

## ACTUALIZACIONES / Reviews

# METABOLISMO ÓSEO Y VASCULAR: IMPACTO DE LA ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

Natalia Carrillo-López,<sup>1</sup> Sara Panizo,<sup>1</sup> Isabel Rodríguez,<sup>1</sup> José Bernardino Díaz-López,<sup>1,2</sup> y Jorge B. Cannata-Andía<sup>1\*</sup>

1. Servicio de Metabolismo Óseo y Mineral. 2. Servicio de Medicina Interna. Hospital Universitario Central de Asturias. Instituto Reina Sofía de Investigación. REDinREN del ISCIII. Universidad de Oviedo. Oviedo, Asturias, España.

### Resumen

La progresión de la enfermedad renal crónica (ERC) conduce a un descenso en los niveles séricos de calcio y un incremento de los de fósforo; con el fin de mantener la homeostasis mineral se ponen en marcha una serie de mecanismos de regulación que implican, entre otros, el calcitriol, la PTH y el FGF23. En estadios finales de la ERC, estos mecanismos se vuelven insuficientes, lo que conlleva una serie de alteraciones bioquímicas, de la morfología del hueso y a la presencia de calcificaciones vasculares o de otros tejidos blandos que en su conjunto se conocen como *alteraciones minerales y óseas de la enfermedad renal crónica*. Existen multitud de estudios que establecen una asociación entre calcificación vascular y desmineralización ósea. La mayoría de ellos indican que la severidad y progresión de las calcificaciones vasculares se asocian con un recambio óseo bajo. Los

factores y vías de señalización implicados en estos procesos son complejos y actualmente son objeto de investigación. Se han identificado diversos factores que podrían ser mediadores y actuar de nexo en esa asociación. En esta revisión se analiza la regulación de la glándula paratiroides con especial atención al eje calcio-fósforo-PTH-vitamina D-FGF23 en la ERC y se discute la asociación entre calcificaciones vasculares y desmineralización ósea. Dada la participación de factores comunes en la patogenia de las alteraciones del metabolismo óseo y vascular, se ha sugerido que podrían responder a tratamientos comunes y, así, agentes con efectos positivos en el hueso también podrían tener un efecto positivo a nivel de la calcificación vascular.

**Palabras clave:** metabolismo mineral, hiperparatiroidismo secundario, desmineralización ósea, calcificación vascular, regulación de la glándula paratiroides.

\* Dirección postal: Servicio de Metabolismo Óseo y Mineral. Instituto Reina Sofía de Investigación. Hospital Universitario Central de Asturias. C/ Julián Clavería s/n. 33006 Oviedo, Asturias. España. Correo electrónico: [cannata@hca.es](mailto:cannata@hca.es)



## Summary

### **BONE AND VASCULAR METABOLISM: IMPACT OF CHRONIC KIDNEY DISEASE**

*The progression of chronic kidney disease (CKD) leads to a decrease in serum calcium levels and an increase in serum phosphorus levels. In order to maintain mineral homeostasis several regulatory mechanisms are triggered involving, among others, calcitriol, PTH and FGF23. In final stages of CKD these mechanisms become insufficient, leading to biochemical disorders, morphological bone changes and calcifications in vessels or other soft tissues which together are known as Chronic Kidney Disease and Mineral Bone Disorders (CKD-MBD). There are many studies that establish an association between vascular calcification and bone demineralization. Most of them indicate that the severity and progression of vascular calcifications are associated with low bone mass and low bone turnover. The factors and signaling pathways involved in these processes are complex and are currently under investigation. Several factors have been identified as likely links of this association.*

*In this review we examine the parathyroid gland regulation with special emphasis on calcium-phosphorus-PTH-vitamin D-FGF23 axis in CKD and the association between vascular calcification and bone demineralization is discussed. As common factors have been involved in the pathogenesis of bone and vascular metabolism disorders, it has been suggested that common treatments may be used to correct these disorders.*

**Keywords:** *mineral metabolism, secondary hyperparathyroidism, bone demineralization, vascular calcification, parathyroid gland regulation.*

### **Relación entre metabolismo mineral y función renal**

La evolución natural de la enfermedad renal

crónica (ERC) conduce a un descenso en los niveles séricos de calcio y a una tendencia a la retención de fósforo, lo que implica la puesta en marcha de diversos mecanismos compensadores. Entre los de mayor importancia hay que destacar la estimulación de la glándula paratiroides, que responde incrementando la síntesis y liberación de parathormona (PTH), y el efecto sobre el hueso, que deriva en estímulo de la síntesis del factor de crecimiento fibroblástico 23 (FGF23). Estos incrementos en PTH y FGF23 favorecen la excreción de fósforo a nivel del túbulo renal y logran compensar parcialmente la retención de fósforo secundaria al descenso de la función renal. Además, el aumento de PTH estimula la 1- $\alpha$ -hidroxilasa renal y con ello la síntesis de calcitriol,<sup>1</sup> que favorece la absorción intestinal de calcio y de fósforo. Por otro lado, el FGF23 ejerce otras dos acciones importantes, una sobre el metabolismo de la vitamina D inhibiendo la síntesis de 1- $\alpha$ -hidroxilasa y aumentando la de 24- $\alpha$ -hidroxilasa, lo que a nivel renal se traduce en reducción de la producción de calcitriol, y otra directa sobre la paratiroides disminuyendo la síntesis y secreción de PTH.<sup>2,3</sup>

En individuos con función renal normal o con ERC en estadios 1, 2 o 3 (leve-moderado), los mecanismos de regulación antes mencionados se encuentran activos, y el efecto combinado del aumento de PTH y FGF23 mantiene normales los niveles séricos de calcio y de fósforo. A medida que la ERC progresa, los mecanismos de regulación van reduciendo su eficacia y, en estadios avanzados de ERC grados 4 y 5, ya no son suficientes para mantener la homeostasis mineral; entonces pequeñas reducciones en la función renal son capaces de provocar importantes desequilibrios metabólicos.<sup>4</sup> A las alteraciones bioquímicas (calcio, fósforo, calcitriol, PTH y FGF23) y morfológicas del hueso (variación del remodelado, volumen y mineralización ósea) y a la presencia de calcificaciones vasculares o de otros tejidos blandos se decidió englobarlas

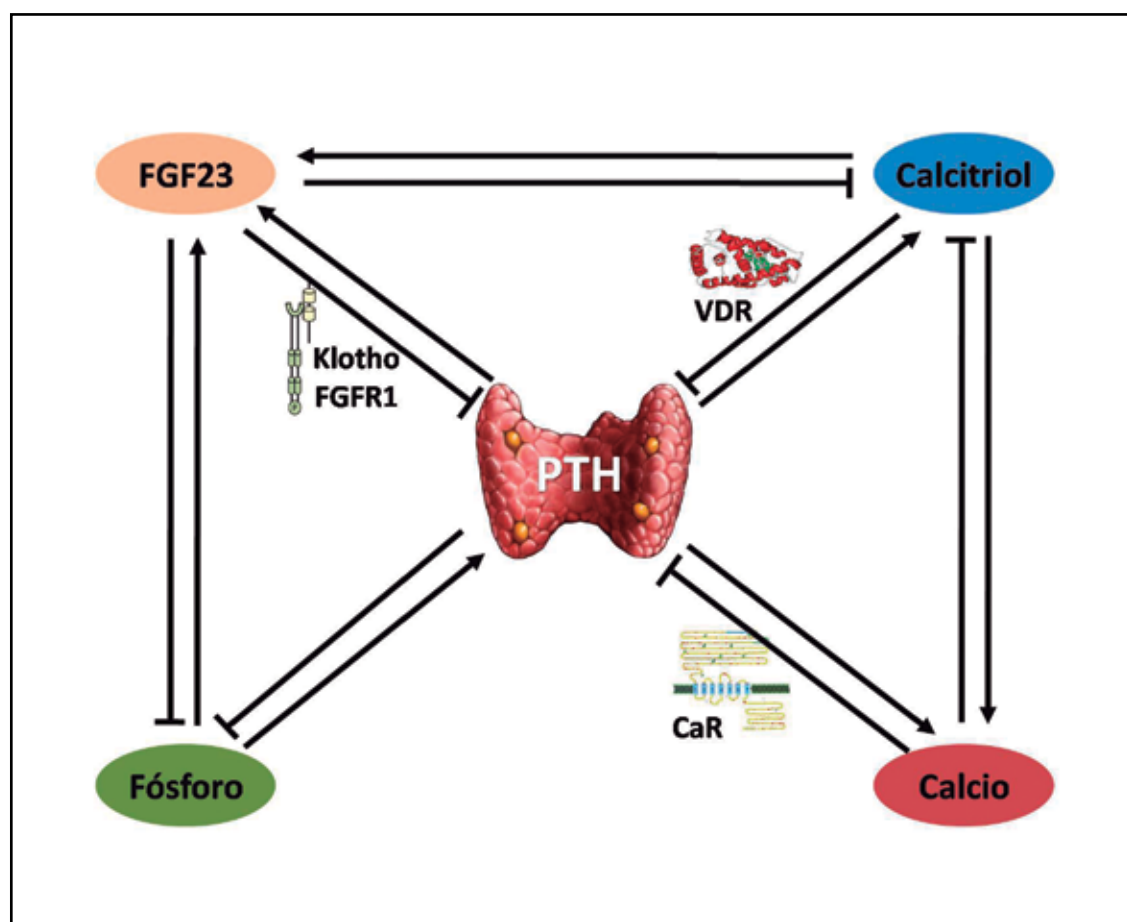
dentro de un concepto aglutinador conocido como *alteraciones minerales y óseas de la enfermedad renal crónica* (CKD-MBD según sus siglas en inglés).<sup>5,6</sup>

En esta revisión se analiza la regulación de la glándula paratiroides con especial atención al eje calcio-fósforo-PTH-vitamina D-FGF23 en la ERC y se discute la asociación entre calcificaciones vasculares y desmineralización ósea.

### Regulación de la glándula paratiroides en la enfermedad renal crónica

La regulación de los niveles de PTH se en-

cuentra controlada por un mecanismo complejo de retroalimentación, en el cual los niveles altos de calcio iónico,<sup>7</sup> el calcitriol<sup>8</sup> o sus derivados,<sup>9,10</sup> y los niveles bajos de fósforo<sup>11</sup> inhiben la secreción de PTH (Figura 1). Durante tres décadas, estos factores han sido considerados los principales reguladores de la función de la glándula paratiroides. Recientemente un cuarto factor, el FGF23, se ha añadido a esta lista no solo por sus efectos sobre el metabolismo de la vitamina D y el fósforo sino también por su capacidad de inhibir directamente la síntesis y secreción de PTH<sup>3</sup> (Figura 1).



**Figura 1.** Interrelaciones entre calcio y fósforo y sus hormonas, PTH, FGF23 y calcitriol. La capacidad del calcio para aumentar el FGF23 y la del bajo y alto fósforo para incrementar y disminuir respectivamente los niveles séricos de calcitriol no se muestran en la imagen.



El calcio iónico extracelular es el regulador más importante de la glándula paratiroides.<sup>12</sup> Los niveles bajos de calcio iónico extracelular estimulan la secreción de PTH en cuestión de segundos-minutos, mientras que los niveles elevados inhiben la liberación de la hormona y favorecen su degradación dentro de las propias células paratiroides.<sup>12-14</sup> El resultado es una respuesta de la glándula paratiroides de tipo sigmoidal en la que pequeños cambios en el calcio iónico extracelular provocan grandes variaciones de PTH, consiguiéndose su máxima inhibición en la hipercalcemia.

Los efectos del calcio sobre la glándula paratiroides están mediados por su receptor específico, el receptor sensor de calcio (CaR) presente en la membrana de las células paratiroides. Tras su activación se desencadena una serie de cascadas de señalización intracelular que, en último término, llevan a la inhibición de la síntesis y liberación de PTH (Figura 1). Además de su papel en la regulación del metabolismo de la PTH, el calcio y el CaR tienen un efecto inhibitorio sobre la proliferación celular de la glándula paratiroides. Se ha descrito una relación inversa entre la hiperplasia de la glándula paratiroides de ratas urémicas y el descenso en los niveles de ARN mensajero (ARNm) y proteína de CaR, demostrando la importancia que tiene el CaR en el desarrollo, la progresión y función de las glándulas paratiroides en la ERC.<sup>15</sup>

El calcitriol es también un importante regulador de la glándula paratiroides y ejerce un efecto inhibitorio directo sobre la PTH.<sup>13</sup> Actúa sobre la glándula paratiroides a través de su receptor específico, el receptor de vitamina D (VDR). Cuando el calcitriol se une al VDR, este complejo se transloca al núcleo, donde forma un dímero con el receptor X-retinoico (RXR) que permite la unión a los elementos de respuesta a vitamina D (VDRE) presentes en la región promotora del gen de la PTH, bloqueando su transcripción<sup>16</sup> (Figura 1). Además, el calcitriol es capaz de inhibir indirectamente la secreción de PTH aumentando la absorción de calcio en

el intestino y, a la vez, estimulando la resorción de los depósitos óseos de calcio<sup>17</sup> (Figura 1). El calcitriol es también un importante regulador del crecimiento celular. Los niveles bajos de calcitriol favorecen el crecimiento de la glándula paratiroides, efecto debido –al menos en parte– a cambios en el calcio sérico.<sup>18</sup> Se ha observado que el calcitriol puede ejercer un efecto antiproliferativo, independiente del calcio, que se acompaña de un freno en el incremento del factor de crecimiento transformante  $\alpha$  (TGF $\alpha$ ), principal responsable del desarrollo de hiperplasia en la glándula paratiroides.<sup>19</sup>

El fósforo es otro de los factores que actúa directamente sobre la glándula paratiroides regulando la síntesis y secreción de PTH. El aumento en los niveles de fósforo sérico produce un importante incremento en la secreción de PTH<sup>20,21</sup> y, además, es capaz de regular a nivel postranscripcional la expresión del gen de la PTH<sup>22,23</sup> (Figura 1). Por el contrario, en presencia de niveles bajos de fósforo, el ARNm de la PTH se desestabiliza, favoreciendo su degradación.<sup>13</sup> El fósforo también ha demostrado ser un importante estímulo proliferativo para las células de la glándula paratiroides; numerosos estudios han demostrado que, en animales con insuficiencia renal crónica, una dieta rica en fósforo ocasiona una hiperplasia de la glándula paratiroides sin que se observen cambios en los niveles de calcio y calcitriol.<sup>18,20,24</sup> El mecanismo subyacente por el cual el fósforo estimula la hiperplasia de la paratiroides guarda relación con su capacidad para activar las vías de proliferación mediadas por TGF $\alpha$  y el receptor del factor de crecimiento epidérmico (EGFR).<sup>19,25</sup>

Además de los reguladores clásicos de la PTH y del metabolismo mineral, recientemente se ha descrito el FGF23 como otro factor importante involucrado en la regulación del eje calcio-fósforo-PTH-vitamina D. El FGF23 es sintetizado fundamentalmente en osteocitos pero también en osteoblastos como respuesta a niveles elevados de fósforo y a los incrementos de calcitriol.<sup>26,27</sup> El

FGF23 actúa sobre sus tejidos diana, entre ellos la paratiroides y el riñón, a través de receptores FGFR pero siempre en presencia de su correceptor, Klotho.<sup>28</sup> Una vez que FGF23 reconoce el complejo FGFR-Klotho, se une a él, desencadenando la activación de la vía de las MAP quininas (MAPK). El FGF23, miembro de una gran familia de factores de crecimiento fibroblástico, ha sido descrito como el factor más potente de la familia para aumentar la excreción de fósforo en orina por su capacidad de inhibir en el túbulo proximal la reabsorción de fosfato dependiente del transportador Na-Pi (Figura 1). Además, el FGF23 también inhibe en el riñón la síntesis de 1- $\alpha$ -hidroxilasa y estimula la 24- $\alpha$ -hidroxilasa con el consiguiente descenso de los niveles de calcitriol (Figura 1). Recientemente se ha descrito que la glándula paratiroides es un importante órgano diana del FGF23,<sup>3</sup> en donde actúa activando la vía de las MAPK y disminuyendo la expresión génica y la secreción de la PTH (Figura 1).

En estadios iniciales de ERC con hiperparatiroidismo secundario leve o moderado, la glándula paratiroides es capaz de responder a sus reguladores calcio, fósforo, calcitriol y FGF23.<sup>29,30</sup> Sin embargo, en estadios más avanzados de ERC, la glándula paratiroides tiene una escasa o nula respuesta a los estímulos habituales y presenta un elevado grado de autonomía.<sup>31</sup> Esta autonomía de la glándula paratiroides se debe en parte a la disminución de la expresión de los receptores CaR, VDR y FGFR-Klotho en la glándula, cambios que ocurren de forma paralela al crecimiento de esta.<sup>32-34</sup> Si bien, en condiciones normales, el calcio, el calcitriol y el FGF23 son capaces de disminuir los niveles de PTH, en la ERC severa esto no ocurre y los niveles séricos de PTH persisten elevados mientras existe una escasa posibilidad de respuesta debido a la reducción de la densidad de los receptores CaR, VDR, FGFR-Klotho que impide que el calcio, el calcitriol y el FGF23 controlen la síntesis y secreción de PTH.

### **Cooperación y sinergia entre factores reguladores y receptores en paratiroides**

Los mecanismos de regulación de la glándula paratiroides dependen en gran medida del efecto de calcio, calcitriol y FGF23 sobre sus receptores específicos (CaR, VDR, FGFR-Klotho). Sin embargo, también existe otra serie de acciones indirectas que podrían depender de la estrecha conexión e interrelación entre calcio y calcitriol y de la posibilidad de regulación cruzada de estos receptores.

Aunque la expresión del CaR, tanto de su ARNm como de su proteína, puede verse alterada en multitud de circunstancias, muchos de los estímulos y mecanismos implicados aún no han sido esclarecidos. Si bien la principal acción del CaR es sensar el calcio, la expresión y concentración del CaR en glándulas paratiroides no parecen depender exclusivamente de los niveles de calcio extracelular. Diversos estudios *in vivo* han demostrado que los animales alimentados con una dieta alta o baja en calcio no muestran diferencias en los niveles de CaR en glándulas paratiroides, sugiriendo que el calcio no tiene un efecto regulador preponderante sobre su propio receptor.<sup>35,36</sup>

No obstante, a la hora de interpretar y analizar resultados es fundamental tener en cuenta que, en los estudios *in vivo*, las variaciones en uno de los factores que regulan la PTH pueden inducir a su vez cambios en los otros factores que también son capaces de regular la PTH, pudiendo enmascarar o afectar el verdadero efecto del factor que estamos estudiando. Los estudios *in vitro* constituyen una alternativa que puede obviar dicha limitación. Por ello, algunos autores han optado por el cultivo de glándulas paratiroides en fragmentos o en láminas<sup>20,37</sup> mientras que otros han utilizado el cultivo de glándulas paratiroides intactas y demostrando que el incremento en la concentración de calcio disminuye los niveles de ARNm de la PTH pero no la expresión de CaR (ARNm y proteína), hecho que sugiere que este efecto inhibitorio del calcio sobre la



PTH se debería a la activación del receptor y no al aumento de su concentración.<sup>38</sup>

A diferencia de lo que ocurre con el calcio, el calcitriol sí regula la expresión de su receptor (VDR), estimulando su síntesis y aumentando su vida media.<sup>39,40</sup> De hecho, el déficit de calcitriol observado en pacientes con ERC se asocia con un descenso en los niveles de VDR en la glándula paratiroides.<sup>32</sup> Se han realizado diversos estudios *in vivo* para analizar el efecto del calcitriol sobre el VDR<sup>41-43</sup> con resultados contradictorios. Se ha descrito que la regulación de VDR por calcitriol ocurriría solo en condiciones de hipercalcemia y normocalcemia pero no en hipocalcemia, sugiriendo que los niveles de calcio serían críticos para el control de los niveles de VDR. Sin embargo, otros estudios *in vitro* sí han encontrado respuesta al calcitriol en presencia de niveles bajos de calcio, sugiriendo una menor dependencia entre expresión de VDR y concentración de calcio.<sup>38</sup> Además del efecto descrito de calcio y calcitriol sobre sus propios receptores, ambos pueden cooperar entre sí modificando en un sentido positivo la respuesta del otro receptor. A pesar de que el VDR es el receptor específico del calcitriol y otros metabolitos y análogos activos de la vitamina D, el calcio es capaz también de regular los niveles de VDR. Diversos trabajos *in vivo*<sup>42,43</sup> e *in vitro*<sup>38, 43</sup> han descrito este efecto. Entre ellos, un estudio reciente de nuestro grupo ya citado,<sup>38</sup> en el que tras 24 horas de cultivo de glándulas paratiroides con calcio se observó que los niveles de ARNm y de proteína del VDR se incrementaban. Esta tendencia ha sido también descrita en otros trabajos demostrando que el calcio actúa sobre la expresión del VDR de manera indirecta, a través del ácido araquidónico liberado como consecuencia de la activación del CaR por el calcio.<sup>43,44</sup>

Del mismo modo, también se ha informado que el calcitriol puede regular el CaR, aunque en este caso los resultados son menos homogéneos dado que se ha observado escasa o nula variación en los niveles de CaR mediante

estímulos con calcitriol y la respuesta podría estar condicionada por los niveles de calcio sérico.<sup>35,36,38,43</sup>

Recientemente se ha mencionado que el FGF23 sería otro inhibidor de la PTH a través de su acción sobre los receptores FGFR1 y Klotho presentes en la glándula paratiroides.<sup>3</sup> Si bien es sabido que el FGF23 es capaz de regular el FGFR1-Klotho en paratiroides y en otros tejidos, un reciente trabajo ha mostrado *in vitro* que el calcio también sería capaz de incrementar la expresión génica de FGFR1 y Klotho en glándulas paratiroides.<sup>45</sup> Además, el FGF23 fue capaz de aumentar la expresión génica y los niveles de proteína de CaR y VDR en presencia de bajas concentraciones de calcio,<sup>45</sup> demostrando una vez más la estrecha interrelación de los reguladores de la glándula paratiroides y sus respectivos receptores.

Además de la regulación que el calcio, el calcitriol y el FGF23 ejercen sobre sus receptores, existen otros factores y fármacos que pueden regular los niveles de CaR y VDR. Uno de estos factores es el fósforo el que, además de ejercer una regulación directa de la PTH incrementando su secreción,<sup>20</sup> puede ejercer una regulación indirecta modificando la expresión de CaR y VDR. En el caso del CaR, algunos estudios han descrito que una dieta alta en fósforo es capaz de reducir la expresión del CaR.<sup>15,46,47</sup> Por otro lado, existen estudios que han demostrado que el fósforo podría modificar la expresión del VDR. Este efecto sería específico de tejido ya que en el intestino el fósforo podría aumentar la expresión de VDR mientras que en el riñón la disminuiría.<sup>48</sup> Es importante remarcar la importancia que podrían tener a este nivel los captosres de fósforo. La hiperfosforemia, muy presente en las fases avanzadas de la ERC, podría ser responsable de variaciones en los niveles de CaR y VDR en las glándulas paratiroides. La utilización de captosres de fósforo y su efecto reduciendo la hiperfosforemia colaboraría en normalizar los niveles de expresión de CaR y VDR.

Los calcimiméticos, que modulan alostérica-



mente el CaR aumentando su sensibilidad al calcio extracelular al tiempo que disminuyen la secreción de PTH,<sup>49-51</sup> también tendrían efecto sobre el VDR aumentando su expresión y facilitando la reducción de la síntesis de PTH.<sup>52</sup> Otro de los factores capaces de regular la función paratiroidea inhibiendo la secreción de PTH y que podría intervenir en la regulación de CaR y VDR es el aluminio.<sup>53</sup> Existen estudios que han demostrado la existencia de un efecto inhibitorio (dependiente de la dosis) del aluminio sobre los niveles de ARNm de la PTH en ratas con insuficiencia renal crónica.<sup>54</sup> También se ha encontrado que el aluminio es capaz de inhibir la expresión génica del CaR a través de un mecanismo postranscripcional, si bien no se encontraron cambios a nivel de proteína.<sup>55</sup> Por el contrario, se desconoce si el aluminio tiene efectos sobre el VDR.

### **Asociación entre calcificación vascular y desmineralización ósea**

La asociación entre calcificación vascular y desmineralización ósea se conoce desde hace al menos 20 años, época en la que se describió una relación inversa entre densidad mineral ósea (DMO) y calcificación aórtica.<sup>56</sup> Los factores y las vías de señalización implicados en esta asociación son complejos y actualmente son objeto de investigación. Durante mucho tiempo, esta asociación estuvo subestimada debido a que la calcificación vascular y la desmineralización ósea se consideraron alteraciones no modificables dependientes de la edad. Aunque no se debe excluir el papel del envejecimiento, son muchos los estudios que muestran que una mayor progresión de la calcificación vascular se asocia con una mayor pérdida de hueso,<sup>56-58</sup> lo que hace sospechar de la existencia de factores y vías de señalización comunes y potencialmente regulables entre el sistema vascular y el óseo.

Un estudio en mujeres posmenopáusicas sanas mostró que la progresión de calcificación aórtica estaba estrechamente relacionada con la pérdida de DMO.<sup>59</sup> En consonancia

con estos resultados, un subestudio reciente del proyecto EVOS en población seleccionada por aleatorización mostró, tras 4 años de seguimiento, que tanto en mujeres como en hombres, la mayor progresión de calcificaciones vasculares se relacionaba no solo con un mayor descenso de DMO, sino también con una mayor incidencia de fracturas osteoporóticas.<sup>60</sup> Resultados similares se han obtenido en pacientes en diálisis, en quienes la calcificación vascular en arterias, de calibre grande y medio, se ha asociado con incrementos del riesgo de fracturas vertebrales.<sup>61</sup> Además, un estudio reciente en ratas urémicas alimentadas con una dieta alta en fósforo ha mostrado que la calcificación severa de la aorta se asoció con disminución de masa ósea.<sup>62</sup>

El estudio del eje calcio-fósforo-PTH-vitamina D-FGF23 es fundamental para entender la asociación entre los procesos de calcificación vascular y pérdida de hueso. En diferentes estadios de ERC, los niveles elevados de fósforo y de PTH séricos se asocian con incremento de la calcificación vascular y descenso de la resistencia ósea. La hiperfosforemia se ha descrito en numerosas ocasiones como uno de los principales factores inductores de calcificación vascular,<sup>63,64</sup> daño endotelial<sup>65</sup> y de incremento de la síntesis y secreción de PTH.<sup>37</sup> Sin embargo, el papel de la PTH no está tan claro como el del fósforo. Un problema importante es que habitualmente la hiperfosforemia produce incrementos en la síntesis de PTH y, por tanto, es difícil separar la contribución de fósforo y PTH en la calcificación vascular. Existen diversos estudios que muestran que la PTH por sí sola no es capaz de inducir calcificación vascular, pero tiene un efecto sinérgico con el fósforo, probablemente debido al efecto indirecto de la PTH que ocasiona aumento de la actividad osteoclástica y del recambio óseo.<sup>66</sup>

También el FGF23 y su correceptor Klotho podrían desempeñar un papel importante en la asociación entre calcificación vascular y pérdida de hueso. El ratón mutante nulo para



FGF23, además de hiperfosforemia, presenta un descenso de la longevidad asociado con disminución de DMO y desarrollo de calcificaciones vasculares.<sup>67</sup> Asimismo, el ratón mutante nulo para *Klotho* presenta un fenotipo similar: hiperfosforemia, calcificaciones vasculares y alteraciones en osteoblastos y osteoclastos que conducen a osteopenia de bajo remodelado.<sup>68-70</sup>

Además del eje calcio-fósforo-PTH-vitamina D-FGF23 existen otros factores que serían posibles nexos entre calcificación vascular y pérdida de hueso. Uno de los más conocidos es la osteoprotegerina (OPG). Los ratones mutantes nulos para OPG desarrollan osteoporosis severa y extensas calcificaciones de la media, mostrando su posible papel como inhibidor de la calcificación. La OPG es el receptor señuelo de RANKL y ambos son segregados en el hueso por los osteoblastos. RANKL se une a su receptor RANK en los precursores osteoclasticos permitiendo su diferenciación y supervivencia, mientras que la OPG inhibe la diferenciación de los osteoclastos al impedir la unión RANKL-RANK.<sup>71</sup> Además, RANKL ha sido localizado en áreas calcificadas de arterias<sup>72-74</sup> y se ha observado que en cultivos de células de músculo liso vascular es capaz de activar una serie de señales que conducen al aumento de la expresión de la proteína morfogenética ósea 4 (BMP4), que sería responsable del incremento del contenido de calcio de estas células. La adición de OPG al cultivo impide la unión de RANKL a su receptor RANK bloqueando el efecto de RANKL sobre la calcificación vascular.<sup>75</sup>

También se ha propuesto un papel importante en la patogénesis de la calcificación vascular para la proteína Gla de la matriz (MGP), cuya función principal es inhibir el depósito de calcio en los tejidos blandos. Así, los ratones mutantes nulos para MGP presentan, entre otros defectos, calcificaciones de las arterias y también osteopenia,<sup>76</sup> lo que muestra una vez más la relación entre desmineralización ósea y calcificación vascular. El análisis de la contri-

bución potencial de la MGP en estos dos procesos se ha llevado a cabo desde distintos enfoques, incluidos estudios de polimorfismos. Así, se han descrito tanto polimorfismos asociados a niveles de proteína MGP circulante<sup>77</sup> como asociados a calcificación vascular y a DMO,<sup>78-80</sup> aunque todavía son necesarios más estudios para precisar mejor el vínculo genético entre calcificación vascular y DMO. Esto sería aplicable a cualquier gen implicado en la regulación del metabolismo óseo.

Otro posible nexo de estos dos procesos podrían ser las proteínas secretadas relacionadas con *frizzled* (sFRPs). Las sFRPs son una familia de proteínas inhibidoras de la vía de señalización Wnt que participa activamente en la formación ósea y en la calcificación vascular.<sup>81-83</sup> En un reciente trabajo con ratas con insuficiencia renal crónica alimentadas con una dieta con un contenido alto en fósforo, se observó que presentaron –tras 20 semanas– extensas calcificaciones en la aorta, disminución de DMO y aumento significativo en la expresión de algunas sFRPs en el tejido vascular calcificado.<sup>62</sup> Este hecho sugiere que el incremento de dichas proteínas podría estar actuando como un mecanismo de defensa activo de la pared arterial bloqueando la activación de la vía Wnt para tratar de atenuar la mineralización en la pared aórtica. Este efecto, en cierta medida protector sobre la pared vascular, contrastaría con el posible efecto negativo de las sFRPs en el hueso. Las sFRPs son proteínas que se secretan a la circulación; un exceso de ellas en el torrente sanguíneo llegaría al hueso y podría ser responsable de la disminución de la mineralización ósea que acompaña a la progresión de la calcificación vascular.<sup>62</sup>

### **Posibles estrategias comunes para el tratamiento de la calcificación vascular y la desmineralización ósea**

Evitar la hiperfosforemia y mantener los niveles de PTH lo más cercanos a la normalidad son dos de las estrategias más utilizadas para reducir la calcificación vascular y mantener el



mejor estado posible del hueso. En esta área, los fármacos más utilizados han sido los activadores del receptor de la vitamina D (VDRAs), calcimiméticos y captadores de fósforo. Todos contribuyen a un mejor control de la PTH y del metabolismo calcio/fósforo. El efecto de dosis bajas de distintos VDRAs sobre la calcificación vascular en pacientes con ERC suscita todavía interrogantes, pero varios estudios han mostrado beneficio, no solo a nivel del metabolismo óseo y mineral, sino también de la vasculatura<sup>84-86</sup> y la supervivencia.<sup>87</sup> Existen también evidencias que sugieren que el cinacalcet, cuyo efecto principal lo ejerce sobre la paratiroides, también podría ser beneficioso para la calcificación vascular de pacientes en diálisis,<sup>88,89</sup> pero los datos clínicos son todavía limitados.<sup>90</sup> En relación con el control del fósforo sérico, todos los fármacos son eficaces y, si bien existen ciertas discrepancias, los captadores de fósforo no cálcicos deberían ser la opción terapéutica para elegir en presencia de calcificaciones vasculares.<sup>91-93</sup>

Además de la estrategia clásica antes mencionada, podría haber otras alternativas específicas para actuar sobre el hueso y la calcificación vascular. Entre los fármacos que podrían tener acción simultánea sobre hueso y vaso se encuentran los bifosfonatos y el denosumab. Los bifosfonatos son análogos hidrolizables del pirofosfato, que se adsorben rápidamente en la superficie de los cristales de hidroxipatita en el hueso e inhiben la resorción ósea y la actividad osteoclástica. En modelos experimentales inhiben la calcificación de tejidos blandos, como la aorta y arterias renales.<sup>94-95</sup> Su utilización ha sido una estrategia empleada como experiencia piloto en pacientes con ERC estadios 3-4 con resultados poco alentadores.<sup>96</sup> El principal inconveniente con estos fármacos parece ser que en la dosis a la que previenen o reducen la calcificación vascular también reducen el recambio óseo, hecho que podría tener un efecto negativo a medio-largo plazo, disminuyendo la actividad ósea y favoreciendo, en presencia de calcio, el posterior

depósito de este en tejidos blandos y en los vasos.<sup>95</sup>

Otro agente que ha demostrado un efecto protector sobre la pérdida de hueso y podría tener a la par un efecto beneficioso sobre la calcificación vascular es el denosumab, anticuerpo monoclonal frente a RANKL, que neutraliza su actividad de igual manera a como lo hace la OPG.<sup>97</sup> Este efecto beneficioso sobre la calcificación vascular se ha visto en modelos experimentales<sup>98</sup> pero no en seres humanos.

### Conclusiones

El mecanismo de regulación de la PTH es complejo; en él intervienen diversos factores que ejercen sus acciones a través de receptores específicos por mecanismos directos e indirectos que modifican la expresión de estos receptores, lo que a su vez cambia el nivel de respuesta de las glándulas paratiroides. A este complejo escenario de las alteraciones del metabolismo óseo y mineral en la ERC, donde la glándula paratiroides y la PTH desempeñan un papel esencial, se han añadido nuevos factores como el FGF23.

La calcificación vascular, una de las alteraciones más importantes del metabolismo mineral que se asocia con gran frecuencia a alteraciones del recambio óseo mediadas por defecto o exceso de PTH, se relaciona de una manera muy estrecha con la pérdida de masa ósea y mortalidad en pacientes con ERC. Los aspectos analizados sobre la relación inversa entre calcificación vascular y desmineralización ósea y la existencia de factores y vías de señalización comunes constituyen un nuevo y apasionante campo de investigación.

### Conflicto de intereses

Los autores declaran no tener conflictos de intereses.

(Recibido: febrero de 2013.

Aceptado: abril de 2013)



## Referencias

1. Mannstadt M, Drueke TB. Parathyroid hormone receptors: from cloning to physiological, physiopathological and clinical implications. *Nephrologie* 1997; 18:5-10.
2. Shimada T, Hasegawa H, Yamazaki Y, et al. FGF-23 is a potent regulator of vitamin D metabolism and phosphate homeostasis. *J Bone Miner Res* 2004; 19:429-35.
3. Ben-Dov IZ, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V, et al. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *J Clin Invest* 2007; 117:4003-8.
4. Rodríguez Puyol D, Praga M. Causas de la Insuficiencia Renal Crónica y sus mecanismos de progresión. En: Hernando Avendano L (ed.). *Nefrología clínica*. Madrid: Ed Panamericana, 1998, p. 535-46.
5. Torregrosa JV, Bover J, Cannata Andia J. Spanish Society of Nephrology recommendations for controlling mineral and bone disorder in chronic kidney disease patients (S.E.N.-M.B.D.). Introduction. *Nefrología* 2011; 31 (Suppl 1): 1-2.
6. Moe S, Drueke T, Cunningham J, et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2006; 69:1945-53.
7. Naveh-Many T, Friedlaender MM, Mayer H, Silver J. Calcium regulates parathyroid hormone messenger ribonucleic acid (mRNA), but not calcitonin mRNA in vivo in the rat. Dominant role of 1,25-dihydroxyvitamin D. *Endocrinology* 1989; 125:275-80.
8. Karmali R, Farrow S, Hewison M, Barker S, O'Riordan JL. Effects of 1,25-dihydroxyvitamin D3 and cortisol on bovine and human parathyroid cells. *J Endocrinol* 1989; 123:137-42.
9. Slatopolsky E, Finch J, Ritter C, et al. A new analog of calcitriol, 19-nor-1,25-(OH)2D2, suppresses parathyroid hormone secretion in uremic rats in the absence of hypercalcemia. *Am J Kidney Dis* 1995; 26:852-60.
10. Shiizaki K, Negi S, Hatamura I, et al. Biochemical and cellular effects of direct maxacalcitol injection into parathyroid gland in uremic rats. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:97-108.
11. Kilav R, Silver J, Naveh-Many T. Parathyroid hormone gene expression in hypophosphatemic rats. *J Clin Invest* 1995; 96:327-33.
12. Jüppner H, Kronenberg HM. Parathyroid Hormone. In: Favus MJ (ed.). *Primer on Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 5th ed. Washington: American Society for Bone and Mineral Research; 2003, p. 117-24.
13. Silver J, Kilav R, Naveh-Many T. Mechanisms of secondary hyperparathyroidism. *Am J Physiol Renal Physiol* 2002; 283:F367-76.
14. Yamamoto M, Igarashi T, Muramatsu M, Fukagawa M, Motokura T, Ogata E. Hypocalcemia increases and hypercalcemia decreases the steady-state level of parathyroid hormone messenger RNA in the rat. *J Clin Invest* 1989; 83:1053-6.
15. Brown AJ, Ritter CS, Finch JL, Slatopolsky EA. Decreased calcium-sensing receptor expression in hyperplastic parathyroid glands of uremic rats: role of dietary phosphate. *Kidney Int* 1999; 55:1284-92.
16. Silver J, Naveh-Many T, Mayer H, Schmelzer HJ, Popovtzer MM. Regulation by vitamin D metabolites of parathyroid hormone gene transcription in vivo in the rat. *J Clin Invest* 1986; 78:1296-301.
17. Goodman WG. The flavors of vitamin D: tasting the molecular mechanisms. *Kidney Int* 2004; 66:1286-7.
18. Naveh-Many T, Rahamimov R, Livni N, Silver J. Parathyroid cell proliferation in normal and chronic renal failure rats. The effects of calcium, phosphate, and vitamin D. *J Clin Invest* 1995; 96:1786-93.
19. Dusso A, Cozzolino M, Lu Y, Sato T, Slatopolsky E. 1,25-Dihydroxyvitamin D downregulation of TGFalpha/EGFR expression and growth signaling: a mechanism for the antiproliferative actions of the sterol in parathyroid hyperplasia of renal failure. *J Steroid Biochem Mol Biol* 2004; 89-90:507-11.

20. Slatopolsky E, Finch J, Denda M, et al. Phosphorus restriction prevents parathyroid gland growth. High phosphorus directly stimulates PTH secretion in vitro. *J Clin Invest* 1996; 97:2534-40.
21. Almaden Y, Hernandez A, Torregrosa V, et al. High phosphate level directly stimulates parathyroid hormone secretion and synthesis by human parathyroid tissue in vitro. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9:1845-52.
22. Moallem E, Kilav R, Silver J, Naveh-Many T. RNA-Protein binding and post-transcriptional regulation of parathyroid hormone gene expression by calcium and phosphate. *J Biol Chem* 1998; 273:5253-9.
23. Moallem E, Kilav R, Silver J, Naveh-Many T. RNA-Protein binding and post-transcriptional regulation of parathyroid hormone gene expression by calcium and phosphate. *J Biol Chem* 1998; 273:5253-9.
24. Almaden Y, Felsenfeld AJ, Rodriguez M, et al. Proliferation in hyperplastic human and normal rat parathyroid glands: role of phosphate, calcitriol, and gender. *Kidney Int* 2003; 64:2311-7.
25. Dusso AS, Pavlopoulos T, Naumovich L, et al. p21(WAF1) and transforming growth factor- $\alpha$  mediate dietary phosphate regulation of parathyroid cell growth. *Kidney Int* 2001; 59:855-65.
26. Kolek OI, Hines ER, Jones MD, et al. 1,25-Dihydroxyvitamin D<sub>3</sub> upregulates FGF23 gene expression in bone: the final link in a renal-gastrointestinal-skeletal axis that controls phosphate transport. *Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol* 2005; 289:G1036-42.
27. Liu S, Tang W, Zhou J, et al. Fibroblast growth factor 23 is a counter-regulatory phosphaturic hormone for vitamin D. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:1305-15.
28. Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T, et al. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature* 2006; 444:770-4.
29. Canadillas S, Canalejo A, Santamaria R, et al. Calcium-sensing receptor expression and parathyroid hormone secretion in hyperplastic parathyroid glands from humans. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:2190-7.
30. Rodriguez M, Canadillas S, Lopez I, Aguilera-Tejero E, Almaden Y. Regulation of parathyroid function in chronic renal failure. *J Bone Miner Metab* 2006; 24:164-8.
31. Locatelli F, Cannata-Andia JB, Druke TB, et al. Management of disturbances of calcium and phosphate metabolism in chronic renal insufficiency, with emphasis on the control of hyperphosphataemia. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17:723-31.
32. Brown AJ, Dusso A, Lopez-Hilker S, Lewis-Finch J, Grooms P, Slatopolsky E. 1,25-(OH)<sub>2</sub>D receptors are decreased in parathyroid glands from chronically uremic dogs. *Kidney Int* 1989; 35:19-23.
33. Canalejo R, Canalejo A, Martinez-Moreno JM, et al. FGF23 Fails to Inhibit Uremic Parathyroid Glands. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21:1125-35.
34. Roman-Garcia P, Carrillo-Lopez N, Naves-Diaz M, Rodriguez I, Ortiz A, Cannata-Andia JB. Dual-Specificity Phosphatases Are Implicated in Severe Hyperplasia and Lack of Response to FGF23 of Uremic Parathyroid Glands from Rats. *Endocrinology* 2012; 153:1627-37.
35. Brown AJ, Zhong M, Finch J, et al. Rat calcium-sensing receptor is regulated by vitamin D but not by calcium. *Am J Physiol* 1996; 270:F454-60.
36. Rogers KV, Dunn CK, Conklin RL, et al. Calcium receptor messenger ribonucleic acid levels in the parathyroid glands and kidney of vitamin D-deficient rats are not regulated by plasma calcium or 1,25-dihydroxyvitamin D<sub>3</sub>. *Endocrinology* 1995; 136:499-504.
37. Almaden Y, Canalejo A, Hernandez A, et al. Direct effect of phosphorus on PTH secretion from whole rat parathyroid glands in vitro. *J Bone Miner Res* 1996; 11:970-6.
38. Carrillo-Lopez N, Alvarez-Hernandez D, Gonzalez-Suarez I, et al. Simultaneous changes in the calcium-sensing receptor and the vitamin D receptor under the influence of calcium and calcitriol. *Nephrol Dial Transplant* 2008; 23:3479-84.



39. Denda M, Finch J, Brown AJ, Nishii Y, Kubodera N, Slatopolsky E. 1,25-dihydroxyvitamin D3 and 22-oxacalcitriol prevent the decrease in vitamin D receptor content in the parathyroid glands of uremic rats. *Kidney Int* 1996; 50:34-9.
40. Wiese RJ, Uhland-Smith A, Ross TK, Prah JM, DeLuca HF. Up-regulation of the vitamin D receptor in response to 1,25-dihydroxyvitamin D3 results from ligand-induced stabilization. *J Biol Chem* 1992; 267:20082-6.
41. Brown AJ, Zhong M, Finch J, Ritter C, Slatopolsky E. The roles of calcium and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the regulation of vitamin D receptor expression by rat parathyroid glands. *Endocrinology* 1995; 136:1419-25.
42. Russell J, Bar A, Sherwood LM, Hurwitz S. Interaction between calcium and 1,25-dihydroxyvitamin D3 in the regulation of preproparathyroid hormone and vitamin D receptor messenger ribonucleic acid in avian parathyroids. *Endocrinology* 1993; 132:2639-44.
43. Garfia B, Canadillas S, Canalejo A, et al. Regulation of parathyroid vitamin D receptor expression by extracellular calcium. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:2945-52.
44. Almaden Y, Canalejo A, Ballesteros E, Anon G, Canadillas S, Rodriguez M. Regulation of arachidonic acid production by intracellular calcium in parathyroid cells: effect of extracellular phosphate. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13:693-8.
45. Canalejo R, Canalejo A, Martinez-Moreno JM, et al. FGF23 fails to inhibit uremic parathyroid glands. *J Am Soc Nephrol* 2010; 21:1125-35.
46. Mizobuchi M, Hatamura I, Ogata H, et al. Calcimimetic compound upregulates decreased calcium-sensing receptor expression level in parathyroid glands of rats with chronic renal insufficiency. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:2579-87.
47. Ritter CS, Finch JL, Slatopolsky EA, Brown AJ. Parathyroid hyperplasia in uremic rats precedes down-regulation of the calcium receptor. *Kidney Int* 2001; 60:1737-44.
48. Sriussadaporn S, Wong MS, Pike JW, Favus MJ. Tissue specificity and mechanism of vitamin D receptor up-regulation during dietary phosphorus restriction in the rat. *J Bone Miner Res* 1995; 10:271-80.
49. Rodriguez M, Nemeth E, Martin D. The calcium-sensing receptor: a key factor in the pathogenesis of secondary hyperparathyroidism. *Am J Physiol Renal Physiol* 2005; 288:F253-64.
50. Nagano N. Pharmacological and clinical properties of calcimimetics: calcium receptor activators that afford an innovative approach to controlling hyperparathyroidism. *Pharmacology & therapeutics* 2006; 109:339-65.
51. Levi R, Ben-Dov IZ, Lavi-Moshayoff V, et al. Increased parathyroid hormone gene expression in secondary hyperparathyroidism of experimental uremia is reversed by calcimimetics: correlation with posttranslational modification of the trans acting factor AUF1. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17:107-12.
52. Rodriguez ME, Almaden Y, Canadillas S, et al. The calcimimetic R-568 increases vitamin D receptor expression in rat parathyroid glands. *Am J Physiol Renal Physiol* 2007; 292:F1390-5.
53. Díaz López JB, D'Haese P, Lambert V, Cannata JB, De Broe ME. Contenido de aluminio en paratiroides de ratas con insuficiencia renal. *Nefrología* 1988; 8:35-41.
54. Díaz-Corte C, Fernández-Martín JL, Barreto S, et al. Effect of aluminium load on parathyroid hormone synthesis. *Nephrol Dial Transplant* 2001; 16:742-5.
55. Gonzalez-Suarez I, Alvarez-Hernandez D, Carrillo-Lopez N, Naves-Diaz M, Luis Fernandez-Martin J, Cannata-Andia JB. Aluminum post-transcriptional regulation of parathyroid hormone synthesis: a role for the calcium-sensing receptor. *Kidney Int* 2005; 68:2484-96.
56. Frye MA, Melton LJ, 3rd, Bryant SC, et al. Osteoporosis and calcification of the aorta. *Bone Miner* 1992; 19:185-94.
57. 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.
58. Rodriguez Garcia M, Naves Diaz M, Cannata Andia JB. Bone metabolism, vascular calcifica-

- tions and mortality: associations beyond mere coincidence. *J Nephrol* 2005; 18:458-63.
59. 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.
  60. Naves M, Rodriguez-Garcia M, Diaz-Lopez JB, Gomez-Alonso C, Cannata-Andia JB. Progression of vascular calcifications is associated with greater bone loss and increased bone fractures. *Osteoporos Int* 2008; 19(8):1161-6.
  61. Rodriguez-Garcia M, Gomez-Alonso C, Naves-Diaz M, Diaz-Lopez JB, Diaz-Corte C, Cannata-Andia JB. Vascular calcifications, vertebral fractures and mortality in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24:239-46.
  62. Roman-Garcia P, Carrillo-Lopez N, Fernandez-Martin JL, Naves-Diaz M, Ruiz-Torres MP, Cannata-Andia JB. High phosphorus diet induces vascular calcification, a related decrease in bone mass and changes in the aortic gene expression. *Bone* 2010; 46:121-8.
  63. Moe SM, Chen NX. Pathophysiology of vascular calcification in chronic kidney disease. *Circ Res* 2004; 95:560-7.
  64. Moe SM, Chen NX. Mechanisms of vascular calcification in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19:213-6.
  65. Burger D, Levin A: 'Shedding' light on mechanisms of hyperphosphatemic vascular dysfunction. *Kidney Int* 2013; 83:187-9.
  66. Gracioli FG, Neves KR, dos Reis LM, et al. Phosphorus overload and PTH induce aortic expression of Runx2 in experimental uraemia. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24:1416-21.
  67. Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y, 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.
  68. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H, et al. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature* 1997; 390:45-51.
  69. Wong YF, Xu Q. Ablation of klotho and premature aging: is 1,25-dihydroxyvitamin D the key middleman? *Kidney Int* 2009; 75:1137-9.
  70. Kuro-o M. Klotho as a regulator of fibroblast growth factor signaling and phosphate/calcium metabolism. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2006; 15:437-41.
  71. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis research & therapy* 2007; 9 (Suppl 1): S1.
  72. Min H, Morony S, Sarosi I, et al. Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J Exp Med* 2000; 192:463-74.
  73. Dhore CR, Cleutjens JP, Lutgens E, et al. Differential expression of bone matrix regulatory proteins in human atherosclerotic plaques. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2001; 21:1998-2003.
  74. Jono S, Nishizawa Y, Shioi A, Morii H. 1,25-Dihydroxyvitamin D3 increases in vitro vascular calcification by modulating secretion of endogenous parathyroid hormone-related peptide. *Circulation* 1998; 98:1302-6.
  75. Panizo S, Cardus A, Encinas M, et al. RANKL increases vascular smooth muscle cell calcification through a RANK-BMP4-dependent pathway. *Circ Res* 2009; 104:1041-8.
  76. 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.
  77. Farzaneh-Far A, Davies JD, Braam LA, et al. A polymorphism of the human matrix gamma-carboxyglutamic acid protein promoter alters binding of an activating protein-1 complex and is associated with altered transcription and serum levels. *J Biol Chem* 2001; 276:32466-73.
  78. Tsukamoto K, Orimo H, Hosoi T, et al. Association of bone mineral density with polymorphism of the human matrix Gla protein locus in elderly women. *J Bone Miner Metab* 2000; 18:27-30.
  79. Taylor BC, Schreiner PJ, Doherty TM, Fornage M, Carr JJ, Sidney S. Matrix Gla protein and osteopontin genetic associations with coronary artery calcification and bone density: the CARDIA study. *Hum Genet* 2005; 116:525-8.





80. Cassidy-Bushrow AE, Bielak LF, Levin AM, et al. Matrix Gla Protein Gene Polymorphism Is Associated With Increased Coronary Artery Calcification Progression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2013; 33(3):645-51.
81. Holmen SL, Giambernardi TA, Zylstra CR, et al. Decreased BMD and limb deformities in mice carrying mutations in both Lrp5 and Lrp6. *J Bone Miner Res* 2004; 19:2033-40.
82. Al-Aly Z, Shao JS, Lai CF, et al. Aortic Msx2-Wnt calcification cascade is regulated by TNF-alpha-dependent signals in diabetic Ldlr<sup>-/-</sup> mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007; 27:2589-96.
83. Towler DA, Shao JS, Cheng SL, Pingsterhaus JM, Loewy AP. Osteogenic regulation of vascular calcification. *Ann N Y Acad Sci* 2006; 1068:327-33.
84. Cardus 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.
85. Cozzolino M, Mehmeti F, Ciceri P, et al. The Effect of Paricalcitol on Vascular Calcification and Cardiovascular Disease in Uremia: Beyond PTH Control. *Int J Nephrol* 2011; 2011: ID 269060.
86. Rodriguez M, Martinez-Moreno JM, Rodriguez-Ortiz ME, Munoz-Castaneda JR, Almaden Y. Vitamin D and vascular calcification in chronic kidney disease. *Kidney Blood Press Res* 2011; 34:261-8.
87. Naves-Diaz M, Alvarez-Hernandez D, Passlick-Deetjen J, et al. Oral active vitamin D is associated with improved survival in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2008; 74:1070-8.
88. Aladren Regidor MJ. Cinacalcet reduces vascular and soft tissue calcification in secondary hyperparathyroidism (SHPT) in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2009; 71:207-13.
89. Raggi P, Chertow GM, Torres PU, et al. The ADVANCE study: a randomized study to evaluate the effects of cinacalcet plus low-dose vitamin D on vascular calcification in patients on hemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26:1327-39.
90. Adragao T, Herberth J, Monier-Faugere MC, et al. Low bone volume--a risk factor for coronary calcifications in hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4:450-5.
91. Block GA, Spiegel DM, Ehrlich J, et al. Effects of sevelamer and calcium on coronary artery calcification in patients new to hemodialysis. *Kidney Int* 2005; 68:1815-24.
92. Chertow GM, Burke SK, Raggi P. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002; 62:245-52.
93. Qunibi W, Moustafa M, Muenz LR, 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 Renegel Evaluation-2 (CARE-2) study. *Am J Kidney Dis* 2008; 51:952-65.
94. Lomashvili KA, Monier-Faugere MC, Wang X, Malluche HH, O'Neill WC. Effect of bisphosphonates on vascular calcification and bone metabolism in experimental renal failure. *Kidney Int* 2009; 75:617-25.
95. 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.
96. Toussaint ND, Elder GJ, Kerr PG. Bisphosphonates in chronic kidney disease; balancing potential benefits and adverse effects on bone and soft tissue. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4:221-33.
97. Ominsky MS, Li X, Asuncion FJ, et al. RANKL inhibition with osteoprotegerin increases bone strength by improving cortical and trabecular bone architecture in ovariectomized rats. *J Bone Miner Res* 2008; 23:672-82.
98. Helas S, Goettsch C, Schoppet M, et al. Inhibition of receptor activator of NF-kappaB ligand by denosumab attenuates vascular calcium deposition in mice. *Am J Pathol* 2009; 175:473-8.