

Calcificação vascular em doença renal crônica: uma revisão

Vascular calcification in chronic kidney disease: a review

AutoresRodrigo Bueno de Oliveira¹Hirokazu Okazaki²Andrea E. Marques Stingham³Tilman B. Drüeke⁴Ziad A. Massy⁵Vanda Jorgetti⁶

¹ INSERM U-1088, Escola de Medicina e Farmácia - Universidade de Picardie Jules Verne, Amiens, França e Divisão de Nefrologia - Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

² INSERM U-1088, Escola de Medicina e Farmácia - Universidade de Picardie Jules Verne, Amiens, França e Departamento de Metabolismo, Endocrinologia e Medicina Molecular - Universidade Municipal de Osaka - Escola de Pós-graduação em Medicina - Osaka, Japão.

³ INSERM U-1088, Escola de Medicina e Farmácia - Universidade de Picardie Jules Verne, Amiens, França e Departamento de Patologia Básica e Laboratório Experimental de Nefrologia - Universidade Federal do Paraná, Curitiba, Brasil.

⁴ INSERM U-1088, Escola de Medicina e Farmácia - Universidade de Picardie Jules Verne, Amiens, França.

⁵ Chefe da Divisão de Nefrologia do Hospital Ambroise Paré - Universidade Paris-Ile-de-France-Ouest (UVSQ) e INSERM U-1088 (Diretor), Escola de Medicina e Farmácia - Universidade de Picardie Jules Verne, Amiens, França.

⁶ Divisão de Nefrologia - Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil e INSERM U-1088, Escola de Medicina e Farmácia - Universidade de Picardie Jules Verne, Amiens, França.

Data de submissão: 30/01/2013.

Data de aprovação: 21/03/2013.

Correspondência para:

Vanda Jorgetti.

Divisão de Nefrologia da Universidade de São Paulo, São Paulo, Brasil.

Av. Dr. Arnaldo, nº 455, 3º andar, sala 334, São Paulo, SP, Brasil.

CEP: 01246-903.

Tel: (11) 3061-8351.

Agradecemos o financiamento por uma bolsa da Universidade de Picardie-Jules Verne. RB de Oliveira e H. Okazaki receberam bolsas de pós-doutorado do Conselho Regional Picardie da Universidade de Picardie Jules Verne, Amiens, França. R.B. de Oliveira e A.E.M. Stingham receberam bolsas de pós-doutorado do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasília, Brasil.

DOI: 10.5935/0101-2800.20130024

RESUMO

Pacientes com doença renal crônica (DRC) frequentemente apresentam calcificação vascular (CV) - um forte e independente fator preditor de risco cardiovascular. O grau da CV tem proporcionado maior valor prognóstico quando comparado a outros marcadores mais tradicionais de risco. Há muito interesse em aprimorar nosso conhecimento sobre os mecanismos, estabelecer métodos diagnósticos e desenvolver modalidades mais eficazes de prevenção e tratamento. Sabe-se que a anormalidade metabólica encontrada na DRC facilita a progressão da CV juntamente com alterações nas atividades dos inibidores da CV. Possíveis medidas para se evitar a CV incluem o controle do cálcio e fosfato séricos, assim como outros fatores envolvidos em sua progressão, incluindo ésteres da vitamina D, hormônio da paratireoide, fator 23 de crescimento de fibroblastos, klotho e inibidores da CV. Além disso, discutimos novas abordagens terapêuticas para interromper a progressão da CV e reverter sua ação. O principal objetivo dessa revisão é proporcionar uma atualização sobre a CV em pacientes com DRC, concentrando-se mais especificamente em sua fisiopatologia, diagnóstico, prevenção e tratamento.

Palavras-chave: calcificação vascular; insuficiência renal, crônica; revisão.

ABSTRACT

Vascular calcification (VC), an independent and strong predictor of cardiovascular risk, is often found in CKD patients. The degree of VC is providing incremental prognostic value over traditional risk markers. There is interest in improving our understanding of mechanisms, establishing diagnostic methods and effective prevention and treatment modalities. The abnormal mineral metabolism of CKD is known to facilitate the progression of VC, in concert with altered activities of VC inhibitors. Possible measures to prevent VC include the control of serum calcium and phosphate as well as other factors involved in its progression, including vitamin D sterols, parathyroid hormone, fibroblast growth factor-23, klotho, and VC inhibitors. In addition, we discuss new possible therapeutic approaches to halt VC or reverse its progression. The principal aim of this review is to provide an updated overview of VC in patients with CKD, with particular focus on pathophysiology, diagnosis, prevention and treatment.

Keywords: chronic, renal insufficiency; review; vascular calcification.

INTRODUÇÃO

Com base na definição de Descritores de Ciências da Saúde,¹ a calcificação vascular (CV) é um processo patológico caracterizado por espessamento e perda de elasticidade das paredes musculares das artérias devido à calcificação da camada média e/ou íntima.

A maioria dos autores refere-se à CV como um termo geral para se referirem

tanto à calcificação da íntima quanto da camada média. No entanto, existem diferenças entre elas. A calcificação da íntima, o que ocorre tipicamente dentro da placa aterosclerótica na aorta, artérias coronárias e outras artérias de grande porte, é um indicador de fases avançadas de aterosclerose. Calcificação da média, que é frequentemente encontrada em pacientes com síndrome metabólica, diabetes e/ou doença renal crônica (DRC), é

caracterizada pela deposição mineral difusa ao longo das fibras elásticas em ambas as artérias do tipo elástica e artérias de resistência do tipo muscular.

A CV é um problema comum entre os pacientes com DRC. Sua prevalência aumenta com a redução progressiva da função renal.² A associação entre a calcificação de partes moles e uremia já é conhecida há mais de 100 anos. Naquela época, Rudolf Virchow (1821-1902) descreveu a presença de calcificações extra ósseas em um grupo de pacientes com doença óssea não-metabólica, uremia, hiperparatireoidismo primário e intoxicação por vitamina D. Virchow propôs uma hipótese interessante para explicar esse fenômeno: ele supõe que os sais de cálcio foram dissolvidos a partir dos ossos e transportado pela corrente sanguínea para ser depositado em algum local distante, formando verdadeiras “metástases de cálcio”, um processo análogo à disseminação de células malignas a partir de uma neoplasia primária.³ Contemporaneamente, Karl Rokitsky (1804-1878) fez uma contribuição importante ao descrever a presença de lesões ateroscleróticas.⁴ Alguns anos mais tarde, em 1903, Johann Georg Mönckeberg descreveu o tipo medial da CV que ele chamou esclerose calcificada.⁵

Embora as primeiras descrições de calcificação da média foram feitas há muito tempo, tornou-se um problema amplamente reconhecido somente após a introdução de diálise de longo prazo e de transplante renal. Nas últimas décadas, estudos em pacientes com DRC mostraram que o grau de CV foi um preditor independente e forte de óbito em associação com a rigidez vascular, hipertensão arterial, hipertrofia ventricular esquerda e cardiomiopatia.^{6,7}

Assim, muitos esforços têm sido empenhados para melhorar a nossa compreensão da patogênese, diagnóstico, prevenção e tratamento da CV. O objetivo desta revisão é fornecer uma atualização do nosso conhecimento atual sobre a CV relacionada à DRC.

PATOGÊNESE

MECANISMOS GERAIS DE CALCIFICAÇÃO VASCULAR

A calcificação vascular é um processo complexo, que envolve não só a simples precipitação de concentrações de fosfato supersaturado e cálcio no meio extracelular (etapa mineral), mas também, de um processo fortemente regulado e mediado por células, incluindo a apoptose, diferenciação osteocondrogênica e degradação da elastina (etapa celular). O decurso do tempo entre esses dois passos, *in vivo*, principalmente para

saber qual ocorre em primeiro lugar, permanece mal definido. Os principais eventos patogênicos encontram-se resumidos abaixo.

APOPTOSE

A apoptose das células do músculo liso vascular (CMLV) é considerada uma contribuição importante para o início da CV. De nota, as células do músculo liso vascular dentro de placas de atheroma exibem maior sensibilidade à apoptose em comparação com aqueles nas paredes normais de vasos.^{8,9} Acredita-se que corpos apoptóticos derivados de CMLV funcionam como estruturas de nucleação para a formação de cristais de cálcio, tais como vesículas de matriz no início da calcificação.^{10,11}

DIFERENCIAÇÃO OSTEOCONDROGÊNICA

A alteração fenotípica das CMLV para células osteocondrogênicas é caracterizada pelo aparecimento de vesículas de matriz contendo apatita e fibrilas calcificantes de colágeno na superfície das CMLV. Assim como nos ossos, essas vesículas agem como sítios de nucleação precoce para calcificação. Além disso, as CMLV sintetizam proteínas ósseas e promovem a formação de cristais e sua deposição.¹² Estudos *in vitro* têm demonstrado que essa alteração fenotípica, caracterizada pela expressão de proteínas associadas ao tecido ósseo, inclui a fosfatase alcalina (ALP), a osteocalcina e a osteopontina. O fator de transcrição 2 relacionado a Runt (Runx2) e o Msh homeobox 2, que são fatores de transcrição obrigatórios no desenvolvimento normal do osso, também têm demonstrado associação com a diferenciação osteocondrogênica das CMLV.¹³

A mudança fenotípica das CMLV também foi demonstrada em estudos *in vivo*. Camundongos com inativação da apolipoproteína-E e da proteína da matriz Gla (MGP) apresentam células parecidas com osteocondrócitos ao redor dos depósitos de cálcio na parede do vaso.^{14,15} Em artérias humanas calcificadas foi também documentada a expressão de colágeno II e da região Y determinante do gênero associados ao group box 9 (sox9) de alta mobilidade, que são fatores-chave de transcrição para a condrogênese.¹⁶

A natureza CMLV de células parecidas com osteocondroblastos na CV foi recentemente questionada por Tang Z. *et al.*¹⁷ Os autores afirmaram que, em resposta a lesões vasculares, as células-tronco multipotentes vasculares, não as CMLV maduras, que se diferenciam em células osteocondrogênicas, e assim

dão início à CV. Esta hipótese foi imediatamente rejeitada por Nguyen *et al.*,¹⁸ que afirmaram haver evidências convincentes de que as CMLV não são definitivamente diferenciadas e são capazes de sofrer transição para um fenótipo caracterizado pela proliferação celular e perda de marcadores de diferenciação.

DEGRADAÇÃO DA ELASTINA

As lamelas elásticas consistem principalmente de elastina amorfa - o componente principal da camada média da aorta, além das camadas concêntricas de células musculares lisas dispostas helicoidalmente. A elastocalcinose é caracterizada pela deposição de hidroxiapatita nas lamelas elásticas das artérias. Sabe-se que a degradação da elastina tem um papel importante no início e na progressão da CV; ela é induzida por elastase, metaloproteinases e outras proteases, incluindo cisteína e serina. A elastina degradada tem alta afinidade pelo cálcio, o que facilita o crescimento de hidroxiapatita ao longo das lamelas elásticas. Além disso, peptídeos derivados da elastina se ligam aos receptores laminina da elastina na superfície das CMLV e através da transformação da sinalização do fator de crescimento β podem aumentar a proliferação e aumentar a concentração de Runx-2, resultando em diferenciação osteocondrogênica.^{19,20}

MECANISMOS MOLECULARES DE CALCIFICAÇÃO VASCULAR

Além dos mecanismos descritos acima, está cada vez mais evidente que existem várias proteínas inibidoras e estimuladoras envolvidas no processo da CV (Tabela 1)²¹⁻²⁵ Uma interação complexa entre os estimuladores, incluindo a proteína morfogenética óssea 2 (BMP-2) e ativador do receptor do fator nuclear ligante de *kappa* B (RANKL), e inibidores incluindo GPM, BMP-7, osteoprotegerina, fetuina-A, e a osteopontina, regulam este processo. Na verdade, também tem sido especulado que as moléculas estimuladoras podem atuar via regulação de microRNA (MIR). Recentemente, Balderman *et al.*²⁶ mostraram que as CMLV humanas tratadas por BMP-2, reduzem a concentração de miR-30b e miR-30c para aumentar a expressão de Runx2 e estimular a mineralização.

Os parágrafos seguintes descrevem os principais mecanismos moleculares envolvidos na CV.

VIA METABÓLICA DO FOSFATO

A homeostase do fosfato é mantida pelo controle hormonal do seu transporte no intestino, ossos e rins. A forma

TABELA 1 RESUMO DOS FATORES INIBITÓRIOS E ESTIMULATÓRIOS MAIS COMUMENTE ENVOLVIDOS NA PATOGÊNESE DA CALCIFICAÇÃO VASCULAR

Inibitórios	Estimulatórios
Proteína Matrix Gla (MGP)	Hiperfosfatemia
Osteopontina (OPN)	Hipercalcemia
Proteína morfogenética óssea 7 (BMP-7)	Proteína morfogenética óssea 2 (BMP-2)
Magnésio	Ligante do ativador de receptor do fator nuclear <i>kappa</i> B (RANKL)
Fetuína-A	
Osteoprotegerina (OPG)	
Pirofosfato (PPi)	
Klotho	
FGF-23 (?)	FGF-23 (?)

mais ativa da vitamina D, a 1,25-di-hidroxivitamina D [1,25 DIOH D], que é sintetizada no rim, aumenta a absorção intestinal de fosfato e estimula a osteoclastogênese no osso, levando a um aumento da concentração de fosfato extracelular. O PTH atua no rim, estimulando a síntese tanto da 1,25 DIOH D através da ativação da 1 α -hidroxilase 25OH D quanto a excreção de fosfato urinário.²⁷ Além de PTH e 1,25 DIOH D, FGF23 e Klotho foram descobertos mais recentemente como novos fatores envolvidos no metabolismo do fosfato. A importância do eixo Klotho-FGF23 será discutida a seguir.

O fosfato é um indutor bem conhecido da apoptose e diferenciação osteocondrogênica das CMLV. Aumento dos níveis de fosfato suprime tanto a expressão do gene 6 (Gas6) específico de interrupção do crescimento, quanto do seu receptor nas CMLV.²⁸ Esta inibição causa a supressão da via de existência da fosfatidilinositol-3-quinase PI3K/Akt, assim favorecendo a apoptose das CMLV.²⁹

O transporte de fosfato para dentro da célula é mediado principalmente por co-transportadores sódio-dependentes de fosfato (Na/Pi). A sua captação pelas CMLV ocorre principalmente por via do transportador 1 de fosfato (Pit-1), um membro do grupo de co-transportadores tipo III de Na/Pi, que leva à diferenciação osteocondrogênica.³⁰ De nota, a inativação da Pit-1 demonstrou suprimir a calcificação induzida por fosfato e bloquear a indução da Runx2 e da osteopontina.³¹

PIROFOSFATO (IPP)

O PPi é um importante inibidor fisiológico da formação de hidroxiapatita. Também inibe potentemente a CV.

O PPI é gerado pela hidrólise do ATP induzida pela enzima fosfatase ecto-nucleotídeo/fosfodiesterase 1 (ENPP1), uma glicoproteína ligada à membrana extracelular. Quando o gene ENPP1 sofre mutação e a enzima é inativada, tal como na síndrome clínica rara chamada “calcificação arterial idiopática infantil”, na qual ocorre calcificação grave da lâmina elástica muscular interna de artérias. Isto representa uma entre as várias manifestações do importante papel do PPI na prevenção da CV.³² Em contraste, a fosfatase alcalina, cuja expressão é induzida por transformação osteocondrogênica das CMLV, promove a mineralização da matriz da parede do vaso. Uma das funções principais da fosfatase alcalina consiste em hidrolisar o PPI, que por sua vez gera íons fosfato e, conseqüentemente, favorece o desenvolvimento de CV.

EIXO KLOTHO-FATOR 23 DE CRESCIMENTO DE FIBROBLASTOS

Além de sua conhecida ação anti-envelhecimento, o Klotho serve como um co-fator da FGF23 em conferir à mesma especificidade para a ativação do receptor FGF. Os dois juntos desempenham um papel essencial no controle do metabolismo da vitamina D e do fosfato, aumentando a excreção urinária de fosfato e suprimindo a atividade da hidroxilase renal 1α 25OH da vitamina D. Camundongos com deficiência de Klotho e camundongos sem FGF23 apresentam um fenótipo similar, caracterizado por um processo de envelhecimento acelerado com reduzido tempo de vida, aterosclerose e calcificação dos tecidos moles, incluindo CV.^{33,34} Curiosamente, a super expressão do Klotho em camundongos com DRC reduz notavelmente a calcificação da aorta, em comparação com camundongos deficientes em Klotho e do tipo selvagem com comprometimento semelhante da função renal. O Klotho também é capaz de inibir diretamente a calcificação das CMLV induzida por fosfato *in vitro*.³⁵ A FGF-23 ainda não tem seu papel na CV plenamente elucidado no contexto da DRC. Como um paradoxo aparente, já foi relatado que uma alta concentração sérica de FGF23 também está associada à gravidade da aterosclerose³⁶ e CV em pacientes com DRC.³⁷ Curiosamente, outro estudo envolvendo pacientes sem DRC relatou uma associação negativa entre FGF-23 e a presença de lesão aterosclerótica.³⁸ Vários estudos recentes, mas não todos, mostram o envolvimento de ambos Klotho e FGF23 na CV, tanto em interação quanto separadamente um do outro, além do cálcio, fosfato, PTH e $1,25$ DIOH D.^{39,40}

No entanto, para conhecermos suas funções exatas e respectivas neste processo ainda necessitamos de maiores estudos.

RECEPTOR SENSOR DE CÁLCIO

O CaR é um receptor acoplado à proteína G. Ele tem sua expressão em tecidos que estão envolvidos na regulação do metabolismo do cálcio, incluindo a paratireóide, a tireóide, os rins, ossos e intestinos.⁴¹ Além disso, o CaR tem também demonstrado ser expresso em vasos sanguíneos, tanto em células endoteliais⁴² quanto nas CMLV.⁴³ Alam *et al.*⁴⁴ mostraram que uma redução na expressão de CaR nas CMLV está associada a um aumento da mineralização, e que calcimiméticos podem atenuar a deposição mineral. Ivanovski *et al.*⁴⁵ mostraram um efeito protetor de calcimiméticos contra a progressão da CV e aterosclerose em camundongos nos quais foi inativada a apolipoproteína E-urêmica. Eles também mostraram uma inibição direta por calcimiméticos da calcificação das CMLV humanas induzida por fosfato *in vitro*. Este efeito inibitório poderia ser abolido pela supressão da expressão do CaR. Koleganova *et al.*⁴⁶ relataram que calcimiméticos aumentam a expressão de MGP e diminuem a expressão de Pit1 em ratos urêmicos, impedindo a remodelação da parede vascular. Estas observações sugerem que os calcimiméticos desempenham um papel importante na CV, não só pelos efeitos indiretos, tais como um melhor controle do PTH, cálcio e níveis de fosfato séricos, como também por um efeito direto sobre as células vasculares. Estes resultados destacam a importância da pesquisa sobre o papel do CaR na patogênese da CV.

O ESTRESSE OXIDATIVO

O estresse oxidativo pode ser definido como uma perturbação da função celular e molecular normais, causada por um desequilíbrio entre a produção excessiva de espécies reativas de oxigênio (ROS) e a capacidade de defesa natural das células contra a oxidação.⁴⁷ Como um exemplo, as modificações oxidativas das proteínas por ROS podem induzir a expressão de nitrotirosina pelas células endoteliais e alta expressão de receptores para as toxinas urêmicas, tais como produtos finais de glicação avançada (AGE). No sistema cardiovascular, a acumulação de AGE contribui para a rigidez arterial, devido à sua ligação ao colágeno e elastina de uma forma desordenada. Além disso, a toxicidade urêmica leva

a uma deficiência na síntese de óxido nítrico (NO) endotelial, que desempenha um papel crucial na proteção vascular, uma vez que o NO inibe a proliferação e migração de CMLV, a expressão de moléculas de adesão, e agregação plaquetária.⁴⁸

A precisa relação entre o estresse oxidativo e a CV ainda não está bem estabelecida. Yamada *et al.*⁴⁹ observaram progressivo desenvolvimento de calcificação da camada média arterial em ratos com DRC induzida por dieta rica em adenina, que foi acompanhada por um aumento tempo-dependente do estresse oxidativo aórtico e sistêmico. Estudos temporais indicaram que tanto o estresse oxidativo quanto a hiperfosfatemia foram correlacionados com calcificação da camada média arterial. Nosso grupo demonstrou um aumento significativo na coloração imunológica por nitrotirosina em aortas de urêmicos em comparação com os camundongos não-urêmicos com inativação da apoE,⁵⁰ e Guilgen *et al.*⁵¹ relataram os mesmos achados em artérias de pacientes com DRC, em comparação com doadores saudáveis, o que demonstra a participação efetiva do estresse oxidativo na CV.

INFLAMAÇÃO

Inflamação sistêmica crônica é uma característica comum em DRC, causada tanto pelo acúmulo de compostos pró-inflamatórios relacionados a uma importante redução na taxa de filtração glomerular, e aumento da produção e liberação de citocinas inflamatórias.⁵²

Estudos *in vivo* e *in vitro* anteriores mostraram que a inflamação induziu o acúmulo intracelular de lipídeos e a formação de células espumosas, perturbando o mecanismo de *feedback* que regula o receptor de lipoproteína de baixa densidade, exacerbando a progressão da aterosclerose e da CV.^{53,54} Outra observação interessante foi relatado por Ketteler *et al.* em um grupo de 312 pacientes estáveis em hemodiálise, nos quais os autores observaram que a concentração sérica de fetuína-A foi menor do que em controles saudáveis e esteve inversamente associada à proteína C-reativa sérica, e que ambas estavam associadas à maior mortalidade cardiovascular e à mortalidade por todas as causas.⁵⁵

Estas observações exemplificam o papel essencial da inflamação na calcificação vascular e suas relações com a mortalidade em pacientes com DRC.

RELAÇÕES FISIOPATOLÓGICAS ENTRE O OSSO E CALCIFICAÇÃO VASCULAR

Nos últimos anos, muitos estudos clínicos e experimentais têm demonstrado uma associação entre osteoporose e CV.⁵⁶⁻⁶¹ Schulz *et al.*⁶² demonstraram prospectivamente uma associação entre a progressão da calcificação aórtica e a diminuição da densidade mineral óssea. Os autores também descobriram que o risco de fraturas vertebrais e de quadril foi maior em mulheres com calcificação aórtica. Vários estudos têm ampliado esses resultados para pacientes com DRC em quem calcificação coronariana e aórtica estão, aparentemente, ainda mais estreitamente associadas a volume ósseo reduzido e distúrbios na remodelação óssea, especialmente naqueles com baixa taxa de renovação óssea (bone turnover).^{60,63-65}

Já sabemos há anos que o envelhecimento, diabetes mellitus,⁶⁶ dislipidemia,⁶⁷ tabagismo e abuso de álcool contribuem tanto para a diminuição da densidade mineral óssea quanto para o aumento na CV.⁶⁸ No entanto, a associação persiste após o ajuste para alguns desses fatores, o que sugere a existência de outros mecanismos que ainda não foram completamente elucidados.

Entre os mecanismos propostos alguns apontam para várias patologias vasculares como causas subjacentes. Outros têm sugerido que alterações nas células ósseas pudessem afetar o tecido vascular. Um terceiro mecanismo incluiria distúrbios metabólicos comuns a uma variedade de doenças, quer isoladamente ou em conjunto com a inflamação, tais como diabetes e dislipidemia, que iria estimular a reabsorção óssea e a doença vascular.

Todos os órgãos são dotados de uma árvore vascular garantindo a entrada de nutrientes e oxigênio. O tecido ósseo não é exceção a esta regra. Além disso, o sangue transporta os precursores de células ósseas que estão envolvidas na remodelação óssea e, assim, contribuem para a integridade do esqueleto. A isquemia causada por aterosclerose intraóssea pode comprometer a vascularização e favorecer a osteoporose.⁶⁹ Foi também demonstrada uma associação entre a diminuição da densidade mineral óssea e a presença de hipertensão arterial periférica.⁷⁰ Um estudo em mulheres mostrou que a taxa de perfusão óssea foi marcadamente reduzida em pacientes com osteoporose, em comparação com as mulheres osteopênicas ou naquelas com massa óssea normal.⁷¹

Recentemente novas funções do tecido ósseo foram descobertas além das suas funções já bem conhecidas, tais como a locomoção, a proteção dos órgãos internos e sua participação na regulação do metabolismo mineral. Os osteoblastos, através da produção de osteocalcina, participam da regulação do metabolismo das gorduras, da homeostase energética, e da secreção e sensibilidade à insulina, os quais são essenciais para o funcionamento adequado e integridade do sistema cardiovascular.⁷² A osteocalcina regula a expressão do gene da insulina, a proliferação de células β , e a expressão e secreção de adiponectina nos adipócitos.⁷³ Tanto na população em geral quanto em pacientes com DRC, a osteocalcina sérica demonstrou estar correlacionada positivamente com a adiponectina sérica.^{74,75} Além disso, ambas se correlacionam inversamente com a rigidez arterial e progressão da calcificação coronariana.⁷⁴ A leptina, um hormônio que regula a massa de tecido adiposo, é um potente inibidor da formação óssea e também promove a CV.⁷⁶ Em estágios avançados da DRC os níveis de leptina são geralmente elevados. Coen *et al.*⁷⁷ demonstraram que os pacientes urêmicos com altos níveis de leptina e baixos níveis séricos de PTH estavam mais propensos a desenvolverem CV.

A identificação das células ósseas circulantes com potencial para CV levantou dúvidas quanto a isso poder ser outra relação.⁷⁸⁻⁸⁰ Tanto as células mesenquimais da medula óssea quanto aquelas da linhagem hematológica podem dar origem a células ósseas circulantes com potencial osteogênico que poderia, por exemplo, também abrigar lesões ateroscleróticas e contribuir para calcificação da íntima. A capacidade destas células para promover CV tem sido demonstrada somente *in vitro*, ainda não *in vivo*.⁸¹

Recentemente, duas análises abrangentes sobre o eixo ósseo-vascular foram publicadas por Fadini *et al.*⁸¹ e London.⁸²

DIAGNÓSTICO

O diagnóstico clínico de calcificação da média é praticamente impossível por exame físico apenas. Sua presença é sugerida quando as artérias palpáveis são detectáveis quando o esfigmomanômetro é insuflado a um nível mais elevado do que a verdadeira pressão arterial sistólica. Esta manobra propedêutica é conhecida como sinal de Osler.⁸³

Atualmente, não há nenhum biomarcador confiável, suficientemente sensível e específico para

o diagnóstico de CV. Como descrito acima, na seção sobre os mecanismos moleculares de “calcificação vascular”, vários biomarcadores foram demonstrados como estando associados ao início e/ou desenvolvimento da CV. No entanto, ainda não foi provado que qualquer destes marcadores reflita a deposição de fosfato de cálcio na parede arterial. Por isso, ainda não está atualmente claro se eles serão de alguma utilidade para a prática clínica.

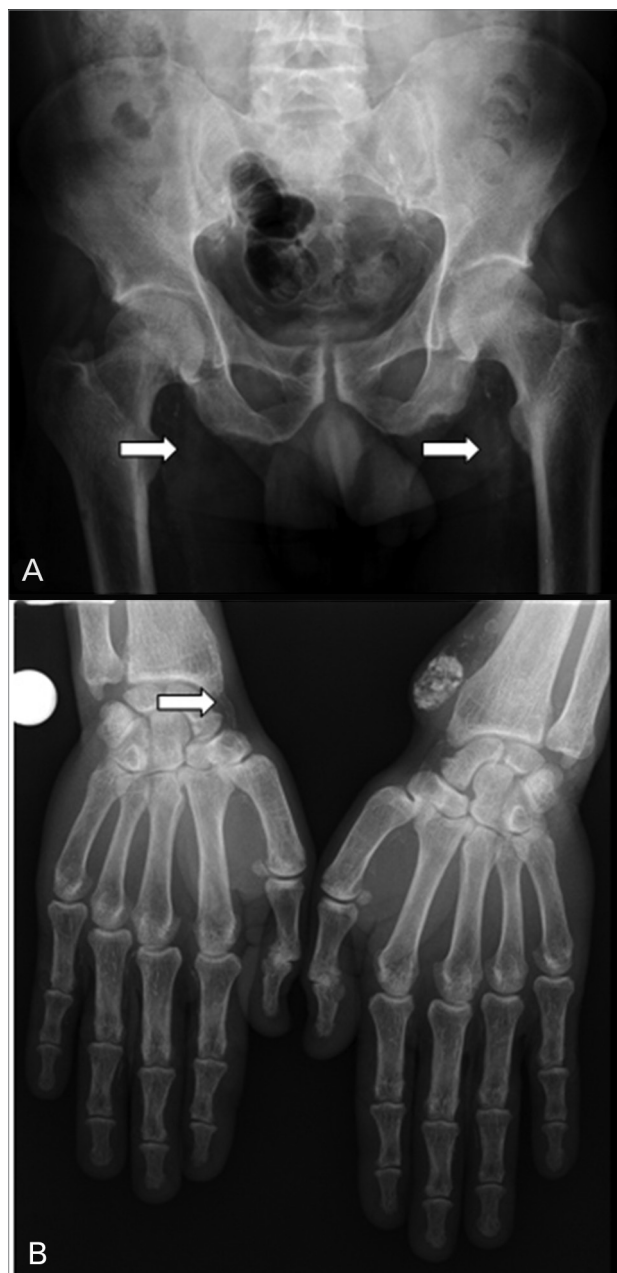
Métodos não-invasivos de imagem representam o padrão ouro. Entre os métodos disponíveis para a detecção e quantificação da calcificação arterial, a tomografia computadorizada de feixe de elétrons (CT) e a tomografia multislice - técnica mais acessível de exame - são os métodos mais utilizados para a avaliação precisa da gravidade da CV e sua progressão. Os resultados da calcificação da artéria coronariana (CAC) são geralmente relatados usando-se a pontuação CAC de Agatston, que se baseia no produto de área da placa calcificada e no coeficiente de densidade. Esta pontuação tem demonstrado ser preditiva de eventos cardíacos. Uma limitação é a incapacidade de distinguir entre calcificação da íntima e da média. Além disso, Kristanto *et al.*⁸⁴ ressaltaram que o início precoce da deposição de cálcio permanece invisível mesmo com estas técnicas quantitativas e uma pontuação de Agatston zero não exclui a presença de calcificação coronariana incipiente.

A diretriz *Kidney Disease Improving Global Outcomes* (KDIGO), de 2009, sugere a utilização de radiografia abdominal lateral, um exame de baixo custo, para a avaliação semi-quantitativa da CV e um ecocardiograma para detecção de calcificação valvar em pacientes com DRC estágios 3-5. Na rotina clínica esta técnica é uma alternativa razoável aos métodos de imagem baseados em TC que são de custo mais alto.⁸⁵

Kauppila *et al.*⁸⁶ desenvolveram um sistema de pontuação da gravidade da calcificação abdominal, usando imagens lombares laterais. A gravidade dos depósitos calcificados é classificada de 0 a 3, separadamente, para a parede anterior e posterior, em cada corpo vertebral, a partir da primeira para a quarta vértebra lombar. Adragao *et al.*⁸⁷ desenvolveram outro sistema de pontuação, utilizando imagens pélvis para as artérias ilíaca e femoral, e imagens da mão para as artérias radial e digital. Eles dividiram as imagens da pélvis e da mão em oito seções e as classificaram de 0 a 8 (máximo), dependendo da presença ou ausência de CV (Figura 1). Embora

estes métodos semi-quantitativos tenham capacidade limitada para distinguir entre a extensão e grau de gravidade da calcificação, eles são mais amplamente disponíveis e menos caros, e podem ser utilizados para a estratificação do risco cardiovascular.

Figura 1. A: Calcificação arterial de artérias pélvicas de um paciente em hemodiálise crônica; B: Calcificações arteriais de artérias da mão de um paciente em hemodiálise crônica. As setas brancas indicam áreas de extensa calcificação vascular (imagens do arquivo particular do Dr. V. Jorgetti's).



PREVENÇÃO E TRATAMENTO

Até o momento, nenhum entre uma variedade de tratamentos disponíveis foi definitivamente comprovado para prevenir ou reverter a CV e é largamente admitido que

esta complicação, uma vez estabelecida, é irreversível. No entanto, alguns medicamentos, incluindo os ligantes de fosfato e cinacalcet, têm demonstrado capacidade de interromper ou pelo menos retardar a progressão da doença em pacientes com DRC. Ainda precisamos comprovar se isso se traduz em uma melhoria dos resultados clínicos.⁸⁵ Portanto, grandes esforços devem ser direcionados para a prevenção como a principal opção.

Em estudos observacionais, a hiperfosfatemia, a hipercalcemia e valores de PTH séricos extremamente elevados ou muito baixos têm sido associados a resultados ruins em DRC. Quanto ao fosfato sérico, mesmo quando seus níveis estão na faixa de normal-alta, ele pode ser associado à CV e mortalidade, conforme demonstrado em pacientes sem doença renal conhecida e em pacientes com DRC estágio 3.^{88,89}

Na DRC estágio 4-5 e pacientes 5D, recomenda-se, atualmente, levar os níveis de fosfato sérico, cálcio e concentrações de PTH às faixas-alvo associadas a taxas mais baixas de CV (Tabela 2)⁸⁵ e menores riscos de mortalidade (Figura 2).⁹⁰ Contudo, nos estágios iniciais da DRC estes parâmetros encontram-se no intervalo normal na maioria dos pacientes, em contraste com o que é observado em estágios mais tardios.⁹¹ No entanto, alguns grupos examinaram os efeitos de redução da sobrecarga de fosfato e/ou trazendo os níveis de PTH para os níveis de valores normais em pacientes com DRC estágios 3-4.⁹²

Os parágrafos seguintes descrevem as principais opções atualmente disponíveis para a prevenção da CV, com foco especial no controle do fosfato, bem como o papel supostamente protetor de alguns medicamentos de uso corrente para o tratamento de distúrbios minerais e ósseos associados à DRC. Além disso, vamos discutir modalidades terapêuticas para novos potenciais alvos.

CONTROLE DE FOSFATO SÉRICO

Atualmente, as opções disponíveis para reduzir o fosfato sérico em pacientes com DRC com hiperfosfatemia são: (i) limitar a ingestão de fosfato na dieta (assegurando ingestão adequada de proteínas), (ii) aumentar a frequência ou a duração da diálise na DRC estágio 5D, e (iii) o uso de aglutinantes de fosfato e calcimiméticos.

DIETA

A orientação da KDIGO sugere, em pacientes com DRC estágios 3-5D: limitar o consumo de fosfato na dieta no tratamento de hiperfosfatemia por si só ou

TABELA 2 RECOMENDAÇÕES DAS FAIXAS ÓTIMAS DE CONCENTRAÇÕES SÉRICAS TOTAIS DE CÁLCIO, FOSFATO E HORMÔNIO DA PARATIREÓIDE (PTH), COM BASE NOS ESTÁGIOS DA DRC[§]

	DRC estágios 3 a 5	DRC estágio 5D	Faixa de normalidade*
Fosfato (mg/dl)	Faixa normal	Rebaixar níveis elevados de P em direção à normalidade	2,7-4,5
Cálcio total (mg/dl)	Faixa normal	Faixa normal	8,6-10,2
[Cad] (mEq/l)	NA	2,5 a 3,0	NA
PTH (pg/ml)	< Faixa normal superior (para faixa, veja +)	2-9 x faixa normal superior ** (para faixa, veja +)	10-65

Cad: Concentração do Ca no dialisato; NA: Não aplicável; [§] Discretamente modificado pelos autores a partir do texto de referência 85; * A faixa normal pode ter variações de acordo com o ensaio de medição; + os pacientes com DRC estágios 3-5 devem primeiro ser avaliados em termos de hiperfosfatemia, hipocalcemia e deficiência de vitamina D. Quando o PTH está subindo progressivamente e/ou se encontra persistentemente fora do limite superior da normalidade para o ensaio utilizado apesar da correção pelos fatores modificáveis, deve-se considerar tratamento com calcitriol ou análogos da vitamina D; ** Nos pacientes em diálise, o tratamento com calcimiméticos é uma opção adicional.

em combinação com outros tratamentos, mas esta sugestão baseia-se, principalmente, na opinião de especialistas e não em evidência médica.⁸⁵ Em pacientes com DRC fase 5, a ingestão de fosfato não deveria exceder 1.000 mg por dia. Recentemente, grande atenção tem sido dada, não só à quantidade de fosfato na dieta, mas também à sua qualidade. O fosfato inorgânico em aditivos alimentares é frequentemente encontrado em alimentos industrializados e nas chamadas refeições-rápidas (“fast food”). Em contraste com o fosfato orgânico, o fosfato inorgânico é absorvido de forma mais eficaz e, portanto, leva mais facilmente à sobrecarga de fosfato.⁹³ Portanto, o corpo clínico multiprofissional que tem a cargo o tratamento de pacientes com DRC deve ter dois objetivos em mente com relação a recomendações sobre o consumo de fosfato: evitar o fosfato inorgânico contido nos aditivos alimentares e limitar a ingestão diária de fosfato para menos de 1.000 mg/dia. Note-se que esses objetivos devem ser alcançados sem induzir desnutrição proteica.

REMOÇÃO DE FOSFATO POR DIÁLISE

A cinética plasmática de fosfato intradialítico segue um modelo de dois compartimentos, diferindo assim da cinética da uréia. O modo de eliminação de fosfato parece assemelhar-se mais à moléculas médias típicas do que àquela de pequenas moléculas, como a uréia.⁹⁴ A liberação de fosfato durante a hemodiálise é afetada por vários fatores, incluindo as taxas de fluxo de sangue e dialisato, área de superfície da membrana do dialisador, taxa de ultrafiltração e frequência e duração da sessão de diálise.

Um aumento na frequência da diálise (por exemplo, diálise diária de curta duração, seis vezes por semana, com 2,5-3 horas por sessão) ou duração da

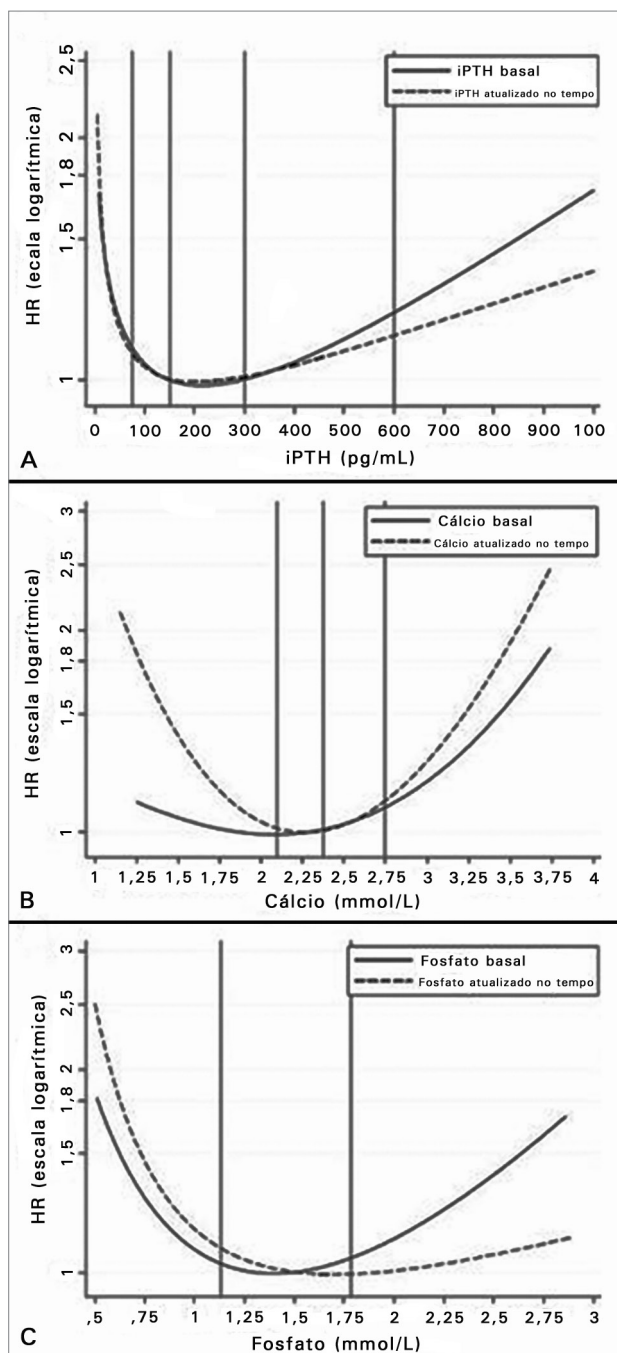
diálise (por exemplo, a hemodiálise noturna, 6 vezes por semana, 8 horas cada sessão) são estratégias úteis para o tratamento de hiperfosfatemia na DRC fase 5D.^{95,96} A hemodiafiltração pode aumentar ainda mais a remoção do fosfato em massa.⁹⁷ Na diálise peritoneal (DP), um estudo transversal comparativo entre a DP automatizada e a DP contínua ambulatorial mostrou que a remoção total de massa de fosfato semanal foi semelhante em ambos os métodos.⁹⁸ A transferência de massa pode ser aumentada através do aumento diário da infusão de líquido peritoneal.⁹⁹ Uma análise interessante sobre a remoção de fosfato usando várias modalidades de tratamento por hemodiálise e DP foi publicada recentemente por Kuhlmann.¹⁰⁰

AGLUTINANTES ORAIS DE FOSFATO

A escolha do aglutinante de fosfato deve ser individualizada de acordo com a preferência e tolerância dos pacientes. O maior problema com todos os aglutinantes de fosfato não é a falta de eficácia, mas a falta de adesão do paciente. Todos os aglutinantes de fosfato disponíveis atualmente, como sais de cálcio ou magnésio, cloridrato de Sevelamer ou carbonato, e carbonato de lantânio são eficazes na redução do fosfato sérico.⁸⁵ Entretanto, não há evidências suficientes de que qualquer aglutinante de fosfato específico afete significativamente os resultados em nível de paciente.

Embora exista alguma evidência sugerindo que o sevelamer em comparação com os aglutinantes de fosfato baseados em cálcio atenua a progressão de CV em pacientes com DRC estágios 3-5¹⁰¹ e 5D,^{102,103} outros estudos não conseguiram confirmar estes resultados.^{104,105} Os efeitos do Sevelamer na CV poderia ser tanto diretos quanto indiretos. Este aglutinante de fosfato exerce efeitos pleiotrópicos, incluindo uma

Figura 2. O risco relativo (RR) de mortalidade por todas as causas em pacientes crônicos em hemodiálise em função de três parâmetros séricos diferentes comparando a regressão da Cox basal versus aquela relacionada ao tempo usando polinômios fracionários. A: RR do paratormônio intacto sérico (PTH). Pacientes com níveis de iPTH fora da faixa alvo KDOQI (150-300 pg/mL) tiveram um maior risco de morte em comparação com aqueles dentro da faixa alvo; B: RR para o cálcio sérico total (valores de cálcio < 1,15 mmol/L e > 3,74 mmol/L, não mostrado). Pacientes com cálcio total > 2,75 mmol/L tiveram maior risco de morte do que aqueles que estavam na faixa normal. Para valores mais baixos de cálcio (< 2,10 mmol/L), não houve efeito sobre o risco de morte em análise inicial da Cox ajustada, mas um risco ligeiramente maior na análise tempo-dependente; C: RR para o fosfato sérico. Pacientes com níveis de fosfato fora da faixa alvo KDOQI (1,13-1,78 mmol/L) apresentaram maior risco de morte em comparação com aqueles dentro da faixa alvo na análise da Cox basal ajustada. A análise dependente do tempo ajustado estava consistente com a análise ajustada dos valores basais para baixa concentração de fosfato, mas não para os níveis elevados de fosfato. (Reproduzido com permissão da referência 90: Floege et al. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:1948-55).



atenuação do estresse oxidativo e da inflamação, e uma diminuição nos níveis de toxinas urêmicas circulantes.^{106,107}

No que diz respeito a aglutinantes de fosfato à base de cálcio, eles podem levar a uma sobrecarga de cálcio, quando administrados em quantidade excessiva.^{108,109} Devem ser restringidos a não mais do que um total de 1.500 mg de cálcio elementar por dia, especialmente na presença de CV, hipercalemia e/ou doença óssea estacionária,⁸⁵ as duas últimas condições estão associadas à CV. aglutinantes de fosfato à base de magnésio/cálcio foram recentemente demonstrados como alternativa aceitável.¹¹⁰

CALCIMIMÉTICOS

Tanto a evidência experimental quanto clínica indicam que o receptor sensível ao cálcio (CaR) não só tem expressão renal e no tecido da paratireóide, como também nas células vasculares, tendo assim um papel na CV. Em um modelo do rato com DRC, os calcimiméticos retardaram a progressão da calcificação na aorta e arteriosclerose,¹¹¹ e em um modelo de rato urêmico, os calcimiméticos atenuaram a calcificação da média e proliferação das CMLV.¹¹²

Há evidências mais limitadas de um efeito positivo de calcimiméticos na CV no contexto clínico. A administração de calcimiméticos em pacientes de diálise com hiperparatireoidismo secundário, além de baixar o PTH sérico, cálcio e fosfato,¹¹³ pode também reduzir a progressão da CV, como mostrado no recente estudo ADVANCE. Os autores estudaram o efeito de cinacalcet acrescido de baixa dose de vitamina D na artéria coronária e calcificação da válvula cardíaca em 360 pacientes em HD prevalente com hiperparatireoidismo secundário, em comparação com placebo com a terapia padrão ideal e doses flexíveis de vitamina D. No grupo cinacalcet houve um aumento de 24% na pontuação Agatston CAC, em comparação com um aumento de 31% no grupo placebo ($p = 0,073$), com as alterações correspondentes no volume da pontuação CAC mais recentemente desenvolvida de 22% e 30%, respectivamente ($p = 0,009$).¹¹⁴

Um dos mecanismos pelos quais um calcimimético pode retardar a progressão da CV é a sua ação de redução do PTH, cálcio e fosfato séricos. Outros possíveis mecanismos são uma estimulação direta dos CaR expressos nas CMLV e um aumento na expressão de MGP na parede arterial, como mostrado em experimentos *in vivo* e *in vitro*.^{45,115}

A VITAMINA D

Ambas, a vitamina D nativa e os esteróis ativos da vitamina D, também chamados de ativadores de receptores de vitamina D (VDRA), podem ser úteis no tratamento de hiperparatireoidismo secundário - uma condição associada à CV. No entanto, doses farmacológicas podem resultar em efeitos indesejáveis, tais como o desenvolvimento de doença óssea adinâmica,¹¹⁶ hipercalcemia e/ou hiperfosfatemia,¹¹⁷ favorecem o desenvolvimento de CV. Novos VDRA, como o paricalcitol, foram considerados mais seletivos na supressão da secreção de PTH e menos hipercalcêmicos e hiperfosfatêmicos.¹¹⁸

Alguns estudos experimentais favorecem, com evidências, essa afirmação.¹¹⁹⁻¹²¹ Uma observação interessante veio do estudo experimental de Lim *et al.*⁴⁰ Os autores observaram que a DRC induz deficiência vascular de Klotho. Eles ainda demonstraram que tanto o calcitriol quanto o paricalcitol elevaram significativamente o Klotho e recuperaram a expressão do receptor 1 de FGF no mRNA das CMLV das artérias em pacientes com DRC, que foram cultivadas em meio pró calcífero. Eles propuseram que a recuperação do Klotho pela ativação do receptor de vitamina D confere responsividade das CMLV ao FGF23 e desmascara os efeitos inibidores de calcificação do FGF23.

Apesar dessas empolgantes novidades advindas de modelos experimentais, não há, até agora, nenhum estudo convincente demonstrando que qualquer derivado da vitamina D seja menos propenso do que os compostos de origem nativa na indução de CV em pacientes com DRC.

NOVAS POSSÍVEIS MODALIDADES DE TRATAMENTO

PIROFOSFATO (IPP)

O PPI é um potente inibidor *in vitro* da calcificação e um inibidor de calcificação da média arterial *in vivo*, exercendo os seus efeitos através da inibição físico-química direta da formação de cristais de hidroxiapatita.^{122,123} Apesar dos seus conhecidos efeitos protetores contra a progressão da CV, sua administração intravenosa tem sido considerada problemática devido à sua curta meia vida e complicações, como a necrose de pele.¹²⁴ Há um renovado interesse nos efeitos inibidores de calcificação exercidos pelo PPI, como levantado por recentes estudos experimentais.^{125,126} Como os pacientes de hemodiálise têm baixos níveis circulantes de PPI,¹²⁷ uma opção terapêutica interessante seria a

administração de PPI na cavidade peritoneal a partir de onde o PPI seria lentamente transportado para a circulação. Riser *et al.*¹²⁵ e O'Neill *et al.*¹²⁶ demonstraram recentemente que a administração diária de PPI sódico por via peritoneal, foi capaz de prevenir o desenvolvimento de calcificação aórtica em dois modelos animais diferentes de DRC. O próximo passo poderia ser estudos exploratórios em pacientes com DP.

VITAMINA K

A MGP, que é sintetizada pelas CMLV na média arterial, é um inibidor dependente da vitamina K da precipitação de cálcio e fosfato e da formação de cristais na parede do vaso. Além disso, ela suprime a atividade das proteínas morfogenéticas ósseas 2 e 4,¹²⁸⁻¹³⁰ A deficiência de vitamina K afeta a ativação de MGP por gama-carboxilação de resíduos de ácido glutâmico. A MGP sub-carboxilada e/ou não-fosforilada perde sua ação inibitória sobre o desenvolvimento e progressão da CV e se associa ao risco de mortalidade em pacientes com DRC.^{131,132} Um estudo recente mostrou que a maioria dos pacientes em HD têm um estado empobrecido de vitamina K e baixa ingestão de vitamina K em comparação com indivíduos saudáveis.¹³³ Outro estudo recente mostrou que a deficiência de vitamina K esteve associada a fraturas e à CV na população em geral.¹³⁴ Em pacientes com DRC, a baixa ingestão de vitamina K pode ser relacionada, pelo menos em parte, ao regime dietético prescrito, geralmente, que está restrito em verduras verdes e outros alimentos que contêm grandes quantidades de potássio, mas também de vitamina K.

Para melhorar o status de vitamina K e assim a atividade da proteína MGP em pacientes com DRC, a suplementação de vitamina K pode ser indicada.¹³⁵ Westenfeld *et al.* observaram em pacientes estáveis sob hemodiálise de longo prazo que a concentração de MGP inativa pode ser sensivelmente diminuída com a suplementação diária de vitamina K durante 6 semanas.¹³⁶

Até o momento, existem alguns ensaios registrados no Instituto Nacional de Saúde dos EUA do site (www.clinicaltrials.gov), que estão relacionados com a vitamina K, DRC e CV. Uma busca com as palavras-chave "Vitamina K" AND "doença renal crônica" resultou em três estudos em andamento: "Warfarin and Coronary Calcification Project (WACC)", "Vitamin K to Attenuate Coronary Artery Calcification in

Hemodialysis Patients (iPACK HD)”, e “*Vitamin K2 and Vessel Calcification in Chronic Kidney Disease Patients (CACSK2)*”. Além disso, devemos mencionar o estudo europeu VITAVASC. Esperamos ter, no futuro próximo, mais informações sobre os efeitos potencialmente benéficos da suplementação de vitamina K sobre o risco de CV e os resultados em pacientes com DRC.

CONCLUSÃO GERAL

A CV é um processo patológico complexo. Trata-se não só da precipitação local de cálcio e fosfato na parede do vaso, mas também é um processo regulado e mediado por células, que está sob o controle de proteínas tanto inibitórias quanto estimulantes e de fatores não peptídicos. Este equilíbrio fisiológico normal é perturbado pela DRC, favorecendo o início e a progressão da CV em paralelo com a diminuição progressiva da função renal.

Com base na evidência experimental e clínica disponível, vários fármacos atualmente utilizados para o tratamento de DRC-MBD, incluindo Sevelamer e calcimiméticos, parecem exercer um efeito, pelo menos parcial, de proteção contra a CV relacionado à DRC. Drogas tais como PPI e vitamina K podem representar novos caminhos para uma prevenção e tratamento de CV e as suas dramáticas complicações cardiovasculares. No entanto, os efeitos protetores destas últimas drogas têm ainda que ser demonstrados por futuros estudos randomizados e controlados em pacientes com DRC.

AGRADECIMENTOS

Agradecemos o financiamento por uma bolsa da Universidade de Picardie-Jules Verne. RB de Oliveira e H. Okazaki receberam bolsas de pós-doutorado do Conselho Regional Picardie da Universidade de Picardie Jules Verne, Amiens, França. R.B. de Oliveira e A.E.M. Stingham receberam bolsas de pós-doutorado do Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico (CNPq), Brasília, Brasil.

DECLARAÇÃO DE CONFLITO DE INTERESSE

T.B. Druke declara ter recebido honorários como palestrante, honorários de consultoria e/ou financiamento de pesquisa de: Abbott, Amgen, Fresenius, Genzyme, Kirin, Leo, Mitsubishi, Shire e Theraclion.

Z.A. Massy declara ter recebido honorários como palestrante, honorários de consultoria e/ou financiamento de pesquisa da Amgen, Fresenius, Genzyme e Shire. V. Jorgetti declara ter recebido honorários como palestrante, honorários de consultoria e/ou financiamento de pesquisa da Amgen, Abbott e Genzyme.

REFERÊNCIAS

1. Health Science Descriptors [cited 2012 december 07]; 1(1):[1 screen]. Available from: URL: <http://decs.bvs.br/>
2. Temmar M, Liabeuf S, Renard C, Czernichow S, Esper NE, Shahapuni I, et al. Pulse wave velocity and vascular calcification at different stages of chronic kidney disease. *J Hypertens* 2010;28:163-9. <http://dx.doi.org/10.1097/HJH.0b013e328331b81e> PMID:19927012
3. Parfitt AM. Soft-tissue calcification in uremia. *Arch Intern Med* 1969;124:544-56. <http://dx.doi.org/10.1001/archinte.124.5.544> <http://dx.doi.org/10.1001/archinte.1969.00300210026004> PMID:4899444
4. Steiner I, Laco J. Rokitansky on atherosclerosis. *Cesk Patol* 2008;44:23-4. PMID:1833331
5. Mönckeberg JG. Ueber die reine Mediaverkalkung der Extremitätenarterien und ihr Verhalten zur Arteriosklerose. *Virchows Arch Pathol Anat* 1903;171:141-67. <http://dx.doi.org/10.1007/BF01926946>
6. London GM, Guérin AP, Marchais SJ, Métivier F, Pannier B, Adda H. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18:1731-40. <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfg414> PMID:12937218
7. Chiu YW, Adler SG, Budoff MJ, Takasu J, Ashai J, Mehrotra R. Coronary artery calcification and mortality in diabetic patients with proteinuria. *Kidney Int* 2010;77:1107-14. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2010.70> PMID:20237457
8. Scott S, O'Sullivan M, Hafizi S, Shapiro LM, Bennett MR. Human vascular smooth muscle cells from restenosis or in-stent stenosis sites demonstrate enhanced responses to p53: implications for brachytherapy and drug treatment for restenosis *Circ Res* 2002;90:398-404. <http://dx.doi.org/10.1161/hh0402.105900> PMID:11884368
9. Littlewood TD, Bennett MR. Apoptotic cell death in atherosclerosis. *Curr Opin Lipidol* 2003;14:469-75. <http://dx.doi.org/10.1097/00041433-200310000-00007> PMID:14501585
10. Kockx MM. Apoptosis in the atherosclerotic plaque: quantitative and qualitative aspects. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1998;18:1519-22. <http://dx.doi.org/10.1161/01.ATV.18.10.1519> PMID:9763521
11. Proudfoot D, Skepper JN, Hegyi L, Bennett MR, Shanahan CM, Weissberg PL. Apoptosis regulates human vascular calcification in vitro: evidence for initiation of vascular calcification by apoptotic bodies. *Circ Res* 2000;87:1055-62. <http://dx.doi.org/10.1161/01.RES.87.11.1055> PMID:11090552
12. Shanahan CM, Crouthamel MH, Kapustin A, Giachelli CM. Arterial calcification in chronic kidney disease: key roles for calcium and phosphate. *Circ Res* 2011;109:697-711. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.234914> PMID:21885837
13. Shao JS, Cai J, Towler DA. Molecular mechanisms of vascular calcification: lessons learned from the aorta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1423-30. <http://dx.doi.org/10.1161/01.ATV.0000220441.42041.20> PMID:16601233
14. Bea F, Blessing E, Bennett B, Levitz M, Wallace EP, Rosenfeld ME. Simvastatin promotes atherosclerotic plaque stability in apoE-deficient mice independently of lipid lowering. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2002;22:1832-7. <http://dx.doi.org/10.1161/01.ATV.0000036081.01231.16> PMID:12426212

15. Speer MY, Yang HY, Brabb T, Leaf E, Look A, Lin WL, et al. Smooth muscle cells give rise to osteochondrogenic precursors and chondrocytes in calcifying arteries. *Circ Res* 2009;104:733-41. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.108.183053> PMID:19197075 PMCid:2716055
16. Tyson KL, Reynolds JL, McNair R, Zhang Q, Weissberg PL, Shanahan CM. Osteo/chondrocytic transcription factors and their target genes exhibit distinct patterns of expression in human arterial calcification. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2003;23:489-94. <http://dx.doi.org/10.1161/01.ATV.0000059406.92165.31> PMID:12615658
17. Tang Z, Wang A, Yuan F, Yan Z, Liu B, Chu JS, et al. Differentiation of multipotent vascular stem cells contributes to vascular diseases. *Nat Commun* 2012;3:875. <http://dx.doi.org/10.1038/ncomms1867> PMID:22673902 PMCid:3538044
18. Nguyen AT, Gomez D, Bell RD, Campbell JH, Clowes AW, Gabbiani G, et al. Smooth muscle cell plasticity: fact or fiction? *Circ Res* 2013;112:17-22. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.112.281048> PMID:23093573
19. Simionescu A, Philips K, Vyavahare N. Elastin-derived peptides and TGF-beta1 induce osteogenic responses in smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2005;334:524-32. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2005.06.119> PMID:16005428
20. Hosaka N, Mizobuchi M, Ogata H, Kumata C, Kondo F, Koiwa F, et al. Elastin degradation accelerates phosphate-induced mineralization of vascular smooth muscle cells. *Calcif Tissue Int* 2009;85:523-9. <http://dx.doi.org/10.1007/s00223-009-9297-8> PMID:19806384
21. Luo G, Ducey P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, et al. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature* 1997;386:78-81. <http://dx.doi.org/10.1038/386078a0> PMID:9052783
22. Speer MY, McKee MD, Guldberg RE, Liaw L, Yang HY, Tung E, et al. Inactivation of the osteopontin gene enhances vascular calcification of matrix Gla protein-deficient mice: evidence for osteopontin as an inducible inhibitor of vascular calcification in vivo. *J Exp Med* 2002;196:1047-55. <http://dx.doi.org/10.1084/jem.20020911> PMID:12391016 PMCid:2194039
23. Schafer C, Heiss A, Schwarz A, Westenfeld R, Ketteler M, Floege J, et al. The serum protein alpha 2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. *J Clin Invest* 2003;112:357-66. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI17202> <http://dx.doi.org/10.1172/JCI200317202> PMID:12897203 PMCid:166290
24. Collin-Osdoby P. Regulation of vascular calcification by osteoclast regulatory factors RANKL and osteoprotegerin. *Circ Res* 2004;95:1046-57. <http://dx.doi.org/10.1161/01.RES.0000149165.99974.12> PMID:15564564
25. Hruska KA, Mathew S, Saab G. Bone morphogenetic proteins in vascular calcification. *Circ Res* 2005;97:105-14. <http://dx.doi.org/10.1161/01.RES.00000175571.53833.6c> PMID:16037577
26. Balderman JA, Lee HY, Mahoney CE, Handy DE, White K, Annis S, et al. Bone morphogenetic protein-2 decreases microRNA-30b and microRNA-30c to promote vascular smooth muscle cell calcification. *J Am Heart Assoc* 2012;1:e003905. PMID:23316327 PMCid:3540659
27. Berndt T, Kumar R. Phosphatonins and the regulation of phosphate homeostasis. *Annu Rev Physiol*. 2007;69:341-59. <http://dx.doi.org/10.1146/annurev.physiol.69.040705.141729> PMID:17002592
28. Son BK, Akishita M, Iijima K, Eto M, Ouchi Y. Mechanism of pi-induced vascular calcification. *J Atheroscler Thromb* 2008;15:63-8. <http://dx.doi.org/10.5551/jat.E545> PMID:18385534
29. Jono S, McKee MD, Murry CE, Shioi A, Nishizawa Y, Mori K, et al. Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification. *Circ Res* 2000;87:E10-7. <http://dx.doi.org/10.1161/01.RES.87.7.e10> PMID:11009570
30. Li X, Yang HY, Giachelli CM. Role of the sodium-dependent phosphate cotransporter, Pit-1, in vascular smooth muscle cell calcification. *Circ Res* 2006;98:905-12. <http://dx.doi.org/10.1161/01.RES.0000216409.20863.e7> PMID:16527991
31. Rutsch F, Ruf N, Vaingankar S, Toliat MR, Suk A, Höhne W, et al. Mutations in ENPP1 are associated with 'idiopathic' infantile arterial calcification. *Nat Genet* 2003;34:379-81. <http://dx.doi.org/10.1038/ng1221> PMID:12881724
32. Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y, Hasegawa H, Takeuchi Y, Fujita T, et al. Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin Invest* 2004;113:561-8. <http://dx.doi.org/10.1172/JCI200419081> <http://dx.doi.org/10.1172/JCI19081> PMID:14966565 PMCid:338262
33. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, Kawaguchi H, Suga T, Utsugi T, et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature* 1997;390:45-51. <http://dx.doi.org/10.1038/36285> PMID:9363890
34. Hu MC, Shi M, Zhang J, Qui-ones H, Griffith C, Kuro-o M, et al. Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2011;22:124-36. <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2009121311> PMID:21115613 PMCid:3014041
35. Mirza MA, Hansen T, Johansson L, Ahlström H, Larsson A, Lind L, et al. Relationship between circulating FGF23 and total body atherosclerosis in the community. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:3125-31. <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfp205> PMID:19429932
36. Jean G, Terrat JC, Vanel T, Hurot JM, Lorriaux C, Mayor B, et al. High levels of serum fibroblast growth factor (FGF)-23 are associated with increased mortality in long haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:2792-6. <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfp191> PMID:19395730
37. Desjardins L, Liabeuf S, Renard C, Lenglet A, Lemke HD, Choukroun G, et al.; European Uremic Toxin (EUTox) Work Group. FGF23 is independently associated with vascular calcification but not bone mineral density in patients at various CKD stages. *Osteoporos Int* 2012;23:2017-25. <http://dx.doi.org/10.1007/s00198-011-1838-0> PMID:22109743
38. Cancela AL, Santos RD, Titan SM, Goldenstein PT, Rochitte CE, Lemos PA, et al. Phosphorus is associated with coronary artery disease in patients with preserved renal function. *PLoS One* 2012;7:e36883. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0036883> PMID:22590632 PMCid:3349637
39. Scialla JJ, Lau WL, Reilly MP, Isakova T, Yang HY, Crouthamel MH, et al. Fibroblast growth factor 23 is not associated with and does not induce arterial calcification. *Kidney Int* 2013; doi: 10.1038/ki.2013.3. [Epub ahead of print] <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2013.3>
40. Lim K, Lu TS, Molostvov G, Lee C, Lam FT, Zehnder D, et al. Vascular Klotho deficiency potentiates the development of human artery calcification and mediates resistance to fibroblast growth factor 23. *Circulation* 2012;125:2243-55. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.111.053405> PMID:22492635
41. Brown EM, MacLeod RJ. Extracellular calcium sensing and extracellular calcium signaling. *Physiol Rev* 2001;81:239-97. PMID:11152759
42. Smajilovic S, Hansen JL, Christoffersen TE, Lewin E, Sheikh SP, Terwilliger EF, et al. Extracellular calcium sensing in rat aortic vascular smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;348:1215-23. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.07.192> PMID:16919596
43. Ziegelstein RC, Xiong Y, He C, Hu Q. Expression of a functional extracellular calcium-sensing receptor in human aortic endothelial cells. *Biochem Biophys Res Commun* 2006;342:153-63. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.01.135> PMID:16472767
44. Alam MU, Kirton JP, Wilkinson FL, Towers E, Sinha S, Rouhi M, et al. Calcification is associated with loss of functional calcium-sensing receptor in vascular smooth muscle cells. *Cardiovasc Res* 2009;81:260-8. <http://dx.doi.org/10.1093/cvr/cvn279> PMID:18852253
45. Ivanovski O, Nikolov IG, Joki N, Caudrillier A, Phan O, Mentaverri R, et al. The calcimimetic R-568 retards uremia-enhanced vascular calcification and atherosclerosis in apolipoprotein E deficient (apoE^{-/-}) mice. *Atherosclerosis* 2009;205:55-62. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2008.10.043> PMID:19118829

46. Koleganova N, Piecha G, Ritz E, Schmitt CP, Gross ML. A calcimimetic (R-568), but not calcitriol, prevents vascular remodeling in uremia. *Kidney Int* 2009;75:60-71. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2008.490> PMID:19092814
47. Small DM, Coombes JS, Bennett N, Johnson DW, Gobe GC. Oxidative stress, anti-oxidant therapies and chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton)* 2012;17:311-21. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1440-1797.2012.01572.x> PMID:22288610
48. Stinghen AE, Pecoits-Filho R. Vascular damage in kidney disease: beyond hypertension. *Int J Hypertens* 2011;2011:232683.
49. Yamada S, Taniguchi M, Tokumoto M, Toyonaga J, Fujisaki K, Suehiro T, et al. The antioxidant tempol ameliorates arterial medial calcification in uremic rats: important role of oxidative stress in the pathogenesis of vascular calcification in chronic kidney disease. *J Bone Miner Res* 2012;27:474-85. <http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.539> PMID:21987400
50. Phan O, Ivanovski O, Nguyen-Khoa T, Mothu N, Angulo J, Westenfeld R, et al. Sevelamer prevents uremia-enhanced atherosclerosis progression in apolipoprotein E-deficient mice. *Circulation* 2005;112:2875-82. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.105.541854> PMID:16267260
51. Guilgen G, Werneck ML, de Noronha L, Martins AP, Varela AM, Nakao LS, et al. Increased calcification and protein nitration in arteries of chronic kidney disease patients. *Blood Purif* 2011;32:296-302. <http://dx.doi.org/10.1159/000330327> PMID:21876352
52. Kaysen GA. The microinflammatory state in uremia: causes and potential consequences. *J Am Soc Nephrol* 2001;12:1549-57. PMID:11423586
53. Ruan XZ, Moorhead JF, Tao JL, Ma KL, Wheeler DC, Powis SH, et al. Mechanisms of dysregulation of low-density lipoprotein receptor expression in vascular smooth muscle cells by inflammatory cytokines. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:1150-5. <http://dx.doi.org/10.1161/01.ATV.0000217957.93135.c2> PMID:16543490
54. Liu J, Ma KL, Gao M, Wang CX, Ni J, Zhang Y, et al. Inflammation disrupts the LDL receptor pathway and accelerates the progression of vascular calcification in ESRD patients. *PLoS One* 2012;7:e47217. <http://dx.doi.org/10.1371/journal.pone.0047217> PMID:23115640 PMCid:3480367
55. Ketteler M, Bongartz P, Westenfeld R, Wildberger JE, Mahnken AH, Böhm 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;361:827-33. [http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736\(03\)12710-9](http://dx.doi.org/10.1016/S0140-6736(03)12710-9)
56. Price PA, Roublick AM, Williamson MK. Artery calcification in uremic rats is increased by a low protein diet and prevented by treatment with ibandronate. *Kidney Int* 2006;70:1577-83. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5001841> PMID:16955099
57. Price PA, Faus SA, Williamson MK. Bisphosphonates alendronate and ibandronate inhibit artery calcification at doses comparable to those that inhibit bone resorption. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001;21:817-24. <http://dx.doi.org/10.1161/01.ATV.21.5.817> PMID:11348880
58. Hamerman D. Osteoporosis and atherosclerosis: biological linkages and the emergence of dual-purpose therapies. *QJM* 2005;98:467-84. <http://dx.doi.org/10.1093/qjmed/hci077> PMID:15955801
59. Tankó LB, Christiansen C, Cox DA, Geiger MJ, McNabb MA, Cummings SR. Relationship between osteoporosis and cardiovascular disease in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2005;20:1912-20. <http://dx.doi.org/10.1359/JBMR.050711> PMID:16234963
60. Barreto DV, Barreto FC, Carvalho AB, Cuppari L, Cendoroglo M, Draibe SA, et al. Coronary calcification in hemodialysis patients: the contribution of traditional and uremia-related risk factors. *Kidney Int* 2005;67:1576-82. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.00239.x> PMID:15780114
61. London GM, Marty C, Marchais SJ, Guerin AP, Metivier F, de Vernejoul MC. Arterial calcifications and bone histomorphometry in end-stage renal disease. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:1943-51. <http://dx.doi.org/10.1097/01.ASN.0000129337.50739.48> PMID:15213285
62. Schulz E, Arfai K, Liu X, Sayre J, Gilsanz V. Aortic calcification and the risk of osteoporosis and fractures. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:4246-53. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2003-030964> PMID:15356016
63. Adragao T, Herberth J, Monier-Faugere MC, Branscum AJ, Ferreira A, Frazao JM, et al. Low bone volume-a risk factor for coronary calcifications in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009;4:450-5. <http://dx.doi.org/10.2215/CJN.01870408> PMID:19158372 PMCid:2637600
64. London GM, Marchais SJ, Guérin AP, Boutouyrie P, Métivier F, de Vernejoul MC. Association of bone activity, calcium load, aortic stiffness, and calcifications in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 2008;19:1827-35. <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2007050622> PMID:18480316 PMCid:2518431
65. Toussaint ND, Lau KK, Strauss BJ, Polkinghorne KR, Kerr PG. Associations between vascular calcification, arterial stiffness and bone mineral density in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2008;23:586-93. <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfm660> PMID:17933842
66. Carr JJ, Register TC, Hsu FC, Lohman K, Lenchik L, Bowden DW, et al. Calcified atherosclerotic plaque and bone mineral density in type 2 diabetes: the diabetes heart study. *Bone* 2008;42:43-52. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2007.08.023> PMID:17964237 PMCid:2239236
67. Demer L, Tintut Y. The roles of lipid oxidation products and receptor activator of nuclear factor- κ B signaling in atherosclerotic calcification. *Circ Res* 2011;108:1482-93. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCRESAHA.110.234245> PMID:21659652 PMCid:3128471
68. Kulak CA, Borba VC, Jorgetti V, Dos Reis LM, Liu XS, Kimmel DB, et al. Skeletal microstructural abnormalities in postmenopausal women with chronic obstructive pulmonary disease. *J Bone Miner Res* 2010;25:1931-40. <http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.88> PMID:20564248
69. Bridgeman G, Brookes M. Blood supply to the human femoral diaphysis in youth and senescence. *J Anat* 1996;188:611-21. PMID:8763478 PMCid:1167489
70. Laroche M. Intraosseous circulation from physiology to disease. *Joint Bone Spine* 2002;69:262-9. [http://dx.doi.org/10.1016/S1297-319X\(02\)00391-3](http://dx.doi.org/10.1016/S1297-319X(02)00391-3)
71. Griffith JF, Yeung DK, Tsang PH, Choi KC, Kwok TC, Ahuja AT, et al. Compromised bone marrow perfusion in osteoporosis. *J Bone Miner Res* 2008;23:1068-75. <http://dx.doi.org/10.1359/jbmr.080233> PMID:18302498
72. Lee NK, Sowa H, Hinoi E, Ferron M, Ahn JD, Confavreux C, et al. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell* 2007;130:456-69. <http://dx.doi.org/10.1016/j.cell.2007.05.047> PMID:17693256 PMCid:2013746
73. Ferron M, Hinoi E, Karsenty G, Ducy P. Osteocalcin differentially regulates beta cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2008;105:5266-70. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0711119105> PMID:18362359 PMCid:2278202
74. Kanazawa I, Yamaguchi T, Yamamoto M, Yamauchi M, Kurioka S, Yano S, et al. Serum osteocalcin level is associated with glucose metabolism and atherosclerosis parameters in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Endocrinol Metab* 2009;94:45-9. <http://dx.doi.org/10.1210/jc.2008-1455> PMID:18984661
75. Bacchetta J, Boutroy S, Guebre-Egziabher F, Juillard L, Drai J, Pelletier S, et al. The relationship between adipokines, osteocalcin and bone quality in chronic kidney disease. *Nephrol Dial Transplant* 2009;24:3120-5. <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfp262> PMID:19515806
76. Eleftheriou F, Takeda S, Ebihara K, Magre J, Patano N, Kim CA, et al. Serum leptin level is a regulator of bone mass. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2004;101:3258-63. <http://dx.doi.org/10.1073/pnas.0308744101> PMID:14978271 PMCid:365777
77. Coen G, Ballanti P, Fischer MS, Balducci A, Calabria S, Colamarco L, et al. Serum leptin in dialysis renal osteodystrophy. *Am J Kidney Dis* 2003;42:1036-42. <http://dx.doi.org/10.1016/j.ajkd.2003.07.005> PMID:14582047

78. Eghbali-Fatourehchi GZ, Lamsam J, Fraser D, Nagel D, Riggs BL, Khosla S. Circulating osteoblast-lineage cells in humans. *N Engl J Med* 2005;352:1959-66. <http://dx.doi.org/10.1056/NEJMoa044264> PMID:15888696
79. Pirro M, Leli C, Fabbriani G, Manfredelli MR, Callarelli L, Bagaglia F, et al. Association between circulating osteoprogenitor cell numbers and bone mineral density in postmenopausal osteoporosis. *Osteoporos Int* 2010;21:297-306. <http://dx.doi.org/10.1007/s00198-009-0968-0> PMID:19484167
80. Pal SN, Rush C, Parr A, Van Campenhout A, Golledge J. Osteocalcin positive mononuclear cells are associated with the severity of aortic calcification. *Atherosclerosis* 2010;210:88-93. <http://dx.doi.org/10.1016/j.atherosclerosis.2009.11.001> PMID:20004897 PMCid:2862100
81. Fadini GP, Rattazzi M, Matsumoto T, Asahara T, Khosla S. Emerging role of circulating calcifying cells in the bone-vascular axis. *Circulation* 2012;125:2772-81. <http://dx.doi.org/10.1161/CIRCULATIONAHA.112.090860> PMID:22665885
82. London GM. Bone-vascular cross-talk. *J Nephrol* 2012;25:619-25. <http://dx.doi.org/10.5301/jn.5000187> PMID:22711433
83. Cunha UGV, Valle EA, Melo RA. Peculiaridades do exame físico do idoso. *Rev Med Minas Gerais* 2011;21:181-5.
84. Kristanto W, van Ooijen PM, Groen JM, Vliegenthart R, Oudkerk M. Small calcified coronary atherosclerotic plaque simulation model: minimal size and attenuation detectable by 64-MDCT and MicroCT. *Int J Cardiovasc Imaging* 2012;28:843-53. <http://dx.doi.org/10.1007/s10554-011-9869-3> PMID:21509430 PMCid:3360866
85. Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD Work Group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of Chronic Kidney Disease-Mineral and Bone Disorder (CKD-MBD). *Kidney Int Suppl* 2009;(113):S1:130.
86. Kauppila LI, Polak JF, Cupples LA, Hannan MT, Kiel DP, Wilson PW. New indices to classify location, severity and progression of calcific lesions in the abdominal aorta: a 25-year follow-up study. *Atherosclerosis* 1997;132:245-50. [http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9150\(97\)00106-8](http://dx.doi.org/10.1016/S0021-9150(97)00106-8)
87. Adragao T, Pires A, Lucas C, Birne R, Magalhaes L, Gonçalves M, et al. A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004;19:1480-8. <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfh217> PMID:15034154
88. Tomiyama C, Higa A, Dalboni MA, Cendoroglo M, Draibe SA, Cuppari L, et al. The impact of traditional and non-traditional risk factors on coronary calcification in pre-dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006;21:2464-71. <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfl291> PMID:16735378
89. Kestenbaum B, Sampson JN, Rudser KD, Patterson DJ, Seliger SL, Young B, et al. Serum phosphate levels and mortality risk among people with chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:520-8. <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2004070602> PMID:15615819
90. Floege J, Kim J, Ireland E, Chazot C, Drueke T, de Francisco A, et al.; ARO Investigators. Serum iPTH, calcium and phosphate, and the risk of mortality in a European haemodialysis population. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:1948-55. <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfq219> PMID:20466670 PMCid:3107766
91. Levin A, Bakris GL, Molitch M, Smulders M, Tian J, Williams LA, et al. Prevalence of abnormal serum vitamin D, PTH, calcium, and phosphorus in patients with chronic kidney disease: results of the study to evaluate early kidney disease. *Kidney Int* 2007;71:31-8. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5002009> PMID:17091124
92. Oliveira RB, Cancela AL, Graciolli FG, Dos Reis LM, Draibe SA, Cuppari L, et al. Early control of PTH and FGF23 in normophosphatemic CKD patients: a new target in CKD-MBD therapy? *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5:286-91. <http://dx.doi.org/10.2215/CJN.05420709> PMID:19965540 PMCid:2827593
93. Ritz E, Hahn K, Ketteler M, Kuhlmann MK, Mann J. Phosphate additives in food—a health risk. *Dtsch Arztebl Int* 2012;109:49-55. PMID:22334826 PMCid:3278747
94. Bammens B, Evenepoel P, Verbeke K, Vanrenterghem Y. Removal of middle molecules and protein-bound solutes by peritoneal dialysis and relation with uremic symptoms. *Kidney Int* 2003;64:2238-43. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1755.2003.00310.x> PMID:14633148
95. Ayus JC, Mizani MR, Achinger SG, Thadhani R, Go AS, Lee S. Effects of short daily versus conventional hemodialysis on left ventricular hypertrophy and inflammatory markers: a prospective, controlled study. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:2778-88. <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2005040392> PMID:16033855
96. Pierratos A, Ouwendyk M, Francoeur R, Vas S, Raj DS, Ecclestone AM, et al. Nocturnal hemodialysis: three-year experience. *J Am Soc Nephrol* 1998;9:859-68. PMID:9596084
97. Feliciani A, Riva MA, Zerbi S, Ruggiero P, Plati AR, Cozzi G, et al. New strategies in haemodiafiltration (HDF): prospective comparative analysis between on-line mixed HDF and mid-dilution HDF. *Nephrol Dial Transplant* 2007;22:1672-9. <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfm023> PMID:17347283
98. Evenepoel P, Bammens B, Verbeke K, Vanrenterghem Y. Superior dialytic clearance of beta(2)-microglobulin and p-cresol by high-flux hemodialysis as compared to peritoneal dialysis. *Kidney Int* 2006;70:794-9. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5001640> PMID:16820785
99. Messa P, Gropuzzo M, Cleva M, Boscutti G, Mioni G, Cruciatti A, et al. Behaviour of phosphate removal with different dialysis schedules. *Nephrol Dial Transplant* 1998;13:43-8. http://dx.doi.org/10.1093/ndt/13.suppl_6.43 PMID:9719204
100. Kuhlmann MK. Phosphate elimination in modalities of hemodialysis and peritoneal dialysis. *Blood Purif* 2010;29:137-44. <http://dx.doi.org/10.1159/000245640> PMID:20093819
101. Chertow GM, Burke SK, Raggi P.; Treat to Goal Working Group. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002;62:245-52. <http://dx.doi.org/10.1046/j.1523-1755.2002.00434.x> PMID:12081584
102. Block GA, Spiegel DM, Ehrlich J, Mehta R, Lindbergh J, Dreisbach A, et al. Effects of sevelamer and calcium on coronary artery calcification in patients new to hemodialysis. *Kidney Int* 2005;68:1815-24. <http://dx.doi.org/10.1111/j.1523-1755.2005.00600.x> PMID:16164659
103. Russo D, Miranda I, Ruocco C, Battaglia Y, Buonanno E, Manzi S, et al. The progression of coronary artery calcification in predialysis patients on calcium carbonate or sevelamer. *Kidney Int* 2007;72:1255-61. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5002518> PMID:17805238
104. Qunibi W, Moustafa M, Muenz LR, He DY, Kessler PD, Diaz-Buxo JA, et al. A 1-year randomized trial of calcium acetate versus sevelamer on progression of coronary artery calcification in hemodialysis patients with comparable lipid control: the Calcium Acetate Renal Evaluation-2 (CARE-2) study. *Am J Kidney Dis* 2008;51:952-65. <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2008.02.298> PMID:18423809
105. Barreto DV, Barreto Fde C, de Carvalho AB, Cuppari L, Draibe SA, Dalboni MA, et al. Phosphate binder impact on bone remodeling and coronary calcification—results from the BRiC study. *Nephron Clin Pract* 2008;110c:273-83. <http://dx.doi.org/10.1159/000170783> PMID:19001830
106. Vlassara H, Uribarri J, Cai W, Goodman S, Pyzik R, Post J, et al. Effects of sevelamer on HbA1c, inflammation, and advanced glycation end products in diabetic kidney disease. *Clin J Am Soc Nephrol* 2012;7:934-42. <http://dx.doi.org/10.2215/CJN.12891211> PMID:22461535
107. Nikolov IG, Joki N, Maizel J, Lacour B, Drüeke TB, Massy ZA. Pleiotropic effects of the non-calcium phosphate binder sevelamer. *Kidney Int Suppl* 2006;(105):S16-23. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5001994> PMID:17136111
108. Spiegel DM, Brady K. Calcium balance in normal individuals and in patients with chronic kidney disease on low- and high-calcium diets. *Kidney Int* 2012;81:1116-22. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2011.490> PMID:22297674 PMCid:3352985

109. Hill KM, Martin BR, Wastney ME, McCabe GP, Moe SM, Weaver CM, et al. Oral calcium carbonate affects calcium but not phosphorus balance in stage 3-4 chronic kidney disease. *Kidney Int* 2012; doi: 10.1038/ki.2012.403. [Epub ahead of print] <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2012.403>
110. Drüeke TB, Massy ZA. Phosphate binders in CKD: bad news or good news? *J Am Soc Nephrol*. 2012;23:1277-80. <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2012060569> PMID:22797178
111. Joki N, Nikolov IG, Caudrillier A, Mentaverri R, Massy ZA, Drüeke TB. Effects of calcimimetic on vascular calcification and atherosclerosis in uremic mice. *Bone* 2009;45:S30-4. <http://dx.doi.org/10.1016/j.bone.2009.03.653> PMID:19303957
112. Koleganova N, Piecha G, Ritz E, Schmitt CP, Gross ML. A calcimimetic (R-568), but not calcitriol, prevents vascular remodeling in uremia. *Kidney Int* 2009;75:60-71. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2008.490> PMID:19092814
113. Torres PA, De Broe M. Calcium-sensing receptor, calcimimetics, and cardiovascular calcifications in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2012;82:19-25. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2012.69> PMID:22437409
114. Raggi P, Chertow GM, Torres PU, Csiky B, Naso A, Nossuli K, et al.; ADVANCE Study Group. 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;26:1327-39. <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfq725> PMID:21148030
115. Mendoza FJ, Martinez-Moreno J, Almaden Y, Rodriguez-Ortiz ME, Lopez I, Estepa JC, et al. Effect of calcium and the calcimimetic AMG 641 on matrix-Gla protein in vascular smooth muscle cells. *Calcif Tissue Int* 2011;88:169-78. <http://dx.doi.org/10.1007/s00223-010-9442-4> PMID:21161195
116. Goodman WG, Ramirez JA, Belin TR, Chon Y, Gales B, Segre GV, et al. Development of adynamic bone in patients with secondary hyperparathyroidism after intermittent calcitriol therapy. *Kidney Int* 1994;46:1160-6. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.1994.380> PMID:7861712
117. Quarles LD, Yohay DA, Carroll BA, Spritzer CE, Minda SA, Bartholomay D, et al. Prospective trial of pulse oral versus intravenous calcitriol treatment of hyperparathyroidism in ESRD. *Kidney Int* 1994;45:1710-21. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.1994.223> PMID:7933819
118. Drüeke TB. Which vitamin D derivative to prescribe for renal patients. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005;14:343-9. <http://dx.doi.org/10.1097/01.mnh.0000172720.34229.39> PMID:15931002
119. Cardús A, Panizo S, Parisi E, Fernandez E, Valdivielso JM. Differential effects of vitamin D analogs on vascular calcification. *J Bone Miner Res* 2007;22:860-6. <http://dx.doi.org/10.1359/jbmr.070305> PMID:17352647
120. Mizobuchi M, Finch JL, Martin DR, Slatopolsky E. Differential effects of vitamin D receptor activators on vascular calcification in uremic rats. *Kidney Int* 2007;72:709-15. <http://dx.doi.org/10.1038/sj.ki.5002406> PMID:17597697
121. Lau WL, Leaf EM, Hu MC, Takeno MM, Kuro-o M, Moe OW, 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;82:1261-70. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2012.322> PMID:22932118
122. Lomashvili KA, Cobbs S, Hennigar RA, Hardcastle KI, O'Neill WC. Phosphate-induced vascular calcification: role of pyrophosphate and osteopontin. *J Am Soc Nephrol* 2004;15:1392-401. <http://dx.doi.org/10.1097/01.ASN.0000128955.83129.9C> PMID:15153550
123. Schibler D, Russel RG, Fleisch H. Inhibition by pyrophosphate and polyphosphate of aortic calcification induced by vitamin D3 in rats. *Clin Sci* 1968;35:363-72. PMID:4305530
124. Jung A, Russel RG, Bisaz S, Morgan DB, Fleisch H. Fate of intravenously injected pyrophosphate-32P in dogs. *Am J Physiol* 1970;218:1757-64. PMID:4317203
125. Riser BL, Barreto FC, Rezg R, Valaitis PW, Cook CS, White JA, et al. Daily peritoneal administration of sodium pyrophosphate in a dialysis solution prevents the development of vascular calcification in a mouse model of uraemia. *Nephrol Dial Transplant* 2011;26:3349-57. <http://dx.doi.org/10.1093/ndt/gfr039> PMID:21398365
126. O'Neill WC, Lomashvili KA, Malluche HH, Faugere MC, Riser BL. Treatment with pyrophosphate inhibits uremic vascular calcification. *Kidney Int* 2011;79:512-7. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2010.461> PMID:21124302 PMID:3183997
127. Lomashvili KA, Khawandi W, O'Neill WC. Reduced plasma pyrophosphate levels in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2005;16:2495-500. <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2004080694> PMID:15958726
128. Luo G, Ducy P, McKee MD, Pinero GJ, Loyer E, Behringer RR, et al. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature* 1997;386:78-81. <http://dx.doi.org/10.1038/386078a0> PMID:9052783
129. Wajih N, Borrás T, Xue W, Hutson SM, Wallin R. Processing and transport of matrix gamma-carboxyglutamic acid protein and bone morphogenetic protein-2 in cultured human vascular smooth muscle cells: evidence for an uptake mechanism for serum fetuin. *J Biol Chem* 2004;279:43052-60. <http://dx.doi.org/10.1074/jbc.M407180200> PMID:15280384
130. Murshed M, Schinke T, McKee MD, Karsenty G. Extracellular matrix mineralization is regulated locally; different roles of two gla-containing proteins. *J Cell Biol* 2004;165:625-30. <http://dx.doi.org/10.1083/jcb.200402046> PMID:15184399 PMID:2172384
131. Schurgers LJ, Barreto DV, Barreto FC, Liabeuf S, Renard C, Magdeleyns EJ, et al. The circulating inactive form of matrix gla protein is a surrogate marker for vascular calcification in chronic kidney disease: a preliminary report. *Clin J Am Soc Nephrol* 2010;5:568-75. <http://dx.doi.org/10.2215/CJN.07081009> PMID:20133489 PMID:2849687
132. Schlieper G, Westenfeld R, Krüger T, Cranenburg EC, Magdeleyns EJ, Brandenburg VM, et al. Circulating nonphosphorylated carboxylated matrix gla protein predicts survival in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 2011;22:387-95. <http://dx.doi.org/10.1681/ASN.2010040339> PMID:21289218 PMID:3029911
133. Cranenburg EC, Schurgers LJ, Uiterwijk HH, Beulens JW, Dalmeijer GW, Westerhuis R, et al. Vitamin K intake and status are low in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2012;82:605-10. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2012.191> PMID:22648294
134. Fusaro M, Noale M, Viola V, Galli F, Tripepi G, Vajente N, Plebani M, et al.; Vitamin K Italian (VIKI) Dialysis Study Investigators. Vitamin K, vertebral fractures, vascular calcifications, and mortality: Vitamin K Italian (VIKI) dialysis study. *J Bone Miner Res* 2012;27:2271-8. <http://dx.doi.org/10.1002/jbmr.1677> PMID:22692665
135. Krueger T, Westenfeld R, Ketteler M, Schurgers LJ, Floege J. Vitamin K deficiency in CKD patients: a modifiable risk factor for vascular calcification? *Kidney Int* 2009;76:18-22. <http://dx.doi.org/10.1038/ki.2009.126> PMID:19387474
136. Westenfeld R, Krueger T, Schlieper G, Cranenburg EC, Magdeleyns EJ, Heidenreich S, et al. Effect of vitamin K2 supplementation on functional vitamin K deficiency in hemodialysis patients: a randomized trial. *Am J Kidney Dis* 2012;59:186-95. <http://dx.doi.org/10.1053/j.ajkd.2011.10.041> PMID:22169620