Cir. Cardiov. 2005;12(4):291-7

Calcificaciones cardiovasculares: factores etiológicos implicados

Félix Grases, Rafel M. Prieto, Antònia Costa-Bauzá

Laboratorio de Investigación en Litiasis Renal
Instituto Universitario de Investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS)
Universidad de las Islas Baleares

Las calcificaciones cardiovasculares afectan a un importante sector de la población y pueden ser causa de serios problemas de salud. Así, alteran la flexibilidad de las arterias y facilitan la trombosis y su ruptura. Las calcificaciones valvulares dan lugar a diversos desórdenes que acaban en fallo cardíaco. En todos los casos la fase mineral corresponde a fosfatos cálcicos (fundamentalmente hidroxiapatita) y en las arterias puede localizarse en la media o en la íntima. En las válvulas cardíacas naturales, la calcificación suele comenzar en la parte interna, mientras que en las prostéticas es superficial. El mecanismo general del proceso de calcificación implica la existencia de una lesión previa (debida a agentes citotóxicos, hipercolesterolemia, insuficiencia renal terminal, edad avanzada, hiperlipemia, obesidad, diabetes, infecciones bacterianas) que actúa como inductora (nucleante heterogéneo) de la calcificación. Si los factores represores (inhibidores de la cristalización, moduladores de la acción celular) no poseen capacidad suficiente para impedir las primeras fases del proceso de calcificación, acabarán formándose placas calcificadas que ya será imposible eliminar sin utilizar cirugía. Puede concluirse, por lo tanto, que la prevención es fundamental para evitar el desarrollo de calcificaciones cardiovasculares, siendo necesario tanto identificar los factores promotores, relacionarlos con el tipo de calcificación y estudiar las vías de su control, como identificar los factores inhibidores de la cristalización y estudiar sus efectos.

Palabras clave: **Calcificaciones cardiovasculares. Mecanismos de formación. Etiología. Inhibidores de la cristalización. Moduladores celulares.**

Cardiovascular calcifications: etiologic factors

Cardiovascular calcifications affect to a wide sector of the population and can cause serious health problems. Thus, they alter arterial flexibility and facilitate thrombosis and arterial rupture. Calcification of heart valves generates several disorders responsible for heart failure. In all cases the mineral phase corresponds to calcium phosphates (fundamentally hydroxyapatite) that can be located in the media or intimal layers. In native heart valves, calcification is usually generated in the internal part, while in the bioprosthetic is superficial. The basic mechanism of the calcification process implies the existence of an underlying lesion (due to cytotoxic agents, hypercholesterolemia, end-stage renal disease, ageing, hyperlipidaemia, obesity, diabetes, bacterial infections) that acts as inducer (heterogeneous nucleant) of the calcification. If the repressive factors (crystallization inhibitors, modulators of cellular action) are not capable enough to avoid the first steps of the calcification process, calcified plaques will developed and will become impossible to eliminate them without surgery. Therefore, it can be concluded that prevention is fundamental to avoid the development of cardiovascular calcifications, being necessary: 1) to identify the trigger factors, to relate them with the type of calcification, and to study the ways of their control, and 2) to identify the crystallization inhibitor factors and to study their effects.

Key words: **Cardiovascular calcification. Mechanisms of formation. Etiology. Crystallization inhibitors. Cellular modulators.**

Correspondencia:
Félix Grases
Laboratorio de Investigación en Litiasis Renal
Instituto Universitario de Investigación en Ciencias de la Salud (IUNICS)
Edificio Mateu Orfila
Universidad de las Islas Baleares
07122 Palma de Mallorca
E-mail: fgrases@uib.es

INTRODUCCIÓN

Los iones minerales principales se encuentran distribuidos de manera uniforme en el espacio extracelular de la mayoría de organismos vivos. Los fluidos extracelulares están sobresaturados (contienen más soluto del que permite su solubilidad) especialmente respecto a los iones calcio y fosfato. Por lo tanto, es sorprendente que la mineralización esté restringida a determinadas matrices colagenosas de los esqueletos de vertebrados, y que una vez iniciada la mineralización ésta no se produzca en todo el organismo. Esto sugiere que la modulación de la mineralización no deseada es al menos tan importante como la iniciación de la misma.

Las calcificaciones cardiovasculares son un tipo de calcificación patológica que conduce a la degeneración del sistema cardiovascular en general. Es una complicación muy importante que frecuentemente se olvida, a pesar del hecho de que tiene lugar tanto en los vasos sanguíneos como en los tejidos cardíacos. Las bioprótesis cardiovasculares, cuando se usan durante tiempos prolongados, también presentan depósitos calcificados que pueden limitar enormemente la duración y eficacia de las mismas. La aparición de calcificaciones cardiovasculares puede empezar en la segunda década de vida. Las calcificaciones coronarias afectan al 50% de las personas entre 40-49 años, y al 80% entre 60-69 años[1,2].

Figura 1. *Depósitos de hidroxiapatita (HAP) en* **(A)** *arteria y* **(B)** *válvula cardíaca.*

DEFINICIÓN, DESCRIPCIÓN Y TIPOS

Las calcificaciones cardiovasculares son depósitos patológicos de fosfatos cálcicos (Fig. 1), siendo el más frecuente la hidroxiapatita[3], pudiéndose producir en los vasos sanguíneos (arterias)[4,5], el miocardio y/o las válvulas cardíacas[4].

En las lesiones ateromatosas, la calcificación se encuentra principalmente en la íntima (Fig. 2) en forma de puntos dispersos en las primeras etapas de la enfermedad, y a medida que el proceso progresa se depositan agregados de cristales de fosfato cálcico para producir agregaciones cristalinas esferulíticas mayores poco uniformes asociadas con las regiones necróticas de los ateromas[6].

La segunda localización histológica de la calcificación vascular es en la media (Fig. 2), conocida como esclerosis de Mönckeberg. Esta calcificación se produce independientemente de la calcificación de la íntima y

Figura 2. *Distintos patrones de la calcificación arterial.* **(I)** *Pared arterial normal.* **(II)** *Calcificación de la base interna de la íntima, en la lámina elástica o bien de las placas ateromatosas.* **(III)** *Calcificación de la capa media, esclerosis de Mönckeberg, sin proliferación a la zona de la mioíntima.*

está asociada con la matriz extracelular rica en elastina/colágeno. La morfología típica de esta calcificación en las primeras etapas de la enfermedad es de depósitos lineales a lo largo de la lámina elástica por la mayoría de la extensión de la media y, en las lesiones avanzadas, la media se encuentra llena de anillos circulares de mineral. En algunos casos, en las últimas etapas de la enfermedad se han observado osteocitos y matriz ósea con médula ósea. La calcificación de la media se observa preferentemente en pacientes ancianos, diabéticos y/o urémicos, y se piensa que es la causa, al menos parcialmente, de la elevada mortalidad por problemas cardiovasculares en pacientes con enfermedades renales crónicas[6].

La calcificación de tejidos cardíacos afecta principalmente a las válvulas cardíacas, y en general está relacionada con ciertas etiologías patológicas. La válvula más frecuentemente afectada es la válvula aórtica, sobre la que se depositan minerales apatíticos, lo que posteriormente conduce al endurecimiento y desgarro de las hojas de las válvulas, responsables del fallo de las mismas[4]. Esta calcificación afecta tanto a válvulas naturales como bioprotésicas, aunque los factores etiológicos son distintos, ya que la calcificación de las bioprótesis se puede producir en ausencia de las enfermedades que conducen a la calcificación de las válvulas naturales[7].

Los depósitos calcificados presentan una composición correspondiente a la de hidroxiapatitas sustituidas[3], y tanto los depósitos calcificados en aterosclerosis como los de corazones artificiales y de válvulas bioprotésicas porcinas presentan una composición muy similar, lo que sugiere que su formación y maduración se produce mediante mecanismos similares[8].

En cuanto a la cristalinidad de los depósitos calcificados, la mayor se observa en válvulas mitrales calcificadas y la menor en la de corazones artificiales, lo que sugiere que la perfección cristalina es un proceso que depende del tiempo, de tal manera que todos los depósitos calcificados presentes en implantes son menos cristalinos en comparación con los de componentes naturales, ya que han tenido un tiempo de residencia menor. El flujo sanguíneo activo y el movimiento continuo de las válvulas cardíacas contribuye a una maduración más rápida y mayor perfección de los cristales biominerales.

IMPLICACIONES CLÍNICAS

Las consecuencias clínicas de las calcificaciones cardiovasculares dependen de su extensión y del órgano afectado. En general las calcificaciones cardiovasculares alteran la flexibilidad de los vasos sanguíneos, lo que favorece la trombosis y la ruptura arterial. Cuando las calcificaciones aparecen en las válvulas cardíacas producen alteraciones que pueden conducir al fallo cardíaco y a la muerte.

Las implicaciones clínicas de la calcificación cardiovascular incluyen:

- Mayor riesgo de infarto de miocardio.
- Aumento de episodios isquémicos en lesiones vasculares periféricas.
- Predicción de muerte e infarto de miocardio en pacientes asintomáticos de elevado riesgo.

En los pacientes diabéticos y en individuos con insuficiencia renal, las calcificaciones vasculares contribuyen tanto a la morbilidad como a la mortalidad asociadas con estas enfermedades. Por ejemplo, la calcificación vascular está directamente relacionada con un mayor riesgo de infarto de miocardio y un mayor riesgo de disección después de angioplastia. Además, la calcificación es una causa importante de fallo tanto de las válvulas cardíacas naturales como de las prostéticas.

FACTORES DE RIESGO

Actualmente se conocen diversos factores de riesgo que se asocian al desarrollo de calcificaciones en las arterias coronarias[1,9,10], como insuficiencia renal terminal, edad avanzada, colesterol plasmático elevado (disminución del colesterol asociado a lipoproteínas de alta densidad e incremento del colesterol asociado a lipoproteínas de baja densidad), obesidad y niveles de triglicéridos elevados, agentes citotóxicos (tabaquismo), diabetes, hipertensión e infecciones bacterianas.

MECANISMOS DE BIOMINERALIZACIÓN

Mecanismo general de los procesos de biomineralización

La biomineralización puede definirse como una secuencia de acontecimientos a través de los cuales los organismos vivos inducen la cristalización de minerales, y que unidos entre sí contribuyen a la formación de piezas duras. A pesar de sus diversas formas y funciones, todos los biominerales se forman según el mismo principio[11]. Así, las piezas duras están compuestas por sustancias orgánicas e inorgánicas. Los componentes orgánicos son, por regla general, proteínas. También se han detectado proteoglicanos y lípidos. Los componentes inorgánicos (mineralizados) se encuentran en forma

cristalina. La mayoría de estos minerales biogénicos contienen calcio. Los procesos de calcificación biológica se dan ampliamente en la naturaleza. Podemos hallarlos en microorganismos, en los reinos vegetal y animal, y en el hombre. El resultado del depósito de minerales bajo condiciones fisiológicas es la formación de huesos, dientes, caparazones (moluscos, huevos), corales, perlas, etc. Existen también procesos patológicos de biomineralización, como la formación de cálculos (renales, vesícula biliar, sublinguales), la aterosclerosis, y también existen procesos de desmineralización (resorción del hueso, caries).

En general, cualquier proceso de cristalización patológica es consecuencia del desequilibrio entre tres grandes grupos de factores[12]:

- Sobresaturación.
- Promotores de la cristalización (básicamente nucleantes heterogéneos).
- Inhibidores de la cristalización.

Un sistema está sobresaturado respecto a un soluto cuando lo contiene en cantidades superiores a la establecida por su producto de solubilidad. Se trata, pues, de un factor termodinámico y es una cuestión únicamente cinética (es decir, del tiempo transcurrido) que acabe por formarse el correspondiente sólido. Los promotores o nucleantes heterogéneos son sustancias sólidas preexistentes que facilitan la formación del cristal, disminuyendo el periodo de inducción, al evitar que se deba producir la etapa de nucleación homogénea. Se trata, por lo tanto, de factores cinéticos.

Los inhibidores de la cristalización son sustancias que dificultan o impiden el desarrollo de cristales. Pueden actuar tanto a nivel de nucleación (adsorbiéndose sobre el núcleo homogéneo o heterogéneo en formación), como de crecimiento cristalino (adsorbiéndose sobre las caras del cristal en formación) e incluso en ambos procesos a la vez. Por lo tanto, se trata también de factores cinéticos.

Mecanismo de formación de calcificaciones cardiovasculares

El plasma sanguíneo siempre está sobresaturado respecto al fosfato cálcico debido a los valores de concentración de fosfato y calcio y a los valores de pH[13]. Algunos autores han indicado la importancia de los factores tisulares en la calcificación, y, en particular, las superficies de colágeno, elastina, fosfolípidos, glicosaminoglicanos, matrices de vesículas y membranas mitocondriales. Estos tejidos y membranas pueden definir los puntos de nucleación que se pueden convertir en los nidos de calcificación[8]. La formación inicial de precursores de depósitos cálcicos puede ser consecuencia de lesiones celulares. En los tejidos, la relación entre la concentración de calcio en el fluido extracelular e intracelular es mayor de 10.000. Sin embargo, esta situación cambia cuando la célula se lesiona y la bomba de Ca/Na falla, lo que conduce a una acumulación incontrolada de calcio en la célula. Debido a la elevada concentración de fosfato intracelular y el gran exceso de ATP que puede proporcionar más fosfato, junto con el déficit de inhibidores de la cristalización naturales, puede conducir a la nucleación rápida, es decir, formación de fosfatos cálcicos, especialmente sobre los fragmentos de membrana celular disponibles[8].

La heterogeneidad de las fases presentes en los depósitos cálcicos demuestra que la formación de tales depósitos es un proceso dinámico dependiente del tiempo, que implica nucleación, crecimiento y transformación. Esta hipótesis se ha comprobado *in vitro* con la observación de la transformación del fosfato octacálcico en apatitas que son estructural, composicional y fisicoquímicamente comparables a los productos formados en depósitos cálcicos cardiovasculares *in vivo*[8].

La existencia de información completa sobre las propiedades básicas de los depósitos cálcicos cardiovasculares en sus distintas localizaciones puede conducir a unas estrategias más apropiadas para su prevención. Los éxitos obtenidos en el control e inhibición de la calcificación de bioprótesis cardíacas mediante bisfosfonatos constituyen un enfoque muy atractivo. La aplicación de iones metálicos específicos tales como el Mg^{2+}, que inhibe la transformación de los precursores, también tiene un importante potencial[8].

La existencia de concentraciones plasmáticas bajas de pirofosfato y fitato (dos conocidos inhibidores de la cristalización) se ha relacionado recientemente con el desarrollo de calcificaciones cardiovasculares[14,15]. Varias observaciones que relacionan los niveles de fosfato sérico con la tendencia a la calcificación vascular demuestran la importancia de la sobresaturación en este proceso. Así, un nivel elevado de fosfato sérico (hiperfosfatemia, es decir, niveles de fosfato por encima del rango normal en adultos, que está entre 1,0 y 1,5 mmol/l) está directamente relacionado con la extensión de la calcificación cardiovascular y las enfermedades vasculares[16]. Una de las causas más comunes de hiperfosfatemia es la insuficiencia renal crónica y la posterior diálisis renal, en la que los niveles séricos de fosfato inorgánico pueden superar los 2 mmol/l. Las calcificaciones vasculares observadas en estos pacientes se denominan rutinariamente como calcificaciones metastáticas debido a que se producen en presencia de un desequilibrio mineral sistémico. Además, tanto en animales de experimentación como en niños, la calcifi-

cación de válvulas prostéticas está relacionada con niveles elevados de fosfato. Por otra parte, ratones mutantes KLOTHO desarrollan calcificaciones vasculares en la media de forma extensa y tienen unos niveles de fosfato sérico el doble del observado en ratones[16]. Finalmente, se ha sugerido que las alteraciones locales del metabolismo del calcio y fosfato en las placas ateroscleróticas contribuyen al desarrollo de calcificaciones vasculares.

En los tejidos de mamíferos existen proteínas que actúan como moduladores celulares de la calcificación, en el sentido de que pueden activar (o desactivar) la actividad de los macrófagos (actividad osteoclástica) que destruyen los depósitos de hidroxiapatita. Así, actualmente son muchas las proteínas que se han descrito e identificado con una potencial participación en el proceso de calcificación. La característica común de estas proteínas es presentar una gran afinidad por el calcio. Estas proteínas pueden agruparse desde un punto de vista químico estructural en dos grandes grupos: fosfoproteínas y carboxiproteínas. Debemos señalar que en estas proteínas su afinidad por el calcio depende del número y disposición de los grupos funcionales carboxílicos o bien fosfatos, respectivamente. Entre estas proteínas cabe destacar fosfoproteínas como osteopontina y osteoprotegerina, o carboxiproteínas como la *matrix Gla protein* (MGP) o la *bone-Gla-protein,* también denominada osteocalcina.

A muchas de estas proteínas se les ha asignado un papel en la inhibición o en la facilitación de la formación de la hidroxiapatita *in vitro* a partir de estudios de difusión en gel. Estas aproximaciones experimentales *in vitro* realmente están muy alejadas de la realidad fisiológica a tenor de las concentraciones de calcio, fosfato y de la propia proteína utilizada[17,18]. Otros estudios *in vitro* realizados en disolución mostraron una disminución de la velocidad de crecimiento de los cristales de hidroxiapatita para todas las proteínas que presentaban fuertes interacciones con el calcio. También se les ha asignado un papel promotor de la calcificación, como nucleantes heterogéneos (inductores). Igual como en el caso anterior, las condiciones experimentales utilizadas se alejan mucho de la realidad, por lo que se hace muy difícil extrapolar estas condiciones utilizadas *in vitro* a las condiciones *in vivo* y encontrar conclusiones generalizables como inhibidores o promotores para los distintos tipos de proteínas[19].

Otra aproximación sobre la funcionalidad de estas proteínas ha consistido en utilizar modelos animales genéticamente modificados a partir de los cuales se podía deducir su funcionalidad. Analizaremos brevemente la acción de alguna de estas proteínas. Los estudios realizados en ratones transgénicos hembra que no expresaban la osteopontina (OPN) presentaron, con posterioridad a la ovariectomía (fin de secreción de estrógenos), una reducción de la masa ósea de sólo un 10%, mientras que los ratones normales presentaban una reducción de un 60%[20]. Esta fosfoproteína, sintetizada y producida por los osteoblastos, interacciona fuertemente con el calcio de la hidroxiapatita, marcándola para que posteriormente los osteoclastos la reconozcan mediante una integrina específica para la osteopontina o receptor de la osteopontina de la membrana, permitiendo de esta forma el proceso de resorción de la calcificación de hidroxiapatita ya marcada, por parte del osteoclasto[21]. La proteína está presente en las fibras elásticas de la matriz extracelular de la aorta y de la piel, regiones donde normalmente no se producen calcificaciones, lo cual, en parte, podría deberse a la existencia de esta proteína marcadora de la hidroxiapatita.

La osteoprotegerina (OPG) presenta una funcionalidad como factor inhibidor de la diferenciación de los osteoclastos inmaduros a osteoclastos activos[22]. En los animales transgénicos, que presentaban una sobreexpresión de origen hepático, se producía una osteopetrosis o aposición desordenada de nuevo tejido óseo en ausencia de osteoclastos[23]. Por otra parte, en ratones transgénicos que no expresaban la OPG existía una elevada osteoporosis debido al incremento del número de osteoclastos junto, de forma paradójica, a una calcificación arterial de la capa media de la aorta y de las arterias renales[24]. Esta situación paradójica en ratones deficientes en OPG es similar a la asociación entre la pérdida osteoporótica de masa ósea y la calcificación arterial en los sujetos de edad avanzada[25,26]. Una posible explicación a esta paradoja sería que la disminución de OPG incrementaría el número de osteoclastos en el tejido óseo, de modo que la actividad de resorción ósea también se incrementaría, produciéndose elevadas concentraciones séricas de calcio y fosfato que facilitarían la formación de calcificaciones patológicas.

La funcionalidad de las carboxiproteínas también se ha estudiado en ratones transgénicos. En los ratones que no presentaban *matrix Gla protein* (MGP), se observó que las células musculares vasculares perdían sus características, evolucionando a células de tipo condrocito, con una posterior producción asociada de cartílago e incluso de tejido osificado[27]. La funcionalidad de la MGP ha sido descrita mediante la acción supresiva de la actividad de la *bone morphogenetic protein 2* (BMP-2) a nivel local, que corresponde a un factor de crecimiento celular[28] y, por lo tanto, la MGP actuaría inhibiendo las funcionalidad de la BMP-2 y no inhibiendo la cristalización de la hidroxiapatita. También se ha

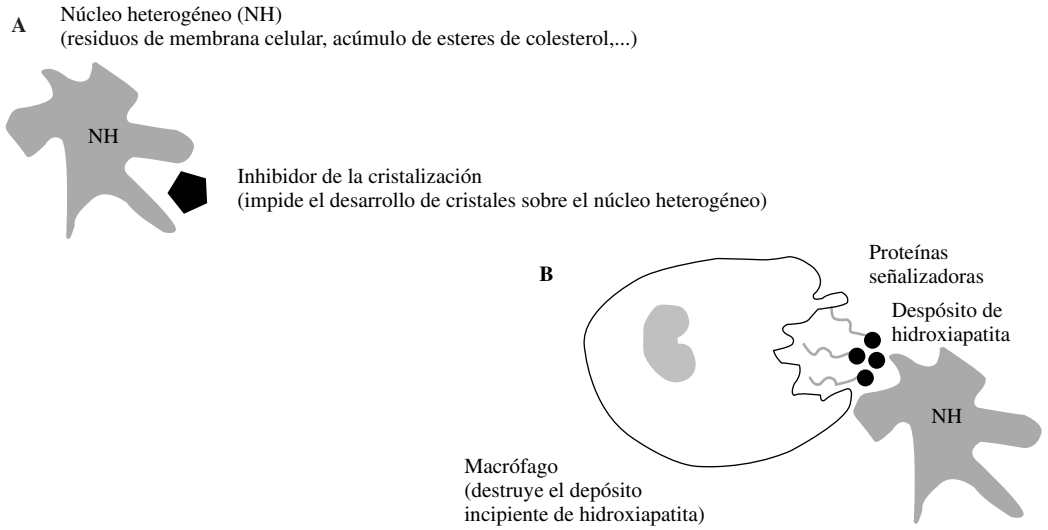

Figura 3. *Control del desarrollo de calcificaciones hísticas.* **(A)** *Los inhibidores de la cristalización impiden o dificultan el desarrollo de hidroxiapatita (HAP) o depósito mineral en el tejido lesionado.* **(B)** *Los moduladores celulares, entre las posibles acciones, destruirían los microdepósitos minerales mediante la fagocitosis de los mismos.*

observado que la funcionalidad de la MGP depende de la γ-carboxilación de sus residuos glutamato. La carboxilación se realiza por una carboxilasa que utiliza como cofactor la vitamina K. Los antagonistas de vitamina K disminuyen la síntesis de la MGP, tal como se ha observado en modelos animales con dosis de warfarina (sc.)[29,30]. Estudios genéticos del síndrome de Keutzel caracterizado por estenosis traqueobronquial, braquitelefalangismo, calcificaciones cartilaginosas y, en ocasiones, calcificaciones arteriales se origina por alteraciones de un gen relacionado con la síntesis de MGP[31].

Estos estudios en modelos animales demuestran que los procesos de calcificación o de no calcificación de un tejido podrían ser modulados mediante funciones fisiológicas activas locales complejas originadas por los distintos tipos de células; esta acción moduladora de la calcificación es, sin embargo, totalmente distinta al proceso de inhibición de la cristalización del proceso de formación de la hidroxiapatita (Fig. 3).

En resumen, el mecanismo de formación de una calcificación vascular implica diversas etapas, pero, en general, es necesaria la preexistencia de una lesión que actúe como inductora (nucleante heterogéneo) de la calcificación (fosfato cálcico, generalmente en forma de hidroxiapatita). El posterior desarrollo de la calcificación dependerá del balance de los restantes factores (sobresaturación, inhibidores de la cristalización, moduladores celulares de la calcificación), tal como se muestra en la figura 4. Puede concluirse, por lo tanto, que la prevención es fundamental para evitar el desarrollo de calcificaciones cardiovasculares, siendo necesario tanto identificar los factores promotores, relacionarlos con el tipo de calcificación y estudiar las vías de su control, como identificar los factores inhibidores de la cristalización y estudiar sus efectos.

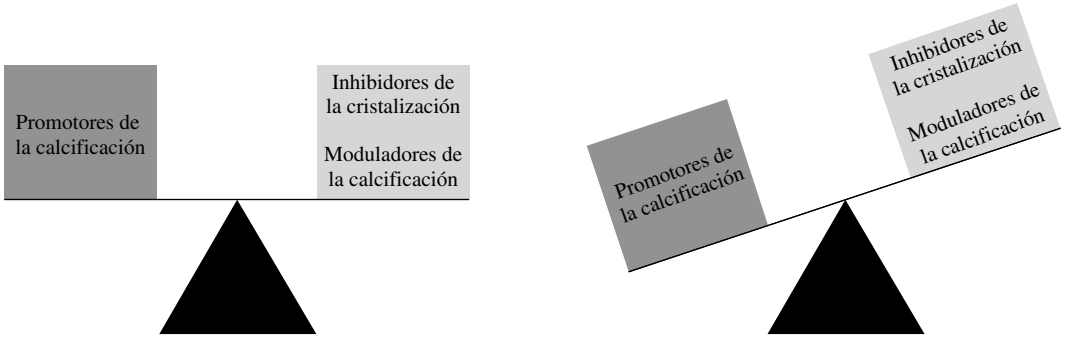

Figura 4. *Balance entre factores promotores y factores represores de la calcificación tisular. Entre los factores promotores deben considerarse las lesiones tisulares y las concentraciones extracelulares de calcio y fosfatos. Entre los factores represores deben considerarse los inhibidores de la cristalización de la hidroxiapatita y los moduladores celulares de la calcificación.*

BIBLIOGRAFÍA

1. Wexler L, Brundage B, Crouse J, et al. Coronary artery calcification: pathophysiology, epidemiology, imaging methods and clinical implications. Circulation 1996;94: 1175-92.
2. Tintut Y, Demer LL. Recent advances in multifactorial regulation of vascular calcification. Lipidol 2001;12:555-60.
3. LeGeros RZ. Formation and transformation of calcium phosphates: relevance to vascular calcification. Z Kardiol 2001;90 Suppl 3:116-24.
4. Farzaneh-Far A, Proudfoot D, Shanahan C, Weissberg PL. Vascular and valvar calcification: recent advances. Heart 2001;85:13-7.
5. Doherty TM, Fitzpatrick LA, Inoue D, et al. Molecular, endocrine and genetic mechanisms of arterial calcification. Endocr Rev 2004;25:629-72.
6. Speer MY, Giachelli CM. Regulation of cardiovascular calcification. Cardiovasc Pathol 2004;13:63-70.
7. Mikroulis D, Mavrilas D, Kapolos J, Koutsoukos PG, Lolas C. Physicochemical and microscopical study of calcific deposits from natural and bioprosthetic heart valves. Comparison and implications for mineralization mechanism. J Mater Sci Mater Med 2002;13:885-9.
8. Tomazic BB. Physicochemical principles of cardiovascular calcification. Z Kardiol 2001;90 Suppl 3:68-80.
9. Mohler ER. Mechanisms of aortic valve calcification. Am J Cardiol 2004;94:1396-402.
10. Moe SM, Chen NX. Pathophysiology of vascular calcification in chronic kidney disease. Circ Res 2004;95:560-7.
11. Grases F, Costa-Bauzá A, Söhnel O. Cristalización en disolución. Conceptos básicos. Barcelona: Reverté; 2000.
12. Grases F, Costa-Bauzá A, García-Ferragut L. Biopathological crystallization: a general view about the mechanisms of stone formation. Adv Colloid Interface Sci 1998;74:169-94.
13. Epple M, Lanzer P. How much interdisciplinarity is required to understand vascular calcifications? Formulation of four basic principles of vascular calcification. Z Kardiol 2001;90 Suppl III:2-5.
14. 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.
15. Grases F, Sanchis P, Perelló J, et al. Phytate (myo-inositol hexakisphosphate) inhibits cardiovascular calcifications in rats. Front Biosci 2005;11:136-42.
16. Jono S, McKee MD, Murry CE, et al. Phosphate regulation of vascular smooth muscle cell calcification. Circ Res 2000; 87:10-7.
17. Silverman L, Boskey AL. Diffusion systems for evaluation of biomineralization. Calcif Tissue Int 2004;75:494-501.
18. Hunter GK, Hauschka PV, Poole AR, Rosenberg LC, Goldberg HA. Nucleation and inhibition of hydroxyapatite formation by mineralized tissue proteins. Biochem J 1996; 317:59-64.
19. Romberg RW, Werness PG, Riggs BL, Mann KG. Inhibition of hydroxyapatite crystal growth by bone-specific and other calcium-binding proteins. Biochemistry 1986; 25:1176-80.
20. Yoshitake H, Rittling SR, Denhardt DT, Noda M. Osteopontin-deficient mice are resistant to ovariectomy-induced bone resorption. Proc Natl Acad Sci USA 1999;96: 8156-60.
21. Reinholt FP, Hultenby K, Oldberg A, Heinegard D. Osteopontin: a possible anchor of osteoclasts to bone. Proc Natl Acad Sci USA 1990;87:4473-75.
22. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, et al. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis *in vitro*. Endocrinol 1998;139: 1329-37.
23. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. Cell 1997;89:309-19.
24. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. Genes Dev 1998;12:1260-8.
25. Frye MA, Melton LJ 3rd, Bryant SC, et al. Osteoporosis and calcification of the aorta. Bone Miner 1992;19:185-94.
26. Kiel DP, Kauppila LI, Cupples LA, Hannan MT, O'Donnell CJ, Wilson PW. Bone loss and the progression of abdominal aortic calcification over a 25 year period: the Framingham Heart study. Calcif Tissue Int 2001;68:271-6.
27. Luo G, Ducy P, McKee MD, et al. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix Gla protein. Nature 1997;386:78-81.
28. Zebboudj AF, Imura M, Bostrom K. Matrix Gla protein, a regulatory protein for bone morphogenetic protein-2. J Biol Chem 2002;277:4388-94.
29. Price PA, Faus SA, Williamson MK. Warfarin causes rapid calcification of the elastic lamellae in rat arteries and heart valves. Arterioscler Thromb Vasc Biol 1998;18:1400-7.
30. Howe AM, Webster WS. Warfarin exposure and calcification of the arterial system in the rat. Int J Exp Pathol 2000; 81:51-6.
31. Munroe PB, Olgunturk RO, Fryns JP, et al. Mutations in the gene encoding the human matrix Gla protein cause Keutel syndrome. Nat Genet 1999;21:142-4.

BIOMED
unidix
Especialistas
en cirugía
cardiovascular
desde 1977 al cuidado de tu salud
91 803 28 02
info@biomed.es