



**Universitat de les  
Illes Balears**

Facultat de Ciències

**Memòria del Treball de Fi de Grau**

# La calcificació cardiovascular com a diana terapèutica al pacient de diàlisi

Sandra Iñiguez Muñoz

**Grau de Bioquímica**

Any acadèmic 2016-17

DNI de l'alumne: 78771707L

Treball tutelat per Miguel David Ferrer Reynés  
Departament de Biologia Fonamental i Ciències de la Salut

S'autoritza la Universitat a incloure aquest treball en el Repositori Institucional per a la seva consulta en accés obert i difusió en línia, amb finalitats exclusivament acadèmiques i d'investigació	Autor		Tutor	
	Sí	No	Sí	No
	X		X	

Paraules clau del treball:

Calcificación cardiovascular, enfermedad renal crónica, diálisis, mortalidad, eventos cardiovasculares



## ÍNDICE

<b>Abstract</b> .....	<b>1</b>
<b>Abreviaturas</b> .....	<b>1</b>
<b>Introducción</b> .....	<b>2</b>
<b>Objetivos</b> .....	<b>3</b>
<b>Materiales y métodos</b> .....	<b>3</b>
<b>REVISIÓN</b>	
<b>1. Calcificación cardiovascular (CCV)</b> .....	<b>4</b>
1.1. Mineralización fisiológica.....	4
1.2. Mineralización patológica.....	5
1.3. Mecanismos de calcificación.....	6
1.3.1. Potenciadores de la calcificación.....	6
1.3.2. Inhibidores de la calcificación.....	7
1.3.3. Transformación de VSMC en <i>osteoblast-like cells</i> .....	8
1.4. Tipos de calcificación cardiovascular.....	8
1.4.1. Calcificación de la túnica íntima.....	9
1.4.2. Calcificación de la túnica media.....	9
1.5. Técnicas para medir CCV.....	10
<b>2. Enfermedad renal crónica (CKD) y <i>end-stage renal disease</i> (ESRD)</b> .....	<b>11</b>
2.1. Calcificación cardiovascular en ESRD y diálisis (HD).....	11
2.1.1. Tipos de calcificación en ESRD/HD (vasos afectados,...).....	11
2.1.2. Progresión de calcificación en ESRD/HD.....	12
2.1.2.1. Factores de riesgo tradicionales.....	13
2.1.2.2. Factores de riesgo no tradicionales.....	13
<b>3. Eventos cardiovasculares y mortalidad asociada a la CCV</b> .....	<b>16</b>
3.1. Población general.....	16
3.2. ESRD/HD.....	17
<b>4. Tratamiento contra la CCV en ESRD/HD (eficacia contra mortalidad)</b> .....	<b>20</b>
4.1. <i>Phosphate binders</i> .....	20
4.2. <i>Calcimiméticos</i> .....	22
4.3. Calcidiol y activadores del receptor de la vitamina D.....	22
4.4. Nuevos tratamientos en desarrollo.....	24
<b>5. Conclusiones</b> .....	<b>26</b>
<b>Bibliografía</b> .....	<b>26</b>

## ABSTRACT

Clásicamente, la calcificación cardiovascular (CCV) había sido considerada un proceso meramente pasivo tanto a nivel fisiológico como patológico. Esta afirmación fue rechazada cuando se vio que en este proceso participaban de forma conjunta toda una serie de vías y señales proinflamatorias. En el momento en el que se produce una desregulación en la mineralización, sobre todo en los tejidos blandos, la CCV resulta patológica ya que hace que los tejidos vasculares pierdan propiedades para mantener la hemodinámica. Dentro de la CCV se puede distinguir la calcificación en la túnica íntima (asociada a procesos ateroscleróticos) y en la media (en pacientes con insuficiencia renal). Este tipo de pacientes presentan una progresión de la CCV, existiendo una relación

entre los eventos a nivel cardiovascular y la mortalidad, ya que el riesgo de muerte se ve incrementado de forma exponencial con la presencia de una disfunción renal. Numerosos estudios publicados en estos últimos años ponen de manifiesto que la CCV es un predictor independiente de mortalidad. Se han realizado ensayos con diferentes tratamientos (*phosphate binders*, *calcimiméticos*, análogos de la vitamina) en pacientes con insuficiencia renal crónica y/o en diálisis con el fin de establecer la CCV como una posible diana terapéutica. Existen resultados positivos al administrar sevelamer y *phosphate binders* en esta población de pacientes. Pero, aun así todavía se requieren de muchos más ensayos que confirmen los efectos beneficiosos en esta población de pacientes.

## ABREVIACIONES

<b>CCV</b>	Calcificación cardiovascular	<b>TC</b>	Tomografía computarizada
<b>CKD</b>	Enfermedad renal crónica	<b>MRI</b>	Imagenología de resonancia magnética
<b>ESRD</b>	Enfermedad renal en etapa terminal	<b>TCMD</b>	Tomografía computarizada multidetector o multicorte
<b>HD</b>	Hemodiálisis	<b>EBCT</b>	Tomografía computarizada de haz de electrones
<b>MBDs</b>	Trastornos minerales y óseos	<b>DXA</b>	Absorción de rayos X de energía dual
<b>NPP2</b>	Nucleótido difosfatasa/fosfodiesterasa	<b>CUA</b>	Arteriopatía cálcica uraémica
<b>PPi</b>	Pirofosfato inorgánico	<b>HVI</b>	Hipertrofia del ventrículo izquierdo
<b>Pi</b>	Fosfato inorgánico	<b>AGE</b>	<i>Advanced Glycation End Product</i>
<b>ANKH</b>	Homólogo de Ankylosis en ratón	<b>PTH</b>	Hormona paratiroidea
<b>PHOSPHO</b>	Fosfoetanolamina/fosfocolina fosfatasa	<b>FGF</b>	Factor de crecimiento fibroblástico
<b>PCho</b>	Fosfocolina	<b>ROS</b>	<i>Reactive species oxygen</i>
<b>PEA</b>	Fosfoetanolamina	<b>PMCA1b</b>	Bomba de calcio de la membrana plasmática
<b>TNAP</b>	Fosfatasa alcalina no específica de tejido	<b>NCX-1</b>	Sodium-calcium exchanger
<b>LDL</b>	Lipoproteína de baja densidad	<b>MAC</b>	Calcificación mitral anular
<b>HDL</b>	Lipoproteína de alta densidad	<b>AVS</b>	Válvula aórtica esclerótica
<b>MGP</b>	Proteína de la matriz GLA	<b>BAC</b>	Calcificación de la arteria mamaria
<b>OPG</b>	Osteoprotegerina	<b>VFGe</b>	Velocidad de filtración glomerular estimada
<b>CPP</b>	Calciproteína	<b>TFG</b>	Tasa de filtración glomerular
<b>TNF</b>	Factor de necrosis tumoral soluble	<b>SCD</b>	Muerte cardíaca súbita
<b>RANKL</b>	Receptor de citoquinas del ligando kappa-B del factor nuclear	<b>PD</b>	Pacientes de diálisis peritoneal
<b>TRAIL</b>	Ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF	<b>SH</b>	Sevelamer hidrocloreuro
<b>VSMC</b>	Células musculares lisas vasculares	<b>SC</b>	Sevelamer carbonato
<b>C-VSMC</b>	Células musculares lisas vasculares calcificadas	<b>LC</b>	Carbonato de lantano
<b>PA</b>	Fosfatasa alcalina	<b>STS</b>	Tiosulfato sódico
<b>BASMC</b>	Células del músculo liso aórtico bovino	<b>BMP</b>	Proteína morfogénica ósea
<b>DM</b>	Diabetes Mellitus	<b>ECM</b>	Matriz extracelular
<b>VCi</b>	Calcificación túnica íntima	<b>VCm</b>	Calcificación túnica media
<b>MMS</b>	Esclerosis medial de Mönckeberg	<b>ALE</b>	<i>Advanced Lipo-oxidation End Product</i>
<b>VDRA</b>	Receptores de vitamina D		

## INTRODUCCIÓN

La calcificación fisiológica es un proceso propio del desarrollo que tiene lugar de forma continua, compleja y regulada, manteniendo los tejidos duros tales como los dientes o los huesos. Por el contrario, la mineralización sobre tejidos blandos puede tener lugar cuando la calcificación se encuentra desregulada en condiciones patológicas, pudiendo llegar a tener repercusiones sobre el sistema cardiovascular. La calcificación cardiovascular (CCV) puede ser consecuencia de la cristalización de hidroxiapatita en la pared de los vasos sanguíneos, pero hay que tener en cuenta que presenta diferentes localizaciones anatómicas e histológicas. Inicialmente, se pensaba que se trataba de un proceso meramente pasivo. Este hecho se puso en duda, ya que estudios posteriores revelaban que era un proceso activo y no una única entidad, y que se encontraba regulado por una amplia gama de vías de señalización moleculares, las cuales han sido objeto de estudio estos últimos años. Se ha visto que la CCV se debe primera instancia a una sobresaturación plasmática de fosfato y calcio, aunque también se encuentra relacionada con procesos de diferenciación de las células de la musculatura lisa que se encuentran envolviendo los vasos y una rediferenciación posterior de dichas células a osteoblastos. Además de ello existen otros factores que regulan la mineralización, tales como procesos hormonales (vitamina D, leptina...), factores metabólicos (uremia, dislipemia), iónicos (calcio, magnesio, fosfato) o farmacológicos (heparina, warfarina, *phosphate binders*). Además la genética también podría verse involucrada en el desarrollo de esta patología<sup>1</sup>, incluso se han llegado a identificar algunos de los genes responsables y la superposición de fenotipos.<sup>2</sup>

La vasculatura necesita elasticidad así como distensibilidad para hacer posible el mantenimiento de la hemodinámica. La mineralización que se produce en los vasos hace que éstos pierdan estas propiedades que los caracterizan, teniendo importantes consecuencias biomecánicas en la función del sistema circulatorio. Por ejemplo, la rigidez en exceso de los vasos afecta a la vasomoción. La patología de la CCV se conoce desde hace muchos años. A pesar de ello, no ha estado considerada una diana terapéutica ya que no ha sido hasta recientemente que han comenzado a aparecer una serie de evidencias que ponen de manifiesto que esta calcificación podría estar relacionada con el desarrollo de enfermedades cardiovasculares y tener una causa directa con la mortalidad. La prevalencia de CCV y la incidencia de eventos cardiovasculares, son dos complicaciones propias de la enfermedad renal crónica (CKD), una asociación positiva que ha sido demostrada, ya que el riesgo de muerte aumenta exponencialmente con la disminución de la función renal de forma progresiva. Se tiene constancia de todo ello gracias al estudio en el campo nefrótico y los avances recientes en las nuevas técnicas de imagen. Aun así, todavía no se disponen de herramientas clínicas suficientes que eluciden los procesos patológicos subyacentes. Se confirma que pacientes con CKD desarrollan CCV a una velocidad superior debido a una serie de factores como la aterosclerosis, envejecimiento y senescencia entre otras. Aunque no existen tratamientos indicados para tratar la CCV, la progresión de la ésta podría verse atenuada en enfermos con CKD que son tratados con *phosphate binders* y calcimiméticos.

Actualmente parece clara la asociación epidemiológica existente entre la cantidad y la progresión de la CCV y la presencia de eventos cardiovasculares y mortalidad, pero no

existe una terapia sobre pacientes de diálisis (HD), que vaya destinada a tratar esta patología.

## **OBJETIVOS**

Los objetivos que se pretenden alcanzar con este trabajo son los siguientes:

1. Realizar una búsqueda bibliográfica sobre el proceso de CCV y las relaciones entre ésta y los eventos cardiovasculares y la mortalidad.
2. Redactar una revisión bibliográfica sobre el tema, concretamente orientada hacia pacientes de diálisis y concluir si esta patología cardiovascular podría postularse como una posible diana terapéutica en estos pacientes.

## **MATERIALES Y MÉTODOS**

### **Búsqueda bibliográfica**

Para la realización de esta memoria se han empleado fundamentalmente los buscadores online PubMed y Google Academy, y otros como Embase, Medline y Scielo. Inicialmente, se hizo una búsqueda general sobre la calcificación cardiovascular. Para la realización de dicha búsqueda se introdujeron las siguientes palabras clave: “*cardiovascular calcification*”. A continuación, se filtró la búsqueda con la finalidad de que las palabras clave aparecieran en el título: “*cardiovascular calcification [Title]*”. Y seguidamente se procedió a profundizar en el tema con la búsqueda “*physiological mineralization*”; “*calcification mechanisms*”; “*calcification mechanisms AND enhancers AND inhibitors*”; “*calcification AND transformation osteoblast-like cells*”; “*cardiovascular calcification classification*”; “*calcification diagnosis techniques*”; “*chronic renal disease AND calcification*”; “*end-stage renal disease AND calcification*”; “*dialysis and calcification*”; “*calcification AND risk factors*”; “*cardiovascular events AND mortality AND cardiovascular calcification*”; “*phosphate binders and CKD*”; “*Treat to Goal AND sevelamer*”; “*Kawashima studio*”; “*calcimimetics AND EVOLVE*”; “*VDRA AND calcification*”; “*Denosumab AND calcification*”; “*Sodium thiosulfate AND calcification*”; “*Bisphosphonates AND calcification*”

Los filtros empleados en PubMed para la realizar estas búsquedas han sido en función de título [Title], Text Availability [Abstract], Languages [English] [Spanish]. También se filtró acotando los años de los artículos publicados en estas últimas décadas. Para la búsqueda de tratamientos, se tuvieron en cuenta artículos que fueran publicados en la última década. Los artículos se encontraban publicados en revistas como *Kidney International*, *Journal of the American Society of Nephrology*, *Therapeutic Apheresis and Dialysis*, *Nephrol Dial Transplant*, *Osteoporosis International*, *Clinical Nephrology*, *American Journal of Kidney Diseases*, *BioMed Research International*, *Clinical and Experimental Nephrology*, *Revista Colombiana de Cardiología*, *Nephron*, *PLoS One*, *Radiology*, entre otras.

### **Selección de la bibliografía**

A la hora de hacer la selección de la bibliografía, se tuvieron en cuenta los objetivos a comentar en cada uno de los apartados del trabajo, para sí seleccionar los títulos y *abstract* de todos los artículos identificados. Finalmente, las publicaciones

describir de forma general la calcificación cardiovascular, así como su clasificación, potenciadores e inhibidores, factores de riesgo, etcétera. También, conocer el mecanismo fisiopatológico de la enfermedad. Informar sobre las manifestaciones clínicas y las complicaciones adversas de la calcificación cardiovascular en pacientes con enfermedad renal crónica y/o pacientes en diálisis, y su asociación con eventos cardiovasculares y la tasa de mortalidad. Y por supuesto, describir las diferentes técnicas que permiten el diagnóstico de la enfermedad y los tratamientos que hacen posible que la calcificación cardiovascular en la población de pacientes en cuestión, sea una potente diana terapéutica.

## **Extracción de datos**

Tras realizar la búsqueda literaria, la memoria monográfica se ha hecho con una selección de alrededor un centenar entre artículos y *reviews* seleccionados gracias a los criterios de inclusión. Las últimas han resultado imprescindibles para el desarrollo del trabajo. Todas las publicaciones escogidas se encargaron de cumplir con los criterios de inclusión y se emplearon para extraer los datos y para realizar la evaluación metodológica. Se excluyeron artículos en función del año de publicación (si había sido publicado hace más de 20 años). Para la realización del trabajo, también se ha excluido los artículos en los que se detallaba la calcificación asociada al proceso aterosclerótico y se ha seguido un criterio de inclusión con los artículos en los que se hablaba de la calcificación en la población de pacientes en cuestión.

## **1. CALCIFICACIÓN CARDIOVASCULAR**

Se conoce por CCV a la desregulación del metabolismo, visto como un proceso activo en el que actúan vías y señales proinflamatorias no excluyentes entre sí. De forma clásica, la CCV había sido considerada un proceso pasivo relacionado con el envejecimiento, alteraciones metabólicas como la Diabetes Mellitus o la enfermedad renal. Tras una serie de estudios, se comprobó que este hecho no era cierto, que la CCV estaba regulada de una forma similar a la mineralización ósea. Evidencias a nivel bioquímico, histológico y genético ponen de manifiesto que la CCV implica moduladores tanto positivos como negativos. Existe una mineralización fisiológica, pero en el momento en el que es inapropiada, puede provocar serios problemas tales como la estenosis valvular y la arteriosclerosis. También es reconocido como un marcador de la carga de la placa aterosclerótica.<sup>3</sup> Los tejidos duros (hueso, dientes, cartílago de la placa de crecimiento) son los que presentan una mineralización fisiológica, mientras que los tejidos blandos la tienen patológica.

### **1.1. Mineralización fisiológica**

La biomineralización es un proceso natural en el que la hidroxiapatita (cristales de fosfato cálcico) se deposita en la matriz extracelular (*Figura 1*) de tejidos duros. En primer lugar, se forman los cristales de hidroxiapatita en el interior de las vesículas de la matriz de la membrana superficial de osteoblastos, odontoblastos y condrocitos proliferativos e hipertróficos.<sup>4</sup> Dichas vesículas tienen un rol muy importante, aunque las señales que emiten no están del todo bien elucidadas. Estructuralmente son ricas en fosfolípidos, entre los que destaca la fosfatidilserina ya que presenta gran afinidad con  $\text{Ca}^{2+}$ . También tienen el cotransportador de fosfato de  $\text{Na}^+$  (tanto en la membrana celular como en la vesícula),

una nucleótido difosfatasa/fosfodiesterasa (NPP1), colágeno, Ca ATPasa y anexinas, responsables de la formación del canal de calcio en las vesículas. PHOSPHO1 es una fosfatasa no anclada a la membrana se encuentra en el lumen de la vesícula hidrolizando la fosfocolina (PCho) y la fofotanolamiena (PEA).

A continuación, hay una propagación de la hidroxiapatita, que requiere cantidad suficiente de  $\text{Ca}^{2+}$ , y Pi para la formación continua de los cristales. Finalmente se produce la deposición de los cristales entre las fibras de colágeno. El pirofosfato inorgánico (PPi) es generado por NPP1 y es transportado al exterior celular gracias a ANKH. El PPi extracelular inhibe la formación de la hidroxiapatita.<sup>5</sup> En este momento entra en juego la fosfatasa alcalina no específica de tejido (TNAP) que tiene como función la hidrolización del PPi, dando lugar a Pi con el fin de promover la mineralización. El equilibrio entre ambos es crítico para el proceso de mineralización. La TNAP tiene como sustratos fisiológicos el PPi, la PEA y también, el fosfato de piridoxal, los cuales se acumulan ante la deficiencia de esta enzima.<sup>6</sup>

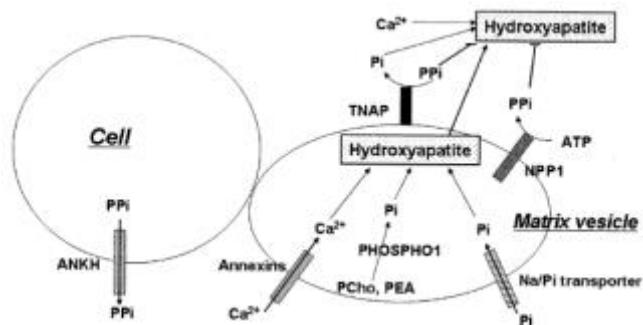


Figura 1. Esquema proceso mineralización fisiológica.<sup>6</sup>

Por tanto, para que se dé una correcta mineralización, tienen que cumplirse tres condiciones:

1. Presencia de una adecuada matriz extracelular.
2. Concentraciones bajas de inhibidores de la mineralización (PPi).
3. Concentraciones adecuadas de iones Ca y P.

El modelo que se ha tenido en cuenta en este apartado es diferente a la hipótesis clásica propuesta por el equipo de Hale J en el año 1987, en que la nucleación del cristal ocurre dentro de las vesículas después de que se den los microvilli.<sup>7</sup>

## 1.2. Mineralización patológica

Contrastando con la mineralización fisiológica, la patológica se da en tejidos blandos como son los tejidos cardiovasculares, el cartílago articular y el riñón. Eventos como el envejecimiento guardan cierta relación con esta mineralización desregulada. Con la edad, aumenta la expresión de la calpaina-1 y metaloproteinasa 2 en la íntima de la aorta. Estas dos proteínas se encuentran implicadas en la fibrosis de la pared vascular, pero también favorecen la calcificación de la matriz extracelular.<sup>8</sup> Durante el envejecimiento, cambia el balance entre las metaloproteinasas y sus inhibidores, favoreciendo la rigidez articular, teniendo como consecuencias la mortalidad, entre otras.

Estructuralmente, la matriz extracelular del cartílago presenta mayoritariamente colágeno de tipo II, y también elevadas cantidades de proteoglicanos responsables de su elasticidad ante las fuerzas de compresión. La red de colágeno del cartílago podría no ser suficiente para restringir el paso de proteínas inhibitorias del proceso de mineralización.



La mineralización patológica afecta principalmente a la válvula aórtica, las arterias coronarias y las arterias periféricas, lo que se asocia con un mayor riesgo de mortalidad, en la que intervienen factores como la diabetes, el sexo, la edad, la CKD y el tabaquismo.

La mineralización lesiva de las arterias se observa frecuentemente en las placas ateroscleróticas, produciendo una disfunción de la pared del vaso, asociándose a hipertensión.<sup>9</sup> La microcalcificación sobre las placas podría producir microfracturas e incluso la rotura de la placa, conduciendo a trombosis aguda, estenosis e incluso a la muerte del miocardio debido a la insuficiencia cardíaca y a la obstrucción del flujo ventricular.<sup>10 11</sup>

### 1.3. Mecanismos de calcificación

Estudios histológicos, genéticos y bioquímicos revelan que la CCV se encuentra regulada de forma activa gracias a moduladores negativos y positivos. El objeto de estudio de estos últimos años han sido los mecanismos implicados en la CCV, entre los que se incluye la pérdida de inhibición, la inducción de la formación ósea, los complejos nucleadores circulantes y la muerte celular.<sup>3</sup> Se ha visto que los mecanismos que subyacen a la mineralización patológica y a la fisiológica, comentada anteriormente, son similares. Existe una evidencia que sugiere que los mecanismos implicados en este proceso son también similares a la formación ósea embrionaria.<sup>12</sup>

#### 1.3.1. Potenciadores de la calcificación

Existen una serie de factores implicados en la potenciación de la calcificación, incluyendo la modificación fenotípica de las células musculares lisas, cuya expresión se asemeja a la diferenciación osteoblástica (*Figura 2*). Las zonas de tejidos blandos que la sufren presentan semejanzas con el hueso más allá de la arquitectura tisular. De esta forma, se ha detectado expresión de proteínas propias de hueso como osteocalcina, sialoproteína ósea o TNAP en la pared de la arteria, además de la proteína morfogénica ósea BMP-2, osteoponina y osteonectina. La deposición del mineral comienza cuando la osteoponina está disminuyendo, sin embargo, la osteoponina y la osteocalcina no se expresan hasta que el mineral no ha comenzado a depositarse.<sup>13</sup>

Otro factor a tener en cuenta es el metabolismo del calcio y del fosfato. Estudios ponen de manifiesto que una hiperfosfatemia y una alta concentración de calcio favorecían la aparición de calcificación. Altos niveles de fosfato promueven la diferenciación osteoblástica en células de músculo liso *in vitro* empleando un cotransportador de fosfato dependiente de sodio, el conocido como Pit-1. La expresión de Pit-1 se veía acentuada al aplicar a las células un factor de crecimiento derivado de plaquetas, poniendo de manifiesto que, ante valores normales de fosfato, también puede desencadenarse la calcificación aterosclerótica.<sup>14</sup> La placa aterosclerótica puede promover la estimulación de la mineralización.

Por otro lado, se ha visto que la presencia de lipoproteínas de baja densidad (LDL) oxidadas y productos de oxidación de fosfolípidos favorecen la calcificación cardiovascular.<sup>1</sup> Esto es así ya que los lípidos son capaces de favorecer la resorción de minerales en los osteoclastos. Estudios ponen de manifiesto que la reducción de los lípidos se asociaba a una reducción en la progresión de la calcificación coronaria.<sup>15</sup> No hay

que pasar por alto la presencia del estrés oxidativo, ya que es un factor a tener en cuenta porque promueve la oxidación de lípidos y por lo tanto, favorece la calcificación. Este efecto del estrés oxidativo se ve atenuado por el suministro de antioxidantes.<sup>16</sup> Patologías como la diabetes disminuyen el estado antioxidante, por lo que potencia los efectos causados por el estrés oxidativo, significativamente en la arteria coronaria.<sup>17</sup> Todo esto se asocia a un proceso inflamatorio, en el que en respuesta a los depósitos lipídicos se ven implicados monocitos, macrófagos y fagocitos, entre otros componentes del sistema inmune. En pacientes con enfermedad coronaria se han visto macrófagos rodeando la arteria que presenta depósitos de calcio,<sup>18</sup> los cuales son capaces de promover la diferenciación osteoblástica en las células vasculares. Las moléculas de adhesión, tales como la E-selectina, fueron asociadas a la calcificación coronaria, aunque únicamente en mujeres de menos de 50 años de edad.<sup>19</sup>

### 1.3.2. Inhibidores de la calcificación

En cuanto a la inhibición de la calcificación entran en juego los inhibidores de la formación de fosfato de cálcico, los cuales pueden ser iones orgánicos, inorgánicos e incluso proteínas. Como se ha comentado, el PPI es capaz de prevenir la formación de cristales de hidroxapatita y la calcificación. También existen los bifosfonatos, análogos de PPI, que se caracterizan por tener un período de acción superior. Existen evidencias experimentales que ponen de manifiesto que los bifosfonatos inhiben la calcificación vascular, tanto en animales como en humanos. En los inhibidores orgánicos destaca el citrato y el oxalacetato, ambos quelantes de calcio, que inhiben la calcificación a través de la disminución del calcio iónico disponible para formar los cristales de hidroxapatita. Por otro lado, proteínas como la fetuina-A, la proteína de la matriz GLA (MGP) y la osteoprotegerina (OPG) también actúan como inhibidores (Figura 2) a través de diferentes mecanismos.



**Figura 2. Agonistas e inhibidores en el proceso de calcificación vascular del VSMC.**<sup>113</sup> El dibujo se acompaña con una imagen histológica de una pared arterial afectada por la calcificación (áreas de color azul).

La fetuina-A es una proteína extracelular y se cree que actúa uniéndose a pequeñas partículas de fosfato de calcio, formando los complejos conocidos como calciproteínas (CPP) e inhibiendo su crecimiento. Además, presenta propiedades anti-inflamatorias.<sup>20</sup> La proteína MGP también previene la mineralización arterial. Estudios revelan que ratones con deficiencia de MGP sufren osificación en la arteria aorta, poniendo de manifiesto su función.<sup>1</sup> El equipo de investigación de Bostrom demostró que la MGP inhibe la actividad de BMP-2.<sup>21</sup> La proteína MGP necesita de la actividad de una g-carboxilasa, la cual es dependiente de vitamina K. Esta actividad es bloqueada por la warfarina (inhibidor de la regeneración de la vitamina K), por lo que cuando se administra este medicamento, la MGP está poco carboxilada y no es capaz de inhibir la mineralización provocada por BMP-2. Cabe comentar la OPG, un receptor de la

superfamilia del factor de necrosis tumoral soluble (TNF) que actúa inhibiendo al activador del receptor de citoquinas del ligando kappa-B del factor nuclear (RANKL), así como al ligando inductor de apoptosis relacionado con TNF (TRAIL).<sup>22</sup> Por ello se dice que es un inhibidor de la osteoclastogénesis. La OPG también se produce por las células musculares lisas de la vasculatura (VSMC).<sup>23</sup> Estudios con roedores a los que se les había inducido calcificación vascular gracias a warfarina y dosis tóxicas de vitamina D mostraron que la OPG inhibe de forma significativa la mineralización.<sup>24</sup> Por último, otro antagonista de la calcificación vascular sería la BMP-7.<sup>25</sup> Esta proteína morfogénica ósea ha demostrado comportarse como una defensa eficaz en modelos animales con CKD. Actúa inhibiendo la desdiferenciación de las células epiteliales tubulares, la apoptosis y la transformación mesenquimal. Se encarga de preservar la integridad glomerular y de restablecer las tasas normales de formación ósea, así como de mantener la homeostasis iónica ante una CKD.

### 1.3.3 Transformadores de VSMC en *osteoblast-like cells*

Las VSMCs son un conjunto de células contráctiles que se ubican en la capa media de la pared vascular. Este tipo de células puede transdiferenciarse en células vasculares calcificadas (C-VSMCs), también conocidas como *osteoblast-like cells*. Para que esto sea posible, las células tienen que perder los marcadores responsables de la contractibilidad de células de la musculatura lisa. En un estudio en el que se empleó un modelo de cultivo con células del músculo liso aórtico bovino (BASMC), se encontró que los marcadores del linaje de células musculares como SM22 $\alpha$  y  $\alpha$  actina se veían reducidos ante la presencia de la mineralización. Sin embargo, genes restringidos en los tejidos mineralizados como la osteocalcina y la osteoponina, entre otras, se veían aumentadas en este tipo de células. Cabe mencionar que, en dicho estudio, se observó que el ARNm y la actividad de unión del factor de transcripción imprescindible para que tenga lugar la morfogénesis ósea, Cbfa1, se veía elevado en VSMCs.<sup>27</sup> Otra alteración que pueden sufrir las VSMCs sería la de entrar en una especie de estado sintético donde abunda la síntesis de proteínas de la matriz extracelular (ECM), favoreciendo la calcificación a través de vesículas.<sup>28</sup> Se cree que la calcificación patológica es una forma análoga de la mineralización ósea en que las VSMCs entran en un programa de diferenciación similar al que tiene el osteoblasto, a pesar de ello, este mecanismo todavía presenta una gran serie de incógnitas todavía por descubrir.

## 1.4. Tipos de calcificación cardiovascular

La calcificación cardiovascular puede clasificarse en dos tipos según la localización en la pared del vaso. Por un lado, la calcificación de la túnica íntima (VCi) y por otro la calcificación de la túnica media (VCm), ambas determinadas por diferentes factores. La VCi se asocia a procesos ateroscleróticos mientras que la VCm recoge una serie de condiciones patológicas distintas con etologías diferentes pero que desembocan en una consecuencia común: la mineralización de la túnica media.

VCs types	Topography		Lesion calcify		Risk factors		Main molecular cascade	
	Systemic	Territorial	Early	Late	Traditional	Other	Inflammatory	Varied
Media	(X)	XX	XXX		X		(X)	
Intima	XXX			XXX	XXX		XXX	XXX

Tabla 1. Características de los dos tipos de calcificación vascular.<sup>114</sup>

Tal y como se observa en la Tabla 1, y se detalla a continuación, existen diferencias evidentes entre ambos tipos de VCs, aunque frecuentemente las dos formas coinciden llegando a solaparse.

#### 1.4.1. Calcificación de la túnica íntima

La calcificación de la túnica íntima (*Figura 3*) es mucho más sistemática con aparición tardía de la lesión. Causada principalmente por los factores de riesgo tradicionales (apartado 2.1.3.1) y son las cascadas moleculares de carácter inflamatorio las responsables. Ocurre en el proceso de aterosclerosis asociada con lípidos, macrófagos y VSMC. La microcalcificación fomenta la VCI ya que atrae a los macrófagos a las placas ateroscleróticas.<sup>29</sup> En este proceso se altera el esfuerzo mecánico local de cizallamiento.



**Figura 3. Calcificación lineal de la íntima asociada a una placa ateromatosa.**<sup>115</sup> La imagen se ha obtenido gracias a la técnica de ecografía carotídea.

#### 1.4.2. Calcificación de la túnica media

Este tipo de calcificación es mucho más territorial topográficamente, y la lesión se aprecia de forma temprana. Intervienen otros factores de riesgo además de los que son los tradicionales y las cascadas moleculares implicadas en el proceso patológico son variadas. Existen factores de carácter genético, padecer enfermedades como la Diabetes Mellitus (DM) o la enfermedad renal crónica, que favorecen el proceso de la VCM. Por histología se confirma que la VCM afecta las arterias elásticas de gran tamaño como es la aorta ascendente, las arterial viscerales de los riñones y a las pequeñas arterias de transición con un diámetro inferior a 0.5 mm.

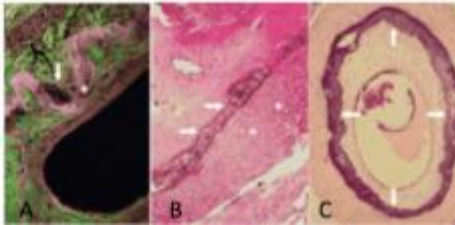
Dentro de la VCM existe un subtipo, la esclerosis medial de Mönckeberg (MMS), la cual se localiza en las arterias de las extremidades y se asocia a la DMII y a la enfermedad renal en etapa terminal (ESRD). Estudios revelan que la VCM es un fuerte predictor independiente de la mortalidad cardiovascular en pacientes con DMII recién diagnosticada. La prevalencia de VCM de estos pacientes fue de 17%, sin embargo, para pacientes con DMII ya establecida y que estaban siendo tratados con antidiabéticos orales, la prevalencia fue del 41.5%. Sin embargo, al observar a los pacientes con ESRD, la prevalencia fue del 27%.<sup>30</sup> La VCM se encuentra asociada a otras muchas enfermedades como serían el caso de la osteoporosis, la enfermedad de Kawasaki (en niños menos a 5 años de edad)<sup>31</sup>, artritis reumatoide<sup>32</sup>, beta-talasemia<sup>33</sup>, y síndrome de Singleton-Merten.<sup>34</sup>

Cabe comentar que existen 4 estados diferentes de la MMS con aspectos histológicos diferentes (*Figura 4*):

- **Estado I:** se producen calcificaciones granulares en la parte elástica de la membrana interna y calcificación de las células musculares lisas vasculares.
- **Estado II:** las calcificaciones ya son de tamaño creciente, e incluso confluentes. Las placas sólidas son capaces de distorsionar la vasculatura e incluso se extienden hasta la circunferencia incompleta. Existe una asociación de hiperplasia subendotelial en la capa íntima.
- **Estado III:** las calcificaciones distorsionan progresivamente la arquitectura de los medios formando grandes conglomerados de calcificaciones que derivan en placas

o vainas sólidas. Se dan, de forma común, las intrusiones en la íntima. Continúa progresando la asociación de hiperplasia.

- **Estado IV:** ya hay calcificación grave y focos de formación ósea, lo que se conoce como metaplasia ósea.



**Figura 4. Imágenes microscópicas de los estados de MMS en la capa media.**<sup>114</sup> En la imagen A se representa el estado I en una arteria femoral con un microscopio de fluorescencia, 400x. La flecha señala la VCm mientras que el asterisco señala la membrana elástica interna. En B, se observa el estado II marcado con hematoxilina-eosina, 40x. En la imagen C, se observa que la calcificación en estado III repercute a la estructura de toda la circunferencia de una arteria anterior tibial, hematoxilina-eosina.

### 1.5. Técnicas para medir CCV

Existe una necesidad de comprender el proceso de CCV, por lo que se requieren de nuevas modalidades de imagen que lo hagan posible. Aunque actualmente todavía no queda muy bien definida cuál es la mejor técnica que se debe utilizar para el diagnóstico. Hoy en día, la CCV temprana se puede visualizar gracias a imágenes convencionales no invasivas como la tomografía computarizada (TC), la imagenología de resonancia magnética (MRI) y la ecocardiografía. Detectar la CCV de manera temprana no sólo es fundamental para elucidar los mecanismos que subyacen a este proceso, sino para determinar si la enfermedad es o no reversible. La TC es capaz de detectar calcificaciones irregulares, aunque esta técnica no es capaz de predecir la vulnerabilidad de una placa aterosclerótica estenótica. Emplear TC supone unos altos costes, un tiempo relativamente largo y la dosis de radiación es relevante. Por estos motivos, muchas veces en la práctica clínica se prefiere el uso de rayos X, la radiología convencional. Este método es mucho más barato y práctico, aunque presenta limitaciones como la capacidad de identificar el depósito calcificado y la definición de la imagen resultante, ya que identifica la calcificación en estado tardío. Otras técnicas tradicionales empleadas sería la ecografía y la angiografía. La primera presenta la ventaja de estudiar también la presencia de placas de ateroma, pero tiene como limitación que no puede ser aplicada en todos los territorios vasculares, además no es capaz de distinguir entre VCi y VCm. Sin embargo, la segunda, únicamente aporta información de la luz vascular y no de la pared.

Otras técnicas como la tomografía computarizada multidetector o multicorte (TCMD) o la tomografía computarizada de haz de electrones (EBCT) son las más útiles actualmente para cuantificar los depósitos de calcificación de arterias coronarias y la aorta. Aunque TCMD es una técnica no invasiva, emplea radiación y también contraste yodado, algo que puede repercutir en daños a nivel de riñón. TCMD puede proporcionar imágenes tridimensionales y sus resultados se expresan en *score* de calcio. Los pacientes con *score* de calcio mayor o igual que 400 UA tienen alta probabilidad diagnóstica de enfermedad coronaria severa. Por otro lado, la EBCT es una técnica radiológica de alta velocidad que proporciona imágenes trasaxiales del corazón. Esta técnica cuantifica el calcio coronario empleando dos escalas: la escala de Agatston, que se encuentra definida por el área y densidad de placa calcificada<sup>35</sup> y una escala volumétrica con logaritmos.<sup>36</sup> El uso de EBCT no se encuentra muy generalizado debido a su baja especificidad.



Alternativas a ellas serían la absorción de rayos X de energía dual (DXA) con el fin de detectar la calcificación de la aorta lumbar gracias a un análisis lateral. Es una técnica más barata, el tiempo de empleo es más corto y además soluciona el problema de someter a los pacientes a altas dosis de rayos X. Como desventajas cabe decir que es semicuantitativa y dependiente del operador.

## **2. ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA (CKD) y END-STAGE RENAL DISEASE (ESRD)**

En 2002, *the National Kidney Foundation's Kidney Disease Outcomes Quality Initiative* (KDOQI), definieron por primera vez la CKD, como la disminución de la función renal, expresada por una tasa de filtración glomerular (TFG) < 60 mL/min/1.73 m<sup>2</sup> SC, o bien como la presencia de daño renal durante un período de tiempo superior a 3 meses, detectado directamente gracias a técnicas histológicas de la biopsia del riñón o de forma indirecta mediante marcadores de daño renal tales como la proteinuria, e incluso sedimentos urinarios.<sup>37</sup> La CKD presenta 5 fases diferentes (*Tabla 2*), cada una de ellas se caracteriza por tener un rango diferente de TFG. Es la fase 5 la que se conoce como ESRD. Cuando un paciente se encuentra en esta fase, hay que recurrir a la terapia renal substitutiva, que puede ser la diálisis (HD) o bien, el trasplante de riñón.

<b>Fases</b>	<b>TFG (mL/min/1.73 m<sup>2</sup> SC)</b>	<b>Descripción</b>
<b>1</b>	>90	Función renal normal pero hallazgos urinarios o anomalías estructurales y rasgos genéticos que señalan la enfermedad renal
<b>2</b>	60-89	Función renal ligeramente reducida, y otros hallazgos (como en la fase 1) que señalan la enfermedad renal
<b>3A</b> <b>3B</b>	45-59 30-44	Función renal moderadamente reducida
<b>4</b>	15-29	Función renal severamente reducida
<b>5</b>	<15 en HD	Insuficiencia renal grave o en etapa terminal (llamada insuficiencia renal establecida)

*Tabla 2. Fases de la CKD.* <sup>117</sup>

### **2.1 Calcificación cardiovascular en ESRD y diálisis (HD)**

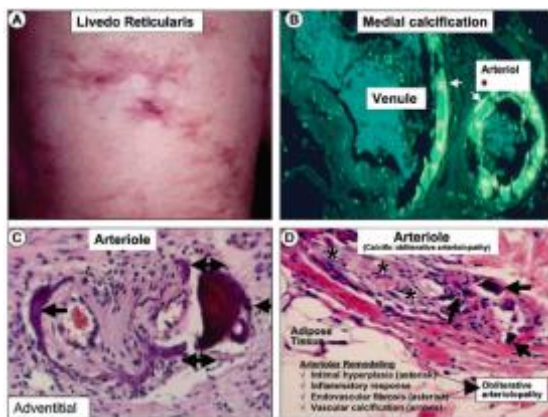
Los pacientes con CKD o ESRD tienen predisposición a presentar CCV, que puede tener lugar en diferentes localizaciones a nivel vascular. Existen una serie de factores implicados en este proceso, los cuales se detallan a continuación.

#### **2.1.1 Tipos de calcificación en ESRD/HD (vasos afectados,...)**

La calcificación puede darse en la capa íntima y en la media, siendo la segunda la que se encuentra normalmente relacionada con pacientes HD. Ésta se desarrolla de forma mayoritaria en el miocardio y el pericardio, en el sistema de conducción, en las válvulas aórtica y mitral, las arterias miocárdicas pequeñas, la aorta abdominal, torácica y las arterias coronarias.<sup>38</sup> Los mecanismos implicados en el desarrollo de estas calcificaciones, así como sus características, se han descrito en los apartados 1,3 y 1.4, respectivamente.

En pacientes ESRD/HD y con trasplantes renales puede desarrollarse además la arteriopatía cálcica uraémica (CUA), que también es conocida como calcifilaxis. Se trata

de una enfermedad grave multifactorial, rara y sistémica grave que se caracteriza por la calcificación progresiva de las arteriolas de la piel que desemboca en una necrosis isquémica local y en la aparición de úlceras. Incluso se puede llegar a una trombosis y por ello, en última instancia, se requiere de amputación.<sup>39</sup> Se diagnostica únicamente en etapas avanzadas, aunque la más precoz presenta una fase nodular con placas cutáneas calcificadas no ulceradas. Es un trastorno que afecta al 1-4% de la población HD.<sup>40</sup> Todavía no se encuentran muy elucidados los mecanismos moleculares patológicos que están implicados.



La CUA tiene lugar en la dermis y en el tejido celular subcutáneo, fundamentalmente en zonas donde hay presencia de adiposidad. Las técnicas histológicas y las biopsias ponen de manifiesto que existe una calcificación de la capa media (hasta 600 micrometros) y una proliferación de la íntima en los pequeños vasos llegando a la hiperplasia (Figura 5).<sup>41</sup>

**Figura 5. Repercusiones en la piel y hallazgos histológicos en la CUA.**<sup>42</sup> A) cambios en la piel de la parte anterior de la pierna izquierda B) Tinción H&E en la que se aprecian la calcificación medial en una arteriolo y vénula. C) CCV con tinción H&E en una localización adventicia externa. D) Remodelación arteriolar producida por CUA, se aprecia una hiperplasia de la íntima, una fibrosis endovascular además de la calcificación. Tinción H&E.

Esta localización vascular característica de la CUA, ha ayudado a la diferenciación de ésta con otras valvulopatías. Las que se encuentran asociadas a la uremia contribuyen a un empeoramiento de la hipertrofia del ventrículo izquierdo (HVI). Ésta se encuentra frecuentemente en pacientes con CKD y está relacionada con los cardiomiocitos y la fibrosis intersticial. Todo ello desemboca en una insuficiencia cardíaca diastólica/sistólica y arritmias.<sup>11</sup> La calcifilaxis también ha sido descrita en casos donde los sujetos presentaban una buena actividad renal, de ahí que en estos casos sean clasificadas como las calcifilaxis «no renales».<sup>42</sup>

En pacientes con ESRD y HD destaca también la calcificación de la válvula aórtica. Ésta se encuentra asociada a una estenosis valvular, lo que provoca una remodelación ventricular, hipertrofia y finalmente una disfunción del tejido. Por otro lado, es frecuente en este tipo de pacientes, la calcificación de la válvula mitral, llevando consigo repercusiones como la estenosis o la insuficiencia cardíaca. Personas con ESRD y HD pueden presentar ambas calcificaciones de forma simultánea.<sup>43</sup>

### 2.1.2 Progresión de calcificación en ESRD/HD y factores implicados

Los factores de riesgo implicados en la calcificación en pacientes con CKD pueden distribuirse en dos grupos, tradicionales y no tradicionales.

### 2.1.2.1 Factores de riesgo tradicionales

Dentro de los factores de riesgo tradicionales destacan la hipertensión, la dislipemia, la diabetes, la edad, la genética y el tabaquismo.

Muchos estudios clínicos no consideran la hipertensión como un factor de riesgo de la CCV, ya que la mayoría de pacientes con calcificación la presentan como una manifestación de la aterosclerosis. En cuanto a la diabetes, estudios revelan que pacientes diabéticos sometidos a un trasplante renal presentaban una mayor calcificación en comparación con los que no lo eran, ya que tenían aumentada la expresión de proteínas como la osteoponina, entre otras.<sup>44</sup> Por lo que todo ello pone de manifiesto que la CCV en la diabetes es debido, de forma parcial, a los efectos de la hiperglucemia en la transdiferenciación de VSMC. En este proceso, además de minerales, se depositan lípidos (LDL), lo que conduce a pensar que la dislipemia podría ser un factor causal. De hecho, ciertos estudios demuestran que pacientes en HD, presentan una mayor progresión de la calcificación coronaria ante una situación de dislipemia, lo que se encuentra asociado a niveles altos de triglicéridos y un nivel bajo de HDL.<sup>45</sup> En cuanto a la genética, existen polimorfismos en la población de la E-selectina y del gen de la metaloproteínasa-9 de la matriz que se asocian al desarrollo de este proceso.<sup>46</sup>

Fumar aumenta los TG y las LDL en sangre, mientras que disminuye las HDL, aumentando así el riesgo cardiovascular. La acumulación de CCV se acelera al fumar y disminuye después de dejar de fumar.<sup>47</sup> Esto se debe a que fumar provoca cambios vasculares, desembocando en una resistencia insulínica, y disminuyendo así la captación de glucosa. En este sentido, la combinación del tabaquismo con la presencia de síndrome metabólico se asocia a un riesgo mayor de padecer CCV.<sup>48</sup>

### 2.1.2.2 Factores de riesgo no tradicionales

En este grupo se incluyen factores de riesgo no tradicionales como la inflamación, el estrés oxidativo, AGE (*Advanced Glycation End Product*), ALE (*Advanced Lipo-oxidation End Product*) y el metabolismo mineral alterado.

Un paciente ESRD sufre un estrés oxidativo debido al deterioro de los mecanismos que generan la respuesta antioxidante, acelerando la producción de especies reactivas de oxígeno (ROS). Durante la insuficiencia renal crónica, se ven afectadas las vías enzimáticas (especialmente la glutatión peroxidasa), así como la concentración de moléculas con carácter antioxidante como podrían ser el selenio<sup>49</sup> y la vitamina C.<sup>50</sup> Se cree que la diálisis podría ser la responsable de la pérdida de estas moléculas. Se ha visto que en pacientes en HD hay una disminución de la actividad de la actividad glutatión peroxidasa dependiente de selenio.<sup>49</sup> Tanto las células endoteliales, como los macrófagos y VSMC producen ROS, aumentando la expresión de PTH (hormona que aumenta los niveles circulantes de calcio) y de la fosfatasa alcalina (enzima capaz de hidrolizar el inhibidor PPI en fosfato). El estrés oxidativo puede dar lugar a la formación de AGE y de ALE, los cuales se han encontrado en arterias, en tejido cardíaco, y en lesiones ateroscleróticas en pacientes con ESRD/HD.<sup>51</sup> Cabe mencionar que la formación de AGE puede ser también un detonante de la propia enfermedad renal, ya que éstos producen la reticulación entre proteínas, afectando a la función de las mismas. Estos productos se



acumulan en la pared del vaso, provocan un aclaramiento reducido y albuminuria, e incluso se puede llegar hasta un estadio de ESRD.<sup>52</sup>

Estudios demuestran que la generación endotelial de óxido nítrico (NO) también tiene cierta implicación en la vasculopatía dialítica. Un inhibidor endógeno de la enzima NO sintasa, la dimetilarginina asimétrica, se relaciona con un aumento del grosor de las arterias carótidas y mortalidad en pacientes ESRD.<sup>53</sup> Por otro lado, otro factor de riesgo no tradicional sería la inflamación, que, en pacientes con CKD, se asocia con un aumento de la mortalidad.<sup>54</sup> El aumento de citoquinas inflamatorias se relaciona con un aumento de CCV coronaria en pacientes con CKD.<sup>55</sup>

El metabolismo mineral anormal es un factor de riesgo importante a tener en cuenta, sobre todo el del calcio y el del fosfato. En condiciones normales, alrededor de un 80-90% de la carga filtrada de P se reabsorbe a nivel de túbulo proximal renal. Existen una serie de hormonas, proteínas y vitaminas que modulan dicha reabsorción, entre ellas destacan PTH, FGF-23 y la 1,25-dihidroxitamina D. Las dos primeras promueven la pérdida de P inactivando el cotransportador de Na/Pi, mientras que la dihidroxivitamina D aumenta este tipo de transportadores. Además, PTH es capaz de promover la remodelación ósea. Estos sistemas actúan de forma conjunta para mantener los niveles de P dentro de un rango (2.8-4.5 mg/dL).<sup>56</sup> Ante la presencia temprana de CKD se produce una disminución de la excreción de P, aunque los niveles séricos de P se mantienen dentro de un rango normal debido a PTH y FGF23. Conforme va disminuyendo la TFG en ESRD, se produce una excreción poco eficaz del P urinario. Todo ello desemboca en una hiperfosfatemia (fosfato  $\geq 4.6$  mg/dl), un hiperparatiroidismo secundario (PTH  $\geq 65$  pg/ml) y en un exceso de FGF23 (FGF23  $\geq 100$  RU/ml) (Figura 6).

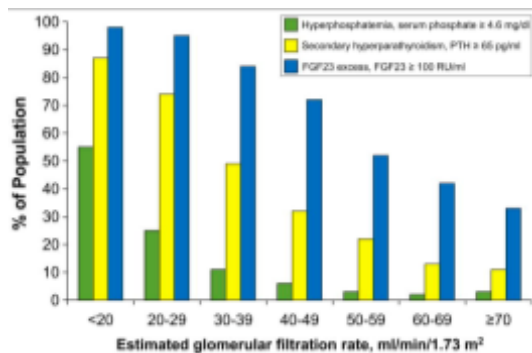
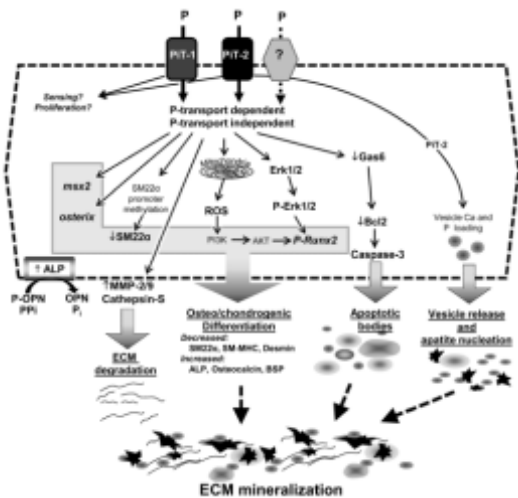


Figura 6. Prevalencia de la hiperfosfatemia, hiperparatiroidismo secundario y FGF23 elevado en relación al eGFR en un estudio con pacientes de CKD.<sup>57</sup>

Estudios demuestran que el aumento de FGF23 precede al de PTH en pacientes con CKD.<sup>57</sup> La secreción de PTH por parte de la glándula paratiroidea es regulada por la concentración extracelular de P por PiT-1 y PiT-2, dos cotransportadores de Na/Pi de tipo III (familia SLC20), encontrados en células VSMC, que favorece la formación de vesículas y la nucleación de apatita.<sup>58</sup> Todo ello favorece la trans-diferenciación de este tipo celular, desarrollando la mineralización patológica, donde se encuentran implicados los factores y proteínas comentados anteriormente en el apartado 1.3.3. (MMP2/9, catepsina S...). Estudios han puesto de manifiesto que VSMCs bovinos incubados con sueros urémicos de pacientes HD presentaban una calcificación aumentada, aunque sólo cuando tenían fósforo disponible para llevarla a cabo.<sup>59</sup> Entre otros efectos, una hiperfosfatemia es capaz de regular la mineralización de la matriz extracelular llevando a cabo una degradación de la elastina, como si se tratara de un proceso apoptótico, favoreciendo el crecimiento de



**Figura 7. Papel del Pi en la progresión de la mineralización en la ECM.**<sup>73</sup> La presencia de Pi implica la activación de una serie de vías de señalización favoreciendo la progresión de CCV y disminuyendo la actuación de los inhibidores de la calcificación. Todo ello conduce a una degradación de la ECM, una diferenciación osteo/condrogénica, un proceso apoptótico y la liberación de vesículas. En el proceso intervienen co-transportadores como PIT-1 y PIT-2, incluyendo un transporte dependiente e independiente.

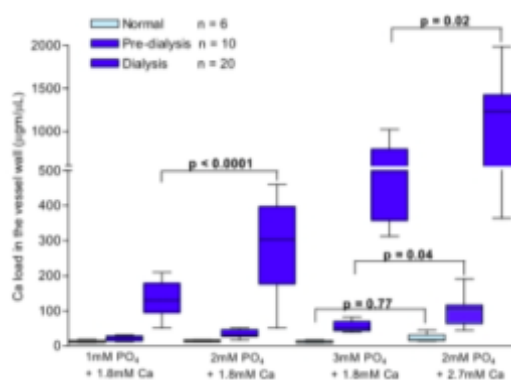
reabsorbe por el riñón gracias a procesos paracelulares y a canales como TRPV5, calbindina-D, intercambiador Na/Ca, PMCA1b y NCX-1. Los niveles de Ca en suero son controlados por la vitamina D, PTH, la proteína Klotho y calcitonina.<sup>63</sup>

La 1,25-dihidroxitamina D es capaz de aumentar el Ca del suero favoreciendo la absorción intestinal de Ca, así como reduciendo su excreción. Por su parte, PTH aumenta estos niveles favoreciendo la actividad de la alfa-hidrolasa renal y disminuye la excreción renal de Ca. Klotho también favorece la absorción de Ca gracias al canal TRPV5 en las células renales.<sup>64</sup> A diferencia de ellos, la calcitonina lo reduce. Pacientes con CKD presentan una deficiencia de 1,25-dihidroxitamina D como consecuencia de un descenso en la actividad de la alfa-hidrolasa renal, provocando una hipocalcemia, favoreciendo así la secreción de PTH, y propiciando la aparición de un hiperparatiroidismo secundario.<sup>65</sup> Sin embargo, el tratamiento de la enfermedad en su etapa terminal (que incluye vitamina D ya que la regulación de los niveles de PTH) suele llevar asociado un incremento concomitante de los niveles circulantes de Ca. Estudios demuestran la existencia de una relación entre niveles elevados de Ca sérico y el desarrollo de CCV en pacientes con ESRD.<sup>66</sup> El Ca actúa de forma sinérgica con el P para llevar a cabo la trans-diferenciación de VSMC *in vitro*.<sup>67</sup> Este sinergismo induce la

hidroxiapatita en las fibras de tipo elástico (Figura 7), Pero se ha visto *in vivo* que dicha degradación en ausencia de una carga de P, era insuficiente para desencadenar la CCV en ratones urémicos.<sup>60</sup> En este proceso apoptótico existe una regulación negativa del gen Gas6 y de su receptor Axl, un gen específico de detención del crecimiento. Una baja expresión de este gen, induce la expresión de la caspasa-3, desencadenando la formación de cuerpos apoptóticos que favorecen la mineralización patológica.<sup>61</sup> En

pacientes con HD pediátrica se observaron los vasos calcificados por la apoptosis de VSMC.<sup>62</sup>

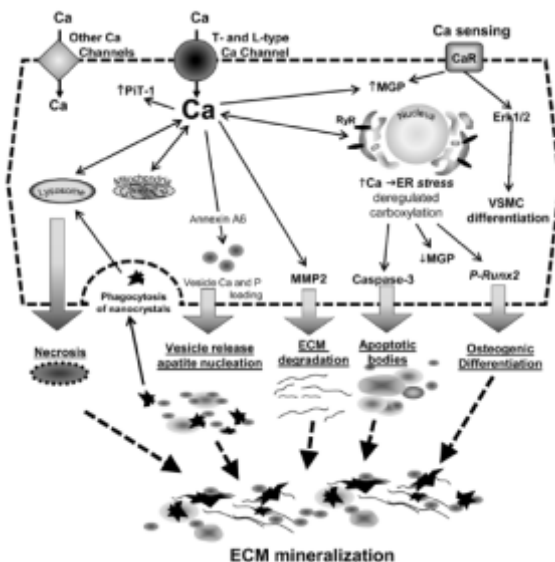
Por otro lado, el metabolismo alterado del Ca es un factor de riesgo que todavía requiere de mucha investigación. Alrededor de un 98% del Ca filtrado, se



**Figura 8. Ca fue mayor inductor de CCV que P en pacientes pre-HD y pacientes HD.**<sup>68</sup> Con el fin de determinar las potencias de Ca y P en la progresión de la CCV, se compararon diferentes contenidos de P y Ca, con un producto equivalente. Los sujetos control sanos no aumentaron su carga de Ca. Sin embargo, los vasos de pacientes con pre-HD y los de HD mostraron una calcificación mayor significativa en medios con P alto únicamente. Estos resultados muestran la potencia del Ca en la CCV.

expresión de Runx2, tal y como se ha visto en pacientes de HD, lo que también implica un aumento de la expresión de PiT-1 y la producción de ROS (Figura 8).<sup>68</sup>

Los nanocristales de Ca son absorbidos por VSMC provocando la sobrecarga de Ca intracelular.<sup>69</sup> En VSMCs existen los canales de Ca de tipo L y los de tipo T, implicados en la homeostasis del Ca. Este tipo de células también tienen el receptor de detección de Ca (CaR) que se encuentra acoplado a una proteína G y detecta cambios en la concentración de Ca extracelular. Además, suprime la secreción de PTH por las glándulas paratiroides y la reabsorción de Ca a nivel renal (Figura 9). En pacientes con CKD, la expresión de CaR en sus arterias calcificadas es baja.<sup>70</sup> Por otra parte, la presencia de fetuina A en la matriz de las vesículas de VSMC se ve incrementada ante la presencia de Ca, actuando como una especie de tampón ante el exceso cálcico.<sup>71</sup> Por esta razón, los niveles circulantes de fetuina-A se ven reducidos en pacientes con HD.<sup>72</sup> En este tipo de individuos también se correlacionó la calcificación con un incremento del proceso apoptótico y la liberación de vesículas propiciado por la anexina A6 en la pared vascular.<sup>73</sup>



**Figura 9. Papel del Ca en la progresión de la mineralización en la ECM.**<sup>73</sup> El aumento de Ca favorece la síntesis de vesículas que conduce finalmente a una apoptosis y necrosis celular. También implica una nucleación mineral en las vesículas de la ECM, así como de los cuerpos apoptóticos, lo que facilita el crecimiento de cristales de Ca en ECM.

### 3. EVENTOS CARDIOVASCULARES Y MORTALIDAD ASOCIADA A LA CALCIFICACIÓN CARDIOVASCULAR

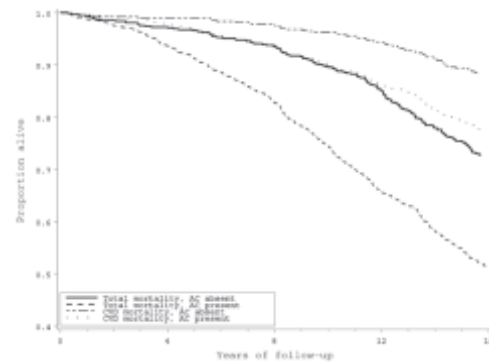
En las últimas décadas se han hecho muchos estudios con la intención de establecer una relación entre los eventos cardiovasculares y a la mortalidad asociados a la CCV. Esto se ha visto en pacientes con HD y ESRD, pero también en la población general (diferentes grupos étnicos, a diferente sexo, edades...).

#### **3.1 Población general**

En el año 2008 se llevó a cabo un meta-análisis con el fin de evaluar los riesgos que se encontraban asociados a la CCV o a la calcificación en las válvulas cardíacas en diversas poblaciones con diferentes factores de riesgo. Se pudo comprobar, gracias a las diferentes técnicas de imagen, que las poblaciones que sufrían CCV presentan un riesgo de mortalidad y eventos cardiovasculares 3-4 veces mayor que aquellas que no las sufrían. La limitación de este estudio fue que no se ajustó la edad, algo que no cambió sustancialmente el resultado. De los nueve estudios más significativos a la hora de realizar este meta-análisis, se observaron un total de 1356 muertes cardiovasculares de los 17287 participantes y de los 3657 de los sujetos con calcificaciones, 718 murieron.<sup>74</sup>

La mortalidad asociada a eventos cardiovasculares se encuentra influida también por la localización fisiológica de la CCV. Se realizó un estudio para ver cómo influía la calcificación mitral anular (MAC), la válvula aórtica esclerótica (AVS) y la ACC en las enfermedades cardiovasculares así como en la mortalidad. Para ello se conformó una gran cohorte de participantes ancianos del Estudio de Salud Cardiovascular. En este estudio sí que los modelos estadísticos se ajustaron siguiendo unos criterios como el sexo, la raza, la edad, antecedentes de hipertensión y diabetes, entre otras, y participaron 3782 personas. Del total de participantes, 1642 murieron y de ellos, 478 lo hicieron como consecuencia de evento cardiovascular. Los pacientes con enfermedades cardiovasculares prevalentes, MAC y ACC presentaron un riesgo de mortalidad cardiovascular un 50% mayor que el resto de pacientes. Se demostró que los pacientes con MAC presentaban un riesgo 3 veces superior de padecer muerte cardiovascular.<sup>75</sup> También se realizaron estudios basados en la calcificación de la arteria mamaria (BAC), poniendo de manifiesto la relación entre BAC y la mortalidad.<sup>76</sup>

Con la intención de examinar la relación que existe entre la calcificación abdominal aórtica y la mortalidad en personas de tercera edad, se llevó a cabo un estudio en el que participaron 2056 mujeres mayores de 65 años, que habían sido examinadas durante un período de 13 años. Se partía de la hipótesis de que, con la edad, la calcificación aórtica sería mayor, lo que supondría un mayor riesgo de sufrir eventos cardiovasculares. Al final del estudio, se vio que la prevalencia de la calcificación aórtica aumentaba con la edad, del 60% entre los 65-69 años al 96% en los 85 años. Alrededor del 45% de las mujeres presentaron CCV en ausencia de factores como la diabetes, la hipertensión y el hecho de ser fumadoras. Un total de 844, es decir, un 41% de las participantes, murieron. Se comprobó que aquellas mujeres con calcificación aórtica presentaban una mayor tasa de mortalidad que las que no tenían este tipo de calcificación, concretamente un 47% frente a un 27% (Figura 10). La asociación entre la calcificación aórtica y la mortalidad se vio más resaltada durante los primeros 10 años del estudio.<sup>77</sup>



**Figura 10. Representación la mortalidad total y la cardiovascular en función de la ausencia o de la presencia de la calcificación aórtica en mujeres mayores a 65 años.**<sup>77</sup> En la representación se observa que mujeres con calcificación aórtica (AC) presentan una mayor mortalidad total y cardiovascular (CVD) que las que no presentan AC. (ambas  $p < 0.001$ ). Las curvas se alargaron hasta los 16 años de seguimiento de las participantes en el estudio.

### 3.2 ESRD/HD

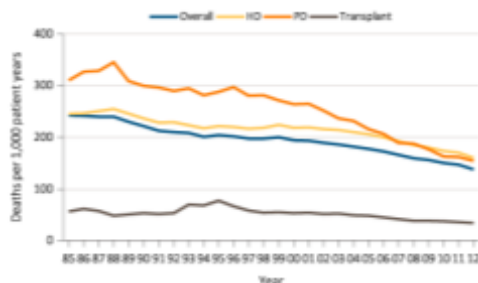
Como se ha comentado anteriormente, los pacientes de ESRD en tratamiento de HD son especialmente susceptibles al desarrollo de calcificación cardiovascular, por lo que suponen un segmento de la población de especial interés para el estudio de los efectos de este tipo de patología. De hecho, muchos estudios realizados relacionan los eventos cardiovasculares con la mortalidad en pacientes ESRD/HD. La enfermedad cerebrovascular es una de las principales causas de mortalidad en pacientes con CKD. Los eventos cardiovasculares se manifiestan en etapas tempranas de la CKD previas a la ESRD. Un predictor de mortalidad cardiovascular sería la velocidad de filtración glomerular

estimada (VFGe), viéndose reducido en pacientes de ESRD. En etapas muy tempranas de CKD, se ha visto que la presencia de proteinuria, concretamente, de albuminuria, favorecen que aumente el riesgo cardiovascular.<sup>78</sup>

En función del estadio de la CKD, varía la probabilidad de mortalidad por enfermedad cardiovascular, ya que la propia enfermedad en sí, se encuentra relacionada con eventos CV y mortalidad, independientemente de la presencia de calcificación. Pacientes con ESRD presentan mayor probabilidad de padecer una muerte de forma prematura debido a los eventos cardiovasculares que padecen. Gracias a investigaciones, se vio que un paciente de CKD en etapa 3-4 de 30 años, tenía una expectativa de vida de entre 17-25 años, muy reducida si se compara con individuos de la misma edad que no padecen insuficiencia renal (la esperanza de vida media actual de una persona sana de 30 años sería de más de 80 años). También se comprobó, que pacientes con una albuminuria entre 30-300 mg/día tiene una expectativa de supervivencia de 10-18 años si se compara con un sujeto que no sufre proteinuria de este tipo.<sup>79</sup> Estudios ponen de manifiesto que individuos con una VFGe entre valores comprendidos 15-60 ml/min/1.73 m<sup>2</sup> poseen una probabilidad de muerte superior.<sup>80</sup> Estos resultados reflejan que el peso importante en la CKD guarda una gran relación con el aumento de padecer eventos cardiovasculares.

La causa por excelencia de muerte cardíaca en los pacientes con ESRD es la muerte cardíaca súbita (SCD), tanto en EEUU<sup>81</sup> como en la población europea.<sup>82</sup> Se realizó un estudio prospectivo de cohortes en la población japonesa, en el que participaron un total de 677 pacientes en HD. Durante los tres años de seguimiento, 125 individuos sufrieron eventos cardiovasculares fatales, y 20 de ellos (un 16% del total de los participantes), sufrieron SCD.<sup>83</sup> Los pacientes que mueren de esta manera sufren una taquiarritmia ventricular fatal<sup>84</sup>. También, se han encontrado evidencias de que pacientes HD han sufrido SCD causadas por bradiarritmias.<sup>85</sup>

Actualmente, en la población estadounidense, las tasas globales de mortalidad en individuos con ESRD están descendiendo. Dichas tasas de mortalidad ajustadas disminuyeron un 9% entre 199-2002, y un 26% entre 2003-2012 (*Figura 11*). Concretamente, la tasa de mortalidad en pacientes HD, descendió un 3% entre 1993-2002 y un 25% entre 2003-2012. Por otro lado, los pacientes de diálisis peritoneal (PD), la mortalidad bajó un 15% entre 2003-2012 y un 35% los 10 años siguientes.



**Figura 11. Representación de la tasa de mortalidad en diferentes grupos de pacientes ESRD: paciente general, HD, PD, con trasplante.**<sup>81</sup> Desde el año 1993, la reducción de la tasa de mortalidad ha sido de un 28% para HD, 47% para PD y 51% para pacientes con trasplante de riñón. Los pacientes estaban ajustados en función del sexo, la edad, la raza, entre otros.

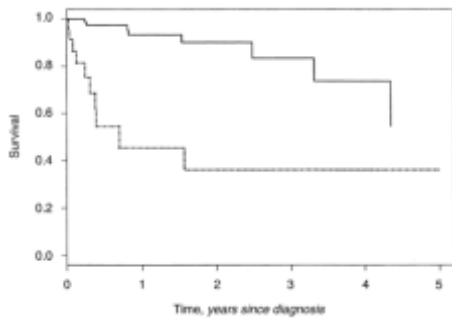
Se realizó un estudio con el fin de determinar la CCV en individuos en HD y establecer una asociación de CCV con la progresión de la CAC y la mortalidad. Para ello, 101 pacientes en HD participaron en el estudio. El 25.7% de los pacientes sólo presentaban una válvula calcificada, mientras que un 9.9% presentaba calcificación en ambas. Los individuos con más edad presentaban más probabilidades de sufrir CAC. La tasa de mortalidad, el promedio de años vividos el último año de vida, en este estudio, van



referidas al grupo de edad de 100 o más años. En teoría, para calcular el tiempo vivido, hay que contabilizar y sumar el tiempo de cada individuo que participa en el estudio durante un período de tiempo determinado. En individuos sin VC, dicha tasa de mortalidad por 100 años fue de 2.57. Sin embargo, era de 4.20 y 13.76 para los que tenían una o dos válvulas calcificadas respectivamente.<sup>86</sup> Investigaciones revelan que, a mayor edad de los pacientes y menor tensión arterial diastólica, el riesgo de prevalencia de la CCV en la aorta abdominal es mayor, lo que acarrea un aumento en la probabilidad de la mortalidad.<sup>87</sup>

Shantouf RS y su equipo de investigación partieron de la hipótesis de que los scores totales de CAC se relacionaban con la mortalidad por todas las causas, de forma independiente a los factores de riesgo. Para demostrar este hecho, se realizó una cohorte de pacientes en HD del Prospective Nutricional and Inflammatory Evaluation of Dialysis Patients (NIED), a los que se les evaluó la mortalidad por todas las causas usando TC. Se compararon 4 grupos: CAC 0, CAC 1-100, CAC 101-400 y CAC +400. En total participaron 166 personas en HD. Al terminar el estudio, hubo 50 muertes, 30 de ellas pertenecían al grupo CAC +400 y 2 al grupo CAC 0. Las tasas de eventos cardiovasculares aumentaron de 11.1% a 41.7% del grupo CAC 0 al CAC +400. Los pacientes del grupo CAC 0 presentaron una mayor tasa de supervivencia libre de eventos cardiovasculares que los pacientes del que eran CAC 400+ (un 88.9% frente un 58.9%). Este último grupo se vio influenciado por la edad y la prevalencia de Diabetes Mellitus. Tras el estudio, se pudo concluir que CAC es en sí mismo, un determinante potente en relación con el aumento de la mortalidad, por lo que mantener una carga menor de CAC puede tener implicaciones positivas en esta población de pacientes.<sup>88</sup>

En 2011, un equipo de investigación pretendió establecer una posible relación entre la presencia y progresión de CAC con eventos cardíacos en pacientes con CKD (no en HD), ya que dicha asociación no había sido evaluada hasta el momento. En la cohorte participaron 181 pacientes con CKD (glomerulonefritis, nefropatía isquémica, nefropatía diabética), donde no existían diferencias raciales. El seguimiento tuvo lugar durante un tiempo medio de 745 días. Al comenzar el estudio, la CAC estaba presente en el 54.7% de la población del estudio, sin diferencias significativas entre ambos sexos. En el campo de la cardiología, la medida de calcio en la prueba de TC para la calcificación de las arterias coronarias se mide en unidades de Agatston.<sup>89</sup> Los pacientes con CKD en etapa 2 tienen una puntuación mediana de CAC de 109 AU; los de etapa 3 tienen una puntuación de 153 AU; los de etapa 4 de 177 AU; y los de etapa 5 es de 168 AU. Los datos obtenidos apoyan la asociación de partida, ya que la CAC y su progresión acelerada eran predictivas de muerte cardíaca y de infarto de miocardio (29 de los participantes con una CAC alta murieron como consecuencia de este evento cardiovascular).<sup>90</sup> Otro estudio con pacientes con CKD en diferentes etapas, pone de manifiesto algo similar, que la calcificación de la arteria aórtica/coronaria predice la mortalidad por todas las causas, en comparación con los factores de riesgo tradicionales por sí solos.<sup>91</sup>



**Figura 12. Representación supervivencia comparando pacientes con calcifilaxis (línea punteada) con pacientes sin ella (línea continua).** <sup>41</sup> Un 45% de individuos con calcifilaxis tenían una tasa de supervivencia de un año. Sin embargo, los controles la tenían de 90%.

en el seguimiento. Siete de cada diez murieron fruto de complicaciones en las lesiones proximales provocadas por la calcifilaxis. Esto demostró que la presencia de calcifilaxis y la presencia de ESRD/HD incrementaba el riesgo de muerte. La probabilidad de muerte aumentaba 8 veces en caso de calcifilaxis respecto a los casos control. (Figura 12) Incluso se estimó que la probabilidad de mortalidad ascendía un 21% en los primeros meses por cada año de terapia de ESRD.<sup>41</sup>

Una pequeña proporción de pacientes de ESRD pueden acabar desarrollando también la enfermedad rara conocida como calcifilaxis de la que ya se ha hablado en el apartado 2.1.1. En el año 2000 se publicó una comparación entre la mortalidad en pacientes de calcifilaxis y en pacientes de ESRD sin dicha enfermedad. Para ello, se tuvieron en cuenta los 19 casos diagnosticados en the University of Washington Medical Center, Harborview Medical Center, and Swedish Hospital en Seattle (WA, USA) desde diciembre del 1989 hasta enero del 2000. Los casos controles eran pacientes en HD de the Northwest Kidney Center in Seattle. Once de los pacientes con calcifilaxis y siete controles murieron

#### **4. TRATAMIENTOS CONTRA LA CALCIFICACIÓN CARDIOVASCULAR EN PACIENTES CON ENFERMEDAD RENAL EN ETAPA TERMINAL Y EN PACIENTES EN DIÁLISIS (eficacia contra la mortalidad)**

El metabolismo mineral y óseo alterado ejerce un papel importante en la patogénesis de la CCV en pacientes ESRD/HD, de ahí que haya sido un objeto de estudio terapéutico en modelos animales en los últimos años. Entre los tratamientos disponibles están los *phosphate binders*, *calcimiméticos* e incluso, los nuevos análogos de la vitamina D, además de otros nuevos que están actualmente en vías de desarrollo.

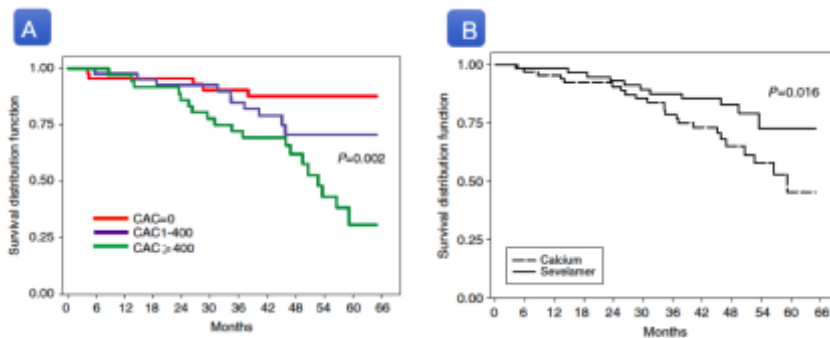
##### **4.1 Phosphate binders**

El mecanismo de acción de este tipo de tratamientos está basado en la unión del fosfato dietético dentro de la luz gastrointestinal con el propósito de evitar su absorción. Pueden clasificarse en función de la presencia o ausencia de Ca en su estructura molecular. Los que presentan Ca como el carbonato de Ca o el acetato de Ca, disminuyen las concentraciones séricas de fosfato, pero pueden suponer un exceso exógeno de Ca y con ello, un riesgo aumentado de CCV en los pacientes tratados con ellos.<sup>92</sup> Entre los *phosphate binders* libres de Ca estarían el sevelamer hidrocloreuro (SH), el sevelamer carbonato (SC), y el carbonato de lantano (LC), a los que no se les atribuye un problema de producción de hipercalcemia, aunque están cargados de una serie de efectos secundarios clínicamente significativos.

El estudio Treat to Goal fue un ensayo en el que se hizo una comparación entre la

efectividad del sevelamer frente al carbonato de calcio. Para ello, se contó con un total de 200 pacientes en HD escogidos de forma aleatoria para recibir ambos tipos de tratamientos. Se evaluó la reducción de fosfato en suero, la frecuencia de episodio hipercalcémico (un 5% en el sevelamer en comparación con un 16% en el carbonato de calcio) y la progresión coronaria (un 6% versus un 25%), así como la calcificación aórtica (un 5% frente a un 28%).<sup>93</sup>

Otros estudios en pacientes en HD evidencian que el sevelamer es capaz de disminuir la progresión de la CCV en comparación con los *phosphate binders* con calcio <sup>35</sup>, pero presenta efectos adversos a nivel gastrointestinal. Block y su equipo de investigación realizaron un estudio para ver el efecto que tenía el sevelamer en la mortalidad por CCV en una población de 127 pacientes en HD. Al terminar el seguimiento, hubo 34 muertes (11 del grupo tratado con sevelamer y 23 con el grupo tratado con *phosphate binders* con calcio. La puntuación CAC basal fue un predictor de mortalidad relevante (*Figura 13A*). También se comparó la respuesta de ambos tratamientos en relación a la supervivencia de los pacientes (*Figura 13A*).<sup>94</sup>



**Figura 13. A) Supervivencia ajustada con la puntuación CAC basal.** <sup>94</sup>Se observa que pacientes con una CAC superior tienen una supervivencia mucho menor. El ajuste se da en función de la raza, el sexo, la edad y presencia de diabetes. P = valor de significancia entre los tres grupos. **B) Supervivencia ajustada por asignación de sevelamer (línea continua) versus phosphate binder con calcio (línea discontinua).** <sup>94</sup> Se observa que el sevelamer ejerce un efecto significativo positivo en la supervivencia de estos pacientes en comparación con el otro tratamiento. Hay un ajuste según edad, raza, sexo, diabetes, antecedentes de enfermedad cardiovascular aterosclerótica y albúmina entre otras.

Por otro lado, el LC es tolerado a corto o medio plazo, pero provoca vómitos e incluso una acumulación de lantano a nivel hepático y ósea, por lo que su toxicidad potencial necesita ser evaluada. Se realizó un estudio controlado con placebo aleatorizado en pacientes CKD con niveles de fosfato normales, a los que se les suministraron tres *phosphate binders*: acetato de Ca, SC y LC. Inesperadamente, se vio un aumento en la progresión de la CCV en los participantes. De los tres, fue el LC el que produjo un mayor desarrollo de la CCV. <sup>95</sup> Por otro lado, el estudio Kawashima, un estudio retrospectivo de cohortes determinó que el uso de LC se asociaba a una reducción de casi un 50% en la tasa de mortalidad en pacientes en HD, aunque no miraron la CAC. <sup>96</sup>

En 2013 se publicó un meta-análisis en el que se incluyeron todos los ensayos aleatorizados y no aleatorizados que comparaban los resultados entre pacientes con CKD tratados con *phosphate binders* con calcio con los que tomaban *phosphate binders* sin calcio. Para hacer el meta-análisis se realizó una revisión sistemática de acuerdo con la PRISMA (*Preferred reporting Items for Systematic reviews and meta-Analyses*), teniendo



en cuenta los ensayos clínicos publicados entre 1946 hasta el 22 de octubre de 2012. Se partieron de un total de 847 artículos potencialmente relevantes, pero finalmente, después de seguir unos criterios de selección, sólo 8 fueron incluidos en el meta-análisis. Se contó con un total de 4622 pacientes. El estudio puso de manifiesto que el *phosphate binder* sin calcio reducía la mortalidad alrededor de un 22% en comparación con el grupo tratado con *phosphate binder* con calcio. Los primeros podrían tener efectos beneficiosos ya que disminuirían la progresión de la CCV.

Con el fin reducir los efectos secundarios que tienen el resto de *Phosphate binders*, en 2012 se lanzó en Japón el bixalomer, un polímero con funcionalidad amina para tratar a pacientes en HD. Todavía se está evaluando con ensayos clínicos y requiere de la aprobación en pacientes con CKD y HD.<sup>97</sup>

#### 4.2 Calcimiméticos

Los *calcimiméticos* actúan suprimiendo la producción de PTH y también disminuyendo la concentración circulante del producto Ca x P. Esto podría suponer que se convirtieran en una alternativa para esteroides de vitamina D a la hora de tratar el hiperparatiroidismo secundario. Un estudio aleatorizado y prospectivo, conocido como ADVANCE, evaluó los efectos que tenía un *calcimimético*, el cinacalcet (una dosis de 30-180 mg/día), junto con una dosis baja de esteroides de vitamina D (equivalentes a  $\leq 2 \mu\text{g}$  de paricalcitol con cada diálisis), sobre la CCV en 360 pacientes en HD con hiperparatiroidismo secundario. El grupo control recibió dosis flexibles de esteroides de vitamina D. De los 360 pacientes iniciales, solo 280 terminaron el estudio a las 52 semanas. Tras el ensayo se vio que la CAC (determinada por el método de Agatson) aumentaba en un 24% en el grupo tratado con cinacalcet y un 31% en el grupo de vitamina D (Figura 14). Las diferencias entre los dos grupos fueron significativas en la válvula aórtica.<sup>98</sup>

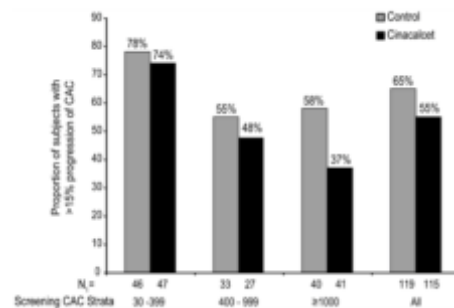


Figura 14. Proporción de sujetos con una progresión superior al 15% de CAC de Agatson durante un período de 52 semanas.<sup>98</sup> Esta proporción se vio que era de un 55% en los tratados con cinacalcet y dosis bajas de vitamina D y un 65% en el grupo control.

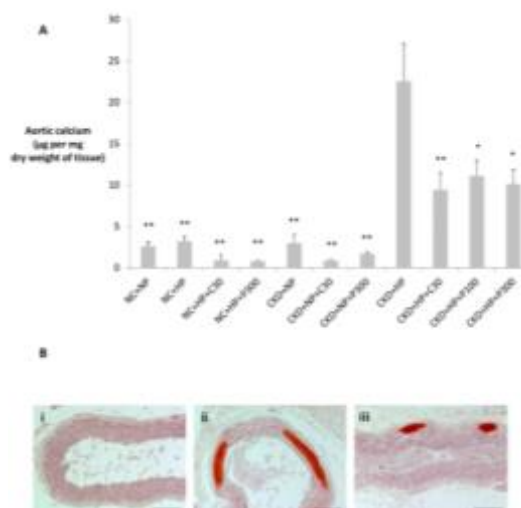
Por otro lado, el estudio EVOLVE partió de la hipótesis de que el cinacalcet reduciría los riesgos de muerte y los eventos cardiovasculares en pacientes HD con hiperparatiroidismo secundario, si bien no se obtuvieron unos resultados significativos. En este ensayo, participaron 3883 pacientes distribuidos al azar en los dos grupos experimentales. La duración del estudio fue de 21.2 meses en el grupo tratado con cinacalcet y de 17.5 meses en el grupo placebo. Inicialmente sí que se observó una reducción del riesgo de eventos/mortalidad de un 7%, pero ésta no fue significativa. Sin embargo, cuando se ajustó el análisis con las características basales, se vio una reducción significativa de un 12%. Este estudio tenía varias limitaciones a tener en cuenta, por ejemplo, la estadística se vio dificultada por una tasa de eventos menor de lo que se esperaba, la prolongación temporal del seguimiento del tratamiento, efectos secundarios a nivel gastrointestinal, el abandono de los participantes, etcétera. Pero lo que sí se ha visto

es que existen evidencias de que, si se combina el uso del sevelamer y el cinacalcet, existe una disminución de la tasa de mortalidad en pacientes HD mayores a los 65 años.<sup>99</sup>

### 4.3 Calcidiol y activadores del receptor de la vitamina D

El calcidiol es una prohormona producida a nivel hepático gracias a la hidroxilación de la vitamina D3 por la acción enzima colecalciferol-25-hidroxilasa.<sup>100</sup> Niveles bajos de éste, se han asociado a la progresión de la CCV.<sup>101</sup> Como diana terapéutica se propone mantener esta prohormona en unos valores normales, para así, reducir el desarrollo de la CCV. Una serie de estudios en ratas urémicas han puesto de manifiesto estos efectos del calcitriol, pero también los efectos de los activadores de los receptores de vitamina D (VDRA) en CCV dependientes de la dosis suministrada.<sup>102</sup> Los VDRA actualmente están siendo utilizados para tratar el hiperparatiroidismo secundario, aunque la ventaja de supervivencia es independiente de los valores de PTH. Sin embargo, existen datos *in vitro* que resultan contradictorios, ya que el calcitriol aumenta la calcificación en VSMC, además de estar relacionados con la hipercalcemia.<sup>102</sup>

Niveles elevados de 25-hidroxivitamina se relacionan con una menor mortalidad en pacientes con CKD, además, en pacientes en HD, se ha visto una ventaja de supervivencia cuando han sido tratados con VDRA. Se realizó un estudio cohorte para explorar la relación de tres análogos de la vitamina D y la mortalidad en pacientes con HD de la Dialysis Clinic Inc: calcitriol, doxercalciferol y el paricalcitol. Éste último es un análogo de calcitriol que causa menos hipercalcemia.<sup>103</sup> Por otro lado, el doxercalciferol es un análogo de origen sintético del ergocalciferol (vitamina D2), capaz de suprimir la secreción paratiroidea.<sup>104</sup> En este estudio participaron un total de 14967 pacientes en HD, 8112 de ellos recibieron vitamina D y 7731 sobrevivieron más de 30 días tras la primera dosis. La mortalidad fue significativamente mayor en pacientes que tomaron dosis de calcitriol en comparación con los otros dos análogos de la vitamina D (*Figura 15A*).



**Figura 15. A) Ratones con CKD con una dieta con alto contenido de fosfato (CKD+HP) desarrollaron CCV, que se vio disminuida ante el tratamiento de VDRA aplicado.**<sup>105</sup> El contenido de calcio en el arco aórtico se mide en µg de calcio por mg de peso seco. La calcificación no se observó diferente en los demás subgrupos NC+NP, NC+HP y CKD+NP.

**B) Tinción de Alizarin Red-S de la aorta torácica a una escala de 150 µm con un objetivo de 10x.**<sup>105</sup> Se observa una calcificación mucho más marcada en el subgrupo CKD+HP (imagen ii) que en el subgrupo NC+NP (imagen i), y una calcificación significativamente menor en un animal que se había suministrado 300 ng/kg de paricalcitol (CKD+HP+P300).

Abreviaturas C30 = calcitriol 30 ng/kg; P300 = paricalcitol 300 ng/kg; NC = no-CKD controles; P100 = paricalcitol 100 ng/kg; NP = 0.5% fosfato valores normales; HP = 1.5% fosfato valores elevados

A los pacientes con CKD, a menudo se les prescriben agonistas de VDRA, confiriendo un beneficio en su supervivencia, aunque a día de hoy, todavía los mecanismos que lo subyacen no son del todo claros. En un estudio en el que se empleó un modelo experimental de ratones con CKD con una dieta alta en fosfato (que indujo la calcificación aórtica), se probaron dos VDRA diferentes. Se les administró calcitriol de

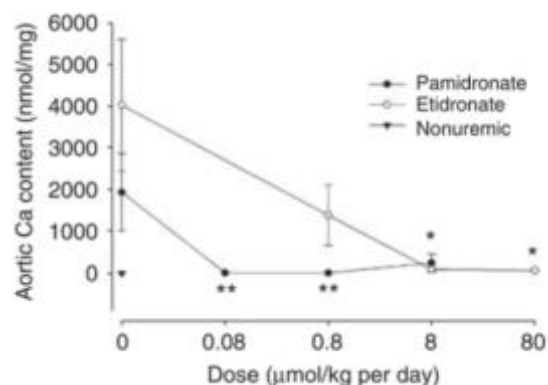
forma intraperitoneal o paricalcitol tres veces a la semana durante un período de tiempo de 21 días. Se vio que dosis inferiores de paricalcitol y calcitriol actuaban de forma protectora gracias a la restauración de la proteína klotho en suero y orina y de la expresión de la osteoponina, disminuían la calcificación aórtica (*Figura 15B*). No se observó ningún efecto sobre la remodelación de la elastina o la inflamación, ni tampoco una diferencia entre los dos tratamientos.<sup>105</sup> Aunque los resultados de los estudios de roedores son mixtos, se sugiere un efecto positivo del tratamiento de la CCV gracias a VDRA, concretamente el paricalcitol.

La repercusión que tienen los tratamientos con VDRA en pacientes ESRD/HD es difícil de predecir ya que intervienen muchos efectos vasculotrópicos a partir de la activación del receptor de la vitamina D, bien sean pro-o anticalcificantes. Por ello, se requieren estudios *in vivo* para poder evaluar la consecuencia a nivel global de este tipo de terapia, ya que actualmente no existe ningún estudio retrospectivo que lo demuestre.<sup>105</sup>

#### 4.4 Nuevos tratamientos en desarrollo

Los pacientes ESRD/HD presentan una deficiencia de vitamina K (<20 ng/mL)<sup>106</sup> y antagonistas de ésta como la warfarina, podrían disminuir la actividad de la osteocalcina y de la MPG al predominar sus formas no carboxiladas. Existen estudios basados en el efecto que tiene la suplementación de vitamina K en pacientes ESRD/HD con el fin de prevenir la CCV. Uno de ellos fue un estudio aleatorio en el que participaron 53 pacientes en HD y 50 individuos sanos que sirvieron de controles. El grupo tratado se dividió en tres subgrupos en función del tratamiento con vitamina K a 45, 135 o 360 µg / d durante 6 semanas.<sup>107</sup> Esta suplementación indujo una disminución dependiente de dosis y el tiempo de tratamiento en los niveles en circulación proteínas de como la MGP y la osteocalcina no carboxiladas. Se vio que la tasa en la reducción de niveles de MPG no carboxilada fueron de un 77% en pacientes tratados con una dosis de 135 µg y un 93% en los pacientes con 360 µg de vitamina K.

Otro tratamiento en desarrollo sería el uso de bisfosfonatos en pacientes que presentan calcifilaxis. Éstos son análogos sintéticos del PPI capaces de inhibir la reabsorción mediada por osteoclastos y la deposición de cristales de fosfato cálcico a nivel vascular. Según los resultados experimentales, este tipo de tratamiento previene la calcificación vascular medial *in vivo*, aunque el mecanismo de acción que subyace esto es desconocido. A pesar de ello, no todos ellos han demostrado retrasar la progresión de la CCV. En un modelo *in vitro* de ratas CKD con CAC, se les suministró diariamente pamidronato o etidronato, dos ejemplos de bisfosfonatos. Se vio que evitaron la CAC, siendo el primero unas 100 veces más potente



**Figura 16. Efecto de dos bisfosfonatos (pamidronato y etidronato) en la calcificación aórtica en un modelo de rata con CKD.**<sup>108</sup> Ambos bisfosfonatos redujeron la CAC. La inhibición de forma completa se obtuvo al administrar 0.08 µmol/kg por día de pamidronato y 8 µmol/kg por día de etidronato.

\*\*P < 0.05 ratas tratadas con pamidronato frente a ratas no urémicas.

\*P < 0.02 ratas tratadas con etidronato frente a ratas no urémicas.

(Figura 16). Este estudio puso de manifiesto que este tipo de tratamientos podría inhibir la CCV urémica independientemente de la resorción ósea.<sup>108</sup> Sin embargo, cabe tener en cuenta que los bisfosfonatos se eliminan a nivel renal, por lo que deben usarse con precaución en pacientes con una TFG inferior a 30 ml/min, ya que podrían acumularse en el hueso y existe cierto riesgo de inducir la enfermedad ósea adinámica.<sup>109</sup>

El sistema de ligando OPG/RANK/RANK está siendo el punto de mira en la búsqueda de un mediador común que influya en la CCV y en la remodelación ósea. El tratamiento Denosumab es considerado un análogo de OPG, inhibe la reabsorción ósea mediada por osteoclastos, pero como no es eliminado por el riñón, no causa problemas de toxicidad en pacientes con CKD. Se requieren todavía muchos ensayos para confirmar que el Denosumab presenta efectos beneficiosos para combatir la CCV.<sup>109</sup> Existen evidencias recientes de que este tratamiento podría ser una buena opción terapéutica para pacientes en HD que presentan hipercalcemia relacionada con la inmovilización.<sup>110</sup> Este tipo de hipercalcemia se produce fruto de un elevado recambio óseo en personas jóvenes, aunque también puede derivar de enfermedades como el Parkinson.

Por último, estaría el tiosulfato sódico (STS), el cual está siendo una potente terapia en desarrollo contra la calcifilaxis.<sup>111</sup> Este compuesto gracias a su capacidad quelante es capaz de eliminar el calcio de minerales que han precipitado, y por lo tanto, disminuye la carga de la calcificación urémica y la calcificación de los tejidos blandos. Se realizó un estudio para demostrar el efecto del STS sobre la CAC en una población de 87 pacientes en HD. Estos participantes recibieron el tiosulfato sódico por vía intravenosa dos veces por semana, ya que este compuesto se purifica en el proceso de diálisis y se deben infundir dosis después de cada diálisis (alrededor de 25-50 g durante una hora). Inicialmente, 49 de los 87 participantes tenían una CAC de Agatston  $\geq 300$ . Los pacientes control se seleccionaron de forma aleatoria en función de la primera puntuación CAC que cayó dentro de la de los pacientes en el grupo tratado. Al finalizar el seguimiento, un 63% de los pacientes tratados sufrían progresión de CAC. Sin embargo, la densidad mineral ósea de la cadera descendió de forma significativa en el grupo de pacientes a los que se les había suministrado tiosulfato sódico. A pesar de que su administración pueda tener efectos secundarios como la anorexia persistente y la acidosis metabólica, el efecto de este tratamiento es prometedor de cara al futuro terapéutico de la calcifilaxis.<sup>112 111</sup>

## 5. CONCLUSIONES

Después de realizar una búsqueda bibliográfica acerca del proceso de CCV, se puede concluir lo siguiente:

1. Diversos estudios ponen de manifiesto la existencia de una relación entre la CCV y los eventos cardiovasculares y la mortalidad en pacientes ESRD/HD. Pacientes con una CAC superior a 400 (según el índice de Agatston), presentan una supervivencia inferior, siendo la CAC un determinante predictor de mortalidad. La presencia de calcifilaxis favorece la aparición de eventos cardiovasculares (muerte cardíaca e infarto de miocardio) y, consecuentemente, disminuye la tasa de supervivencia.
2. De cara al futuro, esta patología cardiovascular podría postularse como una posible diana terapéutica en esta población concreta de pacientes. Estrategias para ello serían el uso de *phosphate binders*, siendo el sevelamer mucho más eficaz en la tasa de supervivencia que los *phosphate binders* con calcio, según meta-análisis realizados en pacientes con CKD.
3. Todavía se requieren de muchos más ensayos para demostrar que existen tratamientos que disminuyen la mortalidad ya que son capaces de disminuir la progresión de CCV. El estudio EVOLVE con *calcimiméticos*, no logró ver una reducción del riesgo de eventos/mortalidad significativa. Esto sí que se vio si se combinaban tratamientos como el sevelamer y el cinacalcet.
4. Los grandes ensayos clínicos que se han hecho hasta la fecha parecen apuntar a que el tratamiento de la CCV puede tener un efecto en la mortalidad, aunque los resultados todavía no son concluyentes del todo. Esto se debe a la dificultad de realizar estudios de este tipo (el seguimiento de los pacientes un período de tiempo mínimo de un par de años, pacientes con elevado riesgo a sufrir eventos cardiovasculares, se requiere un gran número de pacientes, etcétera).
5. De cara a la realización de nuevos estudios, se debería tener en cuenta las limitaciones que han tenidos los anteriores para poder establecer de forma clara que el tratamiento de la CCV tiene un efecto beneficioso en los eventos CV y la mortalidad.

## BIBLIOGRAFÍA

1. Demer LL, Tintut Y, Parhami F. Novel mechanisms in accelerated vascular calcification in renal disease patients. *Curr Opin Nephrol Hypertens*. 2002;11(4):437-443. doi:10.1097/00041552-200207000-00011.
2. Demer LL, Tintut Y. Inflammatory, metabolic, and genetic mechanisms of vascular calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2014;34(4):715-723. doi:10.1161/ATVBAHA.113.302070.
3. Giachelli CM. Vascular calcification mechanisms. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15(12):2959-2964. doi:10.1097/01.ASN.0000145894.57533.C4.
4. Anderson HC. Molecular Biology of Matrix Vesicles. *Clin Orthop Relat Res*. 1995;(314):266-280. doi:10.1097/00003086-199505000-00034.
5. Addison WN, Azari F, Sorensen ES, Kaartinen MT, McKee MD. Pyrophosphate Inhibits Mineralization of Osteoblast Cultures by Binding to Mineral, Up-regulating Osteopontin, and Inhibiting Alkaline Phosphatase Activity. *J Biol Chem*. 2007;282(21):15872-15883. doi:10.1074/jbc.M701116200.
6. Orimo H. The mechanism of mineralization and the role of alkaline phosphatase in health and disease. *J Nippon Med Sch*. 2010;77(1):4-12. doi:10.1272/jnms.77.4.
7. Hale JE, Wuthier RE. The mechanism of matrix vesicle formation. Studies on the composition of chondrocyte microvilli and on the effects of microfilament-perturbing agents on cellular vesiculation. *J Biol Chem*. 1987;262(4):1916-1925. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/3543016>. Accessed April 18, 2017.
8. Pemberthy López C, Jaramillo-Gómez N, Velásquez Mejía CA, Cardona-Vélez J, Contreras-Martínez H, Jaramillo-Restrepo V. Conceptos actuales sobre el envejecimiento y la enfermedad cardiovascular. *Rev Colomb Cardiol*. 2016;23(3):210-217. doi:10.1016/j.rccar.2015.12.006.
9. Abedin M, Tintut Y, Demer LL. Vascular calcification: Mechanisms and clinical ramifications. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2004;24(7):1161-1170. doi:10.1161/01.ATV.0000133194.94939.42.
10. Virmani R, Burke AP, Willerson JT, Farb A, Narula J, Kolodgie FD. The Pathology of Vulnerable Plaque. In: *The Vulnerable Atherosclerotic Plaque: Strategies for Diagnosis and Management*. ; 2007:19-36. doi:10.1002/9780470987575.ch2.



11. Rajamannan NM, Bonow RO, Rahimtoola SH. Calcific aortic stenosis: an update. *Nat Clin Pract Cardiovasc Med*. 2007;4(5):254-262. doi:10.1038/hcpcardio0827.
12. Otto CM. Calcific Aortic Stenosis — Time to Look More Closely at the Valve. *N Engl J Med*. 2008;359(13):1395-1398. doi:10.1056/NEJMe0807001.
13. Gadeau A-P, Chaulet H, Daret D, Kockx M, Daniel-Lamazière J-M, Desgranges C. Time Course of Osteopontin, Osteocalcin, and Osteonectin Accumulation and Calcification After Acute Vessel Wall Injury. *J Histochem Cytochem*. 2001;49(1):79-86. doi:10.1177/002215540104900108.
14. Jono S, McKee MD, Murry CE, et al. Phosphate Regulation of Vascular Smooth Muscle Cell Calcification. *Circ Res*. 2000;87(7):e10-e17. doi:10.1161/01.RES.87.7.e10.
15. Callister TQ, Raggi P, Coool B, Lippolis NJ, Russo DJ. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on coronary artery disease as assessed by electron-beam computed tomography. *N Engl J Med*. 1998;339(27):1972-1978. doi:10.1056/NEJM199812313392703.
16. Mody N, Parhami F, Sarafian TA, Demer LL. Oxidative stress modulates osteoblastic differentiation of vascular and bone cells. *Free Radic Biol Med*. 2001;31(4):509-519. doi:10.1016/S0891-5849(01)00610-4.
17. Arad Y, Newstein D, Cadet F, Roth M, Guerci AD. Association of Multiple Risk Factors and Insulin Resistance With Increased Prevalence of Asymptomatic Coronary Artery Disease by an Electron-Beam Computed Tomographic Study. <http://atvb.ahajournals.org/content/atvbaha/21/12/2051.full.pdf>. Accessed April 19, 2017.
18. Nitta K, Ishizuka T, Horita S, et al. Soluble osteopontin and vascular calcification in hemodialysis patients. *Nephron*. 2001;89(4):455-458. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11721165>. Accessed April 19, 2017.
19. Ellsworth DL, Bielak LF, Turner ST, Sheedy PF, Boerwinkle E, Peyser PA. Gender- and age-dependent relationships between the E-selectin S128R polymorphism and coronary artery calcification. *J Mol Med (Berl)*. 2001;79(7):390-398. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11466561>. Accessed April 19, 2017.
20. Terkeltaub RA, Santoro DA, Mandel G, Mandel N. Serum and plasma inhibit neutrophil stimulation by hydroxyapatite crystals. Evidence that serum alpha 2-HS glycoprotein is a potent and specific crystal-bound inhibitor. *Arthritis Rheum*. 1988;31(9):1081-1089. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/2844196>. Accessed April 19, 2017.
21. Boström K, Tsao D, Shen S, Wang Y, Demer LL. Matrix GLA protein modulates differentiation induced by bone morphogenetic protein-2 in C3H10T1/2 cells. *J Biol Chem*. 2001;276(17):14044-14052. doi:10.1074/jbc.M008103200.
22. Montañez-Barragán A, Gómez-Barrera I, Sanchez-Niño MD, Ucerro AC, González-Espinoza L, Ortiz A. Osteoprotegerin and kidney disease. *J Nephrol*. 2014;27(6):607-617. doi:10.1007/s40620-014-0092-x.
23. Hofbauer LC, Shui C, Riggs BL, et al. Effects of immunosuppressants on receptor activator of NF-kappaB ligand and osteoprotegerin production by human osteoblastic and coronary artery smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun*. 2001;280(1):334-339. doi:10.1006/bbrc.2000.4130.
24. Price PA, June HH, Buckley JR, Williamson MK. Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(10):1610-1616. doi:10.1161/hq1001.097102.
25. Tobin JF, Celeste AJ. Bone morphogenetic proteins and growth differentiation factors as drug targets in cardiovascular and metabolic disease. *Drug Discov Today*. 2006;11(9-10):405-411. doi:10.1016/j.drudis.2006.03.016.
26. Li T, Surendran K, Zawadeh MA, Mathew S, Hruska KA. Bone morphogenetic protein 7: a novel treatment for chronic renal and bone disease. *J Nephrol*. 2014;27(6):607-617. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/15199292>. Accessed May 30, 2017.
27. Steitz SA, Speer MY, Curinga G, et al. Smooth muscle cell phenotypic transition associated with calcification: upregulation of Cbfa1 and downregulation of smooth muscle lineage markers. *Circ Res*. 2001;89(12):1147-1154. doi:10.1161/hh2401.101070.
28. Hruska KA, Mathew S, Saab G. Bone Morphogenetic Proteins in Vascular Calcification. *Circ Res*. 2005;97(2):105-114. doi:10.1161/01.RES.00000175571.53833.6c.
29. Chatrou MLL, Cleutjens JP, van der Vusse GJ, Roijers RB, Mutsaers PHA, Schurgers LJ. Intra-Section Analysis of Human Coronary Arteries Reveals a Potential Role for Micro-Calcifications in Macrophage Recruitment in the Early Stage of Atherosclerosis. Gadeau A-P, ed. *PLoS One*. 2015;10(11):e0142335. doi:10.1371/journal.pone.0142335.
30. Niskanen L, Siitonen O, Suhonen M, Uusitupa MI. Medial artery calcification predicts cardiovascular mortality in patients with NIDDM. *Diabetes Care*. 1994;17(11):1252-1256. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/7821163>.
31. Ino T, Shimazaki S, Akimoto K, et al. Coronary artery calcification in Kawasaki disease. *Pediatr Radiol*. 1990;20(7):520-523.
32. Corrales A, Parra J a, González-Juanatey C, et al. Cardiovascular risk stratification in rheumatic diseases: carotid ultrasound is more sensitive than Coronary Artery Calcification Score to detect subclinical atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis*. 2013;72(11):1764-1770. doi:10.1136/annrheumdis-2013-203688.
33. Farmakis D, Moysakakis I, Perakis A, et al. Unstable angina associated with coronary arterial calcification in a thalassemia intermedia patient with a pseudoxanthoma elasticum-like syndrome. *Eur J Haematol*. 2003;70(1):64-66. doi:10.1034/j.1600-0609.2003.02864.x.
34. Lu C, Mamaeva OA, Cui C, Amm H, Rutsch F, MacDougall M. Establishment of Singleton-Merten syndrome pulp cells: evidence of mineralization dysregulation. *Connect Tissue Res*. 2014;55 Suppl 1:57-61. doi:10.3109/03008207.2014.923880.
35. Chertow GM, Burke SK, Raggi P, for the Treat to Goal Working Group. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int*. 2002;62(1):245-252. doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00434.x.
36. Keelan PC, Bielak LF, Ashai K, et al. Long-Term Prognostic Value of Coronary Calcification Detected by Electron-Beam Computed Tomography in Patients Undergoing Coronary Angiography. *Circulation*. 2001;104(4). <http://circ.ahajournals.org/content/104/4/412.long>. Accessed May 3, 2017.
37. Eknoyan G. Chronic kidney disease definition and classification: the quest for refinements. *Kidney Int*. 2007;72(10):1183-1185. doi:10.1038/sj.ki.5002576.
38. Braun J, Oldendorf M, Moshage W, Heidler R, Zeitler E, Luft FC. Electron beam computed tomography in the evaluation of cardiac calcification in chronic dialysis patients. *Am J Kidney Dis*. 1996;27(3):394-401. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8604709>. Accessed May 22, 2017.
39. Fine A, Zacharias J. Calciphylaxis is usually non-ulcerating: Risk factors, outcome and therapy. *Kidney Int*. 2002;61(6):2210-2217. doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00375.x.
40. Barbera V, Di Lullo L, Otranto G, Barbera G, Santoboni A. [Calciphylaxis: an enigma to the nephrologist]. *G Ital Nefrol*. 29(6):674-682. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23229665>. Accessed May 12, 2017.
41. Mazhar AR, Johnson RJ, Gillen D, et al. Risk factors and mortality associated with calciphylaxis in end-stage renal disease. *Kidney Int*. 2001;60(1):324-332. doi:10.1046/j.1523-1755.2001.00803.x.
42. Sowers KM, Hayden MR. Calcific uremic arteriopathy: pathophysiology, reactive oxygen species and therapeutic approaches. *Oxid Med Cell Longev*. 2010;3(2):109-121. doi:10.4161/oxim.3.2.11354.
43. Lu K-C, Wu C-C, Yen J-F, Liu W-C. Vascular Calcification and Renal Bone Disorders. *Sci World J*. 2014;2014:1-20. doi:10.1155/2014/637065.
44. Chen NX, Duan D, O'Neill KD, Moe SM. High glucose increases the expression of Cbfa1 and BMP-2 and enhances the calcification of vascular smooth muscle cells. *Nephrol Dial Transplant*. 2006;21(12):3435-3442. doi:10.1093/ndt/gfl429.
45. Tamashiro M, Iseki K, Sunagawa O, et al. Significant association between the progression of coronary artery calcification and dyslipidemia in patients on chronic hemodialysis. *Am J Kidney Dis*. 2001;38(1):64-69. doi:10.1053/ajkd.2001.25195.
46. Pöllänen PJ, Karhunen PJ, Mikkelsen J, et al. Coronary artery complicated lesion area is related to functional polymorphism of matrix metalloproteinase 9 gene: an autopsy study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(9):1446-1450. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11557670>. Accessed May 3, 2017.
47. Jöckel K-H, Lehmann N, Jaeger BR, et al. Smoking cessation and subclinical atherosclerosis—Results from the Heinz Nixdorf Recall Study. *Atherosclerosis*. 2009;203(1):221-227. doi:10.1016/j.atherosclerosis.2008.05.041.

48. Lee Y-A, Kang S-G, Song S-W, Rho J-S, Kim E-K. Association between metabolic syndrome, smoking status and coronary artery calcification. *PLoS One*. 2015;10(3):e0122430. doi:10.1371/journal.pone.0122430.
49. Koenig JS, Fischer M, Bulant E, Tiran B, Elmaddfa I, Druml W. Antioxidant status in patients on chronic hemodialysis therapy: impact of parenteral selenium supplementation. *Wien Klin Wochenschr*. 1997;109(1):13-19. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/9037743>. Accessed May 22, 2017.
50. Morena M, Cristol J-P, Bosc J-Y, et al. Convective and diffusive losses of vitamin C during haemodiafiltration session: a contributive factor to oxidative stress in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17(3):422-427. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11865087>. Accessed May 22, 2017.
51. Miyata T, Sprague SM. Advanced glycation of beta 2-microglobulin in the pathogenesis of bone lesions in dialysis-associated amyloidosis. *Nephrol Dial Transplant*. 1996;11 Suppl 3:86-90. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/8840320>. Accessed May 4, 2017.
52. Noordzij MJ, Lefrandt JD, Smit AJ. ADVANCED GLYCATION END PRODUCTS IN RENAL FAILURE: AN OVERVIEW. *J Ren Care*. 2008;34(4):207-212. doi:10.1111/j.1755-6686.2008.00038.x.
53. Zoccali C, Mallamaci F, Tripepi G. Novel cardiovascular risk factors in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol*. 2004;15 Suppl 1:S77-80. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/14684678>. Accessed May 4, 2017.
54. Amore A, Coppo R. Immunological basis of inflammation in dialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2002;17 Suppl 8:16-24. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12147772>. Accessed May 4, 2017.
55. Stompór T, Krasniak A, Sulowicz W, et al. Changes in common carotid artery intima-media thickness over 1 year in patients on peritoneal dialysis. *Nephrol Dial Transplant*. 2005;20(2):404-412. doi:10.1093/ndt/gfh597.
56. Nephrology, Harborview Medical Center, University of Washington S. Phosphate Metabolism in the Setting of Chronic Kidney Disease: Significance and Recommendations for Treatment. <http://sci-hub.cc/http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1525-139X.2007.00303.x/abstract>. Accessed May 11, 2017.
57. Isakova T, Wahl P, Vargas GS, et al. Fibroblast growth factor 23 is elevated before parathyroid hormone and phosphate in chronic kidney disease. *Kidney Int*. 2011;79(12):1370-1378. doi:10.1038/ki.2011.47.
58. Takeda E, Taketani Y, Morita K, Miyamoto KI. Sodium-dependent phosphate co-transporters. *Int J Biochem Cell Biol*. 1999;31(3-4):377-381. doi:10.1016/S1357-2725(98)00124-1.
59. Chen NX, O'Neill KD, Duan D, Moe SM. Phosphorus and uremic serum up-regulate osteopontin expression in vascular smooth muscle cells. *Kidney Int*. 2002;62(5):1724-1731. doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00625.x.
60. Pai A, Leaf EM, El-Abbadi M, Giachelli CM. Elastin degradation and vascular smooth muscle cell phenotype change precede cell loss and arterial medial calcification in a uremic mouse model of chronic kidney disease. *Am J Pathol*. 2011;178(2):764-773. doi:10.1016/j.ajpath.2010.10.006.
61. Collett G, Wood A, Alexander MY, et al. Receptor tyrosine kinase Axl modulates the osteogenic differentiation of pericytes. *Circ Res*. 2003;92(10):1123-1129. doi:10.1161/01.RES.0000074881.56564.46.
62. Shroff RC, McNair R, Figg N, et al. Dialysis accelerates medial vascular calcification in part by triggering smooth muscle cell apoptosis. *Circulation*. 2008;118(17):1748-1757. doi:10.1161/CIRCULATIONAHA.108.783738.
63. Renkema KY, Alexander RT, Bindels RJ, Hoenderop JG. Calcium and phosphate homeostasis: Concerted interplay of new regulators. *Ann Med*. 2008;40(2):82-91. doi:10.1080/07853890701689645.
64. Chang Q, Hoefs S, van der Kemp AW, Topala CN, Bindels RJ, Hoenderop JG. The -Glucuronidase Klotho Hydrolyzes and Activates the TRPV5 Channel. *Science (80- )*. 2005;310(5747):490-493. doi:10.1126/science.1114245.
65. Koenig KG, Lindberg JS, Zerwekh JE, Padalino PK, Cushner HM, Copley JB. Free and total 1,25-dihydroxyvitamin D levels in subjects with renal disease. *Kidney Int*. 1992;41(1):161-165. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/1593853>. Accessed May 11, 2017.
66. Block G, Hulbert-Shearon T, Levin N, Port F. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: A national study. *Am J Kidney Dis*. 1998;31(4):607-617. doi:10.1053/ajkd.1998.v31.pm9531176.
67. Yang H, Curinga G, Giachelli CM. Elevated extracellular calcium levels induce smooth muscle cell matrix mineralization in vitro<sup>11</sup>See Editorial by Towler, p. 2467. *Kidney Int*. 2004;66(6):2293-2299. doi:10.1111/j.1523-1755.2004.66015.x.
68. Shroff RC, McNair R, Skepper JN, et al. Chronic Mineral Dysregulation Promotes Vascular Smooth Muscle Cell Adaptation and Extracellular Matrix Calcification. *J Am Soc Nephrol*. 2010;21(1):103-112. doi:10.1681/ASN.2009060640.
69. Ewence AE, Bootman M, Roderick HL, et al. Calcium Phosphate Crystals Induce Cell Death in Human Vascular Smooth Muscle Cells: A Potential Mechanism in Atherosclerotic Plaque Destabilization. *Circ Res*. 2008;103(5):e28-e34. doi:10.1161/CIRCRESAHA.108.181305.
70. Molostvov G, James S, Fletcher S, et al. Extracellular calcium-sensing receptor is functionally expressed in human artery. *Am J Physiol - Ren Physiol*. 2007;293(3). <http://ajprenal.physiology.org/content/293/3/F946.figures-only>. Accessed May 11, 2017.
71. Chen NX, O'Neill KD, Chen X, Moe SM. Annexin-mediated matrix vesicle calcification in vascular smooth muscle cells. *J Bone Miner Res*. 2008;23(11):1798-1805. doi:10.1359/jbmr.080604.
72. Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, et al. Association of low fetuin-A (AHSG) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients on dialysis: a cross-sectional study. *Lancet*. 2003;361(9360):827-833. doi:10.1016/S0140-6736(03)12710-9.
73. Shanahan CM, Crouthamel MH, Kapustin A, Giachelli CM. Arterial calcification in chronic kidney disease: key roles for calcium and phosphate. *Circ Res*. 2011;109(6):697-711. doi:10.1161/CIRCRESAHA.110.234914.
74. Rennenberg MW, Kessels AGH, Schurgers LJ, Van Engelsehoven JMA, De Leeuw PW, Kroon AA. Vascular calcifications as a marker of increased cardiovascular risk: A meta-analysis. *Vasc Health Risk Manag*. 2009;5:185-197. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2672434/pdf/vhrm-5-185.pdf>. Accessed May 13, 2017.
75. Barasch E, Gottdiener JS, Marino Larsen EK, Chaves PHM, Newman AB. Cardiovascular Morbidity and Mortality in Community-Dwelling Elderly Individuals With Calcification of the Fibrous Skeleton of the Base of the Heart and Atherosclerosis (The Cardiovascular Health Study). *Am J Cardiol*. 2006;97(9):1281-1286. doi:10.1016/j.amjcard.2005.11.065.
76. Kemmeren JM, Beijerinck D, van Noord PA, et al. Breast arterial calcifications: association with diabetes mellitus and cardiovascular mortality. *Work in progress. Radiology*. 1996;201(1):75-78. doi:10.1148/radiology.201.1.8816524.
77. Rodondi N, Taylor BC, Bauer DC, et al. Association between aortic calcification and total and cardiovascular mortality in older women. *J Intern Med*. 2007;261(3):238-244. doi:10.1111/j.1365-2796.2007.01769.x.
78. Gerstein HC, Mann JF, Yi Q, et al. Albuminuria and risk of cardiovascular events, death, and heart failure in diabetic and nondiabetic individuals. *JAMA*. 2001;286(4):421-426. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11466120>. Accessed May 17, 2017.
79. Chronic Kidney Disease Prognosis Consortium, Matsushita K, van der Velde M, et al. Association of estimated glomerular filtration rate and albuminuria with all-cause and cardiovascular mortality in general population cohorts: a collaborative meta-analysis. *Lancet*. 2010;375(9731):2073-2081. doi:10.1016/S0140-6736(10)60674-5.
80. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C. Chronic kidney disease and the risks of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med*. 2004;351(13):1296-1305. doi:10.1056/NEJMoa041031.
81. DESAI AA, NISSENSON A, CHERTOW GM, et al. The relationship between laboratory-based outcome measures and mortality in end-stage renal disease: A systematic review. *Hemodial Int*. 2009;13(3):347-359. doi:10.1111/j.1542-4758.2009.00377.x.
82. Wanner C, Krane V, März W, et al. Atorvastatin in Patients with Type 2 Diabetes Mellitus Undergoing Hemodialysis. *N Engl J Med*. 2005;353(3):238-248. doi:10.1056/NEJMoa043545.
83. Moroi M, Tamaki N, Nishimura M, et al. Association Between Abnormal Myocardial Fatty Acid Metabolism and Cardiac-Derived Death Among Patients Undergoing Hemodialysis: Results From a Cohort Study in Japan. *Am J Kidney Dis*. 2013;61(3):466-475. doi:10.1053/j.ajkd.2012.09.017.
84. Fujii H, Joki N. Mineral metabolism and cardiovascular disease in CKD. *Clin Exp Nephrol*. 2017;21. doi:10.1007/s10157-016-1363-8.
85. Wong MCG, Kalman JM, Pedagogos E, et al. Bradycardia and Asystole Is the Predominant Mechanism of Sudden Cardiac Death in Patients With Chronic Kidney Disease. *J Am Coll Cardiol*. 2015;65(12):1263-1265. doi:10.1016/j.jacc.2014.12.049.

86. Mohamed BA, Yang W, Litt H, Rosas SE. Valvular calcification, inflammation, and mortality in dialysis patients. *J Heart Valve Dis.* 2013;22(4):584-590. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/24224425>. Accessed May 13, 2017.
87. Luis A. VALderrAmA, Luis FernAndo Guerrero GB• C (Colombia). Calcificación de aorta abdominal de pacientes en hemodiálisis en una unidad renal. <http://www.scielo.org.co/pdf/amc/v37n1/v37n1a03.pdf>. Accessed May 17, 2017.
88. Shantouf RS, Budoff MJ, Ahmadi N, et al. Total and individual coronary artery calcium scores as independent predictors of mortality in hemodialysis patients. *Am J Nephrol.* 2010;31(5):419-425. doi:10.1159/000294405.
89. Hoffmann U, Brady TJ, Muller J. Use of New Imaging Techniques to Screen for Coronary Artery Disease. *Circulation.* 2003;108(8):50e-53. doi:10.1161/01.CIR.0000085363.88377.F2.
90. Russo D, Corrao S, Battaglia Y, et al. Progression of coronary artery calcification and cardiac events in patients with chronic renal disease not receiving dialysis. *Kidney Int.* 2011;80(10):112-118. doi:10.1038/ki.2011.69.
91. Liabeuf S, Desjardins L, Diouf M, et al. The Addition of Vascular Calcification Scores to Traditional Risk Factors Improves Cardiovascular Risk Assessment in Patients with Chronic Kidney Disease. *PLoS One.* 2015;10(7):e0131707. doi:10.1371/journal.pone.0131707.
92. Locatelli F, Del Vecchio L, Violo L, Pontoriero G. Phosphate binders for the treatment of hyperphosphatemia in chronic kidney disease patients on dialysis: a comparison of safety profiles. *Expert Opin Drug Saf.* 2014;13(5):551-561. doi:10.1517/14740338.2014.907791.
93. Chertow GM, Burke SK, Raggi P, for the Treat to Goal Working Group. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2002;62(1):245-252. doi:10.1046/j.1523-1755.2002.00434.x.
94. Block GA, Raggi P, Bellasi A, Kooienga L, Spiegel DM. Mortality effect of coronary calcification and phosphate binder choice in incident hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2007;71(5):438-441. doi:10.1038/sj.ki.5002059.
95. Block GA, Wheeler DC, Persky MS, et al. Effects of Phosphate Binders in Moderate CKD. *J Am Soc Nephrol.* 2012;23(8):1407-1415. doi:10.1681/ASN.2012030223.
96. Tsuchida K, Nagai K, Yokota N, Minakuchi J, Kawashima S. Impact of Lanthanum Carbonate on Prognosis of Chronic Hemodialysis Patients: A Retrospective Cohort Study (Kawashima Study). *Ther Apher Dial.* 2016;20(2):142-148. doi:10.1111/1744-9987.12399.
97. Taniguchi K, Kakuta H. Bixalomer, a novel phosphate binder with a small swelling index, improves hyperphosphatemia in chronic kidney disease rat. *Eur J Pharmacol.* 2015;766:129-134. doi:10.1016/j.ejphar.2015.10.001.
98. Raggi P, Chertow GM, Torres PU, et al. The ADVANCE study: a randomized study to evaluate the effects of cinacalcet plus low-dose vitamin D on vascular calcification in patients on hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant.* 2011;26(4):1327-1339. doi:10.1093/ndt/gfq725.
99. Suki WN, Zabaneh R, Cangiano JL, et al. Effects of sevelamer and calcium-based phosphate binders on mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int.* 2007;72(9):1130-1137. doi:10.1038/sj.ki.5002466.
100. Calcifediol - Wikipedia, la enciclopedia libre. <https://es.wikipedia.org/wiki/Calcifediol>. Accessed May 20, 2017.
101. Naves-Díaz M, Cabezas-Rodríguez I, Barrio-Vázquez S, Fernández E, Díaz-López JB, Cannata-Andía JB. Low calcidiol levels and risk of progression of aortic calcification. *Osteoporos Int.* 2012;23(3):1177-1182. doi:10.1007/s00198-011-1550-0.
102. Lopez I, Mendoza FJ, Aguilera-Tejero E, et al. The effect of calcitriol, paricalcitol, and a calcimimetic on extraosseous calcifications in uremic rats. *Kidney Int.* 2008;73(3):300-307. doi:10.1038/sj.ki.5002675.
103. Brown AJ, Finch J, Slatopolsky E. Differential effects of 19-nor-1,25-dihydroxyvitamin D(2) and 1,25-dihydroxyvitamin D(3) on intestinal calcium and phosphate transport. *J Lab Clin Med.* 2002;139(5):279-284. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12032488>. Accessed May 30, 2017.
104. Sprague SM, Ho LT. Oral doxercalciferol therapy for secondary hyperparathyroidism in a peritoneal dialysis patient. *Clin Nephrol.* 2002;58(2):155-160. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/12227689>. Accessed May 30, 2017.
105. Lau WL, Leaf EM, Hu MC, et al. Vitamin D receptor agonists increase klotho and osteopontin while decreasing aortic calcification in mice with chronic kidney disease fed a high phosphate diet. *Kidney Int.* 2012;82(12):1261-1270. doi:10.1038/ki.2012.322.
106. National Kidney Foundation AS, Coresh J, Bolton K, et al. K/DOQI clinical practice guidelines for chronic kidney disease: evaluation, classification, and stratification. *Am J Kidney Dis.* 2002;39(2 Suppl 1):S1-266. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/11904577>. Accessed May 22, 2017.
107. Westenfeld R, Krueger T, Schlieper G, et al. Effect of Vitamin K2 Supplementation on Functional Vitamin K Deficiency in Hemodialysis Patients: A Randomized Trial. *Am J Kidney Dis.* 2012;59(2):186-195. doi:10.1053/j.ajkd.2011.10.041.
108. Lomashvili KA, Monier-Faugere M-C, Wang X, Malluche HH, O'Neill WC. Effect of bisphosphonates on vascular calcification and bone metabolism in experimental renal failure. *Kidney Int.* 2009;75(6):617-625. doi:10.1038/ki.2008.646.
109. Chen N-C, Hsu C-Y, Chen C-L. The Strategy to Prevent and Regress the Vascular Calcification in Dialysis Patients. *Biomed Res Int.* 2017;2017:9035193. doi:10.1155/2017/9035193.
110. Uehara A, Yazawa M, Kawata A, Hachisuka R, Shibagaki Y. Denosumab for treatment of immobilization-related hypercalcemia in a patient with end-stage renal disease. *CEN Case Reports.* 2017;6(1):111-114. doi:10.1007/s13730-017-0254-5.
111. Yu Z, Gu L, Pang H, Fang Y, Yan H, Fang W. Sodium thiosulfate: an emerging treatment for calciphylaxis in dialysis patients. *Case reports Nephrol Dial.* 2015;5(1):77-82. doi:10.1159/000380945.
112. Adirekkiat S, Sumethkul V, Ingsathit A, et al. Sodium thiosulfate delays the progression of coronary artery calcification in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2010;25(6):1923-1929. doi:10.1093/ndt/gfp755.
113. Vervloet M, Cozzolino M. Vascular calcification in chronic kidney disease: different bricks in the wall? *Kidney Int.* 2017;91(4):808-817. doi:10.1016/j.kint.2016.09.024.
114. Lanzer P, Boehm M, Sorribas V, et al. Medial vascular calcification revisited: Review and perspectives. *Eur Heart J.* 2014;35(23):1515-1525. doi:10.1093/eurheartj/ehu163.
115. Betriu-Bars A, Fernández-Giráldez E. *Nefrología.* Vol 32. Revista Nefrología; 2012. [http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0211-69952012000100002](http://scielo.isciii.es/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0211-69952012000100002). Accessed May 30, 2017.
116. *Revista Cubana de Investigaciones Biomédicas.* Editorial Ciencias Médicas [http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci\\_arttext&pid=S0864-03002010000400001](http://scielo.sld.cu/scielo.php?script=sci_arttext&pid=S0864-03002010000400001). Accessed May 3, 2017.
117. Chronic Kidney Disease Stages | Knowing and Understanding of CKD Stages. <https://chronickidneydiseasestages.wordpress.com/>. Accessed May 31, 2017.
118. Tentori F, Hunt WC, Stidley CA, et al. Mortality risk among hemodialysis patients receiving different vitamin D analogs. *Kidney Int.* 2006;70(10):1858-1865. doi:10.1038/sj.ki.5001868.