

**ENVELLIMENT I CALCIFICACIÓ DE
TEIXITS BLANS: DES DE LA PATOLOGIA
CARDIOVASCULAR A L'ALZHEIMER**

Envelliment i calcificació de teixits blans: des de la patologia cardiovascular a l'alzheimer

Fèlix Grases Freixedas
Antònia Costa-Bauzà

Resum

La majoria de teixits del cos humà progressivament es van calcificant amb l'edat, encara que el grau de calcificació depèn en gran mesura de cada individu. Algunes d'aquestes calcificacions poden donar lloc a conseqüències funestes, com és el cas de les calcificacions cardiovasculars (poden generar ruptures vasculars i fallides cardíques) i les calcificacions a nivell del cervell com les associades a la malaltia d'Alzheimer.

En aquest article s'explica de forma senzilla tot allò que coneixem sobre aquests processos indesitjables, fonamentalment el que fa referència a la calcificació cardiovascular i a la malaltia d'Alzheimer. Es demostra que encara que cada una té les seves característiques particulars, hi ha una sèrie d'aspectes comuns a totes que ajuden molt a entendre per què es produeixen i, com a conseqüència, a dissenyar nous estudis per poder plantejar possibles solucions.

Resumen

La mayoría de tejidos del cuerpo humano se van calcificando progresivamente con la edad, aunque el grado de calcificación depende en gran medida de cada individuo. Algunas de estas calcificaciones pueden tener funestas consecuencias, como es el caso de las calcificaciones cardiovasculares (pueden generar roturas vasculares y fallos cardíacos) y las calcificaciones a nivel cerebral como las asociadas a la enfermedad del Alzheimer.

En este artículo se explica de forma sencilla los conocimientos actuales sobre estos procesos indeseables, fundamentalmente en lo que hace referencia a la calcificación cardiovascular y a la enfermedad del Alzheimer. Se demuestra que aunque cada uno de ellos tiene características particulares, hay una serie de aspectos comunes a todos que ayudan considerablemente a entender por qué se producen y como consecuencia a diseñar nuevos estudios y plantear posibles soluciones.

1. Introducció

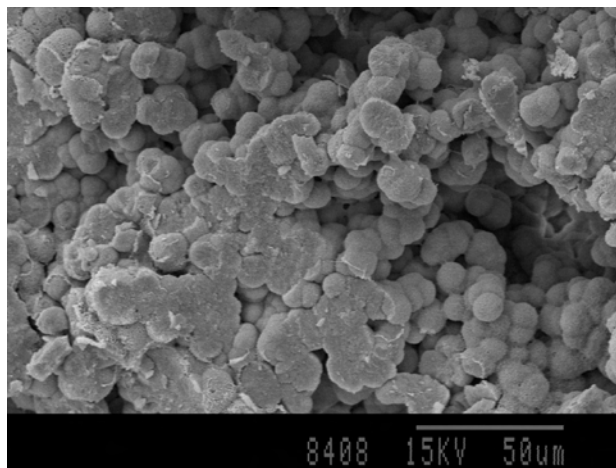
Actualment sabem que la majoria de teixits del cos humà progressivament es van calcificant amb l'edat, encara que el grau de calcificació depèn en gran mesura de cada individu. A aquest fet, a més de ser poc conegut, fins fa poc no s'hi donava gaire importància. Ara bé, en el present sabem que almenys hi ha dos teixits en què la calcificació progressiva pot donar lloc a conseqüències funestes. Es tracta de les calcificacions dels teixits cardiovasculars (artèries i vàlvules cardíques) i d'algunes parts del cervell com la glàndula pineal.

Els mecanismes i les causes pels quals tenen lloc aquests processos de calcificació encara són poc coneguts, i és evident que mentre no es coneguin perfectament i amb detall, no es podran donar solucions efectives per evitar-los. Un aspecte comú a tots aquests processos és que el sòlid que es forma en tots els casos és el mateix, i aquest correspon a un fosfat càlcic insoluble que es coneix com a hidroxiapatita. Curiosament, és el mateix component mineral que forma part de l'os. També sabem que amb el pas del temps la massa òssia es debilita, i així sembla que el que es perd per un cantó (massa òssia) es col·loca en un altre (calcificació indesitjable de teixits blans).

L'objectiu d'aquest article és explicar de forma senzilla tot allò que coneixem sobre aquests processos indesitjables i demostrar que encara que cada un té les seves característiques particulars, hi ha una sèrie d'aspectes comuns a tots que ajuden molt a entendre per què es produeixen i com a conseqüència a emprendre nous estudis i plantejar possibles solucions.

2. Per què hi ha calcificació en augmentar l'edat

Per entendre tots aquests processos s'ha de considerar que el plasma humà (i de tots els mamífers) està sempre sobresaturat d'hidroxiapatita (en conté més quantitat de la que permet la seva solubilitat), el fosfat càlcic que constitueix la majoria de calcificacions tissulars patològiques, així com l'esquelet ossi. Hem de tenir en compte que si no fos així, els ossos no es podrien formar. Considerant aquest fet, també resulta sorprenent que les calcificacions tissulars no siguin més freqüents. Aquí hem de dir que, com veurem,



són molt més freqüents del que creïem, encara que en molts de casos no ens n'adonem, malgrat les funestes conseqüències que comporten. Així doncs, com és que no ens calcifiquem de cap a peus, si el plasma està permanentment sobresaturat de fosfat càlcic? La resposta a aquesta qüestió l'hem de cercar, per una part, en la naturalesa dels processos de cristal·lització, i per l'altra, en la mateixa naturalesa de la vida.

Figura 1. Imatge obtinguda per microscòpia electrònica d'escombratge (SEM) de la hidroxiapatita (fosfat càlcic), que forma part tant de les calcificacions patològiques com de l'estructura de l'os.

Així, s'ha de pensar que la formació de cristalls a partir d'un líquid no és gens fàcil. Suposa passar d'un sistema desordenat com és l'estat líquid, a un sistema totalment ordenat com és l'estat sòlid. En dissolucions pures aquest procés és molt difícil sota un punt de vista del seu mecanisme, i només quan la sobresaturació és molt elevada es forma el sòlid en temps més o menys curts. Per tant, les dissolucions no gaire sobresaturades, encara que siguin estats metaestables, poden aguantar hores, dies i fins i tot anys sense cristal·litzar. Ara bé, quan en aquests casos les dissolucions no són pures, la presència d'alguns sòlids ja constituïts pot accelerar notablement el procés de cristal·lització. Aquests sòlids es coneixen com a nucleants heterogenis i, per tant, actuen com a inductors de la cristal·lització.

El plasma, així com el líquid intersticial d'un teixit sa, és un medi on no hi ha nucleants heterogenis eficaços. Com que la mateixa naturalesa de la vida implica canvi i renovació constants, els temps de permanència dels líquids esmentats dins el teixit no són prou llargs per donar lloc a processos de cristal·lització importants. Ara bé, amb el pas del temps, en envellir, els organismes vius van acumulant errors de funcionament que són conseqüència de la mateixa naturalesa complexa de la vida. El resultat d'aquestes fallades és la producció de material de desfeta que pot actuar com a nucleant heterogeni i, per tant, afavorir els processos de calcificació indesitjables. Encara que l'organisme disposa de mecanismes del sistema immunitari per eliminar les calcificacions patològiques (1, 2), quan el nombre i la mida d'aquestes són massa grans, ja no dona l'abast i és quan apareix el problema de forma irreversible. És evident que la presència d'agents oxidants i citotòxics que poden provenir de la pol·lució ambiental (plom, pesticides...), de substàncies químiques presents als aliments (mercuri en els peixos, pesticides, additius alimentaris...) o al tabac (nicotina, quitrà...) augmenta la probabilitat del dany cel·lular que també generarà nucleants heterogenis que afavoriran la calcificació. Precisament, per ajudar a prevenir aquests processos de manera extensiva, la mateixa naturalesa també disposa de la presència de substàncies anomenades inhibidors de la cristal·lització, que dificulten o impedeixen processos de cristal·lització patològica.

A la sang, des de l'època de Fleisch ja se sabia que el pirofosfat era un inhibidor potent de la cristal·lització de la hidroxiapatita (3, 4), i fa poc nosaltres hem demostrat que el fitat és un altre inhibidor molt potent a nivell tissular del desenvolupament de calcificacions patològiques (5, 6, 7). Aquí, val la pena considerar que el pirofosfat plasmàtic és conseqüència del mateix metabolisme i no es pot controlar de forma exògena, mentre que el fitat, encara que es troba dins les cèl·lules, on sembla que es pot sintetitzar, no s'exporta a l'exterior, de manera que la major part del fitat circulat és d'origen extern i es aportat per la dieta (8, 9, 10).

El fitat es troba en concentracions importants i en forma de sal calcicomagnèsica a les closques i el germen de les llavors vegetals (11, 12), i les úniques llavors senceres que l'humà consumeix (o consumia) de manera important són els llegums, els fruits secs i qualsevol

producte fet amb cereals no refinats. Per tant, la famosa dieta mediterrània suposa un consum aproximat d'1 g de fitat al dia. Uns consums així donen lloc a concentracions plasmàtiques i urinàries màximes, mentre que quan no es produeixen, en un termini de 15-20 dies es pot arribar a nivells tan baixos que siguin no detectables (13).

Per tant, la probabilitat que augmenti el nombre de lesions amb l'edat, així com la disminució de la capacitat del sistema immunitari que es produeix, incrementarà notablement el desenvolupament de calcificacions de teixits tous, de manera que antioxidants i inhibidors de la cristallització actuaran com a protectors enfront d'aquests processos patològics indesitjables.

3. Calcificació cardiovascular

Les calcificacions cardiovasculars són un tipus de calcificació patològica que condueix a la degeneració del sistema cardiovascular en general. És una complicació molt important que s'oblida sovint, malgrat que es pugui donar tant als vasos sanguinis com dins els mateix cor (fonamentalment a les vàlvules). L'aparició de les calcificacions cardiovasculars pot començar a la segona dècada de la vida. Les calcificacions coronàries afecten el 50% de les persones entre 40-49 anys, i el 80% entre 60-69 anys (14, 15). Així, el famós *home de gel*, trobat momificat a una glacera dels Alps del Tirol l'any 1991 i que va ser datat en 5.300 anys d'antiguitat, presentava calcificacions vasculars molt importants, malgrat que s'ha calculat que quan va morir tenia entre 30 i 40 anys.

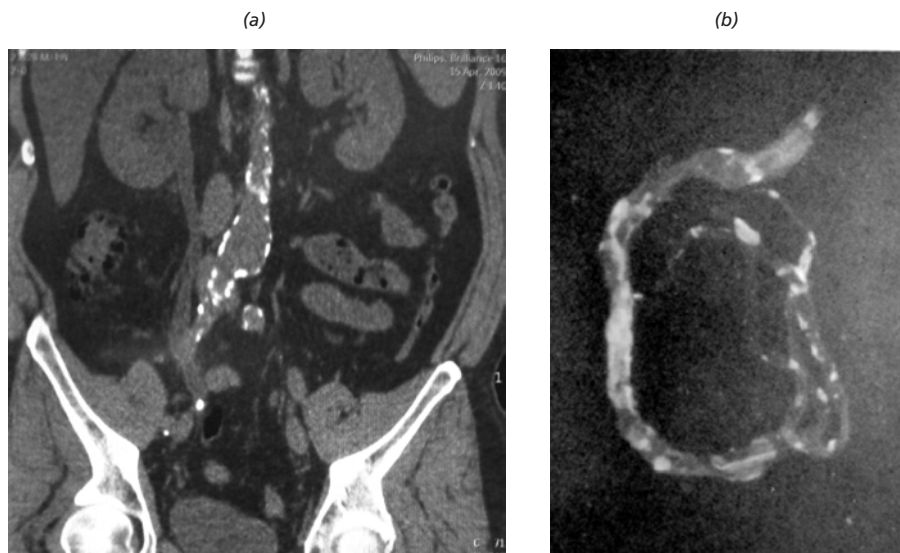


Figura 2. (a) Imatge obtinguda per tomografia axial computada (TAC) de l'abdomen d'un pacient amb importants calcificacions cardiovasculars (s'aprecien a la part central de la imatge). (b) Imatge d'una artèria calcificada de rata.

Les calcificacions cardiovasculars presenten la mateixa estructura i morfologia que qualsevol calcificació de teixit tou, és a dir, corresponen a dipòsits patològics de fosfats càlcics, fonamentalment hidroxiapatita. En les lesions ateromatoses, la calcificació es localitza a la túnica íntima (zona propera a l'epiteli que recobreix la paret interior de les artèries) en forma de punts dispersos durant les primeres etapes de la malaltia i, a mesura que el procés progressa, es produeixen agregacions cristal·lines esferulítics de mida més gran, que estan associades a les regions necròtiques dels ateromes. La segona localització histològica de la calcificació cardiovascular és la túnica mitjana (zona interna de la paret arterial que es troba sota la túnica íntima) i es coneix com a esclerosi de Mönckeberg. Aquesta calcificació es produeix independentment de la calcificació de l'íntima i està associada amb la matriu extracel·lular, rica en elastina i col·lagen. La morfologia típica d'aquesta calcificació durant les primeres etapes de la malaltia és de dipòsits lineals al llarg de la làmina elàstica, i en les lesions avançades, la túnica mitjana es troba plena d'anells circulars de mineral. En alguns casos, a les darreres etapes de la malaltia s'ha observat la presència de matriu òssia amb medul·la òssia. La calcificació de la mitjana s'observa preferentment en gent gran, diabètics i urèmics i és la causa, almenys parcialment, de l'elevada mortalitat per problemes cardiovasculars en malalts amb malalties renals cròniques (16). La calcificació de teixits cardíacs afecta principalment les vàlvules. La vàlvula afectada més sovint és l'aòrtica, de manera que el desenvolupament de dipòsits d'hidroxiapatita condueix a fer que s'endureixi, cosa que pot donar lloc a esqueixos responsables de la seva fallida (17). En general, les implicacions clíniques de les calcificacions cardiovasculars inclouen un risc més alt d'infart de miocardi i un increment d'episodis isquèemics en lesions vasculars perifèriques.

És clar que la calcificació cardiovascular és un problema de salut molt seriós que afecta moltíssima gent, però, què en sabem, del mecanisme patològic que la genera?

Fent un resum de tots els resultats coneguts fins ara, cal destacar, en primer lloc, el fet que estructuralment la morfologia d'aquestes calcificacions era la mateixa que l'observada per a qualsevol altra calcificació de teixit tou, és a dir, hidroxiapatita en forma esferulítica o aspidínica, segons la seva extensió, juntament amb matèria orgànica. Els estudis amb animals d'experimentació també han demostrat clarament que l'existència d'una lesió prèvia és la condició fonamental perquè es pugui iniciar un procés de calcificació. Així, en un dels estudis es demostraven els efectes indesitjables de la nicotina (18). També vàrem comprovar l'important paper protector dels inhibidors de la cristal·lització. Aquí val la pena assenyalar novament que Fleisch, allà els anys seixanta, també va demostrar la importància del pirofosfat com a inhibidor de la calcificació cardiovascular (19). Precisament, en comprovar que no es podia administrar oralment, ja que com hem comentat s'hidrolitza en el tracte gastrointestinal, va plantejar sintetitzar al laboratori composts anàlegs que no s'hidrolitzessin, i així varen néixer els bisfosfonats (20). Probablement, els bisfosfonats són coneguts per molts dels lectors, però no els situen

aquí, sinó que els coneixen per la seva eficàcia en el tractament de l'osteoporosi. Així, en els estudis que es van plantejar per avaluar el seu efecte inhibidor de la cristal·lització patològica es va comprovar que, a la vegada, manifestaven un paper protector molt important de la dissolució del sistema ossi (20). Ara bé, a causa de la toxicitat i els preus elevats d'aquests composts, en l'actualitat es coneixen quasi exclusivament pel seu ús en el tractament de l'osteoporosi.

Aquest comportament dual pot semblar contradictori, però es pot explicar perfectament si es consideren els corresponents processos a nivell molecular. S'ha de tenir en compte que mentre s'impedeix la formació de nuclis cristal·lins gràcies a la seva interacció amb el calci, es dificulta la redissolució dels cristalls ja formats com a conseqüència de la seva adsorció sobre les seves cares.

Considerant les similituds estructurals entre bisfosfonats i fitat, i que aquesta substància té propietats com a inhibidor de la cristal·lització de la hidroxiapatita en teixits tous, com ja s'ha comentat, varem pensar que el fitat podria comportar-se com un potent inhibidor de la calcificació cardiovascular, i així ho varen demostrar tant els estudis *in vitro* (21) com els estudis *in vivo* amb animals d'experimentació que varem desenvolupar (18, 22). Per tant, pirofosfat i fitat serien dos importants inhibidors de la cristal·lització per evitar les calcificacions cardiovasculars, tal com es dona en altres teixits tous.

I les proteïnes, quin paper hi tenen, aquí? Curiosament es reproduïxen els mateixos patrons que varem observar quan comentàvem el desenvolupament de calcificacions papil·lars. Aquí hi ha unes proteïnes que es troben en concentracions considerables, com la fetuïna (23, 24), i d'altres que es troben en molt baixa concentració, com l'osteopontina i l'osteonectina. Novament, hi ha estudis molt recents que demostren que l'acció d'aquestes proteïnes correspon a dos tipus de mecanismes diferents i que, en cap cas, no correspon fonamentalment a un procés d'inhibició de la cristal·lització. Així, les proteïnes que es troben en baixes concentracions actuarien a nivell de senyalització cel·lular i, per exemple, l'osteopontina, igual que en altres teixits tous, s'uniria a la hidroxiapatita senyalitzant-la perquè el sistema immunitari, mitjançant els macròfags (o cèl·lules equivalents), la pugui identificar i destruir. Les glicoproteïnes, com la fetuïna, es troben a elevades concentracions, a més de tenir funció antiadherent; molt recentment també s'ha descobert una interessant funció en la qual la proteïna facilitaria la formació de microcol·loides de fosfat càlcic al plasma sanguini (23). D'aquesta manera es podrien reduir els nivells de fosfat plasmàtic i la sobresaturació de fosfat càlcic disminuiria notablement. De fet, per als malalts amb fallida renal que se sotmeten a diàlisi, la calcificació cardiovascular suposa un greu problema. Precisament aquests malalts presenten valors anormalment baixos de fetuïna (25) i, a la vegada, els seus nivells plasmàtics de pirofosfat són també inferiors als dels individus sans (26). Actualment, i gràcies al suport de la Fundació Barceló, estem desenvolupant

un projecte enfocat a conèixer més bé aquests processos i, en conseqüència, a poder aportar-hi solucions.

Així doncs, considerant tot el que hem comentat, podríem plantejar el següent mecanisme general de desenvolupament d'una calcificació cardiovascular. El procés s'ha d'iniciar, forçosament, com a conseqüència de l'existència d'una lesió, que aportarà els nucleants heterogenis necessaris per iniciar el procés de cristal·lització de la hidroxiapatita. Les causes que poden desencadenar la gènesi de la lesió poden ser molt diverses, tal com el colesterol plasmàtic elevat (disminució del colesterol associat a lipoproteïnes d'alta densitat i increment del colesterol associat a lipoproteïnes de baixa densitat), agents citotòxics (tabaquisme), diabetis, hipertensió, obesitat, insuficiència renal terminal, edat avançada, infeccions bacterianes, etc. L'acció conjunta d'inhibidors de la cristal·lització i el sistema immunitari poden evitar i/o fer revertir el procés de calcificació quan aquest encara no ha adquirit una massa crítica important que el fa ja irreversible. De fet, quan una calcificació adquireix una determinada massa, acaba per comportar-se com a teixit ossi, cosa que no és gens estranya si considerem que es troba en un entorn que li aporta els senyalitzadors i les cèl·lules mare necessàries.

4. Calcificació i Alzheimer

Com és ben conegut, la malaltia d'Alzheimer és una malaltia neurodegenerativa que comporta una pèrdua progressiva de funcions mentals a causa del deteriorament del teixit cerebral. Les causes de la malaltia d'Alzheimer encara són poc conegudes i no hi ha explicacions acceptades unànimement a nivell científic. Així, la hipòtesi més antiga suggereix que aquesta malaltia es deu a la reducció en la síntesi del neurotransmissor acetilcolina. Aquesta hipòtesi no ha tingut un suport important perquè els medicaments que es fan servir per tractar la deficiència colinèrgica no han donat efectes positius.

Una altra hipòtesi més recent (1991) proposa que la causa de la malaltia és l'acumulació anòmala de les proteïnes β -amiloides al cervell dels pacients amb Alzheimer (27, 28, 29, 30, 31). També recentment s'ha relacionat la demència, inclosa la malaltia d'Alzheimer, amb desordres metabòlics, particularment amb la hiperglucèmia i la resistència a la insulina (32, 33).

4.1. Melatonina

La melatonina (N-acetil-5-metoxitriptamina) és una hormona sintetitzada a partir del neurotransmissor serotonina i es produeix, principalment, a la glàndula pineal. S'ha postulat que la melatonina té diverses propietats, que actua com a antioxidant (34, 35, 36, 37), neuroprotector (38, 39) o com a estabilitzador del ritme circadiari (40, 41). Així, actualment es considera que té un paper important en els processos d'envelliment.

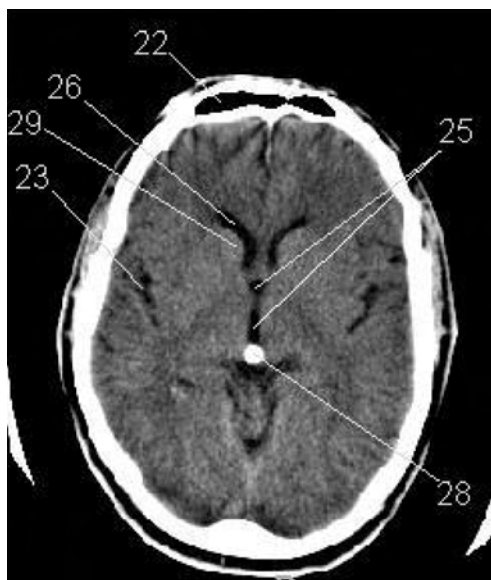


Figura 3. Imatge obtinguda per tomografia axial computada (TAC) d'un cervell d'un pacient amb Alzheimer, on es pot apreciar clarament la glàndula pineal calcificada (assenyalada amb el núm. 28).

L'excreció de melatonina disminueix amb l'edat en tots els humans (42, 43), però aquesta disminució és molt més pronunciada en els pacients d'Alzheimer (44, 45). El mecanisme responsable d'aquesta disminució en l'excreció de melatonina encara no s'ha elucidat totalment, malgrat que actualment és conegut que la glàndula pineal dels humans es calcifica amb l'edat (46, 47). Si es consideren els factors generals implicats en els processos de calcificació de teixits tous que ja hem comentat en el cas de les calcificacions cardiovasculars, la calcificació de la glàndula pineal ha d'implicar forçosament l'existència de lesions del seu teixit que, abans de ser reabsorbides per l'acció del sistema immunitari, actuaran com a nucleants heterogenis de la hidroxiapatita, donant lloc al desenvolupament de calcificacions. És evident que el dèficit d'inhibidors de la cristal·lització de sals càlciques, com són el fitat i el pirofosfat, afavorirà el procés de calcificació. En aquest sentit resulta interessant tenir en compte que el contingut de fitat al cervell d'animals d'experimentació sans és 10 vegades superior al de la resta de teixits (8, 9), cosa que els protegiria especialment enfront dels processos de calcificació patològica. Precisament hi ha estudis recents que han demostrat que la quantitat de glàndula pineal no calcificada dels pacients amb Alzheimer és menor que l'observada en pacients que presenten altres tipus de demència (48).

Actualment s'ha demostrat també que la melatonina inhibeix la patologia amiloidea. Així, la melatonina inhibeix la formació de la proteïna β -amiloide (49). Finalment és important considerar que hi ha estudis amb humans que indiquen que la disminució en la producció de melatonina per part de la glàndula pineal pot augmentar els nivells d'insulina (50), i un

altre estudi mostra que l'administració d'1 mg de melatonina pot reduir la tolerància a la glucosa i la sensibilitat a la insulina en dones d'edat avançada (51).

4.2. Hipòtesis

D'acord amb els aspectes comentats, l'aparició de lesions de la glàndula pineal, que poden ser degudes a diferents causes (edat avançada, citotòxics, contaminants...), donarà lloc al desenvolupament de calcificacions que seran més extenses com més gran sigui la lesió i més baixa sigui la concentració d'inhibidors de la cristal·lització presents (pirofosfat i fitat) i més petita sigui la capacitat del sistema immunitari. La calcificació de la glàndula pineal conduirà a una pèrdua de la seva funció, motiu pel qual disminuirà l'excreció de melatonina que aquesta glàndula produeix. Aquesta disminució de melatonina, per una banda, generarà un increment de noves lesions oxidatives (perquè disminueix la capacitat antioxidant), i per una altra, serà responsable de l'augment del dipòsit de la proteïna β -amiloide, que s'associa al desenvolupament de la malaltia d'Alzheimer. Per tant, el dèficit d'inhibidors de la cristal·lització podria ser un altre factor de risc de desenvolupar aquesta malaltia.

5. Conclusió

Tota calcificació patològica en els mamífers necessita un inductor, un nucleant heterogeni, que inestabilitzi el fluid corresponent que se sol trobar en estat metaestable. Per protegir l'organisme d'aquests processos indesitjables, es disposa de forma natural dels anomenats inhibidors de la cristal·lització, que són substàncies que els impedeixen o retarden. Si, a més, la cristal·lització patològica té lloc en un entorn cel·lular (dins un teixit), també pot actuar el sistema immunitari per destruir la calcificació, ja que existeixen proteïnes senyalitzadores. Tota lesió és una font de producció de residus que podran actuar com a nucleants heterogenis, i per tant, amb l'edat la possibilitat que puguin tenir lloc aquests processos s'incrementarà.

En totes les situacions és clar que el procés sols es pot impedir o aturar o pot revertir a les etapes inicials, per tant, en qualsevol cristal·lització patològica queda ben palès que la prevenció és fonamental i és necessari tenir en compte tots els factors que permeten donar pautes adequades amb aquesta finalitat. Així, citotòxics, antioxidants i inhibidors de la cristal·lització poden tenir un paper molt important en aquests processos, uns com a inductors, afavorint el desenvolupament de la lesió, i els altres com a protectors, evitant-la. És molt important considerar que en les etapes inicials tots aquests processos són silencis, s'inicien durant la joventut i quan es manifesten ja és massa tard per evitar-los. Així, l'educació en hàbits saludables des de la joventut és una peça clau.

6. Bibliografia

1. Gadeau AP, Chaulet H, Daret D, Kockx M, Daniel-Lamaziere JM, Desgranges C. Time course of osteopontin, osteocalcin, and osteonectin accumulation and calcification after acute vessel wall injury. *J Histochem Cytochem* 2001; 49:79-86.
2. Grases F, Prieto RM, Sanchis P, Saus C, de Francisco T. Role of phytate and osteopontin in the mechanism of soft tissue calcification. *J Nephrol* 2008; 21:768-775.
3. Fleisch H, Bisaz S. Isolation from urine of pyrophosphate, a calcification inhibitor. *Am J Physiol* 1962; 203:671-675.
4. Fleisch H, Bisaz S. Mechanism of calcification: inhibitory role of pyrophosphate. *Nature* 1962; 195:911.
5. Grases F, Prieto RM, Simonet BM, March JG. Phytate prevents tissue calcifications in female rats. *Biofactors* 2000; 11:171-177.
6. Grases F, Perello J, Prieto RM, Simonet BM, Torres JJ. Dietary myo-inositol hexaphosphate prevents dystrophic calcifications in soft tissues: a pilot study in Wistar rats. *Life Sci* 2004; 75:11-19.
7. Grases F, Isern B, Sanchis P, Perello J, Torres JJ, Costa-Bauzá A. Phytate acts as an inhibitor in formation of renal calculi. *Front. Biosci.* 2007; 12:2580-2587.
8. Grases F, Simonet BM, Prieto RM, March JG. Phytate levels in diverse rat tissues: influence of dietary phytate. *Br J Nutr* 2001; 86:225-231.
9. Grases F, Simonet BM, Prieto RM, March JG. Variation of InsP_4 , InsP_5 and InsP_6 levels in tissues and biological fluids depending on dietary phytate. *J Nutr Biochem* 2001; 12:595-601.
10. Grases F, Simonet BM, Vucenik I, Prieto RM, Costa-Bauzá A, March JG, Shamsuddin AM. Adsorption and excretion of orally administered inositol hexaphosphate (IP_6 or phytate) in humans. *BioFactors* 2001; 15:53-61.
11. Reddy NR. Occurrence, Distribution, Content and Dietary Intake of Phytate. En: Reddy NR y Sathe SK, editores. *Foods Phytate*. Boca Raton: CRC Press; 2002; p. 36-63.
12. Reddy NR, Sathe SK, Salunke DK. Phytate in legumes and cereals. *Adv Food Res* 1982; 28:1-92.

13. Grases F, Simonet BM, March JG, Prieto RM. Inositol hexakisphosphate in urine: the relationship between oral intake and urinary excretion. *BJU Int* 2000; 85:138-142.
14. Wexler L, Brundage B, Crouse J, Detrano R, Fuster V, Maddahi J, Rumberger J, Stanford W, White R, Taubert K. Coronary artery calcification: Pathophysiology, epidemiology, imaging methods and clinical implications. *Circulation* 1996; 94:1175-1192.
15. Tintut Y, Demer LL. Recent advances in multifactorial regulation of vascular calcification. *Lipidol* 2001; 12:555-560.
16. Speer MY, Giachelli CM. Regulation of cardiovascular calcification. *Cardiovasc Pathol* 2004; 13:63-70.
17. Farzaneh-Far A, Proudfoot D, Shanahan C, Weissberg PL. Vascular and valvar calcification: recent advances. *Heart* 2001; 85:13-17.
18. Grases F, Sanchis P, Perello J, Isern B, Prieto RM, Fernandez-Palomeque C, Fiol M, Bonnin O, Torres JJ. Phytate (Myo-inositol hexakisphosphate) inhibits cardiovascular calcifications in rats. *Front Biosci* 2006; 11:136-142.
19. Fleisch H, Bisaz S. Isolation from the plasma of pyrophosphate, an inhibitor of calcification. *Helv Physiol Pharmacol Acta* 1962; 20:C52-C53.
20. Fleisch H. Bisphosphonates: mechanisms of action. *Endocrin Rev* 1998; 19:80-100.
21. Grases F, Sanchis P, Costa-Bauzá A, Bonnin O, Isern B, Perello J, Prieto RM. Phytate inhibits bovine pericardium calcification in vitro. *Cardiovasc Pathol* 2008; 17:139-145.
22. Grases F, Sanchis P, Perelló J, Isern B, Prieto RM, Fernández-Palomeque C, Torres JJ. Effect of crystallization inhibitors on vascular calcifications induced by vitamin D: a pilot study in Sprague-Dawley rats. *Circ J* 2007; 71:1152-1156.
23. Heiss A, DuChesne A, Denecke B, Grötzinger J, Yamamoto K, Renné T, Jahnén-Dechent W. Structural basis of calcification inhibition by alpha 2-HS glycoprotein/fetuin-A. Formation of colloidal calciprotein particles. *J Biol Chem* 2003; 278:13333-13341.
24. Reynolds JL, Skepper JN, McNair R, Kasama T, Gupta K, Weissberg PL, Jahnén-Dechent W, Shanahan CM. Multifunctional roles for serum protein fetuin-a in inhibition of human vascular smooth muscle cell calcification. *J Am Soc Nephrol* 2005; 16:2920-2930.

25. Westenfeld R, Jahnke-Dechent W, Ketteler M. Vascular calcification and fetuin-A deficiency in chronic kidney disease. *Trends Cardiovasc Med* 2007; 17:124-128.
26. Lomashvili KA, Cobbs S, Hennigar RA, Hardcastle KI, O'Neill WC. Phosphate-induced vascular calcification: role of pyrophosphate and osteopontin. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15:1392-1401.
27. Hardy J, Allsop D. Amyloid deposition as the central event in the aetiology of Alzheimer's disease. *Trends Pharmacol Sci* 1991; 12:383-388.
28. Mudher A, Lovestone S. Alzheimer's disease-do tauists and baptists finally shake hands?. *Trends Neurosci* 2002; 25:22-26.
29. Nistor M, Don M, Parekh M, Sarsoza F, Goodus M, Lopez GE, Kawas C, Leverenz J, Doran E, Lott IT, Hill M, Head E. Alpha- and beta-secretase activity as a function of age and beta-amyloid in Down syndrome and normal brain. *Neurobiol Aging* 2007; 28:1493-1506.
30. Lott IT, Head E. Alzheimer disease and Down syndrome: factors in pathogenesis. *Neurobiol Aging* 2005; 26:383-389.
31. Polvikoski T, Sulkava R, Haltia M, Kainulainen K, Vuorio A, Verkkoniemi A, Niinistö L, Halonen P, Kontula K. Apolipoprotein E, dementia, and cortical deposition of beta-amyloid protein. *N Engl J Med* 1995; 333:1242-1247.
32. Biessels GJ, Kappelle LJ, Utrecht Diabetic Encephalopathy Study Group. Increased risk of Alzheimer's disease in Type II diabetes: insulin resistance of the brain or insulin-induced amyloid pathology? *Biochem Soc Trans* 2005; 33:1041-1044.
33. Jagua A, Avila A. Insulina i malaltia d'Alzheimer: una diabetis tipus 3? *Rev Fac Med Univ Nac Colomb* 2007; 55:6-70.
34. Allegra M, Reiter RJ, Tan DX, Gentile C, Tesoriere L, Livrea MA. The chemistry of melatonin's interaction with reactive species. *J Pineal Res* 2003; 34:1-10.
35. Pappolla MA, Chyan YJ, Poeggeler B, Frangione B, Wilson G, Ghiso J, Reiter RJ. An assessment of the antioxidant and the anti-amyloidogenic properties of melatonin: implications for Alzheimer's disease. *J Neural Transm* 2000; 107:203-231.
36. Reiter RJ. Antioxidant actions of melatonin. *Adv Pharmacol* 1997; 38:103-117.

37. Sharman EH, Bondy SC. Effects of age and dietary antioxidants on cerebral electron transport chain activity. *Neurobiol Aging* 2001; 22:629–634.
38. De Butte M, Fortin T, Pappas BA. Pinealectomy: behavioral and neuropathological consequences in a chronic cerebral hypoperfusion model. *Neurobiol Aging* 2002; 23:309–317.
39. De Butte M, Pappas BA. Pinealectomy causes hippocampal CA1 and CA3 cell loss: reversal by melatonin supplementation. *Neurobiol Aging* 2007; 28:306–313.
40. Arendt J. Melatonin: characteristics, concerns, and prospects. *J Biol Rhythms* 2005; 20:291–303.
41. Cardinali DP, Furio AM, Reyes MP. Clinical perspectives for the use of melatonin as a chronobiotic and cytoprotective agent. *Ann NY Acad Sci* 2005; 1057:327–336.
42. Mahlberg R, Tilman A, Salewski L, Kunz D. Normative data on the daily profile of urinary 6-sulfatoxymelatonin in healthy subjects between the ages of 20 and 84. *Psychoneuroendocrinology* 2006; 31:634–641.
43. Zhou JN, Liu RY, Van Heerikhuize J, Hofman MA, Swaab DF. Alterations in the circadian rhythm of salivary melatonin begin during middle-age. *J Pineal Res* 2003; 34:11–16.
44. Liu RY, Zhou JN, Van Heerikhuize J, Hofman MA, Swaab DF. Decreased melatonin levels in postmortem cerebrospinal fluid in relation to aging, Alzheimer's disease, and apolipoprotein E-epsilon4/4 genotype. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84:323–327.
45. Skene DJ, Swaab DF. Melatonin rhythmicity: effect of age and Alzheimer's disease. *Exp Gerontol* 2003; 38:199–206.
46. Jovet A, Fevre-Montange M, Besancon R, Derrington E, Saint-Pierre G, Belin MF, Pialat J, Lapras C. Structural and ultrastructural characteristics of human pineal gland, and pineal parenchymal tumors. *Acta Neuropathol (Berl)* 1994; 88:334–348.
47. Zimmermann RA, Bilaniuk LT. Age-related incidence of pineal calcification detected by computed tomography. *Radiology* 1981; 142:659–662.
48. Mahlberg R, Walther S, Kalus P, Bohner G, Haedel S, Reischies F, Kühl K, Hellweg R, Kunz D. Pineal calcification in Alzheimer's disease: An in vivo study using computed tomography. *Neurobiol Aging* 2008; 29:203–209.

49. Pappolla MA, Simovich MJ, Bryant-Thomas T, Chyan YJ, Poeggeler B, Dubocovich M, Bick R, Perry G, Cruz-Sanchez F, Smith MA. The neuroprotective activities of melatonin against the Alzheimer beta-protein are not mediated by melatonin membrane receptors. *J Pineal Res* 2002; 32:135-142.
50. Wolden-Hanson T, Mitton DR, McCants RL, Yellon SM, Wilkinson CW, Matsumoto AM, Rasmussen DD. Daily melatonin administration to middle-aged male rats suppresses body weight, intraabdominal adiposity, and plasma leptin and insulin independent of food intake and total body fat. *Endocrinology* 2000; 141:487-497.
51. Cagnacci A, Arangino S, Renzi A, Paoletti AM, Melis GB, Cagnacci P, Volpe A. Influence of melatonin administration on glucose tolerance and insulin sensitivity of postmenopausal women. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2001; 54:339-346.

Autors

FÈLIX GRASES FREIXEDAS

Barcelona. Doctor en Ciències (1978) i catedràtic de la Universitat de les Illes Balears (1987). Director del Departament de Química de la UIB (1988-1995). Director de l'Institut Universitari d'Investigacions en Ciències de la Salut (IUNICS) (2006) i director del Laboratori d'Investigació en Litiasi Renal des de l'any 1998. Membre numerari de la Reial Acadèmia de Medicina de les Illes Balears des de l'any 2008. Des de l'any 1987 ha dedicat la seva tasca de recerca a l'estudi dels càlculs renals (pedres de ronyó) i calcificacions patològiques (cardiovasculars i salivals).

ANTÒNIA COSTA BAUZÀ

Mallorca. Doctora en Ciències (1990), professora titular de Toxicologia de la Universitat de les Illes Balears i membre del Laboratori d'Investigació en Litiasi Renal des de la seva creació el 1998. Autora del llibre *Cristalización en disolución. Conceptos básicos* (Editorial Reverté, 2000).

