

CALCIFICATIONS EXTRA-OSSEUSES CHEZ LE PATIENT INSUFFISANT RÉNAL CHRONIQUE

par

T.B. DRÜEKE*, M. TOUAM*, D. THORNLEY-BROWN**
et S.G. ROSTAND**

Les calcifications des tissus mous sont une complication fréquente et parfois sévère de l'insuffisance rénale chronique. Leur rôle dans la morbidité et la mortalité des patients urémiques, par l'intermédiaire des dépôts calciques dans le système cardiovasculaire, est grandissant en rapport avec l'allongement de la survie et l'âge avancé de la population des dialysés chroniques.

Le type, la distribution, la vitesse de progression et la sévérité des dépôts de calcium extraosseux varient beaucoup d'un patient à l'autre et dépendent de nombreux facteurs outre que le milieu urémique. Les calcifications des tissus mous dans l'insuffisance rénale chronique sont généralement considérées comme un événement passif, secondaire à l'élévation du produit phosphocalcique ($\text{Ca} \times \text{P}$) extracellulaire. Cependant, des observations récentes de calcifications artérielles spontanées chez des souris transgéniques avec invalidation de certains gènes et des expériences *in vitro* induisant des calcifications de type vasculaire dans des modèles de cellules en culture sont en faveur de la participation d'un processus actif, impliquant des cellules et des protéines spécifiques.

Dans ce travail, nous ferons d'abord une brève revue de nos connaissances actuelles concernant les calcifications des tissus mous dans l'insuffisance rénale chronique. Ensuite, nous exposerons de nouveaux mécanismes, de découverte récente, pouvant être impliqués dans la survenue de dépôts anormaux de phosphate de calcium dans les tissus mous. Ils n'ont pas nécessairement un rôle à jouer dans tous les types de calcification observés chez le patient urémique, mais la connaissance de ces nouveaux mécanismes pourrait amener à mettre à jour des voies

* Service de néphrologie et INSERM U 507, hôpital Necker, 161 rue de Sèvres, 75743 Paris Cedex 15.

** The Nephrology Research and Training Center, Division of Nephrology, Department of Medicine, The University of Alabama at Birmingham, Birmingham, Alabama, États-Unis.

pathogéniques insoupçonnées. Cela pourrait aussi permettre d'aboutir à une meilleure compréhension de cette complication et in fine à une amélioration des mesures thérapeutiques et préventives.

LES FAITS ÉTABLIS CONCERNANT LES CALCIFICATIONS DES TISSUS MOUS DANS L'INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE

Classification, localisation et nature des dépôts calciques

En général, on distingue schématiquement deux catégories de calcifications des tissus mous, qualifiées de calcifications dystrophiques et métastatiques. La formation initiale des premières est associée à des tissus antérieurement lésés alors que les dernières se développent dans un environnement biologique anormal. Dans l'insuffisance rénale chronique, les deux formes sont très souvent étroitement associées [1].

Quant à la localisation, il en existe au moins deux types, appelés dépôts calciques viscéraux et non viscéraux. Les calcifications artérielles sont la forme non viscérale la plus commune [1]. Elles sont fréquemment observées de façon précoce au cours de l'insuffisance rénale [2]. Les autres localisations habituelles sont oculaires, articulaires et périarticulaires et cutanées. Les calcifications viscérales sont très souvent observées dans les poumons et le cœur. Les localisations évoluées incluent, dans le cœur, les valves, le système de conduction et les artères coronaires.

Du point de vue chimique et physique, on distingue encore deux catégories principales [3, 4]. Dans le tissu viscéral, les dépôts calciques sont initialement sous forme de phosphate amorphe de calcium et de magnésium $(Ca Mg)_3 (PO_4)_2$, qui ressemble au whitlockite. En revanche, les dépôts calciques dans les tissus non viscéraux sont souvent composés d'apatite, qui est la forme du cristal de phosphate de calcium présent normalement dans les tissus calcifiés comme l'os et l'émail. Plus rarement, on trouve d'autres formes de cristaux de calcium, comme le pyrophosphate de calcium associé à la chondrocalcinose et la pseudogoutte, et l'oxalate de calcium associé à l'hyperoxalurie primitive et moins fréquemment à la chondrocalcinose chez le patient urémique avec une oxalose secondaire acquise [5].

Principales manifestations cliniques selon la localisation tissulaire et la cause supposée (calcifications cardiovasculaires exceptées)

Le *prurit* survient souvent en l'absence d'altération visible au niveau de la peau, mais il peut être associé à des lésions papulaires ou nodulaires qui peuvent s'infecter à la suite du grattage. Bien que le prurit et les lésions cutanées qui lui sont liées soient attribués à l'élévation du produit $Ca \times P$, le rôle prédominant de celui-ci n'est pas fermement établi. Puisque l'hypercalcémie et l'hyperphosphorémie ont souvent été observées en association avec l'hyperparathyroïdie secondaire sévère, et que le prurit urémique est généralement résolutif de façon rapide après parathyroïdectomie (PTX), le rôle de l'hormone parathyroïdienne a été proposé il y a plus de 30 ans [6]. Le mécanisme supposé est, soit indirect par le biais d'une modification dans les tissus de la teneur en calcium et phosphate, soit direct par l'action

de la PTH sur le récepteur PTH/PTHrP ou d'autres récepteurs de la PTH. De tels récepteurs sont exprimés dans les kératinocytes [7], les fibroblastes dermiques [8] et les vaisseaux sanguins [9]. Bien que l'expression du récepteur PTH/PTHrP soit réduite dans l'urémie expérimentale [10, 11] et qu'elle ne soit pas affectée par la PTX [12], une réduction marquée de la PTH plasmatique peut, néanmoins, être en faveur d'un tel mécanisme.

L'augmentation du nombre de mastocytes dans la peau des patients urémiques souffrant de prurit [13] suggère un rôle à la PTH, depuis que l'on a montré que cette hormone a la capacité de libérer de la 5-hydroxytryptamine [14] et de l'histamine [15] en réponse à un antigène approprié et de stimuler l'expression de facteurs cellulaires du mastocyte [16]. Cependant, une étude récente a montré l'absence de relation entre les mastocytes cutanés et les taux plasmatiques de calcium, de phosphore ou de PTH chez le patient urémique avec prurit [13]. Par conséquent, la relation précise entre les troubles du métabolisme du calcium et du phosphore et l'hyperactivité des mastocytes reste à déterminer.

Le syndrome de « *calciphylaxie* » est une manifestation rare et sévère de calcifications cutanée et vasculaire, qui est caractérisée par une progression rapide de nécroses cutanées au niveau des fesses et des jambes et surtout des cuisses. Elle peut entraîner une gangrène et être fatale. Elle survient à la suite de calcifications artériolaires et a été récemment qualifiée par le terme « artériopathie urémique calcifiée », qui reflète la nature des lésions de façon plus précise [17]. Les mécanismes pathogéniques possiblement impliqués sont discutés plus loin.

Des calcifications cutanées diffuses peuvent être observées chez les patients urémiques avec hyperoxalurie primitive, traités par épuration extrarénale pendant plusieurs années. Les dépôts d'oxalate de calcium présentent des signes radiologiques caractéristiques (fig. 1) qui ne devraient pas être confondus avec une hyperparathyroïdie sévère.

Les manifestations cliniques des *calcifications oculaires* sont moins fréquemment observées aujourd'hui qu'il y a deux ou trois décennies. Les dépôts calciques sont localisés dans la cornée (kératopathie en bande) et dans la conjonctive. Les patients se plaignent de sensations de grains dans l'œil [1]. Des signes inflammatoires associés à l'hypercalcémie, comme en particulier le « syndrome des yeux rouges », sont devenus rares à l'heure actuelle.

Les *arthralgies* et l'*ostéoarthropathie destructrice* chez les malades dialysés sont le plus souvent associées à l'amylose β 2m. Bien que la prévalence des manifestations liées aux calcifications articulaires et périarticulaires ait diminué durant la dernière décennie, celles-ci ne sont pas si rares. Elles se présentent sous trois formes : les calcifications du cartilage intra-articulaires appelées chondrocalcinose, la périarthrite calcifiée et la calcinose tumorale.

La *chondrocalcinose articulaire* est souvent liée à des calcifications du cartilage articulaire. Celles-ci peuvent entraîner des poussées récurrentes d'arthrite aiguë, faisant suite à une synovite causée par des microcristaux de pyrophosphate de calcium dihydraté (PPDC) [18]. Pour cela, ce syndrome est également qualifié de « pseudo-goutte ». Il répond souvent favorablement à l'administration de colchicine, bien que la réponse soit généralement moins bonne que dans une goutte authentique.

La *périarthrite calcifiée* se présente sous deux formes. La première forme est généralement pénible. Elle survient à la suite d'un traumatisme ou de lésions dégénératives des structures périarticulaires, habituellement des grosses articulations. Souvent, la douleur précède la mise en évidence de calcifications à la radiographie.



FIG. 1. — Calcifications cutanées diffuses par dépôts d'oxalate de calcium chez un patient hémodialysé au long cours et atteint d'hyperoxalurie primaire. De plus, on note l'apparition d'une formation pseudo-tumorale au niveau du coude de ce patient.

L'épanchement articulaire concomitant peut progressivement augmenter la teneur en calcium et éventuellement développer une consistance pâteuse et blanchâtre [19].

La deuxième forme survient en l'absence de traumatisme préalable ou de dégénérescence des structures périarticulaires. Elle affecte souvent des articulations différentes à des périodes variables et peut être liée à une arthrite aiguë, une bursite ou une ténosynovite. Les calcifications ne sont présentes que dans les structures périarticulaires, et sont dues au dépôt de cristaux d'apatite de calcium dans quelques cas [20, 21]. Les calcifications ne concernent pas le cartilage articulaire. Cependant, les dépôts calciques touchent les tendons et le tissu fibreux adjacent et peuvent entraîner une rupture tendineuse. Ces signes d'arthrite ressemblent à ceux de la goutte et répondent souvent à la colchicine. En raison de leurs similitudes, la chondrocalcinose articulaire et la dernière forme de périarthrite calcifiée sont dénommées pseudo-goutte respectivement de type I et de type II [1].

La *calcinose tumorale* n'est pas fréquente chez les malades insuffisants rénaux chroniques quoiqu'elle n'ait pas disparu malgré un meilleur contrôle de l'hyperparathyroïdie secondaire qu'il y a 20 ans. De façon typique, une grande masse molle se développe progressivement en un à deux ans, à proximité d'une ou plusieurs grosses articulations (fig. 2). Elle est rarement la cause de douleurs, mais



FIG. 2. — Calcinose tumorale touchant la hanche d'un homme jeune, traité par hémodialyse intermittente depuis 9 ans et atteint d'une hypoparathyroïdie permanente (PTH intacte plasmatique indétectable).

peut limiter la mobilité articulaire et parfois causer des ulcérations profondes à la surface cutanée. La masse est multiloculaire et est composée d'un stroma fibreux et de cloisons fibreuses bordées de cellules géantes multinuclées [22, 23]. Les kystes contiennent un matériel pâteux dont la teneur en calcium est très élevée, de 11-12 mg/dl [24]. L'analyse minérale des tissus montre des dépôts d'hydroxyapatite [24]. De ce point de vue, cette lésion est identique à celle observée dans l'hyper-*vitaminose D* et le syndrome dit des buveurs de lait.

Les *calcifications pulmonaires* peuvent conduire à une détérioration de la ventilation et de la perfusion du parenchyme pulmonaire, une hypertrophie ventriculaire droite, une hypertension pulmonaire et une insuffisance cardiaque [25]. Bien que les dépôts calciques pulmonaires ne soient souvent pas radiologiquement visibles, ils peuvent néanmoins produire de tels symptômes et signes cliniques. À la radiographie, ils apparaissent sous forme d'infiltrats réticulaires, d'opacités nodulaires ou segmentaires [26]. Ces lésions sont décelées aisément à la tomodynamométrie ou à la scintigraphie au diphosphonate de ^{99m}Tc -hydroxyméthylène [27]. La plèvre, le cartilage bronchiolaire et les capillaires pulmonaires sont souvent calcifiés parallèlement au parenchyme pulmonaire. Sur le plan biochimique, les dépôts sont sous forme de cristaux d'apatite de calcium.

Calcifications cardiovasculaires

En raison de l'importance clinique et de la fréquence apparemment croissante des dépôts calciques dans les tissus cardiaques et vasculaires, cette complication est décrite dans un paragraphe à part.

Ce type de calcification est devenu tout à fait banal chez le malade dont l'insuffisance rénale chronique est arrivée au stade terminal (IRCT). De nombreuses études ont examiné leur prévalence. La prévalence des dépôts phosphocalciques vasculaires [1, 2, 28, 29] et myocardiques [30-33] est très variable d'une étude à l'autre. Ces différences peuvent s'expliquer par de nombreux facteurs, comme l'augmentation des malades dialysés à un âge avancé et la longue survie en dialyse. Cependant, la majeure difficulté en est probablement le problème épineux et persistant de la détection précoce et de la quantification des dépôts de calcium dans les tissus mous. Le développement récent de techniques d'imagerie plus sensibles comme la fluoroscopie digitale [34] et la tomographie par émission de positons [35-37] permettra de déterminer avec plus de précision la présence et la progression des calcifications myocardiques, valvulaires, coronariennes, artérielles et vasculaires périphériques. Cependant, ces techniques ne sont pas encore disponibles en routine clinique.

Les calcifications cardiovasculaires peuvent contribuer à l'augmentation de la morbidité et de la mortalité des patients en IRCT de plusieurs manières, dont l'ischémie myocardique et périphérique, la détérioration de la fonction myocardique, l'insuffisance valvulaire, la susceptibilité à l'arythmie, l'endocardite infectieuse et l'infarctus du myocarde.

CALCIFICATIONS CARDIAQUES

Il est connu depuis longtemps que la concentration du calcium libre cytosolique est augmentée dans le cardiomyocyte urémique [32, 38, 39]. Cela est la conséquence, au moins en partie, de l'hyperparathyroïdie secondaire [38]. Les calcifications myocardiques semblent être, en général, un processus intracellulaire, du moins au stade initial de la cardiomyopathie urémique, survenant aussi bien en présence de cardiomyocytes normaux que de cardiomyocytes altérés, comme cela a été montré chez le rat urémique [31]. Dans cette dernière étude, les calcifications les plus avancées ont été retrouvées dans des zones de dégénérescence et de nécrose myocardiques. Des calcifications de la média et de l'intima ont également été notées.

Chez les malades dialysés, la surcharge en calcium de l'artère coronaire qui peut être déterminé à l'aide de la tomodensitographie par émission de positons, était de 2,5 à 5 fois plus élevée que chez les patients non urémiques explorés par cathétérisme cardiaque pour suspicion de maladie coronarienne [35].

Les calcifications du système de conduction, en particulier du nœud auriculo-ventriculaire et du faisceau de His, ont été décrites [30, 40], en association avec des troubles de la conduction auriculo-ventriculaire dont le bloc a-v complet et la mort subite.

Les valves mitrales et aortiques sont un site majeur des calcifications cardiaques chez les patients en IRCT [30, 35, 41-43]. Les calcifications de la valve mitrale dans l'insuffisance rénale ont une grande signification clinique, du fait de leur association à une variété de troubles de la conduction cardiaque, une insuffisance

valvulaire, une rupture des cordages tendineux et une grande susceptibilité à l'endocardite infectieuse et l'accident cérébro-vasculaire [41, 44].

CALCIFICATIONS ARTÉRIELLES

Deux types différents de calcification vasculaire sont à distinguer dans l'insuffisance rénale chronique, sur la base d'aspects topographiques et mécanistiques. Le premier type, qui est le plus fréquemment observé, consiste en des dépôts calciques dans l'intima et la région sous-intimale des parois vasculaires ; ces dépôts sont généralement associés à des lésions athéromateuses (fig. 3). Les calcifications artérielles sont retrouvées à l'autopsie dans plus de 90 p. 100 des artères coronaires athéromateuses chez les malades âgés de plus de 60 ans [45] et l'athérosclérose calcifiée précoce est commune dans le diabète sucré [46]. Les calcifications sont indépendamment associées à un haut risque d'infarctus du myocarde et de mortalité cardiovasculaire chez les diabetiques [47]. L'accroissement de l'âge et la grande prévalence du diabète chez les patients évoluant vers l'IRCT et les traitements par épuration extrarénale n'expliquent qu'incomplètement la très grande prévalence de ce type de lésions chez les malades urémiques. Le second type consiste en des dépôts calciques dans la média et la lamina élastique interne des artères de petit et moyen calibre, comme les artères radiales, fémorales et digitales des mains et des pieds (médiacalcosse de Mönckeberg). Celle-ci est une conséquence classique de l'hyperparathyroïdie secondaire [48]. Mais ces calcifications peuvent également être observées en son absence, bien qu'en général, elles soient associées à une hyperphosphorémie ou à un produit $Ca \times P$ élevé [49].

Des altérations semblables ont été décrites chez le rat en insuffisance rénale expérimentale [50, 51]. On a également observé l'accumulation d'un matériel de type collagène dans les artères des malades et des rats urémiques [50, 51]. Ces types d'altérations peuvent être le résultat d'un vieillissement accéléré [52] et peuvent, en partie, expliquer la réduction de la distensibilité vasculaire et l'augmentation des résistances périphériques observées chez les patients urémiques [52-55]. Il faut aussi souligner la forte liaison qui existe, sur le plan statistique, entre les calcifications artérielles périphériques et la présence des calcifications myocardiques [32].

Les calcifications des artères périphériques du malade urémique sont rarement associées à des signes d'ischémie bien que dans des conditions d'hypotension et de besoin accru d'oxygène, la perte de la distensibilité artérielle puisse limiter l'oxygénation tissulaire. Dans ce cas, et souvent en rapport avec une baisse de la pression de perfusion, on peut voir se développer une ischémie et une gangrène d'un ou plusieurs doigts. Elle touche volontiers l'extrémité porteuse de l'abord artério-veineux. Les calcifications des artères coronaires peuvent contribuer à des épisodes fréquents d'angine de poitrine même en l'absence de sténose luminale significative et avant l'installation clinique manifeste d'une maladie athéromateuse des artères coronaires [56].

CALCIFICATIONS ARTÉRIOLAIRES

Le syndrome le plus dramatique des calcifications vasculaires est l'« artériolopathie urémique calcifiée », encore appelée « calciphylaxie ». Ce syndrome survient très rarement chez les insuffisants rénaux chroniques ayant des calcifications artérielles ou cardiaques. Il est caractérisé par l'apparition aiguë de lésions cutanées violacées et douloureuses qui sont habituellement localisées au niveau des extrémités des membres inférieurs, du tronc, des fesses et/ou du pénis, et qui peu-



FIG. 3. — Calcifications « en tuyau de pipe » des artères fémorales et iliaques chez un homme, traité par hémodialyse intermittente depuis 9 ans et atteint d'une hyperparathyroïdie secondaire.

vent se compliquer d'ulcérations et d'escarres [57, 58]. La plupart des lésions proximales, touchant surtout le haut des cuisses et les fesses, sont plus inquiétantes et conduisent à un risque de décès plus élevé que les lésions distales, comme celles situées en dessous des genoux [58]. La douleur est fréquemment sévère et les lésions sont souvent symétriques [58, 59]. La biopsie cutanée révèle des calcifications situées dans la paroi des artérioles de la peau et du muscle, avec une nécrose lobulaire de la graisse et une infiltration de neutrophiles, de lymphocytes et de macrophages [60, 61]. La microanalyse des vaisseaux calcifiés par spectrométrie aux rayons X révèle la présence de dépôts faits uniquement de calcium et de phosphate.

Le syndrome d'artériopathie urémique calcifiée peut être observé chez des malades ayant une insuffisance rénale avancée, avant et après l'initiation d'un traitement d'épuration extrarénale, et également chez les receveurs de greffe rénale [59, 60]. Sa prévalence précise est inconnue. Dans une étude rétrospective récente portant sur 242 malades dialysés, elle a été estimée à 4 p. 100 environ [62]. D'autres auteurs ont trouvé une incidence annuelle de 1 p. 100 [63]. Après l'analyse d'un nombre croissant de cas que nous avons observés ces dernières années et l'augmentation du nombre de cas et séries publiés, notre impression est que la survenue de l'artériopathie urémique calcifiée est devenue plus fréquente qu'il y a 20-30 ans.

TABLEAU I. — FACTEURS SYSTÉMIQUES ET LOCAUX POTENTIELLEMENT IMPLIQUÉS DANS LES CALCIFICATIONS DES TISSUS MOUS DANS L'INSUFFISANCE RÉNALE CHRONIQUE

FACTEURS GÉNÉRAUX ET SYSTÉMIQUES
Hyperphosphorémie
Augmentation du produit $Ca \times P$
Âge
Durée du traitement par dialyse
Origine ethnique
Diabète sucré
Hypertension artérielle
Hyperparathyroïdie
Hypoparathyroïdie + ostéopathie adynamique (avec ou sans intoxication aluminique)
Excès ou déficit en vitamine D
Excès ou déficit en vitamine K
Acidose métabolique (dialyse à l'acétate)
Excès de magnésium
Surcharge en fer
Altérations du système de coagulation
Traitement par héparine ou warfarine
FACTEURS LOCAUX
Lésions tissulaires focales (hématome, infection, injection d'héparine)
Modifications locales du pH
Modifications locales des protéines protectrices ou inductrices
Développement de novo de cellules « osteoblast-like » calcifiantes
Surexpression locale de facteurs de croissance (TGF β , PTHrP)

Mécanismes probablement impliqués, établis ou suspectés (tableau I)

EXCÈS D'HORMONE PARATHYROÏDIENNE

L'hyperparathyroïdie secondaire à l'insuffisance rénale chronique a longtemps été considérée comme un facteur majeur dans la genèse des calcifications des tissus mous. En faveur de cela, il y a le fait que des calcifications viscérales s'observent également dans l'hyperparathyroïdie primaire [33], que la distensibilité artérielle est inversement corrélée à la concentration plasmatique de la PTH intacte [64], et que les calcifications vasculaires chez les rats urémiques peuvent être prévenues par une PTX [50].

La PTH peut exercer son effet par l'intermédiaire d'une augmentation de la concentration du calcium cytosolique et l'inhibition de processus dépendants de la production d'énergie. Ces effets peuvent être corrigés par la PTX [39, 65]. En outre,

la réduction de l'expression du récepteur PTH/PTHrP [10, 11] et l'hyperexpression locale de PTHrP dans l'IRCT, peut-être en réponse à un état d'hyperparathyroïdie, sont associées à des calcifications des cellules de muscle lisse vasculaire bovines [66] et possiblement aussi du tissu cutané [67].

Cependant, un excès de sécrétion parathyroïdienne n'est pas indispensable au développement de calcifications dans les tissus mous. Une calcinose tumorale est fréquemment observée en l'absence d'hyperactivité des glandes parathyroïdes (voir plus loin) et même en l'absence d'insuffisance rénale [22, 23, 68-70]. Une augmentation de calcifications cérébrales a été récemment rapportée chez des patients atteints d'hypoparathyroïdie chronique [71]. Bien que la PTX se soit accompagnée d'une amélioration des calcifications vasculaires dans plusieurs cas, de nombreux auteurs (y compris nous-mêmes) estiment que cela s'est observé en fait rarement, en particulier durant cette dernière décennie. Pour les autres tissus mous calcifiés, il est probable que la PTX apporte une amélioration dans environ 50 p. 100 des cas seulement, et cela dépend de plusieurs facteurs, comme des caractéristiques des malades et de la localisation géographique des différents centres de dialyse. De Fransisco et al. [28] n'ont pas trouvé de modification significative des calcifications artérielles après PTX chez 42 malades en IRCT. En fait, ils ont observé l'apparition de nouvelles calcifications après la correction de l'hyperparathyroïdie. En outre, ils ont constaté l'absence de relation statistique significative entre la PTH ou les phosphatases alcalines sériques et les calcifications artérielles. Cependant, il faut bien noter que la plupart de leurs malades avaient été exposés auparavant à une surcharge aluminium sévère (voir plus loin). L'analyse de l'ensemble de ces données suggère que l'hyperparathyroïdie a probablement un effet permissif sur les calcifications des tissus mous de l'insuffisance rénale, et ce malgré l'association statistique relativement faible entre les calcifications des tissus mous et la PTH plasmatique et la réponse seulement partielle à la PTX.

VITAMINE D

La vitamine D exerce un rôle certain dans les calcifications des tissus mous, et ce rôle est connu de longue date. Un grand nombre d'études ont rapporté des calcifications ectopiques chez les patients ayant une hypervitaminose D, en l'absence d'insuffisance rénale. De même, l'induction de calcifications artérielles par l'administration de doses élevées de vitamine D a été décrite dans plusieurs modèles animaux. Chez le rat, la vitamine D n'est cependant généralement pas suffisante pour provoquer à elle seule une calcification des tissus mous. Elle requiert l'administration concomitante d'un ou plusieurs agents supplémentaires comme la nicotine pour être efficace [72]. Ce type de calcification expérimentale peut être prévenu, voire rendu réversible par l'administration d'antagonistes des canaux calciques tel le verapamil [73].

De nombreux malades urémiques reçoivent des suppléments de dérivés de la vitamine D, avec le risque d'augmenter les concentrations plasmatiques de $25(\text{OH})\text{D}_3$ et de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$. Quarles et al. [74] ont décrit une augmentation des taux de calcitriol plasmatique chez deux malades urémiques atteints de calcinose tumorale. Ces auteurs proposent une association pathogénique à l'excès de calcitriol. Dans une étude rétrospective chez 120 enfants en IRCT durant les années 1963-1985, les calcifications des tissus mous étaient étroitement liées à l'administration de vitamine D ou de ses analogues et ont été observées chez 60 p. 100 des enfants [75]. Enfin, il a été rapporté récemment que des taux élevés de calcidiol plasmatique

constituent un facteur de risque indépendant pour le rétrécissement aortique calcifié [76].

Les mécanismes intimes de la tendance exagérée aux calcifications des tissus mous en cas d'excès de vitamine D sont probablement complexes. Avant tout, la vitamine D favorise l'absorption intestinale du calcium et du phosphore et augmente, de ce fait, le produit $\text{Ca} \times \text{P}$. Ensuite, la vitamine D induit l'expression de protéines à haute affinité pour le calcium qui peuvent promouvoir ou inhiber la survenue de dépôts calciques (voir plus loin). Ainsi des études *in vitro* utilisant des cellules de muscle lisse bovines en culture révèlent que des doses pharmacologiques de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ peuvent induire un processus de calcification par une réduction de l'expression du gène PTHrP et de la sécrétion de la protéine PTHrP, suite à la stimulation du développement de cellules ayant une fonction ostéoblastique avec une activité phosphatasique alcaline, et indépendamment par l'augmentation de l'expression de l'ostéopontine [77]. Le calcitriol a également la faculté d'augmenter l'expression de l'ostéopontine dans les cellules de l'épiderme de souris [78]. Alors que les auteurs de ce dernier travail suggèrent que l'augmentation de l'ostéopontine stimule les cellules musculaires lisses vasculaires et les calcifications cutanées, d'autres trouvent que c'est un inhibiteur [79].

Cependant, les malades insuffisants rénaux qui ne sont pas traités par une supplémentation en vitamine D ont souvent une hypovitaminose D, avec des concentrations basses de $25(\text{OH})\text{D}_3$ et de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sériques [80, 81]. Ces patients ont aussi une propension à développer des calcifications ectopiques [80]. Chez les sujets non urémiques, Watson et al. [82] ont trouvé une relation inverse entre la concentration de $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ plasmatique et le degré de calcification des artères coronaires. Ceci suggère que la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ peut inhiber la survenue de calcifications vasculaires dans des conditions physiologiques, c'est-à-dire en présence d'une fonction rénale normale. Cette action inhibitrice peut être indirecte, par le biais d'un processus de minéralisation actif dans le squelette. Le calcitriol exerce une action inhibitrice, dépendant de sa concentration, sur la production de $\text{TNF}\alpha$ dans les monocytes activés par les lipopolysaccharides [83]. Il a été montré que le $\text{TNF}\alpha$ inhibe à son tour la synthèse d'ostéocalcine induite par le calcitriol, par le biais d'une transformation ostéoblastique [84] ; cette inhibition peut être expliquée en partie par l'effet mitigé du calcitriol sur les calcifications ectopiques et par l'intermédiaire de son effet inhibiteur sur la production de $\text{TGF}\beta 1$, le calcitriol peut limiter la transformation ostéoblastique dans les tissus mous [85]. Des études sur des cellules osseuses en culture ont montré que les deux effets, inhibiteur et inducteur, de la $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ sur la fonction ostéoblastique dépendent de l'état de réplétion ou de déplétion en vitamine D des malades chez lesquels elles ont été prélevées. Cette observation a amené Watson et al. [82] à suggérer que cet effet pourrait être médié par la fixation du récepteur de la vitamine D à des éléments de réponse à la vitamine D dans les promoteurs de différents gènes impliqués dans les processus de calcification. Ainsi, le groupe de Kato [86, 87] a montré que la modulation positive et négative des fonctions du récepteur de la vitamine D est liée à sa voie de signalisation avec celle du $\text{TGF}\beta$ et qu'elle peut être régulée par des protéines SMAD de façon synergique ou antagoniste. Ainsi, le fait qu'une supplémentation en vitamine D puisse améliorer ou au contraire promouvoir ou aggraver les calcifications des tissus mous peut dépendre des réserves en vitamine D d'un malade donné ainsi que d'autres états pathologiques associés. C'est pour cela que l'administration de vitamine D à des malades atteints d'hyperparathyroï-

die doit se faire avec de grandes précautions. Elle est loin d'être indiquée chez tous les malades, notamment en cas d'hypercalcémie et d'hyperphosphorémie.

PRODUIT PHOSPHOCALCIQUE

L'expérience clinique montre qu'il existe, au cours de l'insuffisance rénale chronique, une corrélation étroite entre les calcifications extra-osseuses et l'hyperphosphorémie et/ou l'élévation du produit $\text{Ca} \times \text{P}$ plasmatique au-dessus du seuil de solubilité [88, 89]. La valeur de ce seuil est de $30 \text{ mg}^2/100 \text{ ml}^2$ pour le produit Ca ionisé $\times \text{P}$ ou de $70 \text{ mg}^2/100 \text{ ml}^2$ pour le produit Ca total $\times \text{P}$ [88], bien qu'en l'absence d'urémie il ait été évalué à environ $60 \text{ mg}^2/100 \text{ ml}^2$ [90]. Sur une série de 195 malades atteints d'insuffisance rénale, Katz et al. [88] ont trouvé que dans la majorité des cas de calcifications métastatiques, le produit $\text{Ca} \times \text{P}$ était supérieur à 70, même si dans certains cas il n'y avait pas de calcification métastatique clinique, radiologique ou autopsique, ce malgré un produit $\text{Ca} \times \text{P}$ au-delà de 100. D'un autre côté, 28 p. 100 des patients avaient un produit $\text{Ca} \times \text{P}$ inférieur à 70 et développent néanmoins des calcifications vasculaires. Cela indique clairement que d'autres mécanismes sont impliqués. De Fransisco et al. ont montré l'absence de relation évidente entre les calcifications ectopiques, quel que soit le tissu touché, et le niveau de calcémie, de phosphorémie ou du produit $\text{Ca} \times \text{P}$ [28]. Cependant, il est à noter que beaucoup de leurs patients souffraient de divers degrés d'intoxication aluminique.

L'hyperphosphorémie joue probablement un rôle important dans la formation de la calcinose tumorale, même si la cause de cette complication reste obscure. Ainsi, Zins et al. [22] et Cofan et al. [89] trouvent qu'elle est associée à un produit $\text{Ca} \times \text{P}$ élevé, essentiellement en raison d'une hyperphosphorémie. La calcinose tumorale peut régresser après PTX [28] et après transplantation rénale [91], suggérant que l'hyperparathyroïdie secondaire avec son hypercalcémie et son hyperphosphorémie, peut être un facteur pathogénique important. Actuellement cependant, elle est observée fréquemment chez des malades en l'absence d'hyperparathyroïdie [22, 92] et elle a même été rapportée au décours de PTX [22, 92]. Il est intéressant de noter qu'on a récemment montré l'existence d'une corrélation négative entre les concentrations de calcitriol plasmatique et les calcifications des artères coronaires chez des malades non urémiques [82]. Mais le fait commun surtout dans les études chez les patients dialysés [69, 74], est un défaut de minéralisation osseuse, associé ou non à une ostéomalacie induite par l'aluminium. Ces observations concordent avec celles de notre groupe [22], où plusieurs malades parmi 10 hémodialysés atteints de calcinose tumorale avaient une ostéomalacie induite par l'aluminium ou une ostéopathie adynamique. Cela suggère qu'une réduction de l'accrétion osseuse de calcium et de phosphore, qui est le résultat d'une diminution de l'activité du front de minéralisation [93] ou d'un ralentissement du remodelage osseux secondaire à une ostéomalacie acquise, une ablation excessive de tissu parathyroïdien ou une suppression trop forte de la fonction parathyroïdienne peuvent toutes favoriser la survenue de dépôts extra-osseux d'apatite [94].

Les calcifications des valves aortiques et mitrales sont étroitement liées à un produit $\text{Ca} \times \text{P}$ élevé. Bien que le rôle favorisant d'une augmentation de la concentration de PTH plasmatique dans ce processus semble certain, il reste néanmoins peu clair, du moins sur le plan statistique [42]. Dans une série récente rapportée par Ureña et al., l'hyperphosphorémie était un facteur de risque indépendant pour le rétrécisse-

ment aortique calcifié des malades hémodialysés alors que l'hyperparathyroïdie ne l'était pas [76]. En fait, beaucoup de malades avaient une hypoparathyroïdie. La constante ascension de l'âge des patients arrivant au stade de l'IRCT, la prolongation de la survie en dialyse, le diabète sucré et l'hypertension artérielle favorisent également la grande prévalence des dépôts calciques dans les valves mitrales et aortiques [35, 76, 95, 96].

Ostéopathie adynamique, surcharge aluminique et hypoparathyroïdie

Puisque des formations osseuses hétérotopiques peuvent survenir au cours de l'insuffisance rénale en l'absence d'hyperparathyroïdie, avec ou (plus rarement) sans élévation du produit $Ca \times P$, et en présence de concentrations basses de calcidiol ou de calcitriol plasmatiques, d'autres facteurs pathogéniques sont invoqués. Plusieurs études ont démontré une relation entre les calcifications des tissus mous, en particulier la calcinose tumorale, et l'intoxication aluminique [22, 74]. L'aluminium peut altérer la minéralisation osseuse. Chez le rat, il entraîne une diminution du nombre d'ostéoblastes [97], diminue probablement les propriétés de formation osseuse et augmente la capacité de la matrice extracellulaire à se calcifier par la formation accrue d'une trame de collagène, produisant ainsi les conditions pour des calcifications dystrophiques ou métastatiques [98]. Il paraît raisonnable de penser que la chélation de l'aluminium par la desferrioxamine permet de contrecarrer l'altération de la trame de collagène et de contribuer ainsi à la résolution des calcifications des tissus mous. Ce type de séquence d'événements peut être suggéré à la suite de l'observation rapportée par Geffriaud et al. [99].

L'utilisation prolongée de fortes doses de chélateurs aluminiques du phosphore peut conduire à une ostéopathie adynamique [100, 101]. Cependant, durant ces dernières années, leur utilisation a été considérablement réduite pour cette raison et aussi à cause des autres complications de l'intoxication aluminique comme la démence et la myopathie. Les causes d'un état de bas remodelage osseux sont maintenant liées à d'autres facteurs bien identifiés : l'hypoparathyroïdie résultant d'une suppression excessive de la fonction parathyroïdienne ou d'une ablation chirurgicale des glandes, ou encore d'importants dépôts d'aluminium à la surface osseuse [100, 101]. Contrairement à l'hyperparathyroïdie secondaire où l'influx et l'efflux du calcium osseux sont augmentés, dans les états de bas remodelage osseux ce processus est ralenti et crée des conditions favorables aux dépôts calciques dans les tissus mous [94]. Dans cette circonstance, l'utilisation de la vitamine D ou de ses analogues pour freiner la PTH ou augmenter la calcémie, ou bien l'utilisation de sels calciques comme chélateurs du phosphore, peuvent entraîner une hypercalcémie, une suppression ultérieure de la PTH et augmenter ainsi le risque de calcifications extra-osseuses.

Facteurs supplémentaires

Il existe plusieurs autres facteurs qui peuvent contribuer aux calcifications des tissus mous. L'âge est depuis longtemps connu comme un facteur de risque important [1, 2, 42, 95, 102]. Les raisons en sont incertaines. Des facteurs systémiques tels une PTH sérique élevée [99] et des facteurs locaux favorisant la survenue de processus dégénératifs par une oxydation ou une glycation termina-

les des protéines du collagène et de la matrice des tissus mous [103, 104] peuvent être impliqués. Les calcifications vasculaires dans le cadre de la grande prévalence d'*athérosclérose* associé à l'âge, peuvent également y contribuer. La *durée du traitement dialytique* est un autre facteur important. Tatler et al. [2] ont trouvé une augmentation de la prévalence des calcifications ectopiques chez les patients traités par dialyse au long cours. Cette observation fait incriminer l'exposition prolongée à un ensemble de facteurs de risque et incite à leur meilleur contrôle. La *dialyse* elle-même peut représenter un certain risque. Ainsi, la survenue d'une *alcalose métabolique* à chaque séance d'hémodialyse peut théoriquement favoriser la précipitation de sels calciques, en diminuant la solubilité du calcium dans l'espace extracellulaire [1]. Dans un travail récent, il n'a cependant pas été observé d'augmentation du risque calculé de calcification après l'augmentation du bicarbonate plasmatique par diverses méthodes [105]. L'utilisation du *carbonate de calcium* comme chélateur du phosphore, associé à trois séances de dialyse standard, qui sont insuffisantes pour éliminer complètement le phosphore alimentaire absorbé, contribue aux calcifications [106]. De plus, l'utilisation d'un dialysat à l'acétate, comparée au dialysat au bicarbonate, peut stimuler davantage les taux de TGF β -1 et des protéines de la matrice [107], qui sont connus pour induire une transformation des ostéoblastes et promouvoir des calcifications des tissus mous. Par ailleurs, l'*acidose métabolique chronique* est associée à une perte du calcium osseux et à une altération de la maturation du collagène de l'os, limitant sa minéralisation et produisant ainsi une ostéopénie, tout en contribuant au pool de calcium disponible pour les calcifications ectopiques [108]. La dialyse péritonéale était pendant longtemps associée à une suppression importante de la PTH, peut-être par le biais d'une combinaison de concentrations supraphysiologiques de calcium dans le dialysat et de la supplémentation orale de calcium [100]. L'*hypertension artérielle*, présente chez la majorité des malades urémiques, favorise les dépôts phosphocalciques dans les artères coronaires chez des sujets hypertendus asymptomatiques [109]. Les forces de cisaillement générées par l'hypertension artérielle sont capables d'induire la synthèse de TGF β -1 par l'endothélium vasculaire, ce qui favorise l'élaboration excessive de matrice vasculaire extracellulaire et la survenue de calcifications [110]. Un rôle pour la *vitamine K* a été proposé par Robert et al. [111] qui ont observé une augmentation de la concentration de vitamine K plasmatique chez les dialysés atteints de calcifications ectopiques. L'hypothèse a été alors formulée qu'un excès de vitamine K pourrait favoriser l'apparition de calcifications extra-osseuses, par l'intermédiaire d'une synthèse accrue de gla-protéines dont la synthèse dépend de la vitamine K, comme l'ostéocalcine ou l'athérocaldine. Cependant, l'inhibition de la synthèse des protéines dépendant de la vitamine K au cours de l'exposition prénatale à la warfarine entraîne la survenue de calcifications ectopiques, au lieu de les prévenir [112]. En outre, des souris ayant un déficit en ostéocalcine présentent une formation osseuse accrue [113] et non pas diminuée. Ainsi donc, le rôle de l'augmentation de la vitamine K plasmatique dans la formation osseuse hétérotopique au cours de l'insuffisance rénale reste à déterminer. Le *diabète sucré* est connu comme facteur de risque pour les calcifications valvulaires. Une étude récente a montré que l'hyperglycémie réduit la liaison de la vitamine D à son récepteur, ce qui pourrait interférer avec la synthèse d'ostéocalcine et, de ce fait, augmenter le risque de calcifications des tissus mous [114]. À ce propos, il est intéressant de noter que la concentration d'ostéocalcine plasmatique est plus

basse chez le malade diabétique non insulino-dépendant que chez le sujet bien portant [115].

Le cas particulier de l'artériopathie urémique calcifiée

La pathogénie de cette complication grave n'est pas complètement élucidée. Elle repose sur les observations de calciphylaxie rapportées dans le travail original de Selye [116]. Cet auteur a décrit les conditions d'hypersensibilité induite dans les tissus sensibles en réponse à des agents favorisant les précipitations locales, parfois transitoires, de calcifications suivies d'inflammation et de sclérose. Parmi les agents sensibilisants, on trouve la vitamine D et la PTH. Parmi les agents favorisants, il y a le blanc d'oeuf et les sels métalliques, dont le fer dextran. Ces observations nous font émettre l'hypothèse que, devant la toile de fond de l'hyperparathyroïdie fréquemment présent, l'usage croissant de sels calciques comme chélateurs de phosphate, la prescription fréquente de fer, sous forme de fer dextran ou autre pour traiter l'anémie, et l'administration de vitamine D ou de ses analogues sont susceptibles de contribuer à la survenue croissante de l'artériopathie urémique calcifiée. Cependant, il n'y a pas de consensus quant à l'importance relative des perturbations du métabolisme phosphocalcique et du métabolisme du fer ainsi que de leurs traitements et aux conséquences pratiques éventuelles pour obtenir la réversibilité de ce type d'artériopathie grave [57, 58, 62, 117-119].

Récemment, Bleyer et al. [118] ont trouvé une prévalence élevée d'obésité et de diabète chez les malades dialysés qui développent ce syndrome. Cependant, lorsque le poids corporel était pris en compte dans l'évaluation du risque, le diabète était éliminé comme facteur de risque. Coates et al. [58] ont cependant rapporté une observation contraire, c'est à dire que l'amaigrissement constituait un facteur de risque.

La similitude des lésions d'artériopathie urémique calcifiée avec la nécrose cutanée induite par la warfarine [120], la survenue de ce syndrome chez les patients sous warfarine [58] et l'apparition de lésions cutanées sous un traitement par héparine de bas poids moléculaire [58, 121] suggèrent l'intervention d'une altération du système de coagulation, en particulier la voie des protéines C et S. Les observations d'artériopathie urémique calcifiée chez des patients ayant un déficit en protéine S [122, 123] et C [123, 124] renforcent cette idée. Les protéines S et C sont des facteurs anticoagulants activés par les cellules endothéliales qui dépendent de la vitamine K. Quand elle est activée, la protéine C empêche l'action thrombotique des facteurs V et VIII, entraînant une diminution de la formation de thrombine. La protéine S agit comme cofacteur [125]. Des études chez des patients traités par hémodialyse ou dialyse péritonéale, ont montré des concentrations et une activité de protéine C normales ou élevées [126, 127]. Chez cinq patients atteints d'artériopathie urémique calcifiée, Mehta et al. [124] ont observé une réduction de l'activité de la protéine C, par comparaison à des sujets témoins appropriés. Dans une étude portant sur 20 malades hémodialysés et 20 malades traités par dialyse péritonéale, Lai et al. [126] ont constaté qu'en dépit d'une concentration élevée de protéine S par rapport aux sujets témoins, l'activité de la protéine S était réduite dans les deux groupes. De même, Perez-Mijares et al. [127] ont observé chez des malades dialysés atteints d'hyperparathyroïdie sévère et porteurs de calcifications vasculaires, un abaissement significatif de la concentration de protéine S libre, par rapport à des malades ayant une hyperparathyroïdie modérée et indemnes de calcifications.

D'autres auteurs affirment que des troubles de la coagulation rares, comme la cryofibrinogénémie, peuvent donner des lésions similaires à celles de l'artériopathie urémique calcifiante et que l'on doit en tenir compte dans le diagnostic différentiel [128].

NOUVEAUX MÉCANISMES IMPLIQUÉS DANS LES CALCIFICATIONS DES TISSUS MOUS

Dans le passé, les précipitations phosphocalciques dans les tissus mous, sous forme de dépôts amorphes ou cristallins, étaient en général considérées comme un phénomène passif lié à l'augmentation des concentrations locales de calcium, de phosphate ou des deux. En accord avec cette opinion largement répandue, la PTH et la vitamine D favoriseraient le processus de calcification essentiellement par le biais d'une élévation du produit $Ca \times P$. Certains auteurs défendent cependant depuis plusieurs années l'idée qu'au contraire, l'accumulation locale de composés à haute affinité calcique, comme des protéines vitamine K-dépendantes, ou l'altération de leur affinité pour le calcium pourraient également jouer un rôle important [111].

Récemment, plusieurs travaux ont apporté des preuves irréfutables en faveur de l'intervention « active » de certains produits de gènes et de mécanismes cellulaires dans les processus de calcification extra-osseuse [129-131]. L'association paradoxale au cours de l'ostéoporose d'une perte de minéral osseux et de calcifications vasculaires, ayant la même composition que l'hydroxyapatite osseux, suggère qu'il ne s'agit pas d'un processus de simple excès ou de déficit systémique de calcium [129].

Protéines potentiellement impliquées dans les processus de calcification extra-osseuse

Plusieurs protéines ayant une haute affinité pour le calcium, ont été isolées et caractérisées au cours de la dernière décennie, à la fois durant le décryptage progressif des processus de calcification osseuse et de celui de la formation des lithiasés rénales, biliaires et pancréatiques. L'expression de ces protéines, en même temps que d'autres protéines impliquées dans le processus de minéralisation physiologique de la matrice extracellulaire de l'os (ostéoïde), est également observée dans différents tissus mous, en particulier dans la paroi vasculaire. Elle comprend le collagène de type I [132] et plusieurs protéines de la matrice non collagénique comme l'ostéocalcine [133], l'ostéopontine [131, 134] et la BMP-2a [135], qui sont normalement impliquées dans la formation de la matrice extracellulaire et dans le dépôt osseux d'hydroxyapatite. En outre, la protéine gla de la matrice (MGP), qui est exprimée dans les chondrocytes mais pas dans les ostéoblastes, a également été retrouvée dans les cellules de muscle lisse vasculaire [136], dans les plaques calcifiées [137] et dans des modèles de calcification vasculaire en culture tissulaire [138-140]. La présence de vésicules de la matrice a été également retrouvée dans la matrice des vaisseaux sanguins. Elles ressemblent aux vésicules de la matrice extracellulaire de l'os, qui sécrètent des enzymes capables de modifier les facteurs inhibiteurs présents dans l'ostéoïde et pourvoient à la protection de l'environnement dans lequel les ions minéraux peuvent s'accumuler et former des cristaux d'apatite [141].

L'ostéocalcine et la MGP appartiennent à une famille de protéines à haute affinité calcique, appelées les protéines gla. Cette famille inclut les facteurs de coagulation

TABLEAU II. — PROTÉINES POTENTIELLEMENT IMPLIQUÉES DANS LES CALCIFICATIONS DES TISSUS MOUS

PROTÉINES VITAMINE K-DÉPENDANTES	PROTÉINES VITAMINE K-INDÉPENDANTES
Ostéocalcine	Collagène de type I
Protéine gla de la matrice (MGP)	Ostéopontine BMP (<i>bone morphogenetic protein</i>) 2a Ostéoprotégérine

VII et IX ainsi que les protéines C et S qui sont des facteurs antithrombotiques. Pour devenir actifs, certains résidus glutamate de ces protéines subissent une carboxylation en position γ , aboutissant à la formation d'acide γ -carboxyglutamique (gla). Ce processus est vitamine K-dépendant. Les résidus gla sont responsables des propriétés de fixation du calcium par ces protéines [136, 142]. L'ostéopontine appartient à la famille des glycoprotéines phosphorylées contenant des séquences d'acide polyaspartique et d'acide polyglutamique qui sont fréquemment retrouvées dans les protéines à haute affinité minérale. Selon sa concentration, elle peut inhiber ou stimuler la formation de cristaux [143]. Elle est également retrouvée dans le tissu vasculaire normal et peut inhiber les processus de calcification, peut-être par fixation directe à la surface des cristaux [79]. L'ostéoprotégérine, qui appartient à la superfamille des récepteurs TNF, est considérée comme un inhibiteur de l'ostéoclastogénèse. Il est intéressant de noter qu'elle n'est pas seulement exprimée dans le tissu osseux mais encore dans le cartilage et les vaisseaux [144].

Le tableau II résume une variété de protéines, supposées contribuer au processus de minéralisation de la matrice osseuse, et qui ont également été trouvées exprimées dans des tissus mous, comme la paroi artérielle.

Les arguments les plus convaincants en faveur de l'intervention du collagène de type I et de plusieurs protéines de la matrice non collagénique dans les processus de calcification des tissus mous proviennent d'expériences récentes d'invalidation génique.

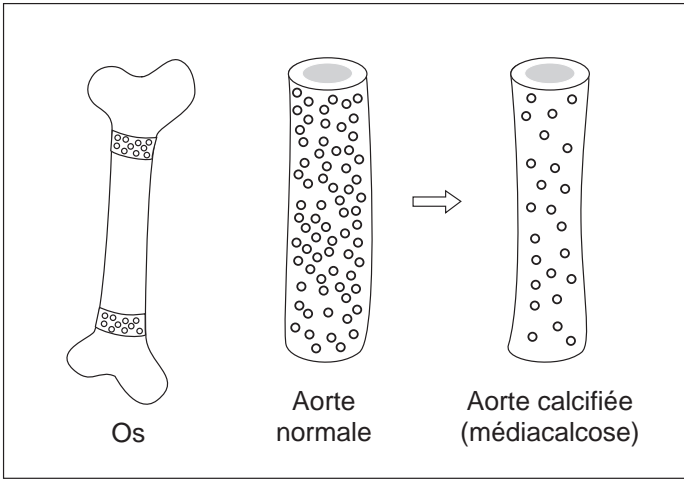
Ainsi Luo et al. ont montré que la délétion du gène de la MGP chez la souris s'accompagne de la survenue de vésicules dans la matrice extracellulaire et d'une calcification rapide, par des dépôts d'apatite dans la lamina élastique et la média des artères élastiques et musculaires, dont les artères coronaires, mais pas dans les artérioles [136]. Il est intéressant de noter que ces lésions sont similaires à celles décrites dans l'insuffisance rénale. Ces découvertes incitent à penser que la MGP est normalement exprimée dans les tissus vasculaires pour s'y opposer à la survenue de dépôts calciques. En utilisant une approche similaire, Bucay et al. ont rapporté que la délétion du gène de l'ostéoprotégérine chez la souris conduit à la calcification de la média de l'aorte et des artères rénales, en même temps qu'au développement d'une ostéopénie [144], complications souvent observées dans l'urémie chronique.

À la suite de ces observations, Schinke et al. [131] ont proposé que les calcifications ectopiques peuvent être le résultat d'une expression réduite de certaines protéines de la matrice extracellulaire, comme la MGP et d'autres, qui normalement protègent la paroi artérielle et le cartilage contre la calcification.

La figure 4 présente de façon schématique l'action préventive potentielle de la MGP ou de protéines similaires, contre les dépôts anormaux de calcium dans les tissus mous.

De plus, la perte de l'inhibiteur de calcification qu'est l'ostéoprotégérine, qui est aussi un inhibiteur de l'ostéoclastogénèse, conduit à accentuer la perte de masse

Scénario 1



Scénario 2

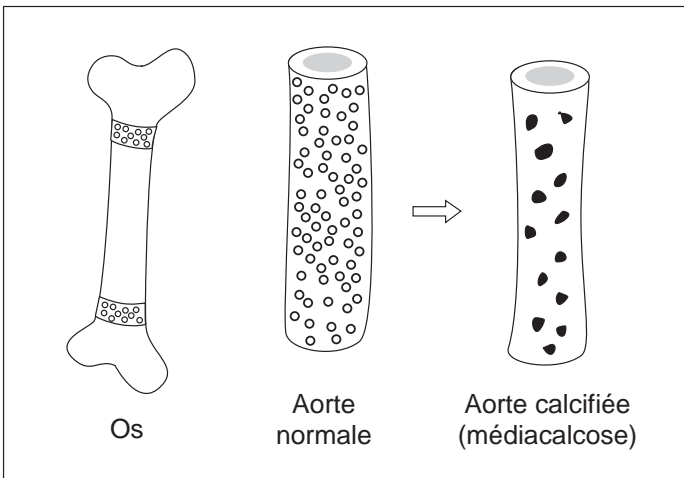


FIG. 4. — Représentation schématique de l'action protectrice hypothétique de certaines protéines à haute affinité calcique contre les calcifications des tissus mous (modifiée d'après Schinke et al. [131]). Dans le cartilage osseux, la forte concentration focale de protéines protectrices au niveau du plateau de croissance s'oppose de façon permanente à une calcification précoce, contrairement à la concentration basse dans le tissu ostéoïde qui se calcifie sans cesse. Dans les artères et l'aorte, la concentration relativement élevée de ces protéines protège à l'état normal contre les dépôts calciques, alors qu'une concentration basse des protéines protectrices laisse libre cours aux processus de calcification (« scénario 1 »). Une autre possibilité est que dans l'aorte et les artères calcifiées, on assiste à une modification qualitative et non pas quantitative des protéines protectrices, ayant pour conséquence une réduction de leur affinité pour le calcium (« scénario 2 »).

osseuse et à rendre plus de calcium disponible pour les dépôts calciques dans les tissus mous. Un tel mécanisme pourrait également être impliqué dans les calcifications vasculaires de l'insuffisance rénale chronique.

Il reste à voir si les calcifications diffuses observées dans les tissus vasculaires à la suite de ces expériences d'inactivation de gènes peuvent servir de paradigme aux processus de calcification se déroulant dans d'autres tissus mous que la paroi vasculaire.

Mécanismes cellulaires dans les calcifications extra-osseuses

D'après de récents travaux, le muscle lisse vasculaire (VSMC) n'est pas composé d'un seul type cellulaire mais d'un mélange de plusieurs types de cellules dérivées de différentes lignées [145, 146]. Parmi ces cellules, certaines sont des péricytes capables de se différencier en chondrocytes, adipocytes, fibroblastes, VSMC et ostéoblastes [147]. Celles qui peuvent devenir des cellules « osteoblast-like » et acquérir la capacité de calcifier, sont capables de sécréter de l'ostéopontine et d'autres marqueurs ostéoblastiques osseux [148]. Demer et al. [129, 135, 149] ont décrit et étudié un sous-type de VSMC ayant une morphologie de fibroblastes, qui exprime de nombreux marqueurs ostéoblastiques comme l'ostéopontine, la BMP de type 2 (BMP-2), l'ostéocalcine et la MGP, et qui est capable d'induire la formation de nodules calcifiés distincts à travers la production de matrice extracellulaire. La plupart des composés de la matrice sécrétés par les cellules vasculaires calcifiantes contiennent du collagène de type I et de la fibronectine [150]. La survenue des calcifications vasculaires faites de cristaux d'apatite dépend de la présence de phosphatase alcaline (ALP) intramembranaire [79, 151] et de la contribution de protéines de la matrice non collagénique. Une population de cellules aortiques bovines ayant seulement une faible capacité de minéralisation, développe un phénotype de cellules vasculaires calcifiantes quand elles sont cultivées en présence de collagène de type I ou de fibronectine purifié. Le traitement de telles cellules calcifiantes poussant sur de la fibronectine, avec des anticorps dirigés contre la sous-unité $\alpha 5$ de l'intégrine diminue l'activité ALP, suggérant que l'expression de l'ALP est médiée, au moins en partie, par l'interaction entre les hétérodimères de l'intégrine $\alpha 5\beta 1$ et la fibronectine [150].

De nombreux facteurs ont été proposés comme modulateurs potentiels de la fonction des cellules vasculaires calcifiantes. L'ensemble des facteurs actuellement connus ont été récemment résumés par Jacoby et Semenkovich [152]. L'exposition à court terme de ces cellules à l'AMP cyclique induit leur prolifération et le développement d'un aspect morphologique de type ostéoblastique. Après exposition prolongée à l'AMP cyclique, on observe une minéralisation diffuse, accompagnée de l'incorporation dans la matrice de cristaux d'apatite de calcium [139]. Le 25 (OH) cholestérol, le TGF β -1, le 17 β -œstradiol, et dans une moindre mesure la 1,25 (OH) $_2$ D $_3$ sont capables d'induire la transformation de ces cellules en cellules ostéoprogénitrices [138, 149]. L'effet observé in vitro du 17 β -œstradiol est cependant en contradiction apparente avec l'observation clinique que des calcifications coronariennes surviennent plus rarement chez les femmes traitées par les œstrogènes que chez celles qui ne sont pas traitées [153]. L'hyperglycémie peut induire l'expression de TGF β qui est présent dans les lésions athéromateuses et qui peut stimuler les cellules vasculaires calcifiantes [138]. Dans un modèle de souris déficientes en récepteurs de lipoprotéines de basse densité (LDL), il a été montré qu'un

régime riche en lipides conduit à l'expression d'ostéopontine dans différents types cellulaires et à une calcification aortique [154]. Les produits de la glycation terminale (AGE) des protéines, qui sont souvent présents dans des lésions d'athérome [155] ont la capacité à induire une différenciation en cellules vasculaires bovines calcifiantes *in vitro*, et ce par une augmentation de l'expression d'ALP et d'ostéopontine, et conduisent à la formation de nodules calcifiés [156]. De même, l'utilisation de LDL oxydées, de dérivés oxydés de l'acide arachidonique et de prostaglandine E2 a permis d'obtenir une transformation des VSMC vers le même phénotype [173]. Il est intéressant de noter que les produits de l'oxydation terminale des lipides suppriment la différenciation ostéoblastique et par conséquent, le processus de minéralisation osseuse. Cette observation donne peut être une explication au paradoxe apparent de l'association fréquente de l'ostéoporose avec la calcification artérielle [129]. Enfin, la dexaméthasone est également capable de promouvoir la différenciation des VSMC dans le phénotype ostéoprogéniteur [157], de la même façon qu'elle transforme les cellules stromales de la moelle osseuse en cellules « osteoblast-like » [158]. Elle permet aussi d'exprimer OsF2/Cbfa1, qui est un facteur clé de transcription dans la différenciation ostéoblastique. La dexaméthasone augmente l'expression du gène OsF2/Cbfa1 [157]. Ces dernières observations peuvent avoir des implications profondes pour les processus de calcification survenant chez les malades traités au long cours par de fortes doses de glucocorticoïdes, comme c'est le cas dans le syndrome néphrotique ou chez les receveurs de greffe rénale.

Il est encore incertain si on peut appliquer ce modèle cellulaire de calcification vasculaire à d'autres tissus, même si cela paraît raisonnable. Par exemple, une étude du mécanisme de calcification des valves cardiaques a été faite à partir de valves du cœur humain et de prothèses de xéno greffe par Srivatsa et al. [67]. Ces auteurs ont observé que les zones de calcification des valves de cœur natif étaient associées à une expression de protéines de la matrice non collagénique, l'ostéopontine et l'ostéocalcine. Ces protéines de la matrice non collagénique sont également retrouvées dans l'infarctus du myocarde, le poumon, le rein [67] et sont aussi présentes dans la peau [78, 159].

Implication possible des infections bactériennes dans les calcifications extra-osseuses

Récemment, un groupe finlandais a formulé l'hypothèse que les calcifications des tissus mous pouvaient aussi être provoquées par des infections bactériennes [160]. En utilisant la technique de microanalyse par diffraction aux rayons X et une analyse chimique, ces auteurs ont trouvé que des nanobactéries produisaient de l'apatite biogénique dans leur enveloppe cellulaire. La méthode de spectroscopie infrarouge avec transformation de Fourier a, ensuite, permis de révéler que le minéral était du carbonate d'apatite. Ces agrégations minérales ressemblent fortement à ceux rencontrés dans les calcifications des tissus mous. De façon très intéressante, l'examen en microscopie électronique de fibroblastes infectés par des nanobactéries a permis de détecter des dépôts de cristaux intra- et extracellulaires. Ceux-ci se sont avérés positifs à la coloration de von Kossa, ressemblant aux calcosphérules retrouvées dans les calcifications pathologiques. Récemment, les nanobactéries ont également été incriminées dans la pathogénie de la formation de certaines formes de lithiase urinaire [161]. Ces observations permettent d'envi-

sager la possibilité, en plus des nombreux mécanismes évoqués plus haut, que l'infection bactérienne (et pourquoi pas virale ?) peut également stimuler des processus impliqués dans la calcification des tissus mous. Il reste à voir si un tel mécanisme peut, par extension, aussi s'appliquer au cas du malade urémique.

CONCLUSION

Les calcifications extra-osseuses sont actuellement observées avec une fréquence croissante chez les malades urémiques. Divers facteurs bien identifiés contribuent à cette complication qui incluent l'augmentation progressive de la population des malades âgés, l'incidence croissante du diabète sucré et les perturbations du métabolisme phosphocalcique avec des anomalies du remodelage osseux. De plus, des facteurs locaux y contribuent également de façon importante. Ainsi, le syndrome rare d'artériopathie urémique calcifiée (calciphylaxie) s'explique probablement par des réactions locales d'hypersensibilité dont le mécanisme précis reste inconnu. Enfin, il est important de noter que des travaux récents ont permis de mettre en évidence le rôle majeur de l'accumulation ou la déplétion locale de protéines activement impliquées dans les processus de calcification, aussi bien en tant que promotrices qu'inhibitrices, et que la synthèse et la sécrétion de ces protéines proviennent de cellules ostéoprogénitrices calcifiantes, formées de novo dans la paroi vasculaire et probablement dans d'autres tissus mous.

BIBLIOGRAPHIE

1. PARFITT AM. Soft-tissue calcification in uremia. *Arch Intern Med*, 1969, **124**, 544-556.
2. TATLER GLV, BAILLAD RA, VARGHESE Z et al. Evolution of bone disease over 10 years in 135 patients with terminal renal failure. *Br Med J*, 1973, **4**, 315-319.
3. CONTIGUGLIA SR, ALFREY AC, MILLER NL et al. Nature of soft tissue calcification in uremia. *Kidney Int*, 1973, **4**, 229-235.
4. ALFREY AC, SOLOMONS CC, CIRICILLO J et al. Extraosseous calcification. Evidence for abnormal pyrophosphate metabolism in uremia. *J Clin Invest*, 1976, **57**, 692-699.
5. FAYEMI AO, ALI M, BRAUN EV. Oxalosis in hemodialysis patients: a pathologic study of 80 cases. *Arch Pathol Lab Med*, 1979, **103**, 58-62.
6. MASSRY SG, POPOVTZER MM, COBURN JW et al. Intractable pruritis as a manifestation of secondary hyperparathyroidism in uremia. *N Engl J Med*, 1968, **279**, 697-700.
7. ORLOFF JJ, KATS Y, UREÑA P et al. Further evidence for a novel receptor for amino-terminal parathyroid hormone-related protein on keratinocytes and squamous carcinoma cell lines. *Endocrinology*, 1995, **136**, 3016-3023.
8. PUN KK, HO PWM. Identification and characterization of parathyroid hormone receptors on dog kidney, human kidney, chick bone, and human dermal fibroblasts : a comparative study of functional and structural properties. *Biochem J*, 1989, **259**, 785-789.
9. MASSFELDER T, HELWIG JJ. Parathyroid hormone-related protein in cardiovascular development and blood pressure regulation. *Endocrinology*, 1999, **140**, 1507-1510.
10. UREÑA P, KUBRUSLY M, MANNSTADT M et al. The renal PTH/PTHrP receptor is down-regulated in rats with chronic renal failure. *Kidney Int*, 1994, **45**, 605-611.
11. SMOGORZEWSKI M, TIAN J, MASSRY SG. Down-regulation of PTH-PTHrP receptor of heart in CRF: role of $[Ca^{2+}]_i$. *Kidney Int*, 1995, **47**, 1182-1186.
12. UREÑA P, MANNSTADT M, HRUBY M et al. Parathyroidectomy does not prevent the renal PTH/PTHrP receptor down-regulation in uremic rats. *Kidney Int*, 1995, **47**, 1797-1805.

13. LEONG SO, TAN CC, LYE WC et al. Dermal mast cell density and pruritis in end-stage renal failure. *Ann Acad Med Singapore*, 1994, **23**, 327-329.
14. SIMPSON KM, DILEEPAN KN, STECHSCHULTE DJ. Potentiation of antigen-induced mast cell activity by 1-34 bovine parathyroid hormone. *Proc Soc Exp Biol Med*, 1991, **197**, 44-48.
15. NAKAMURA M, KURODA H, NARITA K et al. Parathyroid hormone induces a rapid increase in the number of active osteoclasts by releasing histamine from mast cells. *Life Sci*, 1996, **58**, 1861-1868.
16. BLAIR HC. Parathyroid hormone-regulated production of stem cell factor in human osteoblasts and osteoblast-like cells. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, **255**, 778-789.
17. LLACH F. Calcific uremic arteriopathy (calciophylaxis): an evolving entity? *Am J Kidney Dis*, 1998, **32**, 513-518.
18. MCCARTY DJ, KOHN NN, FAIRES JS. The significance of calcium phosphate crystals in the synovial fluid of arthritic patients : the « pseudogout syndrome ». I. Clinical aspects. *Ann Intern Med*, 1962, **56**, 711-737.
19. PINALS RS, SHORT C. Calcific peri-arthritis involving multiple sites. *Arthritis Rheum*, 1966, **9**, 566-574.
20. MCCARTY DJ, GATTER RA. Recurrent acute inflammation associated with focal apatite crystal deposition. *Arthritis Rheum*, 1966, **9**, 804-819.
21. SCHUMACHER HK, SMOLYO AP, TSE RL et al. Arthritis associated with apatite crystals. *Ann Intern Med*, 1977, **87**, 411-416.
22. ZINS B, PETITCLERC T, BASILE C et al. Tumoral calcifications in hemodialysis patients: role of aluminum intoxication. *Nephron*, 1992, **60**, 260-267.
23. MCGREGOR DH, MOWRY M, CHERIAN R et al. Nonfamilial tumoral calcinosis associated with chronic renal failure and secondary hyperparathyroidism : report of two cases with clinicopathological, immunohistochemical, and electron microscopy findings. *Hum Pathol*, 1995, **26**, 607-613.
24. CONGER JD. Metastatic calcification in chronic renal failure. *The Kidney*, 1980, **13**, 13-18.
25. DAVIDSON RC, PENDRAS JP. Calcium related cardiorespiratory death in chronic hemodialysis. *Trans Am Soc Artif Intern Organs*, 1967, **13**, 36-40.
26. McLACHLAN MSF, WALLACE M, SENEVIRATNE C. Pulmonary calcification in renal failure : report of three cases. *Br J Radiol*, 1968, **41**, 99-106.
27. DRACHMAN R, BAILLET G, GAGNADOUX MF et al. Pulmonary calcification in children on dialysis. *Nephron*, 1986, **44**, 46-50.
28. DEFRANCISCO AM, ELLIS HA, OWEN JP et al. Parathyroidectomy in chronic renal failure. *Q J Med*, 1985, **55**, 289-315.
29. DRÜEKE TB. A clinical approach to the uraemic patient with extraskeletal calcifications. *Nephrol Dial Transplant*, 1996, **11** (Suppl. 3), 37-42.
30. TERMAN DS, ALFREY AC, HAMMOND WS et al. Cardiac calcification in uremia : a clinical, biochemical and pathological study. *Am J Med*, 1971, **50**, 744-755.
31. EJRBLAD S. Uraemic myocardial disease. *Acta Chir Scand*, 1979, **145**, 345-353.
32. ROSTAND SG, SANDERS C, KIRK KA et al. Myocardial calcification and cardiac dysfunction in chronic renal failure. *Am J Med*, 1988, **85**, 651-657.
33. STEFANELLI T, MAYR H, BERGLER-KLEIN J et al. Primary hyperparathyroidism : incidence of cardiac abnormalities and partial reversibility after successful parathyroidectomy. *Am J Med*, 1993, **95**, 197-202.
34. ALEXOPOULOS D, TOULGARIDIS T, SITAFIDIS G et al. Coronary artery calcium detected by digital fluoroscopy and risk factors in healthy subjects. *Am J Cardiol*, 1996, **78**, 474-476.
35. BRAUN J, OLDENDORF M, MOSHAGE W et al. Electron beam computed tomography in the evaluation of cardiac calcifications in chronic dialysis patients. *Am J Kidney Dis*, 1996, **27**, 394-401.
36. ACHENBACH S, MOSHAGE W, ROPERS D et al. Value of electron-beam computed tomography for the non-invasive detection of high-grade coronary-artery stenoses and occlusions. *N Engl J Med*, 1998, **339**, 1964-1971.

37. CALLISTER TQ, RAGGI P, COOIL B et al. Effect of HMG-CoA reductase inhibitors on coronary artery disease as assessed by electron-beam computed tomography. *N Engl J Med*, 1998, **339**, 1972-1978.
38. SMOGORZEWSKI M. PTH, chronic renal failure and myocardium. *Miner Electrolyte Metab*, 1995, **21**, 55-62.
39. QING DPY, DING H, VADGAMA J et al. Elevated myocardial cytosolic calcium impairs insulin-like growth factor-1-stimulated protein synthesis in chronic renal failure. *J Am Soc Nephrol*, 1999, **10**, 84-92.
40. HENDERSON RR, SANTIAGO LM, SPRING DA et al. Metastatic myocardial calcification in chronic renal failure presenting as atrioventricular block. *N Engl J Med*, 1971, **284**, 1252-1253.
41. BENJAMIN EJ, PLEHN JF, D'AGOSTINO RB et al. Mitral annular calcification and the risk of stroke in an elderly cohort. *N Engl J Med*, 1992, **327**, 374-379.
42. MAZZAFERRO S, COEN G, BANDINI S et al. Role of ageing, chronic renal failure and dialysis in the calcification of mitral annulus. *Nephrol Dial Transplant*, 1993, **8**, 335-340.
43. FERNANDEZ-REYES MJ, BAJP MA, ROBLES P et al. Mitral annular calcification in CAPD patients with a low degree of hyperparathyroidism. An analysis of other possible risk factors. *Nephrol Dial Transplant*, 1995, **10**, 2090-2095.
44. BURNSIDE JW, DESANCTIS RW. Bacterial endocarditis on calcification of the mitral annulus fibrosus. *Ann Intern Med*, 1972, **76**, 614-618.
45. MCCARTHY J, PALMER F. Incidence and significance of coronary artery calcification. *Br Heart J*, 1974, **36**, 499-506.
46. DETRANO RC, WONG ND, FRENCH WJ et al. Prevalence of fluoroscopic coronary calcific deposits in high-risk asymptomatic persons. *Am Heart J*, 1994, **127**, 1526-1532.
47. LEHTO S, NISKANEN L, SUHONEN M et al. Medial artery calcification : a neglected harbinger of cardiovascular complications in non-insulin dependent diabetes. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1996, **16**, 978-983.
48. IBELS LS, ALFREY AC, HUFER WE et al. Arterial calcification and pathology in uremic patients undergoing dialysis. *Am J Med*, 1979, **66**, 790-796.
49. AMANN K, GROSS ML, LONDON GM et al. Hyperphosphataemia-a silent killer of patients with renal failure? *Nephrol Dial Transplant*, 1999, **14**, 2085-2087.
50. EJERBLAD S, ERIKSSON I, JOHANSSON H. Uræmic arterial disease : an experimental study with special reference to the effect of parathyroidectomy. *Scand J Urol Nephrol*, 1979, **13**, 161-169.
51. EJERBLAD S, ERICSSON JLE, ERIKSSON I. Arterial lesions of the radial artery in uræmic patients. *Acta Chir Scand*, 1979, **145**, 415-428.
52. LONDON GM, MARCHAIS SJ, SAFAR ME et al. Aortic and large artery compliance in end-stage renal failure. *Kidney Int*, 1990, **37**, 137-142.
53. BARENBRÖCK M, SPIEKER C, LASKE V et al. Studies of the vessel wall properties in hemodialysis patients. *Kidney Int*, 1994, **45**, 1397-1400.
54. MOURAD JJ, GIRERD X, BOUTOUYRIE P et al. Increased stiffness of radial artery wall material in end-stage renal disease. *Hypertension*, 1997, **30**, 1425-1430.
55. NIEDERHOFFER N, LARTAUD-IDJOUADIENE I, GIUMMELLY P et al. Calcification of medial elastic fibers and aortic elasticity. *Hypertension*, 1997, **29**, 999-1006.
56. ROSTAND SG, RUTSKY EA. Ischemic heart disease in chronic renal failure : demography, epidemiology, and pathogenesis. *In* : PS Parfrey, JD Harnett. *Cardiac dysfunction in chronic uremia*, Norwell, Kluwer Academic Publishers, 1992 : 53-66.
57. GIPSTEIN RM, COBURN JW, ADAMS DA et al. Calciphylaxis in man. *Arch Intern Med*, 1976, **136**, 1273-1280.
58. COATES T, KIRKLAND GS, DYMÖCK RB et al. Cutaneous necrosis from calcific uremic arteriopathy. *Am J Kidney Dis*, 1998, **32**, 384-391.
59. FINE A, FLEMING S, LESLIE W. Calciphylaxis presenting with calf pain and plaques in four continuous ambulatory dialysis patients and in one predialysis patient. *Am J Kidney Dis*, 1995, **25**, 498-492.
60. RICHARDSON JA, HERRON G, REITZ R et al. Ischemic ulcerations of skin and necrosis of muscle in azotemic hyperparathyroidism. *Ann Intern Med*, 1969, **71**, 129-138.

61. KALAAJI AN, DOUGLASS MC, CHAFFINS M et al. Calciphylaxis : a cause of necrotic ulcers in renal failure. *J Cutan Med Surg*, 1998, **2**, 242-244.
62. ANGELIS M, WONG LL, MYERS SA et al. Calciphylaxis in patients on hemodialysis : a prevalence study. *Surgery*, 1997, **122**, 1083-1090.
63. LEVIN A, MEHTA R, GOLDSTEIN MB. Mathematical formulation to help identify the patient at risk of ischemic tissue necrosis-a potentially lethal complication of chronic renal failure. *Am J Nephrol*, 1993, **13**, 448-453.
64. BARENBRÖCK M, HAUSBERG M, KOSCH R et al. Effect of hyperparathyroidism on arterial distensibility in renal transplant recipients. *Kidney Int*, 1998, **54**, 210-215.
65. RAINE AEG, BEDFORD L, SIMPSON AWM et al. Hyperparathyroidism, platelet intracellular free calcium and hypertension in chronic renal failure. *Kidney Int*, 1993, **43**, 700-705.
66. JONO S, NISHIZAWA Y, SHIOI A et al. 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.
67. SRIVATSA SS, HARRITY PJ, MAERCKLEIN PB et al. Increased cellular expression of matrix proteins that regulate mineralization is associated with calcification of native human and porcine xenograft bioprosthetic heart valves. *J Clin Invest*, 1997, **99**, 996-1009.
68. MITNICK PD, GOLDFARB S, SLATOPOLSKY E et al. Calcium and phosphate metabolism in tumoral calcinosis. *Ann Intern Med*, 1980, **92**, 482-487.
69. EISENBERG B, TZAMALOUKAS AH, HARTSHORME MF et al. Periarticular tumoral calcinosis and hypercalcemia in a hemodialysis patient without hyperparathyroidism: a case report. *J Nucl Med*, 1990, **31**, 1099-1103.
70. FERNANDEZ E, AMOEDO ML, BORRAS M et al. Tumoral calcinosis in haemodialysis patients without severe hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant*, 1993, **8**, 1270-1273.
71. KOWDLEY KV, COULL BM, ORWOLL ES. Cognitive impairment and intracranial calcification in chronic hypoparathyroidism. *Am J Med Sci*, 1999, **317**, 273-277.
72. NIEDERHOFFER N, LARTAUD-IDJOUADIENE I, GIUMMELLY P et al. Calcification of medial elastic fibers and aortic elasticity. *Hypertension*, 1997, **29**, 999-1006.
73. FLECKENSTEIN-GRUN G, THIMM F, FREY M et al. Progression and regression by verapamil of vitamin D3-induced calcific medial degeneration in coronary arteries of rats. *J Cardiovasc Pharmacol*, 1995, **26**, 207-213.
74. QUARLES LD, MURPHY G, ECONS MJ et al. Uremic tumoral calcinosis: preliminary observations suggesting an association with aberrant vitamin D homeostasis. *Am J Kidney Dis*, 1991, **18**, 706-710.
75. MILLINER DS, ZINSMEISTER AR, LIEBERMAN E et al. Soft tissue calcification in pediatric patients with end-stage renal disease. *Kidney Int*, 1990, **38**, 931-936.
76. URENA P, MALERGUE MC, GOLDFARB B et al. Evolutionary aortic stenosis in hemodialysis patients : analysis of risk factors. *Nephrologie*, 1999, **20**, 217-225.
77. JONO S, NISHIZAWA Y, SHIOI A et al. 1, 25-dihydroxyvitamin D3 increases in vitro vascular calcification by modulating secretion of endogenous parathyroid hormone-related peptide. *Circulation*, 1998, **98**, 1302-1306.
78. CHANG PL, RIDALL AL, PRINCE CW. Calcitriol regulation of osteopontin expression in mouse epidermal cells. *Endocrinology*, 1994, **135**, 863-869.
79. WADA T, MCKEE MD, STEITZ S et al. Calcification of vascular smooth muscle culture: inhibition by osteopontin. *Circ Res*, 1999, **84**, 166-178.
80. AKIZAWA T, KINUGASA E, AKIBA T et al. Incidence and clinical characteristics of hypoparathyroidism in dialysis patients. *Kidney Int*, 1997, **52 (Suppl. 62)**, S72-S74.
81. FOURNIER A, FARDELLONE P, ACHARD JM et al. Importance of vitamin D repletion in uraemia. *Nephrol Dial Transplant*, 1999, **14**, 819-823.
82. WATSON KE, ABROLAT ML, MALONE LL et al. Active serum vitamin D levels are inversely correlated with coronary calcification. *Circulation*, 1997, **96**, 1755-1760.
83. PANICHI V, DEPIETRO S, ANDREINI B et al. Calcitriol modulates in vivo and in vitro cytokine production : a role for intracellular calcium. *Kidney Int*, 1998, **54**, 1463-1469.

84. NANES MS, RUBIN J, TITUS L et al. Tumor necrosis factor- α inhibits 1, 25 dihydroxyvitamin D₃-stimulated bone Gla protein synthesis in rat osteosarcoma (ROS 17/2.8) by a pretranslational mechanism. *Endocrinology*, 1991, **128**, 2577-2582.
85. MONIER-FAUGERE MC, MALLUCHE HH. Role of cytokines in renal osteodystrophy. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 1997, **6**, 327-332.
86. YANAGISAWA J, YANAGI Y, MASHUHIRO Y et al. Convergence of transforming growth factor- β and vitamin D signalling pathways on SMAD transcriptional coactivators. *Science*, 1999, **283**, 1317-1321.
87. YANAGI Y, SUZAWA M, KAWABATA M et al. Positive and negative modulation of vitamin D receptor function by transforming growth factor- β signalling through SMAD proteins. *J Biol Chem*, 1999, **274**, 12971-12974.
88. KATZ AI, HAMPERS CL, MERRILL JP. Secondary hyperparathyroidism and renal osteodystrophy in chronic renal failure. *Medicine*, 1969, **48**, 337-374.
89. COFAN F, GARCIA S, COMBALIA A et al. Uremic tumoral calcinosis in patients receiving longterm hemodialysis therapy. *J Rheumatol*, 1999, **26**, 379-85.
90. HEBERT LA, LEMANN J, PETERSEN JR, LENNON EJ. Studies of the mechanism by which phosphate infusion lowers serum calcium concentration. *J Clin Invest*, 1966, **45**, 1886-1894.
91. McCLATCHIE S, BREMNER AD. Tumoral calcinosis : an unrecognized disease. *Br Med J*, 1969, **1**, 153-155.
92. FERNANDEZ E, MONTOLIU J. Successful treatment of massive uraemic tumoral calcinosis with daily haemodialysis and very low calcium dialysate. *Nephrol Dial Transplant*, 1993, **9**, 1207-1209.
93. ANDERSON JB, BARNETT E, NORDIN BEC. The relationship between osteoporosis and aortic calcification. *Br J Radiol*, 1964, **37**, 910-912.
94. KURZ P, MONIER-FAUGERE MC, BOGNAR B et al. Evidence for abnormal calcium homeostasis in patients with adynamic bone disease. *Kidney Int*, 1994, **46**, 855-861.
95. FULKERSON PK, BEAVER BM, AUSEON JC et al. Calcification of the mitral annulus : etiology, clinical associations, complications and therapy. *Am J Med*, 1979, **66**, 967-977.
96. RIBEIRO S, RAMOS A, BRANDAO A et al. Cardiac valve calcification in haemodialysis patients : role of calcium-phosphate product. *Nephrol Dial Transplant*, 1998, **13**, 2037-2040.
97. MARTINEZ ME, RODRIGUEZ M, FRUTOS M et al. Effect of aluminium on osteocalcin production in the rat. *Nephrol Dial Transplant*, 1991, **6**, 851-856.
98. ZHU JM, HUFFER W, ALFREY AC. Effect of aluminum on bone matrix inductive properties. *Kidney Int*, 1990, **38**, 1141-1145.
99. GEFFRIAUD C, ALLINE E, PAGE B et al. Decrease of tumor-like calcification in uremia despite aggravation of secondary hyperparathyroidism : a case report. *Clin Nephrol*, 1992, **38**, 158-161.
100. HERCZ G, PEI Y, GREENWOOD C et al. Aplastic osteodystrophy without aluminum : the role of « suppressed » parathyroid function. *Kidney Int*, 1993, **44**, 860-866.
101. FOURNIER A, YVERNEAU PH, HUE P et al. Adynamic bone disease in uremic patients. *Curr Opin Nephrol Hypertens*, 1994, **3**, 396-410.
102. RAINE AEG. Acquired aortic stenosis in dialysis patients. *Nephron*, 1994, **68**, 159-168.
103. MIYATA T, WADA Y, CAI Z et al. Implication of an increased oxidative stress in the formation of advanced glycation end products in patients with end-stage renal failure. *Kidney Int*, 1997, **51**, 1170-1181.
104. WITKO-SARSAT V, FRIEDLANDER M, NGUYEN-KHOA T et al. Advanced oxidation protein products (AOPP) as novel mediators of inflammation and monocyte activation in chronic renal failure. *J Immunol*, 1998, **161**, 2524-2532.
105. HARRIS D, YUILL E, CHESHER DW. Correcting acidosis in hemodialysis : effect on phosphate clearance and calcification risk. *J Am Soc Nephrol*, 1995, **6**, 1607-1612.
106. HSU CH. Are we mismanaging calcium and phosphate metabolism in renal failure? *Am J Kidney Dis*, 1997, **29**, 641-649.
107. ANDERSON J, BRIEFEL G, JONES JM et al. Effects of acetate dialysate on transforming growth factor β 1, interleukin, and β 2-microglobulin plasma levels. *Kidney Int*, 1991, **40**, 1110-1117.

108. GREEN J, KLEEMAN CR. Role of bone in regulation of systemic acid-base balance. *Kidney Int*, 1991, **39**, 9-26.
109. MEGNIEN JL, SIMON A, LEMARIEY M et al. Hypertension promotes coronary calcium deposit in asymptomatic men. *Hypertension*, 1996, **27**, 949-954.
110. OHNO M, COOKE JP, DZAU VJ et al. Fluids shear stress induces endothelial transforming growth factor beta-1 transcription and production. *J Clin Invest*, 1995, **95**, 1363-1369.
111. ROBERT D, JORGETTI V, LECLERCQ M et al. Does vitamin K excess induce ectopic calcifications in hemodialysis patients? *Clin Nephrol*, 1985, **24**, 300-304.
112. HOWE AM, LIPSON AH, DE SILVA M et al. Severe cervical dysplasia and nasal cartilage calcification following prenatal warfarin exposure. *Am J Med Genet*, 1997, **71**, 391-396.
113. DUCY P, DESBOIS C, BOYCE B et al. Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature*, 1996, **382**, 448-452.
114. PATEL SR, XU Y, KOENIG RJ, HSU CH. Effect of glucose on the function of the calcitriol receptor and vitamin D metabolism. *Kidney Int*, 1997, **52**, 79-86.
115. SEINO Y, ISHIDA H. Diabetic osteopenia : pathophysiology and clinical aspects. *Diabetes Metab Rev*, 1995, **11**, 21-35.
116. SELYE H. *Calciphylaxis*, Chicago, University of Chicago Press, 1962.
117. LIPSKER D, CHOSIDOW O, MARTINEZ T et al. Low-calcium dialysis in calciphylaxis. *Arch Dermatol*, 1997, **133**, 798-799.
118. BLEYER AJ, CHOI M, IGWEMEZIE B et al. A case control study of proximal calciphylaxis. *Am J Kidney Dis*, 1998, **32**, 376-383.
119. MAWAD HW, SAWAYA BP, SARIN R et al. Calcific uremic arteriopathy in association with low turnover uremic bone disease. *Clin Nephrol*, 1999, **52**, 160-166.
120. COMP PC, ELROD JP, KARSZENSKI S. Warfarin induced skin necrosis. *Semin Thromb Hemost*, 1990, **16**, 293-298.
121. PEREZ-MIJARES R, GUZMAN-ZAMUDIO JL, PAYAN-LOPEZ J et al. Calciphylaxis in a haemodialysis patient : functional protein S deficiency. *Nephrol Dial Transplant*, 1996, **11**, 1856-1859.
122. KANT KS, GLUECK HI, COOTS MC et al. Protein S deficiency and skin necrosis associated with continuous ambulatory peritoneal dialysis. *Am J Kidney Dis*, 1992, **19**, 264-271.
123. KATSAMAKIS G, LUKOVITS TG, GORELICK PB. Calcific cerebral embolism in systemic calciphylaxis. *Neurology*, 1998, **88**, 285-297.
124. MEHTA RL, SCOTT G, SLOAN JA et al. Skin necrosis associated with acquired protein C deficiency in patients with renal failure and calciphylaxis. *Am J Med*, 1990, **88**, 252-257.
125. AIACH M, BORGEL D, GAUSSEN P et al. Protein C and protein S deficiencies. *Semin Hematol*, 1997, **34**, 205-217.
126. LAI KN, YIN JA, YUEN PMP et al. Protein C, protein S and antithrombin III levels in patients on continuous ambulatory peritoneal dialysis and hemodialysis. *Nephron*, 1990, **56**, 271-276.
127. PEREZ-MIJARES R, PAYAN-LOPEZ J, GUZMAN-ZAMUDIO JL et al. Free protein S deficiency in hemodialysis patients due to vascular calcifications? *Nephron*, 1996, **74**, 356-360.
128. SANKARASUBBAIYAN S, SCOTT G, HOLLEY JL. Cryofibrinogenemia : an addition to the differential diagnosis of calciphylaxis in end-stage renal disease. *Am J Kidney Dis*, 1998, **32**, 494-498.
129. PARHAMI F, DEMER LL. Arterial calcification in face of osteoporosis in ageing : can we blame oxidized lipids ? *Curr Opin Lipidol*, 1997, **8**, 312-314.
130. SHANAHAN CM, PROUDFOOT D, FARZANEH-FAR A et al. The role of Gla proteins in vascular calcification. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 1998, **8**, 357-375.
131. SCHINKE T, MCKEE MD, KARSENTY G. Extracellular matrix calcification : where is the action? *Nature Genet*, 1999, **21**, 150-151.
132. KATSUDA S, OKADA Y, MINAMOTO T et al. Collagens in human atherosclerosis. *Arterioscler Thromb*, 1992, **12**, 494-502.
133. GINSBERG B, HAARLEM LJM, SOUTE BAM et al. Characterization of a gla-containing protein from calcified human atherosclerotic plaques. *Arteriosclerosis*, 1990, **10**, 991-995.

134. GIACHELLI CM, BAE N, ALMEIDA M et al. Osteopontin is elevated during neointima formation in rat arteries and is a novel component of human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*, 1993, **92**, 1686-1696.
135. BOSTROM K, WATSON KE, HORN S et al. Bone morphogenetic expression in human atherosclerosis. *J Clin Invest*, 1993, **91**, 1800-1809.
136. LUO G, DUCY P, MCKEE MD et al. Spontaneous calcification of arteries and cartilage in mice lacking matrix GLA protein. *Nature*, 1997, **386**, 78-81.
137. SHANAHAN CM, CARY NR, METCALFE JC et al. High expression of genes for calcification-regulating proteins in human atherosclerotic plaques. *J Clin Invest*, 1994, **93**, 2393-2402.
138. WATSON KE, BOSTRÖM K, RAVINDRANATH R et al. TGF- β 1 and 25-hydroxycholesterol stimulate osteoblast-like vascular cells to calcify. *J Clin Invest*, 1994, **93**, 2106-2113.
139. TINTUT Y, PARHAMI F, BOSTROM K et al. cAMP stimulates osteoblast-like differentiation of calcifying vascular cells. Potential signaling pathway for vascular calcification. *J Biol Chem*, 1998, **273**, 7547-7553.
140. PROUDFOOT D, SKEPPER JN, SHANAHAN CM et al. Calcification of human vascular cells in vitro is correlated with high levels of matrix gla protein and low levels of osteopontin expression. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, **18**, 379-388.
141. BOSKEY AL, BOYAN BD, SCHWARTZ Z. Matrix vesicles promote mineralization in a gelatin gel. *Calcif Tissue Int*, 1997, **60**, 309-315.
142. BOOTH SL. Skeletal functions of vitamin K-dependent proteins : not just for clotting anymore. *Nutr Rev*, 1997, **55**, 282-284.
143. FITZPATRICK LA, SEVERSON A, EDWARDS WD et al. Diffuse calcification in human coronary arteries : association of osteopontin with atherosclerosis. *J Clin Invest*, 1994, **94**, 1597-1604.
144. BUCAY N, SAROSI I, DUNSTAN CR et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev*, 1998, **12**, 1260-1268.
145. MAJESKY MW, SCHWARTZ SM. Smooth muscle diversity in arterial wound repair. *Toxicol Pathol*, 1990, **18**, 554-559.
146. MAJESKY MW, DONG XR, TOPOUZIS S. Smooth muscle diversity and extracellular matrix in a rat model of restenosis. *P R Health Sci J*, 1996, **15**, 187-191.
147. DOHERTY MJ, CANFIELD AE. Gene expression during vascular pericyte differentiation. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr*, 1999, **9**, 1-17.
148. GIACHELLI C, BAE N, LOMBARDI D et al. Molecular cloning and characterization of 2B7, a rat mRNA which distinguishes smooth muscle cell phenotypes in vitro and is identical to osteopontin (secreted phosphoprotein I,2aR). *Biochem Biophys Res Commun*, 1991, **177**, 867-873.
149. BALICA M, BOSTRÖM K, SHIN V et al. Calcifying subpopulation of bovine aortic smooth muscle cells is responsive to 17 beta-estradiol. *Circulation*, 1997, **95**, 1954-1960.
150. WATSON KE, PARHAMI F, SHIN V et al. Fibronectin and collagen I matrixes promote calcification of vascular cells in vitro, whereas collagen IV matrix is inhibitory. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1998, **18**, 1964-1971.
151. HUI M, LI SQ, HOLMYARD D et al. Stable transfection of nonosteogenic cell lines with tissue nonspecific alkaline phosphatase enhances mineral deposition in the presence and absence of beta-glycerophosphate : possible role for alkaline phosphatase in pathological mineralization. *Calcif Tissue Int*, 1997, **60**, 467-472.
152. JACOBY MG, SEMENKOVICH CF. The role of osteoprogenitors in vascular calcification. *Curr Opin Nephrol Hypertens* 2000, **9**, 11-15.
153. GRODSTEIN F, STAMPFER MJ, MANSON JE et al. Postmenopausal estrogen and progestin use and the risk of cardiovascular disease. *N Engl J Med*, 1996, **335**, 453-461.
154. TOWLER DA, BIDDER M, LATIFI T et al. Diet-induced diabetes activates an osteogenic gene regulatory program in the aortas of low density lipoprotein receptor-deficient mice. *J Biol Chem*, 1998, **273**, 30427-30434.
155. VLASSARA H. Advanced glycation end-products and atherosclerosis. *Ann Med*, 1996, **28**, 419-426.
156. YAMAGISHI S, FUJIMORI H, YONEKURA H et al. Advanced glycation endproducts accelerate calcification in microvascular pericytes. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, **258**, 353-357.

157. MORI K, SHIOI A, JONO S et al. Dexamethasone enhances in vitro vascular calcification by promoting osteoblastic differentiation of vascular smooth muscle cells. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*, 1999, **19**, 2112-2118.
158. DUCY P, ZHANG R, GEOFFROY V et al. *Osf2/Cbfa1*, a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell*, 1997, **89**, 747-754.
159. CONTRI MB, BORALDI F, TAPARELLI F et al. Matrix proteins with high affinity for calcium ions are associated with mineralization within the elastic fibers of pseudoxanthoma elasticum dermis. *Am J Pathol*, 1996, **148**, 569-577.
160. KAJANDER EO, CIFTCIOGLU N. Nanobacteria : an alternative mechanism for pathogenic intra- and extracellular calcification and stone formation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1998, **95**, 8274-8279.
161. CIFTCIOGLU N, BJORKLUND M, KUORIKOSKI K et al. Nanobacteria : an infectious cause for kidney stone formation. *Kidney Int*, 1999, **56**, 1893-1898.