



Mecanismos de calcificación vascular en la uremia

M. Rodríguez y A. Bas

Unidad de Investigación. Servicio de Nefrología. Hospital Universitario Reina Sofía. Córdoba.

Los pacientes urémicos sobre todo aquellos en diálisis crónica padecen diferentes tipos de calcificaciones: calcificaciones tumorales que son el resultado de la acumulación de calcio en tejidos que rodean articulaciones; calcificaciones de pequeños vasos que producen lesiones necróticas cuya evolución clínica es desfavorable en una gran proporción de casos; calcificaciones en tejidos blandos como pulmón que pueden no ser detectadas por estudios radiológicos; finalmente puede observarse calcificaciones que afectan a la capa media en todo el árbol arterial y en válvulas cardíacas. La prevalencia de calcificaciones vasculares es alta, diferentes autores presentan distintos valores de prevalencia (30-80%) y ello está relacionado con la sensibilidad del método que se usa para detectar calcificaciones y el tiempo en diálisis^{1,2}.

En esta revisión se describen aspectos de la calcificación de la capa media de los vasos que sugieren que esta calcificación es un proceso ordenado donde están involucradas células responsables de la producción de proteínas que sirven de base histológica a la calcificación. Además se exponen factores patogénicos de la calcificación vascular que son particularmente relevantes en los pacientes urémicos.

Además de en enfermos urémicos, las calcificaciones vasculares se observan con frecuencia en ancianos y en diabéticos, estas calcificaciones han sido referidas como esclerosis de Mönckeberg. En un estudio realizado por Shanahan y cols.³ se cuantificaron las proteínas que regulan mineralización en las arterias de extremidades de pacientes ancianos y diabéticos que habían sido amputadas por razones médicas. En aquellas arterias donde se observaba calcificación existía un aumento de expresión de proteínas que favorecen la mineralización: Fosfatasa Alcalina (FA), sialoproteína ósea (BSP), osteocalcina (BGP) y proteína morfogenética del hueso (BMP) y una disminución de las proteínas que antagonizan la mineralización: osteopontina (OPN), proteína GLA de matriz (MGP) y osteonectina (SPARC). Este estudio sugiere que en la pared vascular calcificada se ha roto el equilibrio a favor de las proteínas que promue-

ven mineralización que prevalecen sobre las proteínas que protegen la pared vascular de calcificaciones. En los pacientes urémicos las arterias calcificadas muestran un incremento de expresión de proteínas que favorecen mineralización⁴ y además las zonas de calcificación están rodeadas de células positivas para el factor de transcripción Cbfa-1 que se expresa en células de estirpe osteoblástica⁵.

Los estudios histológicos de la pared vascular calcificada muestran una deposición ordenada de calcio en forma de láminas, esto unido a la presencia de células de estirpe osteoblástica y la expresión de «proteínas mineralizantes» sugiere que la calcificación de la media es en realidad un proceso organizado de mineralización que requiere células (osteoblastos) y mediadores moleculares (proteínas osteogénicas).

Es probable que las células responsables de la mineralización de la pared vascular llamadas «células musculares calcificantes» sean células diferenciadas de estirpe osteoblástica a partir de células mesenquimales pluripotenciales que potencialmente son origen no solo de osteoblastos, condrocitos, célula muscular lisa, adipocitos y fibroblastos⁶. Es decir osteoblastos y células de músculo liso son relativamente cercanas desde el punto de vista de estado de diferenciación génica. En el hueso las células madre mesenquimales se diferencian a osteoblastos bajo la acción de factores de diferenciación entre los que cabe destacar el BMP que también se expresa en la pared de la arteria calcificada.

La tabla I expone las proteínas que actúan induciendo o inhibiendo mineralización de la pared arterial.

La proteína GLA de matriz tiene un papel importante en la prevención de las calcificaciones de la pared vascular. La proteína GLA es dependiente de vitamina K y dispone de radicales carboxílicos. El ratón deficiente para esta proteína desarrolla calcificaciones en todo el árbol vascular⁷. Una de las funciones principales de la proteína GLA es desactivar la BMP-2 y evitar que actúe en la pared del vaso como factor diferenciador de células de estirpe os-

Tabla I. Mediadores calcificación arterial

Inducen Calcificación

- BMP-2: Proteína morfogenética ósea
- BGP: Osteocalcina or proteína GLA ósea
- Collagen type II
- BSP: Sialoprotein ósea
- Fosfatasa Alcalina

Inhiben Calcificación

- MGP: Proteína GLA de matriz
- OPG: Osteoprotegerina
- OPN: Osteopontina
- SPARC: Osteonectina
- PTHrP

Tabla II. Factores patogénicos que son particularmente relevante en la calcificación vasclar del paciente urémico

- Hiperfosfatemia
- Uremic toxins
- Exceso de Vitamin D
- Niveles descendidos de Fetuina
- Inflamación
- Edad, Diabetes

toblástica². El uso de anticoagulantes que interfieran con vitamina K podría contribuir a las calcificaciones vasculares.

El comienzo de la calcificación vascular puede estar relacionado con la aparición de vesículas matriz que son pequeñas vesículas con contenido citoplásmico y membrana celular intacta; estas vesículas se forman a partir de células donde se origina mineralización o son el resultado del proceso de apoptosis celular. La pared del paciente urémico está lesionada por procesos de inflamación y estrés oxidativo, por lo tanto es razonable pensar que exista apoptosis celular. Proudfoot y cols.⁸ muestra que la apoptosis regula la calcificación de vascular *in vitro*. De acuerdo a estos autores, las vesículas matriz son capaces de concentrar calcio en su interior y son el origen de los cristales de bioapatita.

Existen una serie de factores patogénicos de la calcificación vascular que son particularmente relevantes en los pacientes urémicos (tabla II): hiperfosfatemia, toxinas urémica, vitamina D, Fetuina y el proceso inflamatorio crónico del paciente urémico en terapia sustitutiva.

Estudios *in vitro*⁹ usando cultivos primarios de células musculares lisas de pared vascular demuestran que el aumento de la concentración de fósforo extracelular induce a células musculares lisas de pared vascular a producir calcificaciones. Este efecto se observó con niveles de fósforo de 1,6-2 mM, similares a los de pacientes en diálisis. En este trabajo también se demostró que para inducir calcificaciones, el fósforo tenía que transportarse dentro de la célula mediante el cotransportador Na -P. En presencia de un fósforo elevado también se evidenció un aumento de la expresión del Cbfa-1, que identifica a células de estirpe osteoblástica, y de fosfatasa alcalina, mediador de calcificación.

En trabajos posteriores se ha analizado si el suero urémico, independientemente del fósforo elevado,

puede contribuir *in vitro* a la calcificación de la pared vascular. Efectivamente Moe S y cols.¹⁰ demuestra que la adición de suero urémico a cultivo de células musculares lisas de pared vascular induce calcificación por un mecanismo distinto del que se observó con el fósforo alto ya que el efecto es independiente de transporte de celular de fósforo. La calcificación vascular inducida por suero urémico se acompañó de un aumento de expresión de factor Cbfa-1.

Los pacientes urémicos tienen niveles bajos de 1,25(OH)₂D₃. En ocasiones estos enfermos reciben dosis altas de 1,25(OH)₂D₃ para tratar un hiperparatiroidismo secundario severo; uno de los inconvenientes de la administración de altas dosis de 1,25(OH)₂D₃ es el aumento de calcio y de fósforo que a su vez se asocia a calcificaciones vasculares. Independientemente de la hipercalcemia e hiperfosfatemia, Jono y cols.¹¹ encuentra que el 1,25(OH)₂D₃ puede aumentar la calcificación vascular *in vitro* usando cultivos primarios de células de musculo liso de pared vascular. La deposición de calcio inducida por 1,25(OH)₂D₃ se asoció a un disminución de la producción de PTHr P que es una de las proteínas que protegen la pared vascular de calcificación; el suplemento *in vitro* de PTHr P evitó la calcificación inducida por el 1,25(OH)₂D₃.

En un trabajo reciente¹² se describió la importancia de una deficiencia de fetuina como mecanismo de calcificación vascular en pacientes urémicos. La fetuina inhibe la formación de hidroxapatita, se sintetiza en el hígado y constituye la mayor parte de la banda α-2 del proteinograma (0,5-1,0 g/l). Los pacientes urémicos tienen niveles bajos de fetuina y la capacidad de inhibir la precipitación de calcio *in vitro* está disminuida.

La calcificación vascular en el enfermo urémico puede ser también atribuida a la existencia de mediadores inflamatorios. La presencia de TNFα, TGFβ, LDL oxidada, ROS, y la adhesión de monocitos/macrófagos a la célula del músculo liso de la pared vascular pueden inducir calcificación *in vitro* e inducir diferenciación de células de la pared vascular

a células de estirpe osteoblástica. Uno de las citocinas más ampliamente estudiadas como mediador de inflamación es el TNF α . *In vitro*, el TNF α induce calcificación *in vitro* por un mecanismo dependiente de AMP cíclico¹³. Los monocitos puede inducir calcificación a través de la producción de citocinas y por contacto directo con las células musculares lisas de la pared vascular de la adhesión a TNF¹⁴.

En resumen, las calcificaciones vasculares en el paciente urémico son frecuentes y ello puede ocurrir por distintos mecanismos: hiperfosfatemia, toxinas urémicas, abuso de calcitriol, deficiencia de fetuina y estado de inflamación crónica. Actuar en contra de estos mecanismos parece la forma más razonable de prevenir y combatir las calcificaciones vasculares en el paciente urémico. La probabilidades de padecer calcificaciones aumentan si además los pacientes son diabéticos y de avanzada edad.

BIBLIOGRAFÍA

1. Soft tissue calcification in chronic renal failure p. 346-367 in The spectrum of renal osteodystrophy, Oxford Edited by T Drüeke and I Salusky 2000.
2. Wallin R, Wajih N, Greenwood T, Sane DC: Arterial calcification: A review of mechanisms, animal models and the prospects for therapy. *Med Res Rev* 4: 274-301, 2001.
3. Shanahan CM, Cary N RB, Salisbury JR, Proudfoot D, Weissberg PL, Edmonds ME: Medial localization of mineralization-regulating proteins in association with Monckeberg's sclerosis. *Circulation* 100: 2168-2176, 1999.
4. Moe SM, O'Neil KD, Duan D, Ahmed S, Chen NX, Leapman SB, Fineberg N, Kopecky K: Medial artery calcification in ESRD patients is associated with deposition of bone matrix proteins. *Kidney Int* 61: 638-647, 2002
5. Moe SM, Duan D, Doehle BP, O'Neil KD, Chen NX: Uremia induces the osteoblast differentiation factor Cbfa-1 in human blood vessels. *Kidney Int* 63: 1003-1011, 2003.
6. Tintut Y, Zeni A, Saini T, Radcliff K, Watson K, Boström K, Demer LL. Multilineage potential of cells from the artery wall. *Circulation* 108: 2505-2510, 2003.
7. Luo G, Ducy P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, Karsenty G: Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature* 386: 78-81, 1997.
8. D Proudfoot D, Skepper JN, Hegyi L, Bennett MR, Sanan CM, Weissberg PL: Apoptosis regulates human vascular calcification *in vitro*, evidence for initiation of vascular calcification by apoptotic bodies. *Circ Res* 87: 1055-1062, 2000.
9. Jono S, McKee MD, Murry CE, Shioi A, Nishizawa Y, Mori K, Morii H, Giachelli CM: Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification. *Circ Res* 87: e10-e17, 2000.
10. Moe SM, Duan D, Doehle BP, O'Neill KO, Chen NX. Uremia induces osteoblast differentiation factor Cbfa1 in human blood vessels. *Kidney Int* 63: 1003-1011, 2003
11. Jono S, Nishizawa Y, Shioi A, Morii H. 1,25-Dihydroxyvitamin D₃ increases *in vitro* vascular calcification by modulating secretion of endogenous Parathyroid hormone-related peptide. *Circulation* 98: 1302-1306, 1998.
12. Ketteler M y cols.: *Lancet* 361: 827-833, 2003 completar
13. Tintut Y, Patel J, Parhami F, Demer LL.: Tumor necrosis factor- α promotes *in vitro* calcification of vascular cells via the cAMP pathway. *Circulation* 102: 2636-2642, 2000.
14. Tintut Y, Patel J, Territo M, Saini T, Parhami F, Demer L: Monocyte/Macrophage regulation of vascular calcification *in vitro*. *Circulation* 105: 650-655, 2002.