

MECANISMOS MOLECULARES EN METAPLASIA OSTEOCARTILAGINOSA VASCULAR: REVISIÓN SISTEMÁTICA

MOLECULAR MECHANISMS IN VASCULAR OSTEOCARTILAGINOUS METAPLASIA: SYSTEMATIC REVIEW

Doris Haydee Rosero Salazar¹

Resumen

Introducción: Las metaplasias cartilaginosa y ósea que ocurren tanto en el corazón como en los vasos sanguíneos, son consecuencia de factores de riesgo o enfermedades crónicas que gradualmente afectan negativamente el desempeño de una persona en la sociedad y que corresponden a signos clínicos reversibles en estadios tempranos o intermedios de las alteraciones. **Objetivo:** Establecer la manera en que los mecanismos moleculares fundamentan los crecientes cambios metaplásicos vasculares y los posibles aspectos de tratamiento y prevención. **Materiales y métodos:** Se realizó una revisión sistemática mediante la búsqueda de artículos indexados en las bases de datos PubMed, Scopus y Science Direct entre 1995 a 2015. Los descriptores MeSH utilizados fueron metaplasia and vascular calcification, a los que se asociaron los términos de molecular mechanisms, chondrogenic and osteogenic. **Resultados y discusión:** Múltiples factores influyen en el cambio metaplásico, en especial los pro-inflamatorios asociados a la oxidación vascular y la presencia de radicales libres, cuyo desarrollo es reversible mediante el tratamiento con antioxidantes y las modificaciones en el estilo de vida, así como la prevención secundaria al existir un diagnóstico de enfermedad crónica degenerativa. **Conclusión:** La literatura evidencia que los factores que reduzcan el estrés oxidativo tisular y que promuevan el mantenimiento del fenotipo vascular son protectores y/o reductores de las formaciones metaplásicas osteocartilaginosas.

Palabras clave: metaplasia, condrogénesis, osteogénesis, aterosclerosis, calcificación vascular, antioxidantes

Abstract

Introduction: The cartilage and bone metaplasia occurring in both the heart and blood vessels, are the result of risk factors or chronic diseases that gradually adversely affect the performance of a person in society; however, clinical signs are reversible in early and intermediate stages of alterations. **Objective:** To establish how the molecular mechanisms underlying the increased vascular metaplastic changes and possible aspects of treatment and prevention. **Materials and Methods:** A systematic review was performed by searching for articles indexed in PubMed, Scopus and Science Direct data from 1995 to 2015. The MeSH descriptors used were metaplasia and vascular calcification, which terms associated were molecular mechanisms, chondrogenic and osteogenic. **Results and discussion:** Multiple factors influence the metaplastic change, especially the pro-inflammatory associated with vascular oxidation and the presence of free radicals; this development is reversible by treatment with antioxidants and changes in lifestyle and secondary prevention as there is a diagnosis of chronic degenerative disease. **Conclusion:** The literature evidences that factors that reduce the tissue oxidative stress and promote the maintenance of vascular phenotype are protective and / or reducing the osteochondral metaplastic formations.

Keywords: metaplasia, chondrogenesis, osteogenesis, atherosclerosis, vascular calcification, antioxidants

1. Magíster en Ciencias Biomédicas. Profesora del Departamento de Ciencias Básicas, Universidad Icesi, Cl. 18 #122-135. Profesora del Departamento de Morfología, Universidad del Valle. Cali, Colombia.

Correspondencia: Doris Rosero. Cl. 18 #122-135, Edificio L, 5to piso. Cali. Teléfono 3183761429. E-mail: dhrosero@icesi.edu.co

Introducción

La literatura reporta diversas formaciones cartilaginosa en los tejidos corporales que conllevan a alteraciones histopatológicas. En el caso del cáncer mamario, es una condición poco frecuente asociada a un aumento de células en huso (spindle), con un cambio en la matriz extracelular en la región del tumor, elevada actividad mitótica y pleomorfismo ^(1, 2). En otros casos, se observa actividad osteoclástica y matriz extracelular ósea que macroscópicamente luce a manera de calcificación. Este tipo de tumores metaplásicos son igualmente invasivos a los nodos linfáticos y órganos adyacentes, pero en algunos casos responden bien a la quimioterapia ⁽³⁾. En 2005, se describió la asociación de condromodulina y BMP6 (Bone morphogenetic protein 6), a nivel de las células mioepiteliales descrita como metaplasia mesenquimal en tumores de glándulas mamarias de caninos, llevando también a osificación endocondral y por ende, metaplasia tanto cartilaginosa como ósea, desarrollada en varios estadios ⁽⁴⁾.

En casos menos frecuentes se ha reportado metaplasia cartilaginosa peritoneal, asociada generalmente a cirugía abdominal, en ocasiones asociadas a condromas o neoplasmas cartilaginosos benignos ⁽⁵⁾. En órganos como el útero, reportado por Kotru y colaboradores en 2009, se encontró una amplia extensión de cartílago hialino miometrial, descrito como un leiomioma con metaplasia cartilaginosa, con un riesgo de malignidad bajo ⁽⁶⁾; metaplasia a nivel de los cuerpos vertebrales por fusión y formación de masas heterotópicas, asociado al uso de BMP-2 recombinante ⁽⁷⁾. En las condromatosis sinoviales, las células del tejido conectivo a nivel de la membrana sinovial evidencian metaplasia tanto cartilaginosa como ósea a manera de nódulos, con menos frecuencia en articulaciones pequeñas, lo que se ha asociado a inflamación y patología articular degenerativa, características asociadas a la presencia del factor Wnt9a (Wingless type-9a) ⁽⁸⁾. En condiciones normales, Wnt9 y Wnt4, inhiben el potencial condrogénico de las células sinoviales ⁽⁹⁾.

Las metaplasias cartilaginosas vasculares, además de ser frecuentes en los estilos de vida sedentarios con dietas hiperlipídicas, generan riesgos para la salud que pueden comprometer un estado de salud normal y el desempeño cotidiano de una persona en la sociedad. La calcificación

presente en la diabetes, con falla renal crónica y aterosclerosis, entre otras patologías⁽¹⁰⁾, sucede posterior a la formación del cartílago, la cual es descrita como un cambio tisular en las paredes vasculares desde el endotelio y la túnica media de vasos como las arterias musculares o de mediano calibre, como las coronarias, con riesgo de enfermedad cardiovascular o, en las extremidades inferiores de personas diabéticas, que conllevan a ulceraciones y otros signos de arteriopatía periférica. Como consecuencia, muchos de estos casos evolucionan a metaplasia ósea con las características tisulares correspondientes.

Según lo describieron Qiao y coinvestigadores en 2003 ⁽¹¹⁾ en el reporte de dos pacientes en los que encontraron obstrucciones mayores al 70% en las arterias tibial posterior y poplítea, se evidenció no sólo diferenciación cartilaginosa, sino además formaciones óseas, similar a tejido óseo esponjoso en la proximidad de las placas ateromatosas; en algunos casos se evidencia médula ósea entre trabéculas, usualmente roja, compatible con tejido hematopoyético.

Los cambios moleculares descritos en los últimos 20 años indican que la influencia está dada tanto por el consumo elevado de grasas, así como la capacidad de diferenciación entre las células que presentan en común un origen embrionario mesodérmico, por ejemplo de pericito a condrocito y a célula osteoprogenitora; en donde los factores de transcripción, crecimiento y diferenciación involucrados en el mantenimiento de las características normales de los vasos sanguíneos y los procesos de condrogénesis y osteogénesis, presentan un desequilibrio que genera una inhibición del primero con el incremento del segundo. De ahí la importancia de esta revisión sistemática, cuyo objetivo es establecer la manera en que los mecanismos moleculares estudiados hasta el momento, fundamentan los crecientes cambios metaplásicos vasculares y los posibles mecanismos de prevención.

Materiales y métodos

Se revisaron de manera sistemática los artículos originales y reportes de caso, en inglés y en español, publicados en las bases de datos PubMed, Scopus y Science Direct entre los años 1995 y 2015. El enfoque de la búsqueda fue el de mecanismos moleculares, causas y prevención de metaplasias cartilaginosas, por lo que los des-

criptores MeSH utilizados fueron metaplasia and vascular calcification, a los que se asociaron los términos de molecular mechanisms, condrogenic and osteogenic. Se incluyeron algunos artículos publicados en 2016 que fueron importantes al encaminar las perspectivas de tratamiento actualmente estudiadas.

De las 209 publicaciones revisadas, se seleccionaron 63 las cuales fueron adecuadas para la redacción de este artículo (figura 1). Las imágenes que se incluyen en esta revisión fueron obtenidas de biopsias musculares procesadas en el Laboratorio de Histología de la Universidad del Valle; la toma de imágenes se realizó mediante el software LASV3.8 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania), adaptado al microscopio de luz Leica DM750 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania), con cámara digital Leica DFC295 (Leica Microsystems, Wetzlar, Alemania).

Figura 1.

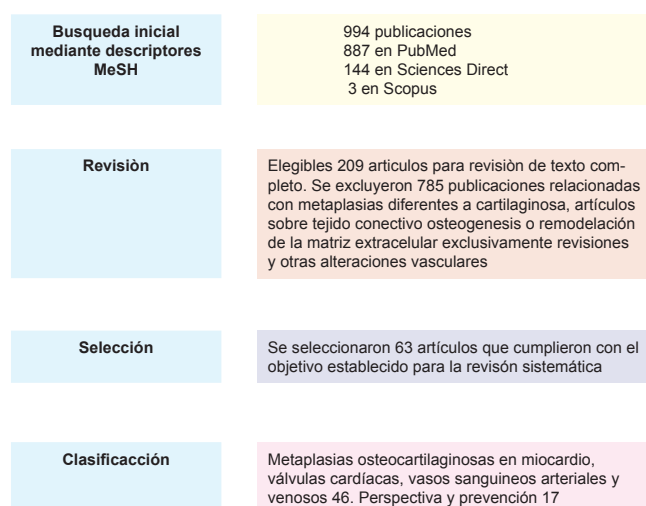


Figura 1. Flujograma de revisión sistemática de la literatura sobre metaplasias osteocartilaginosas.

Resultados y discusión

Las investigaciones en la última década, han avanzado desde la relación de formaciones metaplásicas con el incremento de ácidos grasos en sangre y lipoproteínas de baja densidad, hasta la expresión de moléculas reguladoras, factores de crecimiento y diferenciación que se han caracterizado como inductores de inflamación, los cuales conllevan a la lesión vascular e incluso endocárdica, presente en múltiples casos. Si bien, aún hay

quedan aspectos por dilucidar, las perspectivas de tratamiento y prevención evidencian posibilidades alcanzables en estadios tempranos, manejables en fases intermedias y tardías, aunque difícilmente reversibles en esta última.

Mecanismos de metaplasia osteocartilaginosa vascular

Los enfoques iniciales en la relación entre los mecanismos moleculares de la condrogénesis vascular, consideraron el déficit de ApoE, descrito por Qiao y colaboradores en 1995⁽¹²⁾, quienes utilizaron ratones con deficiencia de ApoE, evidenciando en la mitad de los biomodelos placas ateromatosas con cartílago calcificado en arco aórtico y válvulas aórtica y pulmonar; se determinó entonces que hipercolesterolemia es un factor asociado a este tipo de metaplasia cartilaginosa. Este concepto continúa vigente y ha sido integrado a la diferenciación que presentan las fibras musculares lisas hacia condrocitos u osteocitos, aspecto que coexiste con el papel de Runx2 (Runt-related transcription factor 2) asociado a Cbfa1 (core-binding factor subunit alpha-1), como marcadores de osteogénesis y, el factor de transcripción Sox 9 (SRY (Sex Determining Region Y)-Box 9) más colágeno tipo II, como los de condrogénesis. Los miocitos lisos y los pericitos más allá de su capacidad multipotencial en la diferenciación hacia células de origen mesodérmico, presentan in vivo una trans-diferenciación a estados osteocondrogénicos durante la lesión en el endotelio de los grandes vasos arteriales y las calcificaciones subsecuentes de su matriz extracelular⁽¹³⁾. Las alteraciones que conducen a hiperfosfatemia e hipercalcemia, generan también calcificación de las arterias coronarias, aorta y renales⁽¹⁴⁾.

En los vasos sanguíneos ateroscleróticos, según el estudio de Naik y coinvestigadores, se encontró que el 80% de los miocitos lisos expresaron factores osteogénicos, mientras que el 98% los condrogénicos⁽¹⁵⁾. La formación de cartílago, calcificación y posible osteogénesis se presenta en dos localizaciones vasculares; una está asociada a placas arterioescleróticas en la túnica íntima y otra, a nivel de la túnica media. En el corazón también se presentan a lo largo del miocardio y las válvulas cardíacas⁽¹⁶⁾.

Se ven afectados vasos arteriales de gran calibre como el arco aórtico y vasos de mediano calibre

como las arterias renales, en especial, en alteraciones como nefropatía diabética, hipercolesterolemia, diabetes tipo 2 y aterosclerosis. En este tipo de enfermedades aumenta la expresión de receptores RAGE (receptor for advanced glycation end products) en los miocitos lisos, que se co-expresan con el colágeno tipo X y Sox9⁽¹⁷⁾. Sox 9 ha sido relacionado con los procesos de osificación endocondral descritos en las paredes del corazón y, la identificación de la síntesis de colágeno tipo X es un indicativo de calcificación de la matriz extracelular vascular con tejido cartilaginosa hialino presente⁽¹⁸⁾.

AGEs (advance glycation end products), incrementan el depósito de radicales libres en la túnica media, así como el aumento de las concentraciones de radicales libres de oxígeno y la disminución de la actividad SOD (superoxide dismutase)⁽¹⁹⁾. Uno de los factores descritos en la predisposición a estrés oxidativo, posterior formación de placa aterosclerótica y metaplasia, es oxLDL (oxidized low-density lipoprotein), molécula fuertemente asociada a la inflamación cardiovascular y lesión las túnicas íntima y media, mediante la actividad del NF-κB (Nuclear factor κB). La expresión de uPAR (urokinase plasminogen activator receptor), se encuentra estrechamente relacionado con la activación de NF-κB y los cambios inflamatorios y tisulares asociados; se ha asociado uPAR a la mediación de señales endógenas de lesión endotelial, dado su ensamblaje con CD36 y TLR4, en presencia de oxLDL⁽²⁰⁾.

Durán y colaboradores en 2004, estudiaron la presencia de cartílago en el esqueleto fibroso de corazones de hámster, a nivel del trígono fibroso derecho y el septo interventricular, que expresaron colágeno tipo II, presencia de pericondrio observado a la microscopía óptica y en determinados biomodelos, presencia de fibras elásticas⁽²¹⁾. El atrio derecho es una región anatómica común para metaplasia cartilaginosa y ósea con evidencia de hueso trabecular, osteocitos y osteoblastos⁽²²⁾. En este tipo de cambios musculares por metaplásicos (figura 2), se ha definido que los factores osteogénicos como Runx2/Cbfa1, interfieren con la unión entre SRF (serum response factor) y myocardin para el desarrollo de las características propias de los cardiomiocitos y los miocitos lisos. Si bien, no es suficiente por sí mismo para generar calcificación, si está asociado a los cam-

bios tisulares en la metaplasia cartilaginosa⁽²³⁾. Los factores que generan estrés oxidativo en las túnicas vasculares, incrementan la concentración de peróxido de hidrógeno, lo que a su vez conduce a la sobreexpresión de Runx2 y la diferenciación osteogénica de las fibras musculares lisas y cardíacas⁽²⁴⁾.

Figura 2.

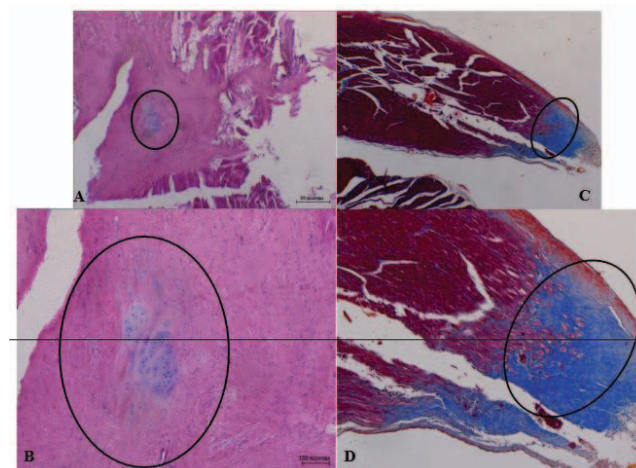


Figura 2. Metaplasia cartilaginosa. A. En el atrio derecho en la proximidad de la arteria pulmonar. Tinción hematoxilina-eosina. Magnificación 4X. Escala: 50 μ m. B. Igual región que en A, con aumento de 10X. Nótese la matriz cartilaginosa rodeando a los condrocitos (círculo). Escala: 100 μ m. C. En el tabique interventricular. Tinción tricrómica de Masson. Magnificación 4X. Escala: 50 μ m. D. Igual campo microscópico que en C, con aumento de 10X. Nótese los condrocitos dispersos entre las fibras colágenas y las diferencias de tinción para la matriz extracelular y los miocitos cardíacos. Escala: 100 μ m.

En los trasplantes aórticos experimentales el mecanismo de diferenciación en la metaplasia se da a partir de miocitos lisos o pericitos, lo que se deduce dada la co-localización encontrada con proteína S100, presente en los condrocitos y alfa-SMA (smooth muscle actin) propia de las células de origen mesodérmico con capacidad contráctil, asociado además, a la presencia de TGF- β 1 (Transforming growth factor beta1) que promueve la presencia de factores como BMP-2 y Smad, para la condrogénesis⁽²⁵⁾. Durante el postquirúrgico de algunos procedimientos cardiovasculares, también pueden presentarse metaplasias asociado a formación de pared vascular, como lo evidencia el estudio experimental llevado a cabo por Plenk y coinvestigadores en 2008, donde los biomodelos después de una embolización endovascular por aneurisma en la bifurcación carotí-

dea, evidenciaron neoformación cartilaginosa y ósea, asociado probablemente al TGF-B1. De este estudio fue concluido que aunque el dispositivo quirúrgico utilizado pueda ser biocompatible, la posibilidad de formación metaplásica osteocartilaginosa siempre es un aspecto a considerar el postquirúrgico ⁽²⁶⁾.

En casos excepcionales pueden presentarse formaciones cartilaginosas en vasos sanguíneos venosos, como el reportado en 2011 a nivel de la vena safena ⁽²⁷⁾, cuyas características fueron compatibles con cartílago fibroso en lugar de hialino, como usualmente se observa en las arterias. Este tipo de formación cartilaginosa fibrosa, se atribuye al depósito de tejido conectivo denso a partir de trombos adheridos a las paredes de las venas tanto de mediano como de pequeño calibre. De este modo, la presencia de trombosis venosa profunda y tromboflebitis, son factores de riesgo para este tipo de condrogénesis.

El riesgo de fibrosis y calcificación predispone a la formación de cartílago y a la diferenciación osteocondrogénica a partir de células de origen mesodérmico como los fibroblastos y los miocitos lisos. Los estados inflamatorios que generen el aumento de NFkB predisponen de igual manera a metaplasias óseas, mediante la disminución de OPG (osteoprotegerin) y el aumento de RANK/RANKL. La vía NF-kB identificada en la patogénesis de aterosclerosis es considerada actualmente como un factor inductor de condrogénesis a expensas de la elevada concentración de radicales libres y las alteraciones en la expresión de SM22-alpha, propio del tejido muscular liso ⁽²⁸⁾. De esta vía se deriva el incremento de RANKL (Receptor Activator for Nuclear Factor κ B Ligand), sintetizado por el endotelio vascular y estimulado por la diferenciación de miocitos lisos a osteoblastos con la subsecuente calcificación y remodelación de la matriz extracelular ⁽²⁹⁾.

La isquemia y el área de necrosis en un tejido como el muscular estriado cardíaco puede evidenciar regiones de metaplasia cartilaginosa ⁽³⁰⁾, cuya característica ha sido evidente en ratas hipertensas sometidas a isquemia cardíaca inducida, en las que se encontraron formaciones de cartílago en sus músculos papilares y a nivel subendocárdico en el ventrículo izquierdo. En ese entonces se atribuyó el cambio metaplásico a la influencia del TNF-B (factor de crecimiento transformante

B). Posteriormente en 2007, el estudio publicado por Steiner y colaboradores indicó la presencia de formación endocondral en las válvulas aórticas de 58 casos humanos y presencia de hueso trabecular con tejido adiposo circundante en 72 hombres; las causas incluyeron estados post-reumáticos, estenosis valvular y cambios degenerativos por la edad ⁽³¹⁾.

Hasta ahora se considera que OPG producido así mismo por las células endoteliales, es un factor protector en la calcificación de la pared vascular, por su relación con el control en la remodelación de la matriz ósea y la disminución en la concentración de RANKL en la proximidad de la placa ateromatosa ⁽³²⁾. El incremento en este ligando asociado al aumento en la expresión de BMP-4 (bone morphogenic protein-4), contribuye a la calcificación de la túnica media en los vasos de gran y mediano calibre ⁽³³⁾ y que a su función como segundo ligando se encuentra TRAIL (TNF-related apoptosis-inducing ligand), por tanto gradualmente se dan cambios celulares que posteriormente son tisulares.

No obstante, frente a la lesión por aterosclerosis los niveles de OPG se incrementan como una respuesta de inhibición de los cambios osteocartilaginosos; de ahí que se considere como un marcador de la presencia de calcificación en la pared vascular ⁽³⁴⁾. De igual forma, los estudios in vitro han evidenciado que el aumento de la concentración de OPG reduce la diferenciación de osteoblastos, lo cual se presenta al inhibir la actividad de Notch1 y su asociación con los factores de transcripción RBP-Jk, importantes en la diferenciación de células con capacidad pluripotencial, en este caso, los miocitos lisos ⁽³⁵⁾.

MGP (matrix Gla protein) es importante para la estructura y función de las túnicas vasculares, la cual es producida fundamentalmente por las fibras musculares lisas, con el fin de generar unión al calcio y evitar su depósito en el tejido conectivo que soporta el músculo liso. Se ha observado desde hace más de una década, que la disminución o ausencia de MGP contribuye a que los miocitos lisos se diferencien a condroblastos/condrocitos, los cuales ocupan las túnicas íntima y media generando matriz extracelular propia del tejido cartilaginoso, en lugar de, la que corresponde a la normal para el tejido muscular liso ⁽³⁶⁾, ⁽³⁷⁾. Su activación depende de vitamina K y su forma

inactiva o decarboxilada, dp-ucMGP (desphospho-uncarboxylated MGP), se ha encontrado en altas concentraciones en personas con frecuencia cardíaca elevada y factores de riesgo cardiovascular⁽³⁸⁾, de modo que se ha establecido una relación probablemente causal de aumento en los niveles de dp-ucMGP, tanto para mortalidad cardiovascular como para enfermedad coronaria⁽³⁹⁾. Se ha descrito así mismo, que los medicamentos antagonistas de la vitamina K conllevan a cambios metaplásicos y calcificación vascular en las arterias coronarias⁽⁴⁰⁾.

Los niveles MGP activa son similares en hombres y mujeres, así como en la asociación a factores de riesgo cardíaco, a excepción de los niveles elevados de colesterol en sangre. En un estudio clínico que analizó los casos de 60 pacientes que presentaron estenosis carotídea por calcificación, se encontraron cantidades variables de MGP; déficit en aquellos que presentaron hipercolesterolemia y un aumento en las estenosis moderadas y severas, siendo considerado como un mecanismo de respuesta compensatoria o de retroalimentación para el mantenimiento de la función muscular en la túnica media y las características del tejido conectivo intramuscular; dada esta respuesta se ha tornado en un marcador de calcificación y alteración en este tipo de estenosis⁽⁴¹⁾. Actualmente está siendo estudiado si la administración de vitamina K puede constituir un factor protector para la calcificación y formación metaplásica al aumentar la activación de MGP, sin generar complicaciones asociadas.

Según el estudio publicado por Speer y colaboradores, la ausencia de MGP contrasta con el incremento de BMP-2, osteopontina y Runx2/Cbfa1, así como la influencia que presenta en la diferenciación condrocítica el factor Runx2 asociado a Cbfa1, los cuales están involucrados en osificación endocondral y remodelación ósea. En este estudio también se observó una posible plasticidad de los miocitos lisos para incrementar la síntesis de MGP y mantener tanto su fenotipo como su función, restringiendo además los procesos de condrogénesis y osteogénesis, demostrándose que pueden ser reversibles. El aumento de ApoE en el suero contribuye a que el cambio metaplásico sea reversible, en este caso en la recuperación del músculo liso y las características de la túnica íntima vascular⁽²³⁾.

Recientemente, se ha asociado el aumento en la glicemia con la calcificación de las paredes vasculares. In vitro, la exposición a niveles elevados de glucosa, contribuye a estrés oxidativo y apoptosis que inicia en el retículo endoplasmático rugoso de los miocitos lisos, con la activación de la caspasa-12 y un subsecuente incremento de Runx2 y fosfatasa alcalina como factores de osteogénesis⁽⁴²⁾. PDK4 (piruvate deshydrogenase kinase 4) es una de las enzimas que regula la oxidación de la glucosa; estudios experimentales demuestran que un aumento en la expresión de PDK4 genera calcificación de la túnica media vascular, así como en la diferenciación de osteoblastos al fosforilar la vía Smad1, Smad5 y Smad8 y, la expresión de BMP-2, alterando a su vez, la función mitocondrial de los miocitos lisos⁽⁴³⁾. Por otra parte, IL-1 (inteleuquin 1B) frente a niveles considerables de glucosa en diabetes mellitus, estimula la función de la fosfatasa alcalina, la síntesis de matriz osteoide y por ende depósito de calcio junto con la diferenciación osteogénica⁽⁴⁴⁾.

Además de BMP-4, los factores Notch y la vía Wnt/B catenina, se han relacionado con los procesos de condricificación, osificación y reprogramación por inducción de células con capacidad de diferenciación pluripotencial, como en el caso de los miocitos lisos y similares de origen mesodérmico. Wnt/B catenina ha sido una de las vías canónicas descritas en la condrogénesis de carcinomas metastásicos y su evidencia en los vasos sanguíneos y los carcinomas glandulares⁽⁴⁵⁾. Al incrementarse los niveles de B-catenina, se inhiben los de MGP para darse la diferenciación cartilaginosa y la calcificación arterial; sin embargo, estudios recientes han dado a conocer que el tratamiento con flavonoides puede atenuar la transformación condrogénica⁽⁴⁶⁾. La tabla 1 resume los factores que influyen negativamente en el cambio metaplásico osteocartilaginosa.

Perspectivas de tratamiento y prevención

Las perspectivas abarcan el tratamiento farmacológico, la continuidad en la investigación biomédica en la identificación de nuevas moléculas que influyen en los mecanismos de lesión y en el manejo molecular de los procesos ateroscleróticos. Algunos de los métodos para el tratamiento y la prevención se encuentran en el medio cotidiano,

Tabla 1. Factores moleculares predisponentes en la formación metaplásica

Factor / proteína que induce metaplasia	Alteración tisular asociada	Referencia
Runx2/Cbfa1	Osteogénesis. Inhibición de la unión SRF-Myocardin. Se activa por la oxidación y el aumento de peróxido de hidrógeno	13, 23, 24, 42
Sox9 / COL II	Condrogénesis	13, 18, 21
RAGE/ AGE	Presencia de radicales libres y otros	10, 19
COLX	Calcificación	10
oxLDL	Pro-inflamatorio	20
NF-kB	Pro-inflamatorio. Reducción de OPG. Activación del sistema RANK/RANKL	20, 28
uPAR/CD36/TLR4	Activación NF-kB y lesión endotelial. Aumento en la enfermedad vascular periférica	20, 59
S100	Proteína propia del citoplasma en los condrocitos	25
TGF-B1	Pro-inflamatorio. Activación BMP2/Smad	25, 26
BMP-2 / Smad	Condrogénesis y osteogénesis. Activada por PDK4.	25, 43
alfa-SMA	Proteína propia de las células de origen mesodérmico. Se evidencia en la transdiferenciación celular. SM22-alfa es propia de los miocitos lisos	25, 28
RANK/RANKL	Promotor de condrogénesis y osteogénesis. Se activa por aumento en la concentración de radicales libres y es sintetizado por el endotelio. Remodelación de la matriz extracelular.	28
TNF-B	Pro-inflamatorio	31
BMP-4/TRAIL	Promueve la calcificación vascular.	33, 45
dp-ucMGP	Presente en personas con enfermedad cardiovascular	38
caspara-12/ fosfatasa alcalina/ osteopontina	Marcadores de osteogénesis. Activada por IL1	23, 42, 44
PDK4	Oxidación de la glucosa. Calcificación de la túnica media al fosforilar los factores de la vía Smad y la expresión de BMP2	43
Notch1/ RPB-Jk	Diferenciación de células pluripotenciales / miocitos lisos	35
IL1	Osteogénesis relacionada con hiperglicemia. Activa la fosfatasa alcalina en diabetes	44
Wnt/B-catenina	Condrogénesis. Cambios fibróticos. Inhibición de MGP	45, 46

mientras que otros requieren avances en los estudios para establecer su aplicación.

El tratamiento con Quercetin, bioflavonoide y potente inhibidor de B-catenina, evidenció en condiciones en las que MGP se encontró disminuída, una reducción en el depósito de glucosaminoglucanos típicos de la matriz cartilaginosa, así como una inhibición en la expresión de Sox9, la síntesis de colágeno tipo II y de proteoglicanos como aggrecan. En estas publicaciones también se ha establecido una inhibición de los precursores osteogénicos como TGF-B, Smad, fosfatasa alcalina, síntesis de colágeno tipo X y MMP-8 (metaloproteínase 8) ⁽⁴⁷⁾.

En los resultados de un estudio posterior publicado Beazley y colaboradores en 2015, se describió que Wnt16 (Wingless type-16) es uno de los factores regulado por Smad y relacionado con la disminución de la condrogénesis al antagonizar TGF-B3, el cual genera la inhibición de Wnt16 para dar lugar a la formación de tejido cartilaginoso en la pared vascular. Wnt16 y MGP expresada en el endotelio, contribuyen a la estabilidad del fenotipo vascular de las fibras musculares lisas, así

como también lo hacen BMP-7 y Wnt7, reduciendo la calcificación en el endotelio, como excepción en la tendencia contraria a los otros subtipos para ambos factores ⁽⁴⁸⁾. Osteopontina, es otro de los posibles factores que se incluyen como tratamiento de las calcificaciones vasculares, dado su efecto de anti-mineralización vascular al captar los iones fosfato evitando su depósito en las paredes de los vasos. En biomodelos con déficit de esta sustancia, evidenciaron cambios vasculares tanto en la túnica íntima como en la túnica media a nivel renal, del tipo nefrocalcinosis ⁽⁴⁹⁾.

El tratamiento con magnesio es tenido en cuenta desde hace algunos años, en la reducción de la calcificación vascular inducida por fosfatos, para una mejor función endotelial. El estudio in vitro evidenció un efecto protector tanto del endotelio como el músculo liso vascular, en este caso, miocitos lisos obtenidos de aortas de distintos donantes, en los que los niveles de osteocalcina, osteopontina y MGP se encontraron en niveles normales y la matriz extracelular no tuvo cambios de tipo cartilaginoso; de ahí que se considere como una propuesta en el manejo de la calcifi-

cación vascular y la prevención de la formación metaplásica osteocartilaginosa ⁽⁵⁰⁾.

Recientemente, se ha asociado la importancia de Ang II (angiotensina II) al prevenir la reducción de la concentración del magnesio, lo que en consecuencia evita o disminuye el riesgo de calcificación vascular. El mecanismo molecular descrito corresponde a la asociación de Ang II con AT1R(angiotensin 1 receptor) inducido por la vía ERK1/2 MAP Kinase (extracelular signal-regulated kinases/ mitogen-activated protein kinase); la cual a su vez ejerce un efecto inhibitorio en la vía canónica Wnt/B-catenina ⁽⁵¹⁾.

La MnSOD (Manganese superoxide dismutase), enzima mitocondrial antioxidante que reduce la disfunción endotelial, apoptosis de macrófagos e inhibición de la oxidación generada en el endotelio, por lo que los polimorfismos en esta proteína constituyen una predisposición metaplasia y otras alteraciones vasculares ⁽⁵²⁾. Según el estudio publicado por Fujimoto y coinvestigadores, el genotipo valina/valina fue elevado para los casos de enfermedad de arterias coronarias comparado con el grupo sano. Por otra parte, la variante que contiene alanina, aumenta la actividad de MnSOD y ejerce protección de los macrófagos contra la apoptosis inducida por oxLDL, proceso que contribuye a los cambios inflamatorios en las fases tardías de la aterosclerosis ⁽⁵³⁾.

El tratamiento con vitamina E ha sido una de las alternativas estudiadas en condiciones de obesidad y uremia inducida en biomodelos murinos, en la que se reduce la concentración de radicales libres mediante el aumento de la actividad de la enzima glutatión peroxidasa, la cual a su vez reduce el depósito de calcio en el conectivo aórtico. Al disminuir el estrés oxidativo tisular se presenta reducción de la actividad de la fosfatasa alcalina y del calcio tisular, lo que previene la calcificación vascular y el cambio metaplásico ⁽⁵⁴⁾. Asociado a la actividad física, el efecto de esta vitamina mejora en la prevención de la lesión endotelial.

El ejercicio preventivo es el método estándar para múltiples alteraciones, no solo vasculares, sino también osteo-artro-musculares. Las placas ateroscleróticas demuestran una preferencia en la localización a nivel del arco aórtico, carótidas y subclavias, observándose mediante modelos murinos y técnicas in vitro, que el ejercicio induce un aumento de la concentración de la catalasa, en-

zima antioxidante, a nivel de la túnica adventicia en las paredes arteriales, en respuesta al estrés oxidativo plasmático secundario a la actividad física continua, para contrarrestar la lesión oxidativa pro-aterogénica en la túnica íntima ⁽⁵⁵⁾. Sin embargo, el ejercicio continuo y a largo plazo sin estar relacionado con una dieta baja en grasas saturadas, difícilmente previene la formación de aterosclerosis, calcificación y subsecuente metaplasia en las paredes vasculares ⁽⁵⁶⁾.

Un tratamiento combinado entre ejercicio, flavonoides u otros antioxidantes y antiinflamatorios, conlleva no solo a una reducción del peso corporal, sino a una anti-aterogénesis, posiblemente mediante la inhibición de la oxidación de LDL y la protección de los macrófagos, así como la inducción de la actividad de las enzimas catalasa y NOS (óxido nítrico-sintasa), después de 30 días de intervención ⁽⁵⁷⁾.

En adolescentes obesos, el entrenamiento físico mejora sustancialmente la función endotelial, dada la expresión de NOS, así como vasodilatación y reducción de las placas ateroscleróticas presentes. La edad puede ser un factor positivo influyente, aunque esto sin la actividad física y una dieta apropiada no generaría cambios vasculares relacionados con la plasticidad tisular ⁽⁵⁸⁾. Una rutina corta de ejercicio aeróbico en personas sanas durante 10 días, como la propuesta por Radom-Aizik y colaboradores, conduce a la expresión genética determinada en los monocitos, así como en su miRNA, que puede atenuar una activación patológica de monocitos, al igual que del CD36 y TLR4, que se encuentran aumentados en personas con enfermedad vascular periférica y, conducir a la disminución de la formación de células espumosas ⁽⁵⁹⁾. La expresión de genes como EREG y HBEGF conlleva a que los monocitos circulantes en sangre contribuyan de manera importante en la reparación tisular, mediante la secreción paracrina de factores de crecimiento y una capacidad pluripotencial de diferenciación, para ser parte del endotelio lesionado; estos son denominados, monocitos no-clásicos ⁽⁵⁹⁾.

La natación como ejercicio aeróbico disminuye el riesgo de formación aterosclerótica. De acuerdo con las investigaciones en modelos animales, los ratones con deficiencia de ApoE sometidos a 45 minutos de natación, presentaron una reducción en la acumulación de macrófagos y células CD4+,

a su vez que aumentó la expresión de proteínas antioxidantes endoteliales y NOS. La formación vascular de aterosclerosis previamente formada, se redujo considerablemente después de ocho semanas de tratamiento con ejercicio ⁽⁶⁰⁾ ⁽⁶¹⁾.

Sin embargo, estas medidas de prevención mediante dieta y ejercicio no son exclusivas para las personas menores de 50 años o sin diagnósticos de alteración cardiovascular. La asociación americana del corazón, menciona el concepto de prevención secundaria, como medida de intervención en los casos en los que ya existe un diagnóstico clínico. A pesar que, no es fácil de aplicar por los factores asociados a la enfermedad o la disminución en la interacción social a la que conlleva, el tratamiento debe estar relacionado directamente con el estilo de vida; es decir, entrenamiento físico adaptado a las condiciones de cada persona, la dieta apropiada y los procedimientos y prescrip-

ciones adicionales que se requieran en el manejo de cada alteración ⁽⁶²⁾. En las personas que presentan síndrome metabólico, las modificaciones en el estilo de vida conducen a una mejor función endotelial, presión arterial y pulso cardíaco, lo que evidencia una reducción de los factores de riesgo para enfermedad cardiovascular, entre otras alteraciones ⁽⁶³⁾. La tabla 2 resume los factores protectores para la aterosclerosis y la formación osteocartilaginosa.

Conclusiones

Factores como los antioxidantes, el tratamiento con magnesio o el consumo de flavonoides, que reduzcan la oxidación del endotelio y los radicales libres, así como los que contribuyan al aumento de MGP, aumenten la plasticidad del musculo liso,

Tabla 2. Factores moleculares protectores en el cambio metaplásico

Tratamiento/Prevención	Característica	Referencia
ApoE	Protector para la formación osteocondrogénica. Reversibilidad del cambio metaplásico	12, 23
OPG	Protector en la calcificación vascular. Inhibición de la diferenciación de osteoclastos. Producido por el endotelio	28, 33, 34
MGP	Producido por la túnica media. Mantenimiento del fenotipo endotelial. Su ausencia promueve la diferenciación a condrocitos y osteoblastos. Los flavonoides aumentan su síntesis	36, 37, 46
Vitamina K	Activador de MGP. Posible protector en la calcificación vascular	38, 40, 41
Flavonoides	Reducción de la formación condrogénica. Inhibidor de B-catenina. Disminución de factores osteogénicos	46, 47
Wnt-16	Antagonista de TGF-B3, estimulado por la vía Smad	48
Wnt7/BMP-7	Estabilidad del fenotipo vascular. Reducción de la calcificación vascular	48
Osteopontina	Efecto anti-mineralización vascular	49
Ang II	Asociado a la vía ERK1/2 MAP Kinase inhibe Wnt/B-catenina	51
MnSOD	Enzima antioxidante mitocondrial. Protección en la apoptosis de los macrófagos inducida por oxLDL	52, 53
Vitamina E	Antioxidante. Aumento de la actividad de la glutatión peroxidasa	54
catalasa/NOS	Enzimas antioxidantes. Su función es estimulada por el ejercicio aeróbico	55, 58, 60, 61
EREG y HBEGF	Estimulación de monocitos para la reparación vascular. Monocitos no-clásicos	59

Agradecimientos

La autora agradece al Dr. Mauricio Villalobos, al grupo de investigación Tejidos blandos y mineralizados y a las profesionales del Laboratorio de Histología de la Universidad del Valle, por su colaboración en la redacción de este manuscrito.

Conflicto de intereses

La autora declara no tener conflicto de intereses.

las concentraciones de ApoE y estimulen la actividad de Wnt16/Wnt7/BMP7/ y la presencia de Ang II, constituyen elementos protectores para la calcificación vascular y la formación metaplásica osteocartilaginosa. En su mayoría son fortalecidos por una dieta baja en grasas saturadas y azúcares simples, con el fin de disminuir los niveles de LDL sérico, al igual que la hiperglicemia, ambos aspectos relacionados con el estrés oxidativo y la lesión del endotelio vascular.

Referencias

1. Ninomiya J, Oyama T, Horiguchi J, Koibuchi Y, Yoshida T, Iijima K, et al. Two cases of breast cancer with cartilaginous and osseous metaplasia. *Breast Cancer*. 2005;12(1):52-6.
2. Yoichi T, Nagashima T, Yagata H, Yoshida K, Suzuki M, Fujimori T, et al. Breast cancer with cartilaginous and/or osseous metaplasia. *Breast Cancer*. 2009;16(3):234-7.
3. Kijima Y, Umekita Y, Yoshinaka H, Owaki T, Sakamoto A, Yoshida H, et al. A case of breast carcinoma with cartilaginous and osseous metaplasia. *Breast Cancer*. 2006;13(2):214-9.
4. Kawabata A, Okano K, Uchida K, Yamaguchi R, Hayashi T, Tateyama S. Co-localization of chondromodulin-1 (ChM-1) and bone morphogenetic protein-6 (BMP-6) in myoepithelial cells of canine mammary tumors. *J Vet Med Sci*. 2005;67(11):1097-102.
5. Fadare O, Bifulco C, Carter D, Parkash V. Cartilaginous differentiation in peritoneal tissues: a report of two cases and a review of the literature. *Mod Pathol*. 2002;15(7):777-80.
6. Kotru M, Gupta R, Aggarwal S, Sharma S, Bhatia A. Cartilaginous metaplasia in uterine leiomyoma. *Arch Gynecol Obstet*. 2009;280(4):671-3.
7. Christensen TJ, Annis P, Hohl JB, Patel AA. Neuroforaminal chondrocyte metaplasia and clustering associated with recombinant bone morphogenetic protein-2 usage in transforaminal lumbar interbody fusion. *Spine J*. 2014;14(6):e23-8.
8. Tagliavero G, Moro S, Stecco C, Pennelli N. [Bilateral synovial chondromatosis of the first metatarsophalangeal joint: a case report.]. *Reumatismo*. 2003;55(4):263-6.
9. Später D, Hill TP, O'sullivan RJ, Gruber M, Conner DA, Hartmann C. Wnt9a signaling is required for joint integrity and regulation of Ihh during chondrogenesis. *Development*. 2006;133(15):3039-49.
10. Pundziute G, Schuijff JD, Jukema JW, van Werkhoven JM, Nucifora G, Decramer I, et al. Type 2 diabetes is associated with more advanced coronary atherosclerosis on multislice computed tomography and virtual histology intravascular ultrasound. *J Nucl Cardiol*. 2009;16(3):376-83.
11. Qiao JH, Mertens RB, Fishbein MC, Geller SA. Cartilaginous metaplasia in calcified diabetic peripheral vascular disease: morphologic evidence of enchondral ossification. *Hum Pathol*. 2003;34(4):402-7.
12. Qiao JH, Fishbein MC, Demer LL, Lulis AJ. Genetic determination of cartilaginous metaplasia in mouse aorta. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1995;15(12):2265-72.
13. Speer MY, Yang HY, Brabb T, Leaf E, Look A, Lin WL, et al. Smooth muscle cells give rise to osteochondrogenic precursors and chondrocytes in calcifying arteries. *Circ Res*. 2009;104(6):733-41.
14. Chertow GM, Raggi P, Chasan-Taber S, Bommer J, Holzer H, Burke SK. Determinants of progressive vascular calcification in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant*. 2004;19(6):1489-96.
15. Naik V, Leaf EM, Hu JH, Yang HY, Nguyen NB, Giachelli CM, et al. Sources of cells that contribute to atherosclerotic intimal calcification: an in vivo genetic fate mapping study. *Cardiovasc Res*. 2012;94(3):545-54.
16. Aupperle H, März I, Schoon HA. Detection and characterization of chondroid metaplasia in canine atrioventricular valves. *J Comp Pathol*. 2008;139(2-3):113-20.
17. Nguyen N, Naik V, Speer MY. Diabetes mellitus accelerates cartilaginous metaplasia and calcification in atherosclerotic vessels of LDLr mutant mice. *Cardiovasc Pathol*. 2013;22(2):167-75.
18. Fitzpatrick LA, Turner RT, Ritman ER. Endochondral bone formation in the heart: a possible mechanism of coronary calcification. *Endocrinology*. 2003;144(6):2214-9.
19. Wei Q, Ren X, Jiang Y, Jin H, Liu N, Li J. Advanced glycation end products accelerate rat vascular calcification through RAGE/oxidative stress. *BMC Cardiovasc Disord*. 2013;13:13.
20. Kiyon Y, Tkachuk S, Hilfiker-Kleiner D, Haller H, Fuhrman B, Dumler I. oxLDL induces inflammatory responses in vascular smooth muscle cells via urokinase receptor association with CD36 and TLR4. *J Mol Cell Cardiol*. 2014;66:72-82.
21. Durán AC, López D, Guerrero A, Mendoza A, Arqué JM, Sans-Coma V. Formation of cartilaginous foci in the central fibrous body of the heart in Syrian hamsters (*Mesocricetus auratus*). *J Anat*. 2004;205(3):219-27.
22. Gopalakrishnan G, Blevins WE, Van Alstine WG. Osteocartilaginosa metaplasia in the right atrial myocardium of healthy adult sheep. *J Vet Diagn Invest*. 2007;19(5):518-24.
23. Speer MY, Li X, Hiremath PG, Giachelli CM.

- Runx2/Cbfa1, but not loss of myocardin, is required for smooth muscle cell lineage reprogramming toward osteochondrogenesis. J Cell Biochem. 2010;110(4):935-47.*
24. Byon CH, Javed A, Dai Q, Kappes JC, Clemens TL, Darley-Usmar VM, et al. Oxidative stress induces vascular calcification through modulation of the osteogenic transcription factor Runx2 by AKT signaling. *J Biol Chem. 2008;283(22):15319-27.*
25. Mathieu P, Roussel JC, Dagenais F, Anegón I. Cartilaginous metaplasia and calcification in aortic allograft is associated with transforming growth factor beta 1 expression. *J Thorac Cardiovasc Surg. 2003;126(5):1449-54.*
26. Plenk H, Shum JC, Cruise GM, Killer M. Cartilage and bone neoformation in rabbit carotid bifurcation aneurysms after endovascular coil embolization. *Eur Cell Mater. 2008;16:69-79.*
27. Caggiati A, Franceschini M. Cartilaginous metaplasia of varicose veins: a case report. *Phlebology. 2013;28(3):165-7.*
28. Shen J, Yang M, Jiang H, Ju D, Zheng JP, Xu Z, et al. Arterial injury promotes medial chondrogenesis in Sm22 knockout mice. *Cardiovasc Res. 2011;90(1):28-37.*
29. Ndip A, Williams A, Jude EB, Serracino-Inglott F, Richardson S, Smyth JV, et al. The RANKL/RANK/OPG signaling pathway mediates medial arterial calcification in diabetic Charcot neuroarthropathy. *Diabetes. 2011;60(8):2187-96.*
30. Asanuma A, Sonoki H, Koga T. Experimental myocardial infarction with cartilaginous and osseous metaplasia in SHR and WKY rats. *Exp Anim. 1995;44(2):163-7.*
31. Steiner I, Kasparová P, Kohout A, Dominik J. Bone formation in cardiac valves: a histopathological study of 128 cases. *Virchows Arch. 2007;450(6):653-7.*
32. Callegari A, Coons ML, Ricks JL, Rosenfeld ME, Scatena M. Increased calcification in osteoprotegerin-deficient smooth muscle cells: Dependence on receptor activator of NF- κ B ligand and interleukin 6. *J Vasc Res. 2014;51(2):118-31.*
33. Panizo S, Cardus A, Encinas M, Parisi E, Valcheva P, López-Ongil S, et al. RANKL increases vascular smooth muscle cell calcification through a RANK-BMP4-dependent pathway. *Circ Res. 2009;104(9):1041-8.*
34. Morony S, Tintut Y, Zhang Z, Cattley RC, Van G, Dwyer D, et al. Osteoprotegerin inhibits vascular calcification without affecting atherosclerosis in *Idlr*($-/-$) mice. *Circulation. 2008;117(3):411-20.*
35. Zhou S, Fang X, Xin H, Li W, Qiu H, Guan S. Osteoprotegerin Inhibits Calcification of Vascular Smooth Muscle Cell via Down Regulation of the Notch1-RBP-Jk/Msx2 Signaling Pathway. *PLoS ONE. 2013;8(7):e68987.*
36. El-Maadawy S, Kaartinen MT, Schinke T, Mursheed M, Karsenty G, McKee MD. Cartilage formation and calcification in arteries of mice lacking matrix Gla protein. *Connect Tissue Res. 2003;44 Suppl 1:272-8.*
37. Boström KI. Cell differentiation in vascular calcification. *Z Kardiol. 2000;89 Suppl 2:69-74.*
38. Pivin E, Ponte B, Pruijm M, Ackermann D, Guessous I, Ehret G, et al. Inactive Matrix Gla-Protein Is Associated With Arterial Stiffness in an Adult Population-Based Study. *Hypertension. 2015;66(1):85-92.*
39. Liu YP, Gu YM, Thijs L, Knapen MH, Salvi E, Citterio L, et al. Inactive matrix Gla protein is causally related to adverse health outcomes: a Mendelian randomization study in a Flemish population. *Hypertension. 2015;65(2):463-70.*
40. Schurgers LJ, Joosen IA, Laufer EM, Chattrou ML, Herfs M, Winkens MH, et al. Vitamin K-antagonists accelerate atherosclerotic calcification and induce a vulnerable plaque phenotype. *PLoS One. 2012;7(8):e43229.*
41. Dana P, Adela S-T, Elena G, Gyorgy B, Mirela C, Smaranda B, et al. The relationship between matrix GLA protein (MGP) and carotid stenosis. *Revista Română de Medicină de Laborator Vol. 2011;19(2/4).*
42. Zhu Q, Guo R, Liu C, Fu D, Liu F, Hu J, et al. Endoplasmic Reticulum Stress-Mediated Apoptosis Contributing to High Glucose-Induced Vascular Smooth Muscle Cell Calcification. *J Vasc Res. 2015;52(5):291-8.*
43. Lee SJ, Jeong JY, Oh CJ, Park S, Kim JY, Kim HJ, et al. Pyruvate Dehydrogenase Kinase 4 Promotes Vascular Calcification via SMAD1/5/8 Phosphorylation. *Sci Rep. 2015;5:16577.*
44. Bessueille L, Fakhry M, Hamade E, Badran B, Magne D. Glucose stimulates chondrocyte differentiation of vascular smooth muscle cells and calcification: A possible role for IL-1 β . *FEBS Lett. 2015;589(19 Pt B):2797-804.*
45. Hayes MJ, Thomas D, Emmons A, Giordano TJ, Kleer CG. Genetic changes of Wnt pathway genes are common events in metaplastic carcinomas of the breast. *Clin Cancer Res. 2008;14(13):4038-44.*
46. Konoplyannikov M, Nurminskaya M. New therapeutic approaches to arterial calcification via inhibition of transglutaminase and β -catenin signaling. *Curr Pharm Des. 2014;20(37):5811-20.*
47. Beazley KE, Lima F, Borrás T, Nurminskaya M. Attenuation of chondrogenic transformation in vascular smooth muscle by dietary quercetin in the MGP-deficient mouse model. *PLoS One. 2013;8(9):e76210.*
48. Beazley KE, Nurminsky D, Lima F, Gandhi C, Nurminskaya MV. Wnt16 attenuates TGF β -induced chondrogenic transformation in vascular smooth muscle. *Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2015;35(3):573-9.*

49. *Paloian NJ, Leaf EM, Giachelli CM. Osteopontin protects against high phosphate-induced nephrocalcinosis and vascular calcification. Kidney Int. 2016;89(5):1027-36.*
50. *Louvet L, Büchel J, Steppan S, Passlick-Deetjen J, Massy ZA. Magnesium prevents phosphate-induced calcification in human aortic vascular smooth muscle cells. Nephrol Dial Transplant. 2013;28(4):869-78.*
51. *Herencia C, Rodríguez-Ortiz ME, Muñoz-Castañeda JR, Martínez-Moreno JM, Canalejo R, Montes de Oca A, et al. Angiotensin II prevents calcification in vascular smooth muscle cells by enhancing magnesium influx. Eur J Clin Invest. 2015;45(11):1129-44.*
52. *Fujimoto H, Kobayashi H, Ogasawara K, Yamakado M, Ohno M. Association of the manganese superoxide dismutase polymorphism with vasospastic angina pectoris. J Cardiol. 2010;55(2):205-10.*
53. *Fujimoto H, Taguchi J, Imai Y, Ayabe S, Hashimoto H, Kobayashi H, et al. Manganese superoxide dismutase polymorphism affects the oxidized low-density lipoprotein-induced apoptosis of macrophages and coronary artery disease. Eur Heart J. 2008;29(10):1267-74.*
54. *Peralta-Ramírez A, Montes de Oca A, Raya AI, Pineda C, López I, Guerrero F, et al. Vitamin E protection of obesity-enhanced vascular calcification in uremic rats. Am J Physiol Renal Physiol. 2014;306(4):F422-9.*
55. *Meilhac O, Ramachandran S, Chiang K, Santanam N, Parthasarathy S. Role of arterial wall antioxidant defense in beneficial effects of exercise on atherosclerosis in mice. Arterioscler Thromb Vasc Biol. 2001;21(10):1681-8.*
56. *Rauramaa R, Halonen P, Väisänen SB, Lakka TA, Schmidt-Trucksäss A, Berg A, et al. Effects of aerobic physical exercise on inflammation and atherosclerosis in men: the DNASCO Study: a six-year randomized, controlled trial. Ann Intern Med. 2004;140(12):1007-14.*
57. *Garelnabi M, Mahini H, Wilson T. Quercetin intake with exercise modulates lipoprotein metabolism and reduces atherosclerosis plaque formation. J Int Soc Sports Nutr. 2014;11:22.*
58. *Watts K, Beye P, Siafarikas A, Davis EA, Jones TW, O'Driscoll G, et al. Exercise training normalizes vascular dysfunction and improves central adiposity in obese adolescents. J Am Coll Cardiol. 2004;43(10):1823-7.*
59. *Radom-Aizik S, Zaldivar FP, Haddad F, Cooper DM. Impact of brief exercise on circulating monocyte gene and microRNA expression: implications for atherosclerotic vascular disease. Brain Behav Immun. 2014;39:121-9.*
60. *Okabe TA, Shimada K, Hattori M, Murayama T, Yokode M, Kita T, et al. Swimming reduces the severity of atherosclerosis in apolipoprotein E deficient mice by antioxidant effects. Cardiovasc Res. 2007;74(3):537-45.*
61. *Shimada K, Kishimoto C, Okabe TA, Hattori M, Murayama T, Yokode M, et al. Exercise training reduces severity of atherosclerosis in apolipoprotein E knockout mice via nitric oxide. Circ J. 2007;71(7):1147-51.*
62. *Fleg JL, Forman DE, Berra K, Bittner V, Blumenthal JA, Chen MA, et al. Secondary prevention of atherosclerotic cardiovascular disease in older adults: a scientific statement from the American Heart Association. Circulation. 2013;128(22):2422-46.*
63. *Matsuzawa Y, Sugiyama S, Sugamura K, Sumida H, Kurokawa H, Fujisue K, et al. Successful diet and exercise therapy as evaluated on self-assessment score significantly improves endothelial function in metabolic syndrome patients. Circ J. 2013;77(11):2807-15.*