



Universidad  
de Alcalá

**FACULTAD DE MEDICINA  
DEPARTAMENTO DE MEDICINA**

**Valor pronóstico de las calcificaciones coronarias, estudiadas  
mediante tomografía computarizada multicorte, en la  
población urémica**

**TESIS DOCTORAL**

**HANANE BOUARICH**

**2010**

---

## **AGRADECIMIENTOS**

A la Dra. Patricia de Sequera Ortiz y al Dr. Diego Rodríguez Puyol, directores de esta tesis, por su dedicación, docencia y paciencia, por ser los promotores de este proyecto y por su gran ayuda tanto en su diseño como en su seguimiento; pero sobre todo, por su amistad y aprecio y por su gran calidad humana.

Al Dr. Ignacio Arribas, director de la unidad de investigación biomédica del hospital, por la colaboración en el diseño del proyecto, por la ayuda inestimable en el análisis estadístico de los resultados, por su disponibilidad, amabilidad y cercanía.

A la Dra Concepción Álvarez Sanz, radiólogo del Hospital, por el tiempo dedicado a la realización y lectura de los TAC coronarios, por su disponibilidad y sus consejos.

A la Dra Susana López Ongil, de la Unidad de Investigación Biomédica del Hospital, por su inestimable colaboración en el proyecto, por el tiempo invertido, por su disponibilidad y sus valiosos consejos.

Al Dr. Gabriel De Arriba y a la Dra. Marta Sánchez Heras, nefrólogos del Hospital General de Guadalajara, por su apoyo incondicional y su inestimable colaboración en el reclutamiento de pacientes para el estudio.

A la Dra. Elda Besada, nefrólogo, por su colaboración en el proyecto, por su cercanía y su apoyo incondicional.

A todo el personal de enfermería de la Unidad de Diálisis y de la Consulta Externa de Nefrología del Hospital Universitario Príncipe de Asturias (HUPA), especialmente a Lola y a María Jesús, cuya entrega al trabajo y generosa colaboración han sido imprescindibles en la realización de este trabajo.

A todos mis compañeros del servicio, médicos adjuntos y residentes, por su colaboración en el proyecto, por su apoyo y sus consejos.

A todos los pacientes que desinteresadamente participaron en este estudio.

A mi familia y amigos, por su cariño y su apoyo en todo momento.



*A mis Padres*

---

Los datos reflejados en esta tesis son el fruto del trabajo en equipo que durante 4 años hemos llevado a cabo miembros de los Servicios de Nefrología, Radiología, Análisis Clínicos y Unidad de Investigación Biomédica del Hospital Universitario Príncipe de Asturias y miembros del Servicio de Nefrología del Hospital General de Guadalajara, y han servido de base para las siguientes comunicaciones a congresos:

- 2005. Calcificaciones coronarias diagnosticadas por TAC helicoidal multicorte en pacientes en hemodiálisis. Bouarich H, Alvarez C, Arribas I, Fraile E, Rodríguez D, De Sequera P. Presentado en la I Reunión de la Sociedad Madrileña de Nefrología. Aranjuez. 27-28 de mayo del 2005.
- 2005. Calcificaciones coronarias diagnosticadas por TAC helicoidal multicorte en pacientes en hemodiálisis. Bouarich H, Alvarez C, Arribas I, Fraile E, Rodríguez D, De Sequera P. Presentado en el congreso Nacional de la Sociedad Española de Nefrología. Málaga. 9 -12 de Octubre del 2005.
- 2006. Quantification of coronary artery calcification with multi-detector spiral CT (MDCT) in hemodialysis patients. Alvarez C, Diez I, Bouarich H, De Sequera P, Fraile E. Presentado en el congreso de “European Society of Radiology”, celebrado los días del 3 al 7 de Marzo de 2006, en Viena.
- 2006. Cuantificación de las calcificaciones coronarias con TC multicorte en pacientes en hemodiálisis. Alvarez C, Bouarich H, Arribas I, Fraile E, Rodríguez D, De Sequera P. Presentado en el “XXVIII Congreso Nacional de la SERAM” y el “XXIII Congreso Interamericano de Radiología CIR”. Zaragoza del 26 al 29 de Mayo de 2006.
- 2006. ¿Puede el ácido úrico favorecer las calcificaciones coronarias? Bouarich H, Alvarez C, Ruano P, Martinez P, Arribas I, Fraile E, Rodríguez D, De Sequera P. Presentado en la II reunión de la Sociedad Madrileña de Nefrología. Toledo del 2 y 3 de junio de 2006.
- 2006. ¿Puede el ácido úrico favorecer las calcificaciones coronarias? Bouarich H, Alvarez C, Ruano P, Martinez P, Arribas I, Fraile E, Rodríguez D, De Sequera P. Presentado en el el V Congreso Iberoamericano de Nefrología y XXXVI Congreso Nacional de la S.E.N. Madrid del 18 al 21 de octubre de 2006.
- 2008. ¿Predicen las calcificaciones coronarias la mortalidad cardiovascular en pacientes con ERC? Bouarich H, Alvarez C, Espinel L, Besada M, Sanchez M, Arribas I, Rodríguez D, De Sequera P. Presentado en la IV Reunión de la Sociedad Madrileña de Nefrología, celebrada en Madrid los días 6 y 7 de Junio de 2008.
- 2009. ¿Predicen las calcificaciones coronarias la mortalidad cardiovascular en pacientes con ERC? Bouarich H, Alvarez C, López C, Besada L, Sanchez M, Arribas I, Rodríguez D, De Sequera P. Presentado en el “The V International Symposium: Advances in Bone and Disorders in CKD”, celebrado en Oviedo los días 19 y 20 de Marzo de 2009.

---

# RESUMEN EN INGLÉS

---

**BACKGROUND:** Patients with chronic kidney disease (CKD) have a high mortality, and cardiovascular disease is the leading cause of death. In these patients, coronary calcifications are more prevalent and extensives.

**OBJECTIVES:** The main objective is to analyse the predictive value of the presence of coronary calcifications detected by multi-detector spiral computed tomography (CT) in the occurrence of cardiovascular events (CVE) and in the overall mortality in CKD patients, for a 2 years period. The main independent variable will be the coronary calcium score. The secondary objectives will be: to evaluate the prevalence and severity of coronary calcifications in CKD patients and to analyse the related factors with the development of these calcifications, in particular the expression of the transcription factor Cbfa-1. The independent variable will be the expression of this transcription factor in circulating nuclear cells.

**PATIENTS AND METHODS:** The design of this project has 4 well-defined parts: The patient selection and the patient follow-up, the radiological studies, the analytic studies and the analysis of results. Patients with CKD stages 4 and 5 from Madrid and Guadalajara who comply with inclusion criteria will be included.

**RESULTS:** 165 patients with CKD, stages 4 and 5, 111 in hemodialysis (HD) and 55 in predialysis (PD) were included. There was more males than females (90 ♂ and 76 ♀), diabetes prevalence was high (29 %), mean age was  $64 \pm 14$  years and length of stay in HD was 27 (10 - 97) months. Follow-up time was  $20 \pm 8$  months.

Coronary calcium score (CCS) was 815 (152 - 1869) in HD and 255 (14 -855) in PD. CCS correlated with age ( $p < 0.001$ ), tobacco ( $p 0.03$ ), albumin ( $p < 0.001$ ), triglycerides ( $p < 0.02$ ) and CRP ( $p < 0.02$ ). In the HD subgroup, BMI ( $r = 0.28$ ,  $p 0.01$ ) and diabetes ( $r = 0.66$ ,  $p < 0.009$ ) also have a positive correlation with CCS, while in PD subgroup, cholesterol correlated too with CCS ( $p < 0.03$ ).

We measured Cbfa-1 content in circulating mononuclear cells in 88 patients in HD ( $0.64 \pm 0.05$ ) and in 12 patients in PD ( $0.59 \pm 0.33$ ). The Cbfa-1 in PD subgroup was associated with uric acid ( $r = 0.73$ ,  $p 0.01$ ), tobacco ( $r = 0.95$ ,  $p 0.04$ ) and CCS in left coronary artery ( $r = 0.67$ ,  $p 0.01$ ) and posterior descending coronary artery ( $r = 0.76$ ,  $p 0.01$ ). In HD subgroup, only highest levels of Cbfa-1 were associated with albumin ( $p < 0.009$ ), length of stay on HD

---

( $p < 0.06$ ) and CCS in circumflex coronary artery ( $p < 0.05$ ) and right coronary artery ( $p < 0.04$ ).

During the follow-up period, CVE happened in 40 % and global mortality in 21 % (51% of this mortality could be attributed to CVE). The occurrence of cardiovascular mortality or CVE was associated with age ( $p < 0.001$ ), BMI ( $p < 0.03$ ), previous CVE ( $p < 0.001$ ), diabetes ( $p < 0.001$ ), sedentary lifestyle ( $p < 0.001$ ), albumin ( $p < 0.001$ ), CRP levels ( $p < 0.002$ ), and total CCS ( $p < 0.001$ ).

By Cox regression, CCS [HR 2.44 (1.39 – 4.28)] and CRP levels [HR 1.63 (0.97 – 2.75)] were independently associated with occurrence of cardiovascular mortality or CVE.

**CONCLUSIONS:** Coronary calcifications are very prevalent in our population and CCS are very severe, especially in HD patients. Age, tobacco, diabetes, BMI, albumin, triglycerides and CRP levels seem to influence the coronary calcification process. Coronary artery calcification could influence the appearance of new CVE and cardiovascular mortality in these patients. However, it will be necessary to estimate if the analysis of these calcifications is a better marker of cardiovascular risk than other methods used to study vascular calcifications.

We found a narrow correlation between Cbfa-1 and both CCS and uric acid levels in PD patients. Nevertheless, we do not know yet the real role of the circulating Cbfa-1 in the coronary calcification process.

---

# INDICE

<b>I. INTRODUCCIÓN</b> .....	<b>1</b>
1.- Impacto de la enfermedad cardiovascular sobre la morbi-mortalidad en la ERC.....	2
2.- La enfermedad renal como factor de riesgo cardiovascular .....	2
<b>3.- Patogenia de la arteriosclerosis acelerada en la ERC. ....</b>	<b>7</b>
3.1.- Prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular clásicos en la ERC.....	8
3.1.1.- Hipertensión arterial (HTA).....	8
3.1.2.- Tabaquismo .....	9
3.1.3.- Diabetes mellitus, resistencia a la insulina y síndrome metabólico.....	9
3.1.4.- Obesidad.....	10
3.1.5.- Dislipemia .....	11
3.2.- Factores de riesgo emergentes en la ERC .....	11
3.2.1.- El fenómeno inflamatorio.....	11
3.2.2.- Lipoproteína (Lp) (a).....	13
3.2.3.- Homocisteína.....	14
3.2.4.- Estrés oxidativo .....	15
3.2.5.- Fibrinógeno .....	16
3.3.- Otros factores emergentes de riesgo cardiovascular en la ERC.....	17
3.3.1.- Anemia .....	17
3.3.2.- Alteraciones del metabolismo mineral .....	18
3.4.- La disfunción endotelial .....	18
<b>4.- Calcificaciones vasculares.....</b>	<b>20</b>
4.1.- Calcificaciones vasculares en la ERC .....	20
4.2.- Patogenia de las calcificaciones vasculares en la ERC .....	21
4.3.- Diagnóstico de las calcificaciones vasculares .....	26
4.3.1.- Radiología convencional (Rx).....	27
4.3.2.- Ecografía .....	28
4.3.3.- Angiografía .....	28
4.3.4.- Tomografía computarizada por haz de electrones (EBCT).....	28
4.3.5.- TAC helicoidal de nueva generación con detector de hileras múltiples (multidetector), con ventana electrocardiográfica .....	30
<b>II. HIPÓTESIS.....</b>	<b>32</b>
1.- Fundamentos .....	33
2.- Hipótesis de trabajo .....	35
<b>III. OBJETIVOS.....</b>	<b>36</b>
1.- Objetivo principal: .....	37
2.- Objetivos secundarios:.....	37
<b>IV. MATERIAL Y MÉTODOS.....</b>	<b>38</b>
1.- Ámbito del estudio.....	39

---

<b>2.- Sujetos del estudio .....</b>	<b>39</b>
2.1.- Criterios de inclusión .....	39
2.2.- Criterios de exclusión.....	39
<b>3.- Metodología .....</b>	<b>40</b>
3.1.- Protocolo del estudio.....	40
3.2.- Diseño experimental.....	40
3.3.- Cálculo de tamaño muestral .....	40
3.4.- Variables de estudio .....	41
3.4.1.- Variables predictoras.....	41
3.4.2.- Variables resultado.....	45
<b>4. - Análisis estadístico .....</b>	<b>45</b>
4.1.- Variables .....	45
4.2.- Distribución de las variables .....	45
4.3.- Estadística descriptiva de las variables del estudio .....	45
4.4.- Contrastes de hipótesis .....	46
4.5.- Estudio de asociación entre variables cuantitativas.....	46
4.6.- Análisis de supervivencia.....	48
4.7.- Estudio de la cuantificación de la diferencia de efecto mediante regresión de Cox.....	48
4.8.- Otras consideraciones.....	48
<b>5.- Consideraciones éticas y financiación.....</b>	<b>49</b>
<b>V. RESULTADOS .....</b>	<b>50</b>
<b>1.- Resultados del proceso de inclusión de pacientes en el estudio .....</b>	<b>51</b>
<b>2.- Características basales de los pacientes incluidos en el estudio .....</b>	<b>52</b>
2.1.- Características demográficas y clínicas.....	52
2.2.- Variables analíticas .....	58
<b>3.- Calcificaciones de arterias coronarias (CAC) y factor de transcripción Cbfa-1 .....</b>	<b>60</b>
<b>4.- Factores relacionados con el desarrollo de CAC .....</b>	<b>62</b>
4.1.- Análisis de las distintas variables estudiadas en función del grado de calcificación coronaria.....	62
4.2.- Correlación estadística entre las distintas variables estudiadas y el grado de calcificación coronaria. ....	66
<b>5.- Factores relacionados con el contenido de Cbfa-1 en los monocitos circulantes y relación de este contenido con las calcificaciones coronarias .....</b>	<b>69</b>
5.1.- Análisis de las distintas variables estudiadas en función del contenido de Cbfa-1 en los monocitos .....	69
5.2.- Correlación entre las distintas variables estudiadas y el contenido de Cbfa-1 en los monocitos .....	70
5.3.- Cbfa-1 y grado de calcificación.....	71
<b>6.- Seguimiento y estudio de supervivencia .....</b>	<b>74</b>
6.1.- Seguimiento de pacientes .....	74
6.2.- Estudio de supervivencia.....	80
6.3.- Modelo de Cox.....	95
<b>VI. DISCUSIÓN .....</b>	<b>101</b>
<b>1.- Consideraciones metodológicas.....</b>	<b>102</b>
1.1.- Diseño experimental y características de la muestra .....	103
1.2.- Limitaciones del estudio.....	104

---

<b>2.- Prevalencia de las CAC y factores relacionados con su desarrollo.....</b>	<b>104</b>
2.1.- Prevalencia de CAC .....	104
2.2.- Factores relacionados con el desarrollo de CAC.....	105
2.3.- Cbfa-1 y desarrollo de CAC.....	109
<b>3. Predictores de morbi-mortalidad en pacientes con ERC.....</b>	<b>109</b>
3.1.- Factores asociados con mortalidad.....	110
3.2.- CAC y su relación con la mortalidad .....	112
3.3.- Cbfa-1 y mortalidad .....	113
<b>4.- Análisis del valor predictivo de las variables estudiadas en la aparición de mortalidad:.....</b>	<b>113</b>
<b>VII. SUMARIO.....</b>	<b>117</b>
<b>VIII. CONCLUSIONES.....</b>	<b>120</b>
<b>IX. BIBLIOGRAFIA.....</b>	<b>124</b>
<b>X. ANEXOS.....</b>	<b>140</b>
Anexo I. Hoja informativa para el paciente y consentimiento informado.....	141
Anexo II. Cuestionario de enfermedad renal crónica.....	144
Anexo III. Cuestionario de factores de riesgo cardiovascular.....	146
Anexo IV. Hoja de recogida de las variables medidas.....	148
Anexo V. Valores de referencia de las diferentes determinaciones analíticas.....	150
Anexo VI. Protocolo de aislamiento de las PBMC y de cuantificación de Cbfa-1.....	151
Anexo VII. Protocolo de cuantificación de calcio coronario mediante TCMC.....	153
Anexo VIII. Abreviaturas.....	155

# ***INTRODUCCIÓN***

## **1.- Impacto de la enfermedad cardiovascular sobre la morbi-mortalidad en la ERC.**

Los pacientes con enfermedad renal crónica (ERC) avanzada y diálisis fallecen por causa cardiovascular a edades más tempranas que la población normal (1-3). La mayoría de los registros de los pacientes en tratamiento renal sustitutivo coinciden en señalar que alrededor del 50% de los fallecimientos lo son por causa cardiovascular (4). La probabilidad de morir de complicaciones cardiovasculares en la población de diálisis en EE UU es entre 10 y 20 veces superior a la población general, tras ajustar por edad, raza y sexo, siendo el riesgo relativo respecto a la población general muy superior en los pacientes más jóvenes (5). El riesgo de muerte cardíaca en pacientes por debajo de 45 años llega a ser 100 veces superior al de la población general, reduciéndose estas diferencias con la edad (5).

Diferentes estudios sobre la patología cardiovascular han demostrado que sólo el 16% de los pacientes presentaban un ecocardiograma normal al inicio de la diálisis. Las lesiones encontradas van desde la hipertrofia ventricular izquierda (HVI), que es el hallazgo más común, a la disfunción sistólica y la dilatación del ventrículo izquierdo (6).

## **2.- La enfermedad renal como factor de riesgo cardiovascular**

Un hecho, que no se conocía previamente, es que alteraciones mínimas de la función renal, reflejadas por alteraciones del filtrado glomerular (FG) o la presencia de microalbuminuria, se relacionan con aumento del riesgo cardiovascular (RCV) (7,8). Estudios recientes (9) han puesto de manifiesto la relación que existe de forma independiente entre las reducciones del FG y el riesgo de muerte, la aparición de eventos cardiovasculares (ECV) y la necesidad de hospitalización.

Diferentes documentos de consenso como las guías K/DOQI de la National Kidney Foundation (10) y la American Heart Association (11) relacionan la ERC y RCV.

Asimismo, guías recientes sobre el manejo y el tratamiento de pacientes con hipertensión arterial (HTA) han incluido las manifestaciones precoces de la enfermedad renal entre los factores de riesgo cardiovascular (FRCV). El informe del 7th Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation and Treatment of High Blood Pressure, publicado en 2007, vuelve a incluir la microalbuminuria y la existencia de un FG < 60 ml/min como dos de los FRCV a tener en cuenta y como enfermedades de órgano diana de la HTA (12).

Algunos estudios poblacionales han comparado curvas actuariales de supervivencia cardiovascular con arreglo a diferentes rangos de FG, constatando que la insuficiencia renal se asocia a aumento de mortalidad cardiovascular (Estudio Hoorn) (13). El estudio "Atherosclerosis Risk in Communities Study (ARIC)" evaluó la morbimortalidad cardiovascular por accidente cerebrovascular (ACV), en relación con la existencia de insuficiencia renal. Los individuos con enfermedad renal presentaron un riesgo elevado de ictus, independientemente de otros factores predictores de enfermedad cerebrovascular, siendo este riesgo especialmente marcado en los casos con enfermedad renal y anemia (14). La mayoría de los ensayos clínicos sobre el tratamiento farmacológico de la HTA han analizado la relación entre función renal disminuida y morbimortalidad cardiovascular o por cualquier otra causa (MRFIT: Multiple Risk Factor Intervention Trial) (15). El estudio "Hypertension Optimal Treatment" (HOT), diseñado para evaluar el efecto en la morbimortalidad del control más o menos estricto de la presión arterial, asoció la presencia de insuficiencia renal a un riesgo relativo elevado de ECV (16). Los principales estudios que relacionan la función renal y ECV se exponen en la tabla 1 y en las figuras (1, 2 y 3). Un hecho a destacar, es que dado que los niveles de creatinina sérica no se correlacionan linealmente con el FG, se recomienda la utilización de ecuaciones predictivas (Cockcroft-Gault o MDRD), que tienen en cuenta la edad, el sexo y la masa corporal; como métodos más fidedignos de estimación del FG (17).

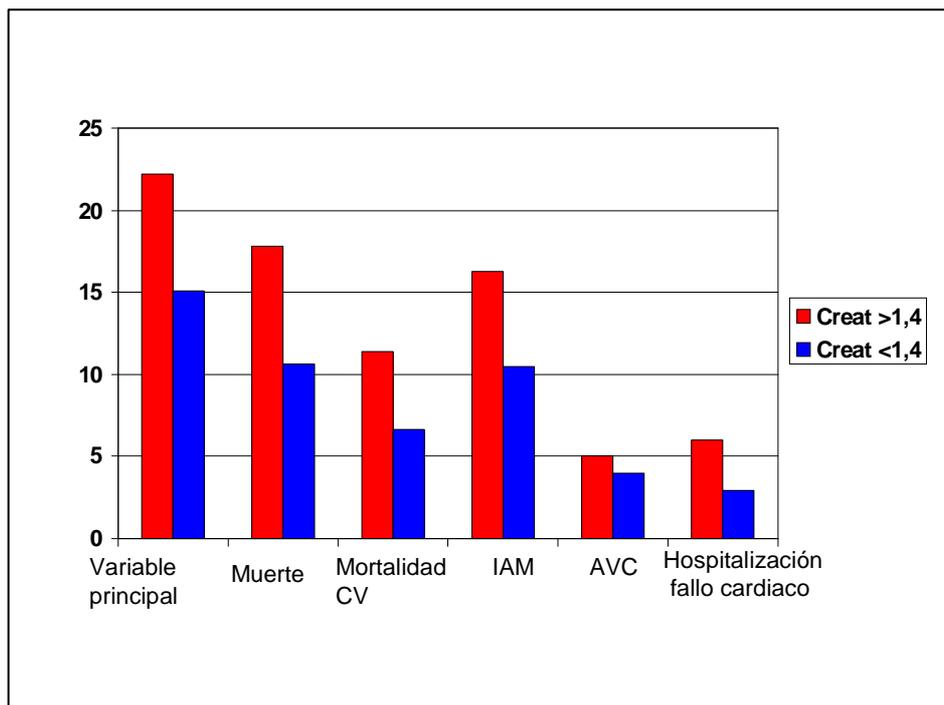


Figura 1.- Tomado de Mann JFE et al. ANN Int Med 2001; 134:629-36. Incidencia de mortalidad total y cardiovascular y morbilidad cardiovascular según los niveles de creatinina sérica (Cr). Se incluyeron 980 pacientes con  $Cr \geq 1.4$  mg/dl, excluyendo niveles por encima de 2.3 mg/dl y 8307 pacientes con función renal normal ( $Cr \leq 1.4$  mg/dl). La variable principal del estudio u objetivo primario es analizar la incidencia de muerte cardiovascular, infarto agudo de miocardio (IAM) o accidente cerebrovascular agudo (ACVA) en ambos grupos.

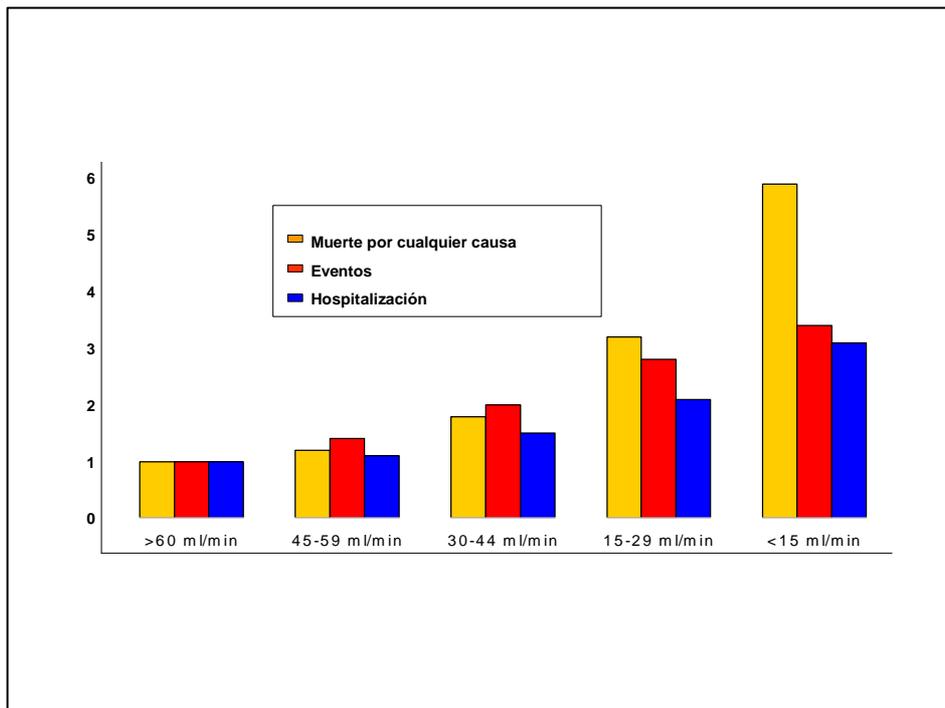


Figura 2.- Tomado de Go AS et al. N Engl J Med 2004; 351: 1296-305. Tasa de mortalidad ajustada, eventos cardiovasculares y hospitalización según el filtrado glomerular estimado. Se incluyeron 1.120.295 adultos, con edad media de 52 años y con una media de seguimiento de 2.84 años.

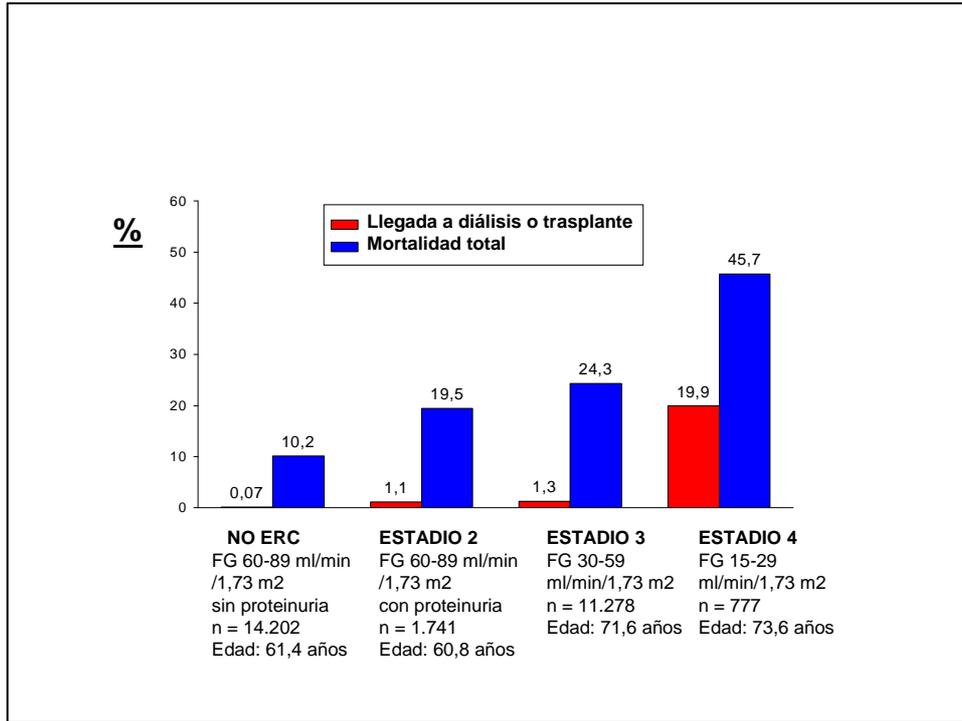


Figura 3.- Según Keith DS et al. Arch Intern Med 2004; 164: 659-63. Riesgo de mortalidad y de enfermedad renal crónica avanzada (ERCA) según el estadio de la ERC. Estudio observacional a 5 años en una población de 27.998 sujetos con  $FG < 90 \text{ ml/min/1.73 m}^2$ .

*Tabla 1.- Adaptado de M. Gorostidi. Nefrología. Vol 24. Sup 6. 2004. Principales estudios sobre la enfermedad renal como factor de riesgo cardiovascular y de muerte en la población general*

Primer autor, año, ref.	N	Características del estudio	Conclusiones principales
Flack JM, 1993	12.866	Datos del estudio MRFIT. 2 grupos de pacientes hipertensos, de raza caucásica y de raza negra.	Los cambios en los niveles de Creatinina a lo largo de los 6 años de seguimiento parece predecir la mortalidad cardiovascular y de cualquier otra causa en ambos grupos.
Hansson, 1998	19.193	Datos del estudio HOT. Estudio para evaluar la relación entre 3 niveles diana de presión arterial diastólica ( $\leq 80$ , $\leq 85$ , $\leq 90$ ) y morbi-mortalidad cardiovascular en pacientes hipertensos entre 50 y 80 años.	Se asoció la presencia de insuficiencia renal a un riesgo relativo elevado de eventos cardiovasculares.
Fried, 1998	5.201	Datos del Cardiovascular Health Study sobre factores de riesgo en personas > de 65 años de edad	Riesgo aumentado de mortalidad total en las personas con creatinina > 1.2 mg/dl, independientemente de otros factores.
Culleton, 1999	6.233	Datos del estudio de Framingham. Insuficiencia renal ligera definida por creatinina 1.5-3 mg/dl en varones y 1.4-3 mg/dl en mujeres	Riesgo aumentado de mortalidad total y cardiovascular en varones pero no en mujeres.
Garg, 2002	2.352	Datos de la NHANES I. Insuficiencia renal moderada definida por creatinina de 1.34-1.95 mg/dl en varones y 1.14- 1.6 mg/dl en mujeres (correspondientes a FG estimado de 30-60 ml/min/1.73 m <sup>2</sup> )	Riesgo aumentado de mortalidad total y cardiovascular pero no independiente de factores de riesgo cardiovascular clásicos.
Muntner, 2002	6.534	Datos de la NHANES II. Comparación del pronóstico con FG estimado por MDRD de < 70 ml/min/1.73 m <sup>2</sup> y con FG $\geq$ 90 ml/min/1.73 m <sup>2</sup>	Riesgo aumentado de mortalidad total y cardiovascular independiente de otros factores
Henry, 2002	631	Datos del estudio Hoorn. Comparación del pronóstico relacionado con la función renal evaluada por creatinina, Ccr estimado por Cockcroft-Gault y FG estimado por fórmula abreviada del estudio MDRD	Riesgo aumentado de mortalidad total y cardiovascular detectable para cada aumento de 0.05 mg/dl en la creatinina y para cada descenso de 5 ml/min/1.73 m <sup>2</sup> en el FG o Ccr estimados.
Abramson, 2003	13.716	Datos del estudio ARIC. Comparación del riesgo de ictus según la función renal estimada por Ccr calculado por fórmula de Cockcroft-Gault.	Riesgo aumentado de ictus en los individuos con Ccr estimado < 60 ml/min independiente de otros factores y potenciado por la presencia de anemia.
Manjunath, 2003 Fried, 2003 Shlipak, 2004	5.201	Análisis posteriores del Cardiovascular Health Study sobre factores de riesgo en personas de edad > 65 años	Riesgo aumentado de mortalidad total y morbilidad cardiovascular detectable con cada descenso en 10 ml/min/1.73 m <sup>2</sup> en el FG estimado por MDRD.
Keith, 2004	27.998	Estudio sobre el pronóstico vital y renal de personas con un FG < 90 ml/min/1.73 m <sup>2</sup> estimado por MDRD.	Riesgo aumentado de mortalidad total en cada descenso en los estadios NKF de la enfermedad renal crónica, el pronóstico vital ligado a estos estadios es mucho más defavorable que el pronóstico renal.

### **3.- Patogenia de la arteriosclerosis acelerada en la ERC.**

Detrás de la mayor prevalencia de infarto de miocardio (IAM), ictus, insuficiencia cardíaca (IC) y mortalidad cardiovascular y de cualquier otra causa observada, en relación con alteraciones en la función renal, parece subyacer una progresión acelerada de la arteriosclerosis y la rigidez arterial (18), cuya severidad se correlaciona con la presencia de enfermedad coronaria (19).

Actualmente, se piensa que en la arteriosclerosis acelerada influyen varios mecanismos, entre los que destaca la mayor prevalencia de los FRCV tradicionales, los FRCV emergentes, así como factores propios de la uremia (anemia, alteraciones del metabolismo calcio-fósforo, hipervolemia, etc (Tabla 2). El nexo común de la mayoría de los factores de riesgo anteriormente citados es la inducción de una disfunción endotelial, que es un evento precoz y clave en el desarrollo de la arteriosclerosis (20).

Más recientemente, la elevada morbi-mortalidad de los pacientes urémicos se ha puesto en relación con las alteraciones del metabolismo mineral, y más concretamente con la presencia de calcificaciones vasculares (CV) (21). La presencia de este tipo de calcificaciones extraóseas es un fenómeno multifactorial, donde el estrés oxidativo local, la presencia de factores aterogénicos y el desequilibrio en el metabolismo calcio-fósforo contribuyen conjuntamente a las alteraciones estructurales del vaso (22), con el desarrollo de fenómenos isquémicos o tromboembólicos distales.

Tabla2. Factores de riesgo relevantes en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular en pacientes con ERC

<u>FRCV Tradicionales</u>	<u>FRCV Emergentes</u>
Edad	Albuminuria/Proteinuria
Sexo varón	Homocisteína
HTA	Lipoproteína (a) e isoformas de apo (a)
LDL-c elevado	Resistencia a la insulina
HDL-c bajo	Anemia
DM	Inflamación/Malnutrición
Tabaquismo	Factores trombogénicos
Sedentarismo	Alteraciones del sueño
Historia familiar de ECV	
HVI	
Menopausia	<u>FRCV ligados a la propia ERC</u>
	Alteraciones del metabolismo Ca-P
	Hiperactividad simpática
	Alteraciones electrolíticas
	Hipervolemia
	Uso de membranas de diálisis bioincompatibles

### 3.1.- Prevalencia de los factores de riesgo cardiovascular clásicos en la ERC

#### 3.1.1.- Hipertensión arterial (HTA)

La HTA puede ser causa y consecuencia de la ERC. Los pacientes con ERC tienen una alta prevalencia de HTA (60-100%) y mayor incidencia acumulada de otros factores de RCV clásicos, cuando se comparan con la población general. Incluso en fases tempranas, la enfermedad renal se asocia a un riesgo aumentado de mortalidad cardiovascular. El adecuado control de la PA, y sobre todo, la incorporación a la terapia el bloqueo farmacológico del sistema renina-angiotensina, con los inhibidores de la enzima convertidora de angiotensina (IECA), los antagonistas del receptor de la angiotensina II (ARAII), y los inhibidores de la Renina pueden no sólo disminuir este riesgo cardiovascular, sino también enlentecer, por otros mecanismos, la progresión de la ERC en nefropatías de diferentes orígenes (23-25).

La HTA en la población de diálisis se ha descrito como un factor de riesgo para desarrollar HVI, IC, enfermedad coronaria y arritmia (26). Sin embargo, el papel de la HTA

como predictor independiente de mortalidad en esta población es controvertido. En series de pacientes en hemodiálisis con bajo riesgo para desarrollar ECV, se ha descrito una relación directa entre cifras elevadas de PA y una menor supervivencia. Sin embargo, en los casos con alta prevalencia de ECV, la relación parece seguir una curva en forma de "U", de forma que tanto los pacientes marcadamente hipotensos como hipertensos presentan mayor mortalidad (27).

### 3.1.2.- Tabaquismo

El tabaquismo es un FRCV reconocido en la población general y un evidente predictor de aterosclerosis. La prevalencia del uso de tabaco en pacientes con ERC es similar a la de la población general. Sin embargo, en presencia de insuficiencia renal, el acumulo de nicotina es más elevado (28). El tabaquismo se ha implicado como FRCV en pacientes en diálisis desde hace años (29). Los datos recientes del "USRDS Wave 2 Study" indican que el tabaquismo se asocia con un mayor riesgo de desarrollo de IC *de novo*, IAM, vasculopatía periférica, y mortalidad en pacientes en diálisis (30). También se ha demostrado que se asocia con un mayor riesgo de progresión de enfermedad renal, especialmente de nefropatía diabética y de disfunción crónica del injerto (31). Los mecanismos potenciales por los que el tabaquismo favorecería la progresión de la enfermedad renal serían: la activación simpática, el aumento de citoquinas como el factor de crecimiento transformante  $\beta$  (TGF- $\beta$ ) o la endotelina-1 y el aumento del estrés oxidativo.

### 3.1.3.- Diabetes mellitus, resistencia a la insulina y síndrome metabólico

La diabetes mellitas (DM) es la causa más común de ERC terminal y se asocia no sólo con HTA, sino también con hipertrigliceridemia, hipercolesterolemia, HVI e hiperfibrinogenemia (32). Además, en los pacientes con ERC, independientemente de la existencia o no de DM, existe una resistencia a la insulina (RI) que está presente desde las fases iniciales de la enfermedad renal. El déficit de vitamina D, la anemia o las posibles toxinas urémicas se han postulado como posibles factores responsables de esta RI en la ERC, aunque el hecho de que aparezca en fases precoces de la enfermedad sugiere que la enfermedad renal *per se* es la responsable de la RI.

Ambos hechos favorecen la acumulación de productos finales de la glicosilación que pueden producir daño endotelial y acelerar la aterogénesis (33).

Más recientemente, en el estudio ARIC, el perímetro de la cintura, uno de los parámetros que definen el síndrome metabólico, se asoció con un aumento del riesgo de

desarrollar enfermedad coronaria durante el seguimiento en pacientes con ERC. Asimismo, niveles bajos de adiponectina, una adipocina que se relaciona inversamente con la RI, se asociaron con ECV prevalente e incidente en pacientes con ERC (34). Todo ello sugiere que el síndrome metabólico se asocia con un mayor RCV también en pacientes con ERC (figura 4). Sin embargo, no se dispone de evidencias que indiquen que mejorando la RI se reduzca el RCV en estos pacientes.

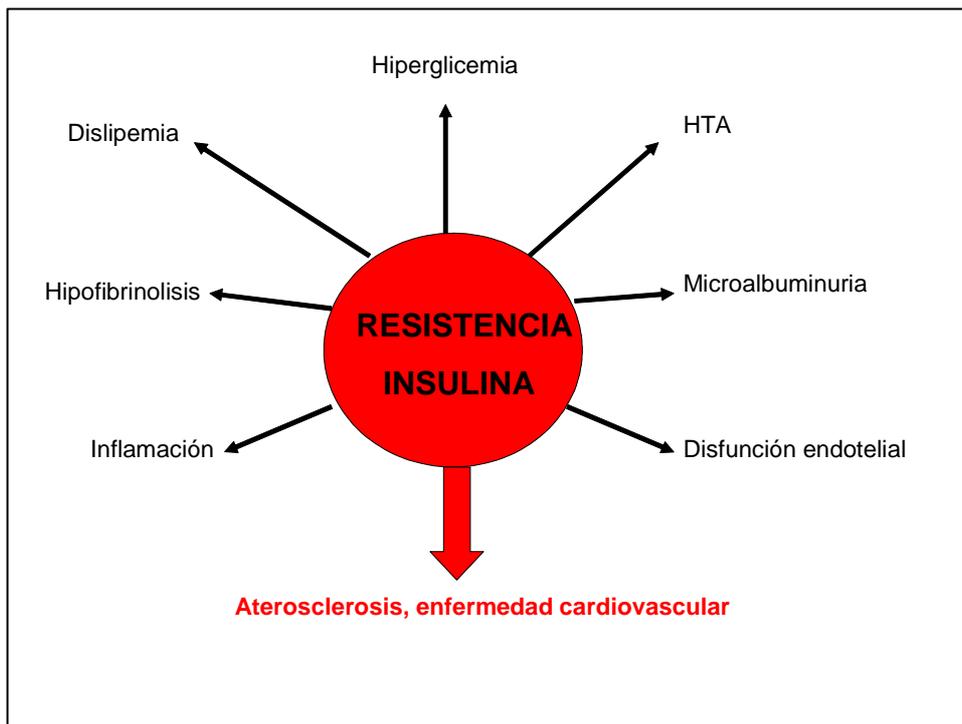


Figura 4.- Adaptado de Festa A et al. *Circulation* 2000; 102: 42-47 y Reaven GN et al. *Annu Rev Med* 1993; 44: 121-131. Resistencia a la insulina y RCV.

### 3.1.4.-Obesidad

La relación entre obesidad y mortalidad global y cardiovascular está bien establecida en la población general (35, 36). La obesidad desencadena una cascada de alteraciones que incluye resistencia a la insulina, intolerancia a la glucosa, dislipemia, aterosclerosis e HTA. También induce inflamación, con aumento de citoquinas proinflamatorias y del estrés oxidativo (37).

En pacientes con ERC no hay estudios sobre la relación entre obesidad y ECV o mortalidad, pero el sobrepeso se asocia con un mayor deterioro de la función renal y el desarrollo de proteinuria (38). En pacientes en hemodiálisis la mayoría de los grupos han descrito una relación inversa entre índice de masa corporal (IMC) y mortalidad total o

cardiovascular (39). Esta aparente diferencia con la población general podría explicarse por el fenómeno de la causalidad reversa (40), ya que los pacientes en diálisis tienen un mayor grado de inflamación y de malnutrición; que se asocian con un IMC bajo y son potentes predictores de mortalidad.

### 3.1.5.- Dislipemia

En todos los estadios de la ERC, la prevalencia de dislipemia (DL) es muy elevada. En un alto porcentaje de pacientes, la DL está presente desde las primeras fases de la enfermedad y existe una correlación inversa entre el FG y la DL (41). La alteración en los niveles y en la composición de los lípidos en el paciente renal tiene, por lo general, un patrón característico, con un incremento de la apolipoproteína B (lipoproteínas de densidad baja, muy baja e intermedia), niveles reducidos de apolipoproteína (Apo) (a) (lipoproteínas de alta densidad) y una elevada proporción de triglicéridos (42).

En la población general, la DL conlleva un aumento de ECV y en los pacientes con ERC, a falta de grandes estudios de intervención, aleatorizados y controlados, que demuestren fehacientemente este hecho existen algunas evidencias que sugieren que la DL favorece la aparición de enfermedad vascular e interviene en la progresión de la insuficiencia renal (43,44). Diversos estudios con un amplio espectro de población, como el "Heart Outcomes Prevention Evaluation Study (HOPE)", el "Hipertensión Optimal Treatment Study (HOT)", el "Cardiovascular Health Study (CHS)", el "Framingham Study" y "el Atherosclerosis Risk In Communities Study (ARIC)", han demostrado que los niveles de colesterol total, de triglicéridos y el porcentaje de pacientes con c-HDL bajo son significativamente superiores en individuos con FG reducido (45-48). Esta asociación, entre ERC y DL tiene un evidente sinergismo respecto a morbilidad y mortalidad cardiovascular.

## **3.2.- Factores de riesgo emergentes en la ERC**

### 3.2.1.- El fenómeno inflamatorio

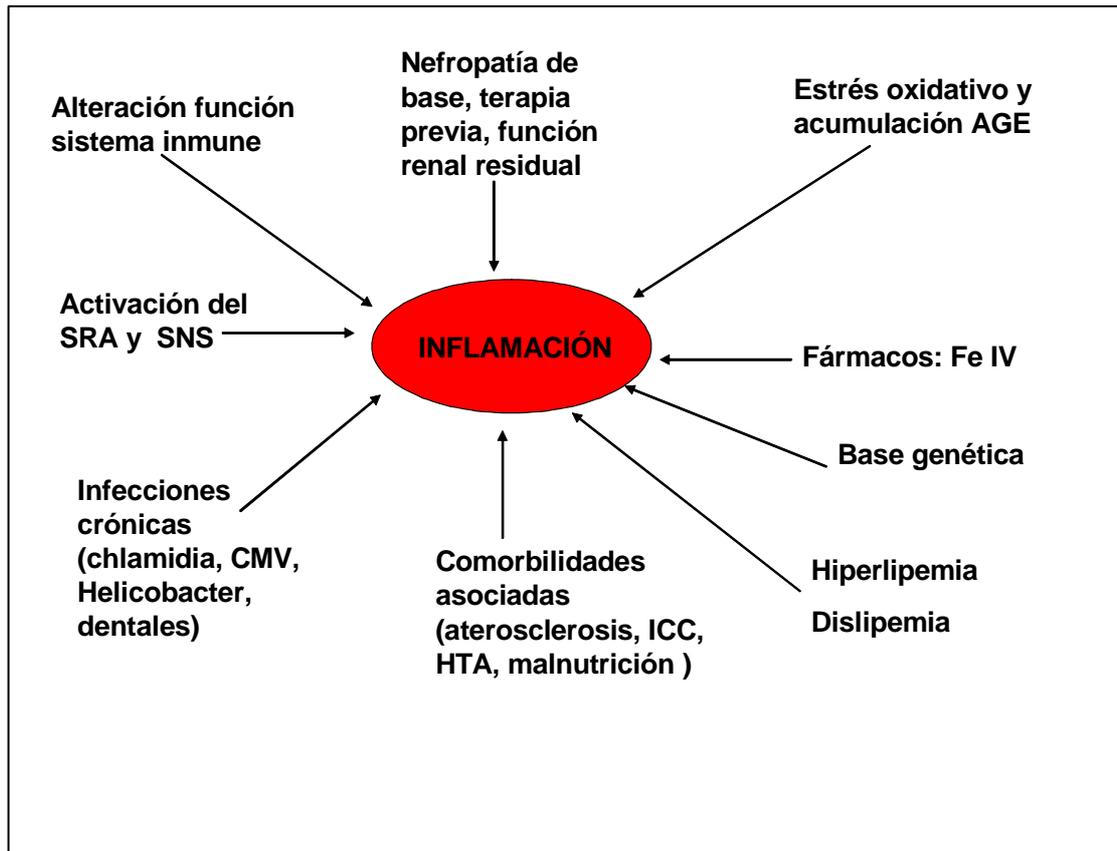
La inflamación es un fenómeno crítico en la fisiopatología de la aterosclerosis, que no sólo está implicada en la progresión de la lesión arteriosclerótica, sino que también juega un papel clave en la inestabilización de la placa. Distintas enfermedades caracterizadas por una activación de los fenómenos inflamatorios se asocian con un perfil proaterogénico, con elevación de lipoproteína (Lp) (a), fibrinógeno, leptina, y disfunción endotelial, así como con una disminución de los niveles de proteínas antiaterogénicas como la albúmina o la Apo A1.

Estudios prospectivos han demostrado que los niveles de proteína C reactiva (PCR), un marcador de inflamación, son predictores independientes de IAM, ACV o mortalidad en la población general. También se ha descrito su asociación con el desarrollo de DM tipo 2 y con el síndrome metabólico. Además, la PCR *per se*, podría estar directamente implicada en el proceso arteriosclerótico, ya que se asocia con disfunción endotelial y posiblemente con arteriosclerosis acelerada (49, 50). Las citoquinas proinflamatorias también han demostrado efectos deletéreos sobre la pared vascular y promueven la aterosclerosis.

Existen evidencias de un estado inflamatorio crónico en pacientes con ERC. Un análisis transversal del Cardiovascular Health Study evidenció un aumento de los niveles de PCR e interleuquina 6 (IL-6) en pacientes con valores elevados de creatinina. Estas asociaciones seguían siendo significativas tras ajustar por otros FRCV, así como en análisis limitados a sujetos sin evidencia de enfermedad cardiovascular clínica o subclínica (51). Otros estudios han evidenciado resultados similares, y en algunos de ellos (52), aunque no en todos (53-56), la inflamación parece relacionarse con el grado de función renal.

Las posibles causas de este estado inflamatorio en los pacientes renales serían el propio estado urémico, una disminución del aclaramiento renal de citoquinas proinflamatorias, el estrés oxidativo o la presencia de arteriosclerosis, co-morbilidades asociadas como la insuficiencia cardíaca, la hipervolemia o la DM, la propia enfermedad de base como por ejemplo una enfermedad sistémica, o la persistencia de determinadas infecciones más o menos ocultas (figura 5). En los pacientes en hemodiálisis la exposición a membranas de diálisis, especialmente las membranas celulósicas que son menos biocompatibles, la baja calidad bacteriológica del líquido de diálisis, la presencia de cuerpos extraños (prótesis de PTFE, catéteres) que pueden presentar infección evidente u oculta, o de injertos renales no funcionantes, también pueden contribuir al estado inflamatorio de esos pacientes.

Aunque la evidencia epidemiológica relaciona la inflamación con un peor pronóstico cardiovascular en los pacientes con ERC, no existen estudios controlados que demuestren la eficacia de las estrategias antiinflamatorias para reducir el RCV en esos pacientes.



*Figura.5. Posibles causas de inflamación en la ERC*

### 3.2.2.- Lipoproteína (Lp) (a)

La Lp (a) es una partícula de LDL-colesterol unida covalentemente a una Apo (a) y cuyo tamaño está relacionado con un polimorfismo del gen de la Apo (a). Varios estudios han demostrado que niveles elevados de la Lp (a) o un tamaño pequeño de la Apo (a) se asocian con enfermedad cardiovascular aterosclerótica en la población general. Se han postulado varios mecanismos para explicar ésta asociación. A causa de la homología estructural de la Apo (a) con el plasminógeno, la Lp (a) se asocia con disfunción endotelial in vivo, activa los monocitos y se colocaliza con los macrófagos de la placa. También se une al endotelio y a la matriz extracelular, lo que conlleva la acumulación de colesterol en esas zonas. La Lp (a) induce actividad quimiotáctica de monocitos y estimula la producción de las moléculas de adhesión (VCAM-1) en las células endoteliales.

Los niveles de Lp (a) están elevados en pacientes con ERC (51, 57). Este aumento se detecta ya desde fases iniciales, y se agrava con la disminución del FG (50). El mecanismo responsable podría ser la disminución del aclaramiento de la Lp (a) a nivel renal o el aumento de su síntesis hepática secundaria a la inflamación. Existen pocas evidencias que relacionen

los niveles de Lp (a) o sus isoformas con la enfermedad cardiovascular en pacientes con ERC, aunque parece que las isoformas de bajo peso molecular de la Apo (a) predicen de forma más potente el desarrollo de ECV en pacientes incidentes en diálisis.

### 3.2.3.- Homocisteína

La homocisteína es un aminoácido sulfurado que se forma como un producto metabólico intermedio durante el metabolismo de la metionina. Su metabolismo depende de la vitamina B12, el ácido fólico y la vitamina B6. La asociación entre homocisteína y enfermedad cardiovascular ha sido documentada en varios estudios epidemiológicos en la población general. Niveles moderadamente elevados de homocisteína ( $>15 \mu\text{mol/L}$ ) se asocian con enfermedad oclusiva arterial y venosa, y la relación entre homocisteína y enfermedad cardiovascular es dosis-dependiente (58). La homocisteína genera cambios en la célula endotelial, induciendo la aparición de un fenotipo protrombótico con disminución de la expresión de trombosmodulina y heparán sulfato, y un aumento de la expresión del factor tisular (Factor III). También altera la unión del activador tisular de plasminógeno (t-PA) a la célula endotelial, y aumenta la expresión de la proteína quimiotáctica de monocitos-1 (MCP-1) y de la interleuquina-8 (IL-8). Dosis altas de homocisteína inhiben la proliferación de la célula endotelial. La homocisteína también eleva los niveles de di-metil-arginina asimétrica (ADMA), el inhibidor endógeno de la síntesis de óxido nítrico (NO). Además, actúa como prooxidante vía autooxidación de tioles libres, generando radicales libres de oxígeno.

Los niveles de homocisteína se encuentran moderadamente elevados desde fases iniciales de la insuficiencia renal y se elevan en proporción inversa al nivel de FG (58). Los mecanismos responsables no están del todo aclarados, ya que la excreción renal de este aminoácido sólo representa el 1% de su eliminación. Parece ser que en esos pacientes la homocisteína está más oxidada que en la población general, lo que podría contribuir a aumentar su toxicidad sobre la pared vascular. En los distintos estudios realizados en pacientes con ERC, los niveles de homocisteína se han asociado con ECV prevalente, aunque no con marcadores de estrés oxidativo, inflamación o disfunción endotelial (59), y todavía no hay evidencia de que la reducción de los niveles de homocisteína, mediante la administración de ácido fólico, vitamina B12 o vitamina B6, disminuyan los eventos cardiovasculares en esos pacientes.

#### 3.2.4.- Estrés oxidativo

El estrés oxidativo se define como el desbalance entre la generación de agentes prooxidantes y los mecanismos de defensa antioxidantes, lo que conduce a la oxidación de macromoléculas como proteínas, lípidos, carbohidratos o DNA con el subsiguiente daño tisular. Recientemente se ha implicado al estrés oxidativo como un factor importante en el desarrollo de aterosclerosis y disfunción vascular, tanto en la población general, como en los pacientes urémicos.

Los pacientes con ERC presentan un estrés oxidativo aumentado comparado con la población general, y en la mayoría de los estudios, este se agrava a medida que se reduce el FG (56,59).

El estrés oxidativo ejerce sus efectos sobre la vasculatura a través de:

- Un efecto lesivo directo sobre las células endoteliales o la fibra muscular lisa vascular (FMLV).
- La disminución de la biodisponibilidad del óxido nítrico (NO) al ser quelado por los radicales libres, y la disminución de su síntesis por aumento de los niveles del inhibidor endógeno de la síntesis de NO, ADMA. Además, la oxidación de la tetrahydrobiopterina, cofactor de la NO sintetasa, induce el desacoplamiento de esta enzima y favorece que se produzcan radicales libres en lugar de NO.
- Una inhibición de la guanilato ciclasa, con la consiguiente disminución de la síntesis de guanosín monofosfato cíclico (GMP), favoreciendo así la activación y adhesión plaquetaria, la proliferación de las células musculares lisas y el aumento de la síntesis de la matriz extracelular.
- Un aumento en la oxidación de la LDL, un factor clave en la aterosclerosis, favoreciendo el reclutamiento de macrófagos, la inducción de citoquinas y moléculas de adhesión, y aumentando la permeabilidad endotelial y la proliferación de la FMLV.
- Una activación directa del factor de transcripción nuclear NF-κB, induciendo la síntesis de citoquinas proinflamatorias y amplificando la cascada de la inflamación. La inflamación, por su parte, favorece el estrés oxidativo y la hipoalbuminemia asociada a la inflamación disminuye las defensas antioxidantes. De hecho, el estrés oxidativo se relaciona estrechamente con el grado de inflamación.
- Un incremento, en colaboración con otros factores, de la calcificación vascular (CV).

La causa de este estrés oxidativo aumentado en los pacientes renales puede radicar en el propio entorno urémico, la mayor prevalencia de DM, la edad, e incluso en determinados tratamientos que se utilizan en esos pacientes, como el hierro intravenoso por la anemia (Figura 6).

Aunque no hay evidencias, en grandes estudios prospectivos, de que el estrés oxidativo contribuya a la elevada morbi mortalidad cardiovascular en los pacientes renales, un reciente estudio prospectivo en pacientes con ERC demuestra una asociación entre niveles de productos avanzados de oxidación proteica y enfermedad vascular aterosclerótica (56). Además, los marcadores de estrés oxidativo se asocian con disfunción endotelial y activación hemostática en pacientes con ERC (57). A pesar de ello, tampoco hay evidencias del beneficio clínico del tratamiento antioxidante en reducir la morbi mortalidad cardiovascular en pacientes con ERC.

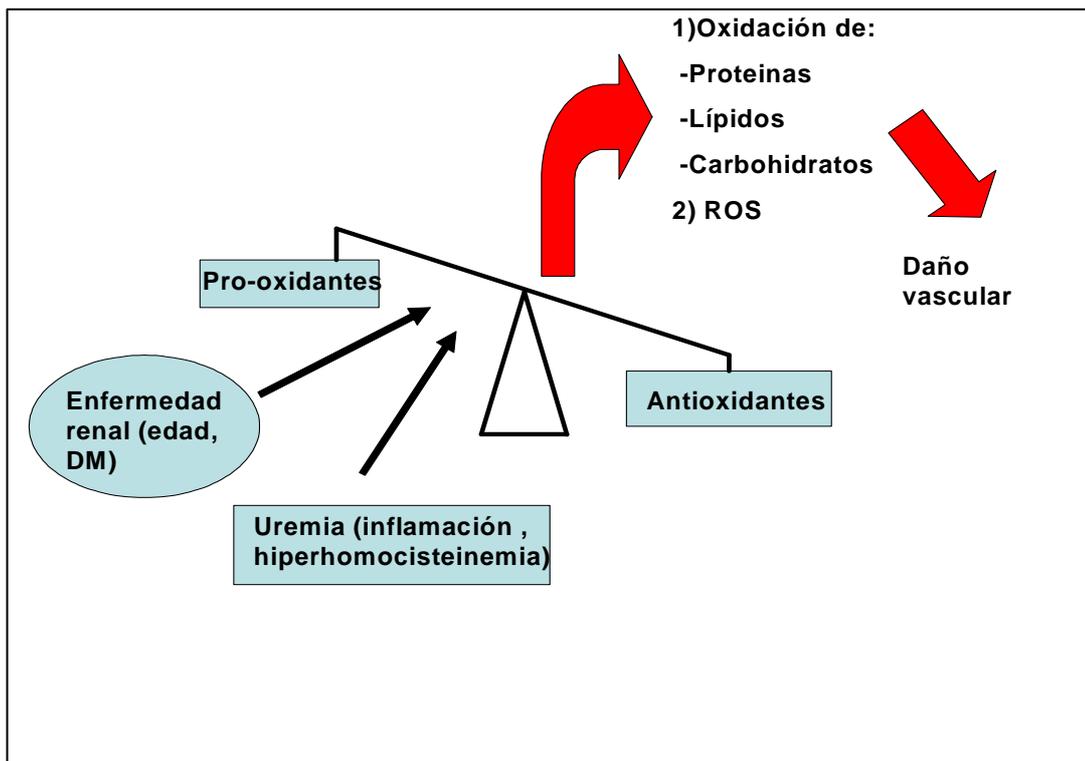


Figura.6- Estrés oxidativo y ERC

### 3.2.5.- Fibrinógeno

Los pacientes con ERC presentan niveles elevados de diversos factores trombogénicos como fibrinógeno, FVII, FVIII c o dímero-D entre otros (59). El fibrinógeno juega un papel central en la cascada de la coagulación y aumenta la viscosidad sanguínea. Se ha demostrado,

de forma consistente, que los niveles elevados de fibrinógeno predicen de forma independiente el desarrollo de ECV primarios o recurrentes en la población general.

Aunque los niveles de fibrinógeno están influenciados por otros FRCV, como el tabaquismo, la HTA, la DM o la hipertrigliceridemia, la asociación entre fibrinógeno y ECV permanece significativa tras ajustar por otros FRCV.

El fibrinógeno es un reactante de fase aguda y sus niveles se correlacionan con los marcadores de inflamación en pacientes renales (51). Por lo tanto, puede representar no sólo un factor de riesgo *per se*, sino que podría ser una vía común a través de la cual interactúan los factores de riesgo para desarrollar enfermedad vascular. Sus niveles están aumentados en la ERC y se relacionan inversamente con el grado de FG (51, 56, 59). En el estudio ARIC, los niveles de fibrinógeno elevados fueron un predictor independiente de ECV en pacientes con ERC (60).

Existen varios mecanismos por los que el fibrinógeno podría favorecer el desarrollo de aterosclerosis. En primer lugar, el fibrinógeno puede penetrar en la pared vascular donde se liga a la LDL y otros factores de la coagulación, y puede ser un precursor del trombo mural. Por otra parte sus productos de degradación estimulan la proliferación de la FMLV y la captación de colesterol por los macrófagos. Además, el fibrinógeno se liga al receptor GPIIb/IIIa de las plaquetas, favoreciendo la agregación, y aumentando la reactividad plaquetaria independientemente de la GPII b/IIIa. Finalmente, los niveles elevados de fibrinógeno aumentan la tendencia a formar fibrina y la cantidad de fibrina contenida en el trombo.

### **3.3.- Otros factores emergentes de riesgo cardiovascular en la ERC**

#### 3.3.1.- Anemia

La anemia aparece de forma constante cuando el aclaramiento de creatinina (Ccr) es igual o inferior a 30-40 ml/min, siendo más severa en fases más avanzadas, cuando el paciente está próximo a iniciar tratamiento con diálisis. Entre las consecuencias fisiopatológicas asociadas a la anemia de los pacientes con ERC cabe destacar el aumento del gasto cardíaco, la cardiomegalia, la hipertrofia ventricular izquierda (HVI) y la insuficiencia cardíaca congestiva (61 - 63).

Numerosos estudios han demostrado la estrecha relación entre morbi mortalidad cardiovascular y anemia, así como la relación entre HVI y anemia (64). De hecho, la anemia se considera como uno de los FRCV en los pacientes con ERC. Según datos del "Study of

Left Ventricular Dysfunction (SOLVD)", la disminución del FG y el descenso del hematocrito (Hcto) tienen un impacto sinérgico sobre la mortalidad (65). Datos del "Medicare" consideran a la anemia como un factor de riesgo multiplicador de mortalidad en los pacientes con ERC (66). La tasa de hospitalizaciones también guarda relación con el grado de anemia (67). La disponibilidad de los agentes estimuladores de la eritropoyesis (AEE) en 1989 supuso un cambio notable en el tratamiento de la anemia en la ERC. Diferentes estudios (68) muestran que la corrección de la anemia en la ERC mejora la supervivencia (69), disminuye la morbi-mortalidad (70) y aumenta la calidad de vida (71).

### 3.3.2.- Alteraciones del metabolismo mineral

El aumento en los niveles de la hormona paratiroidea (PTH), la disminución de los niveles de vitamina D, la hiperfosfatemia y el uso agresivo de quelantes de fósforo con calcio, así como los suplementos de vitamina D y sus análogos, son importantes en la patogénesis y mantenimiento de la enfermedad cardiovascular en la ERC (72). La PTH y la vitamina D aumentan la concentración de calcio (Ca) en el músculo liso vascular y miocardiocitos, alteran el equilibrio oxidativo del miocardio y afectan a la PA y a la contractilidad cardíaca, permitiendo que el corazón sea más susceptible a la isquemia (73). El déficit de vitamina D puede producir proliferación y crecimiento de las células del músculo liso vascular (CMLV) y calcificaciones coronarias (CAC) (74). Además, el hiperparatiroidismo y la deficiencia de vitamina D se asocian con aumento de la masa cardíaca y la CV. El hiperparatiroidismo altera el metabolismo de las lipoproteínas y produce RI e intolerancia a la glucosa. El papel de la vitamina D es menos claro en este sentido, pero se ha visto que corrige la intolerancia a la glucosa, la RI y la hipertrigliceridemia en pacientes en diálisis (73). La hiperfosfatemia y el aumento del producto calcio-fósforo se asocian con calcificaciones de partes blandas incluyendo aorta y coronarias. La hiperfosfatemia se ha asociado con un aumento de mortalidad en pacientes en diálisis (75).

### **3.4.- La disfunción endotelial**

El endotelio actualmente es considerado como fuente y diana de una serie de agentes vasoactivos, de tal forma que tiene acción endocrina y paracrina, no únicamente sobre el propio endotelio sino también sobre las células musculares lisas vecinas. Estas acciones las realiza mediante una serie de mediadores entre los cuales, el que más atención ha recibido, es el NO.

Se entiende por disfunción endotelial la incapacidad del endotelio para, en distintos contextos patológicos, realizar adecuadamente sus funciones. El término se acuñó al evaluar, mediante distintos procedimientos, la vasodilatación arteriolar endotelio-dependiente, y se asoció a cambios en los niveles locales de NO, bien por síntesis defectuosa, bien por una inactivación acelerada del NO sintetizado. No obstante, la disfunción endotelial es un fenómeno mucho más complejo, ya que el endotelio, no sólo condiciona el flujo vascular, sino también la remodelación de la propia pared vascular, el equilibrio agregación-antiagregación plaquetaria y coagulación-anticoagulación y los desplazamientos de células inmunocompetentes desde el compartimento central al tisular, fenómeno crítico en la regulación del proceso inflamatorio. Además, no sólo el NO es crítico en la génesis de este fenómeno, sino que otro autacoide sintetizado por el endotelio, como la endotelina, determinados prostanoides y ciertas citoquinas, juegan también un papel central en el proceso de la disfunción endotelial considerada en un sentido amplio. La figura 7 resume algunos de esos conceptos.

Los mecanismos implicados en la génesis de la disfunción endotelial, a través del desequilibrio en la síntesis/degradación de autacoides endoteliales, son muy complejos, pero han sido ampliamente estudiados. Los propios FRCV clásicos parecen estar implicados en este proceso.

Así, en la DM o en la hiperlipidemia se han demostrado cambios importantes en la síntesis de factores endoteliales vasoactivos, que se han relacionado con las alteraciones vasculares asociadas a esos procesos. A su vez, existen evidencias de que en la HTA las fuerzas de cizallamiento sobre las células endoteliales inducen cambios fenotípicos en las mismas, con las subsiguientes alteraciones estructurales y funcionales a nivel vascular. En todos esos procesos, se ha atribuido un papel central a los radicales libres, por su capacidad de modificar la síntesis de autacoides endoteliales así como por el hecho de inactivar al propio NO. En estudios realizados en células endoteliales cultivadas en medio urémico, se observó que la presencia de suero urémico condiciona un crecimiento celular más acelerado y una síntesis incrementada de la matriz extracelular. Además, las células endoteliales urémicas presentaban una mayor fosforilación de tirosin-proteínas, sugiriendo la existencia de una alteración de la transducción de señales en estas células, que además expresan más ARNm de factor tisular. El factor tisular inicia la vía extrínseca de la coagulación, actuando como cofactor del factor VII y favoreciendo así las complicaciones tromboembólicas (76).

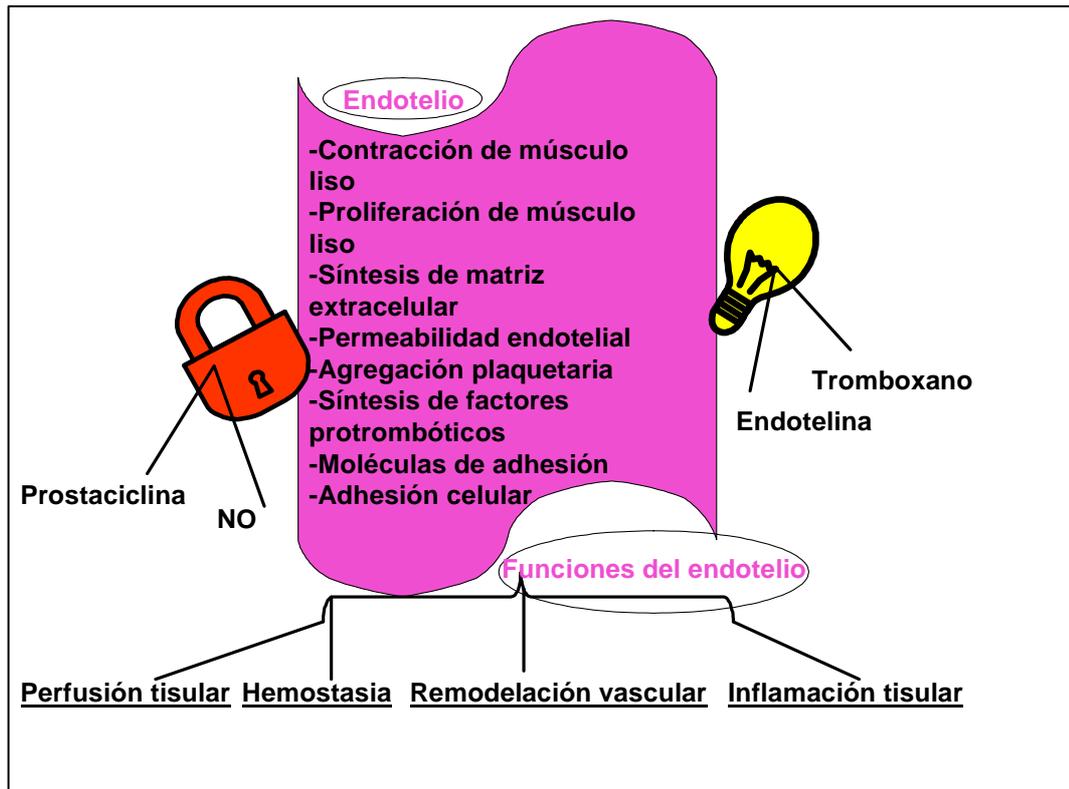


Figura 7.- Mecanismos implicados en la disfunción endotelial. Factores favorecedores (endotelina y tromboxano) y factores inhibidores (NO y prostaciclina) de la disfunción endotelial

## **4.- Calcificaciones vasculares**

### **4.1.- Calcificaciones vasculares en la ERC**

La prevalencia de las CV en los pacientes urémicos es elevada, oscilando entre un 30 y un 80% según diferentes autores. La prevalencia se relaciona fundamentalmente con la sensibilidad del método que se usa para detectar las calcificaciones y el tiempo de permanencia en diálisis (77,78).

En esta población de pacientes, las CV son más frecuentes, más precoces, más extensas y progresan más rápidamente que en la población general (79, 80). Se asocian a factores de riesgo parcialmente modificables, estando relacionadas con las alteraciones del metabolismo mineral (81), y la utilización de diversas medidas terapéuticas dirigidas al manejo de estas alteraciones, así como el propio proceso urémico y la inflamación asociada. La aparición de estas calcificaciones tiene importantes consecuencias funcionales y estructurales y su

presencia es un marcador de alta sensibilidad de ateromatosis. Por todo ello, las CV se consideran un potente predictor de mortalidad cardiovascular y global.

Existen dos tipos de CV con distintas implicaciones. La calcificación de la íntima se desarrolla en el 80-90% de placas ateroscleróticas que protruyen en la luz de los vasos y pueden causar isquemia y necrosis. La calcificación de la media (esclerosis de Monckeberg) ocurre de forma difusa en la capa media, y es frecuente en los pacientes con ERC y en diabéticos. La calcificación de la media aumenta la rigidez vascular y disminuye la distensibilidad, lo que se traduce en la aparición de HTA sistólica e incremento en la velocidad de la onda del pulso, contribuyendo a la HVI y compromiso del flujo coronario durante la diástole (82). La rigidez arterial secundaria a la calcificación de la media se asocia a un alto grado de mortalidad. A estas calcificaciones hay que sumar el depósito de calcio en distintas estructuras cardíacas como el miocardio, el pericardio, el sistema de conducción y el aparato valvular; con sus consiguientes repercusiones clínicas; en término de arritmias, disfunción valvular o embolismos arteriales periféricos.

Raggi y cols, comunicaron que la presencia de IAM, angina y enfermedad arterial coronaria era más frecuente en pacientes con CAC extensa (83).

Aunque con menos impacto sobre la supervivencia, las calcificaciones de otros tejidos blandos no son infrecuentes en la ERC. Estas calcificaciones anormales pueden ser metastásicas (en tejidos no dañados, frecuentemente asociadas a incremento del producto fosfo-cálcico) o distróficas (en tejidos previamente dañados, sin necesidad de alteraciones fosfo-cálcicas). Merece especial atención otro tipo de CV en esta población, la constituyen las calcificaciones microvasculares, que reciben el nombre de arteriopatía urémica calcificada, y dan lugar a la aparición del síndrome clínico conocido como calcifilaxis.

#### **4.2.- Patogenia de las calcificaciones vasculares en la ERC**

Aunque hasta hace poco, se consideraba que el depósito de calcio vascular era esencialmente pasivo, en función directa del producto calcio-fósforo, actualmente se piensa que es un fenómeno activo, regulado por factores similares a los de formación y reabsorción ósea (84,85). Así, este depósito tendría un comportamiento similar al hueso en cuanto a estructuras microcristalinas y estaría controlado por diversos mediadores hormonales, citoquinas y otros agentes, de modo análogo al recambio óseo. Los estudios histológicos de la pared vascular calcificada muestran un depósito ordenado de Ca en forma de láminas, junto con la presencia de células de estirpe osteoblástica y la expresión de “proteínas

mineralizantes”, sugiriendo que la calcificación de la media, es en realidad un proceso organizado de mineralización que requiere células (osteoblastos) y mediadores moleculares (proteínas osteogénicas) (Tabla 3).

*Tabla.3.- Factores patogénicos que intervienen en el mecanismo de Calcificación vascular. BMP 2 (Proteína morfogenética ósea). BGP (Osteocalcina o Proteína GLA ósea). BSP (Sialoproteína ósea). MGP (Proteína GLA de la matriz). OPG (Osteoprotegerina). OPN (Osteopontina). SPARC (Osteonectina).*

<b><u>Factores propios de la uremia:</u></b>	
- Hiperfosforemia	
- Toxinas urémicas	
- Exceso de vitamina D	
- Inflamación	
- Edad	
- Diabetes	
<b><u>Mediadores de CV:</u></b>	
<b>- Inductores:</b>	<b>- Inhibidores:</b>
- BMP 2	- MGP
- BGP	- OPG
- Colágeno II	- OPN
- BSP	- SPARC
- FA	- Fetuina
	- PTHrP

En condiciones normales, las CMLV tienen una mínima expresión de proteínas características de las células óseas. Cuando se pone en marcha el proceso de CV, las CMLV expresan Cbfa-1 (Core-binding factor  $\alpha$ -1) y BMP-2 (Bone matriz proteína 2). El Cbfa-1 es un factor de transcripción recientemente descrito que prácticamente sólo se expresa en condiciones fisiológicas en células óseas, considerándose en el momento actual como uno de

los principales moduladores de la diferenciación de las células mesenquimales a osteoblastos (86-89). Junto con la BMP-2, actúa como promotor de la CV. Se ha observado su presencia en arterias calcificadas de individuos con insuficiencia renal, siendo posible inducir su expresión en CMLV en cultivo mediante la adición de suero urémico (87, 90).

En diferentes condiciones experimentales, se ha demostrado su expresión en tejidos tan dispares como el músculo esquelético y los testículos (91,92), así como en distintas poblaciones celulares, como las provenientes de médula ósea y bazo, o la sangre de cordón umbilical (93-95).

Otro paso importante en el proceso de CV es la acumulación de pequeñas vesículas con contenido citoplásmico, membrana celular intacta y alta concentración de Ca y fósforo (P). (96, 97). Estas vesículas se forman a partir de células de estirpe osteoblástica o son el resultado del proceso de apoptosis de la CMLV. Proudfoot y cols (98) demostraron que la apoptosis regula la CV *in vitro*, y de acuerdo con esos autores, las vesículas matriz son capaces de concentrar Ca en su interior y son el origen de los cristales de bioapatita que constituyen la base estructural del hueso calcificado (99,100).

Otro mecanismo implicado en la génesis de las CV es el equilibrio entre proteínas inductoras e inhibitoras del proceso. Las proteínas procalcificantes más importantes son la fosfatasa alcalina, la osteonectina, la osteocalcina y la proteína morfogenética ósea (BMP-2). Estas, se expresan en abundancia en la pared vascular calcificada y en cultivos de CMLV donde inducen la calcificación (101). El papel de los inhibidores de la calcificación es objeto de intensa investigación. La calcificación ocurre más rápidamente en ausencia de suero, sugiriendo que hay proteínas circulantes que regulan la calcificación de tejidos blandos y que existen inhibidores endógenos. En condiciones normales, la CMLV produce inhibidores de la calcificación, pero parece que cuando estas células han adquirido el fenotipo osteoblástico, la expresión de esos inhibidores se pierde y el proceso de calcificación avanza. Ratones deficientes en proteínas inhibitoras, como la proteína de la matriz GLA (78, 102), la osteoprotegerina (103) o la fetuína (85, 104) desarrollan calcificaciones espontáneas de la media. La proteína de la matriz GLA tiene un papel importante en la prevención de las calcificaciones de la pared vascular. Su síntesis depende de la vitamina K y una de sus funciones principales es desactivar la BMP-2, y evitar que actúe en la pared del vaso como factor diferenciador de células de estirpe osteoblástica (77, 105). El uso de anticoagulantes que interfieren con la vitamina K podría contribuir al desarrollo de las CV.

En trabajos recientes se ha descrito la importancia de la deficiencia de la fetuina como mecanismo regulador de la CV en pacientes urémicos. La fetuina se sintetiza en el hígado, constituye la mayor parte de la banda alfa-2 del proteinograma (0.5-1.0 g/l) e inhibe la formación de hidroxiapatita. Los pacientes urémicos tienen niveles bajos de fetuina y la capacidad de sus sueros para inhibir la precipitación de Ca *in vitro* está disminuida (106).

Existe otra serie de factores patogénicos de la CV que son inherentes a la propia insuficiencia renal, en concreto las alteraciones del metabolismo mineral, las toxinas urémicas y el proceso inflamatorio crónico. Durante los últimos 10 años se han propuesto varios mecanismos para explicar la CV por medio de la regulación de P, involucrando no sólo a los depósitos de Ca y P en la vasculatura, sino también, a la activación directa de genes asociados con funciones osteoblásticas en las CMLV.

Jono y Giachelli (107,108) mostraron que los niveles elevados de P en el medio de incubación (2 mmol/L) favorecen la calcificación en las células de músculo liso de aortas humanas (CMLAH). Estudios realizados *in vivo* demostraron que, incluso en presencia de función renal normal, el aumento al doble de los niveles de P sérico en ratones con genes mutantes provoca un aumento del producto calcio-fósforo, con el desarrollo de CV y osteoporosis. Estudios realizados para caracterizar los mecanismos involucrados en la inducción de calcificación por parte del P, demostraron que el aumento de la calcificación de las CMLAH inducida por los niveles elevados de P, depende de un co-transportador funcional de sodio-P (Pit-1), e involucra la inducción directa de genes Cbfa-1 dependientes (109), como el que regula la expresión de osteocalcina (110), una de las proteínas más importantes en la osteoblastogénesis (Figura 8). Además, en células de músculo liso vascular bovinas (CMLVB) incubadas con diferentes concentraciones de P, la expresión de osteopontina y fosfatasa alcalina también aumenta, lo que favorece la calcificación (105).

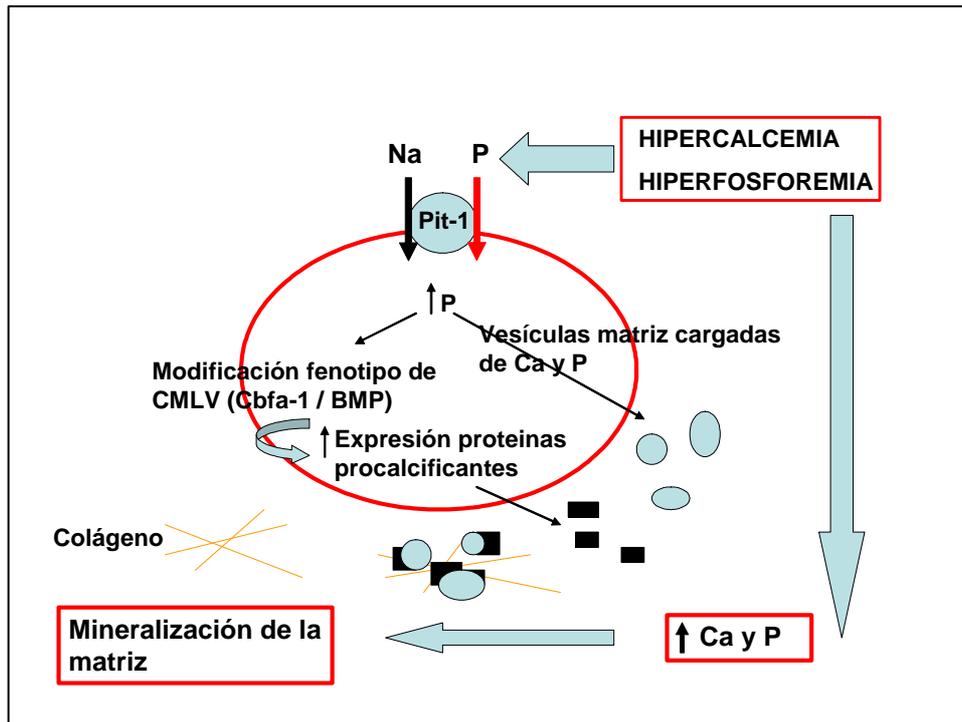


Figura 8.-. Mecanismo de calcificación vascular por medio de regulación de fósforo

En cuanto al papel del Ca, estudios recientes (111) han demostrado que este catión participa, de forma independiente del P, en el desarrollo de CV en las CMLVH. Parece ser que el aumento del Ca estimula la mineralización de las CMLV bajo condiciones normales de P, y acelera la mineralización en condiciones de aumento de los niveles de P. El aumento del Ca induce la expresión del Pit-1, además de elevar los niveles de mRNA de Cbfa-1 y de fosfatasa alcalina (116). Estudios recientes demuestran que el empleo de quelantes de P libres de Ca, como el Sevelamer, tienen un efecto favorable sobre las CV, reforzando así la importancia que tiene el control del producto calcio-fósforo en la prevención de las CV (112). Se han obtenido datos similares en animales administrando carbonato de lantano. Respecto al papel de la PTH, solo ha demostrado tener algún efecto *in vitro* acelerando la calcificación de la CMLV, no observándose, sin embargo, ninguna asociación directa o independiente a nivel clínico (113).

Al destacar la importancia patogénica del producto calcio-fósforo, no se puede olvidar que estos pacientes reciben frecuentemente fármacos para modular este producto y que estos fármacos pueden contribuir al desarrollo o no de CV. En general, los análogos de la vitamina D, y en especial el calcitriol, son eficaces para descender los niveles de la PTH, pero aumentan la absorción intestinal de Ca y P, favoreciendo de este modo la CV. Independientemente de la hipercalcemia y la hiperfosfatemia, Jono y cols (110) demostraron

que el calcitriol puede aumentar la CV *in vitro*, usando cultivos primarios de CMLV, por acción directa sobre el vaso, disminuyendo la producción de la proteína relacionada con la parathormona (PTHrP), uno de los inhibidores de la CV.

Estudios clínicos recientes han demostrado que el tratamiento del hiperparatiroidismo secundario con análogos de la vitamina D mejora la supervivencia de los pacientes (114), sugiriendo que en un terreno clínico donde el Ca y el P estén bien controlados, los análogos de la vitamina D, especialmente aquellos con menos efecto hipercalcemiante e hiperfosforemiante pueden tener un efecto beneficioso sobre la morbi-mortalidad cardiovascular (115).

El suero urémico también induce la expresión de proteínas críticas en la formación ósea en las CMLVB, independientemente de las concentraciones de P, lo que puede resultar importante desde un punto de vista patogénico (112), de hecho estos hallazgos constituyen la primera demostración de inducción directa de CV por toxinas urémicas *in Vitro*. Por su parte Moe y col (89) demostraron un aumento de la expresión de Cbfa-1 y de osteopontina en las capas media e íntima de las arterias epigástricas calcificadas en pacientes urémicos. No se conocen los factores séricos implicados en la génesis de estos efectos. No obstante, se piensa que determinados autacoides relacionados con el proceso inflamatorio pueden ser responsables, al menos en parte, de estas alteraciones. El factor de necrosis tumoral  $\alpha$  (TNF $\alpha$ ), el factor transformante de crecimiento  $\beta$  (TGF $\beta$ ), la LDL oxidada, los radicales libres de oxígeno (ROS) y la adhesión de monocitos/macrófagos a la propia CMLV pueden inducir calcificación *in vitro* e inducir diferenciación de células de la pared vascular a células de estirpe osteoblástica, con la subsiguiente calcificación celular. En este sentido, una de las citoquinas más ampliamente estudiadas como mediador de inflamación es el TNF $\alpha$  (116). *In vitro*, el TNF $\alpha$  induce calcificación por un mecanismo dependiente de adenosín monofosfato cíclico (AMPc). Los monocitos pueden inducir calcificación a través de la producción del propio TNF $\alpha$  y por contacto celular directo (117).

#### **4.3.- Diagnóstico de las calcificaciones vasculares**

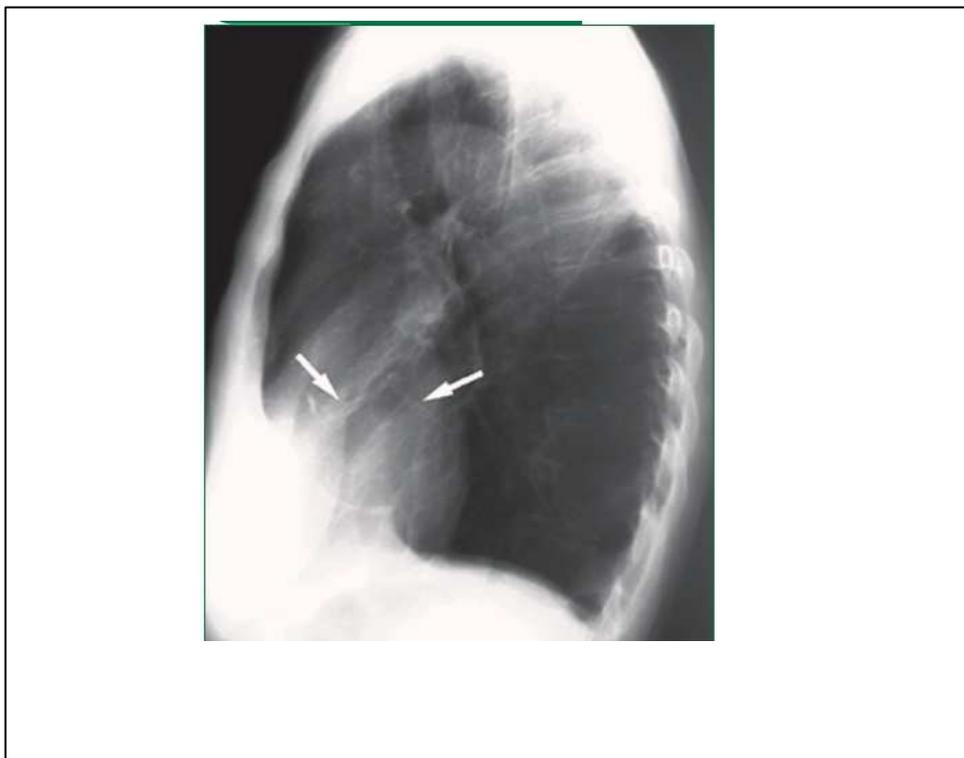
De los hechos comentados previamente sobre las CV se desprende que estaría justificado un análisis más preciso de las mismas, tratando de conocer en que momento de la enfermedad aparecen. Sin embargo, y debido al concepto de la relativa “benignidad” que se tenía hasta hace poco, no existe consenso en este sentido y sigue habiendo dificultades para abordar este problema.

La elección de la técnica a utilizar para su diagnóstico en la práctica diaria tampoco ha sido bien definida. Son varios los motivos que lo justifican, como la diversidad de aproximaciones metodológicas, el hecho de que cada técnica aporte una información diferente, el que a veces sean útiles sólo en determinados territorios o el que la disponibilidad de algunos de ellos sea limitada. En este momento, se está buscando un método que permita un diagnóstico precoz de las CV, a ser posible con un bajo costo, ya que sería un método de “screening” y de seguimiento periódico.

Los medios utilizados para el diagnóstico de estas calcificaciones en la literatura son muy variados y van a depender fundamentalmente del área que se haya querido explorar. La gradación del nivel de calcificación también varía en función de la técnica empleada. Estas gradaciones permiten cuantificar la presencia de calcio en las arterias y así, mediante un rastreo periódico, el seguimiento posterior en el tiempo y la comparación entre pacientes.

#### 4.3.1.-Radiología convencional (Rx)

Su importancia radica en ser una técnica de fácil acceso, y de bajo costo. Sin embargo detecta las calcificaciones en estadio tardío y fundamentalmente en grandes arterias. (figura13). La información que nos proporciona sobre la cuantificación de la calcificación es muy subjetiva y variable.



*Figura 9.- Arterias coronarias calcificadas recubriendo la silueta cardíaca (ver flechas)*

#### 4.3.2.-Ecografía

Se trata de otro método sencillo y asequible, al igual que la Rx convencional, para un seguimiento periódico de las calcificaciones. Tiene la ventaja de poder estudiar la presencia no solamente de Calcio sino también de placas de ateroma. Permite medir el índice íntima/media, considerándose un buen marcador de ateromatosis en cualquier localización y predictor independiente de mortalidad en hemodiálisis (118). Se puede utilizar también para evaluar la presencia de estenosis y estudiar parámetros hemodinámicos vasculares (velocidad, gradientes de flujo). Como inconvenientes destaca el hecho de que no es aplicable a todos los territorios vasculares, en concreto el territorio coronario, que es una técnica cara, y que depende en gran medida de la experiencia del explorador. La ecografía intravascular es una variante que proporciona imágenes tomográficas de la pared vascular, permitiendo identificar las placas ateromatosas y las lesiones calcificadas. No permite siempre la distinción entre la capa media y la íntima, además de ser una técnica muy agresiva y que sólo visualiza una porción limitada del árbol vascular (119).

#### 4.3.3.-Angiografía

Es la técnica por excelencia cuando se trata de diagnosticar una disminución del flujo vascular. Sin embargo, sólo proporciona datos sobre la luz del vaso, con una información bastante deficiente sobre el estado de la pared vascular. De hecho, si la calcificación no está condicionando estenosis, puede no diagnosticarse por este método.

#### 4.3.4.-Tomografía computarizada por haz de electrones (EBCT)

La EBCT es una técnica radiológica de alta velocidad que permite obtener imágenes transaxiales del corazón y otras estructuras torácicas, evitando los artefactos provocados por los movimientos cardíacos y respiratorios. Se caracteriza por tener una alta sensibilidad para el diagnóstico de calcificaciones cardíacas, tanto valvulares como coronarias y está considerada desde principios de los años 90 como la técnica ideal “Gold Standard” para el diagnóstico de las mismas (120, 121). Mediante estudios histológicos, se ha demostrado que la cantidad de Calcio en arterias coronarias medidas por esta técnica se correlaciona estrechamente con las lesiones ateromatosas encontradas en la autopsia (122).

Por otro lado, la puntuación de Calcio propuesta por Agatston (123), utilizando las imágenes obtenidas por esta técnica, ha demostrado tener carácter predictor de enfermedad cardiovascular de origen isquémico en la población general (124-126). Estos motivos han llevado a proponer su utilización rutinaria, incluso en sujetos asintomáticos, como método de

“screening” para cardiopatía isquémica. La técnica permite cuantificar el Calcio coronario mediante 2 escalas; la escala de Agatston, definida por el área y la densidad de la placa calcificada (123) y que guarda estrecha correlación con los hallazgos histológicos en la placa aterosomatosa, y una escala que se puede llamar volumétrica, que cuantifica, mediante logaritmos, el volumen de la placa calcificada (124). Chertow (121) propone una categorización del RCV en función de la puntuación obtenida (figura 14).

• No RCV	Score 0
• Riesgo leve- moderado	Score 1-400
• Riesgo alto	Score 400-1000
• Riesgo muy alto	Score > 1000

*Figura10.- Gradación de RCV en función del score de calcio según Chertow*

Sin embargo, a pesar de su utilidad y de tener una vida de aproximadamente 20 años, el uso de EBCT no está generalizado como cabría esperar. Según el documento de consenso elaborado por el comité de expertos designado por el American Heart Association y American College of Cardiology (125), basado en diferentes metaanálisis de las publicaciones existentes utilizando esta técnica "la EBCT" tiene una elevada sensibilidad para detectar Calcio en el corazón pero tiene baja especificidad (valor predictivo positivo del 70%), presentando un elevado porcentaje de falsos positivos.

Para el diagnóstico de enfermedad isquémica coronaria, no se ha mostrado mejor técnica que otros métodos no invasivos. No está bien establecido en la literatura si el valor predictivo de la puntuación de Calcio obtenida por EBCT supera el valor predictivo obtenido por la puntuación de Framingham. Estos aspectos, unido a que la técnica tiene escasas aplicaciones fuera del sistema vascular y a su elevado costo es lo que explica la escasa difusión de esta exploración.

4.3.5.-TAC helicoidal de nueva generación con detector de hileras múltiples (multidetector), con ventana electrocardiográfica

Los nuevos avances tecnológicos han dado lugar a la aparición de equipos de TC helicoidal de última generación, denominados genéricamente como tomografía computarizada multicorte (TCMC). Esta técnica permite disminuir el artefacto producido por el latido cardíaco, al obtener imágenes con tiempos de adquisición muy inferiores al segundo. Además, junto con esta nueva tecnología, se han desarrollado protocolos específicos para realizar estudios coronarios sincronizados con el ciclo cardíaco (126). La adquisición de los datos, para la determinación de las CAC, se realiza de forma prospectiva (ECG “triggering”). La vascularización coronaria se estudia mediante reconstrucción retrospectiva de las imágenes obtenidas con sincronización cardíaca (ECG “gating”). La TCMC posee mayor sensibilidad para detectar ateromatosis coronaria que la TC helicoidal convencional debido a su mayor resolución espacial y a la posibilidad de obtener imágenes con un menor grosor de corte. Esto se traduce en un incremento en la detección de Calcio en las arterias coronarias (127,128) (figura 15). Comparado con la EBCT, la TCMC tiene mayor resolución espacial, menos interferencias (mejor cuanto menor sea la frecuencia cardíaca), sus aplicaciones van más allá del sistema vascular lo que hace de ella una técnica más rentable y más factible en la práctica clínica, y según estudios recientes la variabilidad interestudio se reduce con la TCMC (129,130). Presenta como inconveniente la continua radiación durante la sístole y la diástole, en comparación con la EBCT, que solo radia en la diástole por lo que la exposición a la radiación es mayor.

En los últimos años han comenzado a aparecer publicaciones sobre la utilidad clínica de esta técnica en la detección de las CAC. Así, en pacientes con cardiopatía isquémica, ha demostrado su utilidad para predecir el desarrollo de eventos isquémicos (131), y en pacientes hipertensos su capacidad de predicción de ECV (132). En el campo de la insuficiencia renal, se ha utilizado la TCMC para evaluar la presencia de CAC en pacientes con diferentes grados de uremia y diferentes técnicas dialíticas (133-134), pero se trata más bien de estudios descriptivos y de análisis de prevalencia, si bien, en algunos casos se ha tratado de correlacionar la existencia de Calcio coronario con diferentes alteraciones presentes en los pacientes urémicos (135).



*Figura 11.- Calcificación de la arteria descendente anterior por TCMC*

# ***HIPÓTESIS***

## **1.- Fundamentos**

- Los pacientes con ERC deben ser considerados como pacientes de riesgo cardiovascular global muy elevado (2). Detrás de la mayor prevalencia de IAM, ictus, IC y mortalidad cardiovascular y de cualquier causa observada en relación con anomalías en la función renal, parece subyacer una progresión acelerada de la aterosclerosis y de la rigidez arterial (18). Dicha asociación se observa tanto en hombres como en mujeres, y es independiente de la edad (5). Esta arteriosclerosis acelerada que tiene lugar en los pacientes renales no puede ser explicada por los FRCV clásicos.
  
- El concepto actual de la fisiopatología de la placa de ateroma se basa en considerarla como un fenómeno inflamatorio, en el que intervienen elementos celulares y moleculares presentes también en el mecanismo patogénico de la ERC. Así, se han descrito elevaciones de marcadores de inflamación crónica en la ERC, como la PCR (49,58), que son a su vez potentes marcadores de aterosclerosis. La inflamación, por su parte, favorece el estrés oxidativo, característico en esos pacientes (54). A su vez, existen numerosas evidencias tanto directas (disminución de la vasodilatación endotelio-dependiente) como indirectas (niveles elevados de factores liberados por el endotelio o una producción disminuida de NO) de la existencia de una disfunción endotelial en pacientes con ERC, que ocurre de forma precoz y se considera clave en el desarrollo de la aterosclerosis (59).
  
- Aunque el proceso inflamatorio sistémico es la base del aumento de los ECV en la ERC, está también potenciado por la presencia de FRCV tradicionales y emergentes. Así, en la ERC se ha demostrado un perfil lipídico proaterogénico (42) y un aumento de la RI (34). Por otro lado, también se ha demostrado en la ERC un estado procoagulante (59) con elevación sérica de fibrinógeno. Otros factores de riesgo vascular, propios de la uremia, como la anemia (64) o las alteraciones del metabolismo mineral (73) han demostrado ser un factor de riesgo multiplicador de mortalidad en los pacientes con ERC.
  
- La presencia de CAC se considera un marcador de alta sensibilidad de ateromatosis de dichas arterias y su presencia se asocia con un aumento de riesgo de eventos

coronarios tanto en la población general como en los pacientes urémicos (80). El diagnóstico precoz de las CAC nos permitirá el establecimiento de intervenciones terapéuticas, con la consiguiente disminución de eventos coronarios.

- El referente actual de estudio de las CAC es la EBCT (125,126). En los últimos años han comenzado a aparecer publicaciones sobre la utilidad clínica de la TCMC en la detección de las CAC, tanto en la población general (134), como en pacientes con diferentes grados de uremia y diferentes técnicas dialíticas (136-138).
- Tanto la EBCT como la TCMC permiten cuantificar el Calcio coronario mediante 2 escalas (114,118), y se ha propuesto una categorización del RCV en función de la puntuación obtenida (113).
- Existe en la actualidad una gran actividad investigadora para tratar de comprender la etiopatogenia de las CV, en el convencimiento de que su prevención puede mejorar notablemente la morbi-mortalidad de los pacientes con ERC. Ya se ha referido previamente a la importancia atribuida al fenómeno inflamatorio y a las alteraciones en el metabolismo calcio-fósforo en la génesis de las CV. No obstante, las dos líneas de pensamiento más actuales atribuyen un papel patogénico fundamental a los cambios fenotípicos en las propias células de la pared vascular y a las alteraciones en la síntesis de inhibidores de la calcificación. En concreto, se ha demostrado que en las paredes vasculares de los pacientes urémicos con calcificaciones, ciertas proteínas características de células óseas se expresan en mayor cantidad, y esta expresión incrementada puede preceder a la aparición de las calcificaciones (130,131). Por otra parte, inhibidores de la calcificación se encuentran alterados en los pacientes urémicos (132). Considerando conjuntamente todos estos conocimientos parcelares, se podría elaborar la siguiente hipótesis. La uremia, el proceso inflamatorio asociado a la misma, las modificaciones hemodinámicas y metabólicas de estos pacientes, las alteraciones en el metabolismo calcio-fósforo e incluso la administración de ciertos medicamentos pueden contribuir a modificar el fenotipo de las células de la pared cardiovascular, que tenderían a transdiferenciarse en osteoblastos. Con este nuevo fenotipo, en un entorno humoral proclive a la precipitación de cristales de Ca y con un déficit de inhibidores, se desarrollarían las CV.

- El Cbfa1 es un factor de transcripción, descrito recientemente, que prácticamente sólo se expresa, en condiciones fisiológicas en células óseas, considerándose en el momento actual como uno de los principales moduladores de la diferenciación de las células mesenquimales a osteoblastos (101). Se ha observado su presencia en arterias calcificadas de pacientes urémicos (111), y también ha sido posible inducir su expresión en células de músculo liso en cultivo mediante la adición de suero urémico (99,102).

## **2.- Hipótesis de trabajo**

La principal causa de muerte en los pacientes con ERC, tratados o no con técnicas de depuración extracorpórea, es la patología cardiovascular. Las alteraciones estructurales cardiovasculares que constituyen el sustrato anatómico responsable de estas enfermedades, y en concreto las calcificaciones arteriales, se encuentra exacerbadas por la uremia. No obstante, las técnicas de detección de CV, en la clínica diaria, no se encuentran muy desarrolladas, y frecuentemente es la radiología convencional la que, de forma tardía, permite realizar el diagnóstico del proceso en estadios muy avanzados. Con el desarrollo de nuevas técnicas diagnósticas, como el TCMC, disponemos de elementos diagnósticos que pueden contribuir a la detección precoz de CV, especialmente en territorios como el sistema coronario, donde las alteraciones en la estructura de la pared vascular pueden tener una especial relevancia clínica.

Por otra parte, la patogénesis de estas calcificaciones, y sobre todo la posibilidad de predecir de forma sencilla y precoz su aparición, mediante técnicas analíticas no muy complejas, es un problema todavía sin resolver.

El presente estudio propone que la TCMC puede resultar un elemento muy útil en la detección precoz de calcificaciones coronarias en los pacientes con ERC avanzada, resultando así un instrumento pronóstico válido en la predicción de la morbi-mortalidad cardiovascular asociada al proceso urémico. Además, plantea la posibilidad de que la presencia de células circulantes que expresen Cbfa1 pueda constituir un elemento adicional en la mejor comprensión de la patogénesis del proceso.

## ***OBJETIVOS***

**1.- Objetivo principal:**

Analizar el valor predictivo de la presencia de CAC, detectadas por TCMC, en la aparición de ECV y en la mortalidad global de los pacientes con ERC, en un periodo de 2 años.

**2.- Objetivos secundarios:**

- Evaluar la prevalencia y severidad de las CAC, en pacientes con ERC y con tratamiento sustitutivo de la misma.
- Analizar los factores relacionados con el desarrollo de estas calcificaciones, en particular la expresión de Cbfa1.

# ***MATERIAL Y MÉTODOS***

## **1.- Ámbito del estudio**

El estudio se realizó en la Sección de Nefrología del Hospital Universitario Príncipe de Asturias de Alcalá de Henáres, en colaboración con los servicios de Radiología y de Análisis Clínicos de éste mismo hospital, su unidad de investigación y la sección de Nefrología del Hospital Universitario de Guadalajara.

El Hospital Universitario Príncipe de Asturias es el centro de referencia para una población de aproximadamente 400.000 habitantes; pertenecientes al área sanitaria número 3 del Instituto Madrileño de Salud (IMSALUD). La selección de pacientes la realizaron los nefrólogos, en la consulta externa y en la unidad de diálisis. El estudio se realizó entre los meses de enero del 2005 y octubre del 2007.

## **2.- Sujetos del estudio**

### **2.1.- Criterios de inclusión**

- Pacientes de ambos sexos.
- Edad comprendida entre 18 y 90 años.
- Pacientes con ERC estadios 4 y 5 o estadio prediálisis ( $Ccr \leq 30$  ml/min) y pacientes en programa de hemodiálisis periódica (HDP).
- Otorgar consentimiento informado por escrito.

### **2.2.- Criterios de exclusión**

- Posibilidad de embarazo.
- Presencia de enfermedades intercurrentes que condicionen un compromiso vital en un plazo inferior a 1 año, como por ejemplo, procesos neoformativos.
- Imposibilidad de realización de TCMC:
  - Fibrilación auricular con respuesta ventricular rápida.

- Portadores de prótesis valvulares mecánicas o “stent” coronarios. Esos dispositivos producen muchos artefactos en las imágenes, lo que imposibilita la interpretación del estudio.
- Pacientes con movilidad severamente reducida.
- Falta de colaboración del paciente con imposibilidad para mantener el periodo de apnea o para mantenerse quieto durante la exploración.
- Claustrofobia.

### **3.- Metodología**

#### **3.1.- Protocolo del estudio**

De todos los pacientes citados diariamente en la consulta externa de nefrología, se seleccionaron de forma consecutiva aquellos que reunían los criterios de inclusión. Esta selección fue realizada por los diferentes facultativos especialistas en nefrología, quienes informaban a los pacientes sobre los objetivos y procedimientos del estudio y, tras obtener el consentimiento para participar (Anexo1), se citaron para la realización de una TCMC y de una analítica de sangre. El mismo procedimiento se realizó para los pacientes reclutados desde las unidades de hemodiálisis del Hospital Universitario Príncipe de Asturias y del Hospital Universitario de Guadalajara.

#### **3.2.- Diseño experimental**

El diseño concreto realizado para cada uno de los objetivos fue el siguiente:

-Objetivo principal: estudio longitudinal, observacional, analítico y prospectivo, sin intervención.

-Objetivos secundarios: estudio transversal descriptivo.

#### **3.3.- Cálculo de tamaño muestral**

Se calculó en base al objetivo principal del estudio. Basándonos en los datos reportados en varias citas bibliográficas y para una sensibilidad del 90%, una diferencia máxima con la sensibilidad en población del 5% (0.05) y un intervalo de confianza del 95%.

### 3.4.- Variables de estudio

#### 3.4.1.- Variables predictoras

- Variables principales

- *Valoración de la expresión de Cbfa1 en monocitos de sangre periférica:*

En el momento de extracción de la sangre para la determinación de las diferentes variables bioquímicas, se procedió también a la extracción de 10 ml de sangre en tubos conteniendo EDTA. A continuación se enviaron las muestras al laboratorio de la fundación de investigación biomédica del Hospital Universitario Príncipe de Asturias, donde se aislaron las células mononucleadas de sangre periférica (PBMC). En esas células se analizó el contenido proteico del factor Cbfa-1, mediante la técnica de Western blot, utilizando para ello un anticuerpo específico comercial. (Anexo 6).

- *Estudio de la enfermedad vascular coronaria (cuantificación de calcio coronario por tomografía computarizada multicorte):*

Se procedió a la realización de TCMC para la determinación no invasiva de CAC en el momento de la inclusión. Se realizó a todos los pacientes que cumplían los criterios de inclusión/exclusión en el servicio de Radiodiagnóstico del Hospital Universitario Príncipe de Asturias. Se utilizó una TCMC de 16 detectores Light Speed Plus GE medical System. (figura 16). El protocolo de la realización de la prueba y de la cuantificación del calcio coronario o el score de calcio (CCS) se recogen en el anexo 7.



*Figura 16.- TCMC para la cuantificación del calcio coronario*

- Variables secundarias

- *Variables clínicas:*

En todos los pacientes, en el momento de su inclusión en el estudio, se registraron las distintas variables clínicas a través de un cuestionario dirigido. (Hoja de recogida de datos, Anexo 2 y 3). Se recogieron variables de RCV (Tabla 6) y variables relacionadas con la ERC (Tabla 7).

*Tabla 6.- Variables de RCV*

<b><u>Edad</u> (años):</b> <i>(Variable cuantitativa continua)</i>	
<b><u>Sexo:</u></b> <i>(Variable dicotómica)</i>	
<b><u>IMC</u> (Kg/m<sup>2</sup>):</b> <i>(Variable cuantitativa continua)</i>	
<b><u>Tabaco:</u></b> Frecuencia <i>(Variable policotómica)</i> y Hábito acumulado (paquetes/año) <i>(Variable cuantitativa continua)</i>	
<b><u>DM:</u></b> Tiempo de evolución (años) <i>(Variable cuantitativa continua)</i> . Tratamiento con insulina <i>(Variable dicotómica)</i> . Microangiopatía <i>(Variable dicotómica)</i>	
<b><u>HTA:</u></b> <i>(Variable ordinal)</i>	
-TA normal	-Grado II: moderada, 169-160/109-100
-TA normal con tratamiento	-Grado II con tratamiento
-Grado I: leve, 159-140/99-90	-Grado III: severa, 209-180/119-110
-Grado I con tratamiento	-Grado III con tratamiento
<b><u>Actividad física:</u></b> <i>(Variable ordinal)</i>	
Vida sedentaria / Ejercicio leve / Ejercicio moderado / Vida activa	
<b><u>Antecedentes de ECV previos:</u></b> <i>(Variable policotómica)</i>	
- Enfermedad coronaria	- Vasculopatía periférica
- Enfermedad cerebrovascular	- Amputación
- Trombosis vascular	

Tabla.7.-Variables relacionadas con la ERC

**Etiología de la ERC:** (Variable policotómica)

- Nefropatía vascular
- Nefropatía no filiada
- Nefropatía intersticial
- Nefropatía diabética (ND)
- Nefropatía glomerular
- Nefropatía hipertensiva (NAE)
- Nefropatía hereditaria

**Tiempo de evolución de ERC (años):** (Variable cuantitativa continua)

**ERC en el momento de inclusión:** (Variable dicotómica)

ERC estadio 4-5 / ERC en hemodiálisis

**Terapia renal sustitutiva:**

- Tiempo de permanencia (años) (Variable cuantitativa continua)
- Membrana de diálisis: (Variable policotómica)
  - Celulósicas / Polisulfona de baja permeabilidad / Polisulfona de alta permeabilidad
- Calcio en baño de diálisis: (Variable ordinal)
  - Bajo (0.80 mmol/l) / Normal (1.25 mmol/l) / Alto (1.75 mmol/l)

**Tratamientos recibidos:** Se registra la toma de los siguientes fármacos: (variable dicotómica)

- HTA: IECA / ARAII /  $\beta$ -bloqueantes / Antagonistas del calcio
- Prevención de RCV: Antiagregantes / Anticoagulantes / Estatinas
- Anemia: Agentes estimulantes de la eritropoyesis (AEE) / Hierro
- Hiperparatiroidismo 2º: Vitamina D / Quelantes de fósforo / Calcimiméticos

o *Variables analíticas:*

Se realizaron tras una extracción de sangre en ayunas, en un intervalo de 15 a 30 días de la realización de la TCMC. En los pacientes en HD se realizó la extracción previo tratamiento con diálisis y a través del acceso vascular. La creatinina (Cr), el colesterol total, el

colesterol asociado a HDL y los triglicéridos, se determinaron por métodos enzimáticos mediante un autoanalizador Olympus AU 5400 (Olympus Optical Co Ltd, Shunjoku, Japan). Para la medición del colesterol HDL se realizó la precipitación previa del colesterol VLDL y LDL mediante ácido fosfotúngico-Mg. El calcio, fósforo, urea y ac. úrico se determinaron mediante métodos colorimétricos, usando el autoanalizador de Roche (Boehringer Mannheim, Indianapolis, IN). La PTH intacta se determinó mediante radioinmunoensayo (Nichols Institute Diagnostic, San Juan Capistrano, CA). La albúmina, transferina y PCR se analizaron mediante métodos nefelométricos (BN IITM nephelometer, Siemens). En el caso de la ferritina, ha sido mediante inmunoquimioluminiscencia (Architect 2000, Abbott) y en cuanto a la Hb y Hcto, ha sido mediante contador hematológico (Culter). Los rangos de referencia para esas determinaciones se recogen en el anexo 5.

○ *Variables calculadas:*

Se determinaron a partir de los datos obtenidos de la historia clínica, y de los datos analíticos:

- Índice de masa corporal (IMC): se calculó como el cociente del peso en kilogramos y la talla al cuadrado expresada en metros ( $\text{Kg/m}^2$ )
- El colesterol LDL: se calculó a partir de la fórmula de Friedewald.

$$\text{colesterol LDL (mg/dl)} = \text{colesterol total} - (\text{colesterol HDL} + \text{Triglicéridos}/5).$$

- El aclaramiento de creatinina: se calculó a partir de una muestra de orina de 24 horas

$$\text{ClCr (ml/min)} = \text{Cr orina (mg/dl)} \times \text{volumen de orina} \times 1440 / \text{Cr plasma (mg/dl)}$$

- El índice de saturación de transferina (*IST*) =  $\text{Sideremia} / \text{Transferrinemia} \times 100$
- El Kt/V: mide la eficacia de la diálisis, representada por el aclaramiento total de la urea, donde K representa el aclaramiento de urea del dializador, (t) el tiempo de la diálisis y (V) el volumen de distribución de la urea. Se calculó mediante la fórmula de Daugirdas de 1993 :

$$\text{Kt/V} = -\text{Ln} [(C2/C1) - (0.008 * T)] + [ (4-3.5 *(C2/C1) ) * \text{UF/P}$$

*(C1 es la urea inicial, C2 es la urea final, T el tiempo de diálisis en horas y UF la diferencia de peso en el período pre-hemodiálisis y post-hemodiálisis).*

#### 3.4.2.- Variables resultado

- Mortalidad total y mortalidad de origen cardiovascular.
- Los ECV que ocurrieron desde el momento de inclusión hasta el desenlace, pérdida de seguimiento o final del estudio.

### **4. - Análisis estadístico**

#### **4.1.- Variables**

Todas las variables, recogidas inicialmente mediante un cuestionario específicamente diseñado para el estudio, fueron informatizadas y codificadas en una base de datos con el programa "Microsoft Excel 2003®". Para su análisis estadístico se exportaron al paquete "SPSS for Windows® 11.0". Los tipos de variables fueron, como se mencionó anteriormente en las tablas 6 y 7, cuantitativas, cuantitativas recodificadas, en este caso estableciendo como punto de corte la mediana, variables cualitativas, tanto dicotómicas como policotómicas y variables transformadas.

#### **4.2.- Distribución de las variables**

Con respecto a las variables cuantitativas, se determinó su ajuste a la distribución normal mediante la prueba de Kolmogorov-Smirnov, siendo la hipótesis nula que la variable sigue una distribución gaussiana. Por tanto, cuando las variables alcanzaron un grado de significación inferior a 0,05 se rechazó la hipótesis nula de distribución normal y en consecuencia se utilizaron pruebas "no paramétricas" para su análisis estadístico. El resto de las variables que siguen una distribución normal se analizaron mediante test estadísticos "paramétricos".

#### **4.3.- Estadística descriptiva de las variables del estudio**

- Los resultados de las variables cuantitativas con distribución normal se expresaron como media y desviación estándar.

- Las variables cuantitativas que no siguen una distribución normal se expresaron como mediana con sus rangos intercuartílicos.
- Las variables cualitativas se expresaron en términos de frecuencia absoluta y relativa.

#### 4.4.-Contrastes de hipótesis

Comparamos entre los distintos grupos mediante un análisis de la varianza, tras comprobar la homogeneidad de las varianzas, en caso de que la variable siguiese una distribución normal. En el caso de variables que no se ajustaban a la normalidad, comparabamos entre grupos mediante la *U-Mann Whitney* (comparación de grupos dos a dos) o mediante *Kruskal-Wallis* (varios grupos).

#### 4.5.-Estudio de asociación entre variables cuantitativas

Para investigar la asociación entre las variables cuantitativas continuas se calcularon los coeficientes de correlación  $r$  de Pearson y el coeficiente de determinación  $r^2$ , o rho de Spearman, también en función de su ajuste a la normalidad. En la interpretación de la importancia de las correlaciones se aplicó la regla de Colton (Tabla 8).

Tabla 8. La interpretación de las correlaciones según la regla de Colton

Correlación	Significado
0 a 0.25 0 a -0.25	Muy poca o ninguna relación
0.25 a 0.50 -0.25 a -0.50	Grado mínimo de relación
0.50 a 0.75 -0.50 a -0.75	Relación moderada a buena
< 0.75 a > -0.75	Relación buena a excelente

La asociación de las variables predictoras principales (CCS y Cbfa-1) con los eventos se analizó mediante tablas 2 x 2, y se calculó el chi-cuadrado y el odds ratio (OR) con sus IC 95%.

*Tabla 9. Tabla 2x2 para el cálculo del grado de asociación de cada una de las variables predictoras principales y los ECV.*

		ECV	
		Si	No
Variable predictor principal	Pos	a VP	b FP
	Neg	c FN	d VN

*Pos: positivo. Neg: negativo. VP: verdaderos positivos. FP: falsos positivos. FN: falsos negativos. VN: verdaderos negativos.*

Se ha evaluado la asociación entre cada variable del estudio y la variable resultado mortalidad total y mortalidad CV o ECV, considerando como variables principales el CCS y el Cbfa-1. A continuación se ha buscado mediante análisis estratificado la presencia de interacción producida por otras variables, mediante la prueba de heterogeneidad de *Log-Rank*, siendo la hipótesis nula que no hay interacción. Seguidamente, y en ausencia de interacción, se ha buscado la presencia de confusión, para lo cual se ha comparado la Odds Ratio “cruda” ( $OR_C$ ) con la Odds Ratio de *Mantel-Haenszel* ( $OR_{MH}$ ), considerándose presencia de confusión cuando ambas OR diferían en más de un 10%. A continuación se ha realizado el análisis multivariado de regresión logística para buscar la OR de la variable principal del estudio ajustada por las otras variables que hayan causado interacción o confusión sobre el efecto de la variable principal. La introducción de las variables se ha realizado de forma manual. En un primer modelo se incluyeron todas las variables que cumplían los criterios enunciados, constituyendo el modelo completo o “máximo”. Se utilizó el estadístico de *Wald* como criterio de decisión de mantenimiento o retirada de una variable del modelo. A partir de éste, se ha ido retirando una a una cada variable que no resultaba significativa en el test de *Wald*, hasta llegar al modelo final, que es el que mejor se ajusta. Se ha buscado la presencia de colinealidad entre variables. Se ha comprobado la validez del ajuste del modelo mediante la prueba de *Hosmer-Lemeshow*, cuya hipótesis nula es que el modelo sí se ajusta o, dicho de otro modo, que no existen diferencias entre las frecuencias observadas y las predichas. Se ha

calculado la sensibilidad, especificidad, porcentaje de clasificación correcta del modelo, así como la capacidad predictiva del modelo, el área bajo la curva.

#### **4.6.- Análisis de supervivencia**

En primer lugar la comparación entre los grupos -los que presentaban índices de CCS más altos frente a los de índices más bajos mediante el método de *Kaplan-Meier* y la significación de la diferencia mediante el test de *Log Rank*. En segundo lugar la comprobación de que se cumple la asunción de proporcionalidad a lo largo del tiempo, esto se ha realizado examinando las curvas de supervivencia acumulada, cambiando la escala a logarítmica.

#### **4.7.- Estudio de la cuantificación de la diferencia de efecto mediante regresión de Cox**

Estudio de la asociación entre cada variable del estudio y la variable resultado – mortalidad total y mortalidad CV o ECV-. Se ha considerado como variable principal el CCS y Cbfa-1. A continuación se ha realizado el análisis multivariado de regresión de Cox para buscar el HR de la variable principal. En primer lugar se ha buscado la presencia de interacción producida por otras variables, introduciendo la “variable interacción” en el modelo, siendo la hipótesis nula que no hay interacción, seguidamente, y en ausencia de interacción, se ha buscado la presencia de confusión, estableciéndose que existía confusión cuando la presencia de la variable en el modelo modificaba en un 10 % o más el HR de la variable principal. A continuación se ha buscado el Hazard Ratio –HR- de la variable principal ajustada por las otras variables que hayan causado interacción o confusión sobre el efecto de la variable principal. La introducción de las variables se ha realizado de forma manual. En un primer modelo se incluyen todas las variables que cumplan los criterios enunciados, constituyendo el modelo completo o “máximo”. A partir de éste, se ha ido retirando una a una cada variable que no resultaba significativa en el test de *Wald*, hasta llegar al modelo final, que es el que mejor se ajusta.

Se ha analizado la asunción de proporcionalidad del modelo, esto es, comprobar que el efecto de la variable principal se mantiene constante a lo largo del tiempo, introduciendo la interacción de esa variable con la variable tiempo expresada en forma de logaritmo neperiano –ln-. La hipótesis nula es que el efecto es proporcional a lo largo del tiempo.

#### **4.8.- Otras consideraciones**

Todos los contrastes estadísticos se han realizado, salvo que se indique lo contrario, de forma bilateral, es decir, se ha calculado la “p” de 2 colas. En cuanto a la precisión de las mediciones se aportaron los intervalos de confianza (IC) del 95% de las estimaciones, siempre que fue posible. Para el cálculo de estos intervalos se ha empleado el método de Miettinen .

#### **5.- Consideraciones éticas y financiación**

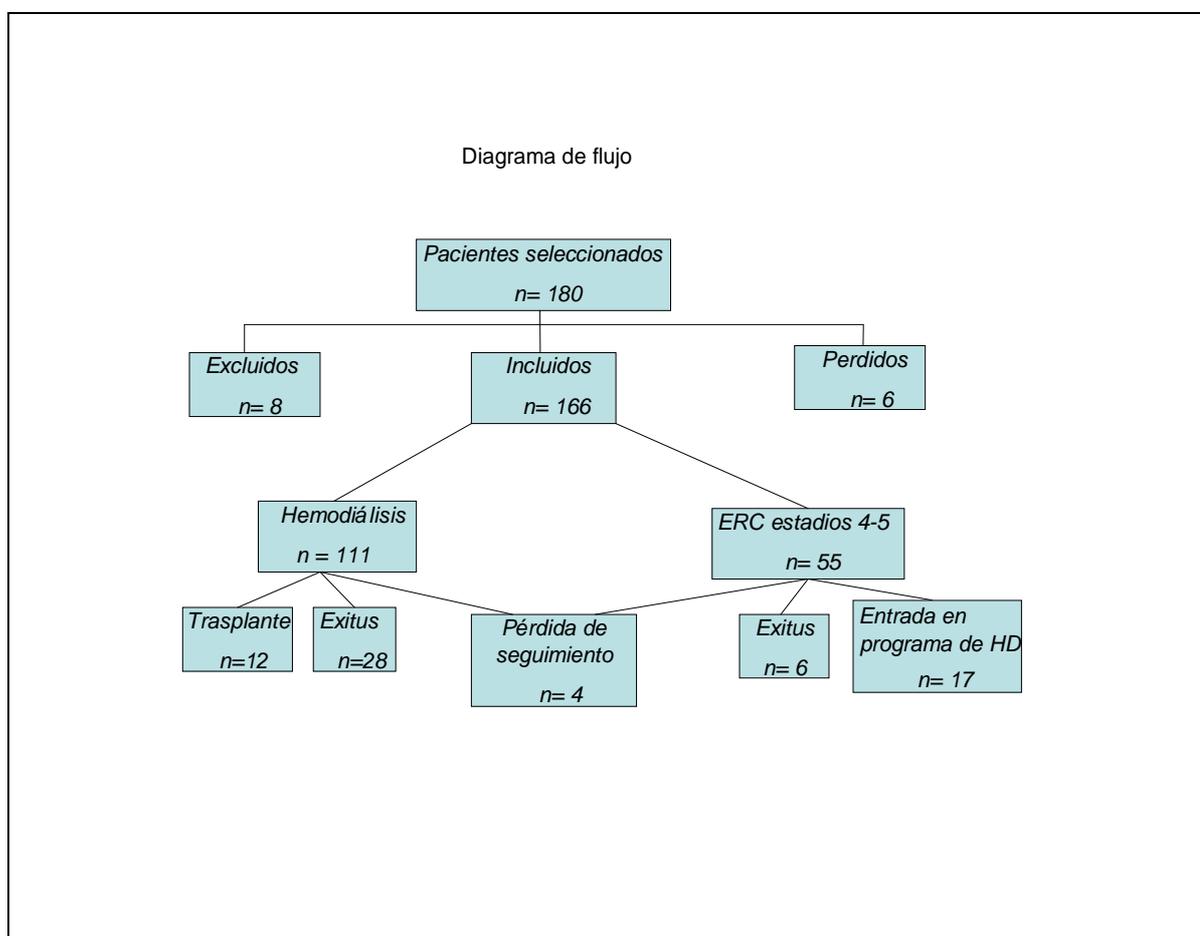
El protocolo de estudio de este trabajo fue aprobado por la Comisión de Ética e Investigación Clínica del Hospital Universitario Príncipe de Asturias con fecha de 1 de diciembre de 2004. La participación en el estudio dependió del consentimiento informado de los pacientes. A lo largo del estudio se mantuvo la confidencialidad de los datos personales y médicos de los pacientes, de acuerdo con la L.O.15/1999. Al tratarse de un estudio observacional, en el supuesto de haberse detectado cualquier problema de salud no conocido con anterioridad, incluida alguna anomalía analítica o la detección de arteriosclerosis subclínica, se informaba al médico que realiza habitualmente el seguimiento del paciente, mediante informe redactado, con el objetivo de tomar las decisiones terapéuticas o preventivas más oportunas.

El estudio fue financiado mediante una beca del fondo de investigación sanitaria.

# ***RESULTADOS***

## **1.- Resultados del proceso de inclusión de pacientes en el estudio**

De los 180 pacientes elegibles, fueron incluidos finalmente en el estudio 166. Los motivos por los que se excluyeron 8 pacientes fueron: fibrilación auricular con respuesta ventricular rápida (n=5), presencia de "stent" coronario (n=1), presencia de válvula protésica aórtica (n=1) y problemas de movilidad (n=1). La pérdida de 6 pacientes se debió a retirada de consentimiento informado en caso de 3 pacientes y a traslado a otros centros en caso de otros 3 pacientes. Hubo pérdida de 4 pacientes a lo largo del seguimiento, por traslado a otros centros (Figura 1).



*Figura.1- Diagrama de seguimiento*

## 2.- Características basales de los pacientes incluidos en el estudio

### 2.1.- Características demográficas y clínicas

**Tabla.1- Variables demográficas en ambos grupos**

<b>Variables</b>	<b>Pacientes ERC</b> <b>estadios 4-5 (n=55)</b>	<b>Pacientes HD</b> <b>(n=111)</b>	<b>p</b>
	<b>n (%) / Media ± DS</b>		
<b>Sexo</b>			
-♂	27 (49.1)	63 (56.8)	0.35
-♀	28 (50.9)	48 (43.2)	
<b>Edad</b>	65.7 ± 12.5	64.3 ± 15.0	0.17
<30	0	3 (2.7)	0.68
30-40	1(1.8)	5 (4.5)	
40-50	6(10.9)	12 (10.8)	
50-60	12(21.8)	18 (16.2)	
60-70	14(25.5)	25 (22.5)	
>70	22(40)	48 (43.2)	

Las variables cualitativas se expresan en frecuencia absoluta ( $n^\circ$ ) y relativa (%) y la diferencia entre ambos grupos (ERC vs HD) con la  $p$  de "t de student". Las variables cuantitativas se expresan en media  $\pm$  DS y la diferencia entre grupos se halla con la  $p$  de la  $\chi^2$ .

La muestra total de pacientes estaba compuesta por 76 mujeres y 90 varones, lo que representó 45,6 % y 54,4 % respectivamente. La media de edad fue de  $64.4 \pm 14.5$  años, con una distribución heterogénea a lo largo de todo el rango de edades con un claro dominio a partir de los 70 años, con un 42.2 %. No hubo diferencias entre grupos en cuanto a edad y sexo. En cuanto a la etiología de la ERC había 111 pacientes en HD y 55 pacientes con ERC 4-5 o en estadio prediálisis, lo que suponía un 66,8% %, y un 33,1 % respectivamente, del total de pacientes. Las etiologías más frecuentes de la ERC fueron la nefropatía intersticial y la nefropatía glomerular con un 21.3 % cada una, y la nefropatía diabética, con un 20 %. No hubo diferencias significativas entre grupos en cuanto a etiología de la ERC ( $p$  0.08) (Figura 2).

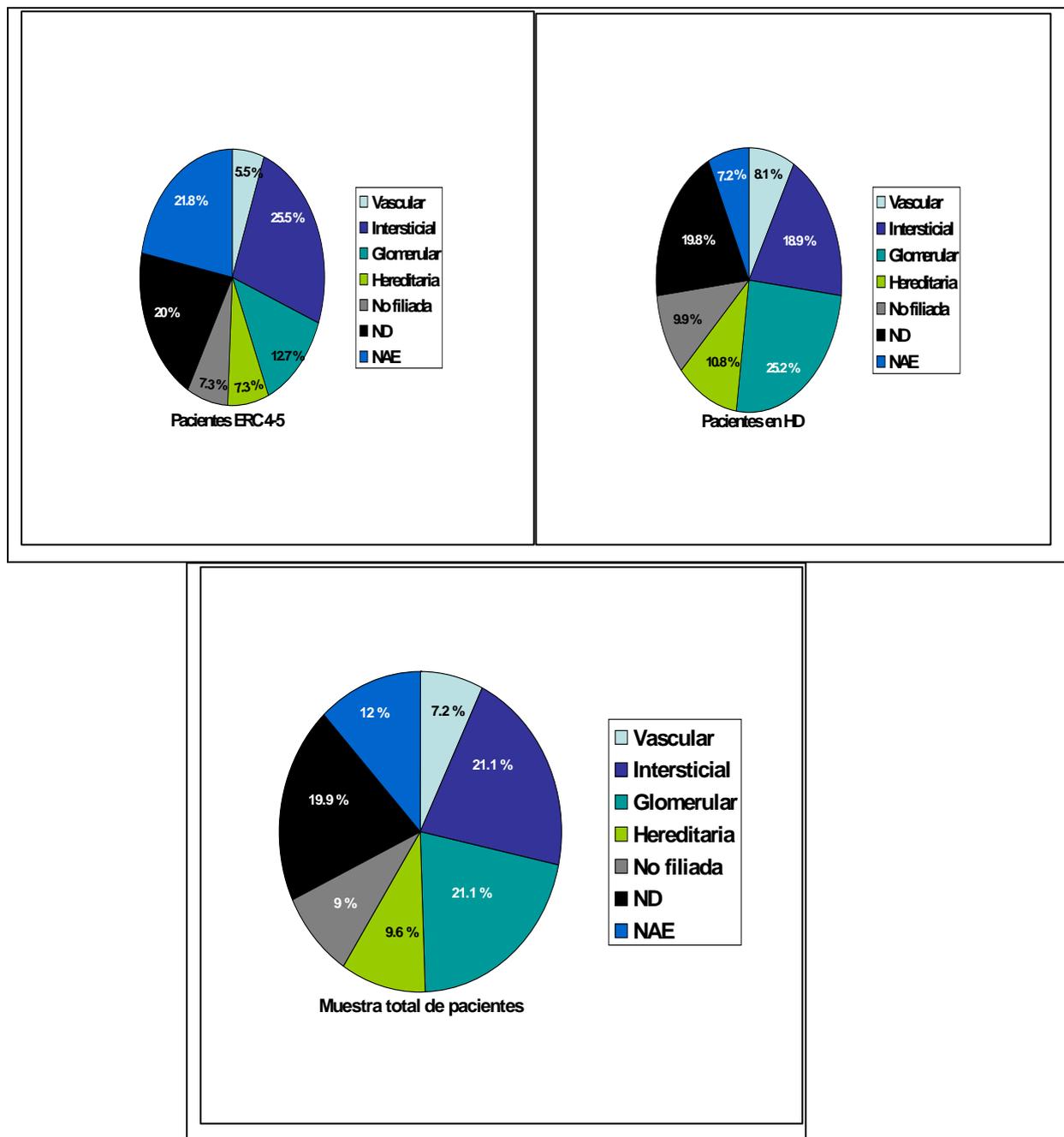


Figura 2.- Etiología de la ERC en los pacientes estudiados. ND: nefropatía diabética. NAE: nefroangiosclerosis.

Se han evaluado los tratamientos utilizados en la ERC, sobre todo aquellos con impacto sobre el metabolismo calcio-fósforo y se encontraron diferencias significativas entre ambos grupos en prácticamente todos los tratamientos recibidos. Los pacientes en HD recibían más agentes estimulantes de la eritropoyesis (AEE), más quelantes de fósforo, tanto

cálcicos como no cálcicos, y más calcimiméticos. (Tabla 2). Analizando las variables ligadas a la terapia renal sustitutiva, se encontró que un 40% de los pacientes en HD se dializaba con una membrana de alta eficacia dialítica y que en un 86% de los casos el baño de diálisis utilizado era el estándar o normal en calcio (Tabla 3).

**Tabla.2- Proporción de los diferentes tratamientos utilizados habitualmente en la ERC, en ambos grupos**

<i>Variables</i>	<i>Pacientes ERC</i>	<i>Pacientes HD</i>	<i>p</i>
	<i>estadios 4-5 (n=55)</i>	<i>(n=111)</i>	
	<i>n (%) / Mediana (p25-p75)</i>		
AEE	41 (74.5)	106 (95.5)	<0.001
Calcio	15 (27.3)	78 (70.3)	<0.001
Ca g /día	0 (0-0.5)	2 (0-3.5)	<0.001
Al	0	20 (18)	0.001
Sevelamer	2 (3.6)	61(55)	<0.001
Vitamina D	22 (40)	54 (48.6)	0.29
Cinacalcet	0	17 (15.3)	0.002

*Las variables están representadas en frecuencia absoluta (nº) y relativa (%) y en caso de la ingesta de calcio elemento por paciente (Ca g/día) está representada en mediana (p25-p75). La diferencia entre grupos está representada con la p de chi2, salvo en el caso de Ca g/día que está representada con la p de la U-M-W. AEE: agentes estimulantes de la eritropoyésis. Ca g/día: la ingesta de calcio elemento por paciente. Al: hidróxido de aluminio.*

**Tabla.3-Variables relacionadas con el tratamiento renal sustitutivo**

<b><u>Variables (n = 111)</u></b>	<b><u>n (%) / Mediana (p25-p75) / Media ± DS</u></b>
Tiempo de permanencia en HD (meses)	27.6 (10.6-97.4)
Kt/v (Daugirdas 93)	1.42 ± 0.32
<b>Membrana de diálisis</b>	
Celulósicas	17 (15.3)
PS de baja permeabilidad	49 (44.1)
PS de alta permeabilidad	45 (40.5)
<b>Baño de diálisis</b>	
Bajo en calcio	7 (6.3)
Normal en calcio	96 (86.5)
Alto en calcio	8 (7.2)

El tiempo de permanencia en diálisis está representado en Mediana (p25 - p75) y el Kt/v en media ± DS. En cuanto al resto de variables de la tabla están representadas en frecuencia absoluta (n°) y relativa (%). Kt/v: según la fórmula de Daugirdas 93, es un parámetro que mide la eficacia dialítica. PS: polisulfona. Los distintos baños de diálisis según su contenido en calcio: bajo en calcio (0.8 mmol/l), normal en calcio (1.25-1.50 mmol/l) y alto en calcio (1.75 mmol/l).

Se analizaron los FRCV clásicos en ambos grupos, habiendo diferencias significativas en cuanto a IMC, presencia de HTA y de sedentarismo (Tabla 4) y en cuanto a prevalencia de enfermedad cardiovascular previa. Esta mayor prevalencia de enfermedad cardiovascular previa observada en los pacientes en HD es fundamentalmente a expensas de una mayor prevalencia de eventos trombóticos. No se encontraron diferencias significativas con las otras variables de RCV (Tabla 5).

**Tabla.4- Factores de riesgo cardiovascular clásicos en ambos grupos**

<b>Variables</b>	<b>Pacientes ERC</b> <i>estadios 4-5 (n=55)</i>	<b>Pacientes HD</b> <i>(n=111)</i>	<b>p</b>
	<b>n (%) / Media ± DS</b>		
<b><u>IMC (Kg /m<sup>2</sup>)</u></b>	27.8 ± 6.3	25.4 ± 5.6	0.04
Bajo	0	5 (5.4)	0.32
Normal	14 (42.4)	47 (51.1)	
Sobrepeso	10 (30.3)	24 (26.1)	
Obesidad I	7 (21.2)	10 (10.9)	
Obesidad II	0	3 (3.3)	
Obesidad III	2 (6.1)	3 (3.3)	
<b><u>DM</u></b>	16 (29.1)	32 (28.8)	0.97
Tt° insulina	10 (62.5)	23 (71.9)	0.50
DM sistémica	12 (75)	26 (81.3)	0.61
DM (Años)	19.2 ± 7.6	14.5 ± 8.1	0.07
<b><u>Tabaco</u></b>			
Fumadores	5 (9.1)	12 (10.8)	0.69
Ex-fumadores	14 (25.5)	22 (19.8)	
Tabaco (Años)	30 ± 12.1	26.1 ± 11.1	0.24
Paquetes/año	28 ± 21	22 ± 18	0.24
<b><u>HTA</u></b>	49 (89.1)	82 (73.9)	0.02
<b><u>Sedentarismo</u></b>	5 (9.1)	28 (25.2)	0.01

Las variables cualitativas están representadas en frecuencia absoluta (nº) y relativa (%), y la diferencia entre grupos con la p de chi2. Las variables cuantitativas están representadas en media ± DS y la diferencia entre grupos con la p de t de student. IMC: índice de masa corporal. DM: diabetes mellitus. HTA: hipertensión arterial.

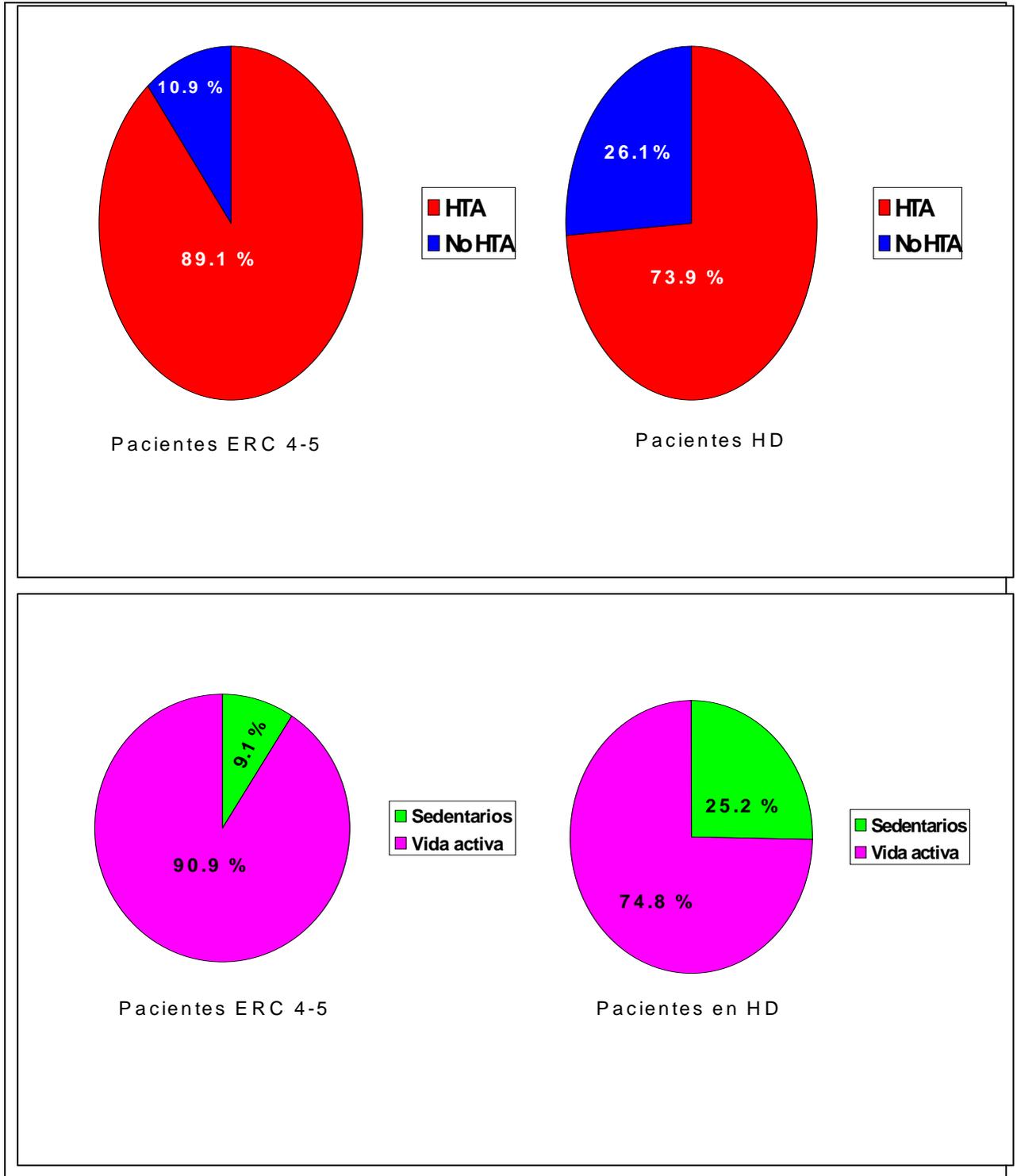


Figura 3.- Prevalencia de HTA y de hábito de vida sedentaria en ambos grupos.

**Tabla.5- Prevalencia de enfermedad cardiovascular previa en ambos grupos**

<b>Variables</b>	<b>Pacientes ERC estadios 4-5 (n=55)</b>	<b>Pacientes HD (n=111)</b>	<b>p</b>
	<b>n° (%)</b>		
<b><u>ECV previos</u></b>	22 (40)	67 (60.4)	0.01
Trombosis	6 (10.9)	34(30.6)	0.005
Angor	13 (23.6)	23(20.7)	0.66
IAM	11 (20)	14(12.6)	0.21
AIT	4 (7.3)	11 (9.9)	0.57
ACVA	3 (5.5)	15 (13.5)	0.11
Vasculopatía	13 (23.6)	36 (32.4)	0.24
Amputación	2 (3.6)	6 (5.4)	0.61
<b><u>Tratamiento farmacológico</u></b>			
AAS	14 (25.4)	44 (39.6)	0.07
ACO	8 (14.5)	20 (18)	0.57
Estatinas	26 (47.3)	43 (38.7)	0.29

Las variables se expresan en frecuencias absolutas (n°) y relativas (%). La diferencia entre grupos está reflejada con la p de la Chi2. ECV: eventos cardiovasculares previos. IAM: infarto agudo de miocardio. AIT: accidente isquémico transitorio. ACVA: accidente cerebrovascular agudo. AAS: ácido acetil salicílico. ACO: antociagulantes orales.

## **2.2.- Variables analíticas**

Se analizaron las distintas variables bioquímicas, las relacionadas con el RCV y aquellas relacionadas con la función renal, valorando la existencia de diferencias significativas entre ambos grupos. Destaca la presencia de una mayor concentración de albúmina plasmática y de unos niveles de PCR menores en los pacientes prediálisis. Asimismo, esos pacientes tienen mayores niveles de colesterol total, colesterol-LDL y HDL y mayores niveles de Hb. Los pacientes en HD, a su vez, muestran niveles de triglicéridos y de ferritina más altos (Tabla 6).

**Tabla.6- Las variables de laboratorio relacionadas con el riesgo cardiovascular en los dos grupos**

<i>Variables</i>	<i>Pacientes ERC estadios 4-5 (n=55)</i>	<i>Pacientes HD (n=111)</i>	<i>p</i>
	<i>Media ± DS / Mediana (p25-p75)</i>		
<b><u>Nutrición / inflamación</u></b>			
Albúmina (mg/dl)	4.3 (0.4)	3.8 (3.3-4.1)	<0.001
PCR (pg/l)	4.2 (3-12)	7.4 (3-19)	0.06
Úrico (mg/dl)	7.3 ± 1.8	6.9 ± 1.4	0.1
<b><u>Metabolismo lipídico</u></b>			
Colesterol (mg/dl)	202 ± 49	162 ± 39	<0.001
LDL-Col (mg/dl)	123 ± 42	84 ± 31	<0.001
HDL-Col (mg/dl)	49 (33-47)	39 (33-48)	<0.001
Triglicéridos (mg/dl)	138 (90-166)	158 (104-232)	0.06
<b><u>Anemia</u></b>			
Hb (g/dl)	12.6 ± 1.1	12.0 ± 1.6	0.006
Hcto (%)	38.2 ± 3.5	36.6 ± 4.7	0.001
Ferritina (mg/dl)	98 (50-215)	459 (265-700)	<0.001
Transferina (mg/dl)	209 ± 47	158 ± 35	<0.001
IST (%)	27 (12)	23 (17-37)	0.99

Las variables se expresan en media ± DS o mediana (p25-p75) en función de su ajuste o no a la normalidad. La diferencia entre grupos se halla con la *p*, de “*t* de student” o de la *U-M-W*, en función también del ajuste o no a la normalidad. PCR: proteína C reactiva. Úrico: ácido úrico. LDL: lipoproteína de baja densidad. HDL: lipoproteína de alta densidad. Hb: hemoglobina. Hcto: hematocrito. IST: índice de saturación de transferina.

Analizando las variables relacionadas con la ERC, como cabe de esperar, los pacientes en HD muestran peor parámetros de función renal, en términos de niveles de creatinina y de urea ( $p < 0.001$ ), y mayores alteraciones del metabolismo mineral, reflejadas por un producto calcio-fósforo alto ( $p 0.007$ ) (Tabla 7).

**Tabla.7- Parámetros de laboratorio relacionados con la función renal**

<b>Variables</b>	<b>Pacientes ERC estadios 4-5 (n=55)</b>	<b>Pacientes HD (n=111)</b>	<b>p</b>
	<b>Media <math>\pm</math> DS / Mediana (p25-p75)</b>		
<b><u>Función renal</u></b>			
Cr (mg/dl)	3.6 $\pm$ 1.6	9.2 $\pm$ 2.6	<0.001
Urea (mg/dl)	137 $\pm$ 48	169 $\pm$ 44	<0.001
<b><u>Metabolismo Ca/P</u></b>			
Ca (mg/dl)	9.7 $\pm$ 0.6	9.5 $\pm$ 0.8	0.07
P (mg/dl)	4.4 $\pm$ 1.2	5.1 $\pm$ 1.6	0.004
Ca x P (mg <sup>2</sup> /dl <sup>2</sup> )	43 $\pm$ 10	49 $\pm$ 16	0.007
PTH (ng/ml)	189 (120-378)	256 (95-440)	0.48

Las variables se expresan en media  $\pm$  DS o en mediana (p25-p75) en función de su ajuste o no a la normalidad. La diferencia entre grupos se halla con la p, de "t de student" o de "U-M-W", en función también del ajuste o no a la normalidad. Cr: creatinina. Ca: calcio plasmático. P: fósforo plasmático. Ca x P: producto calcio-fósforo. PTH: hormona paratiroidea.

### **3.- Calcificaciones de arterias coronarias (CAC) y factor de transcripción Cbfa-1**

La figura 4 recoge las medianas del CCS medido en ambos grupos, tanto por el método volumétrico como por el método de Agatston. El CCS se evaluó en cada segmento del árbol coronario, y la suma de todos se refleja como el CCS total. Los pacientes en HD muestran unos CCS, tanto totales como por cada segmento coronario, significativamente mayores que en el otro grupo. Donde no se muestran diferencias es a nivel de la coronaria principal izquierda y a nivel de la descendente posterior. A su vez, esas 2 arterias coronarias son las que muestran menos calcificación.

Asimismo, se evaluó la expresión de Cbfa-1 en los monocitos de sangre periférica mediante la técnica de Western Blot, en controles sanos, pacientes prediálisis y pacientes en HD. No hubo diferencias entre grupos (p= 0.28). (Figura 5).

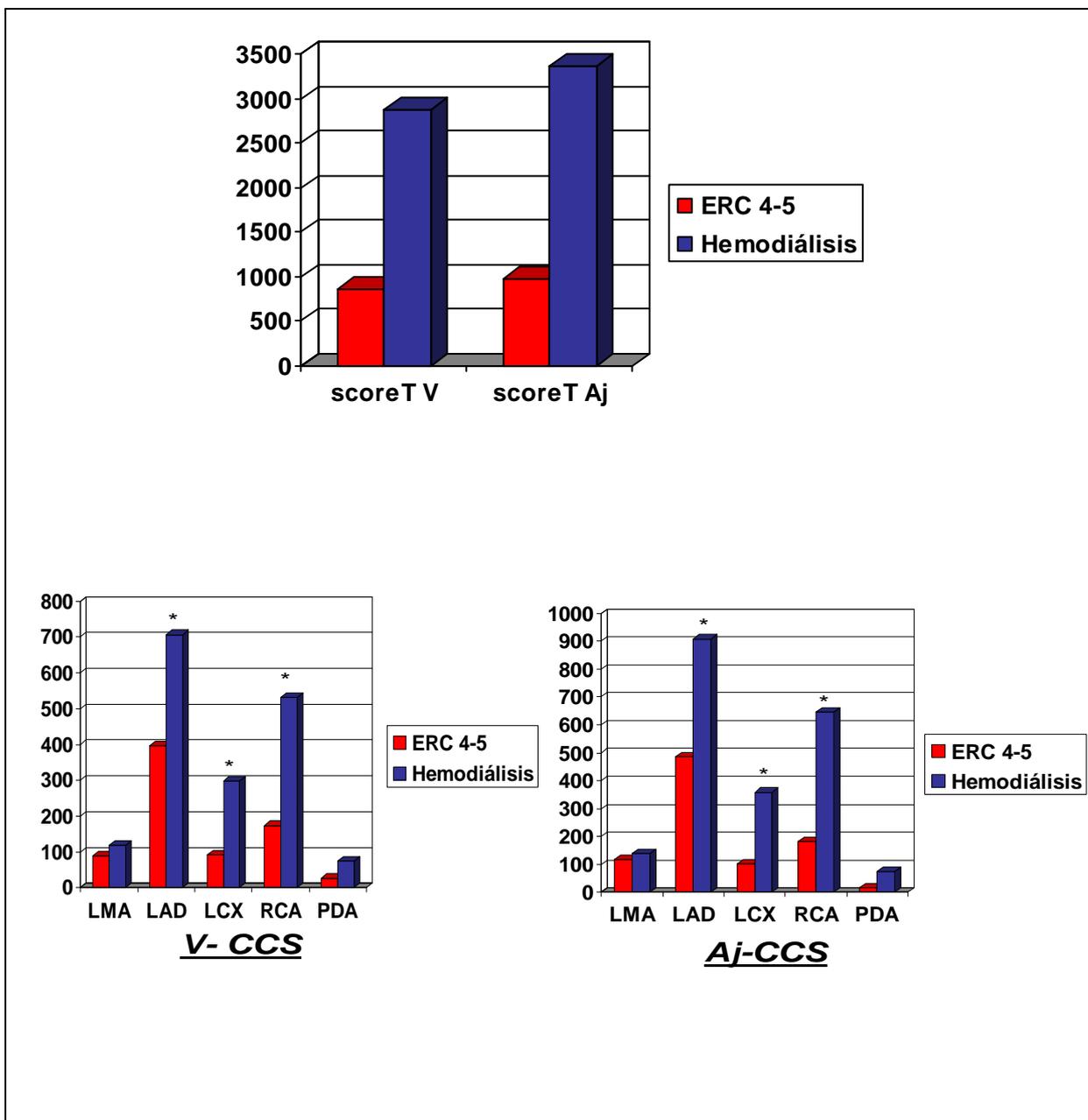


Figura.4.- Diferencias entre ambos grupos en cuanto al score de calcio coronario (CCS).  
 "\*": diferencias significativas. V-CCS: score de calcio basado en el volúmen de la calcificación. Aj-CCS: score de calcio basado en la superficie de la calcificación o también llamado método de Agatston. Score T: score de calcio total. LMA: coronaria principal izquierda. LAD: coronaria descendente anterior. LCX: circunfleja. RCA: coronaria derecha. PDA: descendente posterior.

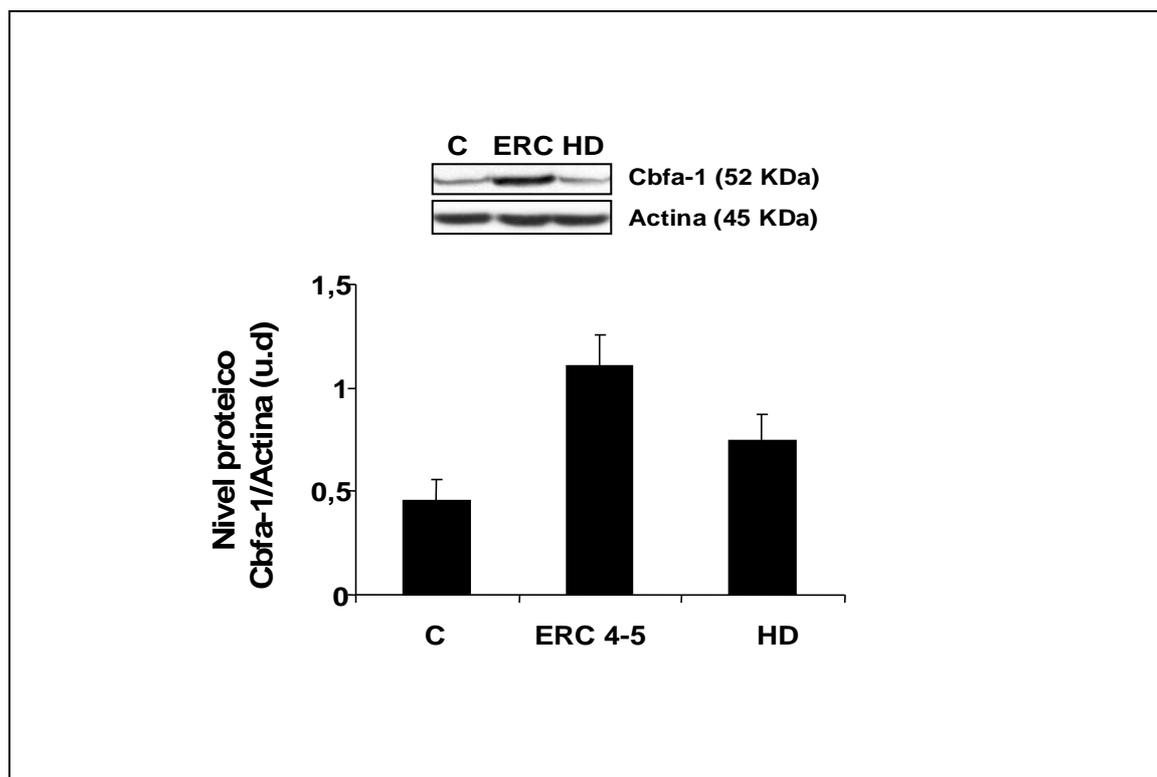


Figura.5. Expresión de *Cbfa-1* en los grupos estudiados. C: controles. ERC estadios 4-5 o prediálisis. HD: pacientes en hemodiálisis. En el panel superior se muestran los resultados de western blot de las muestras de pacientes estudiados y en el panel inferior las densidades ópticas de *cbfa-1* con respecto a su actina. Se estudiaron 10 pacientes controles con una media de *Cbfa-1* de  $0.45 \pm 0.1$ , 10 pacientes ERC estadios 4-5 con una media de  $0.82 \pm 0.56$  y 81 pacientes en HD con una media de  $0.64 \pm 0.46$ .

#### **4.- Factores relacionados con el desarrollo de CAC**

##### **4.1.- Análisis de las distintas variables estudiadas en función del grado de calcificación coronaria**

Para analizar los factores relacionados con el desarrollo de las CAC, se ha transformado la variable cuantitativa CCS total en variable ordinal que recoge 5 categorías de calcificación coronaria y a continuación, se han analizado las posibles asociaciones entre las variables estudiadas y el grado de calcificación coronaria, primero en la muestra total de pacientes y luego estudiando cada uno de los 2 grupos por separado, el grupo de pacientes en HD y el grupo prediálisis.

La tabla 8 recoge las asociaciones significativas entre las distintas variables del estudio y las CAC. A mayor edad, hábito tabáquico, PCR, triglicéridos, creatinina y urea, se observó

un mayor índice de calcificación coronaria. Por el contrario niveles más bajos de colesterol, albúmina y transferrina, se asociaron con los CCS más altos. En los pacientes en HD, se mantuvo la relación entre edad y albúmina y las CAC, pero además se encontraron otras asociaciones significativas, como es el caso de IMC y P con las CAC (Tabla 9). En cuanto a los pacientes prediálisis, además de la edad y la albúmina, se halló una asociación estadísticamente significativa de las CAC con los niveles de urea y de colesterol total y LDL. (Tabla 10).

**Tabla.8- Asociaciones entre las distintas variables y grados de calcificación coronaria en la muestra general**

<b><u>Variables</u></b>	<b><u>Mediana (p25- p75)</u></b>					<b>p</b>	<b>p*</b>
	<b><u>Categorías de CCS-Total</u></b>						
	<b><u>0</u></b>	<b><u>1-100</u></b>	<b><u>101-400</u></b>	<b><u>401-1000</u></b>	<b><u>&gt;1000</u></b>		
Edad (Años)	45.3 (34.6-53.6)	62.3 (53-71.2)	67.3 (57.4-79.8)	68.6 (57.6-76.8)	71.3 (64.8-76.7)	<0.001	<0.001
Tabaco (Años)	20 (15-26)	17 (10-32)	38 (29-45)	32 (25-40)	29 (15-30)	0.03	0.09
PCR (pg/l)	3.0 (3-11.8)	4.3 (3-10.1)	4.8 (3-18.8)	5.5 (3-15.6)	9.8 (3-18.2)	0.02	0.02
Col (mg/dl)	219 (155-238)	187 (143-202)	152 (126-210)	178 (140-205)	160 (136-192)	0.05	0.01
Trig (mg/dl)	145 (90-210)	134 (106-171)	112 (100-146)	145 (78-175)	183 (98-258)	0.02	0.02
Cr (mg/dl)	4.1 (2.9-8.7)	5.2 (3.5-8.7)	8.1 (2.9-11.3)	6.05 (3.3-10.2)	8.7 (5.8-10.6)	0.05	<0.006
Urea (mg/dl)	136 (105-170)	143 (127-198)	141 (103-179)	147.5 (105-182)	160 (141-236)	0.04	0.01
Alb (g/dl)	4.4 (3.9-4.6)	4.2 (3.8-4.4)	3.7 (3.2-4.3)	4.1 (3.8-4.3)	3.8 (3.3-4.1)	<0.001	<0.001
P (mg/dl)	5.2 (4.1-6.5)	4.1 (3.4-5.8)	4.2 (3.6-4.8)	4.7 (3.8-5.9)	4.8 (4.1-5.5)	0.06	0.49
Ca x P (mg <sup>2</sup> /dl <sup>2</sup> )	51 (41-60)	41 (33-58)	38 (32-47)	45 (36-59)	45 (39-54)	0.04	0.48
Transferrina (mg/dl)	195 (155-262)	174 (147-211)	141 (122-191)	183 (161.7-224)	163 (140-193)	0.01	0.03

Los resultados se expresan en mediana y rangos intercuartílicos entre paréntesis. La p del Test de Kruskal-Wallis marca la asociación entre la variable exposición y la variable respuesta y la p\* del Test Jonckheere-Terpstra marca la tendencia de esta asociación siendo

creciente o decreciente. PCR: proteína C reactiva. Col: colesterol total. Trig: triglicéridos. Cr: creatinina. Alb: albúmina. P: fósforo. Ca x P: producto calcio-fósforo.

**Tabla.9- Asociaciones significativas entre las distintas variables y grados de calcificación coronaria en HD**

<i>Variables</i>	<i>Mediana (p25- p75)</i>					<i>p</i>	<i>p*</i>
	<i>Categorías de CCS-Total</i>						
	<u>0</u>	<u>1-100</u>	<u>101-400</u>	<u>401-1000</u>	<u>&gt;1000</u>		
Edad (Años)	33.9 (23.8-43.4)	66.7 (52.0-75.6)	67.3 (53.1-74.1)	66.3 (56.3-74.7)	71.5 (63.7-76.9)	<0.001	<0.001
IMC (Kg/m2)	21 (21-23)	24 (19-27)	22 (22-26)	24 (22-31)	26 (23-29)	0.04	<0.003
Alb (g/dl)	3.9 (3.9-4.5)	4.0 (3.1-4.2)	3.3 (3.1-3.9)	3.9 (3.7-4.1)	3.5 (3.2-3.9)	0.01	0.09
P (mg/dl)	6.6 (6.1-7.1)	3.6 (2.9-7.8)	3.8 (3.5-5.0)	5.75 (4.7-6.2)	4.8 (4.2-5.7)	<0.005	0.25

Los resultados se expresan en mediana y rangos intercuartílicos entre paréntesis.

La *p* del Test de Kruskal-Wallis marca la asociación entre la variable exposición y la variable respuesta y la *p\** del Test Jonckheere-Terpstra marca la tendencia de esta asociación siendo creciente o decreciente. IMC: indice de masa corporal. Alb: albúmina. P: fósforo. Ca x P: producto cálcio-fósforo.

**Tabla.10.- Asociaciones significativas entre las distintas variables y grados de calcificación coronaria en ERC 4-5**

<b><u>Variables</u></b>	<b><u>Mediana (p25- p75)</u></b>					<b>p</b>	<b>p*</b>
	<b><u>Categorías de CCS-Total</u></b>						
	<b><u>0</u></b>	<b><u>1-100</u></b>	<b><u>101-400</u></b>	<b><u>401-1000</u></b>	<b><u>&gt;1000</u></b>		
Edad (Años)	51.3 (42.6-66.7)	57.8 (50.6-64.8)	64.9 (62.4-82.0)	72.5 (62.7-80.5)	69.3 (66.5-77.8)	<0.001	<0.001
Alb (g/dl)	4.4 (4.3-4.7)	4.4 (4.0-4.7)	4.4 (4.0-4.8)	4.2 (4.0-4.3)	4.0 (3.9-4.2)	0.05	<0.003
Urea (mg/dl)	129 (104-145)	132 (115-168)	96 (68-116)	114 (84-162)	160 (138-193)	<0.004	0.12
Col (mg/dl)	230 (209-242)	190 (172-211)	204 (148-238)	185 (168-213)	191 (139-239)	0.03	<0.003
LDL-Col (mg/dl)	21 (136-153)	24 (90-140)	22 (80-167)	24 (96-136)	26 (715-130)	0.04	0.01

Los resultados se expresan en mediana y rangos intercuartílicos entre paréntesis. La p del Test de Kruskal-Wallis marca la asociación entre la variable exposición y la variable respuesta y la p\* del Test Jonckheere-Terpstra marca la tendencia de esta asociación siendo creciente o decreciente. Alb: albúmina. Col: colesterol total. LDL: lipoproteína de baja densidad.

#### **4.2.- Correlación estadística entre las distintas variables estudiadas y el grado de calcificación coronaria**

Para analizar la presencia de posibles asociaciones significativas adicionales entre las CAC y las demás variables estudiadas, se realizó un análisis de correlación, calculando el coeficiente de correlación de pearson (r) y el coeficiente de determinación (r)<sup>2</sup>, y siguiendo el mismo esquema anterior, primero analizando el total de pacientes y a continuación cada uno de los 2 grupos por separado.

La tabla 11 recoge las distintas correlaciones con significación estadística en la muestra total de pacientes, aunque mostrando la mayoría de ellas muy poca o ninguna relación con las CAC a la hora de interpretarlas según la regla de Colton. Como asociaciones más importantes destacan tanto la edad como los niveles de albúmina, hecho que ya hemos corroborado en el análisis de la varianza.

**Tabla 11. Correlaciones significativas del CCS con el resto de las variables en la muestra general**

<b>Variables</b>	<b>"r"</b>	<b>"r<sup>2</sup>"</b>	<b>p</b>
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	0.19	0.03	0.04
Edad (Años)	0.37	0.13	<0.001
Alb (g/dl)	-0.34	-0.11	<0.001
Col (mg/dl)	-0.19	-0.03	0.02
LDL-Col (mg/dl)	-0.19	-0.03	0.02
HDL-Col (mg/dl)	-0.19	-0.03	0.02
Trig (mg/dl)	0.16	0.02	0.04
Cr (mg/dl)	0.24	0.05	0.004
Urea (mg/dl)	0.23	0.05	0.007
Ferritina (mg/dl)	0.22	0.04	0.009
Hb (g/dl)	-0.18	-0.03	0.03
PCR (pg/l)	0.18	0.03	0.03

*CCS: coronary calcium score o score de calcio coronario. "r": Coeficiente de correlación de Pearson. "r<sup>2</sup>": coeficiente de determinación. IMC: índice de masa corporal. Alb: albúmina. Col: colesterol total. LDL: lipoproteínas de baja densidad. HDL: lipoproteínas de baja densidad. Trig: triglicéridos. Cr: creatinina. Hb: hemoglobina. PCR: proteína C reactiva.*

Analizando los pacientes en HD destaca una buena correlación entre las CAC y el tiempo de evolución de la DM, siendo un 40 % de los pacientes con más tiempo de evolución de DM los que tienen los CCS más altos (Tabla 12 y figura 6). En los pacientes prediálisis se mantienen las mismas asociaciones significativas ya halladas con el análisis anterior (tabla 13).

**Tabla 12.- Correlaciones significativas del CCS con el resto de las variables en HD**

<i>Variables</i>	<i>"r"</i>	<i>"r<sup>2</sup>"</i>	<i>p</i>
IMC (Kg/m2)	0.28	0.07	0.01
Edad (Años)	0.32	0.10	<0.003
DM (Años)	0.66	0.43	<0.009

CCS: coronary calcium score o score de calcio coronario. "r": Coeficiente de correlación de Pearson. "r<sup>2</sup>": coeficiente de determinación. IMC: índice de masa corporal. DM: diabetes mellitus.

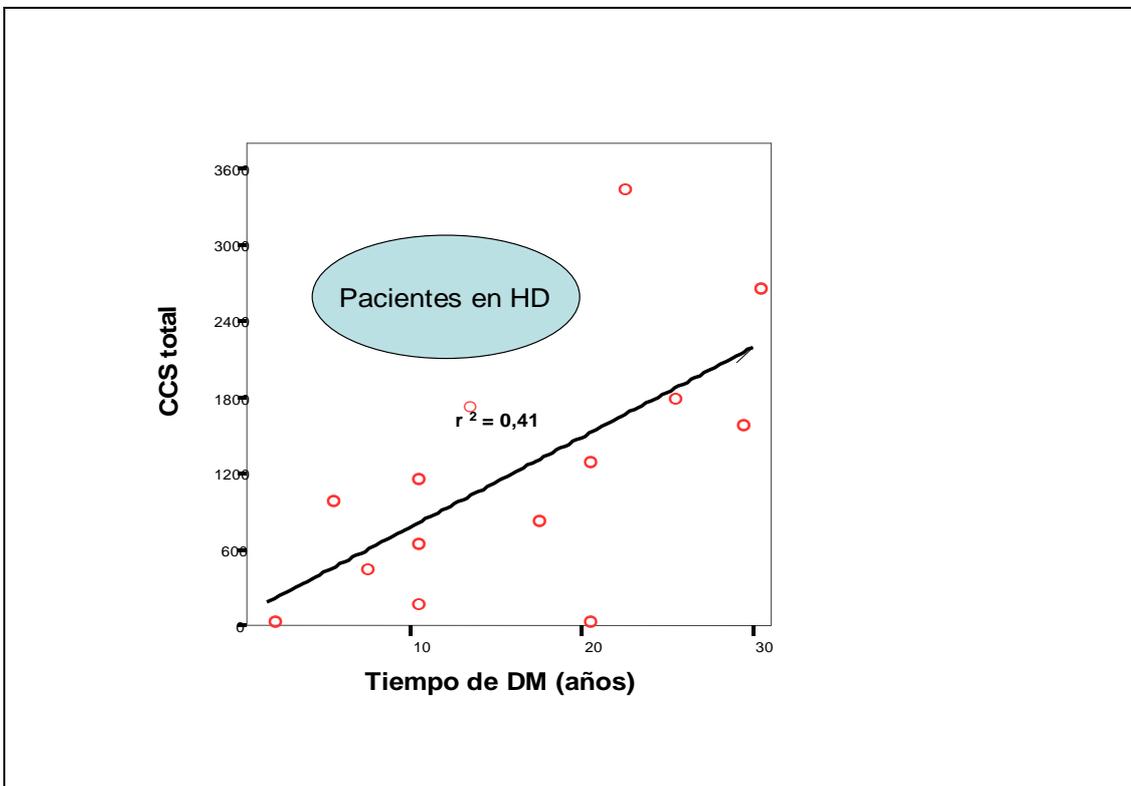


Figura 6.- Análisis de regresión lineal. "r<sup>2</sup>": coeficiente de regresión lineal. CCS: coronary calcium score o score de calcio coronario. DM: diabetes mellitus. HD: hemodialisis.

**Tabla 13.- Correlaciones significativas del CCS con el resto de las variables en ERC 4-5**

<i>Variables</i>	<i>"r"</i>	<i>"r<sup>2</sup>"</i>	<i>p</i>
Edad (Años)	0.50	0.20	<0.001
Alb (g/dl)	-0.40	-0.16	<0.002
Col (mg/dl)	-0.40	-0.16	<0.002
LDL-Col (mg/dl)	-0.35	-0.12	0.01
Ferritina (mg/dl)	0.30	0.09	0.02

CCS: coronary calcium score o score de calcio coronario. "r": Coeficiente de correlación de Pearson. "r<sup>2</sup>": coeficiente de determinación. Alb: albúmina; Col: colesterol total. LDL: moléculas de baja densidad.

## **5.- Factores relacionados con el contenido de Cbfa-1 en los monocitos circulantes y relación de este contenido con las calcificaciones coronarias**

### **5.1.- Análisis de las distintas variables estudiadas en función del contenido de Cbfa-1 en los monocitos**

En el análisis de la muestra general de pacientes, el contenido de Cbfa-1 en los PBMC no mostró ninguna asociación con los demás parámetros estudiados, y este fue el caso también de los pacientes prediálisis. En cambio, en los pacientes en HD, cuando se recodificó la variable cuantitativa Cbfa-1 en variable cualitativa, considerando como punto de corte la mediana, se observó que los valores de Cbfa-1 que se situaban por encima de su mediana, se asociaban con niveles más bajos de albúmina y permanencias en diálisis mayores, y cuando solamente se consideraron valores de Cbfa-1 por encima de su percentil 75 hubo una asociación significativa con los niveles de urea (Tabla 14).

**Tabla 14.- Asociaciones significativas de las variables estudiadas con el contenido de Cbfa-1 en los monocitos de sangre periférica en HD**

<i>Variables</i>	$\downarrow$ <i>Cbfa-1</i>	$\uparrow$ <i>Cbfa-1</i>	<i>p</i>
Albúmina	3.8 $\pm$ 0.5	3.5 $\pm$ 0.5	0.009
Tiempo en HD	54 $\pm$ 65	89 $\pm$ 98	0.06

Cbfa-1 variable dicotómica, estableciendo como punto de corte la mediana.

<i>Variables</i>	$\downarrow$ <i>Cbfa-1</i>	$\uparrow$ <i>Cbfa-1</i>	<i>p</i>
Urea	144 $\pm$ 36	180 $\pm$ 49.7	0.01

Cbfa-1 variable dicotómica, estableciendo como punto de corte ( $< p_{25}$  -  $> p_{75}$ ).

Las variables están expresadas en media  $\pm$  DS. La diferencia entre grupos se halla con la *p* de "ANOVA". HD: hemodiálisis. Cbfa-1: core binding factor- 1.  $\downarrow$  Cbfa-1: valores de Cbfa-1 por debajo de la mediana (en el panel superior) y valores de Cbfa-1 por debajo del percentil 25 (panel inferior).  $\uparrow$  Cfa-1: valores de Cbfa-1 por encima de la mediana (panel superior) y valores de Cbfa-1 por encima del percentil 75 (panel inferior).

## 5.2.- Correlación estadística entre las distintas variables estudiadas y el contenido de Cbfa-1 en los monocitos

A continuación se ha buscado mediante un análisis de correlación la presencia de otras asociaciones significativas entre el contenido proteico de Cbfa-1 en los monocitos y las demás variables del estudio. En la muestra general de pacientes destaca la asociación de niveles de urea y de ac úrico con Cbfa-1, si bien esa asociación tiene un carácter débil. Esa misma correlación de niveles de ac úrico con Cbfa-1 se mantiene en los pacientes prediálisis y es de mayor potencia estadística, igual que las otras asociaciones encontradas en este grupo entre Cbfa-1 y niveles de transferrina y tabaco (número de paquetes/año). En los pacientes en HD el Cbfa-1 muestra una discreta correlación con los niveles de urea (Tabla 15).

**Tabla 15. - Asociaciones significativas del Cbfa-1 con el resto de variables estudiadas en la muestra total de pacientes y en cada uno de los 2 grupos**

<i>Variables</i>	<i>"r"</i>	<i>"r<sup>2</sup>"</i>	<i>p</i>
<b><u>Muestra general</u></b>			
Urea (mg/dl)	0.21	0.04	0.04
Ac.úrico (mg/dl)	0.25	0.06	0.01
<b><u>ERC estadios 4-5</u></b>			
Ac.úrico (mg/dl)	0.73	0.53	0.01
Transferina (mg/dl)	0.66	0.43	0.03
Nº paq/año	0.95	0.90	0.04
<b><u>HD</u></b>			
Urea (mg/dl)	0.23	0.05	0.03

*Análisis de correlación. "r": Coeficiente de correlación de Pearson. "r<sup>2</sup>": Coeficiente de determinación. Nivel de significación de la p (p<0.05). Úrico: ac úrico. Paq/año: número de paquetes/año. HD: hemodiálisis.*

### **5.3.- Cbfa-1 y grado de calcificación**

Analizando la muestra general, no hubo asociaciones entre Cbfa-1 y grado de CAC; tampoco se objetivó ninguna asociación a la hora de analizar cada grupo por separado (HD / prediálisis) (Tabla 16). Sin embargo, en los pacientes en HD, cuando se recodificó la variable cuantitativa Cbfa-1 en variable cualitativa, los valores de Cbfa-1 que se situaban por encima del percentil 75 se asociaron de forma significativa con el CCS en la cirunfleja y en la coronaria derecha, y también con el CCS total aunque, en este caso, en el límite de la significación estadística (Tabla 17).

En el análisis de correlación de variables, se objetivó una fuerte asociación en los pacientes prediálisis, entre el CCS en la coronaria principal izquierda y en la descendente posterior y el contenido de Cbfa-1 en los monocitos de sangre periférica. En el caso de los pacientes en HD, se objetivó una asociación menos potente que la anterior con el CCS en la coronaria derecha (Tabla 18).

**Tabla.16.- Cbfa-1 y grado de CAC en los pacientes estudiados**

<b><u>Variables</u></b>	<b><u>Media ± DS</u></b>					<b><i>p</i></b>
	<b><u>Categorías de CCS-Total</u></b>					
	<b><u>0</u></b>	<b><u>1-100</u></b>	<b><u>101-400</u></b>	<b><u>401-1000</u></b>	<b><u>≥1000</u></b>	
<b><u>Muestra general</u></b>						
Cbfa-1	0.45	0.49	0.91	0.73	0.76	0.27
	(0.41)	(0.46)	(0.21)	(0.57)	(0.51)	
<b><u>Pacientes HD</u></b>						
Cbfa-1	0.18	0.53	0.91	0.71	0.73	0.14
	(0.16)	(0.48)	(0.21)	(0.59)	(0.47)	
<b><u>Pacientes ERC estadios 4-5</u></b>						
Cbfa-1	0.73	0.24	No hay casos	0.92	1.02	0.70
	(0.42)	(0.24)		(0.92)	(0.76)	

*El Cbfa-1 expresado en media (DS). La diferencia entre grupos se halla con la p de ANOVA.*

*CCS: coronary calcium score o score de calcio coronario. Cbfa-1: core binding factor-1.*

**Tabla 17.- Asociaciones de las CAC con el contenido de Cbfa-1 en los monocitos de sangre periférica en pacientes en HD**

<i>Variables</i>	<b>↓Cbfa-1</b>	<b>↑Cbfa-1</b>	<i>p</i>
CCS-T	919 ± 1201	2037 ± 1925	0.06
CCS-LCX	114 ± 198	381 ± 480	0.05
CCS-RCA	198 ± 271	721 ± 946	0.04

Cbfa-1 variable dicotómica, estableciendo como punto de corte (< p25 - > p 75).

Las variables están expresadas en media ± DS. La diferencia entre grupos se halla con la p de ANOVA. Cbfa-1: core binding factor- 1. ↓ Cbfa-1: valores de Cbfa-1 por debajo del percentil 25. ↑ Cfa-1: valores de Cbfa-1 por encima del percentil 75. CCS: coronary calcium score o score coronario de calcio. CCS-T: CCS total. LCX: la circunfleja. RCA: la coronaria derecha.

**Tabla 18.- Correlaciones significativas del Cbfa-1 con las CAC en cada uno de los 2 subgrupos**

<i>Variables</i>	<i>"r"</i>	<i>"r<sup>2</sup>"</i>	<i>p</i>
<b><u>HD</u></b>			
CCS-RCA	0.24	0.05	0.05
<b><u>ERC estadios 4-5</u></b>			
CCS-LMA	0.67	0.44	0.01
CCS-PDA	0.76	0.57	0.01

Análisis de correlación. "r": Coeficiente de correlación de Pearson. "r<sup>2</sup>": Coeficiente de determinación. Nivel de significación de la p (p<0.05). HD: hemodiálisis. CCS: coronary

calcium score o score de calcio coronario. LMA: la coronaria principal izquierda. PDA: la descendente posterior.

## **6.- Seguimiento y estudio de supervivencia**

### **6.1.- Seguimiento de pacientes**

El tiempo de seguimiento fue de  $19.9 \pm 10.2$  meses. Hubo en total 34 fallecimientos (28 pacientes en HD y 6 pacientes en prediálisis) lo que supuso un 20.6 % del total de pacientes. De los 28 fallecidos en HD, 12 fallecieron por causa cardiovascular (42.9 %), principalmente IAM, y de los 6 fallecidos en el otro grupo, 4 fallecieron por motivos cardiovasculares (66.7 %) (Figura 5).

El 39.6% de los pacientes desarrollaron ECV durante el seguimiento. En el análisis por grupos, un 23 % de pacientes en situación prediálisis y un 38.5% de pacientes en HD desarrollaron ECV. En la comparación de grupos en cuanto al tipo de ECV sufrido, no hubo diferencias significativas entre ambos grupos, salvo por la presencia de una mayor prevalencia de clínica de angor en los pacientes en prediálisis ( $p 0.04$ ) (Figura 6).

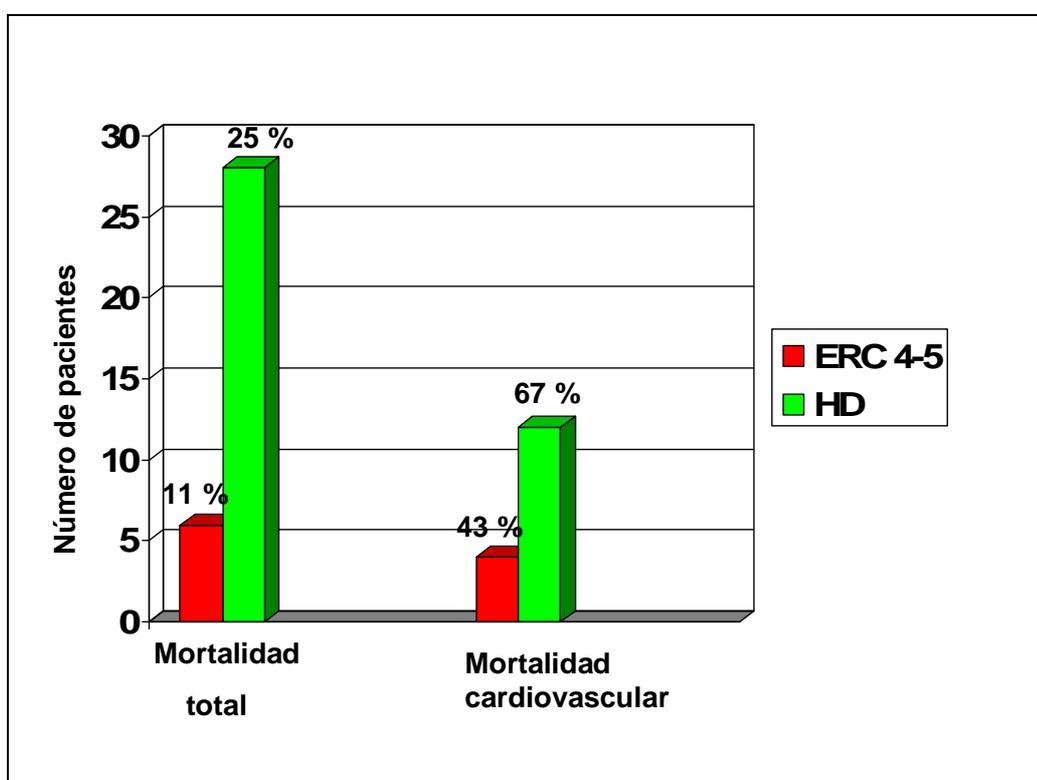


Figura 5.- Tasa de mortalidad total y de mortalidad de origen cardiovascular en ambos grupos HD: hemodiálisis

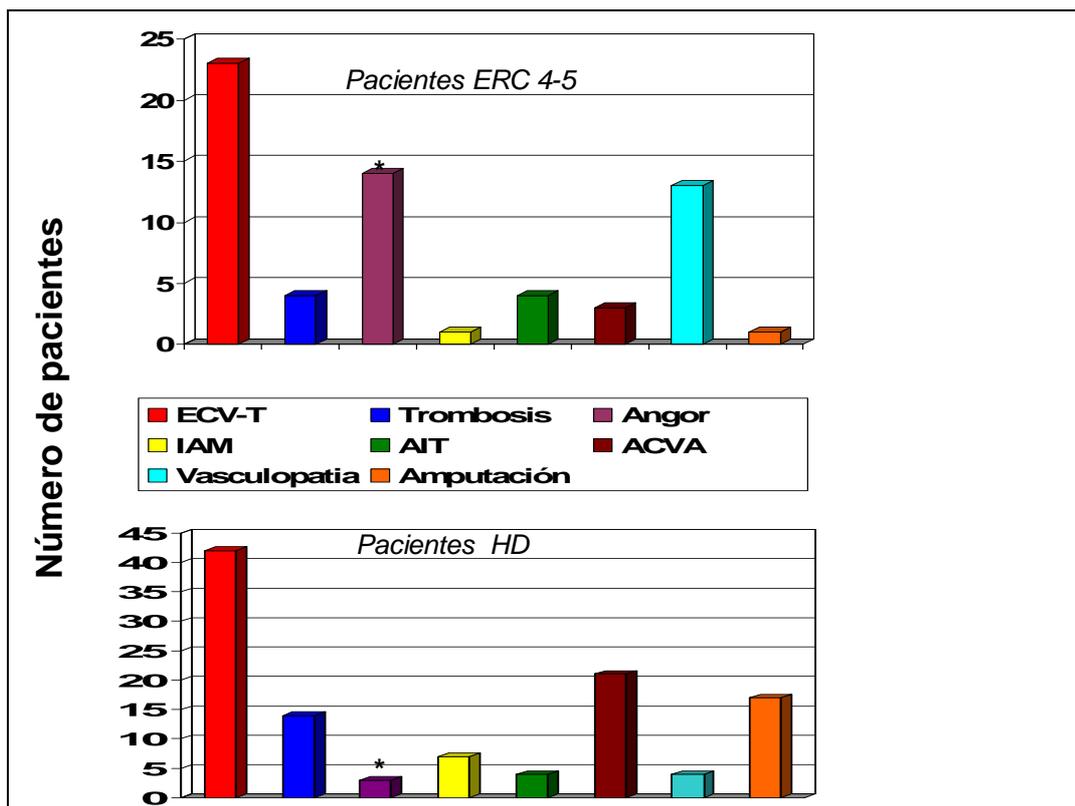


Figura 6. Eventos cardiovasculares desarrollados durante el seguimiento, en ambos grupos. HD: hemodiálisis (nº= 111). ERC 4-5: ERC estadios 4-5 (nº=55). ECV-T: eventos cardiovasculares totales. IAM: infarto agudo de miocardio. AIT: accidente isquémico transitorio. ACVA: accidente cerebrovascular agudo.

Para analizar los factores que condicionan el curso clínico de los pacientes con ERC, se han definido 2 variables. En primer lugar, la mortalidad total en esos pacientes, tanto de origen cardiovascular como de cualquier otra causa. En segundo lugar, una variable combinada que recoge tanto la mortalidad de origen cardiovascular como el desarrollo de cualquier ECV a lo largo del seguimiento.

En la tabla 19 se recogen todos los parámetros con su significación estadística, tanto en los pacientes que fallecieron como en los que permanecieron vivos al final del seguimiento. Observamos como los pacientes que han fallecido eran más añosos, estaban más desnutridos, con mayor inflamación crónica y asimismo, presentaban unos niveles de ac úrico y de urea más bajos. Como también era de esperar, esos pacientes tenían mayor prevalencia de ECV previos y de FRCV clásicos como el sedentarismo. Las figuras 7 y 8 muestran como esos mismos pacientes estaban también más calcificados y presentaban un contenido de Cbfa-1 en los monocitos menor que en el otro grupo.

**Tabla 19.- Los factores implicados en el desarrollo de mortalidad de cualquier causa**

<i>Variables</i>	<i>Mortalidad global</i>		
	<i>Pacientes fallecidos (n=34)</i>	<i>Pacientes vivos (n=132)</i>	<i>p</i>
	<i>n (%) / Mediana (p25- p75)</i>		
Edad (Años)	75.7 (66.7-80.7)	66.7 (52.4-74.7)	0.002
ECVp	27 (79.4)	62 (47)	0.001
Sedentarismo	13 (38.2)	20 (15.2)	0.003
Calcioantagonistas	9 (26.5)	59 (45)	0.05
Anticoagulación oral	10 (29.4)	18 (13.6)	0.02
Alb (mg/dl)	3.5 (3.2-4)	3.8 (3.4-4.1)	0.001
Urea (mg/dl)	141(123-181)	168 (146-209)	0.04
Ac.Úrico (mg/dl)	6.03 (5.37-6.9)	6.9 (6.2-8)	0.01
PCR (mg/dl)	16.1 (4.45-29.75)	5.7 (3-14.1)	0.05
Kt/v	1.42 (1.18-1.57)	1.45 (1.26-1.61)	0.04

*Las variables cuantitativas están expresadas en mediana (p25- p75) y las cualitativas en frecuencia absoluta (n°) y relativa (%). La diferencia entre grupos se halla con la p de U-M-W. ECV: eventos cardiovasculares previos. Úrico: ácido úrico. PCR: proteína C reactiva. Kt/v: dosis de diálisis o eficacia de la diálisis.*

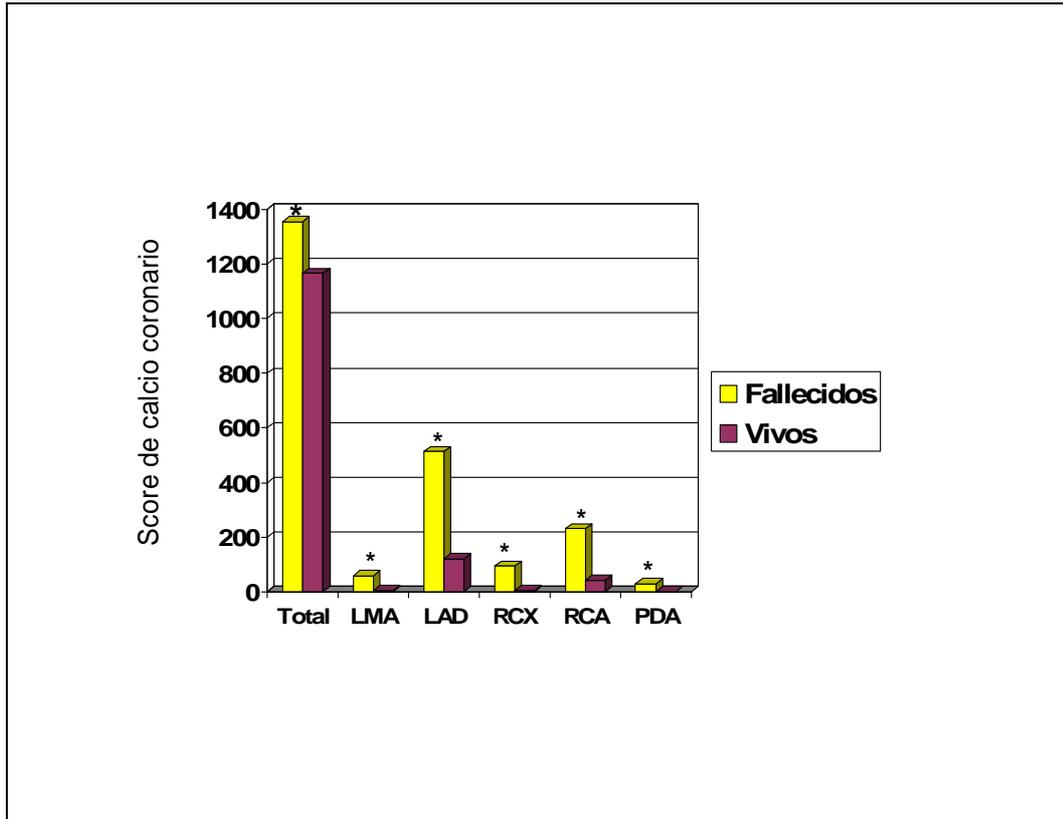
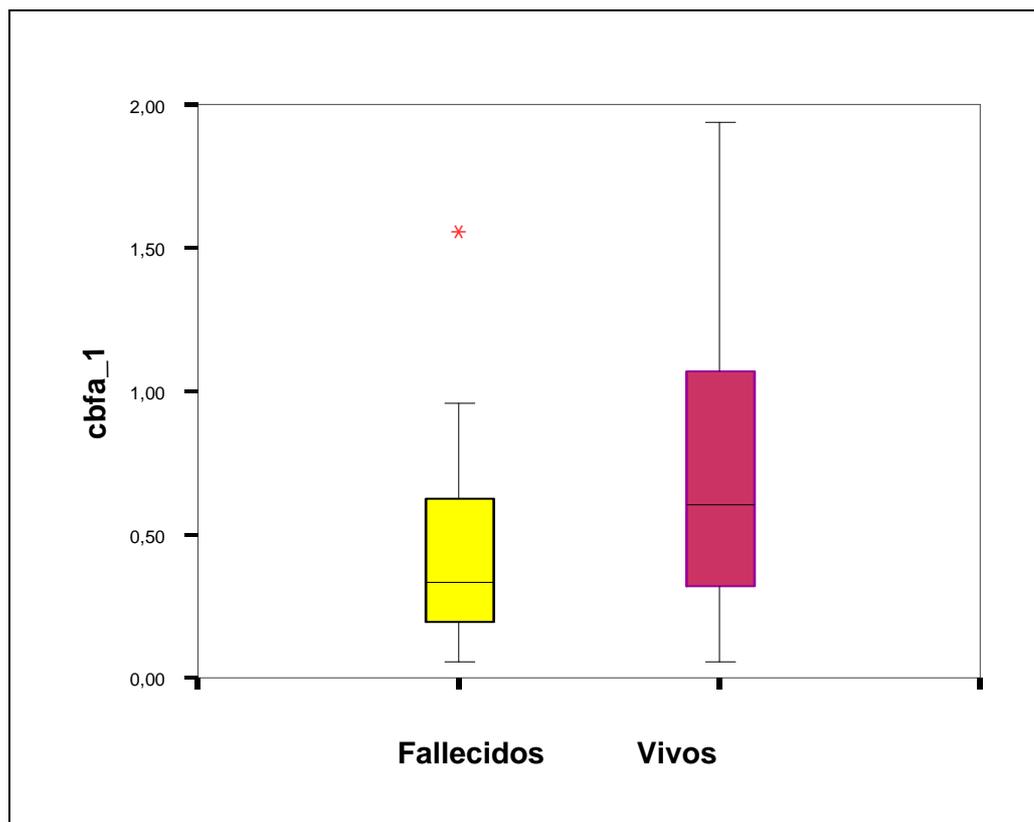


Figura 7.- Score de calcio medido, total y por cada segmento coronario en los dos grupos, los fallecidos (nº=34) y los que permanecieron vivos al final del seguimiento (nº=132). "\*": diferencias significativas entre grupos. LMA: la coronaria principal izquierda. LAD: la descendente anterior. RCX: la circunfleja. RCA: la coronaria derecha. PDA: la descendente posterior.



*Figura 8.- Contenido de Cbfa-1 en los monocitos de sangre periférica en ambos grupos, los fallecidos (n<sup>o</sup>=21) y los que permanecieron vivos al final del seguimiento (n<sup>o</sup>=68). "\*" : diferencias significativas entre grupos.*

La tabla 20 recoge los pacientes que fallecieron por motivos cardiovasculares o los que desarrollaron cualquier ECV y los que se mantuvieron libres de eventos durante todo el seguimiento. Observamos como en los pacientes del primer grupo se mantiene la asociación, observada en el análisis de mortalidad anterior, con la edad, los niveles de albúmina, la prevalencia de ECV previos, de FRCV clásicos y de algunos de los tratamientos utilizados para el riesgo cardiovascular. Además, esos pacientes presentan unos IMC mayores. En la figura 9 observamos también como esos mismos pacientes presentaron índices de calcificación coronaria significativamente más altos que en el otro grupo.

**Tabla 20.- Mortalidad cardiovascular o desarrollo de eventos cardiovasculares y su relación con las variables estudiadas**

<i>Variables</i>	<i>Mortalidad CV o ECV (n=70)</i>	<i>Sin eventos (n=96)</i>	<i>p</i>
	<i>n (%) / Mediana (p25- p75)</i>		
Edad (Años)	71.1 (63.6-77.6)	64.3 (50.4-71.5)	0.006
IMC (Kg/m <sup>2</sup> )	26 (23-30)	24 (21-28)	0.002
DM (Años)	29 (41.4)	19 (19.8)	0.002
ECVp	53 (75.7)	36 (37.5)	0.001
Sedentarismo	19 (27.1)	14 (14.6)	0.04
IECAs	19 (27.1)	38 (39.6)	0.06
Anticoagulación oral	17 (24.3)	11 (11.5)	0.03
Antiagregación oral	30 (42.9)	28 (29.2)	0.06
AEE	66 (94.3)	81 (84.4)	0.04
Albúmina (g/dl)	3.8 (3.3-4.1)	4.1 (3.7-4.4)	0.001

*Las variables cuantitativas están expresadas en mediana (p25- p75) y las variables cualitativas en frecuencia absoluta (n°) y relativa (%). La diferencia entre grupos se halla con la p de U-M-W. IMC: índice de masa corporal. DM: diabetes mellitus. ECVp: eventos cardiovasculares previos. IECAs: inhibidores de la enzima convertora de angiotensina II. AEE: agentes estimulantes de la eritropoyésis.*

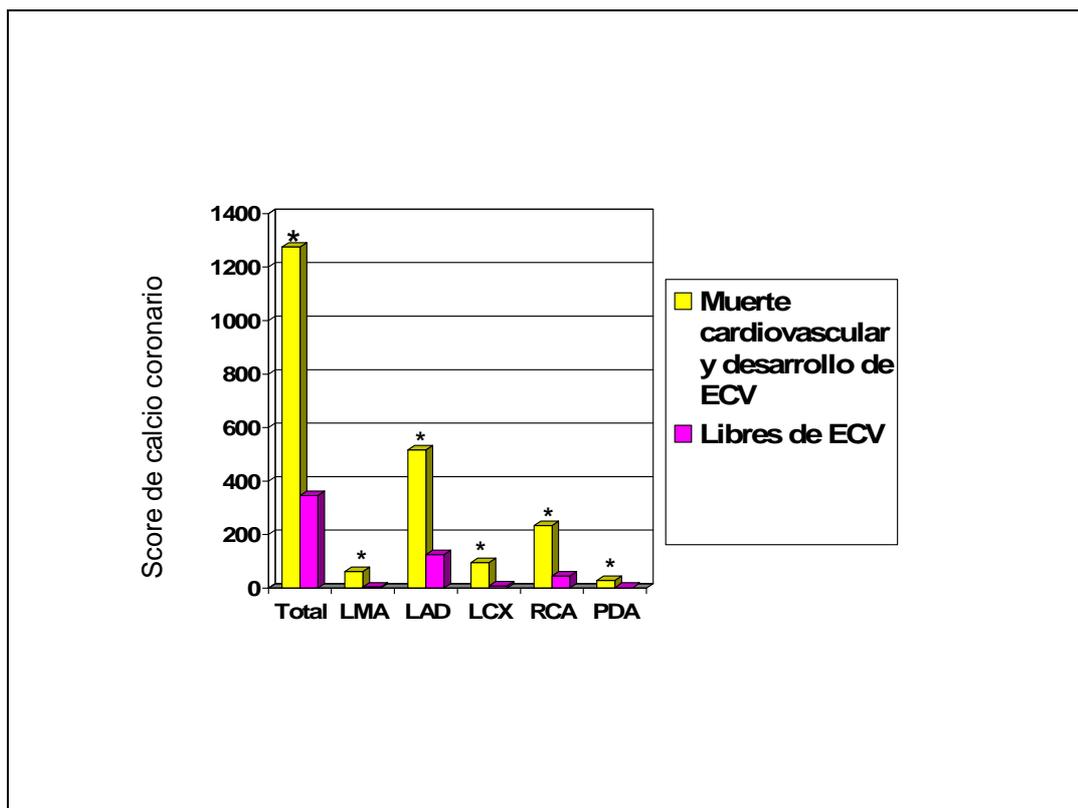


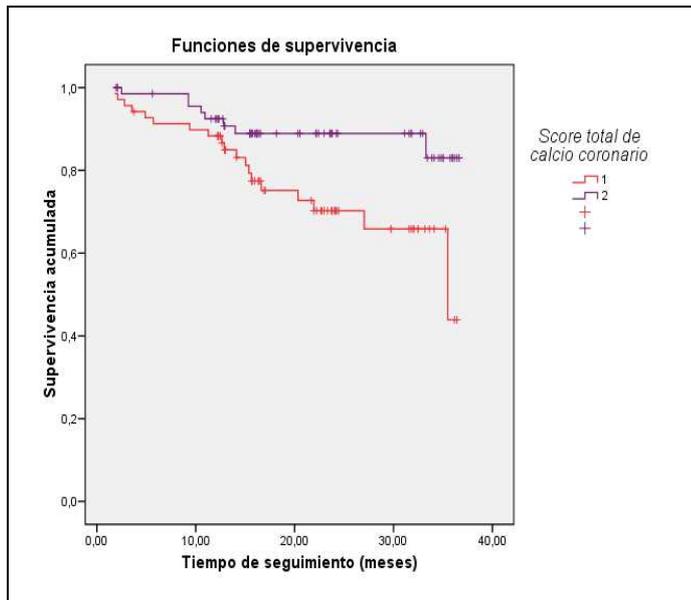
Figura 9.- Score de calcio medido, total y por cada segmento coronario en los dos grupos, los fallecidos por motivos cardiovasculares o los que desarrollaron eventos cardiovasculares durante el seguimiento ( $n^{\circ}=70$ ) y los que permanecieron libres de eventos al final del seguimiento ( $n^{\circ}=96$ ). "\*" : diferencias significativas entre grupos. LMA: la coronaria principal izquierda. LAD: la descendente anterior. RCX: la circunfleja. RCA: la coronaria derecha. PDA: la descendente posterior.

### 6.2.- Estudio de supervivencia

Con el estudio de supervivencia se estudió qué variable se asociaba con la mortalidad, teniendo en cuenta el factor tiempo, en nuestro caso sería el tiempo de seguimiento. Se comparan dos grupos, un grupo que presentó los valores de la variable más elevados con otro grupo que tuvo los valores más bajos, mediante el método de Kaplan-Meir (K-M) y su significación estadística mediante el test de Log Rank.

Las variables numéricas se transformaron en dicotómicas, estableciendo como punto de corte la mediana, es decir, valores por encima de la mediana se consideraron positivos y valores inferiores a la mediana como negativos, o viceversa en función de la variable en cuestión.

En las figuras 20 - 25, se muestran los resultados del análisis de Kaplan-Meier (KM) entre CAC y mortalidad global. Los pacientes que tenían los CCS totales mayores (CCS > 599) se morían más y antes que los que tenían los CCS más bajos. Esta relación se mantiene cuando analizamos el CCS en la LAD y la PDA, y sin embargo, se pierde cuando se analiza el resto del árbol coronario.



*Figura 20.- Curva Kaplan Meir de supervivencia entre 2 variables: Score total de calcio coronario y mortalidad de cualquier causa. 1: grupo con score total de calcio coronario más alto (n° = 69). +: número de fallecidos en el grupo 1 (n° = 19). 2: grupo con score total de calcio coronario más bajo (n°= 70). +: número de fallecidos en el grupo 2 (n°= 8). Se hallan diferencias significativas entre grupos con p (Log Rank) de 0.01. La curva cumple el criterio de proporcionalidad*

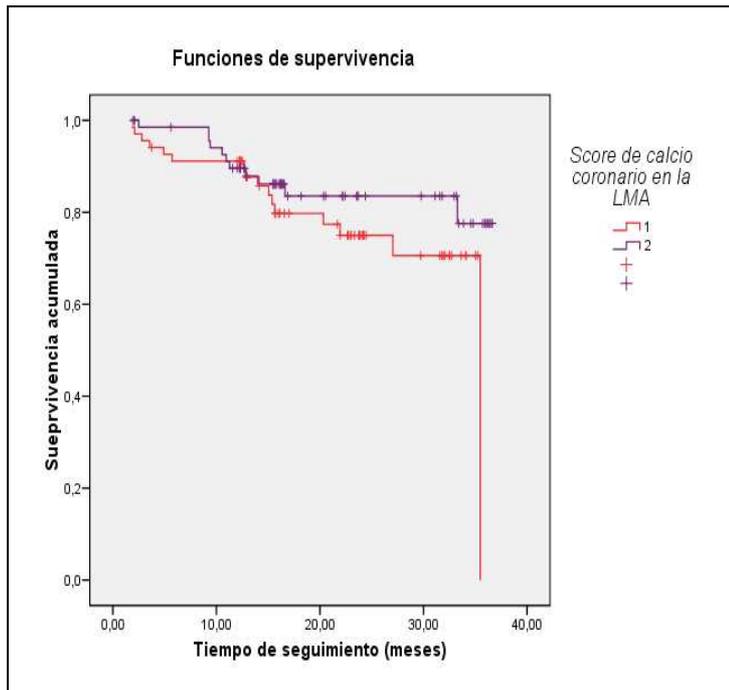


Figura 21.- Curva Kaplan Meir de supervivencia entre 2 variables: Score de calcio en la coronaria principal izquierda (LMA) y mortalidad de cualquier causa. 1: grupo con score de calcio en LMA más alto ( $n^{\circ} = 68$ ). +: número de fallecidos en el grupo 1 ( $n^{\circ} = 16$ ). 2: grupo con score de calcio en LMA más bajo ( $n^{\circ} = 71$ ). +: número de fallecidos en el grupo 2 ( $n^{\circ} = 11$ ). No hay diferencias significativas entre grupos ( $p$  de Log Rank 0.19). Tampoco se cumple el principio de proporcionalidad.

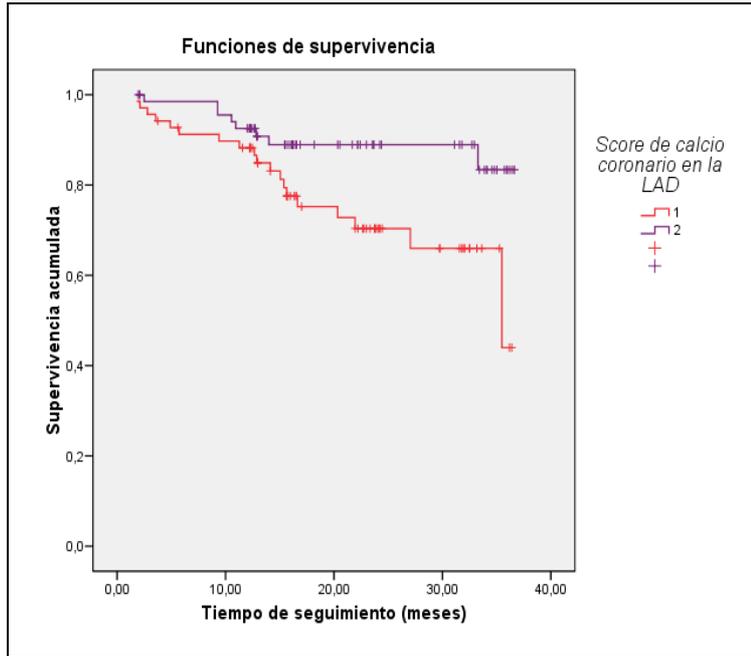


Figura 22.- Curva Kaplan Meir de supervivencia entre 2 variables: Score de calcio en la descendente anterior (LAD) y mortalidad de cualquier causa. 1: grupo con score de calcio en LAD más alto ( $n^{\circ} = 69$ ). +: número de fallecidos en el grupo 1 ( $n^{\circ} = 19$ ). 2: grupo con score de calcio en LAD más bajo ( $n^{\circ} = 70$ ). +: número de fallecidos en el grupo 2 ( $n^{\circ} = 8$ ). Hay diferencias significativas entre grupos ( $p$  de Log Rank 0.01). Se cumple el principio de proporcionalidad.

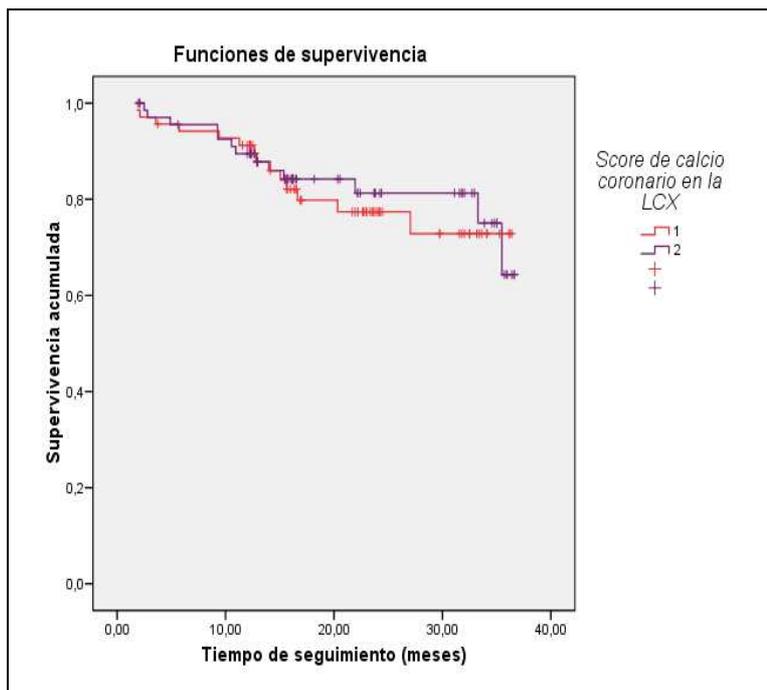


Figura 23.- Curva Kaplan Meir de supervivencia entre 2 variables: Score de calcio en la circunfleja (LCX) y mortalidad de cualquier causa. 1: grupo con score de calcio en LCX más alto ( $n^{\circ} = 69$ ). +: número de fallecidos en el grupo 1 ( $n^{\circ} = 14$ ). 2: grupo con score de calcio en LCX más bajo ( $n^{\circ} = 70$ ). +: número de fallecidos en el grupo 2 ( $n^{\circ} = 13$ ). No hay diferencias significativas entre grupos ( $p$  de Log Rank 0.76). Tampoco se cumple el principio de proporcionalidad.

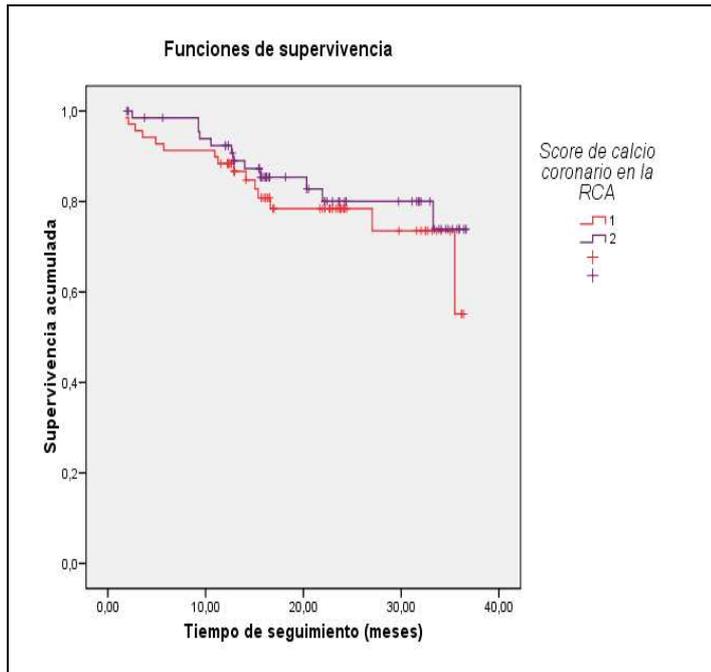


Figura 24.- Curva Kaplan Meir de supervivencia entre 2 variables: Score de calcio en la coronaria derecha (RCA) y mortalidad de cualquier causa. 1: grupo con score de calcio en RCA más alto ( $n^{\circ} = 69$ ). +: número de fallecidos en el grupo 1 ( $n^{\circ} = 15$ ). 2: grupo con score de calcio en RCA más bajo ( $n^{\circ} = 70$ ). +: número de fallecidos en el grupo 2 ( $n^{\circ} = 12$ ). No hay diferencias significativas entre grupos ( $p$  de Log Rank 0.44). Tampoco se cumple el principio de proporcionalidad.

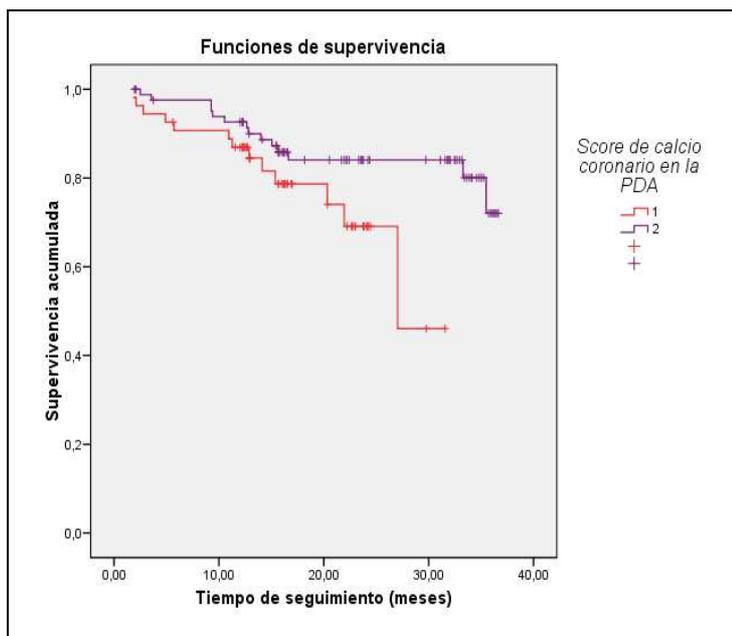


Figura 25.- Curva Kaplan Meir de supervivencia entre 2 variables: Score de calcio en la descendente posterior (PDA) y mortalidad de cualquier causa. 1: grupo con score de calcio en PDA más alto ( $n^{\circ} = 54$ ). +: número de fallecidos en el grupo 1 ( $n^{\circ} = 13$ ). 2: grupo con score de calcio en PDA más bajo ( $n^{\circ} = 85$ ). +: número de fallecidos en el grupo 2 ( $n^{\circ} = 14$ ). Hay diferencias significativas entre grupos ( $p$  de Log Rank 0.05). Se cumple el principio de proporcionalidad.

Asimismo, se realizó un análisis de supervivencia KM similar al anterior, pero esta vez entre la variable contenido de Cbfa-1 en los monocitos de sangre periférica y mortalidad global (Figura 26). Los pacientes con menor contenido de Cbfa-1 en los PBMC ( $< 0.53$ ), se morían más y antes que aquellos con niveles más altos, aunque esa relación sólo se acercaba a la significación estadística ( $p = 0.07$ ).

En cuanto a las demás variables del estudio y su relación con la mortalidad total, los resultados del análisis K-M se enumeran en la tabla 21. Los pacientes de mayor edad ( $> 67$  años) y con mayores niveles de PCR ( $> 6$ ) se morían más, y antes, que aquellos pacientes más jóvenes y con niveles de PCR menores. Asimismo, los pacientes con niveles de albúmina ( $< 3.9$ ), ac úrico ( $< 6.9$ ) y urea ( $< 157$ ) más bajos se morían más y antes que aquellos con niveles más altos de dichas variables.

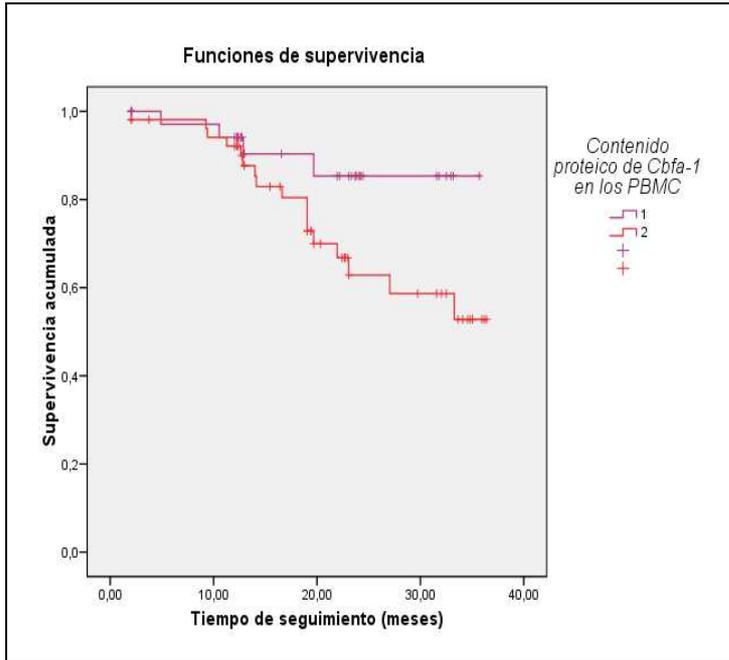


Figura 26. Curva Kaplan Meir de supervivencia entre 2 variables: contenido proteico de Cbfa-1 en los monocitos de sangre periférica (PBMC) y mortalidad de cualquier causa. 1: grupo con contenido de Cbfa-1 en los PBMC más alto ( $n^{\circ} = 38$ ). +: número de fallecidos en el grupo 1 ( $n^{\circ} = 4$ ). 2: grupo con contenido de Cbfa-1 en los PBMC más bajo ( $n^{\circ} = 53$ ). +: número de fallecidos en el grupo 2 ( $n^{\circ} = 17$ ). No diferencias significativas entre grupos ( $p$  de Log Rank 0.07). No se cumple el principio de proporcionalidad.

**Tabla 21.- Estudio de supervivencia. Variables con asociaciones significativas con mortalidad total**

<i>Variables</i>	<i>Frecuencia (n°)</i>	<i>N° de eventos</i>	<i>P (Log Rank)</i>
<b>Altos</b>	83	24	
Edad			0.002
<b>Bajos</b>	83	10	
<b>Altos</b>	81	12	
Albúmina			0.008
<b>Bajos</b>	85	22	
<b>Altos</b>	80	20	
PCR			0.02
<b>Bajos</b>	81	14	
<b>Altos</b>	82	11	
Ac.Úrico			0.01
<b>Bajos</b>	84	23	
<b>Altos</b>	83	11	
Urea			0.06
<b>Bajos</b>	83	23	

*Análisis de supervivencia de Kaplan Meir. Variables dicotómicas, estableciendo como punto de corte la mediana. Altos: valores por encima de la mediana. Bajos: valores por debajo de la mediana. PCR: proteína C reactiva. La diferencia entre grupos se halla con la p de Log Rank. Nivel de significación:  $p \leq 0.05$ .*

A continuación mostraremos el análisis K-M, entre mortalidad cardiovascular o desarrollo de cualquier evento cardiovascular durante el seguimiento y las demás variables del estudio. Analizaremos primero, y de forma análoga al análisis anterior, nuestras variables principales, CAC y Cbfa-1 y después el resto de la variables.

Las figuras 27- 32 muestran los resultados del análisis KM, entre CAC y mortalidad cardiovascular o desarrollo de cualquier ECV durante el seguimiento. Los pacientes que tenían los CCS más altos, tanto el CCS total como por cada segmento coronario se morían

más por causas cardiovasculares o desarrollaban más eventos cardiovasculares durante el seguimiento que los pacientes con CCS más bajos.

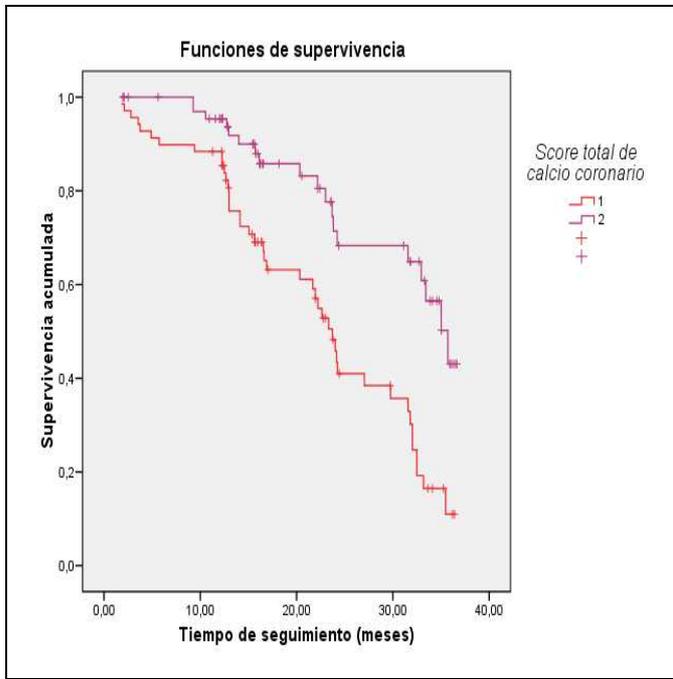


Figura 27.- Curva Kaplan Meir de supervivencia entre 2 variables: Score total de calcio coronario y mortalidad cardiovascular o desarrollo de cualquier evento cardiovascular durante el seguimiento.

1: grupo con score total de calcio coronario más alto ( $n^{\circ} = 69$ ). +: número de eventos en el grupo 1 ( $n^{\circ} = 43$ ). 2: grupo con score total de calcio coronario más bajo ( $n^{\circ} = 70$ ). +: número de eventos en el grupo 2 ( $n^{\circ} = 19$ ). Hay diferencias significativas entre grupos con  $p$  (Log Rank) de  $<0.001$ . Se cumple el criterio de proporcionalidad.

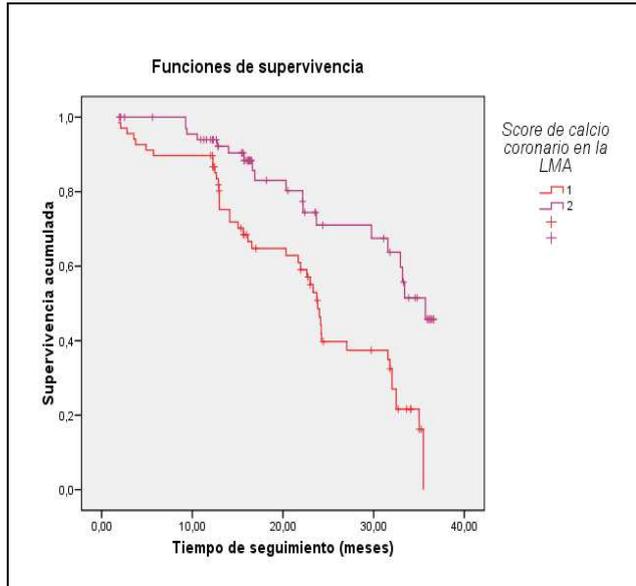


Figura 28.- Curva Kaplan Meir de supervivencia entre 2 variables: Score de calcio en la coronaria principal izquierda (LMA) y mortalidad cardiovascular o desarrollo de cualquier evento cardiovascular durante el seguimiento. 1: grupo con score de calcio en LMA más alto ( $n^{\circ} = 68$ ). +: número de eventos en el grupo 1 ( $n^{\circ} = 43$ ). 2: grupo con score de calcio en LMA más bajo ( $n^{\circ} = 71$ ). +: número de eventos en el grupo 2 ( $n^{\circ} = 19$ ). Hay diferencias significativas entre grupos con  $p$  (Log Rank) de  $<0.001$ . Se cumple el criterio de proporcionalidad.

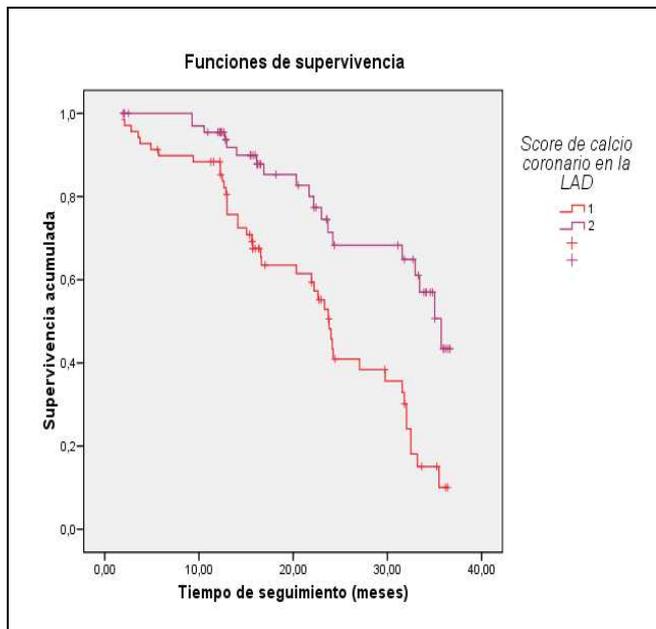


Figura 29.- Curva Kaplan Meir de supervivencia entre 2 variables: Score de calcio en la descendente anterior (LAD) y mortalidad cardiovascular o desarrollo de cualquier evento cardiovascular durante el

seguimiento. 1: grupo con score de calcio en LAD más alto ( $n^{\circ} = 69$ ). +: número de eventos en el grupo 1 ( $n^{\circ} = 43$ ). 2: grupo con score de calcio en LAD más bajo ( $n^{\circ} = 70$ ). +: número de eventos en el grupo 2 ( $n^{\circ} = 19$ ). Hay diferencias significativas entre grupos con  $p$  (Log Rank) de  $<0.001$ . Se cumple el criterio de proporcionalidad.

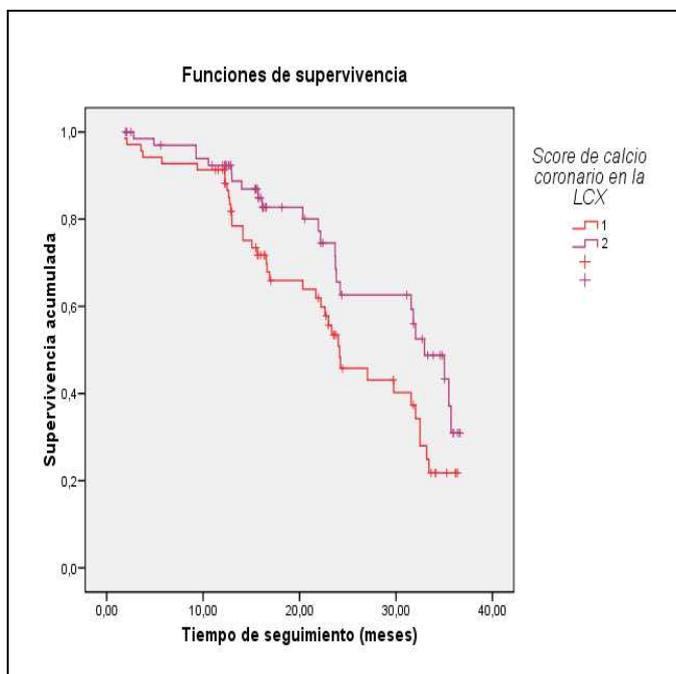


Figura 30.- Curva Kaplan Meir de supervivencia entre 2 variables: Score de calcio en la circunfleja (LCX) y mortalidad cardiovascular o desarrollo de cualquier evento cardiovascular durante el seguimiento. 1: grupo con score de calcio en LCX más alto ( $n^{\circ} = 69$ ). +: número de eventos en el grupo 1 ( $n^{\circ} = 38$ ). 2: grupo con score de calcio en LCX más bajo ( $n^{\circ} = 70$ ). +: número de eventos en el grupo 2 ( $n^{\circ} = 24$ ). Hay diferencias significativas entre grupos con  $p$  (Log Rank) de  $<0.03$ . No se cumple el criterio de proporcionalidad.

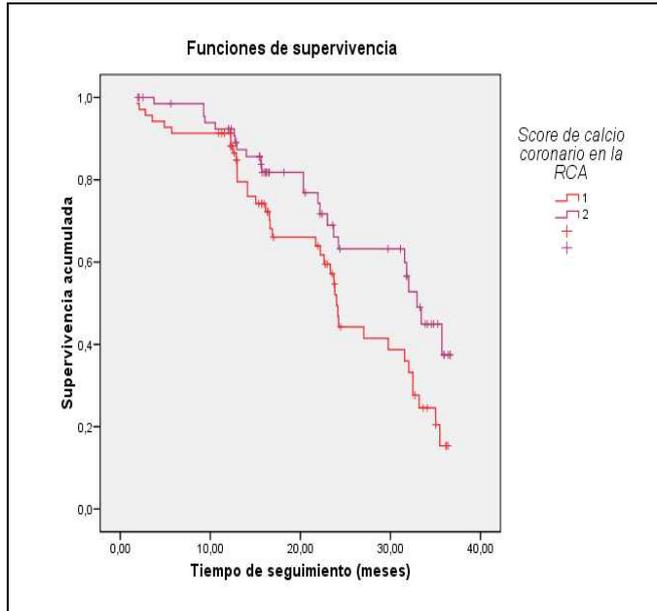
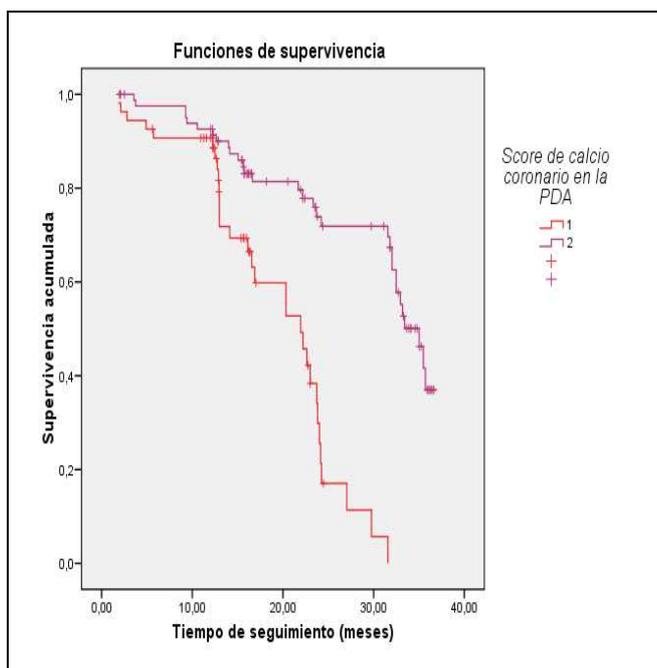


Figura 31.- Curva Kaplan Meir de supervivencia entre 2 variables: Score de calcio en la coronaria derecha (RCA) y mortalidad cardiovascular o desarrollo de cualquier evento cardiovascular durante el seguimiento. 1: grupo con score de calcio en RCA más alto ( $n^{\circ} = 69$ ). +: número de eventos en el grupo 1 ( $n^{\circ} = 38$ ). 2: grupo con score de calcio en RCA más bajo ( $n^{\circ} = 70$ ). +: número de eventos en el grupo 2 ( $n^{\circ} = 24$ ). Hay diferencias significativas entre grupos con  $p$  (Log Rank) de 0.02. No se cumple el criterio de proporcionalidad.



*Figura 32.- Curva Kaplan Meir de supervivencia entre 2 variables: Score de calcio en la descendente posterior (PDA) y mortalidad cardiovascular o desarrollo de cualquier evento cardiovascular durante el seguimiento. 1: grupo con score de calcio en PDA más alto (n° = 54). +: número de eventos en el grupo 1 (n° = 31). 2: grupo con score de calcio en RCA más bajo (n°= 85). +: número de eventos en el grupo 2 (n°= 31). Hay diferencias significativas entre grupos con p (Log Rank) de < 0.001. No se cumple el criterio de proporcionalidad.*

En cuanto al contenido proteico de Cbfa-1 en los PBMC y su relación con mortalidad cardiovascular o desarrollo de ECV durante el seguimiento, aquí en cambio, se ha visto que los pacientes con mayor contenido de Cbfa-1 en los PBMC (> 0.53), se morían más de causas cardiovasculares o desarrollaban más ECV durante el seguimiento que aquellos pacientes con niveles más altos, aunque esa relación no resultó estadísticamente significativa (p = 0.07).

Cuando se analizaron otras variables, se vió que los pacientes más añosos, aquellos portadores de algunos de los FRCV clásicos y aquellos con niveles más bajos de albúmina o con niveles más altos de PCR, se morían más por causas cardiovasculares o desarrollaban más ECV durante el seguimiento (Tabla 22).

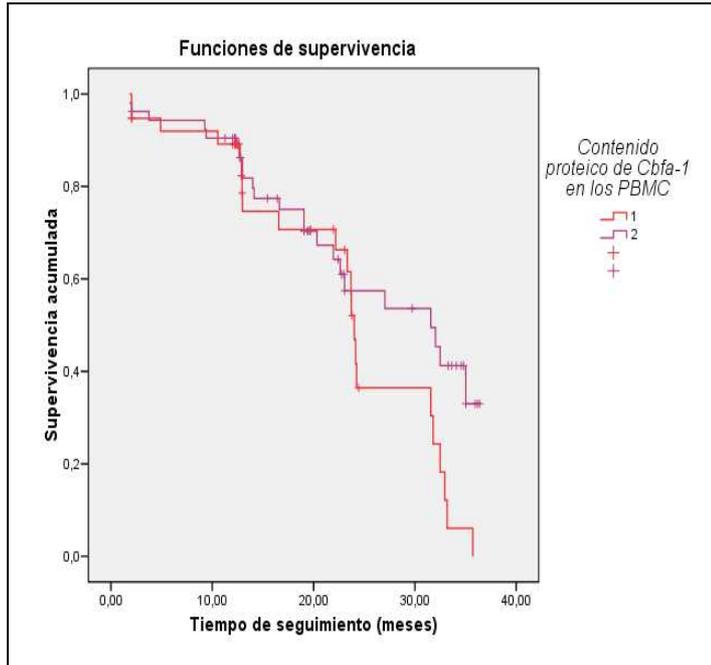


Figura 33. Curva Kaplan Meir de supervivencia entre 2 variables: contenido proteico de Cbfa-1 en los monocitos de sangre periférica (PBMC) y mortalidad cardiovascular o desarrollo de ECV durante el seguimiento. 1: grupo con contenido de Cbfa-1 en los PBMC más alto ( $n^{\circ} = 38$ ). +: número de eventos en el grupo 1 ( $n^{\circ} = 22$ ). 2: grupo con contenido de Cbfa-1 en los PBMC más bajo ( $n^{\circ} = 53$ ). +: número de eventos en el grupo 2 ( $n^{\circ} = 23$ ). No diferencias significativas entre grupos ( $p$  de Log Rank 0.07). No se cumple el principio de proporcionalidad.

**Tabla 22.- Estudio de supervivencia. Variables con asociaciones significativas con mortalidad cardiovascular o desarrollo de eventos cardiovasculares**

<i>Variables</i>	<i>Frecuencia (n°)</i>	<i>N° de eventos</i>	<i>P (Log Rank)</i>
Altos	83	42	
Edad			<0.001
Bajos	83	28	
Altos	62	34	
IMC			0.03
Bajos	62	20	
Altos	33	19	
Sedentarismo			0.001
Bajos	133	51	
Altos	48	29	
DM			<0.001
Bajos	118	41	
Altos	89	53	
ECV p			<0.001
Bajos	77	17	
Altos	57	19	
IECAS			0.005
Bajos	109	51	
Altos	58	30	
AAS			0.02
Bajos	108	40	
Altos	28	17	
ACO			0.006
Bajos	138	53	
Altos	81	27	
Albúmina			<0.001
Bajos	85	43	
Altos	80	38	
PCR			0.002
Bajos	81	32	

*Análisis de supervivencia de Kaplan Meir. Variables dicotómicas, estableciendo como punto de corte la mediana. Altos: valores por encima de la mediana. Bajos: valores por debajo de la mediana. IMC: índice de masa corporal. DM: diabetes mellitus. ECVp: eventos cardiovasculares previos. IECAS: inhibidores de la enzima convertora de angiotensina. AAS: ácido acetil salicílico. ACO: anticoagulación oral. PCR: proteína C reactiva. La diferencia entre grupos se halla con la p de Log Rank. Nivel de significación:  $p \leq 0.05$ .*

### **6.3.- Modelo de Cox**

Con el modelo de Cox se trató de cuantificar la asociación entre las diferentes variables registradas por cada paciente y la mortalidad, teniendo en cuenta el tiempo transcurrido. Se ha considerado como variable principal las CAC y el Cbfa-1. Las variables cuantitativas se transformaron en variables dicotómicas, considerando los valores por encima de la mediana como positivos y los valores por debajo de la mediana negativos, y viceversa en función de la variable en cuestión.

Primero se realizó un análisis univariado. El estadístico que nos informa del grado de asociación es la Hazard Ratio (HR), a la que se añade la denominación de "cruda", que nos permitirá posteriormente distinguirla de otras HR que más adelante se irán mencionando.

A continuación se muestran los resultados del análisis univariado en las tablas 23 y 24, cuando se considera la mortalidad total de esos pacientes. Solamente se recogieron las variables que mostraron asociaciones estadísticamente significativas, aquellas que se acercaban a la significación estadística ( $p = 0.06$ ) y las variables principales del estudio CAC y Cbfa-1, aún no siendo significativas.

El tratamiento renal sustitutivo, la edad, el sedentarismo, la presencia de DM o de antecedentes de enfermedad cardiovascular previa y la terapia anticoagulante oral, todos esos factores se asociaron con un incremento de la mortalidad global. Asimismo, cuando los valores de albúmina y de ac úrico se encuentran por debajo de sus respectivos puntos de corte, y los niveles de PCR se encuentran por encima, existe un mayor riesgo de mortalidad de cualquier causa (Tabla 23).

Cuando el CCS total y el CCS en la descendente anterior y la descendente posterior están por encima de sus puntos de corte, también hay mayor riesgo de mortalidad global (Tabla 24).

**Tabla 23.- Análisis univariado. Asociaciones de las distintas variables con la mortalidad total**

<i>Variables</i>	<i>Coef.β</i>	<i>p (Wald)</i>	<i>HR<sub>aj</sub></i>	<i>IC 95%</i>
ERC / HD	0.88	0.05	2.43	1-5.92
Edad	1.15	0.003	3.15	1.48-6.74
Ejercicio	1.11	0.002	3.04	1.49-6.21
DM	0.75	0.03	2.13	1.07-4.24
ECVp	1.49	<0.001	4.46	1.93-10.2
ACO	0.92	0.01	2.52	1.20-5.28
Albúmina	0.92	0.01	2.52	1.23-5.13
Ac.úrico	-0.88	0.01	0.41	0.20-0.84
PCR	0.75	0.03	2.12	1.06-4.22

*HR<sub>aj</sub>*: OR ajustada que corresponde al exponente del coef.β. La significación estadística con la *p* de Wald ( $p \leq 0.05$ ). IC 95%: intervalo de confianza al 95%. ERC / HD: pacientes en ERC 4-5 y pacientes en hemodiálisis. DM: diabetes mellitus. ECVp: eventos cardiovasculares previos. ACO: anticoagulación oral. PCR: proteína C reactiva. Cbfa-1: core binding factor-1.

**Tabla 24.- Análisis univariado. Asociaciones del índice de calcificación coronario y Cbfa-1 con la mortalidad total**

<i>Variables</i>	<i>Coef.β</i>	<i>p (Wald)</i>	<i>HR<sub>aj</sub></i>	<i>IC 95%</i>
CCS-T	0.98	0.02	2.67	1.16-6.13
CCS-LMA	0.51	0.19	1.67	0.76-3.65
CCS-LAD	0.99	0.02	2.69	1.17-6.20
CCS-LCX	0.11	0.76	1.12	0.52-2.40
CCS-RCA	0.29	0.44	1.34	0.62-2.87
CCS-PDA	0.77	0.05	2.16	0.97-4.79
Cbfa-1	-0.94	0.09	0.38	0.12- 1.15

*HR<sub>aj</sub>*: OR ajustada que corresponde al exponente del coef.β. La significación estadística con la *p* de Wald ( $p \leq 0.05$ ). IC 95%: intervalo de confianza al 95%. CCS-T: score total de calcio coronario. LMA: la principal izquierda. LAD: la descendente anterior. LCX: la circunfleja. RCA: la coronaria derecha. PDA: la descendente posterior. Cbfa-1: core binding factor-1.

A continuación se seleccionaron las variables que mostraron significación estadística en la asociación con la mortalidad global junto con nuestras variables principales, CAC y Cbfa-1, y con ellas se procedió a la realización de un análisis multivariado, valorándose directamente en dicho modelo la presencia de los fenómenos de interacción y de confusión. La presencia de interacción se fundamentó en la significación del estadístico de Wald. Se concluyó que existía confusión cuando la presencia de una variable modificaba en un 10 % o más el HR de la variable principal. A continuación, y partiendo del modelo multivariado máximo se ha ido retirando manualmente, una por una, todas las variables incluidas que no mostraban significación estadística, hasta llegar al modelo final que contiene todas las asociaciones significativas.

La tabla 25 muestra los resultados del modelo multivariado "final". Según este modelo, el CCS no influye de forma independiente en la mortalidad total de esos pacientes, mientras que la presencia de antecedentes de enfermedad cardiovascular previa y los niveles bajos de ac.úrico si que influyen de forma independiente en la aparición de mortalidad de cualquier causa en esos pacientes.

**Tabla.25.- Modelo multivariado "Final" de mortalidad total**

<i>Variables</i>	<i>Coef.β</i>	<i>p (Wald)</i>	<i>HR<sub>aj</sub></i>	<i>IC 95%</i>
CCS	0.52	0.23	1.68	0.70 – 4.01
ECVp	1.37	0.004	3.95	1.53 – 10.19
Úrico	-0.96	0.02	0.37	0.16 – 0.86

*HR<sub>c</sub>*: OR ajustada que corresponde al exponente del coef β. La significación estadística con la *p* de Wald ( $p \leq 0.05$ ). *IC 95%*: intervalo de confianza al 95%. *CCS*: score coronario de calcio. *ECVp*: eventos cardiovasculares previos. *Úrico*: ácido úrico.

Se realizó un segundo análisis de Cox donde se considera una variable combinada que incluye mortalidad cardiovascular y desarrollo de cualquier evento cardiovascular durante el seguimiento, procediéndose de forma análoga al análisis anterior. Primero se muestran los resultados del análisis univariado y seguidamente el análisis multivariado.

La edad, la presencia de enfermedad cardiovascular previa o de algunos de los FRCV clásicos como la DM, el sedentarismo o la obesidad, el estar recibiendo tratamientos utilizados habitualmente en pacientes con riesgo cardiovascular como la ACO o la AAS;

todos esos factores mostraron una asociación significativa con la morbimortalidad cardiovascular de esos pacientes. Asimismo, cuando los valores de PCR están por encima de sus respectivos puntos de corte y cuando los valores de albúmina se encuentren por debajo de su respectivo punto de corte, eso condiciona una mayor morbimortalidad cardiovascular (Tabla 26).

En cuanto a las CAC, tanto el CCS total como el CCS en cada una de las coronarias, cuando sus valores se encuentran por encima de sus respectivos puntos de corte, la morbimortalidad cardiovascular es mayor (Tabla 27).

**Tabla 26.- Análisis univariado. Asociaciones de las distintas variables con mortalidad cardiovascular y desarrollo de eventos cardiovasculares**

<i>Variables</i>	<i>Coef.β</i>	<i>p (Wald)</i>	<i>HR<sub>aj</sub></i>	<i>IC 95%</i>
Edad	0.92	<0.001	2.51	1.52-4.13
IMC	0.60	0.03	1.82	1.04-3.18
Ejercicio	0.87	0.002	2.39	1.38-4.14
DM	0.86	<0.001	2.37	1.46-3.84
ECVp	1.40	<0.001	4.07	2.34-7.06
ACO	0.74	0.008	2.11	1.21-3.65
AAS	0.52	0.03	1.68	1.04-2.71
Albúmina	0.88	<0.001	2.42	1.49-3.94
PCR	0.75	0.002	2.11	1.31-3.41

*HR<sub>aj</sub>*: OR ajustada que corresponde al exponente del coef.β. La significación estadística con la *p* de Wald ( $p \leq 0.05$ ). *IC 95%*: intervalo de confianza al 95%. *IMC*: índice de masa corporal. *DM*: diabetes mellitus. *ECVp*: eventos cardiovasculares previos. *ACO*: anticoagulación oral. *AAS*: ácido acetil salicílico. *PCR*: proteína C reactiva.

**Tabla 27.- Análisis univariado. Asociaciones del índice de calcificación coronario y Cbfa-1 con mortalidad cardiovascular o desarrollo de eventos cardiovasculares**

<i>Variables</i>	<i>Coef.β</i>	<i>p (Wald)</i>	<i>HR<sub>aj</sub></i>	<i>IC 95%</i>
CCS-T	1.03	<0.001	2.80	1.62-4.83
CCS-LMA	1.009	<0.001	2.74	1.56-4.79
CCS-LAD	1.04	<0.001	2.84	1.64-4.92
CCS-LCX	0.55	0.03	1.74	1.04-2.91
CCS-RCA	0.56	0.03	1.76	1.05-2.94
CCS-PDA	1.50	<0.001	4.52	2.50-8.18
Cbfa-1	0.53	0.07	1.70	0.94-3.09

*HR<sub>aj</sub>*: OR ajustada que corresponde al exponente del coef.β. La significación estadística con la *p* de Wald ( $p \leq 0.05$ ). IC 95%: intervalo de confianza al 95%. CCS-T: score total de calcio coronario. LMA: la principal izquierda. LAD: la descendente anterior. LCX: la circunfleja. RCA: la coronaria derecha. PDA: la descendente posterior. Cbfa-1: core binding factor-1.

De nuevo se seleccionaron las variables que mostraron significación estadística en la asociación con mortalidad cardiovascular o desarrollo de cualquier evento cardiovascular, y con ellas, se procedió a la realización de un análisis multivariado, valorándose directamente en dicho modelo la presencia de los fenómenos de interacción y de confusión. La presencia de interacción se fundamentó en la significación del estadístico Wald. Se concluyó que existía confusión cuando la presencia de una variable modificaba en un 10 % o más el HR de la variable principal. A continuación y partiendo del modelo multivariado máximo se ha ido retirando manualmente una por una de todas las variables incluidas que no mostraban significación estadística en dicho modelo, hasta llegar al modelo final que contiene todas las asociaciones significativas.

Según este modelo, el CCS total tiene una relación directa e independiente con el desarrollo de mortalidad cardiovascular o eventos cardiovasculares. Los pacientes con CCS altos tienen un riesgo de 2.4 veces más de morbimortalidad cardiovascular que los pacientes con CCS más bajos, siendo ésta una relación independiente en la que no influyen otros factores. Lo mismo se puede decir en cuanto a la relación de la PCR con la morbimortalidad cardiovascular, aunque en este caso en el límite de la significación estadística ( $p = 0.06$ ) (Tabla 28).

**Tabla.28.- Modelo multivariado "Final" de mortalidad CV y desarrollo de ECV**

<i>Variables</i>	<i>Coef.β</i>	<i>p (Wald)</i>	<i>HR<sub>aj</sub></i>	<i>IC 95%</i>
CCS	0.89	0.001	2.44	1.39-4.28
PCR	0.49	0.06	1.63	0.97-2.75

*HR<sub>c</sub>*: OR ajustada que corresponde al exponente del coef.β. La significación estadística con la *p* de Wald ( $p \leq 0.05$ ). IC 95%: intervalo de confianza al 95%. CCS: score coronario de calcio PCR: proteína C reactiva.

## ***DISCUSIÓN***

## **1.- Consideraciones metodológicas**

### **1.1.- Diseño experimental y características de la muestra**

El estudio pretende evaluar la prevalencia y severidad de las calcificaciones coronarias en pacientes con ERC y en tratamiento renal sustitutivo, y analizar los factores relacionados con el desarrollo de las mismas, en particular la expresión de Cbfa1. Asimismo, pretende estudiar si la presencia de las CAC tiene un valor pronóstico en cuanto a aparición de ECV o mortalidad en dicha población. Para estudiar la prevalencia y severidad de las CAC se diseñó un estudio observacional descriptivo transversal. Para el objetivo del estudio de valor pronóstico el diseño fue un estudio observacional longitudinal hacia delante en el que se realiza el seguimiento de los pacientes incluidos en el estudio.

La muestra total de pacientes era heterogénea. Estaba compuesta por pacientes en terapia renal sustitutiva con hemodiálisis (HD) y pacientes en situación prediálisis (ERC estadios 4-5), siendo la proporción de pacientes en HD mayor. La pretensión era reclutar un número similar en ambos grupos, aunque al final no fue posible debido a la gran dificultad para el reclutamiento de pacientes ambulatorios en general.

Ambos grupos eran equiparables en cuanto a edad, sexo y etiología de la ERC. No así en cuanto a los diferentes tratamientos recibidos, ya que los pacientes en HD recibían más agentes estimulantes de la eritropoyesis, más quelantes de fósforo y más calcimiméticos. Asimismo, en estos pacientes predominaba la ingesta de sales de calcio, como quelante de fósforo, más que en el otro grupo. Eso concuerda con el conocimiento actual, teniendo en cuenta que a mayor reducción del filtrado glomerular, mayor anemia por disminución de la secreción de eritropoyetina endógena (61-62) y mayores trastornos del metabolismo mineral en forma de hiperparatiroidismo 2º, hiperfosforemia, hipocalcemia y déficit de vitamina D endógena (139).

La media de permanencia en tratamiento renal sustitutivo de nuestros pacientes fue de más de 2 años. Eso hace de nuestra muestra de pacientes una muestra prevalente, no incidente, en diálisis, lo que permitirá analizar el efecto de la terapia renal sustitutiva en sí sobre las variables predictoras de nuestro estudio. Cerca de la mitad de estos pacientes se dializaban con una membrana de alta eficacia dialítica, con una dosis de diálisis dentro de lo recomendado por las guías de terapia renal sustitutiva (la media de Kt/v fue de 1.4).

Habitualmente, en la mayoría de los pacientes en HD se intenta conseguir un balance neutro de calcio al final de la diálisis, como medida para disminuir el riesgo de progresión de las calcificaciones vasculares. Para ello, y salvo situaciones especiales de hipocalcemia o hipercalcemia crónicas, donde se utilizan baños alto en calcio y bajo en calcio respectivamente; se suele utilizar un baño estándar en calcio (2.5 mEq/l). En nuestros pacientes, un 86 % se dializaban con un baño de diálisis estándar (normal en calcio).

Un hecho bien conocido en la actualidad es que la ERC está asociada, desde sus estadios iniciales, con la enfermedad vascular sistémica, y que ambos trastornos comparten factores de riesgo y mecanismos de progresión. En HD, además de los FRCV clásicos, predominan otros factores, los llamados factores emergentes y aquellos propios de la uremia (123, 145, 150). En nuestros pacientes, en general predominaban los FRCV clásicos y la enfermedad cardiovascular previa. Comparando ambos grupos, predominaba una mayor tasa de eventos cardiovasculares previos en los pacientes en HD, sobre todo a expensas de eventos trombóticos. Este aumento de eventos trombóticos en los pacientes en HD es relativo a las frecuentes trombosis del acceso vascular para diálisis o fístula arteriovenosa.

Analizando las distintas variables de laboratorio, los pacientes prediálisis tenían un perfil lipídico típico de la ERC, con aumento de colesterol total y de colesterol LDL, mientras que los pacientes en HD presentaban unos niveles de colesterol total más bajos, predominando la hipertrigliceridemia. Como se ha descrito previamente, la mayoría de los pacientes en HD no tienen niveles elevados de colesterol total y de colesterol LDL (140,141). De hecho, los niveles de colesterol total bajos en esta población, un hecho condicionado probablemente por la mala nutrición que caracteriza a estos pacientes, junto con la presencia de un estado inflamatorio crónico, suponen un aumento de riesgo de mortalidad (142-144). Además, esos pacientes tienen otras anomalías en el metabolismo lipídico, como niveles bajos de HDL y aumento de lipoproteínas de densidad intermedia (IDL) y de triglicéridos (140-141).

## **1.2.- Limitaciones del estudio**

El tamaño muestral puede afectar especialmente a los estudios multivariados. Según la prevalencia de mortalidad de nuestro estudio, el tamaño muestral idóneo tendría que haber sido en torno a 200 pacientes, y aunque no se pudo alcanzar ese tamaño que se pretendía desde un principio, el número de pacientes con el que se ha realizado el estudio puede

considerarse apropiado para los objetivos que se plantearon, ya que para una mortalidad total del 20.6%, la proporción hallada en el presente estudio, el tamaño muestral es suficiente para precisar nuestro porcentaje real de mortalidad con un 6% de error o, lo que viene a decir lo mismo, con un 94% de confianza. Hay que destacar que en este estudio se han perdido solamente 4 pacientes, y que el grado de cumplimiento ha sido elevado.

Otra limitación es la heterogeneidad de la muestra. Se incluyeron pacientes en distintos grados de ERC y en terapia renal sustitutiva con HD, con los condicionantes que supone el propio tratamiento renal sustitutivo. Esto, añadido al limitado tamaño muestral, sobre todo en el caso del grupo prediálisis, limitará probablemente la interpretación de las diferencias halladas entre los grupos en cuanto, por ejemplo, a los determinantes de la calcificación coronaria.

Aunque en el diseño inicial del estudio se pretendía repetir tanto la determinación del calcio coronario mediante TCMC a los dos años, así como las distintas determinaciones analíticas, incluida la determinación de Cbfa-1 en los PBMC, para valorar la progresión de la calcificación coronaria y los mecanismos relacionados con ello, al final no fue posible por problemas logísticos. Eso dificulta en cierta medida las interpretaciones de aquellas asociaciones encontradas referentes a la etiopatogenia de las calcificaciones arteriales.

## **2.- Prevalencia de las calcificaciones coronarias y factores relacionados con su desarrollo**

### **2.1.- Prevalencia de las calcificaciones coronarias**

En el presente estudio se ha utilizado la tomografía computarizada multicorte (TCMC) para el diagnóstico de las calcificaciones coronarias en pacientes urémicos con filtrado glomerular por debajo de 30 ml/min o en terapia renal sustitutiva. Muchos estudios en los últimos años han demostrado la utilidad de esta prueba para el diagnóstico de CAC. Comparándola con la "prueba oro", la tomografía con emisión de electrones, demostró ser igual de sensible, siendo además, más asequible, versátil y de menor coste. Diferentes estudios realizados en pacientes con ERCT mediante TCMC, demostraron la presencia de diferentes grados de calcificación coronaria en esta población (79, 123, 145). Asimismo, otros demostraron la relación existente entre el índice de calcificación coronaria medido por esta prueba y el riesgo cardiovascular (131-134).

En nuestro estudio, la prevalencia de calcificación coronaria ha sido muy elevada, del 92 % en HD y del 80 % en ERC estadios 4-5. Además, el grado de calcificación coronaria fue severo (>400) en el 68 % de los pacientes en HD y en un 47 % en el caso de los pacientes prediálisis. La media de CCS total fue de 1638 unidades de Agatston (IC 95%: 1212-2064) en HD y de 872 (IC 95%: 497-1247) en prediálisis, niveles que indicarían presencia de enfermedad obstructiva arterial con un elevado riesgo cardiovascular. Esos resultados son superponibles a otros estudios (83, 123, 150-155). En el estudio de Moe y cols, utilizando una muestra de pacientes un tanto heterogénea como ha sido nuestro caso, la media del score de calcio medido por TCMC, fue de grado severo también, de 435 unidades de Agatston. El estudio fue realizado en un grupo de 71 pacientes con ERCT, 38 pacientes en HD y 33 pacientes con trasplante renal (135). Otro estudio, el de Shantouf y cols, en una población de 137 pacientes con un tiempo de permanencia en HD de 43 meses, la media del score de calcio fue también de grado severo, en torno a 1112 unidades de Agatston (196).

Al igual que otros estudios de la literatura (151,157), hemos encontrado que la calcificación coronaria de nuestros enfermos era además múltiple, al afectar en la mayoría de los casos a más de 1 vaso coronario y en un 26 % de los casos a cuatro arterias coronarias (un 32 % de pacientes en HD y un 18% de los de prediálisis). La arteria coronaria descendente anterior (LAD) es la que con mayor frecuencia se encontraba calcificada, en un 92% de los casos en HD y en un 71% de los casos de prediálisis, con un score medio de calcio de 548 (IC 95%: 422-674) en HD, y 338 (IC 95%: 206-471) en ERC 4-5.

## **2.2.- Factores relacionados con el desarrollo de las calcificaciones coronarias**

Los factores de riesgo de aterosclerosis en la ERC son múltiples, y la ERC es, de hecho, un FRCV. Entre los FRCV presentes en pacientes con insuficiencia renal, algunos son comunes a la población general y otros son propios de la ERC. Analizando los factores asociados con el desarrollo de calcificaciones coronarias en nuestra población, se confirmó que la edad es un importante determinante de la calcificación vascular, como se ha descrito en estudios previos (123, 138, 158, 159). Sin embargo, no se observaron diferencias en las calcificaciones coronarias en función del sexo, un hallazgo concordante con otros autores (138,147), pero que no confirma la descripción previa de una mayor prevalencia de score de calcio severo en los varones (145).

Entre los FRCV clásicos, el tabaquismo mostró, en nuestro estudio, una importante asociación con las calcificaciones coronarias. En la literatura, esta asociación no está descrita todavía en pacientes en HD, aunque sí en el caso de las calcificaciones periféricas. Jean y cols, al analizar las calcificaciones vasculares periféricas en una población de 250 pacientes en HD utilizando la radiografía convencional, observó que el tabaco era uno de los factores asociados con las calcificaciones vasculares (148). En otras poblaciones de pacientes sí está descrita la asociación entre tabaco y calcificaciones coronarias. Así, en el estudio de Milker-Zabel y cols, se encontró en una población con Cáncer de pulmón no reseccable, una estrecha relación entre consumo de tabaco y desarrollo de las calcificaciones coronarias (149).

Otros FRCV clásicos como el IMC y el tiempo de evolución de la DM también mostraron una correlación con las calcificaciones coronarias en nuestros pacientes en HD, en consonancia con trabajos previos (148,160). En general, las calcificaciones vasculares son más frecuentes en diabéticos que en la población general, y se asocian en esos pacientes con aumento de mortalidad, ACVA y amputación (161,162). Además, en pacientes con enfermedad renal, la DM es un factor de riesgo mayor para el desarrollo de calcificaciones vasculares (87,163). En un estudio in vitro, Chen y cols, demostraron que niveles altos de glucosa aumentaban la expresión Cbfa-1 y osteocalcina en CMLV bovinas, empeorando las calcificaciones vasculares (184).

En la literatura, la evidencia de que un estado inflamatorio crónico se asocia a calcificaciones coronarias es escasa y se limita frecuentemente a la población general, siendo casi siempre un factor coadyuvante en la génesis de la misma. En los primeros estudios publicados sobre calcificaciones coronarias, no se encontró ninguna asociación entre PCR y el score de calcio medido por EBCT. Recientemente, en un análisis de 321 pacientes a partir del estudio de Framingham, se objetivó una correlación significativa entre PCR y score de calcio, pero después de ajustar por IMC esa relación se mantenía significativa solo para los varones (164). Sin embargo, Guerain y cols, cuando midieron el score de calcio mediante ultrasonidos y Rx convencional, observaron que el grado de calcificación se asociaba significativamente y de forma positiva con los niveles de PCR y de fibrinógeno, e inversamente con los niveles de albúmina (165). A su vez, la hipoalbuminemia, que refleja generalmente malnutrición o la presencia de un estado inflamatorio crónico, se ha relacionado con el proceso de la arteriosclerosis. Abundan los estudios que demuestran la relación inversa existente entre niveles de albúmina y grado de calcificación vascular (166). En nuestro estudio, a pesar de

que los niveles medios de albúmina estaban dentro del rango de la normalidad, también se encontró una clara correlación inversa con las calcificaciones coronarias, tanto en los pacientes en HD como en los prediálisis. En los pacientes con score de calcio muy severo (>1000), la media de los niveles de albúmina fue de 3.8 g/dl frente a 4.4 g/dl en el grupo de pacientes libres de calcificación coronaria. En relación a la inflamación, medida mediante PCR, nuestros resultados demostraron una correlación directa y muy positiva con las calcificaciones coronarias en ambos grupos de pacientes, aunque como era de esperar los pacientes en HD mostraron niveles de PCR más elevados.

El papel de los lípidos en la ERC, y más aún en los pacientes en HD, continúa siendo un tema controvertido. Al relacionarlos en nuestro estudio con las calcificaciones coronarias se encontró una relación directa entre niveles de triglicéridos y calcificaciones coronarias, e inversa entre niveles de colesterol y calcificaciones coronarias. Sin embargo, cuando se analizaron por separado los pacientes prediálisis, se objetivó que tanto los niveles de colesterol total como de colesterol LDL se asociaban directamente con el grado de calcificación coronaria. En una revisión sistemática que recoge estudios observacionales hechos en pacientes con distintos estadios de ERC y con diagnóstico clínico de calcificación vascular, se observó, al menos en 4 estudios, que niveles bajos de HDL y niveles altos de triglicéridos, colesterol total y LDL eran predictivos de esas calcificaciones vasculares (167). No obstante, no está claro el papel que juegan las estatinas en el control del metabolismo lipídico de cara a frenar la progresión de las calcificaciones coronarias. En un estudio randomizado y controlado con placebo que analizaba la utilidad de las estatinas, se observó, que a pesar de disminuir los niveles de lípidos en el grupo tratado, eso no modificaba la progresión ni de las calcificaciones coronarias ni de las calcificaciones aórticas (168). Sin embargo, en otros estudios en pacientes en HD, la disminución de los niveles de LDL colesterol tanto con sevelamer como con atorvastatina parece enlentecer de alguna manera la progresión de las calcificaciones coronarias en este grupo de individuos (169).

Recientemente se ha incluido la ERC dentro de los FRCV. En esos pacientes con ERC, las calcificaciones coronarias son más prevalentes a medida que disminuye el filtrado glomerular (78-80), y aunque en los pacientes en HD los niveles de función renal cobran una importancia menor, también se correlacionaron con las calcificaciones coronarias en nuestro estudio.

Las alteraciones del metabolismo mineral, en particular el Ca, P y PTH, son muy frecuentes en pacientes con ERC y juegan un papel importante en el desarrollo de la enfermedad cardiovascular, al favorecer las calcificaciones vasculares y asociarse con mayor riesgo de mortalidad (75,152,155,170,171,177). El papel de la PTH en el proceso de calcificación coronaria no está bien establecido del todo. Mientras que numerosos estudios han demostrado la relación existente entre niveles altos de PTH y calcificación coronaria (172,173), otros han puesto en evidencia que tanto la PTH como la PTHrp eran potentes inhibidores de la calcificación (46), siendo posible objetivar la relación existente entre un bajo remodelado óseo ( $PTH < 100$ ) y score de calcio severo (174,175). Por otra parte, el tratamiento de la hiperfosfatemia se ha puesto en relación con el desarrollo de las calcificaciones vasculares. Varios grupos de trabajo han asociado las calcificaciones vasculares con una elevada ingesta de quelantes del fósforo de contenido cálcico (79). El estudio "Treat to Goal" es el primer estudio prospectivo randomizado que ha sido capaz de demostrar que la progresión de la calcificación coronaria y aórtica puede atenuarse y que la elección del quelante de fósforo puede influir en la extensión de la calcificación (154). A pesar de las críticas que este estudio ha recibido, recientemente se ha publicado otro estudio comparando carbonato cálcico con sevelamer en pacientes incidentes en hemodiálisis, demostrando una mayor progresión de la calcificación coronaria en el grupo de pacientes tratados con sales de calcio (176).

En nuestro estudio no ha sido posible demostrar la asociación entre las alteraciones del metabolismo mineral y el desarrollo de las calcificaciones coronarias. Cabe recalcar que nuestra población se caracteriza por un excelente control del metabolismo mineral, lo que podría explicar la ausencia de dicha asociación en nuestros pacientes. Las concentraciones medias de Ca, P y PTH, tanto en prediálisis, como en HD de nuestro estudio se aproximan a las cifras recomendadas por las guías K-DOQUI. Tampoco ha sido posible obtener conclusiones válidas sobre la asociación entre los tratamientos recibidos y su relación con las calcificaciones coronarias. En el caso del tratamiento con cinacalcet, su reciente comercialización, coincidente con el inicio del estudio, no ha permitido analizar una posible relación. En cuanto al tratamiento con sales de calcio o análogos de vitamina D, tampoco se pudo comprobar la relación referida en otros estudios entre recibir estos tratamientos y riesgo de calcificación. Hay que destacar aquí, de nuevo, que la dosis diaria media de calcio por paciente se situaba dentro de lo recomendado por las guías K-DOQUI. Es posible también

que otros quelantes no cálcicos, disponibles en el momento actual, como el carbonato de lantano tengan un efecto beneficioso sobre la progresión de las calcificaciones coronarias.

La mejor ilustración de las discrepancias que hay entre balance calcio-fósforo y prevalencia de las calcificaciones, se observa comparando 2 estudios realizados en 2 capitales de la península ibérica. En el primer estudio, Fernandez Reyes y cols, estudiaron la prevalencia de calcificación de la válvula mitral y aórtica en 135 pacientes en diálisis peritoneal, y encontraron que tanto el score de calcio basal como la progresión del mismo en el tiempo eran independientes de cualquiera de los parámetros del metabolismo mineral (178). Resultados contradictorios se encontraron en el estudio de Ribeiro y cols, al examinar la prevalencia de la calcificación de la válvula mitral y aórtica, y los factores asociados con su desarrollo, en 92 pacientes en HD. Aquí, en el análisis de regresión múltiple, encontraron que el producto calcio-fósforo y la edad eran los factores determinantes más importantes de las calcificaciones de dichas estructuras (179). La comparación de esos 2 estudios que utilizaron el mismo método para medir las calcificaciones, en la misma población y en el mismo periodo de tiempo, y que luego llevaron a resultados contradictorios no es más que el reflejo de la complejidad del proceso de las calcificaciones.

### **2.3.- Cbfa-1 y desarrollo de calcificaciones coronarias**

El Cbfa-1 está considerado en la actualidad como uno de los principales moduladores de la diferenciación de las células mesenquimales a osteoblastos y actúa, junto con la BMP-2, como promotor de la calcificación vascular. Se ha observado su presencia en arterias calcificadas de individuos con insuficiencia renal, siendo posible inducir su expresión en CMLV en cultivo mediante la adición de suero urémico. También se ha demostrado su presencia en varios tejidos como los testículos o el musculo esquelético, pero hasta la fecha nunca ha sido aislado en sangre periférica.

El presente estudio es pionero en cuantificar el contenido proteico de Cbfa-1 en los monocitos de sangre periférica. Dicho procedimiento se realizó en controles sanos y en pacientes con ERC avanzada, en estadio prediálisis y en HD. Los pacientes prediálisis mostraron la media de Cbfa-1 más alta ( $0.82 \pm 0.56$ ), seguidos de los de HD y finalmente los controles, con una media de  $0.64 \pm 0.46$  y de  $0.45 \pm 0.1$ , respectivamente. El Cbfa-1 en los pacientes en HD se asoció con los niveles de albúmina y de urea, y con el tiempo de

permanencia en HD. En los pacientes prediálisis destaca la fuerte asociación entre Cbfa-1, niveles de ac úrico y tabaquismo, aunque dado el escaso número de pacientes en los que se realizó dicha determinación sería incorrecto sacar conclusiones definitivas.

En cuanto a Cbfa-1 y calcificación coronaria, se encontró, en los pacientes en HD, una asociación entre niveles muy altos de Cbfa-1 ( $\geq 1.03$ ) y scores de calcio extremos ( $\geq 1768$  unidades de Agatston), mientras que en los pacientes prediálisis el Cbfa-1 se correlacionó únicamente, pero de forma muy significativa con el score de calcio en la arteria coronaria principal izquierda y en la descendente posterior. Curiosamente, estas 2 arterias coronarias son las que muestran menos índice de calcificación. Eso tendría sentido, porque en el proceso de calcificación vascular, en primer lugar acontece la expresión de proteínas y mediadores procalcificantes, y más tarde, es cuando se pone en marcha el proceso de la calcificación en sí. No se encontraron asociaciones con los parámetros del metabolismo mineral ni con ninguna otra de las variables estudiadas. En la literatura, sin embargo, abundan los trabajos que relacionan la expresión de Cbfa-1 a nivel de CMLV con los parámetros del metabolismo mineral, con otros mediadores procalcificantes y con el índice de calcificación vascular medido por distintas técnicas. Jono y cols, fueron los primeros en demostrar la expresión de este factor de transcripción osteoblástico, Cbfa-1, en cultivos de CMLV humanas, demostrando como su expresión se regula al alza con la presencia en el medio de cultivo de concentraciones de P en torno a 2 mmol/L o superiores. Esos mismos niveles de P se asociaron con la presencia de calcificaciones vasculares diagnosticadas mediante EBCT (79,180) y ultrasonidos (181), y también se asociaron con mortalidad cardiovascular y de cualquier tipo (75,182). Moe y cols, a su vez, demostraron un aumento de expresión de Cbfa-1 y osteopontina en la media y la intima de arterias epigástricas calcificadas de individuos urémicos (89).

### **3.- Predictores de morbi-mortalidad en pacientes con ERC**

#### **3.1.- Factores asociados con mortalidad**

Una parte muy importante de nuestra muestra de pacientes la constituyen pacientes en terapia renal sustitutiva. En general, los estudios de supervivencia en estos pacientes son complejos, debido a la importante cantidad de variables que hay que tener en cuenta y a que los resultados en una población son difícilmente extrapolables a otra (diferencias en criterios

de inclusión en diálisis, diferentes patologías asociadas, características de la propia terapia renal sustitutiva, diferencias raciales y socioeconómicas). En el análisis de supervivencia de nuestra población, destaca una tasa de mortalidad por cualquier causa de un 20 %, siendo de hasta un 25 %, en los pacientes en HD, datos superponibles a otras series (185-187). Predominaba la mortalidad de origen cardíaco, que fue de hasta un 67% en los pacientes en terapia renal sustitutiva, siendo la cardiopatía isquémica responsable del 60 % de los casos. En cuanto a la tasa de aparición de eventos cardiovasculares durante el seguimiento, también fue mayor en los pacientes en HD, con un 38.5%. La enfermedad coronaria es una manifestación más del proceso de aterosclerosis que pueden presentar los pacientes renales, con una prevalencia de enfermedad arterial coronaria asintomática alrededor del 20-40 % (2).

Con el análisis de supervivencia se estudió que variables se asociaban con la mortalidad, teniendo en cuenta el tiempo transcurrido desde la inclusión de los pacientes en el estudio. Como cabía esperar, las variables que se asociaron con la supervivencia, fueron la edad, la prevalencia de enfermedad cardiovascular previa y de FRCV clásicos (185-187). Asimismo, los pacientes que presentaban niveles de albúmina y de ac úrico más altos, y, niveles de PCR y de urea más bajos, presentaban mayor supervivencia que los demás pacientes.

La asociación entre malnutrición y mortalidad ha sido repetidamente descrita en pacientes con ERC (188,189). En numerosos estudios se ha observado que la albúmina sérica es el mejor marcador bioquímico de mortalidad en diálisis (188-193). Aunque la hipoalbuminemia es considerada habitualmente como marcador de malnutrición, algunos autores piensan que podría indicar de forma indirecta un aumento del volumen circulante (hemodilución), o ser consecuencia de una respuesta inflamatoria sistémica (disminución de la síntesis hepática). Otro marcador inespecífico de inflamación, es la concentración sérica de la proteína C reactiva, que se ha relacionado con la mortalidad y morbilidad en los pacientes con insuficiencia renal (193-195). El origen de esta respuesta inflamatoria sistémica en los pacientes urémicos es incierto, aunque se ha puesto en relación estrecha con la malnutrición y las complicaciones ateroscleróticas (síndrome MIA).

En cuanto al papel del ácido úrico, es bien sabido que la hiperuricemia aumenta el riesgo de desarrollo de eventos cardiovasculares y de mortalidad en la población general (197). En la ERC, sin embargo, este hecho no está tan claro. En un análisis de pacientes a partir de los datos del estudio ARIC, comparando 2 poblaciones de pacientes con hiperuricemia, unos con ERC y otros con función renal normal, se vió que la asociación de

hiperuricemia con el desarrollo de mortalidad y eventos cardiovasculares observada en el grupo de pacientes con función renal normal no se mantenía en el caso de aquellos portadores de ERC (198). Un trabajo realizado en pacientes en terapia renal sustitutiva, en concreto en diálisis peritoneal, demuestra que la hiperuricemia en esos pacientes se asocia con disfunción endotelial, lo que a su vez predispone a la aparición de HTA y mortalidad cardiovascular (199). Resultados contradictorios se vieron en un estudio realizado en 168 pacientes incidentes en HD, donde se objetivó que niveles bajos de ácido úrico se asociaron con mayor riesgo de mortalidad (200). A su vez, Suliman y cols, demostraron que la relación del ácido úrico con la mortalidad sigue una curva J, de modo que tanto niveles altos como bajos de ácido úrico aumentan el riesgo de mortalidad (201).

Cuando se analizó la mortalidad cardiovascular o el desarrollo de cualquier evento cardiovascular durante el seguimiento, se mantuvo la asociación con la edad, la enfermedad cardiovascular previa y los FRCV clásicos. A su vez, los IECAS y los AEE se mostraron protectores en el presente estudio y, como cabía esperar, los pacientes que desarrollaban más eventos cardiovasculares o presentaban mayor mortalidad cardiovascular, eran los que recibían más tratamientos utilizados en pacientes con RCV (ACO, AAS). Esos resultados hay que interpretarlos con mucha cautela, ya que el estudio no se diseñó inicialmente para este fin, y por lo tanto, no se randomizaron los diferentes tratamientos recibidos al inicio del estudio.

### **3.2.- Las calcificaciones coronarias y su relación con la mortalidad**

Las calcificaciones coronarias se consideran un marcador de enfermedad arterial coronaria. En nuestro estudio, aquellos pacientes que fallecieron mostraron scores totales de calcio significativamente más altos que los pacientes que permanecieron vivos, con una media de score de calcio de 1578 unidades de Agatston. Asimismo, la probabilidad de desarrollar eventos cardiovasculares o de fallecer por motivos cardiovasculares en el grupo de pacientes con scores de calcio altos (por encima de la mediana) fue del 62.3% (VPP), con una sensibilidad del 69.3% y una especificidad del 66.2%. Esos datos son superponibles a los encontrados por otros autores. Raggi y cols, valoraron la presencia de calcificaciones coronarias mediante EBCT en 205 pacientes en HD, y demostraron que la presencia de IAM, angina y enfermedad arterial coronaria previa era más frecuente en pacientes con calcificación coronaria extensa (83). También, Margolis y cols, encontraron, en pacientes sometidos a coronariografía, que aquellos con calcificaciones coronarias, diagnosticadas mediante

fluoroscopia, tenían una tasa de supervivencia a los 5 años del 58% frente a un 87% en el caso de los pacientes no calcificados. Además, este pronóstico negativo condicionado por la presencia de esas calcificaciones coronarias, parece ser independiente de la severidad de la enfermedad coronaria obstructiva (202). Igualmente, en el estudio de Russo y cols, en pacientes con ERC 3-5 y otros con función renal normal, demostraron la presencia de mayores índices de calcificación coronaria, medidos mediante TCMC, en los pacientes prediálisis junto con una mayor tasa de mortalidad (203). Fensterseifer y cols, en 59 pacientes en HD que se sometieron a una TCMC para la derivación del calcio coronario, encontraron que los scores de calcio severos eran más frecuentes en pacientes mayores y aquellos con mayor prevalencia de cardiopatía isquémica (160).

### **3.3.- Cbfa-1 y mortalidad**

El contenido de Cbfa-1 en los monocitos circulantes de los pacientes que fallecieron fue significativamente menor, con una media de 0.43, que en el resto de los pacientes. Esta relación se perdía en el caso de mortalidad cardiovascular o desarrollo de cualquier evento cardiovascular. Recordando los hallazgos del análisis anterior, los pacientes que mostraron los índices de calcificación más altos tenían un contenido de Cbfa-1 en los monocitos menor que los pacientes menos calcificados, y la calcificación coronaria a su vez, en nuestro estudio, se asoció a mayor mortalidad. Esto podría hacer pensar que los niveles monocitarios de Cbfa-1 podrían ser un marcador nuevo de riesgo cardiovascular. Sin embargo, desconociendo el comportamiento de Cbfa-1 en células mononucleares circulantes de individuos normales, y la relación entre estos valores y el contenido de esta proteína en la pared vascular, no se puede obtener conclusiones definitivas al respecto.

### **4.- Análisis del valor predictivo de las variables estudiadas en la aparición de mortalidad**

Con el modelo de Cox se trató de cuantificar la asociación, o valorar el impacto, entre las diferentes variables registradas para cada paciente y la mortalidad, teniendo en cuenta el tiempo transcurrido, y siempre considerando como variables principales las calcificaciones coronarias y el Cbfa-1.

Se estudió el valor predictivo de la determinación de calcio coronario, junto con las demás variables del estudio, en una población con ERC estadios 4 y 5 y en HD, en la aparición de mortalidad por cualquier causa y mortalidad cardiovascular o eventos cardiovasculares. Las variables a incluir en el modelo final de cox de mortalidad global fueron el score de calcio, la enfermedad cardiovascular previa y los niveles de ácido úrico. La ECV previa mostró una asociación positiva con la mortalidad total con una HR de 3.95 (IC 95%: 1.53 – 10.19). Los niveles de ácido úrico mostraron una relación inversa, más modesta que la anterior, con la mortalidad con una HR 0.37 (IC 95%: 0.16 – 0.86). Según este modelo el score de calcio no constituye un factor independiente para mortalidad por cualquier causa, hecho condicionado probablemente por el escaso número de casos.

En cambio, las variables a incluir en el modelo final de cox de mortalidad cardiovascular o desarrollo de eventos cardiovasculares fueron el score de calcio y la PCR. Se encontró que el tener un score de calcio alto incrementa la probabilidad estimada de mortalidad cardiovascular o de padecer eventos cardiovasculares en un 240 % durante un tiempo medio de seguimiento de 20 meses (HR de 2.4). De forma análoga, los pacientes que tienen más inflamación crónica, reflejada mediante niveles de PCR, se mueren 1.63 veces más que los pacientes menos inflamados.

Abundan los estudios que han evaluado el pronóstico de la medida del score coronario mediante tomografía computarizada tanto en la población general como en la ERC, demostrando que la calcificación coronaria predice los eventos coronarios independientemente de otros FRCV o de otras escalas de RCV (131-134). En el estudio de La Monte y cols, con 11000 adultos sanos desde 22 a 96 años, el riesgo o la HR de padecer eventos coronarios con score de calcio > de 400 en un tiempo medio de seguimiento de 3.5 años, fue de 8.7 en varones y 6.3 en mujeres (204). Detrano y cols, valorando 1461 pacientes con ERC avanzada, vieron que aquellos que muestran calcificación coronaria en más de un vaso, tenían un riesgo 2.2 veces mayor de sufrir un evento cardiovascular en comparación con los sujetos no calcificados (205). Lo mismo demostraron aquellos estudios que valoraron el valor pronóstico de las calcificaciones vasculares en general, como es el caso del estudio de Blacher y cols, que estudiando 110 pacientes en HD, concluyeron que la presencia y grado de calcificaciones vasculares a nivel de la aorta abdominal y el eje ilio-femoral, era un potente predictor de mortalidad cardiovascular y de cualquier causa (206). Asimismo, London y cols, en 202 pacientes en HD, demostraron que las calcificaciones arteriales mediales en general

eran un potente marcador pronóstico de mortalidad cardiovascular y de cualquier causa, independiente de los FRCV clásicos, con un riesgo relativo de 15.7 (IC 95%: 4.8- 51.4) (2). Adragao y cols, valoraron en 123 pacientes en HD las calcificaciones vasculares mediante radiología convencional a nivel de manos y pelvis, adjudicando un índice de calcificación (índice de Adragao) a cada lesión que va de 1 a 3 en función del grado de calcificación. Pacientes con score de calcio igual o por encima de 3 tenían un riesgo relativo de desarrollar eventos cardiovasculares o de morir de causa cardiovascular de 2.3, en comparación con el resto de pacientes (207). Lo mismo se observó en 5 estudios, realizados en pacientes con ERC y en HD, recogidos en un meta-análisis que incluía un total de 30 estudios que trataban de estudiar las calcificaciones en cualquier territorio arterial y mediante diversas técnicas (Rx, EBCT, etc). En este trabajo, la tasa de mortalidad en 1098 pacientes era 6.2 veces mayor en los pacientes calcificados, que en aquellos sin calcificaciones vasculares (HR 6.22, IC 95%: 2.73-14.44) (208).

A pesar de disponer hoy en día de evidencias que relacionan la presencia de calcificaciones vasculares, detectadas mediante técnicas muy accesibles en la práctica clínica como podrían ser la radiología convencional o los ultrasonidos, con un aumento de riesgo cardiovascular, creemos que el uso de la TCMC en el territorio coronario para determinar la presencia de calcificaciones a este nivel, como es el caso del presente estudio, nos permitirá detectar las calcificaciones arteriales en su estadio más precoz, lo que conlleva importantes implicaciones pronósticas.

El score de Framingham sigue siendo el método más común para predecir el riesgo cardiovascular, utilizando unas variables clínicas y analíticas fáciles y accesibles, que permiten calcular de forma rápida y con una exactitud del 75% el riesgo de padecer eventos cardiovasculares en un período de 10 años (209). Si es bien cierto, este modelo podría tener una capacidad un tanto limitada a la hora de predecir acontecimientos individuales. Continuamente se están proponiendo nuevos factores de riesgo que podrían ser más discriminatorios, como los niveles de PCR y el score de calcio. El problema en añadir cualquier FRCV nuevo a los ya establecidos por Framingham, es su limitado efecto discriminatorio, incluso en presencia de un riesgo relativo bastante alto. Un nuevo factor de riesgo que podría ser útil, debería ofrecer a la vez un riesgo relativo amplio y ser un objetivo terapéutico.

El score de calcio parece ser un FRCV ideal, proporcionándonos una información sobre la aterosclerosis coronaria, aunque es bien cierto que no nos da información sobre la existencia o desarrollo de las placas ateroscleróticas inestables, que en general, se correlaciona estrechamente con FRCV claves como son la edad y el sexo, y además, para considerarlo un marcador de RCV con implicaciones pronósticas, antes habrá que demostrar que bajando el score de calcio mediante una determinada intervención, el pronóstico cardiovascular de esos pacientes mejora. En todo caso, creemos que sería de utilidad para catalogar a una determinada población de mayor RCV, en concreto, en pacientes urémicos.

***SUMARIO***

- La prevalencia de calcificaciones coronarias fue muy elevada en nuestra población, sobre todo en los pacientes en hemodiálisis.
- En un porcentaje importante de casos, las calcificaciones coronarias fueron severas.
- Las calcificaciones coronarias fueron múltiples, al afectar a más de un vaso coronario.
- La coronaria descendente anterior fue la arteria que más frecuentemente se encontraba calcificada, mientras que la coronaria principal izquierda y la descendente posterior fueron las que mostraron índices de calcificación más bajos.
- Los factores que se asociaron con el desarrollo de las calcificaciones coronarias fueron la edad, el tabaquismo, el tiempo de evolución de la DM, el IMC y los niveles de albúmina, PCR, colesterol y triglicéridos.
- No se encontró una relación estadísticamente significativa entre la presencia de alteraciones del metabolismo mineral y el desarrollo de calcificaciones coronarias.
- Los pacientes con ERC 4-5 tenían los niveles más altos de Cbfa-1, y los controles sanos los niveles más bajos.
- En la expresión de Cbfa-1 en los monocitos circulantes de los pacientes en HD parecen influir los niveles de albúmina y urea, y el tiempo de permanencia en diálisis. En cambio, en los pacientes con ERC 4-5, parece ser que tanto el tabaquismo como los niveles de ácido úrico son los factores que influyen en la expresión proteica de dicho factor.
- En los pacientes con ERC 4-5, tanto el score de calcio en la coronaria principal izquierda como en la descendente posterior se asociaron con mayor expresión de Cbfa-1 en los monocitos circulantes.

- En un tiempo de seguimiento medio de 20 meses, la tasa de mortalidad total en nuestros pacientes se situó en torno al 20 %, y en un 48 % de los casos fue de origen cardiovascular.
- Los pacientes en terapia renal sustitutiva presentaron una tasa de aparición de eventos cardiovasculares mayor que los pacientes con ERC 4-5.
- Las variables que se asociaron con una mayor mortalidad fueron la edad, la enfermedad cardiovascular previa, la prevalencia de FRCV clásicos y los niveles de albúmina, ácido úrico, urea y PCR.
- La PCR se asoció de forma independiente con la mortalidad cardiovascular o el desarrollo de eventos cardiovasculares.
- Los pacientes con más calcificaciones coronarias se morían más o desarrollaban más eventos cardiovasculares que los pacientes con menos calcificaciones.
- La calcificación coronaria aumenta el riesgo de morbi-mortalidad cardiovascular en un 240 % (HR 2.4) de los casos.
- El contenido de Cbfa-1 en los monocitos circulantes de los pacientes que fallecieron fue menor que en los pacientes que permanecieron vivos.

## ***CONCLUSIONES***

- Las calcificaciones coronarias son muy prevalentes en la población urémica y desde estadios previos al inicio de la terapia renal sustitutiva. Además, en esta población los índices de calcificación coronaria son muy severos. Habrá que evaluar, de forma prospectiva, si el análisis de estas calcificaciones es un mejor marcador de riesgo cardiovascular que otros métodos diseñados para estudiar las calcificaciones vasculares.
  
- El desarrollo de calcificaciones coronarias se relaciona con los FRCV clásicos y con el grado de inflamación, pero no con las alteraciones del metabolismo calcio-fósforo.
  
- Es posible medir los niveles de Cbfa-1 en monocitos circulantes, y en algún caso estos niveles fueron predictivos de enfermedad cardiovascular. En nuestros pacientes, no obstante, no hubo asociación entre calcificación coronaria y niveles de Cbfa-1. Habrá que evaluar más cuidadosamente la utilidad de este marcador en estudios prospectivos.
  
- El riesgo de morir por motivos cardiovasculares o de desarrollar eventos cardiovasculares aumenta de 2.4 (HR 2.4) veces más en los pacientes más calcificados.

# ***BIBLIOGRAFÍA***

1. Linder A, Charra B, Sherrad DJ, Scribner BH. Accelerated atherosclerosis in prolonged maintenance hemodialysis. *N Engl J Med* 1974; 290: 697-701.
2. Parfrey PS, Foley RN. The clinical epidemiology of cardiac disease in chronic uremia. *J Am Soc Nephrol* 1999; 10: 1053-58.
3. Raine AEG, Schwarz U, Ritz E. The patient with uremia: Hypertension and cardiac problems, in *Oxford textbook of clinical nephrology*. Oxford University Press 1998:1885-1919.
4. Renal Data System. *USRDS 2003 annual report: atlas of end-stage renal disease in the United States*. Bethesda, Md: National Institutes of Health. National Institute of Diabetes and Digestive and Kidney diseases, 2003.
5. Foley RN, Parfrey PS, Sarnak MJ. Epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: S16-3.
6. Parfrey PS, Collingwood P, Foley RN, Bahrle A. Images in Nephrology. Left ventricular disorders detected by mode echocardiography in chronic uraemia. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11(7): 1328-31.
7. Ruilope LM, van Veldhuisen DJ, Ritz E, Luscher TF. Renal function: the cinderella of cardiovascular risk profile. *J Am Cardiol* 2001; 38: 1782-7.
8. Ritz E. Minor renal dysfunction: An emerging independent cardiovascular risk factor. *Heart* 2003; 89: 963-4.
9. Go AS, Chertow GM, Fan D, McCulloch CE, Hsu C. Chronic Kidney disease and the risk of death, cardiovascular events, and hospitalization. *N Engl J Med* 2004; 351: 1296-1305.
10. National Kidney Foundation: *K/DOQI Clinical Practice Guidelines for Chronic Kidney Disease: Hypertension and antihypertensive agents in CKD*. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: S1-S160.
11. Sarnak MJ, Levey AS, Schoolwerth AC, Coresh J, Culleton B, Hamm LL y cols: Kidney disease as a risk factor for development of cardiovascular disease. A statement from the American Heart Association Councils on Kidney in Cardiovascular Disease, High Blood Pressure Research, Clinical Cardiology, and Epidemiology and Prevention. *Circulation* 2003; 108: 2154-2169.
12. Chobanian A, Bakris GL, Black HR, Cushman W, Green LA, Izzo JL, Jones DW, Materson BJ, Oparil S, Wright JT, Roccella E. The Seventh Report of the Joint National Committee on Prevention, Detection, Evaluation, and Treatment of High Blood Pressure. *The JNC 7 Report*. *JAMA* 2003; 289: 2560-72.
13. Henry RA, Kostense PJ, Bos G, Dekker JM, Nijpels G, Heine RJ, Bouter LM, Stehouwer CD. Mild renal insufficiency is associated with increased cardiovascular

- mortality: The Hoorn Study. *Kidney Int* 2002; 62: 1402-7.
14. Abramson JL, Jurkowitz CT, Vaccarino V, Weintraub WS, McClellan W. Chronic Kidney disease, anemia, and incident stroke in a middle-aged, community-based population: the ARIC Study. *Kidney Int* 2003; 64: 610-5.
  15. Flack J, Neaton J, Daniels B, Esunge P. Ethnicity and renal disease: lessons from the Multiple Risk Factor Intervention Trial and Treatment of Mild Hypertension Study. *Am J Kidney Dis* 1993; 21(S4): 31-40.
  16. Hansson L, Zanchetti A, Carruthers SG, Dahlöf B, Elmfeldt D, Julius S y cols for the HOT study group. Effects of intensive blood pressure lowering and low-dose aspirin in patients with Hypertension Optimal Treatment (HOT) randomized trial. *Lancet* 1998; 351: 1755-1762.
  17. Cockcroft DW, Gault MH. Prediction of creatinine clearance from serum creatinine. *Nephron* 1976; 16: 31-41.
  18. Benetos A, Adamopoulos C, Bureau JM, Temmar M, Labat C, Bean KMA, et al. Determinants of accelerated progression of arterial stiffness in normotensive subjects and in treated hypertensive subjects over a 6-year period. *Circulation* 2002; 105: 1202-1207.
  19. Tracy RE, Strong JP, Newman WP III, Malcom GT, Oalman MC, Guzman MA. Renovasculopathies of nephrosclerosis in relation to atherosclerosis at ages 25-54 years. *Kidney Int* 1996; 49: 564-70.
  20. Tomiyama C, Higa A, Dalboni M, Cendrogolo M, Draibe S, Cuppari L, Carvalho A, Neto E, Canziani M. The impact of tradicional and non-traditional risk factors on coronary calcification in pre-dialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2006; 21: 2464-2471.
  21. London GM, Guerin AP, Marchais SJ, et al. Arterial media calcification in end-stage renal disease. Impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1731-1740.
  22. Chertow GM, Raggi P, Chasan-Taber S, et al. Determinants of progressive vascular calcification in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 1489-1496.
  23. Samak MJ, Greene T, Wang X, Beck G, Kusek JW, Collins AJ y cols. The effect of a lower target blood pressure on the progression of kidney disease: long-term follow-up of the Modification of Diet in Renal Disease study. *Ann Inter Med* 2005; 142: 342-351.
  24. Kalaitzidis R, Bakris G. Are renin-angiotensin-aldosterone system blockers distinguishable based on cardiovascular and renal outcomes in nephropathy? *Postgrad Med* 2009; 121 (2): 77-88.

25. Parving HH, Persson F, Lewis JB, Lewis EJ, Hollenberg NK; AVOID study investigators. Aliskiren combined with losartan in type 2 diabetes and nephropathy. *N Eng J Med* 2008; 385: 2433-46.
26. Jardine AG, McLaughlin. Cardiovascular complications of renal disease. *Heart* 2001; 86: 459-466.
27. Zager PG, Nikolic J, Brown RH, Campbell MA, Hunt WC, Peterson D y cols. "U" curve association of blood pressure and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1998; 54: 561-569.
28. Orth SR. Smoking and the Kidney. *J Am Soc Nephrol* 2002; 132: 1663-72.
29. Chow FY, Polkinghorne KR, Chadban SJ, Atkins RC, Kerr PG. Cardiovascular risk in dialysis patients: a comparison of risk factors and cardioprotective therapy between 1996 and 2001. *Nephrology* 2003; 8: 177-83.
30. Foley RN, Herzog CA, Collins AJ. Smoking and cardiovascular outcomes in dialysis patients: the United States Renal Data System Wave 2 study. *Kidney Int* 2003; 63: 1462-1467.
31. Hegeman RL, Hunsicker LG. Chronic rejection in renal allografts: importance of cardiovascular risk factors. *Clin Transplant* 1995; 9: 135-139.
32. Wu M-S, Yu C-C, Yang C-W, Wu C-H, Huang J-Y, Hong J-J, et al. Poor pre-dialysis glycaemic control is a predictor of mortality in type II diabetic patients on maintenance haemodialysis. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 2105-2110.
33. Schmidt AM, Yan SD, Wautier J-L, Stem D. Activation of receptor by advanced glycation end products: A mechanism of chronic vascular dysfunction in diabetic vasculopathy and atherosclerosis. *Circ Res* 1999; 84: 489-497.
34. Becker B, Kronenberg F, Kielstein JT, Haller H, Morath C, Ritz E, et al. Renal insulin resistance syndrome, adiponectin and cardiovascular events in patients with kidney disease: the mild and moderate kidney disease study. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 1091-1098.
35. Kenchalah S, Evans JC, Levy D, Wilson PW, Benjamin EJ, Larson MG: Obesity and the risk of heart failure. *N Eng J Med* 2002; 347: 305-313.
36. Calle EE, Thun MJ, Petrelli JM, Rodriguez C, Health CW Jr. Body mass index and mortality in a prospective cohort of U.S adults. *N Engl J Med* 1999; 341: 1097-1105.
37. Visser M, Bouter LM, McQuillan GM, Wener MH, Harris TB. Elevated C-reactive protein levels in overweight and obese adults. *JAMA* 1999; 282: 2131-2135.
38. Praga M. Obesity a neglected culprit in renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 1157-1159.

39. Port FK, Ashby VB, Dhingra RK y cols. Dialysis dose and body mass index are strongly associated with survival in hemodialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2002; 13: 1061-1066.
40. Kalantar-Zadeh K, Fouque JD. Outcome research, nutrition, and reverse epidemiology in maintenance dialysis patients. *J Ren Nutr* 2004; 14: 64-71.
41. Kean WF. The role of lipids in renal disease: Future challenges. *Kidney Int* 2000; 57(suppl 75): S27-31.
42. Samuelsson O, Mulec H, Knight-Gibson C, Attman PO, Kron B, Larsson R, et al. Lipoprotein abnormalities are associated with increased rate of progression of human chronic renal insufficiency. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 1908-1915.
43. Jungers P, Massy ZA, Nguyen Khoa T, Fumeron C, Labrunie M, Lacour B, et al. Incidence and risk factors of atherosclerotic cardiovascular accidents in predialysis chronic renal failure patients. A prospective study. *Nephrol Dial Transplant* 1997; 12: 2597-2602.
44. Landrat MJ, Thambyrajah J, Mc Glynn FJ, Jones HJ, Baigent C, Kendall MJ, et al. Epidemiological evaluation of known and suspected cardiovascular risk factors in chronic renal impairment. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 537-546.
45. Mann JFE, Gerstein HC, Pogue J, Bosch J, Yusuf S. Renal insufficiency as a predictor of cardiovascular outcomes and the impact of ramipril: the HOPE randomized trial. *Ann Intern Med* 2001; 134: 629-636.
46. Ruilope KM, Salvetti A, Jamerson K, Hansson 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: 218-225.
47. Cullerton BF, Larson MG, Wilson PWF, Evans JC, Parfrey PS, Levy D, et al. Cardiovascular disease and mortality in a community-based cohort with mild renal insufficiency. *Kidney Int* 1999; 56: 2214-2219.
48. Munter P, Coresh J, Smith JC, Eckfeldt J, Klag MJ. Plasma lipids and risk of developing renal dysfunction: the Atherosclerosis Risk in Communities Study. *Kidney Int* 2000; 58: 293-301.
49. Menon V, Wang X, Greene T, Beck GJ, Kuseck JW, Marcovina SM, et al. Relationship between C-reactive protein, albumin, and cardiovascular disease in patients with chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42: 44-52.
50. Ridker PM. Clinical application of C-reactive protein for cardiovascular disease detection and prevention. *Circulation* 2003; 107: 363-369.
51. Shlipak MG, Fried LF, Crump C, Bleyer AJ, Manolio TA, Tracy RP, et al. Elevations of inflammatory and procoagulant biomarkers in elderly persons with renal insufficiency. *Circulation* 2003; 107: 87-92.

52. Muntner P, Hamm LL, Kusek JW, Chen J, Whelton PK, He J. The prevalence of non-traditional risk factors for coronary heart disease in patients with chronic kidney disease. *Ann Intern Med* 2004; 140: 9-17.
53. Landray MJ, Wheeler DC, Lip GY, Newman DJ, Blann AD, McGlynn FJ, et al. Inflammation, endothelial dysfunction and platelet activation in patients with chronic kidney disease: The chronic renal impairment in Birmingham (CRIB) study. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 244-253.
54. Oberg BP, McMenemy E, Lucas FL, McMonagle E, Morrow J, Ikizler TA, et al. Increased prevalence of oxidant stress and inflammation in patients with moderate to severe chronic kidney disease. *Kidney Int* 2004; 65: 1009-1016.
55. Stam F, van Gludener C, Schalkwijk CG, ter Wee PM, Donker AJ, Stehouwer CD. Impaired renal function is associated with markers of endothelial dysfunction and increased inflammatory activity. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 892-898.
56. Descamps-Latscha B, Witko-Sarsat V, Nguyen-Khoa T, Nguyen AT, Gausson V, Mothu N, et al. Advanced oxidation protein products as risk factors for atherosclerotic cardiovascular events in nondiabetic predialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2004; 45: 39-47.
57. Uhlig K, Wang SR, Beck GJ, Kusek JW, Marcovina SM, Greene T, et al. Factors associated with lipoprotein (a) in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2005; 45: 28-38.
58. Refsum H, Smith AD, Ueland PM, Nexø E, Clarke R, McPartlin J, et al. Facts and recommendations about total homocysteine determinations: an expert opinion. *Clin Chem* 2004; 50: 3-32.
59. Mezzano D, Pais EO, Aranda E, Panes O, Downey P, Ortiz M. Inflammation, not hyperhomocysteinemia, is related to oxidative stress and hemostatic and endothelial dysfunction in uremia. *Kidney Int* 2001; 60: 1844-1850.
60. Muntner P, He J, Astor BC, Folsom AR, Coresh J. Traditional and non-traditional risk factors predict coronary heart disease in chronic kidney disease: results from the atherosclerosis risk in communities study. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 529-538.
61. Eschbach JW, Adamson JW. Anemia of end-stage renal disease (ESRD). *Kidney Int* 1985; 28: 1-5.
62. Cannata JB, Díaz López JB. Alteraciones hematológicas en la insuficiencia renal crónica. In Llach F, Valderrábano F, Ed. *Insuficiencia renal crónica*. Madrid: Norma 1997; 423-447.
63. Parfrey PS, Foley RN, Harnett JD, Kent GM, Murria DC, Barre PE. Outcome and risk factors for left ventricular disorders in chronic uremia. *Nephrol Dial Transplant* 1996; 11: 1277-1285.

64. Levin A, Thompson CR, Ethier J, Carlisle EJ, Tobe S, Mendelssohn D. Left ventricular mass index increase in early renal disease: impact of decline on hemoglobin. *Am J Kidney Dis* 1999; 34: 125-134.
65. Al-Ahmed A, Rand WM, Manjunath G, Konstam MA, Salem DN, Levey AS, et al. Reduced kidney function and anemia as risk factors for mortality in patients with left ventricular dysfunction. *J Am Coll Cardiol* 2001; 38 (4): 955-962.
66. Collins AJ, Li S, Gilberston DT, Liu J, Chen SC, Herzog CA. Chronic Kidney disease and cardiovascular disease in the Medicare population. *Kidney Int* 2003; 87: S24-31.
67. Holland DC, Lam M. Predictors of hospitalization and death among predialysis patients: a retrospective cohort study. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15: 650-658.
68. Portolés J, Torralbo A, Martín P, Rodrigo J, Herrero J, Barrientos A. Cardiovascular effects of recombinant human erythropoietin in predialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1997; 29: 541-548.
69. Mocks J, Franke W, Ehmer B, Scigalla P, Quarder O. Analysis of safety database for long-term epoetin-beta treatment. A metaanalysis covering 3697 patients. In: Koch KM, Stein G, eds. *Pathogenetic and Therapeutic Aspect of Chronic Renal Failure*. Marcel Dekker, New York, 1997; 163-179.
70. Morbidity and mortality of renal dialysis: an NIH consensus conference statement. Consensus Development Conference Panel. *Ann Intern Med* 1994; 121: 62-70.
71. Delano BG. Improvements in quality of life following treatment with r-HuEPO in anemic hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1989; 14: 14-18.
72. Marco MP, Craver L, Betriu A, Belart M, Fibla J, Fernandez E. Higher impact of mineral metabolism on cardiovascular mortality in an European hemodialysis population. *Kidney Int* 2003; 85: S111-114.
73. Rostand SG, Drueke TB. Parathyroid hormone, vitamin D, and cardiovascular disease in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 56: 383-392.
74. Watson KE, Abrolat ML, Malone LL, Hoeg JM, Doherty T, Detrano R, et al. Active serum vitamin D levels are inversely correlated with coronary calcification. *Circulation* 1997; 96: 1755-1760.
75. Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW, Port FK. Association of serum phosphorus and calcium x phosphorus product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: A national study. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 607-617.
76. Merino A, Noguerras S, Buendía P, Ojeda R, Carracedo J, Ramirez-Chamond R, et al. Microinflammation and endothelial damage in hemodialysis. *Contrib Nephrol* 2008; 161: 83-88.

77. Soft tissue calcification in chronic renal failure. In the spectrum of renal osteodystrophy, Oxford Edited By T Drueke and I Salusky 2000; 346-367.
78. Wallin R, Wajih N, Greenwood T, Sane DC. Arterial calcification: A review of mechanisms, animals' models and the prospects of therapy. *Med Res Rev* 2001; 4: 274-301.
79. 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: 1478-1483.
80. London GM, Guerin AP, Marchais SJ, Métivier F, Pannier B, Adda H. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18: 1731-1740.
81. Safar ME, Blacher J, Pannier B, Guerin AP, Marchais SJ, Guyonvarch P-M, et al. Central pulse pressure and mortality in end-stage renal disease. *Hypertension* 2002; 39: 735-738.
82. London GM. Cardiovascular calcifications in uremic patients: clinical impact on cardiovascular function. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: S305-S309.
83. Raggi P, Boulay A, Chasan-Taber S, Amin N, Dillon M, Burke SK, et al. Cardiac calcification in adult hemodialysis patients: A link between end-stage renal disease and cardiovascular disease. *J Am Coll Cardiol* 2002; 39: 695-701.
84. Parhami F, Demer LL. Arterial calcification in face of osteoporosis in ageing: can we blame oxidized lipids? *Current Opin Lipidology* 1997; 8: 312-314.
85. Parhami F, Morrow AD, Balucan J, Leitinger N, Watson AD, Tintuf Y, et al. Lipid oxidation products have opposite effects on calcifying vascular cell and bone cell differentiation. *Arterioscler Throm Vasc Biol* 1997; 17: 680-687.
86. Komori T, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K, et al. Targeted disruption of *Cbfa1* results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell* 1997; 89: 755-764.
87. Moe SM, O'Neill KD, 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: 638-647.
88. Price PA, Williamson MK, Nguyen TM, Than TN. Serum levels of the fetuin-mineral complex correlate with artery calcification in the rat. *J Biol Chem* 2004; 279: 1594-600.
89. Moe SM, Duan D, Doehle BP, O'Neill KD, Chen NX. Uremia induces the osteoblast differentiation factor *Cbfa1* in human blood vessels. *Kidney Int* 2003; 63: 1003-11.

90. Chen XN, O'Neill KD, Koczman JJ, Duan D, Moe SM. Role of bone morphogenic proteins (BMPs) in uremic serum induced Cbfa 1 expression and mineralization in bovine vascular smooth muscle cells. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 691 Abstract.
91. Lee B, Thirunavukkarasu K, Zhou L, Pastore L, Baldini A, Hecht J, et al. Missense mutations abolishing DNA binding of the osteoblast-specific transcription factor OSF2/CBFA1 in cleidocranial dysplasia. *Nat Genet* 1997; 16: 307-310.
92. Ogawa S, Harada H, Fujiwara M, Tagashira S, Katsumata T, Takada H. Cbfa1, an essential transcription factor for bone formation, is expressed in testis from the same promoter used in bone. *DNA Res* 2000; 7(3): 181-185.
93. Miura M, Chen XD, Allen MR, Bi Y, Gronthos S, Seo BM, et al. A crucial role of caspase-3 in osteogenic differentiation of bone marrow stromal stem cells. *J Clin Invest* 2004; 114(12): 1704-1713.
94. Wang FS, Yang KD, Wang CJ, Huang HC, Chio CC, Hsu TY, et al. Shockwave stimulates oxygen radical-mediated osteogenesis of the mesenchymal cells from human umbilical cord blood. *J Bone Miner Res* 2004; 19(6): 973-982.
95. Vaillant F, Blyth K, Terry A, Bell M, Cameron ER, Neil J, et al. A full-length Cbfa1 gene product perturbs T-cell development and promotes lymphomagenesis in synergy with myc. *Oncogene* 1999; 18(50): 7124-7134.
96. Reynolds JL, Joannides AJ, Skepper JN, McNair R, Schurgers LJ, Proudfoot D, et al. Human vascular smooth muscle cells undergo vesicle-mediated calcification in response to changes in extracellular calcium and phosphate concentrations: a potential mechanism for accelerated vascular calcification in ESRD. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2875-2867.
97. Shanahan CM, Cary NR, Salisbury JR, Proudfoot D, Weissberg PL, Edmonds ME, et al. Medial localization of mineralization-regulating proteins in association with Monckeberg's sclerosis: evidence for smooth muscle cell-mediated vascular calcification. *Circulation* 1999; 100: 2168-2176.
98. Proudfoot D, Skepper JN, Hegyi L, Bennett MR, Sanan CM, Weissberg PL. Apoptosis regulates human vascular calcification in vitro, evidence for initiation of vascular calcification by apoptotic bodies. *Circ Res* 2000; 87: 1055-1062.
99. Shanahan CM. Vascular calcification. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2005; 14: 361-367.
100. Giachelli CM. Vascular calcification mechanisms. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15: 2959-2964.
101. Cozzolino M, Brancaccio D, Gallieni M, Slatopolsky E. Pathogenesis of vascular calcification in chronic kidney disease. *Kidney Int* 2005, 68: 429-436.

102. Shanahan CM, Proudfoot D, Farzaneh-Far A, Weissberg PL. The role of Gla proteins in vascular calcifications. *Crit Rev Eucaryot Gene Expr* 1998; 8: 357-275.
103. 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.
104. Reynolds JL, Skepper JN, McNair R, Kasama T, Gupta K, Weissberg PL, et al. Multifunctional roles for serum protein fetuin-a in inhibition of human vascular smooth muscle cell calcification. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16: 2920-2930.
105. Giachelli CM. Vascular calcification: In vitro evidence for the mouse for the role of inorganic phosphate. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: S300-S304.
106. Moe SM, Chen XN, O'Neill KD, Brown K, Westenfeld R, Jahnen-Dechent W, et al. Fetuin-A and matrix gla protein (MGP) are important inhibitors of vascular calcification in CKD. *J Am Soc Nephrol* 2003; 14: 692 Abstract.
107. Wallin R, Wajih N, Greenwood T, Sanae DC. Arterial calcification: A review of mechanisms, animal models and the prospects of therapy. *Med Res Rev* 2001; 4: 274-301.
108. 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: E10-17.
109. Giachelli CM. Ectopic calcification: New concepts in cellular regulation. *Z Kardiol* 2001; 90 (Suppl 3): 31-37.
110. Mathew S, Lund RJ, Strebeck F, Tustison KS, Geurs T, Hruska KA. Reversal of the adynamic bone disorder and decreased vascular calcification in chronic kidney disease by sevelamer carbonate therapy. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18: 122-130.
111. Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. *Osf2/Cbfa1*: A transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 1997; 89: 747-754.
112. Chen NX, O'Neill KD, Duan D, Moe SM. Phosphorus and uremic serum up-regulate osteopontin expression in vascular smooth muscle cells. *Kidney Int* 2002; 62: 1724-1731.
113. Yang H, Curinga G, Giachelli CM. Elevated extracellular calcium levels induce smooth muscle cell matrix mineralization in vitro. *Kidney Int* 2004; 66: 2293-2299.
114. Goodman WG, London G, Amann K, Block GA, Giachelli C, Hruska KA, et al. Vascular calcification in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2004; 43: 572-579.
115. 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: 1302-1306.

116. Tentori F, Hunt WC, Stidley CA, Rohrscheib MR, Bedrick EJ, Meyer KB, et al. Mortality risk among hemodialysis patients receiving different vitamin D analogs. *Kidney Int* 2006; 70: 1858-1865.
117. Cannata-Andía JB, Rodríguez-García M, Carrillo-López N, Naves-Díaz M, Díaz-López B. Vascular calcifications: Pathogenesis, Management, and impact on clinical outcomes. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17: S267-S273.
118. Tintut Y, Patel J, Parhami F, Demer LL. Tumor necrosis factor- $\alpha$  promotes in vitro calcification of vascular cells via the c-AMP pathway. *Circulation* 2000; 102: 2636-2642.
119. Tintut Y, Patel J, Territo M, Saini T, Parhami F, Demer L. Monocyte/Macrophage regulation of vascular calcification in vitro. *Circulation* 2002; 105: 650-655.
120. Nishizawa Y, Shoji T, Maekawa K, Nagasue K, Okuno S, Kim M, et al. Intima-media thickness of carotid artery predicts cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2002; 41: S76-S79.
121. Mintz GS, Pichard AD, Popma JJ, Kent KM, Salter LF, Bucher TA, et al. Determinants and correlates of target lesion calcium in coronary artery disease: A clinical, angiographic and intravascular ultrasound study. *J Am Coll Cardiol* 1997; 29: 268-274.
122. Raggi P. Effects of excess calcium load on the cardiovascular system measured with electron beam tomography in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2002; 17: 332-335.
123. Chertow GM, Burke SK and Raggi P for the Treat to Goal Working Group. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002; 62: 245-252.
124. Keelan PC, Bielak LF, Ashai K, Jamjoum LS, Denktas AE, Rumberger JA, et al. Long-term prognostic value of coronary calcification detected by electron-beam computed tomography in patients undergoing coronary angiography. *Circulation* 2001; 104: 412-417.
125. Agatston AS, Janowitz WR, Hildner FJ, Zusmer NR, Viamonte M, Detrano R. Quantification of coronary artery calcium using ultrafast computed tomography. *J Am Coll Cardiol* 1999; 15: 827-832.
126. Raggi P, Callister TQ, Coolí B, He ZX, Lippolis NJ, Russo DJ, et al. Identification of patients at increased risk of first unheralded acute myocardial infarction by electron beam computed tomography. *Circulation* 2000; 101: 850-855.
127. Arad Y, Spadaro LA, Goodman K, Newstein D, Guerci AD. Prediction of coronary events with electron beam computed tomography. *J Am Coll Cardiol* 2000; 36(4): 1253-1260.

128. Raggi P, Cooli B, Callister TQ. Use of electrom beam tomography data to develop models for prediction of hard coronary events. *Am Heart J* 2001; 141: 375-382.
129. Callister TQ, Coolí B, Raya SP, Lippolis NJ, Russo DJ, Raggi P. Coronary artery disease. Improved reproductibility of calcium scoring with an electron beam CT volumetric method. *Radiology* 1998; 208: 807-14.
130. O'Rourke RA, Brundage BH, Froelicher VF, Greenland P, Grundy SM, Hachamovitch R, et al. American College of Cardiology / American Heart Association expert consensus document on electron beam computed tomography for the diagnosis and prognosis of coronary artery disease. *Circulation* 2000; 102: 126-140.
131. Kuettner A, Trabold T, Schroeder S, Feyer A, Beck T, Brueckner A, et al. Noninvasive detection of coronary lesions using 16-detector multislice spiral computed tomography technology: initial clinical results. *J Am Coll Cardiol* 2004; 44(6): 1230-1237.
132. Ohnesorge B, Flohr T, Becker C, Kopp AF, Shoep VJ, Baum V, et al. Cardiac imaginig by means of electrocardiographically gated multisection spiral CT: initial experience. *Radiology* 2000; 217: 564-571.
133. Hong C, Becker C, Huber A, Schoepf J, Ohnesorge B, Knez A, et al. ECG-gated reconstructed multidetector row CT coronary angiography: effect of varying trigger delay on image quality. *Radiology* 2001; 220: 712-717.
134. Kenneth DH, Strollo DC, Mauger DT. Comparison of electron beam an ungated helical CT in detecting coronary arterial calcification by using a working heart phantom. *Radiology* 2002; 222: 474-482.
135. Moe SM, O'Neill KD, Fineberg N, Persohn S, Ahmed S, Garrett P, et al. Assessment of vascular calcification in ESRD using spiral CT. *Nephrol Dial Transplant* 2003;18: 1152-1158.
136. Splendiani G, Morosetti M, Manni M, Jankovic L, Naticchia A, Sturniolo A, et al. Cardiac calcium evaluation in hemodialysis patients with multisection spiral computed tomography. *Int J Artif Organs* 2004; 9: 759-765.
137. Nitta K, Akiba T, Suzuki K, Uchida K, Ogawa T, Majima K, et al. Assessment of coronary artery calcification in hemodialysis patients using multi-detector spiral CT scan. *Hypertens Res* 2003; 8: 527-533.
138. Stompór TP, Pasowicz M, Sulowicz, Dembińska-Kieć A, Janda K, Wójcik K, Tracz W, et al. Trends and dynamics of changes in calcification score over the 1-year observation period in patients on peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis* 2004; 3: 517-528.
139. Kidney disease: Improving Global Outcomes (KDIGO) CKD-MBD work group. KDIGO clinical practice guideline for the diagnosis, evaluation, prevention, and treatment of chronic kidney diseases, mineral and bone disorders (CKD-MBD).

- Kidney Int 2009; 113 (suppl): S1-S130.
140. Shoji T, Nishizawa Y, Kawagishi T, Tanaka M, Kawasaki K, Tabata T, et al. Atherogenic lipoprotein changes in the absence of hyperlipidemias in patients with chronic renal failure treated by hemodialysis. *Atherosclerosis* 1997; 131: 229-236.
141. Shoji T, Nishizawa Y, Kawagishi T, Kawasaki K, Taniwaki, Tabata T, et al. Intermediate-density lipoprotein as an independent risk factor for aortic atherosclerosis in HD patients. *J Am Soc Nephrol* 1998; 9: 1277-1284.
142. Baigent C and M. Landry. Study of heart and renal protection (SHARP). *Kidney Int* 2003; 63 (Supp): S207-S210.
143. Baigent C, Burbury K, Wheeler D. Premature cardiovascular disease in chronic renal failure. *Lancet* 2000; 356: 147-152.
144. Liu Y, Coresh J, Eustace JA, Longenecker C, Jaar B, Fink NE, et al. Association between cholesterol level and mortality in dialysis patients: role of inflammation and malnutrition. *JAMA* 2004; 291: 451-459.
145. Manni M, Coen G, Balducci A, Morosetti M, Jankovic L, Mantella D, et al. Cardiac calcification in HD patients assessed with spiral computed tomography. *Minerva Urol nefrol* 2006; 58: 181-188.
146. Sigrist MK, Taal MW, Bungay P, McIntyre CW. Progressive vascular calcification over 2 years is associated with arterial stiffening and increased mortality in patients with stage 4 and 5 CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2: 1241-1248.
147. Barreto DV, Barreto FC, Carvalho AB, Cuppari L, Cendoroglo M, Draibe SA, et al. Coronary calcification in hemodialysis patients: the contribution of traditional and uremia-related risk factors. *Kidney Int* 2005; 67: 1576-1582.
148. Jean G, Bresson E, Terrat JC, Vanel T, Hurot JM, Lorriaux C, et al. Peripheral vascular calcification in long-haemodialysis patients: associated factors and survival consequences. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24: 948-955.
149. Milker-Zabel S, Zabel A, Manegold C, Zuna I, Wannemacher M, Debus J. Calcification in coronary arteries as quantified by CT scans correlated with tobacco consumption in patients with inoperable non small cell lung cancer treated with three-dimensional radiotherapy. *Br J Radiol* 2003; 76: 891-896.
150. Eifinger F, Wahn F, Querfeld U, Pollok M, Gevargez A, Kriener P, et al. Coronary artery calcification in children and young adults treated with replacement therapy. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 16: 1892-1894.
151. Oh J, Wunsch R, Turzer M, Bahner M, Raggi P, Querfeld U, et al. Advanced coronary and carotid arteriopathy in young adult with childhood-onset chronic renal failure. *Circulation* 2002; 106: 100-105.

152. Braun J, Oldendorf M, Moshage W, Heidler R, Zeitler E, Luft FC. Electron beam computed tomography in the evaluation of cardiac calcification in chronic dialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1996; 27: 394-401.
153. Robinson J, Tan AU, Wilensky RL, Matthai W, Munoz M, Rosas SE. Coronary artery calcification is related to coronary atherosclerosis in chronic renal disease patients: a study comparing EBCT calcium scores and coronary angiography. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 2307-2312.
154. Chertow GM, Burke SK, Raggi P; Treat to Goal Working Group. Sevelamer attenuates the progression of coronary and aortic calcification in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2002; 62: 245-252.
155. Tamashiro M, Iseki K, Sunagawa O, Inoue T, Higa S, Afuso H, et al. Significant association between the progression of coronary artery calcification and dyslipidemia in patients on chronic hemodialysis. *Am J Kidney Dis* 2001; 38: 64-69.
156. Schmermund A, Lange S, Schnert C, Altmaier K, Baumgart D, Gorge G, et al. Electron beam tomography in coronary disease. Prevalence and distribution of coronary calcification and their relationship with coronary risk factors in 650 patients. *Dtsch Med Wochenschr* 1995; 120: 1229-1235.
157. Caro P, Delgado R, Dapena F, Njuñez A. Valoración de las calcificaciones coronarias. *Nefrología* 2007; 27: 721-728.
158. Sigrist M, Taal M, Bungay P, McIntyre C. Progressive vascular calcification over years is associated with arterial stiffening and increased mortality in patients with stage 4 and 5 CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2: 1241-1248.
159. Veit D, Carvalho F, Barbosa A, Cupparil, Cendoroglo M, Daibe S, et al. Coronary calcification in hemodialysis patients: The contribution of traditional and uremia-related risk factors. *Kidney Int* 2005; 67: 1576-1582.
160. Fensterseifer DM, Karohl C, Schwartzman P, Costa CA, Veronese FJ. Coronary calcification and its association with mortality in haemodialysis patients. *Nephrology (Carlton)* 2009; 14: 164-170.
161. Edmonds ME. Medial arterial calcification and diabetes mellitus. *Zeitschrift für kardiologie* 2000; 89 (supp): 101-104.
162. Lehto S, Niskanen L, Suhonen M, Rönnemaa T, Laakso M. Medial artery calcification. A neglected harbinger of cardiovascular complications in non-insulin dependent diabetes mellitus. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 1996; 16: 978-983.
163. Mehrotra R, Budoff M, Christenson P, Ipp E, Takasu J, Gupta A, et al. Determinants of coronary artery calcification in diabetics with and without nephropathy. *Kidney Int* 2004; 66: 2020-2031.

164. Wang TJ, Larson MG, Levy D, Benjamin EJ, Kupka MJ, Manning WJ, et al. C-reactive protein is associated with subclinical epicardial coronary calcification in men and women. *Circulation* 2002; 106: 1189-1191.
165. Guérin AP, London GM, Marchais SJ, Metivier F. Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrology Dial Transplant* 2000; 15: 1014-1021.
166. Wang AYM, Woo J, Wang M, Sea MMM, Ip R, Li PKT, et al. Association of inflammation and malnutrition with cardiac valve calcification in continuous ambulatory peritoneal dialysis patients. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12:1927-1936.
167. McCullough PA, Sandberg KR, Dumler F, Yanez JE. Determinant of coronary vascular calcification in patients with chronic kidney disease and end-stage renal disease: A systematic review. *J Nephrol* 2004; 17: 205-215.
168. Terry JG, Carr JJ, Kouba EO, Davis DH, Menon L, Bender K, et al. Effect of simvastatine (80mg) on coronary and abdominal aortic arterial calcium (from the coronary artery calcification treatment with zocor [CATZ] study). *The American Journal of Cardiology* 2007; 99: 1714-1717.
169. Qunibi W, Moustafa M, Muenz LR, He DY, Kessler PD, Diaz-Buxo JA; CARE-2 Investigators. A 1 year randomized trial of calcium acetate versus sevelamer on progresión of coronary artery calcification in hemodialysis patients with comparable lipid control. Care-2 study. *Am J Kidney Dis* 2008; 51: 952-65.
170. Qunibi WY, Nolan CR, Ayus JC. Cardiovascular calcification in patients with end-stage renal disease: A century-old phenomenon. *Kidney Int* 2002; 82 (Suppl): 73-80.
171. Block GA, Klassen PS, Lazarus JM, Ofsthun N, Lowrie EG, Chertow GM. Mineral metabolism, mortality and morbidity in maintenance hemodialysis. *J Am Soc Nephrology* 2004; 15: 2208-2218.
172. Rashid G, Plotkin L, Klein O, Green J, Bernheim J, Benchetrit S. Parathyroid hormone decreases endothelial osteoprotegerin secretion: role of protein kinase A and C. *Am J Physiol* 2009; 296: 60-66.
173. Neves KR, Graciolli FG, Dos Reis LM, Graciolli RG, Neves CL, Magalhães AO, et al. Vascular calcification: contribution of parathyroid hormone in renal failure. *Kidney Int* 2007; 71: 1262-1270.
174. Barreto DV, Barreto Fde C, Carvalho AB, Cuppari L, Draibe SA, Dalboni MA, et al. Association of changes in bone remodeling and coronary calcification in hemodialysis patients: a prospective study. *Am J Kidney Dis* 2008; 52:1139-1150.
175. Choi SH, An JH, Lim S, Koo BK, Park SE, Chang HJ, et al. Lower bone mineral density is associated with higher coronary calcification and coronary plaque burdens by multidetector row coronary computed tomography in pre- and postmenopausal

- women. *Clin Endocrinol* 2009; 71: 644-651.
176. Block GA, Spiegel DM, Ehrlich J, Mehta R, Lindbergh J, Dreisbach A, et al. Effects of sevelamer and calcium on coronary artery calcification in patients new to hemodialysis. *Kidney Int* 2005; 68: 1815-1824.
177. Sigrist MK, Taal MW, Bungay P, McIntyre CW. Progressive vascular calcification over 2 years is associated with arterial stiffening and increased mortality in patients with stage 4 and 5 CKD. *Clin J Am Soc Nephrol* 2007; 2: 1241-1248.
178. Fernández-Reyes MJ, Auxiliadora Bajo M, Robles P, Selgas R, Oliver J, Del Peso G, et al. Mitral annular calcification in CAPD patients with a low degree of hyperparathyroidism. An analysis of other possible risk factors. *Nephrology Dial Transplant* 1995; 10: 2090-2095.
179. Ribeiro S, Ramos A, Brandao A, Rebelo J, Guerra A, Resina C, et al. Cardiac valve calcification in haemodialysis patients: role of calcium-phosphate metabolism. *Nephrology Dial Transplant* 1998; 13: 2037-2040.
180. Jono S, Nishizawa Y, Shioi A, Morii H. Parathyroid hormone-related peptide as a local regulator of vascular calcification: Its inhibitory action on in vitro calcification by bovine vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 1997; 17: 1135-1142.
181. Marchais SJ, Metivier F, Guerin AP, London GM. Association of hyperphosphataemia with haemodynamic disturbances in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 1999; 14: 2178-2183.
182. Ganesh SK, Stack AJ, Levin NW, Hulbert-Shearon T, Port FK. Association of Elevated Serum PO<sub>4</sub>, Ca x PO<sub>4</sub> Product, and Parathyroid Hormone with Cardiac Mortality Risk in Chronic Hemodialysis Patients. *J Am Soc Nephrol* 2001; 12: 2131-2138.
183. O'Donnell CJ, Shea MK, Price PA, Gagnon DR, Wilson P W.F, Larson MG, et al. Matrix Gla proteína is associated with coronary artery calcification as assessed by electron-beam computed tomography. *Thromb Haemost* 2004; 91: 790-794.
184. Chen NX, Duan D, O'Neill KD, Moe SM. High glucose increases the expression of Cbfa1 and BMP2 and enhances the calcification of vascular smooth muscle cells. *Nephrology Dial Transplant* 2006; 21: 3435-3442.
185. Lou LM, Pérez J, Sanz A.: Análisis simultáneo de los factores pronósticos de mortalidad en hemodiálisis periódica. *Nefrología* 1998; 18: 67-76.
186. Hutchinson TA, Thomas DC, Macgibbon B. Predicting survival in adults with end-stage renal disease: An age equivalence index. *Ann Intern Med* 1982; 96: 417-423.

187. Vollmer WM., Was PW., Blagg CR. Survival with dialysis and transplantation in patients with end stage renal disease. *N Eng J Med* 1983, 308: 1553-1558.
188. Leavey SF , Strawderman RL, Jones CA , Port FK, Held PJ. Simple nutrition indicators as independent predictors of mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1998; 31: 997-1006.
189. Herrmann FR, Safran C, Levkoff SE, Minaker KL. Serum albumin level on admission as a predictor of death, length of stay and readmission. *Arch Intern Med* 1992; 152: 125-130.
190. Chung SH, Lindholm B, Lee HB. Influence of initial nutritional status on continuous ambulatory peritoneal dialysis patient survival. *Perit Dial Int* 2000; 20: 19-26.
191. Acchiardo SR, Moore LW, Latour PA: Malnutrition as the main factor in morbidity and mortality of hemodialysis patients. *Kidney Int* 1983; 24 (Suppl):S199–S203.
192. Bergström J, Lindholm B: Malnutrition, cardiac disease and mortality - An integrated point of view. *Am J Kidney Dis* 1998; 32: 834-841.
193. Stenvinkel P, Heimbürger O, Paultre F, Diczfalusy U, Wang T, Berglund L, et al. Strong association between malnutrition, inflammation, and atherosclerosis in chronic renal failure. *Kidney Int* 1999; 55: 1899-1911.
194. Zimmermann J, Herrlinger S, Pruy A, Metzger T, Wanner C. Inflammation enhances cardiovascular risk and mortality in hemodialysis patients. *Kidney Int* 1999; 55: 648-658.
195. Yeun JY, Levine RA, Mantadilok V, Kaysen GA. C-reactive protein predicts all-cause and cardiovascular mortality in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 2000; 35: 469-476.
196. Shantouf R, Kovesdy CP, Kim Y, Ahmadi N, Luna A, Luna C, et al. Association of serum alkaline phosphatase with coronary artery calcification in maintenance hemodialysis patients. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4: 1106-1114.
197. Kim SY, Guevara JP, Kim KM, Choi HK, Heitjan DF, Albert DA. Hyperuricemia and risk of stroke. A systematic review and meta- analysis. *Arthritis Reuma* 2009; 61: 885-92.
198. Navaneethan SD, Beddhu S. Association of serum uric acid with cardiovascular events and mortality in moderate chronic kidney disease. *Nephrology Dial Transplant* 24: 1260-6.
199. Tang Z, Cheng LT, Li HY, Wang T. Serum uric acid and endothelial dysfunction in continuous ambulatory peritoneal dialysis peritoneal. *Am J Nephrol* 2009; 29: 368-373.

200. Kurt Lee SM, Lee AL, Winters TJ, Tam E, Jaleel M, Stenvinkel P, et al. Low serum uric acid level is a risk factor for death in incident hemodialysis patients. *Am J Nephrol* 2009; 29: 79-85.
201. Suliman ME, Johnson RJ, García-López E, Qureshi AR, Molinaei H, Carrero JJ, et al. J-shaped mortality relationship for uric acid in CKD. *Am J Kidney Dis* 2006; 48 (5): 761-771.
202. Margolis JR, Chen JT, Kong Y, Peter RH, Behar VS, Kisslo JA. The diagnostic and prognostic significance of coronary artery calcification. A report of 800 cases. *Radiology* 1980; 137: 609-616.
203. Russo D, Corrao S, Miranda I, Ruocco C, Manzi S, Elefante R, et al. Progression of coronary artery calcification in predialysis patients. *Am J Nephrol* 2007; 27: 152-158.
204. LaMonte MJ, FitzGerald SJ, Church TS, Barlow CE, Radford NB, Levine BD, et al. Coronary artery calcium score and coronary heart disease events in a large cohort of asymptomatic men and women. *Am J Epidemiol* 2005; 62: 421-429.
205. Detrano R, Hsiai T, Wang S, Puentes G, Fallavollita J, Shields P, et al. Prognostic value of coronary calcification and angiographic stenoses in patients undergoing coronary angiography. *J Am Coll Cardiol* 1996; 27: 285-290.
206. Blacher J, Guerin AP, Pannier B, Marchais SJ, London GM. Arterial calcification, arterial stiffness and CV risk in ESRD. *Hypertension* 2001; 38: 938- 942.
207. Adragao T, Pires A, Lucas C, Birne R, Magalhaes L, Gonçalves M, et al. A simple vascular calcification score predicts cardiovascular risk in HD patients. *Nephrol Dial Transplant* 2004; 19: 1480-1488.
208. Rennenberg R J, Kessels A G, Schurgers L J, van Engelshoven J M, De Leeuw P W, Kroon A A. Vascular calcification as a marker of increased cardiovascular risk: A meta-analysis. *Vasc Health Risk Manag* 2009; 5: 185-197.
209. Wilson PW, D' Agostino RB, Levy D, Belanger AM, Silbershatz H, Kannel WB. Prediction of coronary heart disease using risk factor categories. *Circulation* 1998; 97: 1837-1847.

# ANEXOS

## **+.- ANEXO I: DOCUMENTACIÓN DE INFORMACIÓN AL PACIENTE Y CONSENTIMIENTO INFORMADO**

### *HOJA DE INFORMACION A LOS PACIENTES*

#### *OBJETIVO DEL ESTUDIO*

Se le propone participar en un estudio de investigación llevada a cabo por médicos de los servicios de Nefrología, Radiología y Análisis clínicos, cuyo objetivo es intentar conocer qué importancia tiene la exploración mediante escáner en la detección precoz de complicaciones importantes de la insuficiencia renal crónica a nivel de las arterias del corazón.

De los resultados obtenidos en este estudio podría derivarse la conveniencia de utilizar esta exploración como una determinación más en los pacientes con esta enfermedad, dado que los hallazgos encontrados podrían aconsejar seguir una determinada pauta de tratamiento. De esta forma, este estudio podría resultar beneficioso para la población de pacientes con insuficiencia renal.

#### *EXPLORACIONES QUE SE PROPONEN REALIZAR*

Si usted decide participar en el estudio:

1. En uno de los análisis de control habituales, se harán además mediciones de otros valores de laboratorio relacionados con el riesgo cardiovascular. También mediremos algunos parámetros relacionados con la inflamación que pueden influir en el proceso de la arteriosclerosis. Se realizará además una extracción de 10 cc de sangre destinada a estudios genéticos.
2. En el servicio de radiología se le realizará un escáner de tórax, para medir el calcio en las arterias del corazón

#### *REQUISITOS PARA PARTICIPAR EN EL ESTUDIO*

El único requisito es que usted esté diagnosticado de IRC de moderada a severa o en programa de diálisis.

También es imprescindible que quiera, libre y voluntariamente, participar en el mismo. Si así lo decide, deberá firmar una hoja de consentimiento que nos autoriza a realizar las pruebas de laboratorio y radiológicas comentadas. Podrá retirarse del estudio cuando lo considere oportuno sin tener que dar explicaciones a nadie. Si hace esto, será tratado de igual forma que si continúa en él, únicamente no conocerá su riesgo cardiovascular.

#### *RIESGOS POR PARTICIPAR*

El único riesgo al que será sometido deriva de la exposición a la pequeña dosis de radiación por la realización de escáner torácico. Ya que no se va a utilizar ningún tipo de contraste, este riesgo es mínimo.

### *VENTAJAS POR PARTICIPAR*

La información que se obtenga, además de la utilidad para el propio estudio, nos proporcionará datos sobre el estado de las arterias de su corazón, y esto podría ser beneficioso para usted mismo, al permitirnos detectar precozmente alteraciones que pudiera tener a ese nivel.

Con la información obtenida se hará un informe que refleja el su grado de riesgo cardiovascular. Usted junto a su médico, que le realiza el seguimiento habitualmente, decidirán las medidas de tratamiento que se deberían tomar (dieta, ejercicio, abandono de hábitos tóxicos, medicación...).

### *CONSECUENCIAS DE NO PARTICIPAR*

Si usted prefiere no participar, no tendrá consecuencia alguna. El seguimiento en Nefrología / Unidad de diálisis será el mismo que tenía, tanto si participa como si no lo hace.

### *CONFIDENCIALIDAD DE LOS DATOS*

Sus datos de filiación, las analíticas, los resultados del escáner y el resto de la información clínica, formarán parte de un registro al que sólo tendrán acceso los investigadores del estudio o las autoridades sanitarias, si así lo consideran oportuno. Las conclusiones del estudio serán publicadas. En ningún caso usted podrá ser identificado. Sus datos serán manejados de acuerdo a la ley 15/199 sobre protección de datos de carácter personal.

*CONSENTIMIENTO INFORMADO*

*CONSETIMIENTO ESCRITO*

Título del estudio: ***Estudio de investigación sobre el valor pronóstico de las calcificaciones coronarias estudiadas mediante TAC helicoidal multicorte en pacientes con insuficiencia renal crónica.***

Yo,..... (Nombre y apellidos)

He leído la hoja de información que se me ha entregado

He hablado con: .....  
(Nombre del investigador)

He podido hacer preguntas sobre el estudio para resolver mis dudas

He recibido suficiente información sobre el estudio

Comprendo que mi participación es voluntaria.

Comprendo que puedo retirarme del estudio cuando quiera, sin tener que dar explicaciones, y sin que esto repercuta en mi atención médica

Presto libremente mi conformidad para participar en el estudio.

Firma del participante: .....

Fecha: .....

He explicado las características y el propósito del estudio al paciente mencionado.

Firma del investigador: .....

Fecha: .....

## +.- ANEXO II. CUESTIONARIO DE ENFERMEDAD RENAL CRÓNICA

### *HOJA DE RECOGIDA DE DATOS*

- Número de identificación del paciente:

#### **1) Datos del paciente**

- Apellidos:
- Nombre:
- Sexo [varón (1) / mujer (2)]:
- Edad (fecha de nacimiento):

#### **2) Datos relacionados con la ERC**

- Etiología de ERC
  - Vascular
  - Intersticial
  - Glomerular
  - Hereditaria
  - No filiada
- Fecha de diagnóstico de ERC:
- Estatus de ERC en el momento de la inclusión
  - Hemodiálisis
  - ERC estadio 4-5 o en situación prediálisis
- Evolución de ERC
  - Fecha de inicio de primer tratamiento renal sustitutivo:
  - Fecha de primer trasplante renal recibido:
  - Fecha de vuelta a tratamiento renal sustitutivo:
  - Fecha de un segundo trasplante renal
- Tratamiento de ERC:

☒ Tratamiento renal sustitutivo

*Tipo de membrana de diálisis*

- Membranas celulósicas
- Polisulfona de baja permeabilidad
- Polisulfona de alta permeabilidad

*Tipo de baño de diálisis*

- Bajo en calcio (0.80 mmol/l)
- Normal en calcio (1.25 mmol/l)
- Alto en calcio (1.75 mmol/l)

☒ Tratamiento farmacológico

*Tratamiento antihipertensivo*

- IECAS
- ARAII
- $\beta$ -bloqueantes
- Antagonistas del calcio

*Tratamiento de prevención primaria/secundaria de RCV*

- Antiagregantes plaquetarios
- Anticoagulantes orales
- Estatinas

*Tratamiento de la anemia crónica:*

- Agentes estimulantes de la eritropoyésis

*Tratamiento del hiperparatiroidismo secundario*

- Vitamina D
- Carbonato/Acetato cálcico
- Gramos de calcio contenidos en quelantes /día:
- Sevelamer
- Hidróxido de aluminio
- Cinacalcet

## +.- ANEXO III: CUESTIONARIO DE FACTORES DE RIESGO CARDIOVASCULAR

### *HOJA DE RECOGIDA DE DATOS*

- Número de identificación del paciente

#### **2) Datos del paciente**

- Apellidos:
- Nombre:
- Sexo [varón (1) / mujer (2) ]:
- Edad (fecha de nacimiento):

#### **3) Factores de riesgo y antecedentes cardiovasculares**

##### *Diabetes Mellitus*

- Tiempo de evolución:
- Tratamiento con insulina:
- Microangiopatía: Nefropatía / Neuropatía / Retinopatía

##### *HTA*

- Presencia de HTA:
- Grados de HTA:
  - 1- Normal
  - 2- Normal con tratamiento
  - 3- Grado I: TA 140-159/90-99
  - 4- Grado I con tratamiento
  - 5- Grado II: TA 160-169/100-109
  - 6- Grado II con tratamiento
  - 7- Grado III: TA 180-209/110-119
  - 8- Grado III con tratamiento

##### *Tabaquismo*

- Estatus: Activo / Ex-fumador / Nunca:
- Número de paquete/año:
- Años fumados:

*Actividad física:* Sedentario / Ejercicio leve / Ejercicio moderado / Vida activa:

*Antecedentes personales de enfermedad cardiovascular:*

- Antecedentes de enfermedad coronaria: Angor / IAM
- Antecedentes de enfermedad cerebrovascular: AIT / ACVA
- Antecedentes de vasculopatía periférica:
- Antecedentes de amputación:
- Antecedentes de trombosis vascular:

**4) Medidas antropométricas:**

*Talla:*

*Peso:*

*IMC:*



Arteria coronaria derecha (RCA):

Arteria descendente posterior (PDA):

*Score calcio coronario por superficie (Agatston):*

Anterior izquierda descendente (LAD):

Circunfleja izquierda (LCX):

Arteria coronaria derecha (RCA):

Arteria descendente posterior (PDA):

## +- ANEXO V: VALORES DE REFERENCIA DE LAS DETERMINACIONES ANALITICAS DE NUESTRO LABORATORIO

*Albumina (g/dl): 3.4- 5.4*

*Acido Úrico (mg/dl): 2.3- 7.3*

*Calcio (mg/dl): 8.5- 10.4*

*Colesterol total (mg/dl): 70- 220*

*Colesterol-LDL (mg/dl): < 120*

*Colesterol-HDL (mg/dl): 35- 150*

*Creatinina (mg/dl): 0.6- 1.3*

*Ferritina (ng/ml): 22- 274*

*Fósforo (mg/dl): 2.2- 4.9*

*Hb (g/dl): 13- 16*

*Hcto (%): 37- 47*

*Índice de saturación de transferrina (%): 20- 50*

*PCR (pg/l): < 3*

*PTH (pg/ml): 7- 53*

*Triglicéridos (mg/dl): 38- 150*

*Transferrina (mg/dl): 200- 360*

*Urea (mg/dl): 15- 39*

## +.- ANEXO VI: PROTOCOLO DE AISLAMIENTO DE PBMC Y WESTERN BLOT DE CBFA-1

### Protocolo de aislamiento de PBMC de sangre total

1. La sangre total se diluye a la mitad con una solución salina isotónica (PBS) en un tubo de 50 ml estéril (falcon).
2. Después, se hace el gradiente de Ficoll. Para ello, se añaden 3 ml de Ficoll (comercial Rafer) en un tubo cónico y luego lentamente se añade la sangre diluida por encima hasta un máximo de 12 ml que es la capacidad máxima del tubo cónico.
3. Se centrifugan los tubos durante 45 min, a 600 g y a 4°C con aceleración 3 y deceleración 0 (sin freno).
4. Se recoge el halo blanquecino que aparece entre el plasma y el Ficoll, quedándose todas las células rojas en el fondo del tubo.
5. Se añade la PBS hasta 12 ml para lavar bien las PBMC y se vuelve a centrifugar durante 15 min a 800 g y a 4°C con aceleración 3 y sin freno.
6. Se elimina el sobrenadante con una bomba de vacío, quedándose con el precipitado de células o el pellet de células, que aparece en el fondo del tubo.
7. Para extraer las proteínas, al precipitado de células se le añade un Buffer de lisis (Trizma base 20 mM pH 7.5, 1 % Triton X-100, EGTA 1 mM, EDTA 1 mM, NaCl 150 mM, Deoxycolato sódico 0.1 %, Pirofosfato sódico 10 mM) que contiene una mezcla de inhibidores de proteasas (Roche). Las células una vez homogenizadas en dicho buffer se pasan a un tubo de microcentrífuga de 1,5 ml o un ependorff, y se incuban durante 15 min en hielo para que actúe la lisis y se extraigan las proteínas totales. Posteriormente, se procede a centrifugar la muestra durante 30 min a 11000 rpm con aceleración y deceleración máxima de 9 rpm, para eliminar restos celulares. El sobrenadante se pasa a otro tubo limpio y con el

precipitado de células se procede a cuantificar las proteínas totales por método colorimétrico de BioRad (BioRad Laboratories).

☒ Western Blot de Cbfa-1:

Se separan 50  $\mu$ gr de proteínas por electroforesis en un gel al 6 % de Acrilamida (1 muestra de cada paciente, 1 muestra de un pool de PBMC como factor de corrección y un marcador de peso molecular para identificar la proteína). Después se transfieren las proteínas del gel a una membrana de nitrocelulosa que será utilizada para hacer las incubaciones con los anticuerpos de interés.

En primer lugar, la membrana se incuba con un primer anticuerpo que es un anticuerpo de conejo policlonal anti-Cbfa-1 (Santa. Cruz) a una dilución 1/1000 con albúmina sérica bovina (BSA) al 3 % en una solución Trisma base (TTBS) (Trisma base 10 mM, pH 7.5, NaCl 150 mM y 0.05 % Tween 20), durante 1 hora a temperatura ambiente y en agitación. Tras 3 lavados con TTBS, se procede a incubar con un segundo anticuerpo, un anticuerpo anti-conejo IgG (Chemicon) a una dilución 1/5000 con BSA al 0.05 % en TTBS durante 1h a temperatura ambiente y en agitación. Después se revela con un sistema de detección por quimioluminiscencia de Pierce (Cultek). Para corregir la posible diferencia de carga entre los distintos carriles se re-incuba la misma membrana, primero con un anticuerpo de conejo anti-Actina (SIGMA) a una dilución 1/3000 con BSA al 0.05 % en TTBS, durante 1h a temperatura ambiente y en agitación, y después con un segundo anticuerpo, anti-conejo IgG. Posteriormente se lava la membrana y se procede al revelado.

Los valores de Cbfa-1 obtenidos son la relación entre las densidades ópticas de Cbfa-1 frente a su respectiva actina. Esos a su vez son corregidos por el valor de la relación con el pool, que generalmente se le da el valor de 1.

## **+.- ANEXO VII: PROTOCOLO DE DETERMINACIÓN DE CALCIO CORONARIO MEDIANTE TCMC**

Se utilizó una TCMC de 16 detectores Light Speed Plus GE medical System. Las imágenes se obtuvieron en sentido cráneo-caudal desde el tronco de la arteria pulmonar al ápex cardíaco, con el siguiente protocolo: 120 Kv, 200-250 mA, FOV 250 mm, tipo de exploración cine, tiempo de rotación de 0.5-0.8 s, longitud de rotación segmentada, número de imágenes por rotación 8, grosor de corte de 1.25 mm/0.6 mm y un tiempo de adquisición < 30 s en apnea. El procesamiento de imágenes se llevó a cabo en una consola Advantage Workstation 4.0. La cuantificación del Calcio coronario se halló mediante dos métodos; el método basado en la superficie de la calcificación o también llamado método desarrollado por Agatston que establece un umbral de 130 unidades Hounsfield (UH) para determinar si una lesión se encuentra o no calcificada; posteriormente se calcula una puntuación para cada lesión individual, multiplicando el área (en mm<sup>2</sup>) por un cofactor (entre 1 y 4), que depende del valor máximo de UH de cada lesión: se multiplica por 1, si la densidad de la placa está entre 130 y 199 UH. Se multiplica por 2, si está entre 200 y 299 UH, por 3 si está entre 300 y 399, y se multiplica por 4 si la densidad de la placa supera los 400 UH. Las puntuaciones de cada lesión se consideraron por separado en cada una de las arterias coronarias y la suma de las lesiones calcificadas dio lugar a la cantidad de calcio total (CCS). Se determinó el calcio en la arteria coronaria principal izquierda (LMA), la descendente anterior izquierda (LAD), la circunfleja izquierda (LCX), la arteria coronaria derecha (RCA) y la arteria descendente posterior (PDA). El segundo método para la cuantificación de calcio coronario es el método volumétrico o método de Callister; se designa un valor numérico a cada voxel (su volumen es de 1.03 mm<sup>3</sup>), de tal forma que todos los voxel que tengan un valor mayor de 130 son utilizados para la reconstrucción tridimensional final de la placa. Dicha reconstrucción se realiza automáticamente mediante el software ya mencionado anteriormente, de tal forma que

la placa es vista como series de voxel interconectados con valores mayores de 130. El score final se presenta como un único número, semejante al score por superficie, que deriva de la suma del valor de todos los voxel mayores de 130 y multiplicándoles por 1000.

## +.- ANEXO VIII: ABREVIATURAS

**ClCr:** *aclaramiento de creatinina*

**Cr:** *creatinina*

**CV:** *cardiovascular*

**DM:** *diabetes mellitus*

**DL:** *dislipemia*

**ECV:** *eventos cardiovasculares*

**FRCV:** *factores de riesgo cardiovascular*

**ACV:** *accidente cerebrovascular*

**HTA:** *hipertensión arterial*

**HDL:** *lipoproteínas de alta densidad*

**HVI:** *hipertrofia de ventrículo izquierdo*

**IAM:** *infarto agudo de miocardio*

**IC:** *insuficiencia cardíaca*

**IC 95%:** *intervalo de confianza al 95%*

**IL-6:** *interleuquina 6*

**IL-8:** *interleuquina 8*

**IMC:** *índice de masa corporal*

**IMSALUD:** *instituto Madrileño de Salud*

**Kg:** *kilogramos*

**LDL:** *lipoproteínas de baja densidad*

**Lp(a):** *lipoproteína (a)*

**NO:** *óxido nítrico*

**OR:** *odds ratio*

**p:** *probabilidad de error  $\alpha$  en la significación estadística*

**PCR:** *proteína C reactiva*

**r:** *coeficiente de correlación de Pearson*

**Rho:** *coeficiente de correlación de Spearman*

**RI:** *resistencia a la insulina*

**TCMC:** *tomografía computarizada multicorte*

**UH:** *unidades Hounsfield*

**ERC:** *enfermedad renal crónica*

**CV:** *calcificación vascular*

**CAC:** *calcificaciones coronarias*

**TCMC:** *tomografía computarizada multicorte*

**EBCT:** *tomografía computarizada con emisión de electrones*

**FG:** *filtrado glomerular*

**PTFE:** *politetrafluoretileno*

**Lp(a):** *lipoproteína (a)*

**Apo(a):** *apolipoproteína (a)*

**VCAM-1:** *moléculas de adhesión endotelial*

**t-PA:** *activador tisular de plasminógeno*

**MCP-1:** *proteína quimiotáctica de monocitos-1*

**ADMA:** *di-metil-arginina asimétrica*

**FMLV:** *fibra muscular lisa vascular*

**GMP:** *guanosín monofosfato*

**AMP:** *adenosín monofosfato*

**Iv:** *intravenoso*

**Hcto:** *hematocrito*

**AEE:** *agentes estimuladores de la eritropoyesis*

**PTH:** *hormona paratiroidea*

**Ca:** *calcio*

**P:** *fósforo*

**PA:** *presión arterial*

**CMLV:** *células del músculo liso vascular*

**IECA:** *inhibidores de la enzima convertidora de la angiotensina*

**ARAI:** *antagonistas del receptor de la angiotensina II*

**TGF- $\beta$ :** *factor transformante de crecimiento  $\beta$*

**Cbfa-1:** *core-binding factor  $\alpha$ -1*

**BMP-2:** *proteína de matriz ósea 2*

**CMLAH:** *células de músculo liso de aortas humanas*

**CMLVB:** *células de músculo liso vascular bovinas*

**Pit-1:** *co-transportador funcional de sodio-fósforo*

**PTHrP:** *Proteína relacionada con la parathormona*

**TNF $\alpha$ :** *factor de necrosis tumoral  $\alpha$*

**ROS:** *radicales libres de oxígeno*

**Rx:** *radiología*