

# Rol de Klotho y FGF23 en la regulación del fosfato y calcio plasmático

Luis Toro C.

*Servicio de Medicina Interna, HCUCh.*

**SUMMARY** Recently, two proteins have been discovered, named Klotho and FGF23, which are involved in several physiologic phenomena. One of the most relevant is the reduction of phosphatemia and the increase of phosphaturia. This effect is mainly caused by the activation of the membrane receptor FGFR1 by a joined action of Klotho and FGF23 (called Klotho/FGF23 pathway). It has been proved that Klotho/FGF23 suppresses production and secretion of parathyroid hormone (PTH) in parathyroid gland, reduces active vitamin D levels by inhibition of 1 $\alpha$ -hydroxylase synthesis and increased expression of 24-hydroxylase in the kidney. It is also described that FGF23 expression is promoted by active vitamin D and plasmatic phosphate. Because of that, it has been proposed the existence of a bone-kidney-parathyroid endocrine axis, which regulates serum phosphate levels. Although it has not been studied yet, it is likely that Klotho and FGF23 also have a role in regulation of serum calcium levels, due to the effects of Klotho/FGF23 over key calcium regulators. The discovery of Klotho/FGF23 axis has expanded our knowledge concerning the endocrine mechanisms of the calcium-phosphate metabolism, and it might also help in the development of new clinical approaches and treatments of calcium and phosphate disorders.

## INTRODUCCIÓN

La regulación de la homeostasis del calcio y fosfato plasmático es un mecanismo fisiológico indispensable y sus alteraciones producen efectos graves sobre la excitabilidad, contractilidad y otras funciones celulares. Su alteración está involucrada en múltiples fenómenos fisiopatológicos y clínicos que pueden involucrar morbimortalidad en los pacientes que los padecen. El control del metabolismo calcio-fosfato es integrado y depende de la interacción fisiológica de la glándula paratiroides, hueso y riñón, regulada por la acción endocrina de varias hormonas, principalmente vitamina D y hormona paratiroidea (PTH).

En condiciones fisiológicas, la disminución del calcio plasmático genera aumento de la secreción de PTH, la cual incrementa la reabsorción de calcio y fosfato del túbulo renal<sup>(1)</sup>, aumenta la liberación ósea de calcio y fosfato por aumento de actividad osteoclástica<sup>(2)</sup>, y eleva la conversión renal de vitamina D inactiva (25-hidroxi vitamina D) a vitamina D activa (1,25-dihidroxi vitamina D)<sup>(3)</sup>, que incrementa la reabsorción gastrointestinal de calcio y fosfato, lo que normaliza la calcemia. Si existe hipofosfemia, aumenta la actividad de 1 $\alpha$ -hidroxilasa que eleva la cantidad de vitamina D activa y estimula la absorción gastrointestinal de calcio y fosfato; la elevación de calcio inhibe PTH, lo que lleva a que la retención renal de calcio sea baja mientras que la de fosfato sea alta, lo que normaliza la fosfemia<sup>(23)</sup>.

Sin embargo, el modelo clásico propuesto no logra explicar adecuadamente el mecanismo de regulación para descender el calcio y fosfato plasmático (la hormona hipocalcémica calcitonina tiene un escaso rol en la regulación fisiológica del calcio, tanto en humanos como en otras especies)<sup>(24)</sup>. Esto ha hecho plantear la existencia de otros mediadores endocrinos involucrados, los cuales se encuentran actualmente en investigación.

Dentro de estos potenciales mediadores, destacan 2 proteínas descubiertas en los últimos 15 años que han demostrado efectos relevantes en la regulación del fosfato plasmático (y en menor grado, con el calcio plasmático), llamadas Klotho y FGF23. Estas moléculas actúan en forma conjunta, interactuando con los componentes del modelo clásico, logrando un efecto hipofosfatémico.

El objetivo de esta revisión es describir las características generales de Klotho y FGF23, y sus efectos en la regulación de la homeostasis del fosfato plasmático, junto con su potencial rol en la regulación del equilibrio del calcio plasmático.

## KLOTHO

Klotho es un gen descubierto en 1996 que fue identificado inicialmente en ratones transgénicos que expresaban un fenotipo particular, interpretado como similar al envejecimiento humano prematuro<sup>(1,2,15)</sup>. Ellos presentaban una supervivencia muy disminuida respecto a ratones controles (mortalidad de 100% a los 100 días), retraso del crecimiento, enfisema pulmonar, atrofia tímica, atrofia gonadal, sarcopenia, atrofia cutánea, arteriosclerosis, osteoporosis, calcificación ectópica, hipercalcemia, hiperfosfatemia e hipervitaminosis D<sup>(15)</sup>. Estos ratones tenían inhibida la expresión de un gen localizado en el cromosoma 13, el que fue denominado Klotho, la diosa griega que hacía girar el telar del hilo de la vida.

## ESTRUCTURA Y EXPRESIÓN DE KLOTHO

Klotho se encuentra en el cromosoma 13q12 en el ratón y el hombre. Consta de 5 exones y 4 intrones y mide más de 50 Kb. El transcrito del gen tiene un tamaño de 5,2 Kb; por *splicing* alternativo se obtienen 2 transcritos, uno que da origen a una proteína transmembrana de 1012 aminoácidos y el otro, a una proteína secretable de 549 aminoácidos<sup>(13)</sup>. En el ratón, la expresión de Klotho transmembrana predomina por sobre la proteína secretada, mientras que en el hombre, se origina principalmente la isoforma secretable<sup>(13,17)</sup>. Ambas formas presentan actividad  $\beta$ -glucuronidasa<sup>(2)</sup>, relevante en algunos efectos de Klotho, detallados más adelante.

El gen Klotho se expresa predominantemente en el riñón, principalmente a nivel de las células del túbulo distal<sup>(13)</sup>. Otros sitios donde se expresa, en niveles significativamente menores, son las células endodiales del plexo coroideo cerebral, hipófisis, glándula paratiroidea, músculo esquelético, placenta, vejiga, colon, oído interno, nodo sinoauricular, páncreas, testículo y ovario<sup>(1,13)</sup>.

La existencia de una isoforma transmembrana y una secretada, además de la evidencia de alteraciones descritas en el ratón Klotho<sup>-/-</sup> en órganos donde no hay expresión de Klotho, hizo plantear que Klotho tuviera una acción endocrina, lo cual ha sido demostrado en estudios posteriores, teniendo un rol significativo en la interacción con FGF23<sup>(14)</sup>.

## FGF23

FGF23 (*fibroblast growth factor 23*) es un gen descubierto en 2000, localizado en el cromosoma 12p13 en el hombre, que codifica para una proteína secretable de 250 aminoácidos<sup>(19,20)</sup>. Es sintetizada fundamentalmente en el hueso por los osteocitos, y es capaz de activar el receptor FGFR1, ubicado en la membrana plasmática<sup>(14)</sup>.

Está involucrado en la regulación hormonal del fosfato plasmático, generando hipofosfatemia e hiperfosfatemia<sup>(2,3)</sup>. Disminuye la reabsorción de fosfato en el túbulo proximal renal al reducir los niveles del cotransportador sodio-fosfato tipo 2a (NaPi-2a) en la membrana apical<sup>(7)</sup>. Además reduce la síntesis de vitamina D por supresión de la expresión del gen *Cyp27b1* que codifica para la enzima 1 $\alpha$ -hidroxilasa, la cual transforma la forma inactiva de vitamina D en vitamina D activa, y también por aumento de la expresión del gen *Cyp24* que codifica para la enzima 24-hidroxilasa, la cual inactiva vitamina D<sup>(2)</sup>. Junto con esto, FGF23 inhibe la expresión y secreción de PTH, sintetizada en las glándulas paratiroides, la cual aumenta la síntesis de vitamina D y los niveles de fosfato plasmático<sup>(4)</sup>.

Los efectos de FGF23 y su capacidad de disminuir los niveles plasmáticos de fosfato y la expresión de vitamina D y PTH, han hecho plantear la existencia de un *feedback* negativo en la regulación del fosfato plasmático, que involucra riñón, hueso y glándulas paratiroides (denominado eje endocrino hueso-riñón-paratiroides)<sup>(4)</sup>, en el cual FGF23 (junto con Klotho) tendría un rol importante en la regulación de los mecanismos de disminución de la fosfatemia, frente a un aumento del fosfato plasmático.

### KLOTHO Y FGF23

En el estudio de ratones transgénicos KO para FGF23, se descubrió que éstos presentaban un fenotipo de características similares al ratón *Klotho*<sup>-/-</sup> (baja sobrevivencia, retraso de crecimiento, hipogonadismo, atrofia tímica, sarcopenia, atrofia cutánea, enfisema pulmonar, osteoporosis, hipercalcemia, hiperfosfatemia e hipervitaminosis D)<sup>(12)</sup>. Esto hizo plantear la existencia de una vía de transducción de señales común para Klotho y FGF23.

Estudios posteriores mostraron que Klotho era capaz de unirse a FGFR1 (receptor de FGF23), y más aún, Klotho sería un coreceptor obligatorio

de FGF23<sup>(2,14)</sup>. Análisis bioquímicos han demostrado que la afinidad de FGF23 por su receptor es muy baja, y dadas las concentraciones plasmáticas de FGF23 en condiciones fisiológicas, no sería capaz de generar transducción de señales al unirse al receptor. Sin embargo, al agregar Klotho, la afinidad del receptor aumenta significativamente y permite la activación de FGFR1 con concentraciones fisiológicas de FGF23<sup>(14,16)</sup>.

Estudios posteriores han confirmado estos resultados, lo que se ha denominado como la vía Klotho/FGF23. Dada la evidencia actual, ésta sería la principal responsable de los efectos sobre el fosfato plasmático mediados por FGF23. Aunque recién se comienza la caracterización de sus mecanismos de acción, actualmente es aceptado que los efectos de Klotho están dados principalmente por acciones sobre la vía de señalización Wnt, la vía de señalización insulina/factor de crecimiento insulino-simil (IGF1) y la señalización mediada por el factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23), por la activación del receptor FGFR1<sup>(1,2,9)</sup>. Esta última tiene un rol esencial en la regulación de la homeostasis del fosfato plasmático, elemento clave en el desarrollo del fenotipo de envejecimiento precoz del ratón *Klotho*<sup>-/(4,10)</sup>.

FGFR1 es un receptor canónico de múltiples FGFs, que Klotho lo convierte en un receptor específico para FGF23<sup>(14)</sup>. Activa múltiples vías de transducción de señales como PI3K/AKT, JAK/STAT y MAPK. Se expresa en múltiples tejidos como riñón, paratiroides, cerebro, músculo estriado, pulmón, mama y próstata, entre otros.

### MECANISMO DE REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE FGF23

Estudios recientes han demostrado que vitamina D aumenta la expresión de FGF23. La administración parenteral de 1,25-dihidroxi vitamina D en ratones aumenta los niveles plasmáticos de FGF23

en pocas horas. Esto sería dado por la unión de vitamina D al receptor nuclear de vitamina D (VDR), que induce heterodimerización de VDR con el receptor nuclear RXR. Este complejo se une al promotor del gen de FGF23 e induce su transcripción<sup>(4)</sup>.

Los niveles plasmáticos de fosfato también aumentan la expresión de FGF23. Se ha observado que el aporte elevado de fosfato en la dieta aumenta los niveles plasmáticos de FGF23, tanto en ratones como en humanos. El mecanismo involucrado en esto no ha sido determinado hasta la fecha<sup>(1,2)</sup>.

Se ha observado en estudios clínicos observacionales que la elevación de los niveles plasmáticos de FGF23 está asociada de forma independiente a mayor mortalidad a 1 año en pacientes con insuficiencia renal crónica terminal que inician hemodiálisis<sup>(11)</sup>. Más aún, los niveles de FGF23 se elevan previo al ascenso del fosfato plasmático (otro marcador independiente de mayor mortalidad en estos pacientes), lo que lo ha sugerido la existencia de una resistencia a la acción de FGF23 en pacientes con insuficiencia renal crónica, que sería previa al aumento de fosfato plasmático, pudiendo ser esta proteína un potencial marcador de pronóstico en pacientes con insuficiencia renal crónica<sup>(4)</sup>.

#### **MECANISMO DE REGULACIÓN DE LA EXPRESIÓN DE KLOTHO**

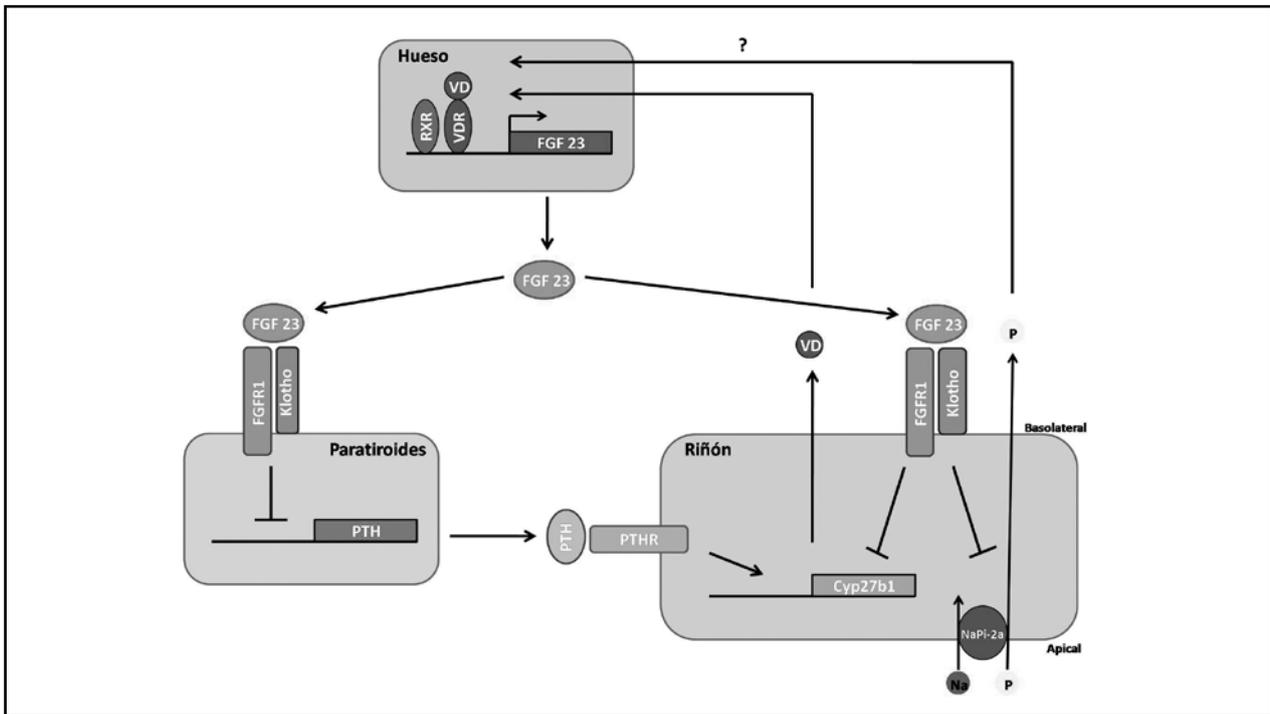
Hasta la fecha existe poca información sobre los mecanismos reguladores de la expresión de Klotho. En ratas, la expresión de Klotho a nivel prenatal está prácticamente ausente, pero posterior al nacimiento sube significativamente<sup>(2)</sup>. Se ha observado en ratones que la administración de 1,25-dihidroxi vitamina D aumenta la expresión de Klotho en el riñón<sup>(22)</sup>. Además, se ha probado en ratones, que el descenso del calcio extracelular aumenta la expresión de Klotho<sup>(6)</sup>.

Se sabe que en determinadas condiciones patológicas, los niveles de Klotho están disminuidos. Esto se ha observado en modelos murinos de hipertensión arterial espontánea, nefrectomía 5/6, diabetes mellitus no insulino-requiere, ratas con infarto agudo al miocardio y modelos de isquemia-reperfusión<sup>(2)</sup>. Junto con esto, se ha visto que el aumento de los niveles plasmáticos de angiotensina II y el aumento del estrés oxidativo por H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> disminuyen la expresión renal de Klotho<sup>(2,18)</sup>. En humanos, se ha observado que Klotho también está disminuido en pacientes con insuficiencia renal crónica. Finalmente se ha probado que el uso de estatinas en ratas previene la disminución de la expresión de Klotho renal secundaria a inhibición de la enzima óxido nítrico sintasa (NOS)<sup>(21)</sup>. Esta evidencia ha planteado que la expresión de Klotho es regulado en forma inversa por el estrés oxidativo, lo cual todavía está en investigación.

#### **KLOTHO Y FGF23 EN LA REGULACIÓN DEL METABOLISMO DEL FOSFATO**

Con la información disponible se ha planteado la existencia de un sistema de regulación endocrina de los niveles plasmáticos de fosfato, mediado por reguladores clásicos, como vitamina D y PTH, y nuevas moléculas como Klotho y FGF23, que funciona con una regulación de *feedback* negativo (eje endocrino hueso-riñón-paratiroides)<sup>(1,2,4)</sup>.

El modelo propuesto a la fecha se resume en la Figura 1. La elevación de los niveles plasmáticos de fosfato y el aumento de vitamina D generan un incremento de la síntesis de FGF23 en el osteocito. Esta molécula actúa en la glándula suprarrenal y el riñón, interactuando con el receptor FGFR1, activando la vía de señalización de FGF. En este receptor, Klotho tiene un rol importante como correceptor que aumenta la afinidad de FGF23 (este rol podría ser dado tanto por la forma transmembrana como por la forma secretada de Klotho). En la célula paratiroidea, la vía de



**Figura 1.** Eje endocrino hueso-riñón-paratiroides.

El aumento de la fosfatemia (y el aumento de vitamina D plasmática) elevan la expresión de FGF23. Éste activa el receptor FGFR1 (colocalizando con Klotho), en la glándula paratiroides, inhibiendo la expresión de PTH, y en el riñón, inhibiendo la expresión de Cyp27b1 (que aumenta la expresión de  $1\alpha$ -hidroxilasa) y disminuye los niveles del cotransportador sodio-fosfato tipo 2a (NaPi-2a) en la membrana apical tubular. Esto lleva a la disminución de los niveles de vitamina D activa y aumento de la fosfatemia, con descenso de la fosfatemia. Al descender la fosfatemia, disminuye la expresión de FGF23 del hueso, lo que regula el mecanismo homeostático.

VD: Vitamina D PTHR: Receptor de hormona paratiroidea P: Fosfato ? : Mecanismo no precisado.

señalización inhibe la síntesis y liberación de PTH (esta hormona aumenta la síntesis de vitamina D renal). En el riñón, la activación de la vía Klotho/FGF23 disminuye la expresión de Cyp27b1 (la cual codifica para la síntesis de  $1\alpha$ -hidroxilasa, que genera la forma activa de vitamina D), lo que disminuye los niveles plasmáticos de vitamina D activa; también aumenta la expresión de Cyp24, que aumenta la expresión de 24-hidroxilasa que inactiva vitamina D. Finalmente Klotho/FGF23 también disminuye la expresión del cotransportador NaPi-2a, bajando la reabsorción tubular de fosfato y aumentando la excreción renal de fosfato. En suma, el descenso de los niveles plasmáticos de PTH y vitamina D, más la disminución de reabsorción de fosfato, llevarán a un descenso de los niveles plasmáticos de fosfato, lo que frenará la síntesis de

FGF23 y se mantendrá la homeostasis del sistema. Es posible que la expresión de Klotho también sea regulada por los niveles plasmáticos de fosfato; sin embargo, hasta la fecha no hay estudios que hayan demostrado esto.

### KLOTHO Y FGF23 EN LA REGULACIÓN DEL METABOLISMO DEL CALCIO

Existe evidencia sugerente que Klotho y FGF23 tendrían un rol en la regulación del equilibrio del calcio plasmático, pero hasta la fecha no es claro cómo sería efectuado. A continuación se resumen parte de estos datos.

Se ha observado que tanto el ratón Klotho<sup>-/-</sup> como el ratón FGF23<sup>-/-</sup> presentan hipercalcemia y calcificación ectópica dentro de su fenotipo<sup>(12,15)</sup>.

Además, como se ha señalado previamente, Klotho y FGF23 disminuyen la expresión de hormonas claves para la regulación del calcio plasmático, como vitamina D y PTH<sup>(4)</sup>.

Junto con esto, se ha demostrado que Klotho regula la actividad del canal de calcio TRPV5 (*transient receptor potential cation channel, subfamily V*)<sup>(2)</sup>. Este canal está presente en la membrana apical del túbulo distal renal y es uno de los principales responsables de la reabsorción renal de calcio. La administración de Klotho recombinante al medio de cultivo de células HEK293 que expresan TRPV5, aumenta los niveles de TRPV5 en la membrana plasmática y la corriente de entrada de calcio. El mecanismo propuesto involucra la acción  $\beta$ -glucuronidasa de Klotho, que hidrolizaría residuos de azúcar de TRPV5, lo que aumentaría su retención en la membrana plasmática e incrementaría la reabsorción de calcio del túbulo distal<sup>(2)</sup>.

Finalmente, se ha visto que Klotho aumenta la actividad de Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPasa en la membrana plasmática frente a la disminución del calcio extracelular. Esto tiene como resultado aumento de la reabsorción renal de calcio, y aumento de la secreción de PTH en la glándula suprarrenal<sup>(5,6,8)</sup>.

Estos datos son sugerentes que Klotho tendría múltiples acciones sobre el equilibrio del calcio plasmático que involucra efectos hipo e hipercalcemiantes. Una hipótesis planteada para explicar esto dice que los efectos hipercalcemiantes de Klotho (aumento de actividad de TRPV5, Na<sup>+</sup>-K<sup>+</sup>-ATPasa y aumento de PTH) serían efectos de corto plazo (segundos a horas), mientras que los efectos hipocalcemiantes, dependientes de FGF23 (inhibición de PTH y vitamina D), serían a largo

plazo (horas a días)<sup>(6,8)</sup>. Los mecanismos regulatorios de este sistema todavía no han sido precisados, ni se conoce a la fecha si estos fenómenos se desarrollan en modelos humanos, lo que requiere de mayor estudio.

## CONCLUSIONES

Klotho y FGF23 tienen una acción sobre una vía común de señalización intracelular, que requiere de ambas proteínas para su activación. Los efectos de la vía Klotho/FGF23 en los niveles plasmáticos de fosfato, han permitido plantear la existencia de un eje endocrino hueso-riñón-paratiroides, que regula la homeostasis del fosfato. Este modelo propone la existencia de un *feedback* negativo clásico que es capaz de responder frente a los cambios de la concentración plasmática del fosfato plasmático, para alcanzar niveles normales, similar a otros mecanismos homeostáticos como la regulación de la glicemia.

Si bien no hay evidencia concluyente actualmente, es probable que Klotho y FGF23 también tengan un rol regulatorio de la homeostasis del calcio plasmático, dado los efectos en estructuras involucradas en la regulación de la calcemia. Son necesarios más estudios para poder definir su rol en este fenómeno.

Finalmente, los efectos descubiertos de Klotho y FGF23 han mostrado que incluso en mecanismos fisiológicos conocidos por largo tiempo existen todavía preguntas científicas relevantes que aún no han sido contestadas, y requieren de más investigación, que finalmente se traducirán en un mayor entendimiento de la fisiología humana, y eventualmente en el desarrollo de nuevas terapias médicas.

## REFERENCIAS

1. Kuro-O M. Klotho. *Pflugers Arch* 2010;459:333-43.
2. Wang Y, Sun Z. Current understanding of Klotho. *Ageing Research Reviews* 2009;8:43-51.
3. Nabeshima Y. Toward a better understanding of Klotho. *Sci Aging Knowledge Environ* 2006;2006(8):pe11.
4. Kuro-O M. Klotho in chronic kidney disease-What's new? *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:1705-8.
5. Imura A, Tsuji Y, Murata M, Maeda R, Kubota K, Iwano A *et al.*  $\alpha$ -Klotho as a regulator of calcium homeostasis. *Science* 2007;316:1615-8.
6. Nabeshima Y, Imura H.  $\alpha$ -Klotho: A regulator that integrates calcium homeostasis. *Am J Nephrol* 2008;28:455-64.
7. Segawa H, Yamanaka S, Ohno Y, Onitsuka A, Shiozawa K, Aranami F *et al.* Correlation between hyperphosphatemia and type II Na-Pi cotransporter activity in klotho mice. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007;292:F769-F779.
8. Nabeshima Y. Discovery of  $\alpha$ -Klotho unveiled new insights into calcium and phosphate homeostasis. *Proc Jpn Acad* 2009;85:125-41.
9. Kuro-O M. Endocrine FGFs and Klothos: emerging concepts. *Trends Endocrinol Metab* 2008;19:239-45.
10. Razzaque MS. FGF23-mediated regulation of systemic phosphate homeostasis: is Klotho an essential player? *Am J Physiol Renal Physiol* 2009;296:F470-F476.
11. Gutierrez O, Mannstadt M, Isakova T, Rauh-Hain JA, Tamez H, Shah A *et al.* Fibroblast growth factor 23 and mortality among patients undergoing hemodialysis. *NEJM* 2008;359:584-92.
12. Sitara D, Razzaque MS, Hesse M, Yoganathan S, Taguchi T, Erben R *et al.* Homozygous ablation of fibroblast growth factor-23 results in hyperphosphatemia and impaired skeletogenesis, and reverses hypophosphatemia in Phex-deficient mice. *Matrix Biology* 2004;23:421-32.
13. Matsumura Y, Aizawa H, Shiraki-Itda T, Nagai R, Kuro-O M, Nabeshima Y. Identification of the human Klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted klotho protein. *Biochem Biophys Res Commun* 1998;242:626-30.
14. Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, Iijima K, Hasegawa H, Okawa K *et al.* Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature* 2006;444:770-4.
15. Kuro-O M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T *et al.* Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature* 1997;390:45-51.
16. Kurosu H, Ogawa Y, Miyoshi M, Yamamoto M, Nandi A, Rosenblatt KP *et al.* Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by Klotho. *J Biol Chem* 2006;281:6120-3.
17. Shiraki-Iida T, Aizawa H, Matsumura Y, Sekine S, Iida Akihiro, Anazawa H *et al.* Structure of the mouse klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted protein. *FEBS Letters* 1998;424:6-10.
18. Mitani H, Ishizaka N, Aizawa T, Ohno M, Usui S, Suzuki T *et al.* In vivo klotho gene transfer ameliorates angiotensin ii-induced renal damage. *Hypertension* 2002;39:838-43.
19. Stewler GJ. FGF23, hypophosphatemia, and rickets: Has phosphatonin been found? *PNAS* 2001;98:5945-6.

20. Tsagalis G, Psimenou E, Manios E, Laggouranis A. Fibroblast growth factor 23 (FGF23) and the kidney. *Int J Artif Organs* 2009;32:232-9.
21. Kuwahara N, Sasaki S, Kobara M, Nakata T, Tatsumi T, Irie H *et al.* HMG-CoA reductase inhibition improves anti-aging klotho protein expression and arteriosclerosis in rats with chronic inhibition of nitric oxide synthesis. *Int J Cardiol* 2008;123:84-90.
22. Tsujikawa H, Kurotaki Y, Fujimori T, Fukuda K, Nabeshima Y. Klotho, a gene related to a syndrome resembling human aging, functions in a negative regulatory circuit of vitamin D endocrine system. *Molecular Endocrinology* 2003;17:2393-403.
23. Baker SB, Worthley LIG. The essentials of calcium, magnesium and phosphate metabolism: Part I. *Physiology. Crit Care Resusc* 2002;4:301-6.
24. Hirsch PF, Lester GE, Talmage RV. Calcitonin, an enigmatic hormone: does it have a function? *J Musculoskel Neuron Interact* 2001;1:299-305.

**CORRESPONDENCIA**

Dr. Luis Toro Cabrera  
Servicio de Medicina Interna  
Hospital Clínico Universidad de Chile  
Santos Dumont 999, Independencia, Santiago  
Fono: 978 8243  
E-mail: ltoro@med.uchile.cl

