

Daño vascular en la enfermedad renal crónica

Aquiles Jara¹, Sergio Mezzano².

Vascular damage in chronic kidney disease

Cardiovascular disease is a frequent complication of renal failure and is the most common cause of death in patients with chronic kidney disease (CKD). Accelerated atherogenesis has been widely documented in CKD and diabetic nephropathy is the leading cause of renal failure worldwide. Furthermore, CKD promotes hypertension and dyslipidemia, which in turn may contribute to the progression of renal failure. All together, hypertension, dyslipidemia and diabetes are considered major risk factors for the development of endothelial dysfunction and progression of atherosclerosis. Elevated inflammatory mediators and activation of the renin-angiotensin system contribute through enhanced production of reactive oxygen species, to atherogenesis in CKD. Vascular calcification is also important. Calcification of arteries occurs in the intima in association with atherosclerosis, where it may contribute to plaque formation, and in the media, where it causes stiffening. Increased serum levels of calcification promoters, such as hyperphosphatemia, and a decrease in circulating and local inhibitors of calcification, favor vascular calcification. On the other hand, transdifferentiation of vascular smooth muscle cells to osteoblast-like cells would be the pivotal event in calcification. Bone morphogenetic protein agonists and antagonists are playing a role in this osteogenic differentiation. Accelerated atherosclerosis and media calcification will then lead to increased prevalence of coronary artery disease, heart failure, stroke, and peripheral arterial disease. Prevention and treatment of cardiovascular disease are major considerations in the management of individuals with CKD (Rev Méd Chile 2008; 136: 1476-84).

(Key words: Atherosclerosis; Cardiovascular diseases; Diabetic nephropathies; Kidney diseases)

Recibido el 28 de mayo, 2008. Aceptado el 13 de agosto, 2008.

Trabajo financiado por Proyectos FONDECYT, Chile, Nº 1050783-1080083.

¹Departamento de Nefrología, Escuela de Medicina, Pontificia Universidad Católica de Chile, Santiago, Chile. ²División de Nefrología, Escuela de Medicina, Universidad Austral de Chile, Valdivia, Chile.

La enfermedad renal crónica (ERC) se ha convertido en un problema de salud pública a nivel global¹ (Tabla 1). Los datos mundiales señalan un incremento en la prevalencia e inci-

dencia de ERC terminal y la magnitud del problema, estrechamente relacionado con el envejecimiento de la población y la elevada prevalencia de diabetes e hipertensión arterial, aumentará en los próximos años². En Chile, alrededor de 1.000 pacientes nuevos ingresan anualmente a un programa de diálisis crónica, con una prevalencia aproximada de 12.500 pacientes en este programa. Mientras la cobertura de los programas de diálisis a los enfermos con ERC terminal ha

Correspondencia a: Dr. Sergio Mezzano. División de Nefrología, Escuela de Medicina, Universidad Austral de Chile. Bueras 1003, piso 2. Fono/Fax: 56-63-215890. Valdivia, Chile. E mail: smezzano@uach.cl

Tabla 1. Etapas y prevalencia de la enfermedad renal crónica*

Etapa	Descripción	VFG, ml/min por 1,73 m ²	%
1	Daño renal con VFG normal o aumentada	≥90	3,3
2	Daño Renal con leve disminución de la VFG	60 a 89	3,0
3	Moderada disminución de la VGF	30 a 59	4,3
4	Marcada disminución de la VFG	15 a 29	0,2
5	Insuficiencia renal crónica	<15 o diálisis	0,1

(Ref 1: *Rev Méd Chile* 2005; 133: 338-348).

mejorado ostensiblemente en nuestro país, desde tasas de 12,7 pacientes/millón población en 1980 a 754 pacientes/millón en 2007 (Poblete H: Cuenta Anual de Diálisis Crónica en Chile, 2007), la mortalidad se mantiene elevada, tal como sucede en países desarrollados con tasas aproximadas de 16% anual.

La principal causa de muerte en pacientes con ERC y en diálisis crónica es la ocurrencia de eventos cardiovasculares (CV), con una mortalidad 20 veces mayor a la observada en la población general, en sujetos menores de 40 años³ (Tabla 2). Los enfermos con ERC tienen una mayor probabilidad de morir por eventos CV, que ingresar a un programa de sustitución renal⁴. El estudio UKPDS efectuado en pacientes diabéticos tipo 2, demostró que el riesgo de progresión de las diferentes fases de la nefropatía (microalbuminuria, macroalbuminuria e insuficiencia renal) es aproximadamente 2% anual, en cambio el riesgo de muerte CV se incrementa de manera exponencial alcanzando hasta 20% anual en diabéticos en diálisis⁵.

El estudio de Framingham fue el primero en establecer la asociación entre ERC y eventos/muerte CV en la población general. Sin embargo, sólo recientemente se evaluó la relación entre velocidad de filtración glomerular (VFG) y eventos adversos CV en una población de bajo riesgo⁶, observándose un incremento significativo en cada uno de los 3 eventos primarios (muerte por cualquier causa, eventos CV y hospitalizaciones) para cada etapa de VFG disminuida. El estudio HOT ~ (Hypertension Optimal Treatment)~ mostró que el riesgo relativo ajustado para eventos CV mayores fue de 1,65 para sujetos con VFG <60 ml/min, comparado con 1,58 para aquellos con VFG >60 ml/min⁷. Un análisis *post hoc* del estudio

HOPE (~Heart Outcomes and Prevention Evaluation~) reveló que los 980 sujetos con leve ERC (creatininemia ≥1,4 mg/dl) tuvieron una incidencia acumulativa de eventos CV de 22,2% vs 15% en aquellos con función renal normal⁸.

MECANISMOS PATOGENICOS

Los mecanismos de esta elevada tasa de riesgo CV no son del todo conocidos y las causas bien establecidas de riesgo CV observadas en la población general no explican totalmente el riesgo aumentado en la ERC. En general, los mecanismos asociados a eventos CV en la ERC son la hipertensión arterial y la dislipidemia como factores de riesgo mayor para el desarrollo de la disfunción endotelial y progresión de la aterosclerosis. La presencia de mediadores de inflamación crónica y la activación del sistema renina-angiotensina (SRA), como principales inductores de estrés

Tabla 2. Riesgo cardiovascular de acuerdo a etapa de la enfermedad renal crónica

Etapa	Riesgo CV (razón de chance)
1	Depende del grado de proteinuria*
2	1,5
3	2 a 4
4	4 a 10
5	10 a 50
Diálisis	20 a 1000

Microalbuminuria aumenta el riesgo CV 2 a 4 veces. (Ref 29. *Circulation* 2007; 116: 85-97).

oxidativo contribuyen a la aterosclerosis acelerada observada en la ERC. La presencia de hiperglicemia y de productos de glicosilación avanzados (AGEs), que ocurren en pacientes diabéticos, amplifican la presencia de estos mediadores de disfunción endotelial y compromiso aterosclerótico. Simultáneamente la aparición de promotores de la calcificación vascular y la reducción de inhibidores de calcificación favorecen la calcificación vascular (Figura 1). Concomitantemente, alteraciones propias del estado urémico *per se* contribuyen a este aumento de riesgo CV, como sobrecarga de volumen, anemia y miocardiopatía. De los pacientes que inician diálisis, 40% tienen evidencia de enfermedad coronaria y 85% de estos enfermos tienen ya una estructura y función anormal de su ventrículo izquierdo⁹.

Las lesiones vasculares observadas en pacientes con ERC van desde la fibrosis de la íntima, la arterioesclerosis hialina (frecuentemente observada en pacientes de edad avanzada y diabéticos), arterioesclerosis hiperplástica (relacionada a la hipertensión arterial), la placa aterosclerótica (ATE) y la calcificación vascular de la media (calcificación de Mönckeberg). Sólo estas dos últimas manifestaciones

se asocian a la mayor morbimortalidad observada en pacientes con ERC.

DISFUNCIÓN ENDOTELIAL Y ENFERMEDAD ATEROESCLERÓTICA (ATE)

En 1999, Rusell Ross revisó su propia hipótesis sobre la ATE y a la luz de las evidencias existentes introdujo dos grandes cambios. Propuso que antes del daño endotelial existía disfunción sin alteración morfológica y que las lesiones ATE tienen las características típicas de la inflamación crónica¹⁰. Hoy se acepta que la disfunción endotelial es el evento inicial de la aterosclerosis (ATE). Esta alteración puede estudiarse explorando la vasodilatación dependiente del endotelio y el hecho fundamental de la disfunción endotelial es una menor disponibilidad de óxido nítrico (NO), que puede deberse tanto a una disminución de su producción como a una mayor destrucción del mismo.

Los pacientes con ERC desarrollan enfermedad vascular ATE más precoz y más frecuentemente que la población general, existiendo evidencias crecientes que las anomalías renales, relativamente meno-

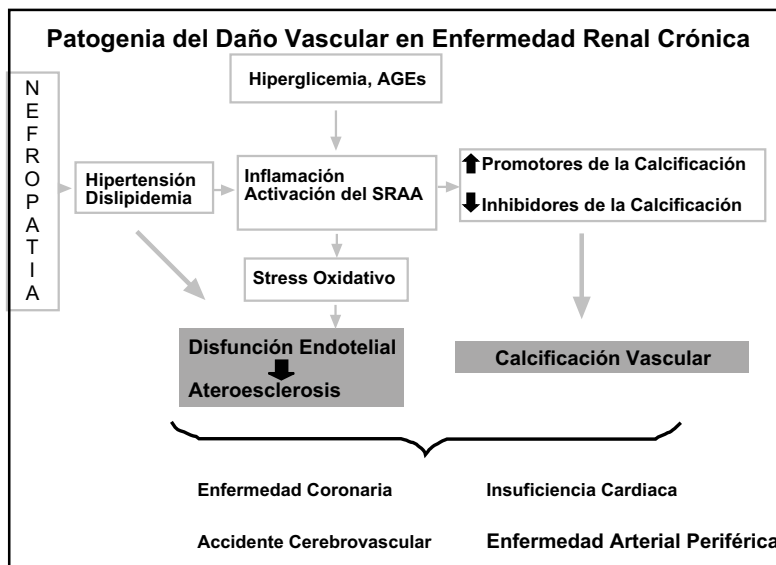


Figura 1. Patogénesis del daño vascular en la enfermedad renal crónica (ERC). Hipertensión y dislipidemia inducen disfunción endotelial y aterosclerosis (ATE). La presencia de mediadores de inflamación, activación del sistema renina-angiotensina y el estrés oxidativo contribuyen a la ATE acelerada. La presencia de hiperglicemia y AGEs agravan dicho compromiso. Los promotores de calcificación están aumentados e inhibidores de calcificación reducidos, lo cual favorece calcificación vascular. ATE acelerada conduce a un aumento de prevalencia de enfermedad cardiovascular.

res, tales como una ligera reducción de la VFG o la aparición de microalbuminuria incluso bajo el rango normal, pueden estar asociadas con un riesgo aumentado de eventos CV. Muchos de los factores de riesgo CV tradicionales que podrían afectar la función endotelial pueden ser encontrados en asociación con ERC. Afecciones relacionadas tales como la diabetes, hipertensión y obesidad, como también la presencia de disfunción renal *per se*, conducen a una activación del sistema renina angiotensina (SRA), estrés oxidativo, elevación de ADMA (dimetilarginina asimétrica), inflamación con aumento de citoquinas circulantes y dislipidemia, todos los cuales son mecanismos fisiopatológicos comunes que inciden en la disfunción endotelial observada en la ERC.

Activación del sistema renina angiotensina, estrés oxidativo y ADMA. La activación del sistema renina angiotensina ocurre en muchas enfermedades renales. La Ang II, a través de los receptores AT1 estimula la transcripción de diferentes subunidades de la oxidasa NADPH, estimulando la generación de radicales libres (anión superóxido y peróxido de hidrógeno), e inducción de segundos mensajeros todo lo cual conduce a una sobre-regulación de mediadores inflamatorios, entre los cuales se incluyen citoquinas, quemoquinas, moléculas de adhesión y PAI1. Estos eventos conducen a la disfunción endotelial, el remodelamiento vascular y la progresión de la aterosclerosis¹¹.

Tanto la ERC *per se* como la diálisis están asociadas con estrés oxidativo, determinado en gran medida por el verdadero estado inflamatorio crónico que constituye la uremia y la terapia dialítica. Los mecanismos del estrés oxidativo en la uremia están asociados a la activación de la xantina oxidasa y principalmente de la oxidasa NADPH. Esta oxidasa es probablemente la fuente más importante en la vasculatura y es estimulada por la angiotensina II y otros agentes¹².

La reducción en la biodisponibilidad de NO parece ser uno de los principales factores involucrados en la disfunción endotelial presente en la ERC. ADMA (dimetil arginina asimétrica) es un inhibidor competitivo de la sintasa de NO. La síntesis de ADMA en el sistema CV se produce en el corazón, endotelio y células musculares lisas. ADMA y la dimetilarginina simétrica compiten entre sí y con L-arginina para entrar a la célula y de este modo la síntesis de NO disminuye. Las concentraciones plasmáticas de

ADMA están aumentadas durante la insuficiencia renal, asociadas a la disfunción endotelial y a una reducida producción de NO. Así, actualmente se considera a ADMA uno de los marcadores importantes de aterosclerosis¹³.

Microalbuminuria (MA) y disfunción endotelial. Ha sido demostrado que la albuminuria es un potente marcador independiente de riesgo CV tanto en personas diabéticas como no diabéticas. Similar a la VFG, el nexo entre albuminuria y eventos CV adversos se reconoció inicialmente en situaciones de macroalbuminuria (albuminuria >200 mg/L) y con posterioridad en condiciones de MA (20-200 mg/L). Más recientemente se reconoce que el riesgo CV se inicia incluso con niveles inferiores a 20 mg/L, y se ha establecido que la presencia de albuminuria es un factor de riesgo CV continuo¹⁴. Incluso conceptualmente se ha propuesto que el término MA estaría obsoleto y debería utilizarse el concepto de albuminuria y proteinuria. La albuminuria (<200 mg/L) es un componente del síndrome metabólico y representa un marcador de riesgo aumentado de enfermedad renal y CV asociado con la resistencia a la insulina y la disfunción endotelial. La proteinuria en cambio (>0,5 g/24 h) es un signo de daño renal establecido y desempeña un rol patogénico directo en la progresión de la enfermedad renal y en el aumento de riesgo CV¹⁵. Estudios epidemiológicos prospectivos han encontrado que la MA es un factor predictivo de todo evento y mortalidad CV, independientemente de los factores de riesgo tradicional, en pacientes con diabetes, hipertensión y en la población general¹⁶. La albuminuria reflejaría la disfunción del endotelio glomerular y sería un marcador urinario de riesgo CV.

CALCIFICACIÓN VASCULAR

La calcificación vascular es común en la ERC y se asocia a una mayor morbilidad y mortalidad. Aunque la calcificación puede ocurrir en la íntima arterial, adyacente a una placa y en la capa media, no está claro si estas formas de calcificación son idénticas, o si ellas obedecen a diferentes factores con un mecanismo patogénico común¹⁷.

Diversos estudios han revelado que hay una mayor prevalencia de placas ateroscleróticas en arterias coronarias de pacientes con ERC en compara-

ción con sujetos sin ERC¹⁸. En un estudio de pacientes que fallecieron por causa cardíaca, las lesiones de placa coronaria fueron categorizadas según clasificación de Stary¹⁹, observándose que las placas coronarias de los sujetos con ERC eran predominantemente tipo VII (intensamente calcificadas), en una magnitud 4 veces superior a lo encontrado en los pacientes sin ERC²⁰. Mönckeberg describió la presencia, en arterias periféricas, de una calcificación vascular que ocurría en la túnica media vascular, generalmente en la lámina elástica interna y que no se asociaba a macrófagos cargados de lípidos o hiperplasia intimal^{21,22}. Este tipo de calcificación y la que ocurre en la placa aterosclerótica son muy comunes en la ERC avanzada y pueden coexistir en un mismo vaso²³. Nuevas técnicas como tomografía computada de emisión de electrones (EBCT) o tomografía multicorte (MSCT) han permitido cuantificar las calcificaciones coronarias²⁴. Sin embargo, ellas no permiten diferenciar si la calcificación observada es debida a una placa aterosclerótica calcificada o a una calcificación de la media. Más aún, a diferencia de las arterias elásticas periféricas, las arterias coronarias no presentarían calcificación de la media^{20,25}. Se reconoce por lo tanto que hay una marcada heterogeneidad entre los diferentes territorios vasculares y hay que tener cautela al extrapolar los resultados observados en vasos periféricos a las arterias coronarias.

Actualmente se considera que la calcificación coronaria es un predictor importante de estenosis coronaria y eventos cardiovasculares en población sin ERC²⁶. Sin embargo, esto aún no ha sido demostrado para la población en diálisis²⁷, aunque su prevalencia es muy significativa, aun en menores de 30 años²⁸.

En cambio, la calcificación aórtica es un predictor independiente de morbimortalidad CV²⁹⁻³¹. Los cambios en las propiedades biofísicas vasculares, derivados de la calcificación de la media, determinan una reducción en la distensibilidad aórtica, aumento de la postcarga miocárdica e hipertrofia ventricular izquierda, alteraciones que confieren un alto riesgo de mortalidad^{32,33}.

Mecanismos de la calcificación vascular en enfermedad renal crónica. La presencia de calcificaciones vasculares se asocia estrechamente a los trastornos del metabolismo mineral y óseo que se observa en el paciente con ERC. Moe et al observaron la expresión de proteínas involucradas en la mineralización ósea en la arteria epigástrica de pacientes

urémicos³⁴. Además observaron células positivas para Cbfa-1 (*core binding factor-1*) presente en células de estirpe osteoblástica. Así, hoy se reconoce que la calcificación observada en la aorta y arterias periféricas no es el simple producto de un depósito pasivo de calcio y fósforo derivado de una severa alteración metabólica persistente en el tiempo, sino que es un proceso activo, cuyo eje central es la transdiferenciación celular en la pared vascular hacia células con fenotipo osteogénico que expresan productos propios de la mineralización ósea.

El origen de las células responsables de la mineralización en la pared vascular es aún desconocido, aunque las evidencias experimentales señalan a la célula muscular lisa vascular (CMLV). Los osteoblastos y CMLV son células diferenciadas a partir de una misma célula mesenquimal pluripotencial. En el hueso, las células madres mesenquimales se diferencian a osteoblastos bajo la acción de factores de diferenciación como el BMP-2, que también se expresa en la pared de la arteria calcificada³⁵.

La hiperfosfemia también ha sido ligada a un riesgo aumentado e independiente de mortalidad CV en pacientes en diálisis³⁶. El fósforo actúa directamente sobre CMLV, induciendo la expresión de proteínas relacionadas con osteogénesis³⁷.

Sólo recientemente se ha establecido que existen inhibidores locales y circulantes de la calcificación de la pared vascular (Tabla 3). Una de las proteínas que juegan un rol importante en la prevención de las calcificaciones vasculares es la proteína GLA de matrix (MGP). Esta proteína es dependiente de

Tabla 3. Inhibidores y promotores de la calcificación vascular

Inhibidores	Promotores
MPG	↑ P y Ca x P
Fetulina-A	BMP-2/4
OPG	Leptina
OPN	Vitamina D
BMP-7	↑ RL
PPi	Ang II
Gremlin ?	Gremlin ?

MPG: matrix Gla Protein; OPG: osteoprotegerina; BMP: bone morphogenetic protein; OPN: osteopontina; PPi: pirofosfato; RL: radicales libres.

vitamina K y dispone de radicales carboxílicos. El ratón deficiente para MGP desarrolla calcificaciones en todo el árbol vascular³⁸. La administración de warfarina a ratas normales produjo una calcificación de arterias similar, lo que sugiere que la warfarina induce calcificación arterial por inhibir la γ -carboxilación del MGP. Una de las funciones principales de MGP es desactivar BMP-2 (proteínas morfogenéticas del hueso) y evitar que actúe en la pared del vaso como factor diferenciador de células de estirpe osteoblástica. La osteopontina también se expresa en abundancia en las zonas vasculares con calcificación e inhibe la cristalización de hidroxapatita *in vitro* y la calcificación en CMLV en cultivo³⁹. Otras proteínas involucradas como inhibidores endógenos de la calcificación vascular son fetuina-A y osteoprotegerina. Ratones *knockout* para fetuina-A se caracterizan por una masiva calcificación tisular⁴⁰. La fetuina-A es una proteína circulante que inhibe la formación de hidroxapatita, se sintetiza en el hígado y constituye la mayor parte de la banda α -2 de la electroforesis de proteínas. La inhibición de fosfato cálcico básico es efectuada por la formación transitoria de esferas coloidales que contienen fetuina, calcio y fosfato, denominadas calciproteínas y es el principal componente de una masa compleja de alto peso molecular que contiene Ca, P y MGP^{41,42}. La fetuina-A es regulada como un reactante negativo de fase aguda. Los niveles séricos de fetuina-A se encuentran disminuidos en pacientes en hemodiálisis crónica y los niveles bajos se correlacionan inversamente con elevación de los niveles de proteína C reactiva y con mortalidad cardiovascular⁴³. La osteoprotegerina (OPG), es otro inhibidor de calcificación, que regula la activación osteoclástica y su déficit en ratones provoca calcificación vascular, aunque sus mecanismos no han sido del todo dilucidados⁴⁴. Por otra parte, una concentración elevada de pirofosfato (PPi) previene la formación de cristales de hidroxapatita y calcificación. Los ratones que carecen de la enzima pirofosfatasa fosfo-diesterasa-1 desarrollan un fenotipo alterado de la CMLV y calcificación vascular⁴⁵. Un déficit de PPi puede ocurrir en ERC terminal por remoción de PPi durante hemodiálisis⁴⁶.

Genes del desarrollo temprano y calcificación vascular. Las proteínas morfogenéticas del hueso (BMPs), llamadas así por sus propiedades osteoinductoras, fueron originalmente identificadas como proteínas que inducen formación ósea en sitios

extraesqueléticos⁴⁷. De las diferentes BMPs, BMP-2 o BMP-4 pueden inducir diferenciación osteogénica de la CMLV a través de la inducción de factores de transcripción Cbfa1, osterix y MSX-2. Además BMP-2/BMP-4 contribuyen a la calcificación vascular al gatillar apoptosis de CMLV e inhibir el efecto de MGP. Se ha planteado que el evento inicial en la calcificación vascular observada en uremia es la expresión de BMP-2, que gatillaría la transdiferenciación de la CMLV a célula similar a osteoblasto. Por otra parte, se ha establecido que BMP-7 inhibe la calcificación vascular. BMP-7 se expresa ampliamente durante el período de crecimiento embrionario normal y es un morfógeno esencial para el desarrollo renal, esquelético y ocular. En el riñón adulto, BMP-7 es expresada en el túbulo colector distal, donde mantiene la diferenciación fenotípica de las células tubulares. En ERC la expresión de BMP-7 se encuentra significativamente disminuida y se ha postulado que la insuficiencia renal es un estado de deficiencia crónica de BMP-7. En la pared vascular, BMP-7 también podría jugar un rol en la mantención de la diferenciación de CMLV y en la prevención de su transdiferenciación hacia un fenotipo osteoblástico. Se ha comunicado que en animales urémicos la administración exógena de BMP-7 fue efectiva en reducir la magnitud de calcificación vascular⁴⁸. En consecuencia, al contrario del rol de BMP-2 en el inicio del proceso de calcificación vascular, es posible que BMP-7 sea capaz de prevenir la transdiferenciación de CMLV hacia células de tipo osteoblástico y de esta manera actúe atenuando la calcificación vascular en pacientes con ERC.

Las BMPs, al igual que otros factores de crecimiento, son reguladas por grupos de polipéptidos que antagonizan su acción. Entre estos antagonistas se incluyen *noggin*, *follistatin*, y *gremlin*⁴⁹. Recientemente hemos identificado un aumento en la expresión de *gremlin* en nefropatía diabética humana y experimental, que se ha correlacionado con la magnitud de la fibrosis túbulo intersticial, sugiriendo que este antagonista de BMP-7, puede participar en la transición epitelio mesenquimal (TEM) de células epiteliales tubulares en células fibroblásticas. Estudios en desarrollo, en cultivo de células tubulares humanas, han confirmado que *gremlin* participa en la TEM⁵⁰⁻⁵³. De esta forma, existen evidencias que

en ERC, además de existir menor expresión de BMP-7, el aumento de *gremlin*, pueda contribuir a la disminución de su bioactividad. Por otra parte, se ha comunicado recientemente que *gremlin* se expresa constitutivamente en CMLV⁵⁴. A este respecto, trabajos recientes de nuestro grupo identificaron la sobreexpresión de *gremlin* en la túnica media de arterias de pacientes urémicos y también en modelo de calcificación vascular de ratas urémicas tratadas con calcitriol, observándose una correlación significativa entre calcificación y expresión de *gremlin* (Figuras 2 y 3). Nuevos trabajos deben establecer si la sobreexpresión de *gremlin* en las arterias está contribuyendo al aumento del depósito mineral en la túnica media al bloquear los efectos beneficiosos de BMP-7 o, por el contrario, tiene un efecto favorable al bloquear BMP-2 y, por ende, las señales de cascada que promueven la calcificación vascular.

En resumen, en la ERC existen diversas condiciones que facilitan la calcificación vascular al iniciar el proceso de transformación de CMLV a células condrocíticas u osteoblásticas, incluyendo la hiperfosfemia, la uremia, la hiperglicemia y otros metabolitos. Este proceso puede acelerarse en el contexto de un alto producto calcio fósforo o un remodelado óseo anormal, incrementando el riesgo de la calcificación vascular en pacientes en diálisis. Además la deficiencia de algunos inhibidores circulantes de calcificación o la producción local de otros, puede modular la calcificación vascular.

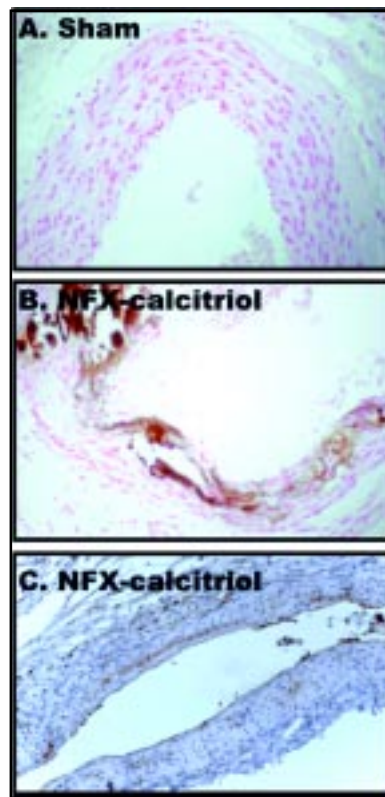


Figura 2. Desarrollo de calcificación de la túnica media aórtica y expresión de *gremlin* en ratas urémicas. A- tinción de von Kossa negativa en aorta de rata con operación ficticia (sham) (40x). B- tinción de von Kossa positiva revelando extensa calcificación en la túnica media de la aorta de rata con nefrectomía 5/6 (NFX) tratada con calcitriol (80 ng/kg tres veces por semana, por 4 semanas) intraperitoneal. C- inmunohistoquímica para *gremlin* en aorta de rata con NFX tratada con calcitriol ip muestra intensa expresión en túnica media que se correlaciona con magnitud de calcificación.

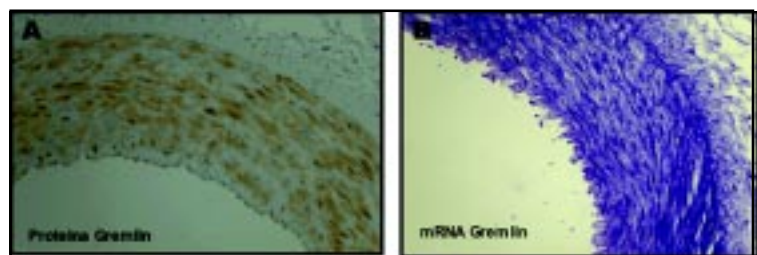


Figura 3. Expresión de proteína y mRNA para *gremlin* en vasos de pacientes dializados sometidos a trasplante renal. A- inmunohistoquímica para *gremlin* muestra intensa expresión para *gremlin* en la túnica media vascular y en la íntima. B- hibridación *in situ* revela extensa expresión de mRNA para *gremlin* en toda la túnica media vascular.

REFERENCIAS

1. MEZZANO S, AROS C. Enfermedad renal Crónica: clasificación, mecanismos de progresión y estrategias de renoprotección. *Rev Méd Chile* 2005; 133: 338-48.
2. LEVEY AS, ATKINS R, CORESH J, COHEN EP, COLLINS AJ, ECKARDT K-U ET AL. Chronic kidney disease as a global public health problem: approaches and initiatives, a position statement from Kidney Disease Improving Global Outcomes. *Kidney Int* 2007; 72: 247-59.
3. FOLEY RN, PARFREY PS, SARNAK MI. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal failure. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: S112-S119.
4. KEITH DS, NICHOLS GA, GULLION CM, BROWN JB, SMITH DH. Longitudinal Follow-up and Outcomes Among a Population With Chronic Kidney Disease in a Large Managed Care Organization. *Arch Intern Med* 2004; 164: 659-63.
5. ADLER AI, STEVENS RJ, MANLEY SE, BILLOUS RW, CULL CA, HOLMAN RR ON BEHALF OF THE UKPDS GROUP. Development and progression of nephropathy in type 2 diabetes: The United Kingdom Prospective Diabetes Study (UKPDS 64). *Kidney Int* 2003; 63: 225-32.
6. GO AS, CHERTOW GM, FAN D, Mc CULLOCK CE, HSU CY. Chronic kidney disease and the risk of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004; 351: 1296-305.
7. RUILOPE LM, SALVETTI A, JAMERSON K, HANSON L, WARNOLD I, WEDEL H ET AL. Renal function and intensive lowering of blood pressure in hypertensive participants of the Hypertension Optimal Treatment (HOT) Study. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 218-25.
8. MANN JFE, GERSTEIN HC, POGUE J, BOSCH J, YUSUFF S. Renal insufficiency as a predictor of cardiovascular outcomes and the impact of ramipril: The HOPE randomized trial. *Ann Intern Med* 2001; 134: 629-36.
9. FOLEY RN, PARFREY PS, HARNETT JD. Clinical and echocardiographic disease in patients strating end-stage renal disease therapy. *Kidney Int* 1995; 47: 186-93.
10. ROSS R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N Engl J Med* 1999; 340: 115-26.
11. SACHSE A, WOLF G. Angiotensin II induced reactive oxygen species and the kidney. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 2439-46.
12. SCHLEICHER E, FRIESS U. Oxidative stress, AGE, and atherosclerosis. *Kidney Int* 2007; 72: S17-S26.
13. ZOCCALI C, BODE-BOGER SM, MALLAMACI F. Plasma concentration of asymmetrical dimethylarginine and mortality in patients with end-stage renal disease: a prospective study. *Lancet* 2001; 358: 2113-83.
14. HILLEGE HL, FIDLER V, DIERCKS GFH, VAN GILST WH, DE ZEEUW D, VAN VELDHUISEN DJ ET AL. Urinary albumin excretion predicts cardiovascular and noncardiovascular mortality in general population. *Circulation* 2002; 106: 1777-82.
15. RUGGENENTI P, REMUZZI G. Time to abandon microalbuminuria ? *Kidney Int* 2006; 70: 1214-22.
16. WEIR M. Microalbuminuria and cardiovascular disease. *Clin Am Soc Nephrol* 2007; 2: 581-90.
17. MOE SM, CHEN NX. Mechanisms of vascular calcification in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol* 2008; 19: 213-6.
18. ANSARI A, KAUPKE CJ, VAZIRI ND, MILLER R, BARBARI A. Cardiac pathology in patients with end-stage renal disease maintained on hemodialysis. *Int J Artif Organs* 1993; 16: 31-6.
19. STARY HC. Composition and classification of human atherosclerotic lesions. *Virchows Archiv A Pathol Anat* 1992; 421: 277-90.
20. SCHWARZ U, BUZZELLO M, RITZ E, STEIN G, RAABE G, WIEST G ET AL. Morphology of coronary atherosclerotic lesions in patients with end-stage renal failure. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 218-23.
21. MONCKEBERG JG. UEBER die reine Mediaverkalkung der Extremitaetenarterien und ihr Verhalten zur Arteriosklerose. *Virchows Arch Pathol Anat* 1903; 171: 141-67.
22. MICHELETTI RG, FISBEIN GA, CURRIER JS, FISBEIN MC, MONCKEBERG JG. Sclerosis revisited: A clarification of the histologic definition of Mönckeberg sclerosis. *Arch Pathol Lab Med* 2008; 132: 43-7.
23. IBELS LS, ALFREY AC, HUFFER WE, CRASWELL PW, ANDERSON JT, WEILL R. Arterial calcification and pathology in uremic patients undergoing dialysis. *Am J Med* 1979; 66:790-6.
24. KRAMER CM, BUDOFF MJ, FAYAD ZA, FERRARI VA, GOLDMAN C, LESSER JR ET AL. American College of Cardiology Foundation; American Heart Association; American College of Physicians Task Force on Clinical Competence and Training. ACCF/AHA 2007 clinical competence statement on vascular imaging with computed tomography and magnetic resonance. A report of the American College of Cardiology Foundation/American Heart Association/American College of Physicians Task Force on Clinical Competence and Training. *J Am Coll Cardiol* 2007; 50: 1097-114.
25. FABER A. Die Arteriosklerose. In: Aschoff L, et al, eds. *Pathologische Anatomie; ein lehrbuch für studierende und ärzte*. Jena, Germany: G. Fischer; 1912: 49-56.
26. DETRANO R, GIERCI AD, CARR JJ, BILD E, BURKE G, FOLSOM AR, ET AL. Coronary calcium as a predictor of coronary events in four racial or ethnic groups. *N Engl J Med* 2008; 358: 1336-45.
27. SHARPLES EJ, PEREIRA D, SUMMERS S, CUNNINGHAM J, RUBENS M, GOLDSMITH D ET AL. Coronary artery calcification measured with electron-beam computerized tomography correlates poorly with coronary artery angiography in dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2004, 43: 313-9.
28. GOODMAN WG, GOLDIN J, KUIZON BD, YOON C, GALES B, SIDER D ET AL. Coronary-artery calcification in young adults with end-stage renal disease who are undergoing dialysis. *N Engl J Med* 2000; 342: 1478-83.

29. SCHIFFRIN EL, LIPMAN ML, MANN JFE. Chronic kidney diseases: Effects on the cardiovascular system. *Circulation* 2007; 116: 85-97.
30. WITTEMAN JC, KOK FJ, VAN SAASE JL, VALKENBURG HA. Aortic calcification as a predictor of cardiovascular mortality. *Lancet* 1986; 2: 1120-2.
31. WILSON PW, KAUPPILA LI, O'DONNELL CJ, KIEL DP, HANNAN M, POLAK JM ET AL. Abdominal aortic calcific deposits are an important predictor of vascular morbidity and mortality. *Circulation* 2001; 103: 1529-34.
32. GUERIN AP, LONDON GM, MARCHAIS S, METIVIER F. Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 1014-21.
33. BLACHER J, GUERIN AP, PANNIER B, MARCHAIS SJ, LONDON GM. Arterial calcifications, arterial stiffness, and cardiovascular risk in end-stage renal disease. *Hypertension* 2001; 38: 938-42.
34. MOE S, O'NEILL K, DUAN D, AHMED S, CHEN NX, LEAPMAN SB ET AL. Medial artery calcification in ESRD patients is associated with deposition of bone matrix proteins. *Kidney Int* 2002; 61: 638-47.
35. SHAO JS, TOWLER DA. Molecular mechanism of vascular calcification: Lessons learned from the aorta. *Arterioscl Thromb Vasc Biol* 2006; 26: 1423-30.
36. BLOCK GA, HULBERT-SHEARON TE, LEVIN NW, PORT FK. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: A national survey. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 607-17.
37. 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-E17.
38. LUO G, DUCY P, MCKEE MD, PINERO GJ, LOYER E, BERHINGER RR ET AL. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature* 1997; 386: 78-81.
39. JONO S, PEINADO C, GIACHELLI CM. Phosphorylation of osteopontin is required for inhibition of vascular smooth muscle cell calcification. *J Biol Chem* 2000; 275: 20197-203.
40. SCHAFER C, HEISS A, SCHWARZ A ET AL. The serum protein α -2-Heremans-Schmid glycoprotein/fetuin-A is a systemically acting inhibitor of ectopic calcification. *J Clin Invest* 2003; 112: 357-66.
41. HEISS A, DUC CHESNE A, DENECKE B ET AL. Structural basis of calcification inhibition by α -2-HS glycoprotein/fetuin-A: Formation of colloidal calciprotein particles. *J Biol Chem* 2003; 278: 13333-41.
42. PRICE PA, THOMAS GR, PARDINI AW, FIGUERIRA WF, CAPUTO JM, WILLIAMSON MK. Discovery of a high molecular weight complex of calcium, phosphate, fetuin, and matrix gamma-carboxyglutamic acid protein in the serum of etidronate-treated rats. *J Biol Chem* 2002; 277: 3926-34.
43. KETTELER M, BOGARTZ P, WESTENFELD R, WILDBERGER JE, MAHNKEN AH, BOHM R ET AL. Association of low fetuin (Ahsg) concentrations in serum with cardiovascular mortality in patients and dialysis: a cross-sectional study. *Lancet* 2003; 361: 827-33.
44. BUCAY N, SAROSI I, DUNSTAN CR, MORONY S, TARPLEY J, CAPPARELLI C ET AL. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998; 12: 1260-8.
45. JOHNSON K, POLEWSKI M, VAN ETTEN D, TERRKETAUB R. Chondrogenesis mediated by Ppi depletion promotes spontaneous aortic calcification in NPP1 $-/-$ mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2005; 25: 686-91.
46. LOMASHVILI KA, KHAWNDI W, O'NEILL WC. Reduced plasma pyrophosphate levels in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2495-500.
47. CANALIS E, ECONOMICES AN, GAZZERRO E. Bone morphogenetic proteins, their antagonists, and the skeleton. *Endocrine Reviews* 2003; 24: 218-35.
48. DAVIES MR, LUND RJ, HRUSKA KA. BMP-7 is an efficacious treatment of vascular calcification in a murine model of atherosclerosis and chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 1559-67.
49. TOPOL L, BARDOT B, ZHANG Q, RESAU J, HUIILLARD E, MARX M ET AL. Biosynthesis, post-translation modification, and functional characterization of Dnm/Gremlin. *J Biol Chem* 2000; 275: 8785-93.
50. DOLAN V, MURPHY M, SADLER D, LAPPIN D, DORAN P, GODSON C ET AL. Expression of gremlin, a bone morphogenetic antagonist, in human diabetic nephropathy. *Am J Kidney Dis* 2005; 45: 1034-9.
51. MEZZANO S, DROGUETT A, BURGOS ME, AROS C, ARDILES L, FLORES C ET AL. Expression of gremlin, a bone morphogenetic protein antagonist, in glomerular crescents of pauci-immune glomerulonephritis. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22: 1882-90.
52. WALSH DW, ROXBURGH SA, MCGETTIGAN PL, BERTHIER CC, HIGGINS DG, KRETZLER M ET AL. «Co-regulation of Gremlin and Notch signalling in diabetic nephropathy». *Biochim Biophys Acta* 2008; 1782: 10-21.
53. CARVAJAL G, DROGUETT A, BURGOS ME, AROS C, ARDILES L, FLORES C, ET AL. Gremlin: A Novel Mediator of Epithelial Mesenchymal Transition and Fibrosis in Chronic Allograft Nephropathy. *Transplant Proc* 2008; 40: 734-9.
54. MACIEL TT, MELO RS, SCHOR N, CAMPOS AH. Gremlin promotes vascular smooth muscle cell proliferation and migration. *J Mol Cell Cardiol* 2008; 44: 370-9.