

Associazione tra bassi livelli sierici di magnesio ed estensione delle calcificazioni dell'aorta addominale nei pazienti con trapianto renale

Specialità e professioni a colloquio

Carlo Massimetti¹, Paolo Cardello², Franco Brescia², Gea Imperato¹, Sandro Feriozzi¹

1 Centro di Riferimento di Nefrologia e Dialisi, Ospedale Belcolle, Viterbo

2 Radiologia, Ospedale Belcolle, Viterbo



Carlo Massimetti

Corrispondenza a:

Carlo Massimetti

Centro di Riferimento di Nefrologia e Dialisi, Ospedale Belcolle

Strada Sammartinese, snc 01100, Viterbo

Tel: 0761/338601

E-mail: cmassimetti@libero.it

ABSTRACT

Introduzione – Nel trapianto renale le calcificazioni vascolari sono associate ad un aumentato rischio di eventi cardiovascolari e di mortalità. Recenti studi hanno dimostrato una associazione tra bassi livelli di magnesio (Mg) e calcificazioni vascolari. Abbiamo valutato l'associazione tra Mg e calcificazioni vascolari nel paziente portatore di trapianto renale (RTR). **Metodi** – 71 RTRs venivano sottoposti ad Rx laterale della colonna lombare per valutare le calcificazioni della parete dell'aorta addominale (AA). Il contenuto di calcio dell'AA (CAA) veniva quantificato con uno score tra 0 e 24. Inoltre venivano valutati: lo spessore medio-intimale carotideo (IMT); l'indice di massa cardiaca del ventricolo sinistro (iMCVS); Ca, PO₄, Mg sierico (sMg) ed urinario, PTH, HDL, LDL, proteina C-reattiva (PCR), omocisteina, pressione arteriosa (PA). **Risultati** – Lo score per le CAA era correlato con: età ($r=0.601$; $P<0.001$), età dialitica ($r=0.314$; $P<0.01$), sMg ($r=-0.438$; $P<0.001$), PTH ($r=0.322$; $P<0.01$), PAS ($r=0.539$; $P<0.001$), IMT ($r=0.706$; $P<0.001$), iMCVS ($r=0.326$; $P<0.01$). Inoltre il sMg era correlato con il PTH ($r=-0.304$; $P<0.01$). L'IMT era correlato con l'iMCVS e la PAS ($r=0.330$, $P<0.01$; $r=0.494$, $P<0.0001$; rispettivamente). L'analisi della regressione multipla stepwise mostrava 6 variabili predittrici per lo score delle CAA: IMT, sMg, età, PAS, proteinuria ed età dialitica ($F_{5,64}=31.7$, $P<0.001$; R^2 aggiustato=0.718). I pazienti con più elevato CAA (8-24) erano più anziani, con età dialitica maggiore, con più bassi livelli di Mg, con più elevati livelli di PTH e maggiore IMT. **Conclusioni** – La nostra esperienza conferma la associazione tra bassi livelli di sMg e CAA e IMT nei RTRs.

PAROLE CHIAVE: magnesio, calcificazioni vascolari, spessore medio-intimale carotideo, trapianto renale

Introduzione

Il rischio di malattia cardiovascolare aumenta progressivamente con il ridursi della funzione renale, arrivando ad essere di 20 volte superiore a quello che si riscontra nella popolazione generale quando viene avviata la terapia sostitutiva [1]. Il trapianto renale riduce, ma non normalizza, il rischio cardiovascolare, che risulta infatti di cinque volte maggiore a quanto riportato nella popolazione generale ed aumenta significativamente con il ridursi del funzionamento del rene trapiantato [2,3]. Ad un anno dal trapianto, su una popolazione di 19.103 pazienti con trapianto renale (RTRs), gli eventi cardiovascolari erano la causa di morte nel 21.6% della popolazione studiata [4]; con la progressiva estensione del follow-up, la prevalenza di malattia cardiovascolare aumentava fino ad arrivare ad essere la causa di morte nel 31% della popolazione con trapianto funzionante [5].

Nel trapianto renale ci sono numerosi fattori di rischio che contribuiscono all'aumento di mortalità per cause cardiovascolari. Tra questi vi sono le calcificazioni vascolari, estremamente comuni nei pazienti con malattia renale cronica (MRC). La loro presenza si associa ad una aumentata rigidità della parete aortica, causa di ipertrofia ventricolare sinistra, rendendole un importante marker prognostico per la mortalità cardiovascolare [6,7]. Diversi studi hanno dimostrato che le calcificazioni vascolari nei RTRs progrediscono ma non regrediscono e che si associano ad un aumentato rischio di morbilità e mortalità per cause cardiovascolari [8–14]. Nel trapianto renale la progressione delle calcificazioni vascolari nel lungo termine non sembra associarsi in modo evidente a fattori di rischio classici e non tradizionali, quali biomarkers della funzione renale (eGFR) e del danno renale (albuminuria) o delle alterazioni del metabolismo minerale (fosforo, calcio e paratormone) [8]. Recentemente il magnesio (Mg) ha ricevuto una certa attenzione a seguito dei suoi effetti inibitori sulle calcificazioni vascolari [15]. Studi in vitro hanno dimostrato che il Mg inibisce le calcificazioni delle cellule muscolari lisce indotte dalla esposizione ad elevati livelli di fosfati [16–20]. Nel paziente in dialisi l'ipomagnesiemia è stata associata alla presenza di calcificazioni vascolari [21–23]. Due recenti studi in vivo hanno confermato che la supplementazione di Mg, per via orale o intraperitoneale, previene lo sviluppo delle calcificazioni vascolari utilizzando come modello sperimentale ratti con nefrectomia 5/6 [24,25].

Nei pazienti con MRC stadio 3-4 o in dialisi la supplementazione di Mg, sottoforma di ossido di magnesio o di magnesio carbonato, si è dimostrata efficace nel rallentare la progressione delle calcificazioni vascolari [26–28]. Non vi sono ancora lavori inerenti l'associazione tra livelli di Mg e calcificazioni vascolari nel paziente con trapianto renale. Tuttavia, è stato recentemente dimostrato che nei RTRs una riduzione del tempo di trasformazione (T_{50}) della particella calciproteina primaria in quella secondaria nel siero si associa ad un aumentato rischio di mortalità per tutte le cause e per cause cardiovascolari [29]. Un allungamento del T_{50} è indicativo di un'elevata capacità residua del siero del paziente a prevenire la formazione della calciproteina secondaria e quindi suggerisce una difesa endogena conservata contro lo sviluppo di calcificazioni. Da questo studio emerge che i pazienti con più elevati livelli di Mg hanno un T_{50} più lungo e quindi una minore propensione a sviluppare calcificazioni [29]. Inoltre, nel trapianto renale, bassi livelli di Mg sono stati associati ad un aumento della rigidità arteriosa, espressione di arteriosclerosi, valutata con la velocità dell'onda di polso (PWV) carotideo-femorale, un parametro questo che è un marker surrogato per alcuni outcomes cardi

ovascolari [30]. L'ipomagnesiemia nei RTRs è un reperto molto frequente e ha numerose spiegazioni, tra le più importanti il sempre più diffuso impiego degli inibitori delle calcineurine (CNI), ed in particolare del tacrolimus, che causano un aumento dell'escrezione urinaria di Mg [31].

Alla luce dei dati in letteratura e della carenza di studi sulla associazione tra Mg e calcificazioni

vascolari nei RTRs, abbiamo voluto valutare se vi fosse una qualche correlazione tra livelli di Mg e calcificazioni vascolari in un gruppo di pazienti di questi tipo.

Pazienti e metodi

Tutti i pazienti in questo studio venivano selezionati presso il nostro ambulatorio dedicato al follow-up dei RTRs. Il reclutamento veniva effettuato nel periodo tra febbraio 2014 e dicembre 2015 e comprendeva 71 RTRs. Tutti i pazienti dovevano avere un età del trapianto >6 mesi, essere in condizioni cliniche stabili e con una funzione renale stabile (eGFR >15 ml/min/1.73 m²). Venivano esclusi dallo studio pazienti con età <18 anni o sottoposti a doppio trapianto d'organo. Venivano definiti diabetici quei pazienti che al momento del reclutamento erano in terapia con farmaci antidiabetici. Al momento del reclutamento ogni paziente veniva sottoposto a: radiografia colonna lombare in laterale, ecocardiogramma, ultrasonografia B-mode carotidea, esami ematici ed urinari ed anamnesi farmacologica.

La radiografia della colonna lombare in laterale per L1-L4 veniva eseguita con tecnica standard, 100 cm distanza della pellicola (94 KVP, 33-200 mAs), in posizione ortostatica per la valutazione delle calcificazioni della parete dell'aorta addominale (CAA), in accordo con il metodo di Kauppila et al. [32]. I depositi di calcio venivano valutati separatamente per la parete anteriore e posteriore di ciascun segmento utilizzando i punti medi degli spazi intervertebrali come delimitazioni. Le calcificazioni venivano quantificate con uno score nel modo seguente: 0: nessun deposito di calcio; 1: presenza di piccoli depositi di calcio sparsi che occupavano <1/3 della parete longitudinale dell'aorta; 2: presenza di calcificazioni in ≥1/3 ma <2/3 della parete longitudinale dell'aorta; 3: depositi di calcio che occupavano >2/3 della parete longitudinale dell'aorta. Lo score finale era dato dalla somma del numero dei singoli segmenti interessati (0-4), più la somma dello score di ogni singolo segmento aortico della parete anteriore e posteriore (0-8). Lo score finale delle CAA era il risultato della somma di questi singoli score ed ricadeva in un range tra 0 e 24.

L'ultrasonografia carotidea B-mode veniva eseguita per valutare lo spessore medio-intimale carotideo (IMT) dopo campionamento a livello di tre segmenti: il centimetro distale della carotide comune, la biforcazione carotidea ed il centimetro prossimale della carotide interna. I valori dello IMT venivano espressi come valore medio massimo. Per la misurazione dello IMT veniva utilizzato un ecografo Philips IU22 sonda lineare multifrequenza 10-12 MHz e le misurazioni, almeno due per ogni porzione della carotide, venivano effettuate manualmente. La variabilità tra le misurazioni dello IMT non è stata effettuata. L'esame ecocardiografico veniva eseguito come da indicazioni dalla Società Americana di Ecocardiografia per la valutazione dell'indice di massa cardiaca del ventricolo sinistro (iMCVS); si definiva ipertrofia ventricolare sinistra un iMCVS >95 gr/m² nelle donne e >115 gr/m² negli uomini [33].

I principali esami di laboratorio comprendevano: creatininemia, filtrato glomerulare (eGFR) valutato con la formula CKD-EPI (Chronic Kidney Disease Epidemiology Collaboration) [34], calcemia, fosforemia, magnesiemia, paratormone (PTH), fosfatasi alcalina totale, omocisteina, proteina C-reattiva (PCR), emoglobina (Hb), colesterolo totale, HDL e LDL colesterolo, albuminemia, ciclosporinemia, tacrolemia, creatininuria e magnesiuuria delle 24 ore e proteinuria. Il magnesio urinario veniva espresso come magnesiuuria delle 24 ore e come frazione di escrezione del magnesio (FEMg) calcolata con la formula (magnesiuria 24 ore x creatininemia)/(magnesiemia x creatininuria 24 ore) × 100. La proteinuria veniva espressa con il rapporto proteinuria/creatininuria (mg/G creatinina urinaria). I valori di pressione arteriosa (PA) sistolica (PAS) e diastolica (PAD) erano la risultante della media dei valori pressori rilevati ambulatorialmente nei tre mesi antecedenti l'arruolamento nello studio. In tutti i pazienti veniva

raccolta l'anamnesi farmacologica per gli CNI e per gli inibitori di pompa protonica (IPP).

L'analisi statistica è stata eseguita con SPSS (Statistical Package of Social Science, 11.0, 2003; SPSS Inc., Chicago, IL, USA). Tutti i dati sono espressi come media \pm deviazione standard. Il *t*-test per dati appaiati è stato eseguito quando appropriato. L'analisi della regressione multipla stepwise è stata utilizzata per valutare quali fattori erano indipendentemente associati allo score per le CAA. Le variabili predittive venivano selezionate sulla base della correlazione nell'analisi univariata o su quanto rilevato in studi precedenti. Queste includevano le seguenti variabili demografiche, emodinamiche, bioumorali e strumentali: età anagrafica, età dialitica, età del trapianto, diabete, creatinina, eGFR, calcemia, fosforemia, magnesemia, PTH, 25(OH)D, fosfatasi alcalina totale, magnesuria, colesterolo totale, colesterolo HDL e LDL, PCR, omocisteina, proteinuria, PAS, PAD, iMCVS e IMT. I terzili per i livelli di Mg e per lo score delle CAA venivano determinati per valutare la distribuzione delle singole variabili per terzile ed eventuali differenze statisticamente significative tra di loro. Per raffrontare le variabili tra i tre terzili per i livelli di Mg e per lo score delle CAA venivano utilizzati l'Analisi della Varianza ad una via (ANOVA); lì dove dall'ANOVA emergeva la presenza di variabili significativamente diverse, venivano eseguiti il test di Bonferroni per le variabili continue ed il chi-quadrato di Pearson per le variabili categoriche. Venivano considerati statisticamente significativi valori di $P < 0.05$.

Risultati

Nella Tabella I sono riportate le principali caratteristiche della popolazione al momento dello studio. La popolazione era costituita da 71 RTRs con età media di 53,9 anni e una mediana per l'età del trapianto di 32 mesi (ambito dell'interquartile: 18-89). La mediana dell'età dialitica era di 24 mesi (ambito interquartile: 15-35). Le mediane per i livelli di Mg e per lo score delle CAA erano di 1.9 mg/dl e di 2, rispettivamente. Lo score delle CAA era positivamente correlato con età anagrafica ($r=0.601$; $P<0.001$), età dialitica ($r=0.314$; $P<0.01$), PTH ($r=0.322$; $P<0.01$), fosfatasi alcalina totale ($r=0.349$, $P<0.01$), PAS ($r=0.539$; $P<0.001$), IMT ($r=0.706$; $P<0.001$) ed iMCVS ($r=0.326$; $P<0.01$), mentre era negativamente correlato con i livelli di Mg ($r=-0.438$; $P<0.001$). I livelli di Mg erano negativamente correlati con quelli del PTH ($r=-0.304$; $P<0.01$). L'IMT era correlato positivamente con iMCVS e PAS ($r=0.330$, $P<0.01$; $r=0.494$, $P<0.001$; rispettivamente). Correlazioni positive vi erano anche tra iMCVS ed età anagrafica e PAS (rispettivamente $r=0.515$, $P<0.0001$; $r=0.429$, $P<0.0001$).

Nella Tabella II è riportata l'analisi della regressione multipla stepwise con modello finale contenente 6 variabili indipendenti predittive per lo score delle CAA. In ordine di significatività queste erano lo IMT, i livelli di Mg, la PAS, l'età dialitica, la proteinuria e l'età anagrafica. Nella Tabella III sono riportati i principali dati clinici per terzili dei livelli di Mg. L'analisi della varianza dei terzili per i livelli di Mg evidenziava una differenza significativa tra i tre gruppi per i livelli di Mg ($P<0.001$), per i livelli di PTH ($P<0.05$) e per lo score delle CAA ($P<0.01$). Veniva quindi eseguito il test di Bonferroni tra i tre gruppi per le variabili continue ed il chi-quadrato di Pearson per le variabili categoriche. Come riportato in Tabella III, queste analisi mostravano livelli di Mg significativamente maggiori ($P<0.001$) nei terzili II e III rispetto al terzile I ed uno score per le CAA significativamente minore ($P<0.01$) nel III terzile rispetto al I; non si confermava una differenza significativa tra i tre gruppi per i livelli di PTH. Il chi-quadrato di Pearson non mostrava differenze significative tra i tre terzili per numero di EVC e di pazienti diabetici; allo stesso modo, non vi erano differenze significative tra i tre terzili per numero di pazienti in terapia con CNI, diuretici, statine ed IPP. Raffrontando i livelli di Mg tra pazienti trattati con CNI ($n=58$) e mTOR (mammalian Target of Rapamycin) ($n=13$), questi risultavano significativamente più alti nei pazienti in terapia con mTOR,

1.97 ± 0.15 vs 1.76 ± 0.24 mg/dl ($P < 0.01$), in assenza di differenze significative per la FEMg e per lo score delle CAA. Tuttavia, il gruppo non trattato con CNi presentava un eGFR significativamente più basso, 35 ± 12 vs 53 ± 24 ml/min/1.73 m² ($P < 0.01$). Non vi erano differenze significative tra i tre terzi per quanto riguarda il numero di pazienti in terapia con diuretici e/o IPP; allo stesso modo, non vi erano differenze significative per i livelli di Mg tra pazienti in trattamento con IPP e non. La Figura 1 sintetizza le differenze per lo score delle CAA in rapporto ai terzi per i livelli di Mg.

Variabili	Percentuale o media ± deviazione standard	Variabili	Percentuale o media ± deviazione standard
Età, anni	54 ± 11	PCR, mg/L	4.56 ± 8.51
Età dialitica, mesi	29 ± 24	Omocisteina, µMol/L	20.5 ± 8.3
Età trapianto, mesi	61 ± 60	Magnesiuria, mg/24 h	85 ± 46
Sesso, M/F	44/27	FEMg, %	7.6 ± 3.9
Diabete, %	17	Proteinuria, mg/g Cr	271 ± 323
ECV, %	10	PAS, mmHg	131 ± 14
Creatininemia, mg/dl	1.7 ± 0.7	PAS, mmHg	79 ± 9
eGFR, ml/min/1.73 m ²	50 ± 24	CAA, score	5.0 ± 6.6
Calcemia, mg/dl	9.6 ± 0.5	IMT, mm	1.33 ± 0.48
Fosforemia, mg/dl	3.2 ± 0.9	iMCVS, g/m ²	124 ± 35
Magnesiemia, mg/dl	1.8 ± 0.2	Ciclosporina, (% pts)	36
PTH, pg/ml	139 ± 111	Tacrolimus, (% pts)	47
25OHD ₃ , ng/ml	19.2 ± 11.5	IPP, (% pts)	72
HDL-colesterolo, mg/dl	48 ± 13	Statine, (% pts)	50
LDL-colesterolo, mg/dl	126 ± 31	Cinacalcet, (% pts)	8

Abbreviazioni: EVC, eventi cardiovascolari; eGFR, filtrato glomerulare stimato; PTH, paratormone; FEMg, frazione di escrezione urinaria del magnesio; PAS e PAD, pressione arteriosa sistolica e diastolica; CAA, calcificazioni aorta addominale; IMT, spessore medio-intimale carotideo; iMCVS, indice di massa cardiaca del ventricolo sinistro; IPP, inibitori di pompa protonica.

Tab. I: Principali caratteristiche basali dei partecipanti allo studio (n=71), i risultati sono riportati come media ± deviazione standard

Variabili indipendenti	B	P	95% IC	R ² corretto
Modello finale		<0.001		0.719
IMT, mm	5.754	<0.001	3.424-8.084	
Mg, mg/dl	-9.283	<0.001	-12.749 a -5.816	
PAS, mmHg	0.097	<0.01	0.029 – 0.166	
Età dialitica, anni	0.055	<0.01	0.020 – 0.090	
Proteinuria, mg/g Cr	0.004	<0.01	0.001 – 0.007	
Età anagrafica, anni	0.109	<0.05	0.015 – 0.203	

IC, intervallo di confidenza per B al 95%. Sono riportati soltanto quei parametri che nel modello avevano un valore di $P < 0.05$. Per abbreviazioni vedi Tabella I.

Tab. II: Modello finale dell'analisi della regressione multipla con lo score per le CAA come variabile dipendente

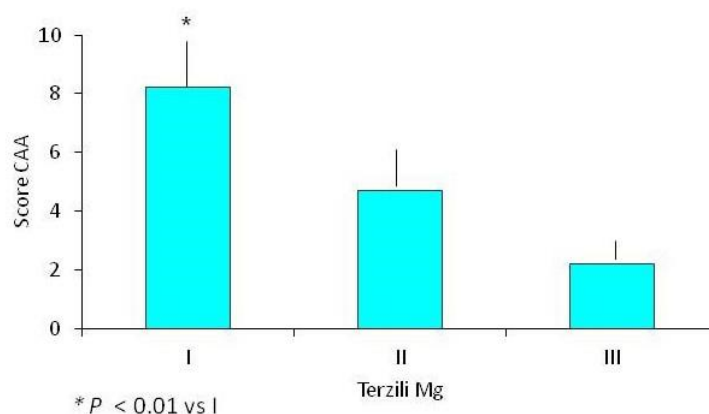


Fig. 1: Score delle CAA per tertili dei livelli sierici del magnesio (M ± ES)

Terzile (Mg, mg/dl)	I (<1.7)	II (1.7-1.9)	III (>1.9)
n° pazienti	19	32	20
Età, anni	56 ± 11 (51, 61)	55 ± 10 (51, 58)	50 ± 12 (44, 56)
Età dialitica, mesi	38 ± 35 (21, 55)	25 ± 13 (20, 30)	28 ± 25 (16, 39)
Età trapianto, mesi	58 ± 68 (24, 92)	66 ± 65 (42, 89)	57 ± 45 (36, 78)
Diabete, %	21	14	18
ECV, %	16	6	11
eGFR, ml/min/1.73 m ²	57 ± 24 (45, 68)	46 ± 18 (40, 53)	49 ± 31 (35, 63)
Magnesiemia, mg/dl	1.5 ± 0.1 (1.4, 1.5)	1.8 ± 0.1 (1.8, 1.86)*	2.1 ± 0.1 (2.0, 2.16)*
PTH, pg/ml	191 ± 184 (102, 279)	123 ± 64 (99, 146)	117 ± 53 (92, 142)
Magnesiuria, mg/24 h	98 ± 53 (71, 124)	78 ± 29 (70, 89)	84 ± 58 (56, 110)
FEMg, %	8.2 ± 3.2 (6.6, 9.8)	7.1 ± 4.1 (5.5, 8.6)	7.8 ± 4.0 (5.9, 9.6)
PCR, mg/L	3.44 ± 2.97 (1.80, 5.09)	4.35 ± 8.55 (1.09, 7.60)	4.81 ± 5.35 (2.23, 7.39)
Omocisteina, μMol/L	23.3 ± 11.6 (16.8, 29.8)	19.4 ± 7.1 (16.7, 22.5)	19.4 ± 6.1 (16.4, 22.5)
PAS, mmHg	132 ± 13 (126, 138)	132 ± 17 (126, 138)	128 ± 10 (123, 133)
PAD, mmHg	77 ± 10 (72, 82)	79 ± 9 (76, 82)	78 ± 10 (74, 83)
CAA, score	8.2 ± 7.8 (4.4, 11.9)	4.9 ± 6.8 (2.4, 7.3)	2.2 ± 2.9 (0.8, 3.6) [^]
IMT, mm	1.34 ± 0.35 (1.15, 1.53)	1.38 ± 0.59 (1.14, 1.61)	1.22 ± 0.41 (1.01, 1.44)
iMCVS, gr/m ²	128 ± 30 (113, 143)	122 ± 30 (110, 133)	122 ± 45 (101, 143)
Ciclosporina, % pts	37	41	30
Tacrolimus, % pts	56	50	35
Diuretici, % pts	21	37	47
Statine, % pts	47	56	31
IPP, %	84	74	59

95 P con il test di Bonferroni vs I terzile: [^]<0.01; * <0.001. In parentesi l'intervallo di confidenza al %. Per abbreviazioni vedi Tabella I; PCR, proteina C-reattiva.

Tab. III: Principali caratteristiche per tertili dei livelli di Mg

In Tabella IV, infine, sono riportati i principali dati clinici per tertili dello score delle CAA. L'analisi della varianza mostrava differenze significative tra i tre gruppi per età anagrafica ($P < 0.001$), per livelli di Mg ($P < 0.001$), per livelli di PTH ($P < 0.05$), per valori di PAS ($P < 0.001$), per lo score delle CAA ($P < 0.001$), per l'IMT ($P < 0.001$) e per l'iMCVS ($P < 0.01$). Veniva quindi eseguito il test di Bonferroni per individuare le differenze significative tra i singoli gruppi. Questo mostrava che, come riportato nella Tabella IV, i pazienti dei tertili II e III avevano una età anagrafica maggiore ($P < 0.001$) rispetto a quelli del I terzile; i pazienti dei tertili I e II avevano livelli di Mg significativamente maggiori dei pazienti del III terzile ($P < 0.001$); i pazienti nel II terzile avevano livelli di PTH maggiori di quelli nel III

terzile ($P < 0.05$); i pazienti del I e II terzile avevano valori di PAS significativamente inferiori a quelli del III terzile ($P < 0.001$ e $P < 0.05$, rispettivamente); lo score delle CAA era significativamente più alto nei pazienti del II e III terzile rispetto a quello del I terzile ($P < 0.001$); l'IMT era significativamente minore nei pazienti del I terzile rispetto a quelli del III ($P < 0.001$) ed ai limiti della significatività con quelli del II terzile ($P < 0.06$); in ultimo l'iMCVS era significativamente minore nei pazienti del I terzile rispetto a quello dei pazienti del II e III terzile ($P < 0.05$ e $P < 0.01$, rispettivamente). Il chi-quadrato di Pearson tra le percentuali di ECV, di pazienti diabetici ed in terapia con statine non era significativamente differente tra i tre terzili.

Terzile (score)	I (<2)	II (2-8)	III (>8)
n° pazienti	29	23	19
Età, anni	45 ± 10 (42, 49)	58 ± 9 (54, 62)*	62 ± 5 (59, 64)*
Età dialitica, mesi	25 ± 21 (17, 33)	25 ± 11 (20, 30)	40 ± 35 (22, 57)
Età trapianto, mesi	61 ± 62 (37, 84)	65 ± 64 (37, 93)	57 ± 55 (30, 85)
Diabete, %	12	26	14
ECV, %	6	13	14
eGFR, ml/min/1.73 m ²	48 ± 19 (40, 55)	53 ± 30 (40, 66)	49 ± 23 (38, 61)
Fosforemia, mg/dl	3.2 ± 0.6 (2.9, 3.4)	3.2 ± 1.3 (2.6, 3.8)	3.1 ± 0.3 (2.9, 3.3)
Magnesiemia, mg/dl	1.9 ± 0.2 (1.7, 1.9)*	1.8 ± 0.1 (1.8, 1.9)*	1.6 ± 0.2 (1.5, 1.7)
PTH, pg/ml	135 ± 70 (108, 161)	102 ± 47 (82, 123)	191 ± 181 (103, 279) [§]
Magnesiuria, mg/24 h	87 ± 53 (66, 109)	77 ± 33 (62, 91)	91 ± 49 (67, 116)
FEMg, %	8.0 ± 4.2 (6.3, 9.7)	6.8 ± 3.6 (5.2, 8.3)	8.0 ± 3.6 (6.1, 9.8)
PCR, mg/L	4.14 ± 4.53 (2.35, 5.93)	4.76 ± 9.61 (0.61, 8.92)	3.68 ± 3.25 (1.71, 5.65)
Omocisteina, µMol/L	19.5 ± 7.1 (16.7, 22.4)	20.0 ± 6.2 (17.0, 23.0)	23.0 ± 12.2 (15.9, 30.0)
Colesterolo, mg/dl	209 ± 39 (194, 223)	203 ± 37 (187, 219)	203 ± 43 (182, 223)
HDL-colesterolo, mg/dl	45 ± 13 (41, 50)	49 ± 12 (44, 54)	50 ± 14 (43, 57)
LDL-colesterolo, mg/dl	125 ± 30 (113, 136)	127 ± 29 (114, 139)	126 ± 36 (108, 143)
Proteinuria, mg/gr Cr	280 ± 365 (138, 421)	213 ± 262 (99, 326)	328 ± 330 (168, 426)
PAS, mmHg	126 ± 13 (121, 131) [§]	129 ± 9 (125, 133) [§]	141 ± 16 (133, 149)
PAD, mmHg	78 ± 12 (73, 83)	78 ± 6 (75, 80)	80 ± 8 (76, 84)
CAA, score	0.1 ± 0.3 (0.02, 0.27)	4.2 ± 2.8 (2.9, 5.4)*	13.7 ± 6.2 (10.7, 16.7)*
IMT, mm	1.07 ± 0.27 (0.95, 1.18)	1.37 ± 0.45 (1.14, 1.59)	1.69 ± 0.55 (1.39, 1.98)*
iMCVS, gr/m ²	108 ± 27 (97, 118)	132 ± 44 (111, 152) [§]	139 ± 23 (127, 150) [§]
Statine, % pts	47	39	78

P con il test di Bonferroni: [§] <0.05 ; [^] <0.01 ; * <0.001 . In parentesi intervallo di confidenza al 95%. Per abbreviazioni vedi Tabella I; PCR, proteina C-reattiva.

Tab. IV: Principali caratteristiche per terzili dello score delle CAA

Discussione

I risultati del nostro studio, che per quanto ne sappiamo sono i primi in tale ambito, confermano che nei RTRs i bassi livelli di Mg sono un reperto frequente e che si associano ad una maggiore entità delle CAA risultando, insieme all'IMT, un fattore predittivo per queste ultime. I bassi livelli di Mg non sembrano essere associati alla entità dell'escrezione urinaria di Mg o all'impiego di diuretici e IPP, mentre non chiara è la loro associazione con l'impiego degli CNI.

Nel paziente in dialisi, come nel RTR, la rigidità vascolare è stata identificata come un fattore di rischio indipendente per la mortalità cardiovascolare [6,35]. Nei pazienti con MRC una importante causa di aumentata rigidità vascolare sono le calcificazioni vascolari: la loro presenza si associa ad un incremento della PAS e ad un incremento della PWV >40%, responsabili della ipertrofia ventricolare sinistra [6]. Negli ultimi anni sono sempre più gli studi che dimostrano una forte associazione tra bassi livelli di Mg e danno vascolare. Nei ratti la carenza dietetica di Mg aumenta il danno e la rigidità vascolare [36] e favorisce una elevata PWV nei pazienti ipertesi [37]. Inoltre, bassi livelli di Mg si associano ad un incremento dello spessore medio-intimale carotideo [38].

Recentemente il Mg ha suscitato grande interesse per il ruolo inibitorio che avrebbe sulle calcificazioni vascolari [15]. Visto il frequente riscontro di bassi livelli di Mg nei RTRs [31] abbiamo voluto verificare una eventuale associazione tra danno vascolare, espresso in termini di score delle CAA e IMT, e livelli di Mg in questa popolazione. La maggioranza dei RTRs sembra sviluppare l'ipomagnesiemia entro le prime settimane e mesi dal trapianto, con un nadir intorno al secondo mese [31]; per tale motivo, uno dei criteri di inclusione nel nostro studio era una età del trapianto maggiore a 6 mesi. Nella nostra popolazione i livelli medi di Mg erano di 1.81 mg/dl ed il 32% aveva livelli bassi, definiti come Mg <1.8 mg/dl. Uno dei motivi del frequente riscontro di bassi livelli di Mg nei RTRs è la terapia immunosoppressiva con gli inibitori delle calcineurine che inducono una perdita urinaria di Mg [39]. Gli CNI determinerebbero infatti una sottoregolazione a livello del tubulo collettore distale del fattore di crescita dell'epidermide [40] e del TRMP6, con conseguente riduzione del riassorbimento di Mg [41]. Altre cause dei ridotti livelli di Mg sono lo scarso introito dietetico e l'uso di farmaci diuretici e IPP [31]. Numerosi studi in vitro hanno mostrato che il Mg inibisce le calcificazioni delle cellule muscolari lisce indotte dalla esposizione ad elevati livelli di fosfati [16-20]. L'aggiunta di Mg a cellule muscolari lisce vascolari aumenta l'espressione di proteine anti-calcificanti, quali la matrix G1a, la BMP7 (bone morphogenetic protein-7) e l'osteopontina [42]. Inoltre l'aggiunta di Mg a cellule muscolari lisce vascolari riduce l'attività della via Wnt/ β -catenina. Questa via è essenziale per la trasformazione osteogenica delle cellule mesenchimali multipotenti ed è attivata durante lo sviluppo di calcificazioni vascolari [42]. Un altro meccanismo attraverso cui il Mg potrebbe inibire le calcificazioni vascolari è quello di sopprimere la secrezione di PTH, che ha dimostrato di aumentare le calcificazioni vascolari negli animali da esperimento [43]. Nei pazienti in emodialisi e dialisi peritoneale è stata dimostrata una correlazione inversa tra livelli di PTH e Mg indipendente dalla calcemia [44,45]. Anche nei nostri pazienti si registrava una significativa correlazione inversa tra i livelli di PTH e quelli del Mg; i pazienti nel I terzile per livelli di Mg, quindi con livelli più bassi, presentavano livelli di PTH tendenzialmente più elevati rispetto agli altri due terzili, anche se questa differenza non raggiungeva la significatività statistica.

Due recenti studi in vivo hanno utilizzato come modello ratti con nefrectomia 5/6 ed hanno confermato che la supplementazione di Mg, sia per via orale che intraperitoneale, previene le calcificazioni vascolari [24,25]. Nei pazienti con MRC stadio 3-4 o in dialisi pochi studi hanno dimostrato l'efficacia clinica della supplementazione di Mg, sottoforma di ossido di magnesio o di magnesio carbonato, nel rallentare la progressione delle calcificazioni vascolari [26-28]. Nel paziente con trapianto renale una riduzione del propensity score T_{50} si associa ad un aumentato rischio di mortalità per tutte le cause e per problemi cardiovascolari [29]. In questo studio i pazienti con più elevati livelli di Mg avevano un più elevato T_{50} , quindi un minor rischio di sviluppare calcificazioni [29]. Non vi sono lavori che abbiano dimostrato una associazione tra bassi livelli di Mg e calcificazioni vascolari nel paziente con trapianto renale, a differenza di quanto riportato nei pazienti in dialisi [2,21,44,46]. Soltanto in un lavoro osservazionale retrospettivo condotto su un gruppo di RTRs, in particolare nei pazienti con età >55 anni, si registrava una maggiore rigidità vascolare, valutata con la PWV, con la riduzione dei livelli di Mg; tale associazione si confermava anche dopo l'aggiustamento per fattori quali età, diabete, pressione arteriosa e PCR [30]. Nel nostro studio i livelli di Mg erano significativamente correlati con l'entità delle calcificazioni vascolari, risultando un significativo fattore predittivo indipendente per lo score per le CAA. Inoltre i pazienti nel terzile più alto (Mg >1.9 mg/dl) presentavano uno score per le CAA significativamente minore rispetto a quelli nel terzile più basso (Mg <1.7 mg/dl) a parità di età anagrafica e dialitica. Tra i vari terzili non vi erano differenze significative per quanto riguarda la FEMg e la percentuale di pazienti in trattamento con CNI, diuretici e IPP. Sebbene le percentuali dei pazienti trattati con CNI fosse sovrapponibile tra i tre terzili, vi era una differenza significativa

per i livelli di Mg tra i pazienti trattati con CNI e mTOR: essi risultavano significativamente più alti nel gruppo trattato con mTOR in assenza di significative differenze per la FEMg. Questi dati sono in accordo con precedenti studi clinici in cui i RTRs randomizzati al sirolimus vs ciclosporina avevano in media livelli sierici di Mg più elevati [47, 48]. Nei pazienti con trapianto renale è stata dimostrata anche una associazione tra infiammazione (PCR) e rigidità vascolare [49] e il fatto che infiammazione e stress ossidativo hanno un ruolo critico nelle calcificazioni vascolari [50]. In studi trasversali condotti sull'uomo sano, la deplezione di Mg è stata inoltre associata ad infiammazione [51]. Nella nostra esperienza non abbiamo trovato alcuna correlazione tra livelli di PCR e CAA e IMT, anche quando questa correlazione è stata valutata con il logaritmo della PCR. Probabilmente questo dato è da ricondurre al fatto che la maggioranza dei nostri pazienti aveva livelli di PCR nella norma.

Le calcificazioni vascolari nei RTRs, quando presenti, non regrediscono ma al contrario tendono a progredire [8-11]. La progressione delle calcificazioni vascolari è significativa a 4 anni dal trapianto ed è associata a fattori di rischio cardiovascolari tradizionali e non tradizionali, alcuni dei quali potenzialmente modificabili [52]. Vista l'importanza dello studio della presenza ed evoluzione delle calcificazioni vascolari, sono state proposte varie tecniche radiologiche per la loro valutazione nella pratica clinica quotidiana. Sebbene la tomografia computerizzata (TC) multistrato o a fascio di elettroni rimanga il golden standard nello studio delle calcificazioni vascolari, la radiografia della colonna lombare in laterale è meno costosa, rapidamente disponibile, facile da eseguire e associata ad una esposizione alle radiazioni più bassa della TC convenzionale e simile a quella della TC a basse dosi di radiazione [53]. Inoltre, Bellasi et al. [54] hanno trovato una significativa correlazione tra lo score delle calcificazioni vascolari valutato con la TC e quello valutato con la radiografia laterale della colonna lombare. Pertanto, così come suggerito dalle linee guida KDOQI [55] e KDIGO [56], una semplice radiografia per la valutazione dello score per le calcificazioni vascolari, possibilmente con la metodica di Kauppila et al [32], potrebbe essere un utile strumento per predire alcuni outcomes nei RTRs. Il 52% dei nostri pazienti aveva CAA lievi (score 2-8) o CAA da moderate a gravi (score >8-24), una percentuale questa in linea con precedenti studi condotti nei RTRs, dove la presenza di calcificazioni vascolari è stata riscontrata nel 24%-80% dei casi [52,57]. Nel nostro studio l'IMT era fortemente correlato con l'entità delle CAA e dalla analisi della regressione lineare risultava essere uno dei fattori predittivi più importanti per l'entità delle CAA. L'ultrasuonografia B-mode delle arterie carotidee fornisce uno strumento valido, non invasivo e riproducibile, per identificare le placche e quantificare l'IMT, due aspetti che sono ampiamente riconosciuti come markers della aterosclerosi ed arteriosclerosi in grado di predire gli eventi cardiovascolari indipendentemente dalla presenza di fattori di rischio tradizionali [58]. Inoltre, l'IMT sembrerebbe predire il rischio di un futuro evento cardiovascolare in modo più accurato dei soli fattori di rischio tradizionali [59]. Nei pazienti trapiantati la PWV e le CAA, studiate con radiografia lombare, rappresentano dei forti predittori per futuri eventi cardiovascolari [52,60]. Nella popolazione generale ipertesa la PWV, quindi la rigidità arteriosa, è correlata con l'IMT [61]. Quindi è ipotizzabile che i nostri pazienti con elevato IMT e presenza di CAA siano quelli con una PWV maggiore e quindi maggiormente esposti a possibili eventi cardiovascolari come riportato in precedenti lavori [30,52]. Nel nostro studio l'IMT era significativamente correlato non solo con lo score per le CAA ma anche con l'iMCVS e la PAS, complicanze queste che rappresentano importanti fattori di rischio per eventi cardiovascolari [62,63]. Pertanto, l'impiego della radiografia lombare laterale per la valutazione delle CAA associata alla misurazione dell'IMT, due indagini di rapida e facile esecuzione, sembrano strumenti utili per migliorare la stratificazione dei RTRs per il rischio di eventi cardiovascolari ed eventualmente per individuare quei fattori di rischio di danno vascolare potenzialmente modificabili.

Il nostro studio ha alcune importanti limitazioni, sebbene abbia il pregio di essere uno dei primi

studi ad essersi occupato della relazione tra Mg e danno vascolare nei RTRs con un insieme di dati strumentali e di laboratorio come in poche altre esperienze, in particolare non si è limitato a valutare il solo Mg sierico ma anche quello urinario. Tra le principali limitazioni vi è, in primo luogo, la natura trasversale dello studio, che non consente di trarre conclusioni su una possibile relazione di causa-effetto tra Mg e CAA (anche se è dimostrato che bassi livelli sierici di Mg aumentano l'infiammazione, la disfunzione endoteliale e lo stress ossidativo, cause di danno vascolare). In secondo luogo, vi è la scarsa numerosità della popolazione studiata. In terzo luogo, dobbiamo menzionare la mancanza dello score per le CAA nel pre-trapianto, anche se la determinazione di questo score esulava dallo scopo del nostro studio, il quale essenzialmente mirava a stabilire una potenziale relazione tra score per le CAA e livelli di Mg in una popolazione di RTRs in condizioni stabili e con un minor numero di fattori confondenti rispetto al periodo pre-trapianto (quali sovraccarico di volume, anemia ed iperfosforemia). In ultimo è da sottolineare che la determinazione dei livelli di Mg extracellulare (una piccola quota del contenuto totale di Mg nel nostro organismo) non è rappresentativo del patrimonio complessivo di Mg. Tuttavia c'è da sottolineare che è stata descritta una buona correlazione tra livelli di Mg extracellulare e intracellulare utilizzando una tecnica affidabile quale la spettroscopia di risonanza magnetica del fosforo (^{31}P) [64]. La superiorità della determinazione del Mg intracellulare nei leucociti ed eritrociti sulla classica misurazione del Mg extracellulare rimane ancora controversa [65] ed ampiamente inesplorata nel trapianto renale, rendendo l'impiego di misurazioni alternative del patrimonio totale di Mg una opzione non fondamentale.

Conclusioni

A nostra conoscenza questo studio è il primo a dimostrare che bassi livelli sierici di Mg si associano ad un aumento delle CAA nel trapianto renale. In futuro, altri studi dovrebbero essere diretti a valutare i potenziali effetti benefici nel lungo termine della supplementazione con Mg sulla progressione delle CAA nei RTRs, così come è avvenuto nei pazienti con stadio 3-4 di MRC, vista la economicità e sicurezza di questo provvedimento. Un altro aspetto da prendere in considerazione in futuro è quello di valutare se la supplementazione con Mg migliora alcuni importanti outcomes quali eventi cardiovascolari e mortalità nel trapianto renale. Inoltre, saranno necessari studi longitudinali che forniscano ulteriori informazioni sui potenziali legami tra bassi livelli di Mg e calcificazioni vascolari nei RTRs.

BIBLIOGRAFIA

1. Levey AS, Beto JA, Coronado BE, et al. Controlling the epidemic of cardiovascular disease in chronic renal disease: what do we know? What do we need to learn? Where do we go from here? National Kidney Foundation Task Force on Cardiovascular Disease. *Am J Kidney Dis* 1998; 32(5): 853-906.
2. Jardine AG, McLaughlin K. Cardiovascular complications of renal disease. *Heart* 2001; 86(4): 459-66.
3. Kasiske BL, Guijarro C, Massy ZA, et al. Cardiovascular disease after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol* 1996; 7(1): 158-65.
4. Farrugia D, Cheshire J, Begaj I, et al. Death within the first year after kidney transplantation—an observational cohort study. *Transpl Int* 2014; 27(3):262-70.
5. Collins AJ, Foley RN, Chavers B, et al. US Renal Data System 2013 Annual Data Report. *Am J Kidney Dis* 2014; 63(S1):A7.
6. Guérin AP, London GM, Marchais SJ, et al. Arterial stiffening and vascular calcifications in end-stage renal disease. *Nephrol Dial Transplant* 2000; 15(7):1014-21.
7. London GM, Guérin AP, Marchais SJ, et al. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant* 2003; 18(9):1731-40.
8. Gulcicek S, Zoccali C, Olgun DC, et al. Long-Term Progression of Coronary Artery Calcification Is Independent of Classical Risk Factors, C-Reactive Protein, and Parathyroid Hormone in Renal Transplant Patients. *Cardiorenal Med* 2017; 7(4):284-94.
9. Maréchal C, Coche E, Goffin E, et al. Progression of coronary artery calcification and thoracic aorta calcification in kidney transplant recipients. *Am J Kidney Dis* 2012; 59(2):258-69.
10. Mazzaferro S, Pasquali M, Taggi F, et al. Progression of coronary artery calcification in renal transplantation and the role of secondary hyperparathyroidism and inflammation. *Clin J Am Soc Nephrol* 2009; 4(3):685-90.
11. Oschatz E, Benesch T, Kodras K, et al. Changes of coronary calcification after kidney transplantation. *Am J Kidney Dis* 2006; 48(2):307-13.
12. DeLoach SS, Joffe MM, Mai X, et al. Aortic calcification predicts cardiovascular events and all-cause mortality in renal transplantation. *Nephrol Dial Transplant* 2009; 24(4):1314-19.
13. Nguyen PT, Henrard S, Coche E, et al. M. Coronary artery calcification: a strong predictor of cardiovascular events in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2010; 25(11):3773-8.
14. Roe P, Wolfe M, Joffe M, et al. Inflammation, coronary artery calcification and cardiovascular events in incident renal transplant recipients. *Atherosclerosis* 2010; 212(2):589-94.
15. Ter Braake AD, Shanahan CM, de Baaij JHF. Magnesium counteracts vascular calcification: Passive interference or active modulation? *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2017; 37(8):1431-45.
16. Louvet L, Büchel J, Steppan S, et al. Magnesium prevents phosphate-induced calcification in human aortic vascular smooth muscle cells. *Nephrol Dial Transplant* 2013; 28(4):869-78.
17. Bai Y, Zhang J, Xu J, et al. Magnesium prevents β -glycerophosphate-induced calcification in rat aortic vascular smooth muscle cells. *Biomed Rep* 2015; 3(4):593-7.
18. Louvet L, Metzinger L, Büchel J, et al. Magnesium attenuates phosphate-induced deregulation of a microRNA signature and prevents modulation of Smad1 and Osterix during the course of vascular calcification. *BioMed Res Int* 2016; 2016: 7419524.
19. Sonou T, Ohya M, Yashiro M, et al. Magnesium prevents phosphate-induced vascular calcification via TRPM7 and Pit-1 in an aortic tissue culture model. *Hypertens Res* 2017; 40(6): 562-7.
20. ter Braake AD, Tinnemans PT, Shanahan CM, et al. Magnesium prevents vascular calcification in vitro by inhibition of hydroxyapatite crystal formation. *Sci Rep* 2018; 8(1):2069.
21. Ishimura E, Okuno S, Kitatani K, et al. Significant association between the presence of peripheral vascular calcification and lower serum magnesium in hemodialysis patients. *Clin Nephrol* 2007; 68(4):222-7.
22. Meema HE, Oreopoulos DG, Rapoport A. Serum magnesium level and arterial calcification in end-stage renal disease. *Kidney Int* 1987; 32(3):388-94.
23. Molnar AO, Biyani M, Hammond I, et al. Lower serum magnesium is associated with vascular calcification in peritoneal dialysis patients: a cross sectional study. *BMC Nephrol* 2017; 18(1):129.
24. Diaz-Tocados JM, Peralta-Ramirez A, Rodríguez-Ortiz ME, et al. Dietary magnesium supplementation prevents and reverses vascular and soft tissue calcifications in uremic rats. *Kidney Int* 2017; 92(5):1084-99.
25. Kaesler N, Goettsch C, Weis D, et al. Magnesium but not nicotinamide prevents vascular calcification in experimental uraemia. *Nephrol Dial Transplant* 2020; 35(1):65-73.
26. Sakaguchi Y, Hamano T, Obi Y, et al. A Randomized Trial of Magnesium Oxide and Oral Carbon Adsorbent for Coronary Artery Calcification in Predialysis CKD. *J Am Soc Nephrol* 2019; 30(6):1073-85.
27. Spiegel DM, Farmer B. Long-term effects of magnesium carbonate on coronary artery calcification and bone mineral density in hemodialysis patients: A pilot study. *Hemodial Int* 2009; 13(4):453-9.
28. Tzanakis IP, Stamataki EE, Papadaki AN, et al. Magnesium retards the progress of the arterial

- calcifications in hemodialysis patients: A pilot study. *Int Urol Nephrol* 2014; 46(11):2199-205.
29. Keyzer CA, de Borst MH, van den Berg E, et al. Calcification Propensity and Survival among Renal Transplant Recipients. *J Am Soc Nephrol* 2016; 27(1):239-48.
 30. Van Laecke S, Maréchal C, Verbeke F, et al. The relation between hypomagnesaemia and vascular stiffness in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2011; 26(7):2362-9.
 31. Van Laecke S, Van Biesen W. Hypomagnesaemia in kidney transplantation. *Transplant Rev (Orlando)* 2015; 2(3):154-60.
 32. Kauppila LI, Polak JF, Cupples LA, et al. New indices to classify location, severity and progression of calcific lesions in the abdominal aorta: a 25-year follow-up study. *Atherosclerosis* 1997; 132(2):245-50.
 33. Lang RM, Bierig M, Devereux RB, et al. Recommendations for chamber quantification: a report from the American Society of Echocardiography's Guidelines and Standards Committee and the Chamber Quantification Writing Group, developed in conjunction with the European Association of Echocardiography, a branch of the European Society of Cardiology. *J Am Soc Echocardiogr* 2005; 18(12):1440-63.
 34. Levey AS, Stevens LA, Schmid CH, et al. A New Equation to Estimate Glomerular Filtration Rate. *Ann Intern Med* 2009; 150(9):604-12.
 35. Cheddani L, Radulescu C, Chaignon M, et al. From arterial stiffness to kidney graft microvasculature: Mortality and graft survival within a cohort of 220 kidney transplant recipients. *PLoS One* 2018; 13(5):e0195928.
 36. Adrian M, Chanut E, Laurant P et al. A long-term moderate magnesium-deficient diet aggravates cardiovascular risks associated with aging and increases mortality in rats. *J Hypertens* 2008; 26(1):44-52.
 37. Resnick LM, Militianu D, Cunnings AJ, et al. Direct magnetic resonance determination of aortic distensibility in essential hypertension: relation to age, abdominal visceral fat, and in situ intracellular free magnesium. *Hypertension* 1997; 30(3 Pt 2):654-9.
 38. Hashimoto T, Hara A, Ohkubo T, et al. Serum magnesium, ambulatory blood pressure, and carotid artery alteration: the Ohasama study. *Am J Hypertens* 2010; 23(12):1292-8.
 39. Mazzola BL, Vannini SDP, Truttmann AC, et al. Long-term calcineurin inhibition and magnesium balance after renal transplantation. *Transpl Int* 2003; 16(2):76-81.
 40. Ledeganck KJ, De Winter BY, Van den Driessche A, et al. Magnesium loss in cyclosporine-treated patients is related to renal epidermal growth factor downregulation. *Nephrol Dial Transplant* 2014; 29(5):1097-102.
 41. Nijenhuis T, Hoenderop JGJ, Bindels RJM. Downregulation of Ca(2+) and Mg(2+) transport proteins in the kidney explains tacrolimus (FK506)-induced hypercalciuria and hypomagnesemia. *J Am Soc Nephrol* 2004; 15(3):549-57.
 42. de Oca AM, Guerrero F, Martinez-Moreno JM, et al. Magnesium inhibits Wnt/ β -catenin activity and reverses the osteogenic transformation of vascular smooth muscle cells. *PLoS One* 2014; 9(2):e89525.
 43. Neves KR, Gracioli FG, dos Reis LM, et al. Vascular calcification: contribution of parathyroid hormone in renal failure. *Kidney Int* 2007; 71(12):1262-70.
 44. Navarro JF, Mora C, Jiménez A, et al. Relationship between serum magnesium and parathyroid hormone levels in hemodialysis patients. *Am J Kidney Dis* 1999; 34(1):43-8.
 45. Navarro JF, Mora C, Macia M, et al. Serum magnesium concentration is an independent predictor of parathyroid hormone levels in peritoneal dialysis patients. *Perit Dial Int* 1999; 19(5):455-61.
 46. Molnar AO, Biyani M, Hammond I, et al. Lower serum magnesium is associated with vascular calcification in peritoneal dialysis patients: a cross sectional study. *BMC Nephrol* 2017; 18(1):129.
 47. Charpentier B, Groth CG, Bäckman L, et al. Bicêtre hospital experience with sirolimus-based therapy in human renal transplantation: the sirolimus European renal transplant study. *Transplant Proc* 2003; 35(S3):585-61S.
 48. Morales JM, Wramner L, Kreis H, et al. Sirolimus does Not exhibit nephrotoxicity compared to cyclosporine in renal transplant recipients. *Am J Transplant* 2002; 2(5):436-42.
 49. Verbeke F, Van Biesen W, Peeters P et al. Arterial stiffness and wave reflections in renal transplant recipients. *Nephrol Dial Transplant* 2007; 22(10):3021-7.
 50. Kurabayashi M. [Molecular mechanism of vascular calcification.] *Clin Calcium* 2019; 29(2):157-63.
 51. Rodriguez-Moran M, Guerrero-Romero F. Serum magnesium and C-reactive protein levels. *Arch Dis Child* 2008; 93(8):676-80.
 52. Claes KJ, Heye S, Bammens B, et al. Aortic calcifications and arterial stiffness as predictors of cardiovascular events in incident renal transplant recipients. *Transpl Int* 2013; 26(10):973-81.
 53. Ketteler M, Biggar PH. Review article: getting the balance right: assessing causes and extent of vascular calcification in chronic kidney disease. *Nephrology (Carlton)* 2009; 14(4):389-94.
 54. Bellasi A, Ferramosca E, Muntner P, et al. Correlation of simple imaging tests and coronary artery calcium measured by computed tomography in hemodialysis patients. *Kidney Int* 2006; 70(9):1623-8.
 55. National Kidney Foundation. K/DOQI clinical practice guidelines for bone metabolism and disease in chronic kidney disease. *Am J Kidney Dis* 2003; 42(4S3):S1-201.
 56. Moe S, Drüeke T, Cunningham J, et al. Definition, evaluation, and classification of renal osteodystrophy: a position statement from Kidney Disease: Improving

- Global Outcomes (KDIGO). *Kidney Int* 2006; 69(11):1945-53.
57. Hernández D, Rufino M, Bartolomei S, et al. Clinical impact of preexisting vascular calcifications on mortality after renal transplantation. *Kidney Int* 2005; 67(5):2015-20.
58. Simon A, Garipey J, Chironi G, et al. Intima-media thickness: a new tool for diagnosis and treatment of cardiovascular risk. *J Hypertens* 2002; 20(2):159-69.
59. O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, et al. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults. Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med* 1999; 340(1):14-22.
60. Barenbrock M, Kosch M, Joster E et al. Reduced arterial distensibility is a predictor of cardiovascular disease in patients after renal transplantation. *J Hypertens* 2002; 20(1):79-84.
61. Zhao X, Bo L, Zhao H, et al. Descriptive study of the relationship between the subclinical carotid disease and biomarkers, carotid femoral pulse wave velocity in patients with hypertension. *Clin Exp Hypertens* 2018; 40(3):274-80.
62. Malyala R, Rapi L, Nash MM, et al. Pre-Transplant Left Ventricular Geometry and Major Adverse Cardiovascular Events After Kidney Transplantation. *Ann Transplant* 2019; 24:100-7.
63. Weir MR, Burgess ED, Cooper JE, et al. Assessment and management of hypertension in transplant patients. *J Am Soc Nephrol* 2015; 26(6):1248-60.
64. Ryzen E, Servis KL, DeRusso P, et al. Determination of intracellular free magnesium by nuclear magnetic resonance in human magnesium deficiency. *J Am Coll Nutr* 1989; 8(6):580-7.
65. Arnaud MJ. Update on the assessment of magnesium status. *Br J Nutr* 2008; 99(S3):S24-36.