF23 tiene un aclaramiento en sangre muy rápido, con una vida media corta que oscila entre 46 y 58 min tanto para la forma intacta como para los fragmentos C-terminales (Khosravi A y cols., 2007). Por tanto, el aclaramiento del iFGF23 es el resultado tanto de la escisión proteolítica en circulación como de la eliminación renal.

La comparación de los resultados de los dos ensayos es compleja. El ensayo que mide cFGF23 es una medida compuesta y actualmente no existe una estandarización entre los distintos ensayos comercializados. Además, los resultados de los ensayos de especies de FGF23 intactas y C-terminales no se expresan en las mismas unidades. Mientras que los resultados del ensayo de iFGF23 se dan en pg/mL, el de cFGF23 se expresa como RU/mL. Además, estos ensayos también muestran diferentes rendimientos analíticos; la medición de FGF23 usando el ensayo cFGF23 muestra mejores coeficientes de variación. Pese a todo, algunos trabajos han analizado la concordancia analítica entre las dos determinaciones, mostrando resultados contradictorios. Así, en sujetos sanos con función renal conservada no se observa una clara correlación entre ellos (Smith ER y cols., 2012; Bacchetta J y cols., 2010; Munoz Mendoza J y cols., 2017; Smith ER y cols., 2011; Smith ER y cols., 2013). Sin embargo, los resultados mostrados en esta tesis, que incluye a pacientes con ECV con FGe>60 ml/min/1,73m^2, apuntan a una correlación directa y significativa entre las dos determinaciones del FGF23 realizadas. Una de las posibles explicaciones podría ser la utilización, en algunos de estos estudios, de tubos sin inhibidores de proteasa, lo que condicionaría una menor estabilidad de la forma intacta tras la extracción de la sangre. Por el contrario, en pacientes en HD, sí se observa una fuerte correlación entre iFGF23 y cFGF23 (Smith ER y cols., 2013; Drazen JM y cols., 2015). Además, la concordancia entre ambas formas mejora a medida que disminuye la función renal. Tal vez, la condición patológica subyacente, ya sea la ERC o la ECV, provoque que la forma circulante predominante sea la intacta y este hecho favorezca la aparición de una correlación más clara entre las dos determinaciones. A pesar de que esta hipótesis no se ha podido confirmar, un dato a favor es la observación de que en pacientes con hiperfosfatemia ligada al cromosoma X (XLH), una condición patológica caracterizada por elevados niveles del FGF23 en sangre, existe una correlación significativa entre los ensayos cuando los niveles del cFGF23 están por encima de 120 RU/mL (Ito N y cols., 2005).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Uno de los resultados más relevantes de esta tesis muestra que, dentro del grupo de pacientes con ECV, los niveles del FGF23 circulantes son mayores en aquellos que presentan placas de ateroma evidentes y/o calcificaciones vasculares. Sin embargo, esta diferencia solo llega a ser estadísticamente significativa para la variable calcificación y, al igual que para la variable ECV, se observa para ambas determinaciones del FGF23 utilizadas. Como se indica en la introducción de esta tesis, la calcificación de los vasos arteriales, independientemente de si la lesión calcificada se genera en la capa íntima o media, es un proceso activo, iniciado y regulado a través de diversas vías de señalización molecular (Abedin M., 2004; Durham AL y cols., 2018.; Moe SM y cols.,2003). Diferentes estudios han mostrado la existencia de una asociación entre las concentraciones del FGF23 y la presencia de calcificación aórtica abdominal (Schoppet M y cols., 2012) y coronaria (Freedman BI y cols., 2015), así como con un incremento en los niveles de calcio (Kestenbaum B y cols.,2014), lo que podría sugerir un papel patogénico del FGF23 en el desarrollo de este evento. Sin embargo, ni este trabajo ni los publicados hasta la fecha permiten determinar la existencia de una relación causal entre los niveles circulantes de esta hormona y el desarrollo de calcificaciones vasculares.

Dado que los niveles más altos del FGF23 observados en los pacientes con calcificación vascular podrían explicarse por el aumento del recambio óseo, procedimos a determinar los niveles de fosfatasa alcalina. Este es el principal marcador de recambio óseo utilizado tanto en el ámbito clínico como en el de la investigación. Como era de esperar, observamos que los niveles de esta proteína eran más elevados en el grupo de pacientes con calcificaciones. Sin embargo, al estratificar a los pacientes con ECV en función de los niveles del FGF23, no encontramos mayores niveles de fosfatasa alcalina, ni tampoco de Ca o de Pi, en los pacientes encuadrados en los terciles superiores, lo que indica que el aumento de los niveles de esta hormona no se acompaña de una elevación de los niveles de fosfatasa alcalina. Pese a esto, nuestros resultados no permiten descartar que la regeneración ósea pueda desempeñar algún papel en el aumento de los niveles del FGF23 en estos pacientes.

El análisis estratificado de los pacientes en función de los niveles del FGF23 permitió, además, constatar una mayor incidencia de calcificación vascular en los pacientes encuadrados en los terciles superiores de ambas determinaciones del FGF23. De nuevo, no existieron diferencias en la incidencia de placas de ateroma entre los distintos terciles. Respecto al resto de comorbilidades consideradas, se observó una mayor incidencia de diabetes mellitus en los terciles superiores. La relación entre los

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

niveles del FGF23 y la prevalencia de diabetes mellitus es un área prácticamente inexplorada, aunque algunos pocos estudios relacionan la elevación de los niveles del FGF23 con la aparición de marcadores de resistencia a la insulina, dislipemia y adiposidad visceral, tanto en la infancia como en población adulta (Gutiérrez O.,2005; Wojcik M y cols., 2012; Wojcik M y cols., 2012 -II). De forma interesante, estos estudios clínicos se han realizado tanto en pacientes con ERC (Munoz Mendoza J y cols., 2012; Garland JS y cols.,2014) como en población con función renal conservada (Hanks, L. J y cols., 2015; Mirza MAI y cols., 2010; Lee JE y cols., 2013). Estos hallazgos sugieren que los desajustes en los niveles del FGF23 pueden tener un efecto determinante sobre la incidencia de diabetes o de sus complicaciones (Hanks LJ y cols., 2015; Hu X y cols., 2016), con acciones directas sobre el sistema endocrino.

Con respecto a los niveles circulantes de αKlotho, la proteína correceptora para la señalización del FGF23, se observó que los pacientes con ECV presentan niveles significativamente menores que el grupo control. Estas diferencias estuvieron también presentes al segregar a los pacientes con ECV en función de la presencia de placa de ateroma o de calcificación vascular, de forma que los pacientes con alguna de estas dos condiciones presentaron niveles significativamente menores de esta proteína. Aunque la asociación entre este descenso de los niveles de αKlotho y la aparición de distintas morbilidades cardiovasculares no es el objeto de estudio de esta tesis, nuestro grupo ha profundizado en la misma en trabajos anteriores (Martín NE y cols.,2020; Donate Correa y Cols.,2019; Martín Núñez E y cols., 2017; Donate Correa J y cols.,2015; Navarro Glez JF y cols.,2014) y estos datos no vienen más que a confirmarla, señalando las implicaciones de los desajustes de estos dos factores reguladores del metabolismo mineral, αKlotho y FGF23, en la aparición de la ECV, tanto en con la aparición de la placa de ateroma como con la de la calcificación vascular (Martín Núñez E y cols.,2017).

Como ya se ha comentado, la ECV tiene un componente inflamatorio sistémico importante que, en esta tesis, queda reflejado en el incremento de los niveles circulantes de diversos parámetros inflamatorios que son reconocidos biomarcadores de eventos cardiovasculares. Este es el caso de las citoquinas TNFα e IL10. Variaciones en sus niveles sistémicos se han relacionan con el desarrollo de patologías cardiovasculares (Ridker PM y cols.,2000; Heeschen C; 2003), sugiriéndose incluso que el balance entre las respuestas pro- y antiinflamatoria que desarrollan puede tener una influencia significativa sobre estos. Los resultados de esta tesis muestran que los pacientes con ECV presentaron menores niveles sistémicos de la IL10 y un incremento de la relación TNFα/IL10. La citoquina de carácter pro-inflamatorio TNFα, interviene en la mejora de

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

la quimiotaxis de macrófagos y neutrófilos, estimula su actividad fagocítica y promueve la expresión de moléculas de adhesión leucocitaria en el endotelio (Larrick J y cols.,1990; Feldman AM y cols.,2000; Ridker PM y cols., 2000). Por su parte, la IL10 posee propiedades antiinflamatorias y antiaterogénicas, atenuando la expresión de los receptores para el TNFα e inhibiendo respuestas inflamatorias citotóxicas (Mizia-Stec, K y cols., 2013). Además, IL10 modula la actividad de proteasas de la matriz extracelular en favor de la preservación y estabilización de la placa aterosclerótica (Lacraz S y cols., 1995; Mallat Z y cols., 1999). Además, se ha demostrado la utilidad de valorar el cociente entre los niveles de TNFα respecto a los de IL10 como biomarcador de la función cardiovascular (Kaur K y cols., 2006; Goswami B y cols., 2009; Kumari R y cols., 2018). Respecto a los valores de PCR y los de la relación neutrófilo/linfocito, también útiles como biomarcadores de la aparición de eventos cardiovasculares (Tsimikas S y cols., 2006; Casas JP y cols., 2008; Angkananard T y cols., 2018), se constataron mayores niveles de ambos parámetros en el grupo de pacientes con ECV, aunque ninguno de ellos alcanzó valor estadístico. Todas estas diferencias apuntan al estado inflamado sistémico de estos pacientes, tal y como se ha descrito previamente (Ridker PM y cols., 1998; Willerson JT y cols., 2004; Libby P y cols., 2002, Piek JJ y cols., 2000). Al separar a los pacientes en función de la presencia de placa de ateroma o de calcificación, se observa que IL10 y la ratio TNFα/IL10 muestran diferencias solo para el caso de la presencia de calcificación vascular, con valores respectivamente menores y mayores en el grupo de pacientes con calcificaciones. Dada la relación causal entre el desarrollo de calcificación y el fenómeno inflamatorio (KE Watson y cols., 1994; Farhad P y cols., 2002; Tintut Y y cols., 2000; Kristen y cols., 2005), estos resultados son esperables dentro de este entorno de ECV.

2. Análisis de expresión génica a nivel de la pared vascular y de las células de sangre periférica del FGF23, de sus receptores, y de su co-receptor αKlotho, así como de las citoquinas inflamatorias TNFα e IL10.

El estudio de expresión génica realizado en las muestras de tejido vascular puso de manifiesto la transcripción del gen codificante para el FGF23 en este tejido. Si bien hubo diferencias importantes en los niveles de expresión entre las distintas muestras, este resultado permite sugerir que el FGF23, una hormona producida por osteoblastos y osteocitos (Bonewald LF., 2012), también puede generarse en el tejido vascular en determinadas condiciones. En concreto, los resultados de este estudio apuntan a una mayor expresión del *locus* en las muestras recuperadas de pacientes con ECV cuando se compara con las muestras recuperadas del grupo de sujetos control. Por tanto, se

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

estaría replicando lo observado con las concentraciones sistémicas del FGF23 en estos mismos pacientes. Esta similitud abarca también la expresión de los parámetros inflamatorios, dado que los niveles del transcrito del *locus TNF* y de la relación *TNF/IL10* también fueron significativamente mayores, y los de *IL10* menores, en los pacientes con ECV. Por tanto, el *estatus* inflamado de estos pacientes se refleja no solo en los niveles de estos parámetros en sangre, sino también en el tejido vascular.

Al analizar los niveles de expresión vascular del *FGF23* en función de la presencia de placa de ateroma o de calcificación vascular, solo se observaron diferencias significativas para la presencia de calcificaciones vasculares evidentes, presentando estos pacientes niveles mayores de expresión. Por tanto, se repitió lo observado para los niveles séricos del FGF23, donde los pacientes con calcificación vascular presentaron niveles significativamente mayores del FGF23 circulante. Así, tanto la expresión vascular como las concentraciones de esta hormona son mayores en los pacientes con calcificaciones vasculares. Este dato señala la posibilidad de que el tejido vascular osteo-diferenciado, constituya una fuente extra-ósea para esta proteína y, más aún, que dicha expresión pueda contribuir a los niveles circulantes del FGF23. No obstante, la presencia del FGF23 en lesiones ateroscleróticas no calcificadas, aunque en menor medida que en las calcificadas, indica que los mecanismos reguladores que gobiernan la síntesis de esta hormona a nivel vascular son complejos. Así, por ejemplo, la presencia del FGF23 en estos tejidos podría indicar etapas tempranas del proceso calcificante, derivado de la enfermedad aterosclerótica, no diagnosticadas clínicamente. Con respecto a la expresión vascular de citoquinas inflamatorias, sólo se observó una diferencia significativa para la expresión del *locus* TNF, que fue mayor en aquellas muestras con calcificación. Esto podría ser fruto del grado de avance de la lesión vascular.

En esta tesis, se ha evaluado además la expresión vascular del gen *RUNX2*, un factor de transcripción clave asociado con la diferenciación de osteoblastos con el objetivo de considerar la relación entre los marcadores del linaje osteoblástico y la expresión vascular del *locus FGF23*. De acuerdo con este propósito, y tal como se esperaba, en las muestras vasculares de pacientes quirúrgicos los niveles de expresión génica de *RUNX2* fueron significativamente mayores y más aún en los fragmentos con calcificación en comparación con las piezas no calcificadas. Además, encontramos una correlación directa y significativa entre los niveles de expresión de los genes *FGF23* y *RUNX2* en todas las muestras con transcripciones detectables, lo que apoya el vínculo entre la síntesis del FGF23 y la osteodiferenciación vascular.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Trabajos previos muestran que los niveles de expresión del locus *KL* en el tejido vascular, así como los de la proteína en su forma soluble, tienen efectos potencialmente beneficiosos sobre la vasculatura habiéndose sugerido que la ECV es un estado de deficiencia de αKlotho vascular (Navarro-González JF y cols., 2014; Semba RD y cols.,2011). De acuerdo con estos resultados, en el presente trabajo hemos observado que los niveles de expresión génica del *locus KL*, están claramente disminuidos en los vasos del grupo de pacientes con ECV en comparación con los del grupo de control. Sin embargo, al analizar la expresión de este gen en función de la presencia de placa de ateroma o de calcificación vascular dentro del grupo con ECV, no se observan diferencias significativas.

En los últimos años se ha ampliado el espectro de tejidos que, junto con el tejido óseo, son capaces de expresar el FGF23, detectándose bajos niveles de expresión en el bazo, el timo, el intestino delgado, el hígado, el riñón, el corazón, el cerebro (Yamashita T y cols.,2000; Yoshiko Y y cols.,2007) y, como se discute en esta tesis, el tejido vascular (Voigt M y cols.,2010; Van Venrooij y cols.,2014). Sin embargo, se ha constatado que las CCSP no son capaces de expresarlo. Sin embargo, dado que los monocitos, los macrófagos y los linfocitos juegan un papel crucial en el desarrollo de la lesión vascular y el estado inflamatorio, hemos considerado la expresión vascular en las mismas de citoquinas inflamatorias y de αKlotho. Tras la disfunción endotelial, la activación y adhesión de estas células a la pared vascular constituyen el punto de partida de la aterogénesis, participando además en la resolución de la respuesta inflamatoria a nivel local. De este modo, en las placas ateroscleróticas se encuentran subpoblaciones de estas células que van a producir mediadores proinflamatorios implicados en la quimiotaxis, diapédesis y proliferación de monocitos/macrófagos en la zona de daño (Szmitko PE y cols., 2003; Gerdes N y cols.,2002), el desarrollo de células espumosas por acumulación de LDLox en macrófagos (Koltsova EK y cols.,2012), la modulación fenotípica de las células vasculares residentes (Hansson GK y cols., 2015) o la desestabilización de la placa y la trombogénesis (Hansson GK y cols., 2015; Tabas I y cols., 2015; Edsfeldt A y cols 2016). Por el contrario, la presencia de subtipos de macrófagos y linfocitos con actividad antiinflamatoria limitan el crecimiento de la lesión (Libby P; 2012; Martínez González J., y cols., 2001). Pero más allá de este escenario, presente en las distintas etapas del daño vascular, las células inmunitarias circulantes contribuyen al estado metainflamatorio sistémico que suele acompañar a la ECV, el cual tiene su origen en la respuesta del tejido adiposo a alteraciones metabólicas asociadas a factores de riesgo cardiovascular, y que conlleva el incremento en los niveles de citoquinas y quimioquinas (Weisberg SP y cols., 2003; Murano I y cols.,2008;

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Chatzigeorgiou A ycols.,2012; Makki K y cols., 2013). De acuerdo con estos trabajos previos, en esta tesis observamos que la expresión génica de los marcadores inflamatorios en las CCSP del grupo de pacientes con ECV señala la existencia de un estado inflamatorio, al comprar los resultados con el grupo control. Este estado estuvo caracterizado por unos mayores niveles de expresión tanto de *TNF* como de la relación *TNF*/*IL0*, junto con un descenso en la expresión de *IL10*. Por el contrario, no se observaron cambios en la expresión de *ADAM17.* Al estudiar dichos niveles de expresión en el grupo ECV en función de la presencia de placa de ateroma o de calcificación vascular, no se observaron diferencias significativas en la expresión génica de ninguna de las variables inflamatorias analizadas. Tampoco se observaron diferencias en los niveles de expresión de estos factores al segregar a los pacientes en terciles en función de los niveles circulantes del FGF23.

Por el contrario, la expresión del *locus KL* en CCSP sí que mostro diferencias claras a todos los niveles. Así, los pacientes con ECV presentaron niveles significativamente menores que el grupo control y, dentro de los pacientes con ECV, aquellos con placas de ateroma o calcificaciones vasculares fueron los que tuvieron menor expresión de *KL* en CCSP. La expresión de *KL* se ha detectado en monocitos, macrófagos (Lingling Li y cols., 2015; Liu W y cols.,2020) y linfocitos CD4+ (Liu W y cols.,2020). Respecto al papel que puede jugar αKlotho en estas células, los pocos estudios que se han llevado a cabo apuntan a que tiene importantes efectos antiinflamatorios sobre las mismas incluyendo a la represión de la respuesta inflamatoria inducida por lipopolisacárido mediante proteólisis del TLR4 en la membrana plasmática (Bi F y cols.,2018), la reducción de los niveles de radicales oxidantes y de citoquinas proinflamatorias, así como el aumento en la producción de citoquinas antiinflamatorias y la preservación de la función inmunitaria. Además, se ha comprobado recientemente que, en presencia de indoxil-sulfato, favorece la polarización de los macrófagos hacia un fenotipo antiinflamatorio M2, previniendo la respuesta dañina de esta toxina urémica. De forma interesante para esta tesis, trabajos previos han relacionado la presencia de αKlotho en monocitos con un papel como correceptor para el FGF23, participando en la inhibición de la síntesis extrarrenal de 1,25-dihidroxivitamina D mediada por el FGF23 (Bacchetta J y cols., 2012). El efecto regulador de la inflamación del FGF23 a través de un mecanismo de síntesis de calcitriol en estas células, que además está modulado por los niveles de αKlotho, en el paciente con ECV es una posibilidad que sin duda requiere atención. Desafortunadamente, en esta tesis no se han podido determinar los niveles de calcitriol, lo que impide poder relacionar las variaciones en los niveles de expresión de *KL* en CCSP y los niveles circulantes del FGF23 con cambios en la concentración de la forma

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

activa de la vitamina D en sangre.

3. Determinación en la pared vascular de los niveles proteicos del FGF23, de sus receptores y de αKlotho.

La presencia de la proteína FGF23 se ha descrito en lesiones carotídeas ateroscleróticas calcificadas de sujetos con función renal normal (Voigt M y cols.,2010) y en arterias coronarias calcificadas de pacientes con ERC (Van Venrooij NA y cols.,2014). Los resultados de esta tesis confirman la expresión de esta proteína en lesiones calcificadas de las arterias carótida, aorta y femoral de pacientes con ECV mediante técnicas inmunohistoquímicas, además de demostrar su expresión génica tal y como se comentó en el apartado anterior. Además, y de acuerdo también con las observaciones de Voigt y cols. (Voigt M y cols., 2010), localizamos la proteína FGF23 intracelularmente, lo que parece indicar una síntesis local de la proteína en la pared vascular y no una simple captura de proteína circulante a nivel del tejido vascular.

La frecuencia de muestras vasculares positivas para la tinción de la proteína FGF23 fue mayor en los pacientes con calcificaciones vasculares que en los pacientes sin evidencias de la misma. Además, los niveles promedio de inmunorreactividad para el FGF23 también fueron más altos en los vasos calcificados en comparación con las muestras vasculares sin lesiones calcificadas. Estos resultados son, por tanto, similares a los obtenidos en el estudio de expresión génica. Curiosamente, también se observó tinción positiva para el FGF23 en 6 de las 20 muestras del grupo de control (arterias aorta e ilíaca), aunque ninguna de ellas mostró tinción para la deposición de calcio (von Kossa). Estas 6 muestras también mostraron expresión del gen *FGF23* mientras que el resto del grupo no mostró presencia del transcrito.

Un resultado interesante del artículo de van Venrooij y col. (Van Venrooij NA y cols.,2014) es la existencia de una relación directa entre los niveles vasculares de la proteína FGF23 y los niveles de deposición de calcio en las arterias coronarias de pacientes seleccionados para un trasplante cardíaco. Además, los autores encontraron una correlación directa y significativa entre estos niveles y los niveles de inmunorreactividad para la proteína de matriz de dentina marcadora de osteocitos (DMP) 1. En esta tesis, aunque no hemos determinado los niveles de calcio en los fragmentos vasculares, sí que hemos empleado la expresión del gen *RUNX2* para considerar la relación entre los marcadores del linaje osteoblástico y los niveles del FGF23. Cabe señalar que en el grupo control solo observamos la expresión de este

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

marcador osteoblástico temprano en las muestras de los 6 sujetos que también mostraron inmunorreactividad positiva para el FGF23. Teniendo en cuenta la ausencia de depósitos de calcio y la menor expresión de *RUNX2* en estas muestras en comparación con las de los pacientes quirúrgicos, los resultados obtenidos podrían sugerir que la pared vascular de estos pacientes se encontraba en las primeras etapas de diferenciación osteogénica y que, por tanto, la expresión del *FGF23* podría ser una característica temprana del proceso de calcificación.

Los efectos endocrinos y autocrinos del FGF23 sobre los vasos arteriales podrían explicarse en parte por la expresión de los principales elementos del sistema FGF23/αKlotho en la pared vascular (Donate Correa J y cols.,2013). En nuestro estudio, FGF23 se co-expresó en el tejido vascular junto con los receptores FGFR1, FGFR3 y con su correceptor obligado αKlotho, lo que sugiere que el tejido vascular puede constituir una diana para la acción de esta hormona. De forma similar al estudio de van Venrooij y col. (Van Venrooij NA y cols., 2014), observamos la expresión de FGFR1 y de FGFR3 en placas calcificadas, pero lo que es más importante, los niveles de inmunorreactividad de ambos receptores son significativamente mayores en las lesiones vasculares de los pacientes con ECV establecida en comparación con los niveles en el grupo control.

Los resultados de este trabajo muestran además que la inmunorreactividad vascular y los niveles de expresión génica para FGF23 son más altos en los terciles superiores de ambas formas solubles del FGF23. Por lo tanto, se demuestra no solo que ambas formas del FGF23 soluble aumentan en pacientes con calcificación vascular, sino que sus niveles séricos pueden reflejar el aumento observado en los niveles de la proteína FGF23 y de su expresión génica a nivel de los lechos vasculares. Este hecho apunta a la existencia de mecanismos reguladores comunes para la síntesis de esta molécula en diferentes órganos y tejidos. Es probable que los mismos mecanismos que conducen a un aumento de los niveles circulantes del FGF23 al estimular la expresión génica ósea también estén presentes en las arterias de los pacientes que desarrollan calcificación ósea. Curiosamente, varios pacientes con tinción vascular positiva para la proteína FGF23 no tenían signos de calcificación, de lo que se puede deducir que el FGF23 podría representar un marcador precoz del desarrollo de calcificación vascular, mucho antes de que los depósitos de calcio sean evidentes.

En el presente trabajo los niveles de proteína αKlotho y su expresión génica están disminuidos en los vasos del grupo de pacientes con ECV en comparación con

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

los del grupo de control. Además, la tinción inmunohistoquímica permitió la detección de los transcritos de αKlotho y la localización intracelular de αKlotho, lo que confirma que la presencia de esta proteína tampoco se debe al atrapamiento de la sangre, sino que es sintetizada por la pared arterial. Es posible que la sobreexpresión de los receptores FGFR1 y FGFR3 observada en la pared vascular de pacientes con enfermedad vascular sea una respuesta para que este tejido siga siendo sensible al FGF23 a pesar de la pérdida de expresión del co-receptor αKlotho. Curiosamente, los niveles proteicos similares de estos receptores entre pacientes con o sin calcificación vascular indican que estos elementos de la maquinaria para la señalización del FGF23 se conservan inalterados en los vasos calcificados.

4. **Estudiar las relaciones del FGF23 con diferentes factores de riesgo cardiovascular, así como con la incidencia de la lesión aterosclerótica y la calcificación vascular.**

Algunos de los resultados más relevantes de esta tesis muestran una clara relación de los niveles del FGF23 con el estado inflamatorio de los pacientes con ECV. Como ya se comentó, al investigar las diferencias observadas en los niveles de marcadores de inflamación dentro del grupo de pacientes con ECV, se observó que aquellos englobados en los terciles superiores de ambas formas del FGF23 presentaron niveles significativamente mayores de la citoquina proinflamatoria TNFα. Además, el análisis de correlación mostró que ambas formas del FGF23 determinadas guardaban una relación directa tanto con los niveles séricos de TNFα como con los valores de la relación neutrófilo/linfocito. Aún más, los niveles de inmunorreactividad del FGF23 en el tejido vascular de los pacientes con ECV también estuvieron directamente relacionados con la expresión vascular del locus *TNF* en este mismo tejido e inversamente relacionados con los niveles séricos de IL10. Finalmente, los análisis de regresión múltiple por pasos mostraron, por un parte, que los niveles de la forma intacta del FGF23 están determinados por la función renal (albuminuria y FGe) y por los niveles de HDL, calcio y, de forma interesante, por los de TNFα. De forma similar, la regresión múltiple mostró que la expresión vascular del gen *FGF23* también está fuertemente determinada por un conjunto de parámetros inflamatorios que, junto con los niveles séricos de TNFα, incluyen los niveles de PCR y la expresión génica de *IL10* y de *ADAM17* en células de sangre periférica.

El papel de la inflamación en la patogenia de varias complicaciones relacionadas con los desórdenes del metabolismo mineral, incluyendo la calcificación vascular, está

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

bien documentado, especialmente en los pacientes con ERC (Stenvinkel P y cols., 2000). Así, varios marcadores de inflamación incluyendo el receptor soluble endógeno de productos finales de glicación avanzada (esRAGE), la PCR, la IL6 y los marcadores de estrés oxidativo, se han relacionado con la morbilidad cardiovascular y la calcificación vascular, en algunos casos con evidencias de una relación causa-efecto (Yamagishi S y cols.,1999; Sage AP y cols.,2010; NasrAllah MM y cols.,2011). Sin embargo, el vínculo entre la tríada del FGF23, la inflamación y los resultados clínicos ha permanecido inexplorado en gran parte. Algunos estudios experimentales y clínicos recientes han propuesto un posible vínculo entre el FGF23 y la inflamación (Munoz Mendoza J y cols., 2012; Braithwaite V y cols., 2012; Ashikaga E y cols., 2010; Manghat, P y cols., 2009; NasrAllah M y cols.,2013). Así, el incremento en los niveles del FGF23 ha surgido como un fuerte factor de riesgo de mortalidad en pacientes con ERC (Drazen JM y cols., 2015; Isakova T., 2011; Kendrick J y cols., 2011). En un estudio que incluyó 3851 pacientes con ERC estadios 2-4 en el estudio el estudio Cohorte de insuficiencia renal crónica (CRIC), los niveles elevados del FGF23 se asociaron con niveles más altos de PCR, IL6, TNFα y fibrinógeno de forma independiente de la función renal y otras variables relacionadas con el FGF23 y la inflamación (Munoz Mendoza J y cols., 2012). Estudios posteriores han corroborado estos hallazgos (Munoz Mendoza J y cols., 2017; Parker BD y cols., 2010; Ashikaga E y cols., 2010)

Por otra parte, datos experimentales recientes demuestran que la inflamación estimula de forma directa la transcripción del *locus FGF23* y su síntesis proteica en líneas celulares de osteocitos, aumentando los niveles circulantes del FGF23 en modelos animales con y sin ERC (David V y cols., 2016). Además, muestran que los niveles elevados del FGF23 son capaces de inducir la producción de mediadores inflamatorios en el hepatocito a través un efecto estimulador mediado por su unión al FGR4 (Singh S y cols. ,2016). En base a estos estudios experimentales, se ha sugerido que existe un ciclo de retroalimentación positiva entre la inflamación y los niveles elevados del FGF23 en la ERC que podría darse también en otras condiciones patológicas caracterizadas por niveles supra-fisiológicos de esta hormona.

Al llevar a cabo el análisis de regresión logística, con la presencia de placa de ateroma como variable dependiente, en nuestro grupo de pacientes con ECV y función renal conservada, observamos que ni los niveles sistémicos ni la expresión génica vascular del FGF23 constituyen un factor de riesgo. Sin embargo, otros estudios realizados en poblaciones mayores muestran lo contrario; un estudio realizado en subgrupo de 306 pacientes del estudio PIVUS ‘‘*Prospective Investigation of the*

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Vasculature in Uppsala Seniors'', concluyó que existe una relación directa y proporcional entre los niveles del FGF23 y la presencia de placas ateromatosas determinadas mediante angiografía por resonancia magnética, si bien esta relación fue mayor en los pacientes con una FGe<60 ml/min/1,73 m^2 (Mirza MA y cols., 2009)]. Así mismo, en un estudio que incluyó a 2076 pacientes sometidos a angiografía coronaria, se determinó la existencia de una relación entre los niveles del FGF23 y la severidad y la extensión de la placa ateromatosa de nuevo en pacientes con un FGe<60 ml/min/1,73 m^2. Otros estudios consideran que el FGF23 puede estar relacionado con la aparición de ateroesclerosis subclínica temprana y con el daño cardíaco que pueden presentar los pacientes con enfermedad de Kawasaki. Por el contrario, otro razonamiento apunta a todo lo contrario, es decir a un efecto protector frente al desarrollo de aterosclerosis. Esta hipótesis se basaría en la homología estructural existente entre los distintos FGF endocrinos: FGF15,19, 21 y 23. Los dos primeros tienen la facultad de mejorar el metabolismo de los lípidos, estando relacionados con el incremento de los niveles del tejido adiposo marrón y con la disminución de la actividad de la acetil-coenzima A carboxilasa-2 hepática, lo que conlleva una reducción de los niveles de triglicéridos. En un modelo *in vivo*, la administración terapéutica de estos factores provoca la disminución de los niveles de glucosa y de triglicéridos, lo que ha llevado a pensar que el FGF23 pudiera tener un papel protector frente a la ateroesclerosis al disminuir los niveles de colesterol total y LDL (Huang X y cols., 2007; Kharitonenkov A y cols., 2015; Tomlinson E y cols., 2002). Esta hipótesis se ha respaldado por algunos estudios; así, en 196 pacientes en diálisis, la formación de placas ateromatosas, junto con la estenosis de las arterias carótidas y las concentraciones del colesterol total y del LDL, se relacionó de forma inversa con los niveles del FGF23, apoyando la hipótesis anterior (Ashikaga E y cols., 2010).

Un segundo análisis de regresión logística, en este caso con la presencia de calcificaciones vasculares como variable dependiente, sí que puso de manifiesto que los niveles de la forma intacta y la expresión vascular del FGF23, así como el descenso de los niveles de IL10, constituyen factores de riesgo para este evento. Como ya se comentó, estudios previos han mostrado la expresión vascular del FGF23 y el incremento de sus niveles circulantes en el contexto de calcificación vascular (Voigt M y cols., 2010). Sin embargo, apenas se ha estudiado la asociación de estos incrementos con la presencia de calcificación y los pocos estudios que realizados únicamente han analizado la asociación con los niveles del FGF23 circulantes, describiéndola en algunos grupos en pacientes en distintas fases de ERC y en hemodiálisis (Nasrallah, MM y cols., 2010; Desjardins L y cols., 2011). Resultados similares se han obtenido en estudios

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

realizados en población anciana, de forma independiente a factores de riesgo tradicional (Schoppet M y cols., 2012) y en niños con ERC (Paoli, S y cols., 2014). De manera interesante, cuando se corrige por los niveles de los marcadores de inflamación, esta correlación del FGF23 con la calcificación vascular se ve mitigada (NasrAllah M y cols., 2013). Aunque hasta la fecha, no se ha podido determinar el mecanismo molecular fisiopatológico exacto de la calcificación vascular, se cree que las altas concentraciones de fósforo en los pacientes con la ERC juegan un papel importante en la aparición de esta patología. Según este razonamiento, el FGF23 debería actuar como un factor protector frente a la misma al promover la fosfaturia (Zhu D y cols., 2013). En el estudio CRIC ‘‘*Chronic Renal Insufficiency Cohort*”, donde participaron 1501 pacientes con ERC, se evaluó la calcificación de las coronarias y la aorta torácica mediante la tomografía computarizada, encontrándose que los altos niveles del FGF23 no aumentaban la prevalencia ni la severidad de la calcificación vascular, al contrario de lo que se preveía. Los autores de este estudio sugirieron que FGF23 puede intervenir en la prevención de la calcificación vascular gracias a su rol como hormona hipofosfatémica.

Discusión general

El principal hallazgo de esta tesis es que los pacientes con arteriopatía aterosclerótica clínica y calcificación vascular presentan concentraciones séricas significativamente más altas del FGF23, así como una mayor inmunorreactividad y expresión génica en la pared vascular en comparación con los pacientes sin calcificación vascular. Si el aumento de los niveles sistémicos y vasculares del FGF23 puede promover o favorecer directamente el desarrollo y la progresión del proceso calcificante en el lecho vascular es actualmente un tema en discusión.

Los desajustes en el metabolismo mineral se relacionan con un incremento en la morbilidad y mortalidad cardiovascular, no solo en la ERC sino también en la población general (Donate Correa J y cols., 2012; González Parra E y cols., 2012). Por este motivo, en las últimas décadas se ha prestado especial atención al tratamiento de los mismos. Actualmente, y dado que estos desordenes son particularmente graves en los pacientes renales, uno de los mayores desafíos de la nefrología es mitigar el incremento en la comorbilidad cardiovascular a través de tratamientos optimizados contra estos desajustes. Sin embargo, definir a los verdaderos factores responsables de estos desajustes es aún un asunto complejo; los principales componentes del metabolismo mineral (el PI, la PTH, la vitamina D y el FGF23) están fuertemente interconectados y

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

las variaciones en uno afectan a los otros mediante intrincados circuitos fisiológicos de retroalimentación. Por tanto, las intervenciones realizadas en uno de ellos inevitablemente provocarán alteraciones en todos los demás. Este hecho, junto con la falta de ensayos aleatorizados y controlados con placebos, deriva hacia un debate interminable sobre las estrategias óptimas de intervención que obliga a confiar en el uso de marcadores sustitutos no validados y pautas de tratamiento basadas en la observación. El uso de activadores selectivos de los receptores de vitamina D, de calcimiméticos y de quelantes de Pi no basados en calcio, ha supuesto un gran avance en este campo. Sin embargo, aún no han demostrado ser efectivos en términos de reducción de la mortalidad en ensayos controlados con placebo.

En este escenario, la aparición del FGF23, además de provocar una revisión en los modelos actuales del control del metabolismo mineral, ha generado un nuevo objetivo terapéutico potencial sobre el que actuar no exento de importantes interrogantes (Wolf M.,2010). Aunque diversos estudios han demostrado la existencia de una asociación entre los niveles elevados del FGF23 en la ERC y la aparición de hipertrofia ventricular izquierda (Faul C y cols., 2011), calcificación vascular (Nasrallah, MM y cols., 2010) y un incremento en la mortalidad (Drazen JM y cols., 2015), antagonizar los efectos de esta hormona a través de un bloqueo de sus acciones ha arrojado resultados contradictorios con respecto a sus posibles beneficios clínicos. Así, continúa el debate sobre si la elevación del FGF23 en la ERC se trata de mecanismo de ajuste fisiológicamente beneficioso, un fenómeno ominoso o simplemente un "espectador inocente" (Ketteler M y cols., 2012; Faul C y cols., 2011; Shalhoub V y cols., 2012). Se han realizado numerosos esfuerzos para explorar el papel predictivo del FGF23 circulante en términos de criterios de valoración clínicos concretos, como los eventos cardiovasculares y la mortalidad. Los niveles altos del FGF23 se asocian de forma independiente con una tasa de supervivencia reducida y enfermedad cardiovascular en diversas cohortes tanto con enfermedad renal como sin ella (Drazen, JM y cols., 2015; Jean G y cols., 2009; Parker BD, y cols.,2010), lo que sugiere que el FGF23 puede servir como un biomarcador tanto en la ERC como en pacientes con función renal conservada. Por otra parte, aunque la asociación entre el FGF23 y la calcificación vascular se ha demostrado repetidamente (Nasrallah MM y cols., 2010; Masai H y cols., 2010; Jean G y cols., 2012; Coen G y cols., 2011), probablemente no sea una relación directa causa-efecto (Scialla JJ., 2013; Lindberg K y cols., 2013) sino que el incremento del FGF23 sea un testigo de la misma. Los resultados de esta tesis apuntan a que puede ser así, extendiendo la relación entre el FGF23 y la calcificación vascular a su expresión *de novo* en el tejido calcificado.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Además, el FGF23 posee varias características que fortalecen su potencial uso clínico como biomarcador. En primer lugar, está muy desregulado en la ERC y sus niveles se incrementan desde etapas muy iniciales en el desarrollo de la ERC. Además, tanto los modelos de ERC *in vivo* que utilizan anticuerpos neutralizantes del FGF23, como los estudios en humanos de individuos con función renal conservada y con ERC temprana sugieren que el aumento del FGF23 precede a cualquier otra alteración manifiesta en el metabolismo mineral (Hasegawa H y cols., 2010; Mirza MA (II) y cols., 2009; Isakova T., 2011). En segundo lugar, existe una consistencia sorprendente en los estudios observacionales que respaldan una asociación entre el FGF23 y resultados clínicos adversos. En tercer lugar, su valor predictivo es superior a cualquier otro componente del metabolismo mineral incluso en relación con varios factores de riesgo cardiovascular clásicos (Drazen y cols., 2015; Isakova T., 2011; Wolf M y cols., 2011). En cuarto lugar, la variabilidad intra-individual es menor y su estabilidad temporal mayor que la de la PTH y el Pi, lo que proporcionaría una ventaja significativa a la hora de establecer guías clínicas basadas en niveles del FGF23. Finalmente, el FGF23 conserva su función predictiva en todos los estratos de las tasas de filtración glomerular, incluidos individuos sin ERC, pacientes en pre-diálisis, pacientes que reciben tratamiento de diálisis, así como receptores de trasplante renal.

Actualmente, el principal motivo de la determinación del FGF23 en el ámbito clínico es el diagnóstico diferencial de diversas enfermedades hipofosfatémicas que incluyen el raquitismo hipofosfatémico autosómico dominante (ADHR), el raquitismo autosómico recesivo (ARHR), el XLH y la osteomalacia inducida por tumores (TIO), ya que el paciente presenta niveles elevados del FGF23 junto con la hipofosfatemia. Además, en el caso de los pacientes con TIO, donde la elevación del FGF23 de debe a tumores productores de esta hormona, la disminución del nivel de FGF23 después de la cirugía es una indicación fiable de resección de todo el tumor (Yamazaki Y., y cols., 2002). El interés clínico de este biomarcador potencial ha estimulado el desarrollo de métodos automatizados que superen las limitaciones de los kits de ELISA. En 2011, se desarrolló un nuevo inmunoensayo de quimioluminiscencia automatizado iFGF23 (Donate Correa J y cols. 2013-II). Este ensayo requiere solo pequeñas cantidades de suero o plasma (10µL) y está completamente automatizado en un inmunoanalizador de quimioluminiscencia. El impacto de la congelación y descongelación de la muestra parece ser mínimo, así como la interferencia con la hemoglobina, la bilirrubina, el ácido ascórbico y el factor reumatoide (Shimizu Y y cols., 2011). Más aún, recientemente ha aparecido se ha introducido en la práctica clínica un nuevo ensayo iFGF23 que ha recibido una certificación de marcado CE de la UE. La ventaja de este ensayo es que

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

se puede ejecutar en una plataforma y que permite la medición de otros parámetros importantes del metabolismo mineral. Esto representa una mejora real para los laboratorios involucrados en este campo. La implementación en plataformas multianalizador reducen sustancialmente el costo y el tiempo de respuesta. Este ensayo sándwich inmunoquimioluminiscente automatizado de iFGF23, desarrollado por DiaSorin (Saluggia, Italia) en la plataforma Liaison XL, utiliza tres anticuerpos monoclonales. El primero, dirigido contra la porción N-terminal, está recubierto por micropartículas. El segundo, consiste en un anticuerpo de revelación marcado con fluoresceína y dirigido contra la porción C-terminal y el tercero está unido con isoluminol y reconoce la fluoresceína. Los trabajos publicados empleando esta plataforma muestran que este ensayo presenta excelentes características analíticas, probablemente debido a la automatización, con resultados bastante similares al inmunoensayo de quimioluminiscencia comentado anteriormente (Shimizu Y y cols., 2011). En comparación con el ensayo para iFGF23 de Immutopics, cuando se usó Diasorin, las concentraciones de iFGF23 aparecieron un 25% más altas. Nuevamente, estas discrepancias resaltan la necesidad de una armonización basada en un estándar internacional. Sin embargo, aunque muchos de los estudios citados apuntan a que la determinación de los niveles en sangre del FGF23 podría cumplir los criterios para ser un biomarcador de utilidad, no se debería obviar la que quizás sea la pregunta más importante: ¿por qué el FGF23 predice estos eventos cardiovasculares? Es decir ¿de qué proceso es un biomarcador? Esta tesis ha intentado responder, al menos en parte, a esa pregunta, aunque genera muchas nuevas.

Además, la detección del FGF23 en otros tejidos distintos del hueso, como las paredes vasculares calcificadas, sugiere que la expresión local de esta proteína podría jugar un papel directo potencial en el mantenimiento de la salud vascular o en el desarrollo de procesos patológicos. Algunos autores ya han sugerido que la expresión del FGF23 en placas calcificadas podría ser un mecanismo de defensa local más que un factor que contribuya a la mineralización de la pared vascular; esta afirmación se basa en el hecho de que la sobreexpresión del FGF23 *in vitro* suprime la diferenciación de osteoblastos (Voigt M y cols., 2010; Wang H y cols; 2008). Además, el FGF23 regula indirectamente la secreción de osteopontina en la matriz ósea al suprimir la transcripción de fosfatasa alcalina y la producción de fosfato en las células osteoblásticas, actuando además a través de FGFR3 de una manera independiente de αKlotho (Murali SK y cols., 2015). Estos procesos constituyen un novedoso mecanismo de retroalimentación autocrina/paracrina enfocado al ajuste fino local de la mineralización ósea a nivel esquelético que también podría estar presente a nivel vascular. En cualquier caso, el

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

significado biológico de esta expresión extra-ósea del FGF23 es una cuestión que aún debe abordarse en estudios mecanicistas y funcionales.

Se sabe que la calcificación vascular aumenta la rigidez arterial que se asocia con una baja oxigenación del tejido renal (Pruijm M y cols., 2017). La hipoxia tisular es el principal estímulo para la expresión de HIF-1 (factor 1 alfa inducible por hipoxia), un factor de transcripción hipóxico clave que es un inductor principal de la diferenciación osteocondrogénica de las células musculares lisas vasculares (Balogh E y cols., 2019). Curiosamente, estudios *in vitro* recientes han demostrado que HIF-1 media la producción del FGF23 en la TIO, un síndrome paraneoplásico raro caracterizado por la producción aberrante del FGF23. De forma específica, se ha confirmado mediante el uso de ensayos de inmunoprecipitación que la unión de HIF-1 a secuencias consenso del promotor del *FGF23*, ejerce una activación directa de la transcripción de este gen (Zhang Q y cols., 2016). Por lo tanto, es plausible especular con la existencia de un círculo vicioso por el cual el aumento de los niveles del FGF23 puede contribuir a la calcificación vascular, que resulta en hipoxia tisular con la consiguiente estimulación de HIF-1 y, posteriormente, a la activación transcripcional de la producción del FGF23. Finalmente, aunque los datos sobre la relación entre hipoxia y αKlotho son escasos, un trabajo muy reciente ha demostrado que los pacientes con apnea obstructiva del sueño presentan niveles plasmáticos más bajos de αKlotho en comparación con los voluntarios sanos del grupo control. Curiosamente, se observó una asociación significativa entre la reducción de las concentraciones de αKlotho y los marcadores de hipoxemia nocturna (Pako, J y cols., 2019). Por tanto, también es posible considerar que la hipoxemia tisular inducida por calcificación vascular contribuya en el descenso de los niveles de αKlotho.

El papel de la inflamación en varias complicaciones relacionadas con los desórdenes del metabolismo mineral, incluyendo la calcificación vascular, está bien documentado (Stenvinkel P y cols., 2000; Yamagishi S y cols.,1999; Sage AP y cols., 2010; NasrAllah MM y cols., 2011). En esta tesis, hemos investigado la relación del FGF23 con marcadores de inflamación determinando que, dentro del grupo de pacientes con ECV, la inflamación es factor que contribuye a la producción de esta hormona. Además, la relación directa mostrada en esta tesis entre los niveles del FGF23 y los niveles séricos y de expresión génica en CCSP de distintas citoquinas inflamatorias apoya la existencia de un mecanismo de retroalimentación entre el FGF23 y la inflamación. En este sentido, la reducción de las concentraciones circulantes de esta hormona podría suponer un objetivo terapéutico en pacientes con ECV. Una aproximación podría ser por ejemplo el uso de niacina (vitamina B_3) la cual, además de

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

ayudar a controlar los niveles de colesterol, es capaz de inhibir la absorción de fósforo intestinal; así en pacientes con ERC y dislipidemia, el uso de niacina se ha relacionó con una reducción de un 11% de los niveles del FGF23 en comparación con el estado basal (Rao M y cols., 2014)

Aunque los resultados de esta tesis no permiten aclarar los mecanismos por los que una reducción de los niveles del FGF23 podría tener efectos beneficiosos sobre dicho estatus inflamatorio, un posible mecanismo podría estar mediado por un efecto indirecto a través de la vitamina D. Dado que el FGF23 es capaz de inhibir la 1 α-hidroxilasa renal y de estimular la actividad de la 24-hidroxilasa, lo que resulta en una reducción de los niveles de 1,25-dihidroxivitamina D (Bhalla A y cols., 2020; Damasiewicz MJ y cols., 2011) y dado que la vitamina D posee propiedades antiinflamatorias (Ren ZZ y cols., 2020; Mutt SJ y cols., 2012) es posible elucubrar que la reducción del FGF23, con un aumento paralelo de los niveles de calcitriol, pudiera explicar, al menos en parte, la modulación observada de los marcadores inflamatorios. Aunque como ya comentamos, en esta tesis no se determinaron los niveles de calcitriol, un estudio desarrollado por Mendoza y col. (Munoz Mendoza J y cols., 2012) mostró que las asociaciones observadas entre el FGF23 y los marcadores inflamatorios no cambiaron después del ajuste para los niveles de calcitriol; sin embargo, una limitación de este estudio fue la utilización de diferentes tiempos de medición para la vitamina D. En cualquier caso, la regulación de los niveles del FGF23 mediada por la vitamina D es un hecho; la unión del calcitriol a los receptores de la vitamina D (VDR) induce la secreción del FGF23 a partir de osteocitos y osteoblastos (Kolek OI y cols., 2005) y esta acción parece ser llevada a cabo también por los análogos de vitamina D y de los activadores de los VDR, dado que trabajos previos han reportado un aumento de los niveles del FGF23 en sujetos en diálisis tratados con calcitriol, alfacalcidol, doxercalciferol o paricalcitol (Kundhal K y cols., 2005; Hansen D y cols., 2011; Wesseling-Perry K y cols., 2009) y en trasplantados renales tratados con paricalcitol (Donate Correa J y cols., 2016).

Otra posibilidad es la existencia de un efecto directo del FGF23 en las CCSP. Aunque no hay estudios que aborden esta hipótesis, un trabajo publicado por nuestro grupo muestra la expresión de los receptores de FGF en trombos coronarios de pacientes con síndrome coronario agudo (Donate Correa y cols., 2013). Dado que los monocitos son el tipo de célula más prominente en el sitio de oclusión (Wyss C y cols., 2010), es posible especular que estas células pueden ser un objetivo para la acción directa de FGF23 y que la reducción de los niveles de esta hormona puede inducir una

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

regulación a la baja de los niveles de expresión de ARNm de citoquinas proinflamatorias en estas células. Por último, otra consideración importante es la reciente demostración de que el FGF23, en determinadas condiciones, es capaz de unirse a receptores de FGF y activar señalizaciones intracelulares en células que no expresan αKlotho (Faul, C y cols., 2011; J Kurosu H y cols., 2007). Esto podría resultar en la estimulación de la expresión de moléculas pro-inflamatorias en CCSP, así como ocurre en órganos como el hígado y el tejido adiposo (Faul C y cols., 2011; J Kurosu H y cols., 2007) independientemente de la presencia del co-receptor Klotho, efecto que se vería disminuido luego de la reducción de las concentraciones del FGF23.

En definitiva, los hallazgos observados en este estudio vinculan la calcificación vascular con la mayor expresión del FGF23 en los vasos y con la elevación de los niveles circulantes de las dos formas solubles de esta hormona. Además, el aumento en la expresión vascular del FGF23 ocurre junto con algunos de los miembros del sistema FGF23/Klotho, lo que respalda la idea de que las vías de señalización que median los efectos del FGF23 permanecen activas en el tejido calcificado.

Limitaciones del estudio

Aunque esta tesis presenta datos nuevos e interesantes, reconocemos varias limitaciones. A saber:

- **Tamaño muestral pequeño**. El tamaño de muestra relativamente pequeño del estudio podría hacer que algunos de nuestros resultados no alcanzaran significación estadística y, en consecuencia, la capacidad de describir la asociación entre algunas variables podría estar limitada. Esto podría hacer que los hallazgos realizados en estos grupos no sean transferibles a poblaciones más grandes. Por tanto, se necesitan más estudios que incluyan grupos más grandes con y sin calcificaciones vasculares para confirmar estas observaciones.

- **Imposibilidad de inferir causalidad**. Este es un estudio observacional de carácter transversal que sólo permite detectar asociaciones entre las variables analizadas, pero no causalidad. De igual forma, tampoco permite valorar la influencia de los cambios en estos parámetros con el tiempo y su influencia en el pronóstico de los pacientes. Por tanto, no se puede demostrar

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

definitivamente una relación causal entre el FGF23 y calcificación, ni tampoco conocer el papel de los vasos calcificados como fuente extraósea del FGF23.

- **Influencia de variables confusoras no consideradas**. Aunque se han tenido en cuenta diversos factores tradicionalmente asociados con la ECV y la calcificación, es plausible la existencia de potenciales factores confusores no considerados que puedan determinar en parte las asociaciones observadas. Así, no se midieron las concentraciones séricas de vitamina D y de hormona paratiroidea -factores relacionados con el sistema FGF23 / Klotho con potencial impacto en la calcificación vascular- y, por tanto, no se puede descartar por completo su posible influencia en la relación entre FGF23 y calcificación. Por otra parte, una proporción considerable de pacientes recibió tratamiento con anti-agregantes, IECA/ARA2 o estatinas, algunos de ellos con propiedades anti-inflamatorias conocidas, que pueden interferir con los resultados de nuestro trabajo.

- **Falta de control de variabilidad biológica**. El hecho de que cada muestra utilizada en este estudio pertenezca a pacientes o individuos distintos conlleva una variabilidad intrínseca a que hace que determinados análisis tengan que ser valorados con precaución. Esto es especialmente importante en el análisis de expresión vascular de KL en función de la región de la muestra. En este caso, un análisis más apropiado habría sido con muestras de todos los territorios valorados por cada sujeto incluido en el estudio, sin embargo, en la práctica clínica es muy poco habitual que múltiples sitios vasculares sean analizados en el mismo sujeto, especialmente, cuando la valoración clínica de la ECV ya ha sobrepasado el horizonte de un sitio vascular concreto.

Corolario

La calcificación vascular constituye un riesgo importante de mortalidad cardiovascular. El FGF23 es una hormona fosfatúrica producida por los osteocitos en respuesta a los niveles de fosfato. Los estudios epidemiológicos sugieren que el FGF23 está relacionado causalmente con la mortalidad cardiovascular y, lo que es más importante, puede ejercer efectos directos sobre el sistema cardiovascular. La síntesis de FGF23 por tejidos calcificados extra-óseos y su contribución a la enfermedad cardiovascular es una cuestión intrigante que no se ha estudiado de forma adecuada.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este estudio muestra que los pacientes con arteriopatía aterosclerótica clínica y calcificación vascular presentan concentraciones séricas de FGF23 significativamente más altas, así como una mayor inmunorreactividad de la proteína FGF23 y niveles de expresión vascular de su gen codificante en comparación con pacientes sin calcificaciones vasculares.

Estos hallazgos proporcionan nuevos conocimientos mecánicos sobre la fisiopatología de la calcificación vascular. La interrelación entre el FGF23 y la calcificación en el lecho vascular abre nuevas vías de investigación sobre el desarrollo y progresión de la enfermedad cardiovascular, con evidente aplicabilidad clínica en el pronóstico, el diagnóstico y las terapias. En conclusión, nuestros hallazgos relacionan la calcificación vascular con el aumento de la expresión del FGF23 en los vasos y con la elevación de los niveles circulantes de las dos formas solubles de esta hormona. Además, el aumento de la expresión vascular del FGF23 es paralela a la de algunos de los componentes del sistema de transducción de su señal, lo que apoya la idea de que las vías de señalización que median los efectos de FGF23 permanecen activas en el tejido calcificado. Si el aumento de todos estos niveles es un mecanismo que puede promover directamente el desarrollo y la progresión del proceso calcificante o si constituye una defensa contra la lesión, sigue siendo un tema de debate que necesita más investigación.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

VIII. CONCLUSIONES

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

VIII. CONCLUSIONES

De los resultados presentados en el presente proyecto de tesis derivan las siguientes conclusiones:

I. La enfermedad cardiovascular se caracteriza por un incremento en los niveles del FGF23 circulante, siendo este incremento aún mayor en aquellos pacientes con un diagnóstico de calcificación vascular arterial.

II. La hormona FGF23 está presente en el tejido vascular arterial del paciente con enfermedad cardiovascular, encontrándose en mayor proporción en los territorios calcificados. Dado que ésta es una hormona sintetizada por los osteocitos y los osteoblastos, podría considerarse que el tejido vascular calcificado constituye una fuente extra-ósea para la misma.

III. Existe una asociación directa entre los niveles sistémicos del FGF23 y la inflamación, lo que hace suponer que existe un efecto modulador sobre sus niveles ejercido por el proceso inflamatorio. De hecho, tanto sus niveles en sangre como su expresión vascular están regulados por diversos parámetros inflamatorios que incluyen al TNFα.

IV. Tanto los niveles del FGF23 circulantes como su expresión génica vascular constituyen factores de riesgo para la presencia de calcificación vascular. Si bien este estudio no permite vincular a este factor con la etiopatogenia de la calcificación vascular, la presencia en el tejido vascular de la maquinaria de transducción de su señal abre la puerta a plantear esta posibilidad.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

IX. BIBLIOGRAFÍA

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

IX. BIBLIOGRAFÍA

- Abedin M, Tintut Y, Demer LL (2004). Vascular calcification: mechanisms and clinical ramifications. Arterioscler Thromb Vasc Biol 24(7):1161-70

- Akatsu T., Nakamura M., Satoh M y Hiramori K. (2003). Increased mRNA expression of tumour necrosis factor-α and its converting enzyme in circulating leucocytes of patients with acute myocardial infarction. Clinical Science, 2003, 105(1), 39-44.

- Altman R. (2003) Risk factors in coronary atherosclerosis atheroinflammation: the meeting point. Thromb J. 1:4-15.

- Angkananard T., Anothaisintawee T., McEvoy M., Attia J., & Thakkinstian A. (2018). Neutrophil Lymphocyte Ratio and Cardiovascular Disease Risk: A Systematic Review and Meta-Analysis. BioMed Research International. 1–11

- Ärnlöv J., Carlsson AC., Sundström J., Ingelsson E., Larsson A., Lind L y cols. (2013). Serum FGF23 and risk of cardiovascular events in relation to mineral metabolism and cardiovascular pathology. Clin J Am Soc Nephrol. 8:781–6.

- Ashikaga E., Honda H., Suzuki H., Hosaka N., Hirai Y., Sanada D., Mari Nakamura M., Nagai H., Matsumoto K., Kato N., Mukai M., Watanabe M., Takahashi K., Shishido K y Akizawa T. (2010). Impact of Fibroblast Growth Factor 23 on Lipids and Atherosclerosis in Hemodialysis Patients. Therapeutic Apheresis and Dialysis, 14(3), 315–322.

- B. Fendley Stewart., David Siscovick., Bonnie K. Lind., Julius M. Gardin., John S. Gottdiener., Vivienne E. Smith., Dalane W. Kitzman., Catherine M Otto. (1997). Clinical Factors Associated with Calcific Aortic Valve Disease fn1fn1This study was supported in part by Contracts NO1-HC85079 through HC-850086 from the National Heart, Lung, and Blood Institute, National Institutes of Health, Bethesda, Maryland. Journal of the American College of Cardiology. 3.29: 630-634.

- Bacchetta J., Dubourg L., Harambat J., Ranchin B., Abou-Jaoude P., Arnaud S., Carlier M.C, Richard M y Cochat P (2010). The Influence of Glomerular Filtration Rate and Age on Fibroblast Growth Factor 23 Serum Levels in Pediatric Chronic Kidney Disease. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism. 95(4), 1741–1748.

- Bacchetta J., Sea J. L., Chun R. F., Lisse T. S., Wesseling-Perry K., Gales B., S Adams J., Salusky I.B y Hewison M (2012). Fibroblast growth factor 23 inhibits extrarenal synthesis of 1,25-dihydroxyvitamin D in human monocytes. Journal of Bone and Mineral Research. 28(1), 46–55.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Balogh E., Tóth A., Méhes G., Trencsényi G., Paragh G y Jeney V. (2019). Hypoxia Triggers Osteochondrogenic Differentiation of Vascular Smooth Muscle Cells in an HIF-1 (Hypoxia-Inducible Factor 1)–Dependent and Reactive Oxygen Species–Dependent Manner. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology.

- Banegas JR., Villar F., Graciani A y Rodríguez-Artalejo F (2006). Epidemiología de las enfermedades cardiovasculares en España. Rev Esp Cardiol. Supl. 6:3G12G.

- Bakris, GL y Weir MR (2000). Angiotensin-Converting Enzyme Inhibitor–Associated Elevations in Serum Creatinine. Archives of Internal Medicine. 160(5).

- Barthel TK y cols (2007). 1,25-Dihydroxyvitamin D3/VDR-mediated induction of FGF23 as well as transcriptional control of other bone anabolic and catabolic genes that orchestrate the regulation of phosphate and calcium mineral metabolism. J. Steroid Biochem. Mol. Biol. 103, 381–388.

- Behrendt D y Ganz P (2002). Endothelial function. From vascular biology to clinical applications. Am J Cardiol.90: 40L-8.

- Ben-Dov I. Z. y cols (2007). The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. J. Clin. Invest. 117, 4003–4008

- Benet-Pagès A., Lorenz-Depiereux B., Zischka H., White K. E., Econs MJ y Strom TM. (2004). FGF23 is processed by proprotein convertases but not by PHEX. Bone, 35(2), 455–462

- Berndt T. J., Craig T. A., McCormick D. J., Lanske B., Sitara D., Razzaque M. S., Marlon Pragnell., Ann E Bowe., Stephen P O'Brien., Susan Schiavi y Kumar R. (2007). Biological activity of FGF-23 fragments. Pflügers Archiv - European Journal of Physiology. 454(4), 615–623.

- Bevilacqua MP., Pober JS., Majeau GR., Fiers W., Cotran RS., Gimbrone MA. (1986). Recombinant tumor necrosis factor induces procoagulant activity in cultured human vascular endothelium: characterization and comparison with the actions of interleukin 1. Proc Natl Acad Sci USA. 83: 4533-7.

- Bhalla A., Ravi R., Fang M., Arguello A., Davis SS., Chiu CL., Escolar ML. (2020). Characterization of Fluid Biomarkers Reveals Lysosome Dysfunction and Neurodegeneration in Neuronopathic MPS II Patients. International Journal of Molecular Sciences. 21(15), 5188.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Bi F., Chen F., Li Y., Wei A y Cao W. (2018). Klotho preservation by Rhein promotes toll-like receptor 4 proteolysis and attenuates lipopolysaccharide-induced acute kidney injury. Journal of Molecular Medicine. 96(9), 915–927.

- Blacher J., Guerin AP., Pannier B., Marchais SG., London GM. (2001). Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. Hypertension. 38: 938 –942.

- Block GA y Port FK (2000). Re-evaluation of risks associated with hyperphosphatemia and hyperparathyroidism in dialysis patients: recommendations for a change in management. Am J Kidney Dis. 35(6):1226-37.

- Block GA., Klassen PS., Lazarus JM., Ofsthun N., Lowrie WG y Chertow GM. (2004). Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. J Am Soc Nephrol. 15: 2208 –2218.

- Bonewald LF y Wacker MJ. (2012). FGF23 production by osteocytes. Pediatric Nephrology. 28(4), 563–568.

- Boström K., Watson KE., Horn S., Wortham C., Herman IM., Demer LL (1993). Bone morphogenetic protein expression in human atherosclerotic lesions. J Clin Invest 91(4):1800-9.

- Boström Kristina. (2005). Proinflammatory vascular calcification. Circ Res. jun 24; 96(12):1219-20.

- Braithwaite V., Prentice AM., Doherty C y Prentice A (2012). FGF23 is correlated with iron status but not with inflammation and decreases after iron supplementation: a supplementation study. International Journal of Pediatric Endocrinology. (1), 27.

- Bucay N., Sarosi I., Dunstan CR., Morony S., Tarpley J., Capparelli C., Scully S., Tan HL, Xu W., Lacey DL., Boyle WJ y Simonet WS (1998). Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. Genes Development 12:1260-1268.

- Burnett S.-A. M. y cols. (2006). Regulation of C-terminal and intact FGF-23 by dietary phosphate in men and women. J. Bone Miner. Res. 21, 1187–96.

- Camejo G., Hurt-Camejo E., Wiklund O., Bondjers G. (1998). Association of apo B lipoproteins with arterial proteoglycans: pathological significance and molecular basis. Atherosclerosis. 139:205-22.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Capewell S y cols. (2010). Cardiovascular risk factor trends and potential for reducing coronary heart disease mortality in the United States of America. Bulletin of the World Health Organization. 88: 120-130.

- Casas JP., Shah T., Hingorani AD., Danesh J y Pepys MB (2008). C-reactive protein and coronary heart disease: a critical review. Journal of Internal Medicine. 264(4), 295–314.

- Chatzigeorgiou A., Karalis KP., Bornstein SR y Chavakis T. (2012). Lymphocytes in obesity-related adipose tissue inflammation. Diabetologia. 55(10), 2583–2592.

- Behzad Oskouei., Ming-Chang Hu., Alexis Sloan., Tamara Isakova., Orlando M Gutiérrez., Robier Aguillon-Prada., Joy Lincoln., Joshua M Hare., Peter Mundel., Azorides Morales., Julia Scialla., Michael Fischer., Elsayed Z Soliman., Jing Chen., Alan S Go., Sylvia E Rosas., Lisa Nessel., Raymond R Townsend., Harold I Feldman., Martin St John Sutton., Akinlolu Ojo., Crystal Gadegbeku., Giovana Seno Di Marco., Stefan Reuter., Dominik Kentrup., Klaus Tiemann., Marcus Brand., Joseph A Hil.l, Orson W Moe., Makoto Kuro-O., John W Kusek., Martin G Keane,. Myles Wolf. (2011). FGF23 induces left ventricular hypertrophy. J Clin Invest. Nov; 121(11): 4393-408).

- Coen G P.D; Ballanti P.; Pierantozzi A., Pisanò S., Sarnelli D., Mantella D., Giuliana Silvestrini L., Lappelli M y Di Giulio S. (2011). Peripheral artery calcifications evaluated by histology correlate to those detected by CT: relationships with fetuin-A and FGF-23. J Nephrol. May-jun. 24(3):313-21

- Corti R., Fuster V y Badimon JJ. (2003). Pathogenetic concepts of acute coronary syndromes. J Am Coll Cardiol. 41:7S-14.

- Cupples LA., D'Agostino RB., Anderson K y Kannel WB. (1988). Comparison of baseline and repeated measure covariate techniques in the Framingham Heart Study. Stat Med 7(1-2):205-22

- Cushman M., Lemaitre RN., Kuller LH., Psaty BM., Macy EM., Sharrett AR y Tracy RP. (1999). Fibrinolytic activation markers predict myocardial infarction in the elderly. The Cardiovascular Health Study. Arterioscler Thromb Vasc Biol.19(3):493-8.

- Dai B., David V., Martin A., Huang Y., Li H., Jiao Y y cols. (2012). A comparative transcriptome analysis identifying FGF23 regulated genes in the kidney of a mouse CKD model. PLoS One. 7(9):1–15, e44161

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Damasiewicz MJ., Toussaint ND y Polkinghorne KR (2011). Fibroblast growth factor 23 in chronic kidney disease: New insights and clinical implications. Nephrology, 16(3), 261–268.

- Dazinger J (2008). The bone-renal axis in early chronic kidney disease: an emerging paradigm. Nephrol Dial Transplant. 23:2733-7.

- David V., Martin A., Isakova T., Spaulding C., Qi L., Ramirez V., Kimberly B. Zumbrennen-Bullough., Chia Chi Sun., Herbert Y Lin., Jodie L. Babitt y Wolf M. (2016). Inflammation and functional iron deficiency regulate fibroblast growth factor 23 production. Kidney International. 89(1), 135–146.

- Dzau V y Braunwald E (1991). Resolved and unresolved issues in the prevention and treatment of coronary artery disease: A workshop consensus statement. American Heart Journal. 121(4), 1244–1263.

- Demer LL. (2002). Vascular calcification and osteoporosis: inflammatory responses to oxidized lipids. Int J Epidemiol. 31(4):737-41.

- Demer LL y Tintut Y. (2008). Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease. Circulation. 117:2938-2948.

- Desjardins L., Liabeuf S., Renard C., Lenglet A., Lemke H.-D y Massy ZA. (2011). FGF23 is independently associated with vascular calcification but not bone mineral density in patients at various CKD stages. Osteoporosis International. 23(7).

- D Proudfoot. , J N Skepper., L Hegyi., MR Bennett., CM Shanahan y PL Weissberg. (2000). Apoptosis regulates human vascular calcification in vitro: evidence for initiation of vascular calcification by apoptotic bodies vascular calcification by apoptotic bodies. Circ Res. Nov 24; 87(11):1055-62.

- Donate Correa J., Muros de Fuentes M., Mora Fernández C y Navarro González, JF. (2012). FGF23/Klotho axis: Phosphorus, mineral metabolism and beyond. Cytokine & Growth Factor Reviews. 23(1-2), 37–46.

- Donate Correa J., Mora Fernández C., Martínez Sanz R., Muros de Fuentes M., Pérez H., Meneses- Pérez B y cols. (2013). Expression of FGF23/KLOTHO system in human vascular tissue. Int J Cardiol.165.1: 179-183.

- Donate-Correa J., Muros de Fuentes M., Mora-Fernández C y Navarro-González JF. (2013-II). Pathophysiological Implications of Fibroblast Growth Factor-23 and Klotho and Their Potential Role as Clinical Biomarkers. Clinical Chemistry. 60(7), 933–940.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Donate-Correa J., Muros de Fuentes M., Mora-Fernández C y Navarro González, JF. (2014). Pathophysiological Implications of Fibroblast Growth Factor-23 and Klotho and Their Potential Role as Clinical Biomarkers. Clinical Chemistry. 60(7), 933–940.

- Donate Correa J., Martín Núñez, E., Martínez Sanz, R., Muros de Fuentes M., Mora-Fernández C., Pérez Delgado N y Navarro-González JF. (2015). Influence of Klotho gene polymorphisms on vascular gene expression and its relationship to cardiovascular disease. Journal of Cellular and Molecular Medicine. 20(1), 128–133.

- Donate Correa J., Henríquez Palop F., Martín Núñez E., Pérez Delgado N., Muros de Fuentes M., Mora Fernández C y Navarro-González JF. (2016). Effect of Paricalcitol on FGF-23 and Klotho in Kidney Transplant Recipients. Transplantation. 100(11), 2432–2438.

- Donate Correa J., Martín Núñez E., Ferri C., Hernández Carballo, C., Tagua V., Delgado-Molinos A., López Castillo A, Rodríguez Ramos S., Cerro López P., Castro López Tarruella V., Arévalo González MA., Pérez Delgado N., Mora Fernández C y Navarro-González, JF. (2019). FGF23 and Klotho Levels are Independently Associated with Diabetic Foot Syndrome in Type 2 Diabetes Mellitus. Journal of Clinical Medicine. 8(4), 448.

- Drazen J M., Morrissey S y Campion EW. (2015). Retraction: Ahimastos AA, Dart AM, Kingwell BA. Angiotensin II blockade in Marfan's syndrome. N Engl J Med 2008; 359:1732. New England Journal of Medicine, 373(23), 2280–2280.

- Durham AL., Speer MY., Scatena M., Giachelli CM y Shanahan CM. (2018). Role of smooth muscle cells in vascular calcification: implications in atherosclerosis and arterial stiffness. Cardiovascular Research. 114(4), 590–600.

- Dusso A. S., Brown AJ y Slatopolsky E. (2005). Vitamin D. Am J Physiol Ren. Physiol 289, F8–F28.

- Edsfeldt A., Dunér P., Ståhlman M., Mollet I. G., Asciutto G., Grufman H., Nitulescu M., Persson AF., Fisher RM., Melander O., Jan Borén., Nilsson J y Gonçalves I. (2016). Sphingolipids Contribute to Human Atherosclerotic Plaque InflammationHighlights. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 36(6). 1132–1140.

- Egli-Spichtig D., Imenez Silva PH., Glaudemans B., Gehring N., Bettoni C., Zhang M., Wagner CA. (2019). Tumor necrosis factor stimulates fibroblast growth factor 23 levels in

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

chronic kidney disease and non-renal inflammation. Kidney International. Kidney Int.2019. 96:890-905

- El-Abbadi Mohga y Giachelli CM. (2007). Mechanisms of vascular calcification. Advances in chronic kidney disease. Jan; 14(1):54-66.

- Elena Aikawa. , Matthias Nahrendorf., Jose-Luiz Figueiredo., Filip K Swirski., Timur Shtatland., Rainer H Kohler., Farouc A Jaffer., Masanori Aikawa., Ralph Weissleder. (2007). Osteogenesis associates with inflammation in early-stage atherosclerosis evaluated by molecular imaging in vivo**.** Dec 11; 116(24):2841-50.

- Elena Aikawa., Matthias Nahrendorf., Jose-Luiz Figueiredo., Filip K Swirski., Timur Shtatland., Rainer H Kohler., Farouc A Jaffer., Masanori Aikawa., Ralph Weissleder. (2007). Clinical perspective. Circulation. Dec 11;116(24):2841-50.

- Elena Aikawa. , Matthias Nahrendorf., David Sosnovik., Vincent M Lok., Farouc A Jaffer., Masanori Aikawa., Ralph Weissleder. (2007). Multimodality molecular imaging identifies proteolytic and osteogenic activities in early aortic valve disease. Circulation. 377-386.

- Elena Aikawa., Matthias Nahrendorf., Jose-Luiz Figueiredo., Filip K. Swirski., Timur Shtatland., Rainer H Kohler., Farouc A., Jaffer Masanori Aikawa y Ralph Weissleder. (2007-II). Osteogenesis Associates with Inflammation in Early-Stage Atherosclerosis Evaluated by Molecular Imaging In Vivo. 116:2841–2850

- Elsharkawy MM., Youssef AM y Zayoon MY. (2006). Intradialytic changes of serum magnesium and their relation to hypotensive episodes in hemodialysis patients on different dialysates. Hemodialysis International, 10(S2), S16–S23.

- Elyssa L Monzack., Xiaoxiao Gu y Kristyn S Masters. (2009). Efficacy of simvastatin treatment of valvular interstitial cells varies with the extracellular environment**.** Arterioscler Thromb Vasc Biol.Feb; 29(2):246-53.

- Epple M y Bäuerlein E. (2007). Handbook of Biomineralization. Aspects of pathological calcifications. WILEY-VCH Verlag GmbH&Co. KGaA, Weinheim (p. 4, 285-299).

- Eswarakumar VP., Lax I y Schlessinger J. (2005). Cellular signaling by fibroblast growth factor receptors. Cytokine Growth Factor Rev. 16, 139–149.

- Evenepoel P. (2007). Control of hyperphosphatemia beyond phosphate. Kidney Int 71: 376 –379.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Evenopoel P., Meijers B., Viaene L., Bammens B., Claes K., Kuypers D y cols. (2010). Fibroblastic Growth Factor-23 in early chronic kidney disease: additional support in favor of a phosphate-centric paradigm for the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. Clin J Am Soc Nephrol. 5(7):1268-76.

- Farhad Parhami., Benjamin Basseri., Jason Hwang., Yin Tintut., Linda L Demer. (2002). High-density lipoprotein regulates calcification of vascular cells. Circ Res. Oct 4; 91(7):570-576.

- Farrow EG., Davis SI., Summers LJ y White KE. (2009). Initial FGF23-mediated signaling occurs in the distal convoluted tubule. J. Am. Soc. Nephrol. 20, 955–60.

- Farzaneh-Far A y Shanahan CM. (2005) Biology of vascular calcification in renaldisease. Nephron Exp Nephrol 101(4): e134-8.

- Faul C., Amaral AP, Oskouei B., Hu MC., Sloan A., Isakova T y cols. (2011). FGF23 induces left ventricular hypertrophy. J. Clin. Invest. 121, 4393– 4408.

- Feldman A. M., Combes A., Wagner D., Kadakomi T., Kubota T., You Li Y y McTiernan, C. (2000). The role of tumor necrosis factor in the pathophysiology of heart failure. Journal of the American College of Cardiology. 35(3), 537–544.

- Feng JQ y cols. (2006). Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism. Nat. Genet. 38, 1310–5.

- Fliser D y cols. (2007). Fibroblast growth factor 23 (FGF23) predicts progression of chronic kidney disease: the Mild to Moderate Kidney Disease (MMKD) Study. J. Am. Soc. Nephrol. 18, 2600–8.

- Freedman BI., Divers J., Russell GB., Palmer ND., Bowden DW., Carr JJ., Wagenknecht LE; Hightower RC., Xu J., Smith SC., Langefeld CD., Hruska KA y Register TC. (2015). Plasma FGF23 and Calcified Atherosclerotic Plaque in African Americans with Type 2 Diabetes Mellitus. American Journal of Nephrology. 42(6), 391–401.

- Fuster V., Ross R y Topol EJ. (1997) Aterosclerosis y enfermedad arterial coronaria. Springer-Verlag-Ibérica. Barcelona. España: 17.

- Galkina Elena y Klaus Ley. (2009). Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis. Annu Rev Immunol. 27:165-97.

- Garland JS., Holden RM., Ross R., Adams MA., Nolan RL., Hopman WM y Morton AR. (2014). Insulin resistance is associated with Fibroblast Growth Factor-23 in stage 3–5

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

chronic kidney disease patients. Journal of Diabetes and Its Complications. 28(1), 61–65.

- GBD 2013 Mortality and Causes of Death Collaborators. Global, regional, and national age-sex specific all-cause and cause-specific mortality for 240 causes of death, 1990-2013: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2013. (2015). Lancet (London, England). 385(9963):117-71.

- Gerdes N., Sukhova GK., Libby P., Reynolds RS., Young JL y Schönbeck U. (2002). Expression of Interleukin (IL)-18 and Functional IL-18 Receptor on Human Vascular Endothelial Cells, Smooth Muscle Cells, and Macrophages. The Journal of Experimental Medicine. 195(2), 245–257.

- Giachelli CM. (2004). Vascular calcification mechanisms. J Am Soc Nephrol 15(12):2959-64.

- Goetz R y cols. (2007). Molecular insights into the klotho-dependent, endocrine mode of action of fibroblast growth factor 19 subfamily members. Mol. Cell. Biol. 27, 3417– 28.

- Goetz R., Nakada Y., Hu MC., Kurosu H., Wang L., Nakatani T., Mohammadi M. (2009). Isolated C-terminal tail of FGF23 alleviates hypophosphatemia by inhibiting FGF23-FGFR-Klotho complex formation. Proceedings of the National Academy of Sciences. 107(1).

- Goetz R y cols. (2010). Isolated C-terminal tail of FGF23 alleviates hypophosphatemia by inhibiting FGF23-FGFR-Klotho complex formation. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 107, 407–412.

- Goldsmith D., Ritz E y Covic A. (2004). Vascular calcification: A stiff challenge for the nephrologist. Kidney Int 66: 1315–1323.

- González Parra E., Tuñón J., Egido J y Ortiz A. (2012). Phosphate: a stealthier killer than previously thought? Cardiovascular Pathology. 21(5), 372–381.

- Goodman William G. (2001). Vascular calcification in chronic renal failure. The Lancet Oct 6. 358(9288):1115-6.

- Göran K Hansson. (2005). Inflammation, Atherosclerosis, and Coronary Artery Disease. N Engl J Med. 352:1685-95.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Goswami B., Rajappa M., Mallika V., Shukla DK y Kumar S. (2009). TNF-α/IL-10 ratio and C-reactive protein as markers of the inflammatory response in CAD-prone North Indian patients with acute myocardial infarction. Clinica Chimica Acta. 408(1-2). 14–18.

- Griendling KK y Harrison DG. (2001). Out, damned dot: studies of the NADPH oxidase in atheropsclerosis. J Clin Invest. 108:1423-4

- Guillaume Jean., Eric Bresson., Jean-ClaudeTerrat., Thierry Vanel,. Jean-Marc Hurot., Christie Lorriaux., Brice Mayor., Charles Chazot. (2009). Peripheral vascular calcification in long-haemodialysis patients: associated factors and survival consequences. Nephrol Dial Transplant. Mar;24(3):948-55.

- Gutiérrez OM. (2005). Fibroblast Growth Factor-23 Mitigates Hyperphosphatemia but Accentuates Calcitriol Deficiency in Chronic Kidney Disease. Journal of the American Society of Nephrology. 16(7), 2205–2215.

- Gutiérrez OM. y cols. (2008). Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. N. Engl.J. Med. 359, 584–592.

- Gutiérrez OM., Januzzi JL., Isakova T., Laliberte K., Smith K., Collerone G y cols. (2009). Fibroblast growth factor 23 and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease. Circulation. 119: 2545–52.

- Hanks LJ., Casazza K., Judd SE., Jenny NS y Gutiérrez OM. (2015). Associations of Fibroblast Growth Factor-23 with Markers of Inflammation, Insulin Resistance and Obesity in Adults. PLOS ONE, 10(3), e0122885.

- Hansen D., Rasmussen K., Pedersen SM., Rasmussen LM y Brandi L. (2011). Changes in fibroblast growth factor 23 during treatment of secondary hyperparathyroidism with alfacalcidol or paricalcitol. Nephrology Dialysis Transplantation, 27(6), 2263–2269

- Hansson GK., Libby P y Tabas I. (2015). Inflammation and plaque vulnerability. Journal of Internal Medicine. 278(5), 483–493.

- Harrison D., Griendling KK., Landmesser U., Hornig B., Drexler H. (2003). Role of oxidative stress in atherosclerosis. Am J Cardiol. 91(3A):7A-11.

- Hasegawa H., Nagano N., Urakawa I., Yamazaki Y., Iijima K., Fujita T., Shimada T. (2010). Direct evidence for a causative role of FGF23 in the abnormal renal phosphate handling and vitamin D metabolism in rats with early-stage chronic kidney disease. Kidney International.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Heeschen C. (2003). Serum Level of the Antiinflammatory Cytokine Interleukin-10 Is an Important Prognostic Determinant in Patients with Acute Coronary Syndromes. Circulation. 107(16), 2109–2114.
- Ho CY., Wong CK., Li EK., Tam LS., Lam CW. (2003). Elevated plasma concentrations of nitric oxide, soluble thrombomodulin and soluble vascular cell adhesion molecule-1 in patients with systemic lupus erythematosus. Rheumatology. 42:17-22.
- Huang X., Yang C., Lu Y., Jin, C., Wang F y McKeehan W L. (2007). FGFR4 Prevents Hyperlipidemia and Insulin Resistance but Underlies High-Fat Diet Induced Fatty Liver. Diabetes. 56(10), 2501–2510
- Hu MC y cols. (2010). Klotho: a novel phosphaturic substance acting as an autocrine enzyme in the renal proximal tubule. FASEB J. 24, 3438–3450.
- Hu MC y cols (2011). Klotho Deficiency Causes Vascular Calcification in Chronic Kidney Disease. J Am Soc Nephrol. 22, 124–136.
- Hu MC., Kuro M y Moe O. (2012). The emerging role of Klotho in clinical nephrology. Nephrol Dial Transplant. 27:2650–7.
- Hu MC., Shiizaki K., Kuro-o M y Moe OW. (2013). Fibroblast growth factor 23 and Klotho: physiology and pathophysiology of an endocrine network of mineral metabolism. Annu. Rev. Physiol. 75, 503–33.
- Hu X., Ma X., Luo Y., Xu Y., Xiong Q., Pan X., Bao Y y Jia W. (2016). Elevation in fibroblast growth factor 23 and its value for identifying subclinical atherosclerosis in first-degree relatives of patients with diabetes. Scientific Reports, 6(1).
- Hruska K., Mathew S., Lund R., Qiu P y Pratt R. (2008). Hyperphosphatemia of chronic kidney disease. Kidney Int. 74:148–157
- Imad Nadra., Justin C Mason., Pandelis Philippidis., Oliver Florey., Cheryl D W Smythe., Geraldine M McCarthy., Robert C Landis., Dorian O Haskard. (2005). Proinflammatory activation of macrophages by basic calcium phosphate crystals via protein kinase C and MAP kinase pathways: a vicious cycle of inflammation and arterial calcification? Circulation research. 1248-1256.
- Indicadores de salud. Ministerio de Sanidad. (2019).

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Imura A y cols. (2004). Secreted Klotho protein in sera and CSF: Implication for posttranslational cleavage in release of Klotho protein from cell membrane. FEBS Lett. 565, 143–147.
- Instituto Nacional de Estadística. (Consultado el 10/2/2011). Disponible en: http://www.ine.es/.
- Instituto de Salud Carlos III. Centro Nacional de Epidemiología. http:// www.isciii.es/htdocs/centros/epidemiologia/epi_cardiovasculares.jsp
- Isakova T., Xie H., Yang W., Xie D., Anderson AH., Scialla J y cols. (2011). Fibroblast growth factor 23 and risks of mortality and end-stage renal disease in patients with chronic kidney disease. JAMA. 305:2432–9.
- Isakova T. (2011). Fibroblast Growth Factor 23 and Risks of Mortality and End-Stage Renal Disease in Patients with Chronic Kidney Disease. JAMA. 305(23), 2432.
- Isakova T. (2012). Fibroblast growth factor 23 and adverse clinical outcomes in chronic kidney disease. Current Opinion in Nephrology and Hypertension. 21(3), 334–340.
- Ito N., Fukumoto S., Takeuchi Y., Yasuda T., Hasegawa Y., Takemoto F., Tajima T., Dobashi K.; Yamazaki Y., Yamashita T and Fujita, T. (2005). Comparison of two assays for fibroblast growth factor (FGF)-23. Journal of Bone and Mineral Metabolism, 23(6), 435–440.
- Ito N y cols. (2007). Effect of acute changes of serum phosphate on fibroblast growth factor (FGF) 23 levels in humans. J. Bone Miner. Metab. 25, 419–422.
- Ito N y Ornitz M. (2008). Functional evolutionary history of the mouse Fgf gene family. Dev. Dyn. 237, 18–27.
- Jacqueline D Peacock ., Agata K Levay., Devin B Gillaspie., Ge Tao., Joy Lincoln. (2010). Reduced sox9 function promotes heart valve calcification phenotypes in vivo. Circ Res. Mar 5; 106(4):712-9.
- Jean G Terrat JC., Vanel T Hurot JM., Lorriaux C Mayor B y cols. (2009). High levels of serum fibroblast growth factor (FGF)-23 are associated with increased mortality in long haemodialysis patients. Nephrol Dial Transplant. 24:2792–6.
- Jean G., Bresson E., Lorriaux C., Mayor B., Hurot JM., Deleaval, P y Chazot C. (2012). Increased Levels of Serum Parathyroid Hormone and Fibroblast Growth Factor-

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

23 Are the Main Factors Associated with the Progression of Vascular Calcification in Long-Hour Hemodialysis Patients. Nephron Clinical Practice, 120(3), c132–c138.

- J.J. Scialla y M. Wolf. (2014). Roles of phosphate and fibroblast growth factor 23 in cardiovascular disease. Nat. Rev. Nephrol.10 (5): 427-436.

- Johan Ärnlöv ., Axel C Carlsson., Johan Sundström ., Erik Ingelsson ., Anders Larsson., Lars Lind., Tobias E Larsson. (2013). Higher fibroblast growth factor-23 increases the risk of all-cause and cardiovascular mortality in the community. Kidney Int. Jan; 83(1):160-6.

- Jover E., Marín F., Roldán V., Montoro-García S., Valdés M., Lip GY. (2013). Atherosclerosis and thromboembolic risk in atrial fibrillation: focus on peripheral vascular disease. Ann Med. 45(3):274-90.

- Junichiro J Kazama., Fuminori Sato., Kentaro Omori., Hitomi Hama., Suguru Yamamoto., Hiroki Maruyama., Ichiei Narita., Fumitake Gejyo., Takeyoshi Yamashita., Seiji Fukumoto., Masafumi Fukagawa. (2005). Pretreatment serum FGF-23 levels predict the efficacy of calcitriol therapy in dialysis patients. Kidney Int. Mar; 67(3):1120-5.

- Kagan HM y Li W. (2003). Lysyl oxidase: properties, specificity, and biological roles inside and outside of the cell. J Cell Biochem 88(4):660-72.

- Kanbay M., Nicoleta M., Selcoki Y., Ikizek M., Aydin M., Eryonucu B y cols (2010). Fibroblast growth factor 23 and fetuin A are independent predictors for the coronary artery disease extent in mild chronic kidney disease. Clin J Am Soc Nephrol. 5:1780–6.

- Kaur K., Sharma AK y Singal PK. (2006). Significance of changes in TNF-α and IL-10 levels in the progression of heart failure subsequent to myocardial infarction. American Journal of Physiology-Heart and Circulatory Physiology, 291(1), H106–H113.

- KE Watson., K Boström., R Ravindranath. , T Lam., B Norton., LL Demer. (1994). TGF-beta 1 and 25-hydroxycholesterol stimulate osteoblast-like vascular cells to calcify. The Journal of clinical investigation. 2106-2113.

- Kendrick J., Cheung AK., Kaufman JS., Greene T., Roberts WL., Smits G y cols. (2011). FGF-23 associates with death, cardiovascular events, and initiation of chronic dialysis. J Am Soc Nephrol. 22:1913–22.

- Kestenbaum B., Sachs MC., Hoofnagle AN., Siscovick DS., Ix J. H., Robinson-Cohen C., Joao AC. Lima; Polak JF; Blondon M; Ruzinsk J; Denise Rock D; de Boer IH.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

(2014). Fibroblast Growth Factor-23 and cardiovascular disease in the General Population: The Multi-Ethnic Study of Atherosclerosis. Circulation: Heart Failure. 7(3), 409–417.

- Ketteler M., Biggar PH y Liangos O. (2012). FGF23 antagonism: the thin line between adaptation and maladaptation in chronic kidney disease. Nephrology Dialysis Transplantation. 28(4), 821–825

- Kharitonenkov A., Shiyanova T. L., Koester A., Ford AM., Micanovic R., Galbreath, EJ., Sandusky GE., Hammond J., Moyers JS., Owens RA., Gromada J., Joseph T., Brozinick., Hawkins E.D., Wroblewsk V.J., Li DS., Mehrbod F., Jaskunas R y Shanafelt AB. (2005). FGF-21 as a novel metabolic regulator. Journal of Clinical Investigation, 115(6), 1627–1635.

- Khera A., James A., Peshock R., Hao S., Stanek H y Murphy S. (2006). Relationship Between C-Reactive Protein and Subclinical Atherosclerosis: The Dallas Heart Study. Circulation. 113(1):38-43.

- Khosravi A., Cutler CM., Kelly MH., Chang R., Roya RE., Sherry RM., Wodajo FM, Neal S. Fedarko y Collins MT (2007). Determination of the Elimination Half-Life of Fibroblast Growth Factor-23. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 92(6), 2374–2377.

- Kolek O I., Hines ER., Jones MD., LeSueur LK., Lipko MA., Kiela PR., Ghishan FK. (2005). 1α,25-Dihydroxyvitamin D3 upregulates FGF23 gene expression in bone: the final link in a renal-gastrointestinal-skeletal axis that controls phosphate transport. American Journal of Physiology-Gastrointestinal and Liver Physiology. 289(6), G1036–G1042.

- Koltsova EK., Garcia Z., Chodaczek G., Landau M., McArdle S., Scott SR., von Vietinghoff S., Galkina E., Yury I. Mille Y.I., T. Acton ST y Ley K. (2012). Dynamic T cell–APC interactions sustain chronic inflammation in atherosclerosis. Journal of Clinical Investigation. 122(9), 3114–3126.

- Kristen Radcliff., Tri-Bang Tang., Jina Lim., Zina Zhang., Moeen Abedin., Linda L Demer., Yin Tintut. (2005). Insulin-like growth factor-I regulates proliferation and osteoblastic differentiation of calcifying vascular cells via extracellular signal-regulated protein kinase and phosphatidylinositol 3-kinase pathways. Circ Res. Mar 4; 96(4):398-400.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Ku DN., Giddens DP., Zarins CK y Glagov S. (1985). Pulsatile flow and atherosclerosis in the human carotid bifurcation: positive correlation between plaque location and low oscillating shear stress. Arteriosclerosis.5:293-302.

- Kuller LH., Velentgas P., Barzilay J., Beauchamp NJ., O'Leary DH y Savage PJ. (2000). Diabetes mellitus: subclinical cardiovascular disease and risk of incident cardiovascular disease and allcause mortality. Arterioscler Thromb Vasc Biol 20(3):823-9.

- Kumari R., Kumar S., Ahmad M. K., Singh R., Pradhan A., Chandra S y Kumar S. (2018). TNF-α/IL-10 ratio: An independent predictor for coronary artery disease in North Indian population. Diabetes & Metabolic Syndrome: Clinical Research & Reviews. 12(3), 221–225.

- Kundhal K y Lok CE. (2005). Clinical Epidemiology of Cardiovascular Disease in Chronic Kidney Disease. Nephron Clinical Practice. 101(2), c47–c52.

- Kuro-o M., Matsumura Y., Aizawa H., Kawaguchi H., Suga T., Utsugi T y cols. (1997). Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. Nature 390, 45–51 (1997).

- Kurosu H., Choi M., Ogawa Y., Dickson AS., Goetz, R., Eliseenkova, AV y Kuro-o M. (2007). Tissue-specific Expression of βKlotho and Fibroblast Growth Factor (FGF) Receptor Isoforms Determines Metabolic Activity of FGF19 and FGF21. Journal of Biological Chemistry. 282(37), 26687–26695.

- Labarthe DR. (1999). Prevention of cardiovascular risk factors in the first place. Prev Med. 29(6 Pt 2): S72-8.

- Lacraz S., Nicod LP., Chicheportiche R., Welgus HG y Dayer JM. (1995). IL-10 inhibits metalloproteinase and stimulates TIMP-1 production in human mononuclear phagocytes. J Clin Invest. Nov;96(5):2304-10

- Lahoz C., Mostaza JM. (2007). La Aterosclerosis como enfermedad sistémica. Rev española Cardiol. Feb;60(2):184-95.

- Lana Osman., Magdi H Yacoub., Najma Latif ., Mohamed Amrani y Adrian H. (2006). Chester Role of human valve interstitial cells in valve calcification and their response to atorvastatin. Circulation 114.1_supplement. I-547.

- Larrick JW y Wright, SC. (1990). Cytotoxic mechanism of tumor necrosis factor-alpha. The FASEB Journal. 4(14), 3215–3223.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Larsson TE. (2011). FGF23 Beyond Mineral Metabolism: A Bridge to Cardiovascular Disease. Clinical Journal of the American Society of Nephrology. 6(12), 2735–2737.
- Lavi Moshayoff V., Wasserman G., Meir T., Silver J y Naveh-Many T. (2010). 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. 299, F882–F889.
- Lee JE., Gohda T., Walker WH., Skupien J., Smiles AM., Holak RR y Niewczas MA. (2013). Risk of ESRD and All Cause Mortality in Type 2 Diabetes According to Circulating Levels of FGF-23 and TNFR1. PLoS ONE, 8(3), e58007.
- Lefer DJ., Jones SP., Girod WG., Baines A., Grisham MB., Cockrell AS y cols. (1999). Leukocyte-endothelial cell interactions in nitric oxide synthase-deficient mice. Am J Physiol. 276:H1943-50.
- Li SA., Watanabe M., Yamada H., Nagai A., Kinuta M y Takei K. (2004). Immunohistochemical localization of Klotho protein in brain, kidney, and reproductive organs of mice. Cell Struct Funct. 29:91–9.
- Libby P y Simon DI. (2001) Inflammation and thrombosis: the clot thickens. Circulation. 103:1718-20.
- Libby P., Ridker PM y Maseri A. (2002). Inflammation and atherosclerosis. Circulation. 105:1135-43.
- Libby P. (2012). Inflammation in Atherosclerosis. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology, 32(9), 2045–2051.
- Lim K., Lu TS., Molostvov G., Lee C., Lam FT., Zehnder D y Hsiao LL. (2012). Vascular Klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23. Circulation. 125: 2243-2255
- Linda L Demer y Yin Tintut. (2005). Return to ectopia: stem cells in the artery wall. Arterioscler Thromb Vasc Biol.1307-1308.
- Linda L Demer y Yin Tintut.(2008). Vascular calcification: pathobiology of a multifaceted disease. Circulation. Jun 3; 117(22):2938-48.
- Linda L Demer y Yin Tintut. (2009) Mechanisms linking osteoporosis with cardiovascular calcification. Curr Osteoporos Rep. Jul; 7(2):42-6.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Lindberg K., Olauson H., Amin R., Ponnusamy A., Goetz R., Taylor RF y Larsson TE. (2013). Arterial Klotho Expression and FGF23 Effects on Vascular Calcification and Function. PLoS ONE, 8(4), e60658.

- Lingling Li., Yujie Wang., Wei Gao., Cheng yuan., Sini Zhang., Hong Zhou., Mao Huang y Xin Yao. (2015). Reduction in Alveolar Macrophages Contributes to Cigarette Smoke Extract-induced Inflammation in Chronic Obstructive Pulmonary Disease. Journal of Biological Chemistry. 290(46), 27890–27900.

- Liu S., Tang W., Zhou J., Stubbs JR., Luo Q., Pi M y cols. (2006). Fibroblast growth factor 23 is a counter-regulatory phosphaturic hormone for vitamin D. J Am Soc Nephrol. 17:1305–15

- Liu S (2006-II). Fibroblast Growth Factor 23 Is a Counter-Regulatory Phosphaturic Hormone for Vitamin D. J. Am. Soc. Nephrol. 17, 1305–1315.

- Liu W., Chen X., Wu M., Li L., Liu J., Shi J y Hong T. (2020). Recombinant Klotho protein enhances cholesterol efflux of THP-1 macrophage-derived foam cells via suppressing Wnt/β-catenin signaling pathway. BMC Cardiovascular Disorders. 20(1)

- Liuzzo G., Biasucci LM., Gallimore JR., Grillo RL., Rebuzzi AG., Pepys MB y cols. (1994). The prognostic value of C-reactive protein and serum amyloid A protein in severe unstable angina. N Engl J Med. 331:417-24.

- London GM., Guerin AP., Marchais SJ., Metivier F., Pannier B y Adda H. (2003). Arterial media calcification in end-stage renal disease: Impact on all-cause and cardiovascular mortality. Nephrol Dial Transplant. 18: 1731–1740.

- London GM y Drueke TB. (1997). Atherosclerosis and arteriosclerosis in chronic renal failure. Kidney Int. 51(6):1678-95.

- London GM., Guérin AP., Marchais SJ., Métivier F., Pannier B y Adda H. (2003) Arterialmedia calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause andcardiovascular mortality. Nephrol Dial Transplant. 18(9):1731-40.

- López I y cols (2011). Direct and indirect effects of parathyroid hormone on circulating levels of fibroblast growth factor 23 in vivo. Kidney Int. 80, 475–482.

- Luft FC. (2001). Workshop: mechanisms and cardiovascular damage in hypertension. Hypertension. 37(2 Part 2):594-8.

- Mahmut Ilker Yilmaz., Alper Sonmez., Mutlu Saglam., Halil Yaman., Selim Kilic., Tayfun Eyileten., Kayser Caglar., Yusuf Oguz., Abdulgaffar Vural., Mujdat Yenicesu., Francesca

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Mallamaci., Carmine Zoccali. (2012). Comparison of calcium acetate and sevelamer on vascular function and fibroblast growth factor 23 in CKD patients: a randomized clinical trial. Am J Kidney Dis. Feb;59(2):177-85.

- Majd A I Mirza., Anders Larsson., Lars Lind., Tobias E Larsson. (2009). Circulating fibroblast growth factor-23 is associated with vascular dysfunction in the community. Atherosclerosis. Aug;205(2):385-90.

- Makki K., Froguel P y Wolowczuk I. (2013). Adipose Tissue in Obesity-Related Inflammation and Insulin Resistance: Cells, Cytokines, and Chemokines. ISRN Inflammation. 1–12.

- Malek AM., Alper SL y Izunmo S. (1999). Hemodynamic shear stress and its role in aterosclerosis. JAMA. 282:2035-42.

- Mallat Z., Besnard S., Duriez M., Deleuze V., Emmanuel F., Bureau MF y Tedgui A. (1999). Protective Role of Interleukin-10 in Atherosclerosis. Circulation Research., 85(8), e17–e24.

- Manghat P., Fraser W. D., Wierzbicki AS., Fogelman I., Goldsmith DJ y Hampson G. (2009). Fibroblast growth factor-23 is associated with C-reactive protein, serum phosphate and bone mineral density in chronic kidney disease. Osteoporosis International. 21(11), 1853–1861

- Margolis JR., Chen JT., Kong Y., Peter RH., Behar VS y Kisslo JA. (1980). The diagnosticand prognostic significance of coronary artery calcification. A report of 800cases. Radiology 137(3):609-16.

- Marthi A., Donovan K., Haynes R., Wheeler DC., Baigent C., Rooney CM., Martin JL; Sharon MM., Yang J., Holland L., Di Giuseppe R., Bouma-de Krijger A., Mihaylova B y Herrington WG. (2018). Fibroblast Growth Factor-23 and Risks of Cardiovascular and Noncardiovascular Diseases: A Meta-Analysis. Journal of the American Society of Nephrology. 29(7), 2015–2027.

- Martin A y cols. (2011). Bone proteins PHEX and DMP1 regulate fibroblastic growth factor Fgf23 expression in osteocytes through a common pathway involving FGF receptor (FGFR) signaling. FASEB J. 25, 2551–2562.

- Martín Núñez E., Donate Correa J., López Castillo Á., Delgado Molinos A., Ferri C., Rodríguez Ramos S., Pérez Delgado N., Castro V., Hernández Carballo C., Mora Fernández C., and Navarro-González, JF. (2017). Soluble levels and endogenous

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

vascular gene expression of KLOTHO are related to inflammation in human atherosclerotic disease. Clinical Science. 131(21), 2601–2609.

- Martín Núñez E., Donate Correa J., Ferri C., López Castillo A., Delgado Molinos A., Hdez Carballo C., Pérez Delgado N., Rguez Ramos S., Cerro López P., Tagua V., Mora Fdez C., Navarro Glez JF. (2020). Association between serum levels of Klotho and inflammatory cytokines in cardiovascular disease: a case-control study. Aging (Albany NY). Jan 27;12(2):1952-1964.

- Martínez González J., Llorente Cortés V y Badimon L. (2001). Biología celular y molecular de las lesiones ateroscleróticas. Revista Española de Cardiología, 54(2), 218–231.

- Masai H., Joki N., Sugi K y Moroi M. (2013). A preliminary study of the potential role of FGF-23 in coronary calcification in patients with suspected coronary artery disease. Atherosclerosis. 226(1), 228–233

- Masuyama R y cols. (2006). Vitamin D receptors in chondrocytes promoted osteoclastogenesis and regulatesFGF23 production in osteoblasts. J. Clin. Invest. 116, 3150–3159.

- Matsumura Y., Aizawa H., Shiraki-Iida T., Nagai R., Kuro-o M., Nabeshima Y. (1998). Identification of the human klotho gene and its 2 transcripts encoding membrane and secreted klotho protein. Biochem Biophys Res Commun. 242:626–30.

- Mathers Colin D., and Dejan Loncar. (2006). Projections of global mortality and burden of disease from 2002 to 2030. PLoS medicine 3.11: e442.

- Mazzini MJ y Schulze PC. (2006). Proatherogenic pathways leading to vascularcalcification. Eur J Radiol 57(3):384-9.

- Mehmet Kanbay., Mardare Nicoleta., Yusuf Selcoki., Mustafa Ikizek., Murat Aydin., Beyhan Eryonucu., Murat Duranay., Ali Akcay., Ferah Armutcu., Adrian Covic. (2010). Fibroblast growth factor 23 and fetuin A are independent predictors for the coronary artery disease extent in mild chronic kidney disease. Clin J Am Soc Nephrol. 0ct;5(10):1780-6.

- Ministerio de Sanidad y Consumo, Sociedad Española de Cardiología y Sociedad Española de Arteriosclerosis. Control de la colesterolemia en España (2000). Un instrumento para la prevención cardiovascular. Rev Esp Salud Pública. 2000; 74:215-53.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Mirza MA., Hansen T., Johansson L., Ahlstrom H., Larsson A., Lind L y cols. (2009). Relationship between circulating FGF23 and total body atherosclerosis in the community. Nephrol Dial Transplant.24:3125-31.

- Mirza MA (II)., Larsson A., Lind L., Larsson TE. (2009). Circulating fibroblast growth factor-23 is associated with vascular dysfunction in the community. Atherosclerosis. 205:385–90

- Mirza MAI (III)., Larsson A., Melhus H., Lind L y Larsson TE. (2009). Serum intact FGF23 associate with left ventricular mass, hypertrophy and geometry in an elderly population. Atherosclerosis. 207(2), 546–551.

- Mirza MAI., Alsio J., Hammarstedt A., Erben R. G., Michaelsso K., Tivesten A., Marsell R., Orwoll E., Karlsson M.K., Ljunggren O., Dan Mellstro¨m, Lind l., Claes Ohlsson C., Tobias E. Larsso T.E. (2010). Circulating Fibroblast Growth Factor-23 Is Associated with Fat Mass and Dyslipidemia in Two Independent Cohorts of Elderly Individuals. Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology. 31(1), 219–227.

- Mizia Stec K., Gasior Z., Zahorsk -Markiewicz B., Janowska J., Szulc A., Jastrzbska-Maj E y Kobielusz-Gembala I. (2003). Serum tumour necrosis factor-??, interleukin-2 and interleukin-10 activation in stable angina and acute coronary syndromes. Coronary Artery Disease. 14(6), 431–438.

- Moe SM., O'Neill KD., Duan D., Ahmed S., Chen NX., Leapman SB., Fineberg N., Kopecky K. (2002). Medial artery calcification in ESRD patients is associated with deposition of bone matrix proteins. Kidney Int. 61(2):638-647.

- Moe SM., Duan D., Doehle BP., O'Neill KD., Chen NX. (2003). Uremia induces the osteoblast differentiation factor Cbfa1 in human blood vessels. Kidney Int. 63(3):1003-1011.

- Moe SM y Chen NX. (2004). Pathophysiology of vascular calcification in chronic kidney disease. Circ Res. 95(6):560-7.

- Mombouli JV y Vanhoutte PM. (1999). Endothelial dysfunction: From physiology to therapy. J Mol Cel Cardiol. 31:61

- Moorthi RN y Moe SM. (2011). CKD–mineral and bone disorder: Core curriculum 2011. Am J Kidney Dis. 58(6):1022–36.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Morena M., Jaussent I., Halkovich A., Dupuy AM., Bargnoux AS., Chenine L., Y COLS (2012). Bone biomarkers help grading severity of coronary calcifications in non dialysis chronic kidney disease patients. PLoS One. 7: e36175.

- Munoz Mendoza J., Isakova T., Ricard AC., Xie H., Navaneethan SD., Anderson AH. (2012). Fibroblast Growth Factor 23 and Inflammation in CKD. Clinical Journal of the American Society of Nephrology. 7(7), 1155–1162.

- Munoz Mendoza J., Isakova T., Cai X., Bayes L. Y., Faul C., Scialla JJ., Chen J., He J., Navaneethan S, Negrea., Rosas S. E., Kretzler M., Nessel L., Xie D., Anderson A.H., Raj D.S., Wolf M and Townsend, R. R. (2017). Inflammation and elevated levels of fibroblast growth factor 23 are independent risk factors for death in chronic kidney disease. Kidney International. 91(3), 711–719.

- Munzel T., Heitzer T., Harrison DG. (1997). The physiology and pathophysiology of the nitric oxide superoxide system. Herz. 22:158- 72.

- Murali SK., Roschger P., Zeitz U., Klaushofer K., Andrukhova O., & Erben, RG. (2015). FGF23 Regulates Bone Mineralization in a 1,25(OH)2D3and Klotho-Independent Manner. Journal of Bone and Mineral Research. 31(1), 129–142.

- Murano I., Barbatelli G., Parisani V., Latini C., Muzzonigro G., Castellucci M y Cinti S. (2008). Dead adipocytes, detected as crown-like structures, are prevalent in visceral fat depots of genetically obese mice. Journal of Lipid Research.49(7), 1562–1568

- Murer H., Hernando N., Forster I y Biber, J. (2003). Regulation of Na/Pi Transporter in the Proximal Tubule. Annu. Rev. Physiol. 65, 531–542.

- Murray CJ y López AD. (1997) Alternative projections of mortality and disability by cause 1990- 2020: Global Burden of Disease Study. Lancet 349(9064):1498-504.

- Mutt SJ., Karhu T., Lehtonen S., Lehenkari P., Carlberg C y Saarnio J. Herzig KH. (2012). Inhibition of cytokine secretion from adipocytes by 1,25-dihydroxyvitamin D3 via the NF-κB pathway. The FASEB Journal, 26(11), 4400–4407

- Nalini M Rajamannan., Malayannan Subramaniam., Frank Caira., Stuart R Stock., Thomas C Spelsberg. (2005). Atorvastatin inhibits hypercholesterolemia-induced calcification in the aortic valves via the Lrp5 receptor pathway. Circulation. Aug 30; 112(9 Suppl): I229-34.

- Nasrallah MM., El Shehaby AR., Salem MM., Osman NA., El Sheikh, E., & Sharaf El Din, U. A. (2010). Fibroblast growth factor-23 (FGF-23) is independently correlated to aortic

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

calcification in haemodialysis patients. Nephrology Dialysis Transplantation. 25(8), 2679–2685.

- NasrAllah MM., El-Shehab AR., Osman NA., Salem MM., Nassef A., & El Din, U. A. A. S. (2011). Endogenous soluble receptor of advanced glycation end-products (esRAGE) is negatively associated with vascular calcification in non-diabetic hemodialysis patients. International Urology and Nephrology. 44(4), 1193–1199

- NasrAllah M., El-Shehaby A., Osman N., Fayad T., Nassef A., Salem M., y cols. (2013). The association between fibroblast growth factor-23 and vascular calcification is mitigated by inflammation markers. Nephron Extra. 3:106–12.

- Navarro González JF., Mora Fernández C., Muros M., Herrera H y García J (2009). Mineral metabolism and inflammation in chronic kidney disease patients: a cross-sectional study. Clin J Am Soc Nephrol.Oct; 4(10):1646-54.

- Navarro González JF., Mora Fernández C., Muros de Fuentes M., Donate Correa J., Cazaña Pérez V., García Pérez J. (2011). Effect of phosphate binders on serum inflammatory profile, soluble CD14, and endotoxin levels in hemodialysis patients. Clin J Am Soc Nephrol. 6(9):2272-9.

- Navarro González JF y Donate Correa J., Muros M., García García P., Getino MA., García Pérez J., & Mora Fernández C. (2013). Lanthanum carbonate modulates inflammatory profile in hemodialysis patients. Relationship with fibroblast growth factor-23. Eur J Inflammation. 11:75-86.

- Navarro-González JF. , Donate Correa J., Muros de Fuentes M., Pérez-Hernández H., Martínez-Sanz R y Mora-Fernández C. (2014). Reduced Klotho is associated with the presence and severity of coronary artery disease. Heart. Jan; 100(1):34-40.

- New SEP., Aikawa E. (2011). Molecular imaging insights into early inflammatory stages of arterial and aortic valve calcification. Circ Res. 108(11):1381-91.

- Norgren L., Hiatt WR., Dormandy JA., Nehler MR., Harris KA., Fowkes FG., TASC II Working Group., Bell K., Caporusso J., Durand-Zaleski I., Komori K., Lammer J., Liapis C., Novo S., Razavi M., Robbs J., Schaper N., Shigematsu H., Sapoval M., White C., White J; Clement D., Creager M., Jaff M., Mohler E 3rd., Rutherford RB., Sheehan P., Sillesen H., Rosenfield K. (2007) Inter-Society Consensus for the Management of Peripheral Arterial Disease (TASC II). Eur J VascEndovasc Surg 33 (Suppl 1): S1-75.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Olalla MT., Medrano MJ., Sierra MJ., Almazán J. (1999). Time trends, cohort effect and spatial distribution of cerebrovascular disease mortality in Spain. Eur J Epidemiol. 15:331-9.

- Olauson H y cols. (2013). Parathyroid-Specific Deletion of Klotho Unravels a Novel Calcineurin-Dependent FGF23 Signaling Pathway That Regulates PTH Secretion. PLoS Genet. 9, 4–13.

- O'Neill WC (2007). The fallacy of the calcium phosphorus product. Kidney Int 72:792-796 (I)

- O'Neill WC (2007). Vascular calcification: not so crystal clear. Kidney Int 71(4):282-283 (II)

- O'Neill WC., Sigrist MK., McIntyre CW. (2010). Plasma pyrophosphate and vascular calcification in chronic kidney disease. Nephrol Dial Transplant 25(1):187-91.

- Orlando M Gutiérrez., Mannstadt M., Isakova T., Rauh-Hain JA., Tamez H., Shah A,. Smith K., Lee H., Thadhani R., Jüppner H y Wolf M. (2008). Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. N Engl J Med. 359 (6): 584-92.

- Orlando M Gutiérrez., James L Januzzi., Tamara Isakova,. Karen Laliberte., Kelsey Smith., Gina Collerone., Ammar Sarwar., Udo Hoffmann., Erin Coglianese,. Robert Christenson., Thomas J Wang., Christopher deFilipp.i, Myles Wolf. (2009). Fibroblast growth factor-23 and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease. Circulation. 119(19):2545-52.

- Otto C., Geiss HC., Empen K., Parhofer KG. (2004). Long-term reduction of C-reactive protein concentration by regular LDL apheresis. Atherosclerosis. 174:151-6.

- Otto Catherine M. (2008). Calcific aortic stenosis—time to look more closely at the valve. N Engl J Med. 1395-1398.

- Pako J., Kunos L., Meszaro M., Tarnoki DL., Tarnoki AD., Horvath I., & Bikov, A. (2019). Decreased levels of anti-aging klotho in obstructive sleep apnoea. Rejuvenation Research.

- Parker BD., Schurgers LJ., Brandenburg VM., Christenson RH., Vermeer C., Ketteler M, y cols. (2010). The associations of fibroblast growth factor 23 and uncarboxylated matrix Gla protein with mortality in coronary artery disease: The Heart and Soul Study. Ann Intern Med. 152:640–8.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Paoli S., & Mitsnefes, MM. (2014). Coronary artery calcification and cardiovascular disease in children with chronic kidney disease. Current Opinion in Pediatrics, 26(2), 193–197.

- Perk J., De Backer G., Gohlke H., Graham I., Reiner Z., Verschuren M., Albus C,Benlian P., Boysen G., Cifkova R., Deaton C., Ebrahim S., Fisher M., Germano G., HobbsR., Hoes A., Karadeniz S., Mezzani A., Prescott E., Ryden L., Scherer M., Syvänne M,Scholte op Reimer WJ., Vrints C., Wood D., Zamorano JL., Zannad F. (2012) European Association for Cardiovascular Prevention & Rehabilitation (EACPR); ESC Committeefor Practice Guidelines (CPG). European Guidelines on cardiovascular diseaseprevention in clinical practice (version 2012). The Fifth Joint Task Force of theEuropean Society of Cardiology and Other Societies on Cardiovascular DiseasePrevention in Clinical Practice (constituted by representatives of nine societiesand by invited experts). Eur Heart J 33(13):1635-701. Erratum in: Eur Heart J;33(17):2126.

- Peter Stenvinkel., Markus Ketteler., Richard J Johnson., Bengt Lindholm., Roberto Pecoits-Filho., Miguel Riella., Olof Heimbürger., Tommy Cederholm., Matthias Girndt. (2005). IL-10, IL-6, and TNF-α: central factors in the altered cytokine network of uremia—the good, the bad, and the ugly. Kidney Int. Apr;67(4):1216-33.

- Piek JJ., van der Wal AC., Meuwissen M., Koch KT., Chamulau S., Teeling P., y cols. (2000). Plaque inflammation in restenoic coronary lesions of patients with stavle or unstable angina. J Am Coll Cardiol.35:963-7.

- Prewitt RL. (1999). Teaching vascular adaptations to mechanical stress. Am J Physiol. 277(6 Pt 2): S211-S213.

- Pruijm M., Lu Y., Megdiche F., Piskunowicz M., Milani B., Stuber M., Pasch, A. (2017). Serum calcification propensity is associated with renal tissue oxygenation and resistive index in patients with arterial hypertension or chronic kidney disease. Journal of Hypertension, 35(10), 2044–2052.

- Rao M., Steffes M., Bostom A y Ix JH. (2014). Effect of Niacin on FGF23 Concentration in Chronic Kidney Disease. American Journal of Nephrology, 39(6), 484–490

- Ren ZZ., Yan JK., Pan C., Liu YL., Wen HY., Yang X y Yang XJ. (2020). Supplemental Nicotinamide Dose-Dependently Regulates Body Phosphorus Excretion via Altering Type II Sodium-Phosphate Co-Transporter Expressions in Laying Hens. The Journal of Nutrition

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Reynolds JL., Joannides AJ., Skepper JN., McNair R., Schurgers LJ., Proudfoot D., Jahnen-Dechent W., Weissberg PL y Shanahan CM. (2004). Human vascular smooth muscle cells undergo vesiclemediated calcification in response to changes in extracellular calcium and phosphate concentrations: a potential mechanism for accelerated vascular calcification in ESRD. J Am Soc Nephrol 15:2857–2867.

- Rhee Y y cols (2011). Parathyroid hormone receptor signaling in osteocytes increases the expression of fibroblast growth factor-23 in vitro and in vivo. Bone 49, 636–643.

- Richard D Semba., Anne R Cappola., Kai Sun., Stefania Bandinelli., Mansi Dalal., Candace Crasto., Jack M Guralnik., Luigi Ferrucci. (2011). Plasma klotho and mortality risk in older community-dwelling adults. J Gerontol A Biol Sci Med Sci. Jul; 66(7):794-800.

- Ridker PM., Cushman M., Stampfer MJ., Tracy RP., Hennekens CH. (1997) Inflammation, aspirin and risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. N Engl J Med. 336:973-9.

- Ridker PM., Rifai N., Pfeffer MA., Sacks FM., Moye LA., Goldman S., y cols (1998). Inflammation, pravastatin, and the risk of coronary events after myocardial infarction in patients with average cholesterol levels. Cholesterol and Recurrent Events (CARE) Investigators. Circulation. 98:839-44.

- Ridker PM. (1999). Evaluating novel cardiovascular risk factors: Can we better predict heart attacks? Ann Intern Med. 130:933-7.

- Ridke PM., Rifai N., Pfeffer M., Sacks F., Lepage S y Braunwald E. (2000). Elevation of Tumor Necrosis Factor- and Increased Risk of Recurrent Coronary Events After Myocardial Infarction. Circulation, 101(18), 2149–2153.

- Ridker PM., Rifai N., Rose L., Buring JE y Cook NR. (2002). Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. N Engl J Med. 347:1557-65.

- Robbins CS., Hilgendorf I., Weber GF y cols (2013). Local proliferation dominates lesional macrophage accumulation in atherosclerosis. Nat Med. 19(9):1166-72

- Rodríguez Ortiz ME y cols (2012). Calcium Deficiency Reduces Circulating Levels of FGF23. J. Am. Soc. Nephrol. 23, 1–8.

- Rossebø Anne B y cols (2008). Intensive lipid lowering with simvastatin and ezetimibe in aortic stenosis. N Engl J Med. 359: 1343-1356.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Ross R (1999). Atherosclerosis--an inflammatory disease. N Engl J Med. 14; 340(2):115-26.
- Roth GA, Forouzanfar MH., Moran AE y cols (2015). Demographic and epidemiologic drivers of global cardiovascular mortality. N Engl J Med. 372(14):1333- 41
- Rouet-Benzineb P., Gontero B., Dreyfus P y Lafuma C. (2000). Angiotensin II induces nuclear factor- kappa B activation in cultured neonatal rat cardiomyocytes through protein kinase C signaling pathway. J Mol Cell Cardiol. 32: 1767-78.
- Rubbo H., Trostchansky A., Botti H y Batthyany C. (2002). Interactions of nitric oxide and peroxynitrite with low-density lipoprotein. Biol Chem. 383:547-52.
- Ruiz-Ortega M., Lorenzo O., Suzuki Y., Ruperez M y Egido J. (2001). Proinflammatory actions of angiotensins. Curr Opin Nephrol Hypertens. 10:321-9.
- Sage AP., Tintut Y y Demer LL. (2010). Regulatory mechanisms in vascular calcification. Nature Reviews Cardiology, 7(9), 528–536.
- Sage AP., Lu J., Tintut Y y Demer LL. (2011). Hyperphosphatemia-induced nanocrystalsupregulate the expression of bone morphogenetic protein-2 and osteopontin genesin mouse smooth muscle cells in vitro. Kidney Int 79(4):414-22.
- Schinke T., McKee MD., Karsenty G. (1999) Extracellular matrix calcification: where is the action? Nat Genet 21(2):150-1.
- Schinke T y Anling M. (2007). Mineralization of bone: an active or passive process? In: Handbook of Biomineralization, edited by Epple M, Baeuerlein E. Weinheim (Alemania): Wiley-VCH Verlag (2012) p 3-17.
- Schmeisser A., Soehnlein O., Illmer T., Lorenz HM., Eskafi S., Roerick O y cols. (2004). ACE inhibition lowers angiotensin II-induced chemokine expression by reduction of NF-kappaB activity and AT1 receptor expression. Biochem Biophys Res Commun. 325:532-40.
- Schoppe M., Hofbauer LC., Brinskelle Schmal N., Varennes A., Goudable J., Richard MG., Hawa R., Chapurlat y Szulc P. (2012). Serum Level of the Phosphaturic Factor FGF23 Is Associated with Abdominal Aortic Calcification in Men: The STRAMBO Study. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 97(4), E575–E583.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Scialla JJ., Lau WL., Reilly MP., Isakova T., Yang HY., Crouthamel H yWolf M. (2013). Fibroblast growth factor 23 is not associated with and does not induce arterial calcification. Kidney International, 83(6), 1159–1168.

- Scialla JJ., Xie H., Rahman M., Anderson A., Isakova T., Ojo A y cols. (2014). Fibroblast growth factor-23 and cardiovascular events in CKD. J Am Soc Nephrol. 25:349–60.

- Seiler S., Reichart B., Roth D., Seibert E., Fliser D y Heine G. (2010). FGF-23 and future cardiovascular events in patients with chronic kidney disease before initiation of dialysis treatment. Nephrol Dial Transplant. 25:3983–9.

- Semba RD., Cappola AR., Sun K., Bandinelli S., Dalal M., Crasto C y Ferrucci L. (2011). Plasma Klotho and Cardiovascular Disease in Adults. Journal of the American Geriatrics Society, 59(9), 1596–1601.

- Shalhoub V., Shatzen EM., Ward SC., Davis J., Stevens J., Bi V y Richards WG. (2012). FGF23 neutralization improves chronic kidney disease–associated hyperparathyroidism yet increases mortality. Journal of Clinical Investigation, 122(7), 2543–2553

- Shanahan CM., Weissberg PL., Metcalfe JC. (1993). Isolation of gene markers of differentiated and proliferating vascular smooth muscle cells. Circ Res 73(1):193-204.

- Shanahan CM y Weissberg PL. (1999-II). Smooth muscle cell phenotypes in atherosclerotic lesions. Curr Opin Lipidol 10(6):507-13.

- Shanahan CM., Proudfoot D., Tyson KL., Cary NR., Edmonds M y Weissberg PL. (2000). Expression of mineralisation-regulating proteins in association with human vascular calcification. Z Kardiol 89 Suppl 2:63-8.

- Shanahan CM (2006). Vascular calcification--a matter of damage limitation? Nephrol Dial Transplant 21(5):1166-9.

- Shanahan Catherine M (2007). Inflammation ushers in calcification: a cycle of damage and protection? Circulation. Dec 11; 116(24):2782-5.

- Shao JS., Cai J., Towler DA (2006). Molecular mechanisms of vascular calcification: lessons learned from the aorta. Arterioscler Thromb Vasc Biol 26(7):1423-30.

- Shimada T y cols (2001). Cloning and characterization of FGF23 as a causative factor of tumor-induced osteomalacia. Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. 98, 6500–5.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Shimada T., Urakawa I., Yamazaki Y., Hasegawa H., Hino R., Yoneya T., Takeuchi Y., Toshiro F., Seiji Fukumoto C y Yamashita T. (2004). FGF-23 transgenic mice demonstrate hypophosphatemic rickets with reduced expression of sodium phosphate cotransporter type IIa. Biochemical and Biophysical Research Communications, 314(2), 409–414.

- Shimada T y cols (2004). FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. J. Bone Miner. Res. 19, 429–35.

- Shimada T., Hasegawa H., Yamazaki Y., Muto T., Hino R., Takeuchi Y y cols. (2004). FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. J Bone Miner Res. 19:429–35.

- Shimada T., Urakawa I., Isakova T., Yamazaki Y., Epstein M., Wesselin-Perry K., Myles W., Isidro B y Jüppner H. (2010). Circulating Fibroblast Growth Factor 23 in Patients with End-Stage Renal Disease Treated by Peritoneal Dialysis Is Intact and Biologically Active. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 95(2).

- Shimamura Y y cols (2012). Serum levels of soluble secreted α-Klotho are decreased in the early stages of chronic kidney disease, making it a probable novel biomarker for early diagnosis. Clin. Exp. Nephrol. 16, 722–729.

- Shimizu Y., Fukumoto S y Fujita T (2011). Evaluation of a new automated chemiluminescence immunoassay for FGF23. Journal of Bone and Mineral Metabolism, 30(2), 217–221.

- Shroff Rukshana C y cols (2008). Clinical pespective. Circulation 118.17:1748-1757.

- Shroff R Long D y Shanahan C (2013). Mechanistic insights into vascular calcification in CKD. Am Soc Nephrol. 24:179–89.

- Singh S., Grabner A., Yanucil C., Schramm K., Czaya B., Krick S y Faul C. (2016). Fibroblast growth factor 23 directly targets hepatocytes to promote inflammation in chronic kidney disease. Kidney International. 90(5), 985–996

- Slinin Y., Foley RN y Collins AJ. (2005). Calcium, phosphorus, parathyroid hormone, and cardiovascular disease in hemodialysis patients: The USRDS waves 1, 3, and 4 study. J Am Soc Nephrol 16: 1788 –1793.

- Smith ER., Ford ML., Tomlinson LA., Weaving G., Rocks BF., Rajkumar C y Holt SG. (2011). Instability of fibroblast growth factor-23 (FGF-23): Implications for clinical studies. Clinica Chimica Acta, 412(11-12), 1008–1011.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Smith ER., Cai MM., McMahon LP y Holt SG (2012). Biological Variability of Plasma Intact and C-Terminal FGF23 Measurements. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 97(9), 3357–3365.

- Smith E R., McMahon LP y Holt SG (2013). Method-specific differences in plasma fibroblast growth factor 23 measurement using four commercial ELISAs. Clinical Chemistry and Laboratory Medicine, 51(10).

- Snell-Bergeon JK., Budoff MJ y Hokanson JE (2013). Vascular calcification in diabetes: mechanisms and implications. Curr Diab Rep 13(3):391-402.

- Speer MY., Yang HY., Brabb T., Leaf E., Look A., Lin WL., Frutkin A., Dichek D y Giachelli CM (2009). Smooth muscle cells give rise to osteochondrogenic precursors andchondrocytes in calcifying arteries. Circ Res 104(6):733-41.

- Stamler J., Stamler R y Neaton JD (1993). Blood pressure, systolic and diastolic, and cardiovascular risks. US population data. Arch Intern Med. 153:598-615.

- Stanley MH Yeung., Bakker Stepahn JL., D Laverman G y De Borst MH. (2020). Fibroblast Growth Factor 23 and Adverse Clinical Outcomes in Type 2 Diabetes: a Bitter-Sweet Symphony.Curr Diab ReP.Aug 28;20(10):50

- Stary HC., Chandler AB., Dinsmore RE., Fuster V., Glagov S., Insull W Jr., Rosenfeld ME., Schwartz CJ., Wagner WD y Wissler RW (1995). A definition of advanced types of atherosclerotic lesions and a histological classification of atherosclerosis. A report from the Committee on Vascular Lesions of the Council on Arteriosclerosis, American Heart Association. Circulation 92(5):1355-1374.

- Steinberg Daniel. (2002). Atherogenesis in perspective: hypercholesterolemia and inflammation as partners in crime. Nature medicine 8.11: 1211-1217.

- Steitz SA., Speer MY., Curinga G,. Yang HY., Haynes P., Aebersold R., Schinke T., Karsenty G., Giachelli CM. (2001). Smooth muscle cell phenotypic transition associated with calcification: upregulation of Cbfa1 and downregulation of smooth muscle lineage markers. Circ Res 89(12):1147-54.

- Stenvinkel P., Heimbürger O., Lindholm B., Kaysen GA y Bergström J. (2000). Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). Nephrology Dialysis Transplantation, 15(7), 953–960

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Stramba A., Badiale M., Fox KM y Priori SG. (2006). Cardiovascular diseases in women: a statement from the policy conference of the European Society of Cardiology. Eur Heart J. 27:994-1005.

- Swaminathan., Sundararaman y Sudhir V. Shah. (2011). Novel inflammatory mechanisms of accelerated atherosclerosis in kidney disease. Kidney Int. Sep;80(5):453-63

- Szmitko PE., Wang CH., Weisel RD., de Almeida JR., Anderson TJ y Verma S. (2003). New markers of inflammation and endothelial cell activation. Part I. Circulation. 108:1917-23.

- Tabas I., García Cardeña G y Owens GK. (2015). Recent insights into the cellular biology of atherosclerosis. The Journal of Cell Biology, 209(1), 13–22

- Terence M Doherty., Kamlesh Asotra., Lorraine A Fitzpatrick., Jian-Hua Qiao., Douglas J Wilkin., Robert C Detrano., Colin R Dunstan., Prediman K Shah., Tripathi B Rajavashisth. (2003). Calcification in atherosclerosis: bone biology and chronic inflammation at the arterial crossroads. Proc Natl Acad Sci USA. Sep 30; 100(20):11201-6.

- Tintut Yin., Patel J., Parhami F y Demeber LL. (2000). Tumor necrosis factor-α promotes in vitro calcification of vascular cells via the cAMP pathway. Circulation: 2636-2642.

- T. Isakova P., Wahl GS., O.M Guitiérrez., J. Scialla., H. Xie., D. Appleby., L. Nesse.l, K. Bellovich., J. Chen., L. Hamm., C. Gadegbeku., E. Horwitz., R.R Townsend., C.A. Anderson., JP Lash., CY Hsu y MB. Leonard. (2011). Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. Kidney Int. 79 (12) 1370-1378.

- Tomlinson E., Fu L., John L., Hultgren B., Huang X., Renz M., Philippe S., Ping Tsai S., Tsai I., Powel-Braxton L., French D y Stewart TA. (2002). Transgenic Mice Expressing Human Fibroblast Growth Factor-19 Display Increased Metabolic Rate and Decreased Adiposity. Endocrinology, 143(5), 1741–1747.

- Towler Dwight A. (2008). Vascular calcification: a perspective on an imminent disease epidemic. *IBMS BoneKEy* 5. 41-58.

- Tsimikas S., Willerson JT y Ridker PM. (2006). C-Reactive Protein and Other Emerging Blood Biomarkers to Optimize Risk Stratification of Vulnerable Patients. Journal of the American College of Cardiology. 47(8), C19–C31.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Uchiyama S., Shibata Y., Hirabayashi T., Mihara B., Hamashige N., Kitagawa K., Goto S., Origasa H., Shimada K., Kobayashi H., Isozaki M y Ikeda Y (2010). Risk factor profiles of stroke, myocardial infarction, and atrial fibrillation: a Japanese Multicenter Cooperative Registry. J Stroke Cerebrovasc Dis 19(3):190-197.

- Urakawa I., Yamazaki Y., Shimada T., Iijima K., Hasegawa H., Okawa K., Fujita T, Fukumoto S y Yamashita T Nature. (2006). Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. Dec 7; 444(7120):770-4.

- Ureña-Torres PA y De Brauwere DP (2011). Three feedback loops precisely regulating serum phosphate concentration. Kidney Int. 80(5):443-5.

- Van der Wal AC., Becker AE., van der Loos C y Das PK (1994). Site of intimal ruptura or erosion of thrombosed coronary atherosclerotic plaques is characterized by an inflammatory process irrespective of the dominant plaque morphology. Circulation. Jan; 89(1):36-44.

- Van Venrooij NA., Pereira RC., Tintut Y., Fishbein MC., Tumber N., Demer LL., Salusky IB y Wesseling-Perry K. (2014). FGF23 protein expression in coronary arteries is associated with impaired kidney function. Nephrology Dialysis Transplantation, 29(8), 1525–1532.

- Vattikuti R y Towler DA. (2004) Osteogenic regulation of vascular calcification: an early perspective. Am J PhysiolEndocrinol Metab 286: E686-E696.

- Villar Álvarez F., Banegas Banegas JR., Rodríguez Artalejo F y Del Rey Calero J. (1998). Mortalidad cardiovascular en España y sus comunidades autónomas (1975-1992). Med Clin (Barc). 110:321-7.

- Vervloet MG., van Zuilen AD., Blankestijn PJ., Ter Wee PM y Wetzels JF. (2012). Fibroblast growth factor 23 is associated with proteinuria and smoking in chronic kidney disease: An analysis of the MASTERPLAN cohort. Bio Med Central Nephrology. 24:13–20.

- Virchow R. (1989). Cellular pathology. As based upon physiological and pathological histology. LectureXVI- Atheromatous affection of arteries. Nutr Rev 47:23-25.

- Virmani R., Kolodgie FD., Burke AP., Farb A ySchwartz SM. (2000). Lessons from sudden coronary death: a comprehensive morphological classification scheme for atherosclerotic lesions. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 20:1262-75.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Voigt M., Fischer DC., Rimpau M., Schareck W y Haffner D. (2010). Fibroblast growth factor (FGF)-23 and fetuin-A in calcified carotid atheroma. Histopathology, 56(6), 775–788.

- Wang H., Yoshiko Y., Yamamoto R., Minamizaki T., Kozai K., Tanne K y Maeda, N. (2008). Overexpression of Fibroblast Growth Factor 23 Suppresses Osteoblast Differentiation and Matrix Mineralization In Vitro. Journal of Bone and Mineral Research, 23(6), 939–948.

- Weisberg SP., McCann D., Desai M., Rosenbaum M., Leibel RL y Ferrante AW. (2003). Obesity is associated with macrophage accumulation in adipose tissue. Journal of Clinical Investigation, 112(12), 1796–1808.

- Wesseling-Perry K., Pereira RC., Wang H., Elashoff RM., Sahney S., Gales B y Salusky, IB. (2009). Relationship between Plasma Fibroblast Growth Factor-23 Concentration and Bone Mineralization in Children with Renal Failure on Peritoneal Dialysis. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 94(2), 511–517.

- Wexler L., Brundage B., Crouse J., Detrano R., Fuster V., Maddahi J., Rumberger J., Stanford W., White R y Taubert K. (1996). Coronary artery calcification: pathophysiology, epidemiology, imaging methods, and clinical implications. A statement for health professionals from the American Heart Association. Writing Group. Circulation 94(5):1175-92.

- William A., Murphy Jr ., Dieter zur Nedden Dz ., Gostner P., Knapp R., Recheis W., H. Seidler H. (2003). El hombre de hielo. Descubrimiento e imágenes. Radiology. 226:614–629.

- Willerson JT y Ridker PM. (2004) Inflammation as a cardiovascular risk factor. Circulation. 109 21 Supl 1: II2-10.

- Wilson PW., Kauppila LI., O'Donnell CJ., Kiel DP., Hannan M., Polak JM y Cupples LA. (2001). Abdominal aortic calcific deposits are an important predictor of vascular morbidity and mortality. Circulation 103(11):1529-34

- Winkel TA., Hoeks SE., Schouten O., Zeymer U., Limbourg T., Baumgartner I., Bhatt DL., Steg PG., Goto S., Röther J., Cacoub PP., Verhagen HJ., Bax JJ y Poldermans D. (2010). Prognosis of atrial fibrillation in patients with symptomatic peripheral arterial disease: data from the REduction of Atherothrombosis for Continued Health (REACH) Registry. Eur J Vasc Endovasc Surg 40(1):9- 16.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

- Wojcik M., Dolezal-Oltarzewska K., Janus D., Drozdz D., Sztefko K y Starzyk JB. (2012). FGF23 contributes to insulin sensitivity in obese adolescents - preliminary results. Clinical Endocrinology, 77(4), 537–540.

- Wojcik M., Janus D., Dolezal-Oltarzewska K., Drozdz D., Sztefko K y Starzyk JB. (2012-II). The association of FGF23 levels in obese adolescents with insulin sensitivity. Journal of Pediatric Endocrinology and Metabolism. 25(7-8).

- Wolf Myles (2009).Fibroblast growth factor 23 and the future of phosphorus management. Curr Opin Nephrol Hypertens. 2009 nov;18(6):463-8

- Wolf M. (2010). Forging Forward with 10 Burning Questions on FGF23 in Kidney Disease. Journal of the American Society of Nephrology. 21(9), 1427–1435.

- Wolf M., Molnar MZ., Amaral AP., Czira ME., Rudas A., Ujszaszi A y Mucsi I. (2011). Elevated Fibroblast Growth Factor 23 is a Risk Factor for Kidney Transplant Loss and Mortality. Journal of the American Society of Nephrology, 22(5), 956–966

- World Health Statistics, 2018

- Wyss CA., Neidhart M., Altwegg L., Spanaus KS., Yonekawa K., Wischnewsky MB y Maier W. (2010). Cellular actors, Toll-like receptors, and local cytokine profile in acute coronary syndromes. European Heart Journal, 31(12), 1457–1469

- Xiao W., Hodge DR., Wang L., Yang X., Zhang X y Farrar WL. (2004) NF-kappaB activates IL-6 expression through cooperation with c-Jun and IL6-AP1 site, but is independent of Its IL6- NFkappaB regulatory site in autocrine human multiple myeloma cells. Cancer Biol Ther. 3.

- Yamagishi S., Fujimori H., Yonekura H., Tanaka N y Yamamoto H. (1999). Advanced Glycation Endproducts Accelerate Calcification in Microvascular Pericytes. Biochemical and Biophysical Research Communications, 258(2), 353–357

- Yamashita T., Yoshioka M y Itoh N. (2000). Identification of a Novel Fibroblast Growth Factor, FGF-23, Preferentially Expressed in the Ventrolateral Thalamic Nucleus of the Brain. Biochemical and Biophysical Research Communications, 277(2), 494–498.

- Yamashita T. (2005). Structural and biochemical properties of fibroblast growth factor 23. Ther Apher Dial 9, 313–318.

- Yamazaki Y., Okazaki R., Shibata M., Hasegawa Y., Satoh K., Tajima T y Fukumoto S. (2002). Increased Circulatory Level of Biologically Active Full-Length FGF-23 in Patients

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

with Hypophosphatemic Rickets/Osteomalacia. The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism, 87(11), 4957–4960.

- Yang H., Curinga G y Giachelli CM. (2004). Elevated extracellular calcium levels induce smooth muscle cell matrix mineralization in vitro. Kidney Int 66:2293–2299.

- Yoshiko Y., Wang H., Minamizaki T., Ijuin C., Yamamoto R., Suemune S y Maeda N. (2007). Mineralized tissue cells are a principal source of FGF23. Bone, 40(6), 1565–1573.

- Zalba G, Beaumont J, San José G, Fortuno A, Fortuno MA y Díez J. (2005). Vascular oxidant stress: molecular mechanisms and pathophysiological implications. J Physiol Biochem. 56:57-64.

- Zhang Q., Doucet M., Tomlinson R. E., Han X., Quarles LD., Collins MT y Clemens TL. (2016). The hypoxia-inducible factor-1α activates ectopic production of fibroblast growth factor 23 in tumor-induced osteomalacia. Bone Research, 4(1).

- Zhu D., Mackenzie NC., Millán JL., Farquharson C y MacRae VE. (2011). The appearance and modulation of osteocyte marker expression during calcification of vascular smoothmuscle cells. PLoS One 6(5): e19595

- Zhu D., Mackenzie NC. W., Millan JL., Farquharson C y MacRae VE. (2013). A protective role for FGF-23 in local defence against disrupted arterial wall integrity? Molecular and Cellular Endocrinology, 372(1-2), 1–11.

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22

Universidad de La Laguna
Oficina de Sede Electrónica
Entrada
Nº registro: 2021/94549
Nº reg. oficina: OF002/2021/93511
Fecha: 10/09/2021 13:41:08

Este documento incorpora firma electrónica, y es copia auténtica de un documento electrónico archivado por la ULL según la Ley 39/2015.
Su autenticidad puede ser contrastada en la siguiente dirección https://sede.ull.es/validacion/

Identificador del documento: 3785837 Código de verificación: Vgtj4cgg

Firmado por:	CAROLINA HERNANDEZ CARBALLO *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	Fecha: 09/09/2021 10:14:05
	Javier Donate Correa *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:11:43
	Juan Francisco Navarro González *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	09/09/2021 13:37:05
	María de las Maravillas Aguiar Aguilar *UNIVERSIDAD DE LA LAGUNA*	11/11/2021 09:34:22