

Received: 2004.12.08
Accepted: 2005.01.21
Published: 2005.02.24

Rola jonów wapnia w patomechanizmie zwapnień tętnic towarzyszących miażdżycy

The role of calcium ions in the pathomechanism of the artery calcification accompanying atherosclerosis

Rafał Małecki, Rajmund Adamiec

Klinika Angiologii, Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii Akademii Medycznej we Wrocławiu

Streszczenie

Zwapnienia w ścianie tętnic, występujące w miażdżycy wiążą się ze zwiększonym ryzykiem powikłań sercowo-naczyniowych. Ilościowa ocena zwapnień metodą tomografii wiązki elektronów wskazała na związek ilości wapnia w tętnicach a znanymi czynnikami ryzyka układu sercowo-naczyniowego, m.in. paleniem tytoniu, otyłością i hiperlipidemią. U osób chorych na cukrzycę obserwuje się szczególnie zaawansowane wapnienie tętnic, co może tłumaczyć zwiększoną śmiertelność w tej grupie pacjentów.

Wapń powoduje zwiększoną sztywność naczyń, a w konsekwencji wzrost oporu obwodowego i przerost mięśnia lewej komory serca. Nie wykazano, żeby zwapnienia zwiększały ryzyko destabilizacji blaszki miażdżycowej. Prawdopodobnie ryzyko pęknięcia i powikłań zakrzepowatorowych jest większe w wypadku zmian miażdżycowych bogatych w lipidy.

Wapnienie tętnic w miażdżycy jest procesem aktywnym, w którym uczestniczy wiele komórek – monocyty/makrofagi, komórki mięśni gładkich i komórki śródbłonka naczyń. W obrębie zwapniałych zmian miażdżycowych identyfikuje się substancje i czynniki transkrypcyjne charakterystyczne dla fizjologicznej przebudowy kostnej (Cbfa-1, osteokalcyna, fosfataza zasadowa, BMP-2, osteopontyna, osteoprotegryna, RANKL).

Wykazano obecność receptora wapniowego (CaR) na powierzchni monocytów, komórek o podstawowym znaczeniu w progresji procesu miażdżycowego. Udowodniono również, że pod wpływem wzrastających stężeń wapnia zewnątrzkomórkowego następuje nasilenie migracji monocytów i zwiększenie ekspresji interleukiny 6. Monocyty bezpośrednio i pośrednio wpływają również na wapnienie tętnic.

Zaangażowanie komórek odpornościowych i cytokin w proces wapnienia tętnic łączy we wspólny szlak patogenetyczny teorię miażdżycy jako procesu zapalnego i wapnienia.

Słowa kluczowe:

miażdżycy • wapnienie • receptor wapniowy

Summary

Artery calcification occurring in atherosclerosis is connected with a high risk of cardiovascular events. Quantitative calcification evaluation using electron beam tomography indicated a correlation between artery calcification and well-known cardiovascular risk factors, i.e. smoking, obesity, and hyperlipidemia. Elevated calcium scores are especially observed in diabetic patients, which may even explain the higher mortality in this group.



Calcification leads to increased blood vessel rigidity and, consequently, elevated arterial vascular resistance and left ventricular hypertrophy. An increased risk of plaque rupture in relation to calcium-rich atherosclerotic lesions was not proved. Plaque rupture and thromboembolic complications are probably higher in the case of lipid-rich lesions.

Atherosclerotic calcification is an active process in which many cells (monocytes/macrophages, vascular smooth muscle cells, and endothelial cells) participate. Many substances and transcription factors normally participating in the bone remodeling process are found in calcified atherosclerotic lesions (e.g. Cbfa-1, osteocalcin, alkaline phosphatase, BMP-2, osteopontin, osteoprotegerin, and RANKL).

On monocytes, cells playing an important role in atherosclerosis progression, the presence of a calcium-sensing receptor (CaR) has been demonstrated. Increase in monocyte chemotaxis and increased interleukin 6 secretion in response to extracellular calcium were observed. Monocytes also directly and indirectly enhance vascular calcification.

Immune cells and cytokines participating in vascular calcification are connected in one pathogenic mechanism, i.e. atherosclerosis as an inflammatory disease and calcification.

Key words: atherosclerosis • calcification • extracellular calcium-sensing receptor

Full-text PDF: http://www.phmd.pl/pub/phmd/vol_59/6989.pdf

Word count: 1880

Tables: 1

Figures: 1

References: 47

Adres autora: Klinika Angiologii, Nadciśnienia Tętniczego i Diabetologii AM, ul. Poniatowskiego 2, 50-326 Wrocław, e-mail: rmalecki@gazeta.pl

WSTĘP

Zwapnienia występujące w organizmie człowieka po raz pierwszy zostały opisane przez Virchowa na początku ubiegłego stulecia. Ich istnienie dostrzegano w wielu stanach chorobowych, np. w zapaleniach (zwapniałe ogniska gruźlicze), rozsianych zmianach w przebiegu nadczynności przytarczyc czy stwardnieniu Mönckeberga. Nowoczesne techniki obrazowania (tomografia wiązki elektronów) wykazały znaczenie zwapnień w obrębie wielu obszarów naczyniowych dla powikłań sercowo-naczyniowych, głównej przyczyny zgonów w krajach uprzemysłowionych. Odkrycie receptora wapniowego przez Edwarda M. Browna i wsp. w 1993 r. [5] i redefinicja miażdżycy jako procesu zapalnego [34] doprowadziły do rozwoju badań nad zwapnieniem tętnic i ich znaczeniem w patogenezie miażdżycy.

RODZAJE I MORFOLOGIA ZWAPNIEŃ

W surowicy stężenie wapnia utrzymywane jest w wąskim przedziale, wynoszącym 2,1–2,6 mmol/l, a stężenie fosforanów między 0,97 a 1,61 mmol/l. Stężenia obu jonów są bliskie ich iloczynowi rozpuszczalności, po którego przekroczeniu dochodzi do wytrącania fosforanu wapniowego [12]. Przypuszcza się, że zasadniczą rolę w hamowaniu spontanicznego wytrącania odgrywają białka osocza wiążące wapń (41% ogólnego stężenia wapnia w surowicy jest związana głównie z albuminami). Wapń związany z białkami nie ulega procesowi wytrącania. Ważną funkcję pełni także fetuina, białko wytwarzane przez wątrobę, tworząca kompleksy z fosforanem wapnia i MGP (ma-

trix Gla protein), a przez to zapobiegająca wytrącaniu soli wapnia [30].

Z patomorfologicznego punktu widzenia zwapnienie obcosiedliskowe (*calcificatio heterotropica*) dzieli się na przerzutowe (*calcificatio metastatica*) i dystroficzne (*calcificatio dystrophica*). Pierwsze jest spowodowane podwyższonym stężeniem wapnia w surowicy, przekraczającym iloczyn rozpuszczalności i może być rozpatrywane jako proces fizycznego wytrącania, np. w nadczynności przytarczyc. Dużo więcej problemów przysparza wyjaśnienie procesu zwapnienia dystroficznego, występującego przy prawidłowym, a nawet obniżonym stężeniu tego jonu w surowicy krwi; takie zjawisko jest obserwowane w miażdżycy.

W ścianie tętnicy zwapnienie występuje w błonie wewnętrznej i środkowej. W błonie wewnętrznej początkowo ma postać punkcikowatych, rozproszonych zmian, które wraz z postępem miażdżycy przybierają postać skupisk fosforanu wapniowego, zlokalizowanych w miejscu występowania miażdżycy. Stechiometria fosforanu wapniowego przypomina w tej lokalizacji bardziej hydroksyapatyt kości niż amorficzny fosforan wapniowy [35]. Drugim obszarem zwapnienia jest błona środkowa tętnic, a zjawisko to zostało po raz pierwszy opisane na początku XX w. przez Mönckeberga [25]. Wzdłuż włókien elastynowych i kolagenowych odkładają się złogi amorficznego fosforanu wapniowego, z czasem na całej długości błony środkowej. Stwardnienie Mönckeberga występuje zwłaszcza w przebiegu niewydolności nerek i cukrzycy [24,38]. Zwapnienie w obu lokalizacjach może współistnieć.

Tabela 1. Ważniejsze badania dotyczące związku wapnienia tętnic z chorobami układu sercowo-naczyniowego

Badana populacja		Piśmiennictwo
1160 obu płci bez objawów choroby wieńcowej	korelacja między obecnością wapnia w tętnicach wieńcowych i liczbą czynników ryzyka chorób sercowo-naczyniowych, stężeniem glukozy i insulinemią w doustnym teście obciążenia glukozą, insulinoopornością	[1]
491 osób z objawami choroby wieńcowej	korelacja między obecnością wapnia w tętnicach wieńcowych i wynikiem koronarografii oraz ryzykiem przyszłych incydentów wieńcowych	[8]
30904 osoby bez choroby wieńcowej, w tym 1075 z rozpoznaniem cukrzycy	korelacja między obecnością wapnia w tętnicach wieńcowych i rozpoznaniem cukrzycy; u młodszych osób z cukrzycą zakres i nasilenie zwapnień były porównywalne z osobami starszymi bez cukrzycy	[15]
początkowo 8855 osób obu płci bez objawów choroby wieńcowej, po 37±12 miesiącach 5635 osób	u mężczyzn korelacja między obecnością wapnia w tętnicach wieńcowych i incydentami wieńcowymi, cukrzycą, paleniem tytoniu; u kobiet korelacja z incydentami wieńcowymi	[19]
168 kobiet przed menopauzą	korelacja między zwapnieniami w tętnicach wieńcowych i znanymi czynnikami ryzyka, cukrzycą, zwapnieniami w aorcie	[20]
2013 osób	korelacja między zwapnieniami w tętnicach wieńcowych, zwapnieniami w aorcie, tętnicach szyjnych, nieliniowa korelacja ze współczynnikiem kostka – ramię	[26]
10377 osób, w tym 903 osoby z rozpoznaniem cukrzycy	korelacja między obecnością wapnia w tętnicach wieńcowych oraz śmiertelnością w grupach chorych bez cukrzycy i z cukrzycą	[32]
278 osób, w tym 139 z rozpoznaniem cukrzycy	korelacja między obecnością wapnia w tętnicach wieńcowych u chorych na cukrzycę i czynnikami ryzyka chorób sercowo-naczyniowych	[36]

KONSEKWENCJE WAPNIENIA TĘTNIC

To, że obecność zwapnień w obrębie tętnic wieńcowych jest niezależnym czynnikiem ryzyka wystąpienia w przyszłości incydentów wieńcowych nie budzi już wątpliwości.

Kuller i wsp. [20] za pomocą tomografii wiązki elektronów (EBM) badali występowanie wapnia w tętnicach wieńcowych u kobiet po menopauzie. Okazało się, że czynnik ten oceniany ilościowo korelował z poziomem LDL w surowicy, paleniem papierosów, skurczowym ciśnieniem tętniczym i stężeniem glukozy we krwi. Kondos i wsp. [19] w obszernym badaniu, obejmującym 8855 wyjściowo bezobjawowych pod względem choroby wieńcowej osób, podobną metodą oceniali wskaźnik zawartości wapnia w tętnicach wieńcowych (CAC – coronary artery calcium). Wykazali znaczącą korelację między CAC a występowaniem incydentów wieńcowych u obu płci.

Istotne dla zrozumienia patomechanizmu wapnienia tętnic może się okazać badanie Raggiiego i wsp. [32]. Opierając się na ocenie zwapnień w obrębie tętnic wieńcowych u ponad 10000 osób, wykazali, że CCS (coronary calcification score) był 2-krotnie większy u osób z cukrzycą w porównaniu z osobami, u których nie wykazano zaburzeń gospodarki węglowodanowej. Co ważne, u osób z cukrzycą i niewielką wartością CCS ryzyko incydentu wieńcowego było porównywalne z osobami bez cukrzycy. Wapnienie zatem może odzwierciedlać lepiej niż dotychczas poznane parametry ryzyko śmiertelności osób chorych na cukrzycę w porównaniu z osobami zdrowymi

Ważniejsze badania dotyczące ilościowej oceny wapnia i korelacji z powikłaniami sercowo-naczyniowymi przedstawiono w tabeli 1.

Patofizjologiczne skutki wapnienia ściany to m.in.:

- zmniejszona podatność naczynia, w następstwie czego dochodzi do wzrostu oporu obwodowego, do rozwoju nadciśnienia tętniczego i przerostu lewej komory serca;
- zmniejszona podatność aorty i upośledzenie jej funkcji „buforującej” napływ krwi z lewej komory (zgodnie z „teorią powietrzni”), a przez to zwiększone obciążenie następcze lewej komory serca;
- przerost lewej komory powoduje gorsze zaopatrzenie tętnic wieńcowych i upośledzoną perfuzję mięśnia sercowego.

Znaczenie wapnienia dla stabilności pojedynczej blaszki miażdżycowej, a przez to ryzyka zatorowości i ostrych incydentów niedokrwienia mięśnia sercowego i mózgu, ciągle pozostaje niejasne. Huang i wsp. [18] analizowali wpływ wapnia na stabilność blaszki miażdżycowej. Okazało się, że wapń nie zwiększa ryzyka pęknięcia blaszki miażdżycowej. To zagrożenie jest nawet mniejsze niż w przypadku ogniska miażdżycowego bogatego w lipidy, co częściowo wyjaśnia korzystne działanie leków hipolipemizujących (statyn) stosowanych u chorych z miażdżycą. Dowiedziono również, że blaszki miażdżycowe z wapnieniem na obwodzie zmiany występują rzadziej u pacjentów z ryzykiem ostrego incydentu wieńcowego w porównaniu z pacjentami ze stabilną dławicą piersiową [2]. Tym samym przyczyny wykazywanego w wielu badaniach zwiększonego ryzyka ostrego incydentu wieńcowego u osób z bardziej nasilonym wapnieniem tętnic pozostają niejasne.

WAPNIENIE TĘTNIC A PROCES PRZEBUDOWY KOSTNEJ

Coraz większa liczba dowodów wskazuje na to, że wapnienie tętnic jest procesem aktywnym, w którym uczestniczą liczne komórki, substancje pełniące funkcję przekaźników (m.in. cy-



tokiny i cząsteczki adhezyjne). Mechanizm wapnienia tętnic jest prawdopodobnie patologicznym wariantem prawidłowych, fizjologicznych mechanizmów przebudowy kostnej.

W procesie przebudowy kostnej uczestniczą dwa typy komórek – osteoblasty (formujące kość) oraz osteoklasty (odpowiedzialne za resorpcję).

Osteoblasty

Osteoblasty to komórki pochodzenia mezenchymalnego. Identyfikuje się kolejne substancje charakterystyczne dla funkcji osteoblastów, które występują również w obrębie wapniejących zmian miażdżycowych. Najczęściej wymienia się Cbfa1, osteokalcyna, fosfataza zasadowa, BMP-2 i osteopontyna.

Czynnik Cbfa1 reguluje transkrypcję genów charakterystycznych dla funkcji osteoblastów i dlatego jest uważany za swoisty marker osteogenezy. Może on indukować nabieranie fenotypu osteoblastu nawet w takich komórkach, jak fibroblasty czy mioblasty [10]. Udowodniono, że Cbfa1 wykazuje ekspresję na tzw. komórkach CVCs (calcifying vascular cells), hodowli komórek mięśniowych uzyskiwanych z błony środkowej aorty wołowej. Wiadomo również, że czynnik martwicy guza α (TNF- α), czynnik transformujący β 1 (TGF- β 1), lipopolisacharydy i stres oksydacyjny pobudzają różnicowanie się komórek CVCs w kierunku osteoblastów. TNF- α jest wydzielany przez makrofagi i pobudza różnicowanie się CVCs w kierunku osteoblastów za pośrednictwem kinazy białkowej A i cAMP, jako wtórnego przekaźnika [43,44]. Jest to istotny element, łączący pogląd na miażdżycę jako proces zapalny [34] z wapnieniem naczyń.

Osteokalcyna jest witamino-K-zależnym polipeptydem niekolagenowym o nie do końca poznanej funkcji w procesie mineralizacji macierzy kostnej. Jest jednym z częściej oznaczanych markerów aktywności osteoblastów, zagrożenia osteoporozy itp. Wykazano, że ekspresja osteokalcyny jest większa w ścianie zwapniałej aorty w porównaniu ze zdrową tętnicą główną [9].

Fosfataza zasadowa, enzym wydzielany przez osteoblasty, który w procesie hydrolizy estrów dostarcza reszt fosforowych do tworzenia kryształów hydroksyapatytu, występuje w obrębie tętnic, a jego aktywność wzrasta pod wpływem TNF- α i TGF- β 1 [24].

BMP-2 (bone morphogenic protein) jest kolejnym istotnym czynnikiem nasilającym różnicowanie komórek w kierunku osteoblastów. Wykazano ekspresję BMP-2 w obrębie zwapniałych zmian miażdżycowych [4] oraz na makrofagach [46].

Osteopontyna jest kwaśną fosforylowaną glikoproteiną występującą m.in. w kości, gdzie jest jednym z głównych białek niekolagenowych. Jest wydzielana przez prosteoblasty, osteoblasty, osteocyty i osteoklasty. Najwięcej osteopontyny znajduje się na obrzeżach zatok fizjologicznej osteolizy, gdzie za pośrednictwem integryny $\alpha_v\beta_3$ – do której wykazuje powinowactwo – stymuluje aktywność osteoklastów [33]. W badaniach opisywano zwiększone stężenie osteopontyny w miejscach zmian miażdżycowych z nasilonym procesem wapnienia. Prawidłowe komórki śródbłonna i mięśni gładkich naczyń syntetyzują osteopontynę, ale w nie-

wielkich ilościach; za jej dużą ekspresję w obrębie zmian miażdżycowych odpowiadają makrofagi naciekające ścianę naczynia. Fitzpatrick i wsp. [11] wykazali zwiększone stężenie osteopontyny w obrębie tętnic wieńcowych, zajętych przez proces miażdżycowy w porównaniu z tętnicami wieńcowymi bez tych zmian. Zależności tej dowiedli również Hirota i wsp. [13] – ekspresja mRNA dla osteopontyny w makrofagach otaczających zmiany miażdżycowe wyraźnie korelowała z nasileniem aterosclerozy.

W badaniu Ohmori i wsp. [27] analizie poddano kliniczne skutki zwiększonej ekspresji osteopontyny w obrębie zmian miażdżycowych. Okazało się, że stężenie osteopontyny wyraźnie korelowało nie tylko z obecnością zmian w tętnicach wieńcowych potwierdzonych koronarograficznie, ale również z ich rozległością. W badaniach na szczurach wykazano wzmożoną ekspresję osteopontyny w eksperymentalnie wywołanej cukrzycy [40].

Komórki mięśni gładkich naczyń nabierają fenotypu CVC pod wpływem wielu czynników. Ważne z patofizjologicznego punktu widzenia są zwłaszcza lipidy – znany czynnik ryzyka miażdżycy. Proudfoot i wsp. [31] wykazali, że pod wpływem acetylowanych LDL komórki mięśni gładkich zaczynają wydzielać białka charakterystyczne dla osteoblastów i tworzyć centra wapnienia. Frakcja HDL proces ten ogranicza [29].

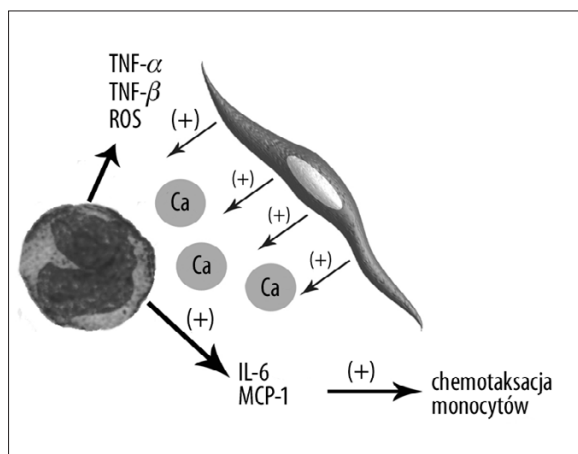
Osteoklasty

Osteoklasty są wielojądrzastymi komórkami powstałymi z fuzji komórek wywodzących się z linii monocytów/makrofag. Uważa się, że decydującą rolę w różnicowaniu się komórek w kierunku osteoklastów odgrywa układ receptora czynnika jądrowego kappa B (RANK). Ligand tego receptora (RANKL), należący do nadrodziny białek TNF, jest wydzielany przez osteoblasty i komórki stromalne kości. Pod jego wpływem następuje m.in. wzmożona resorpcja kości. Osteoblasty wydzielają również osteoprotegrynę (OPG), która współzawodniczy z RANKL w wiązaniu z receptorem RANK, a przez to ogranicza proces resorpcji kości [41]. Prawdopodobnie większość czynników nasilających proces resorpcji kości działa za pośrednictwem układu RANKL/OPG. U myszy pozbawionych genu OPG rozwija się nie tylko ciężka osteoporoza, ale – niespodziewanie – występuje również nadmierne wapnienie tętnic [6]. Wykazano, że OPG jest stale syntetyzowana przez komórki śródbłonna i mięśni gładkich tętnic, natomiast RANKL wykazuje niewielką ekspresję jedynie w obrębie zmian miażdżycowych w aorcji. Przypuszcza się, że „prozapalny” profil cytokin występujący w miażdżycy zwiększa stosunek RANKL/OPG i w ten sposób wpływa na odkładanie złogów wapniowych [7].

Od dawna wiadomo, że główną rolę w procesie aterosclerozy odgrywa układ monocytów/makrofagów. Wiele pośrednich dowodów wskazuje także na jego zaangażowanie w proces wapnienia tętnic, m.in. ekspresja na powierzchni makrofagów osteopontyny, osteokalcyny [37] czy receptora wapnia zewnątrzkomórkowego.

RECEPTOR WAPNIA ZEWNĄTRKOMÓRKOWEGO (CALCIUM-SENSING RECEPTOR – CaR)

W 1993 r. Brown i wsp. [5] sklonowali i scharakteryzowali receptory wapniowe komórek przytarczyc. Są to receptory



Ryc. 1. Możliwe interakcje między komórką linii monocyt/makrofag a komórką mięśni gładkich naczyń. Pod wpływem cytokin i aktywnych związków tlenowych, wydzielanych przez monocyt komórka mięśniowa tętnicy nabiera fenotypu CVC. Zwiększone stężenie wapnia zewnątrzkomórkowego bezpośrednio (przez CaR) i pośrednio (IL-6 i MCP-1) pobudza chemotaksję monocytów i nasila stan zapalny oraz wapnienie zmiany miażdżycowej

sprężone z białkami G, których pobudzenie powoduje aktywację fosfolipazy C (PLC) i szlak kinaz białkowych zależnych od mitogenów (MAPK) oraz hamowanie cykazy adenylationowej [14,16]. Działanie na kinazy białkowe (ERK1/2, p38 MAPK i JNK) odpowiada prawdopodobnie za wpływ mitogeny i hamowanie apoptozy drogą CaR [21,42].

CaR występuje na wielu komórkach organizmu, nie tylko zaangażowanych w homeostazę wapniową (przystalicyte, komórki nerki). Odgrywa prawdopodobnie znaczącą rolę w regulacji wydzielania niektórych hormonów (insuliny), ekspresji genów czy apoptozy [22]. Opisano ich występowanie również na powierzchni monocytów [47] i płytek krwi [17].

PIŚMIENICTWO

- [1] Arad Y., Newstein D., Cadet F., Roth M., Guerci A.D.: Association of multiple risk factors and insulin resistance with increased prevalence of asymptomatic coronary artery disease by an electron-beam computed tomographic study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001; 21: 2051–2058
- [2] Beckman J.A., Ganz J., Creager M.A., Ganz P., Kinlay S.: Relationship of clinical presentation and calcification of culprit coronary artery stenoses. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2001; 21: 1618–1622
- [3] Bornefalk E., Ljunghall S., Lindh E., Bengtson O., Johansson A.G., Ljunggren O.: Regulation of interleukin-6 secretion from mononuclear blood cells by extracellular calcium. *J. Bone. Miner. Res.*, 1997; 12: 228–233
- [4] Bostrom K., Watson K.E., Horn S., Wortham C., Herman I.M., Demer L.L.: Bone morphogenetic protein expression in human atherosclerotic lesions. *J. Clin. Invest.*, 1993; 91: 1800–1809
- [5] Brown E.M., Gamba G., Riccardi D., Lombardi M., Butters R., Kifor O., Sun A., Hediger M.A., Lytton J., Hebert S.C.: Cloning and characterization of an extracellular Ca(2+)-sensing receptor from bovine parathyroid. *Nature*, 1993; 366: 575–580
- [6] Bucay N., Sarosi I., Dunstan C.R., Morony S., Tarpley J., Capparelli C., Scully S., Tan H.L., Xu W., Lacey D.L., Boyle W.J., Simonet W.S.: Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes. Dev.*, 1998; 12: 1260–1268
- [7] Collin-Osdoby P.: Regulation of vascular calcification by osteoclast regulatory factors RANKL and osteoprotegerin. *Circ. Res.*, 2004; 95: 1046–1057
- [8] Detrano R., Hsiai T., Wang S., Puentes G., Fallavollita J., Shields P., Stanford W., Wolfkiel C., Georgiou D., Budoff M., Reed J.: Prognostic value of coronary calcification and angiographic stenoses in patients undergoing coronary angiography. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 1996; 27: 285–290
- [9] Ducy P., Desbois C., Boyce B., Pinero G., Story B., Dunstan C., Smith E., Bonadio J., Goldstein S., Gundberg C., Bradley A., Karsenty G.: Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature*, 1996; 382: 448–452
- [10] Ducy P., Schinke T., Karsenty G.: The osteoblast: a sophisticated fibroblast under central surveillance. *Science*, 2000; 289: 1501–1504
- [11] Fitzpatrick L.A., Severson A., Edwards W.D., Ingram R.T.: Diffuse calcification in human coronary arteries. Association of osteopontin with atherosclerosis. *J. Clin. Invest.*, 1994; 94: 1597–1604
- [12] Granner D.K.: Hormony regulujące przemianę wapniową. W: *Biochemia Harpera*, red.: R.K. Murray, D.K. Granner, P.A. Mayes, V.W. Rodwell. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 2002, 698–703
- [13] Hirota S., Imakita M., Kohri K., Ito A., Morii E., Adachi S., Kim H.M., Kitamura Y., Yutani C., Nomura S.: Expression of osteopontin messenger RNA by macrophages in atherosclerotic plaques. A possible association with calcification. *Am. J. Pathol.*, 1993; 143: 1003–1008



- [14] Hjalml G., MacLeod R.J., Kifor O., Chattopadhyay N., Brown E.M.: Filamin-A binds to the carboxyl-terminal tail of the calcium-sensing receptor, an interaction that participates in CaR-mediated activation of mitogen-activated protein kinase. *J. Biol. Chem.*, 2001; 276: 34880–34887
- [15] Hoff J.A., Quinn L., Sevrukov A., Lipton R.B., Daviglus M., Garside D.B., Ajmere N.K., Gandhi S., Kondos G.T.: The prevalence of coronary artery calcium among diabetic individuals without known coronary artery disease. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2003; 41: 1008–1012
- [16] Hoppe A., Rybczyńska A.: Receptor wapniowy (CaR): nowe spojrzenie na regulację gospodarki wapniem. *Przegl. Lek.*, 2000; 57: 77–82
- [17] House M.G., Kohlmeier L., Chattopadhyay N., Kifor O., Yamaguchi T., Leboff M.S., Glowacki J., Brown E.M.: Expression of an extracellular calcium-sensing receptor in human and mouse bone marrow cells. *J. Bone Miner. Res.*, 1997; 12: 1959–1970
- [18] Huang H., Virmani R., Younis H., Burke A.P., Kamm R.D., Lee R.T.: The impact of calcification on the biomechanical stability of atherosclerotic plaques. *Circulation*, 2001; 103: 1051–1056
- [19] Kondos G.T., Hoff J.A., Sevrukov A., Daviglus M.L., Garside D.B., Devries S.S., Chomka E.V., Liu K.: Electron-beam tomography coronary artery calcium and cardiac events: a 37-month follow-up of 5635 initially asymptomatic low- to intermediate-risk adults. *Circulation*, 2003; 107: 2571–2576
- [20] Kuller L.H., Matthews K.A., Sutton-Tyrrell K., Edmundowicz D., Bunker C.H.: Coronary and aortic calcification among women 8 years after menopause and their premenopausal risk factors: the healthy women study. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 1999; 19: 2189–2198
- [21] Mailland M., Waelchli R., Ruat M., Boddeke H.G., Seuwen K.: Stimulation of cell proliferation by calcium and a calcimimetic compound. *Endocrinology*, 1997; 138: 3601–3605
- [22] Małecki R., Adamiec R.: Patomechanizm makroangiopatii cukrzycowej. Rola receptora dla wapnia zewnątrzkomórkowego (CaR). *Pol. Arch. Med. Wewn.*, 2004; 112: 879–883
- [23] Mody N., Parhami F., Sarafian T.A., Demer L.L.: Oxidative stress modulates osteoblastic differentiation of vascular and bone cells. *Free Radic. Biol. Med.*, 2001; 31: 509–519
- [24] Mody N., Tintut Y., Radcliff K., Demer L.: Vascular calcification and its relation to bone calcification: Possible underlying mechanisms. *J. Nucl. Cardiol.*, 2003; 10: 177–183
- [25] Monckeberg J.G.: Über die reine Mediaverkalkung der Extremitätenarterien und ihr Verhalten zur Arteriosklerose. *Virchows Arch. Pathol. Anat.*, 1902; 171: 141–167
- [26] Oei H.H., Vliegenthart R., Hak A.E., Iglesias del Sol A., Hofman A., Oudkerk M., Witteman J.C.: The association between coronary calcification assessed by electron beam computed tomography and measures of extracoronary atherosclerosis: the Rotterdam Coronary Calcification Study. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2002; 39: 1745–1751
- [27] Ohmori R., Momiyama Y., Taniguchi H., Takahashi R., Kusuhara M., Nakamura H., Ohsuzu F.: Plasma osteopontin levels are associated with the presence and extent of coronary artery disease. *Atherosclerosis*, 2003; 170: 333–337
- [28] Olszak I.T., Poznansky M.C., Evans R.H., Olson D., Kos C., Pollak M.R., Brown E.M., Scadden D.T.: Extracellular calcium elicits a chemokinetic response from monocytes in vitro and in vivo. *J. Clin. Invest.*, 2000; 105: 1299–1305
- [29] Parhami F., Basseri B., Hwang J., Tintut Y., Demer L.L.: High-density lipoprotein regulates calcification of vascular cells. *Circ. Res.*, 2002; 91: 570–576
- [30] Price P.A., Lim J.E.: The inhibition of calcium phosphate precipitation by fetuin is accompanied by the formation of a fetuin-mineral complex. *J. Biol. Chem.*, 2003; 278: 22144–22152
- [31] Proudfoot D., Davies J.D., Skepper J.N., Weissberg P.L., Shanahan C.M.: Acetylated low-density lipoprotein stimulates human vascular smooth muscle cell calcification by promoting osteoblastic differentiation and inhibiting phagocytosis. *Circulation*, 2002; 106: 3044–3050
- [32] Raggi P., Shaw L.J., Berman D.S., Callister T.Q.: Prognostic value of coronary artery calcium screening in subjects with and without diabetes. *J. Am. Coll. Cardiol.*, 2004; 43: 1663–1669
- [33] Ross F.P., Chappel J., Alvarez J.I., Sander D., Butler W.T., Farach-Carson M.C., Mintz K.A., Robey P.G., Teitelbaum S.L., Cheresch D.A.: Interactions between the bone matrix proteins osteopontin and bone sialoprotein and the osteoclast integrin alpha v beta 3 potentiate bone resorption. *J. Biol. Chem.*, 1993; 268: 9901–9907
- [34] Ross R.: Atherosclerosis - an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.*, 1999; 340: 115–126
- [35] Schmid K., McSharry W.O., Pameijer C.H., Binette J.P.: Chemical and physicochemical studies on the mineral deposits of the human atherosclerotic aorta. *Atherosclerosis*, 1980; 37: 199–210
- [36] Schurgin S., Rich S., Mazzone T.: Increased prevalence of significant coronary artery calcification in patients with diabetes. *Diabetes Care*, 2001; 24: 335–338
- [37] Shanahan C.M., Cary N.R., Metcalfe J.C., Weissberg P.L.: High expression of genes for calcification-regulating proteins in human atherosclerotic plaques. *J. Clin. Invest.*, 1994; 93: 2393–2402
- [38] Speer M.Y., Giachelli C.M.: Regulation of cardiovascular calcification. *Cardiovasc. Pathol.*, 2004; 13: 63–70
- [39] Sugimoto T., Kanatani M., Kano J., Kaji H., Tsukamoto T., Yamaguchi T., Fukase M., Chihara K.: Effects of high calcium concentration on the functions and interactions of osteoblastic cells and monocytes and on the formation of osteoclast-like cells. *J. Bone Miner. Res.*, 1993; 8: 1445–1452
- [40] Takemoto M., Yokote K., Nishimura M., Shigematsu T., Hasegawa T., Kon S., Uede T., Matsumoto T., Saito Y., Mori S.: Enhanced expression of osteopontin in human diabetic artery and analysis of its functional role in accelerated atherogenesis. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.*, 2000; 20: 624–628
- [41] Teitelbaum S.L.: Bone resorption by osteoclasts. *Science*, 2000; 289: 1504–1508
- [42] Tfelt-Hansen J., MacLeod R.J., Chattopadhyay N., Yano S., Quinn S., Ren X., Terwilliger E.F., Schwarz P., Brown E.M.: Calcium-sensing receptor stimulates PTHrP release by pathways dependent on PKC, p38 MAPK, JNK, and ERK1/2 in H-500 cells. *Am. J. Physiol. Endocrinol. Metab.*, 2003; 285: E329–E337
- [43] Tintut Y., Patel J., Parhami F., Demer L.L.: Tumor necrosis factor-alpha promotes in vitro calcification of vascular cells via the cAMP pathway. *Circulation*, 2000; 102: 2636–2642
- [44] Tintut Y., Patel J., Territo M., Saini T., Parhami F., Demer L.L.: Monocyte/macrophage regulation of vascular calcification in vitro. *Circulation*, 2002; 105: 650–655
- [45] Watson K.E., Boström K., Ravindranath R., Lam T., Norton B., Demer L.L.: TGF-beta 1 and 25-hydroxycholesterol stimulate osteoblast-like vascular cells to calcify. *J. Clin. Invest.*, 1994; 93: 2106–2113
- [46] Willette R.N., Gu J.L., Lysko P.G., Anderson K.M., Minehart H., Yue T.: BMP-2 gene expression and effects on human vascular smooth muscle cells. *J. Vasc. Res.*, 1999; 36: 120–125
- [47] Yamaguchi T., Olozak I., Chattopadhyay N., Butters R.R., Kifor O., Scadden D.T., Brown E.M.: Expression of extracellular calcium (Ca²⁺)-sensing receptor in human peripheral blood monocytes. *Biochem. Biophys. Res. Commun.*, 1998; 246: 501–506