

Rola osteoprotegryny w chorobach sercowo-naczyniowych *The significance of osteoprotegerin in cardiovascular diseases*

Lidia Kilińska¹, Paweł Bogdański¹, Monika Szulińska¹, Ewa Miller-Kasprzak²,
Danuta Pupek-Musialik¹, Anna Jabłecka³

¹ Klinika Chorób Wewnętrznych, Zaburzeń Metabolicznych i Nadciśnienia Tętniczego, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

² Katedra i Zakład Biochemii i Biologii Molekularnej, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

³ Zakład Farmakologii Klinicznej Katedry Kardiologii, Uniwersytet Medyczny w Poznaniu

Streszczenie

Związek patologii kości z miażdżycą zapoczątkował poszukiwania wspólnych mediatorów łączących układy szkieletowy i naczyniowy. Osteoprotegryna jako kluczowy regulator metabolizmu kości stała się obiektem intensywnego zainteresowania ze względu na jej rolę w chorobach naczyniowych i w procesach odkładania depozytów wapniowych w ścianach naczyń. Doświadczenia *in vitro* oraz badania *in vivo* prowadzone na zwierzętach wskazują na udział osteoprotegryny w przeciwdziałaniu rozwojowi blaszki miażdżycowej. Jednakże w badaniach klinicznych stwierdzono występowanie dodatniej korelacji pomiędzy poziomem osteoprotegryny w surowicy a kalcyfikacją naczyń, chorobą wieńcową, zawałem czy ryzykiem sercowo-naczyniowym. Powyższe badania stały się przedmiotem intensywnej dyskusji o potencjale osteoprotegryny jako biomarkera w chorobach sercowo-naczyniowych i podstawą do poszukiwania dokładnego znaczenia i mechanizmów oddziaływania tego białka. W świetle najnowszych publikacji osteoprotegryna pozostaje nie tylko wskaźnikiem, ale również mediatorem zmian patologicznych naczyń, modulującym osteogenezę, odpowiedź zapalną i apoptozę. (*Farm Współ* 2009; 2: 151-155)

Słowa kluczowe: osteoprotegryna, miażdżycy, choroby sercowo-naczyniowe, zapalenie

Summary

Osteoprotegerin (OPG) has recently been considered as a possible link between bone and vascular disease. OPG increases bone mineral density by its well-established capacity to inhibit osteoclast differentiation and regulate bone remodeling. Studies *in vitro* and in animal models suggest that OPG inhibits vascular calcification. Elevated serum OPG levels have been reported in patients with vascular calcification, coronary artery disease, stroke and future cardiovascular events. This has led to a debate on the potential of OPG as a biomarker of vascular disease and to search the exact significance and mechanisms of its vascular impact. Previous studies have considered OPG not only as a biomarker, but also as a mediator of a vascular pathology modulating osteogenic, inflammatory and apoptotic responses. (*Farm Współ* 2009; 2: 151-155)

Keywords: osteoprotegerin, atherosclerosis, cardiovascular disease, inflammation

Znany jest związek patologii kości i chorób sercowo-naczyniowych [1-5]. Obserwuje się zjawisko współwystępowania osteoporozy i chorób układu sercowo-naczyniowego, szczególnie u kobiet po menopauzie [6-7]. Najnowsze odkrycia sugerują, że istnieją szlaki

biochemiczne, które warunkują zarówno metabolizm kości, jak i przemiany błony mięśniowej naczyń krwionośnych. Odkrycie w 1997 roku glikoproteiny o nazwie osteoprotegryna (ang. *osteoprotegerin*, OPG) i potwierdzenie jej kluczowej roli w metabolizmie kości ukazało

nowe spojrzenie na ten problem [8]. W doświadczeniach na myszach ze inaktywowanym genem dla osteoprotegryny wykazano częstsze występowanie osteoporozy i odkładania depozytów wapnia w warstwie mięśniowej naczyń krwionośnych. Paradoksalnie badania kliniczne dowodzą, że u pacjentów występuje dodatnia korelacja pomiędzy poziomem osteoprotegryny w surowicy krwi i manifestacją chorób sercowo-naczyniowych. Niewyjaśnionym pozostaje, czy zwiększone stężenie markera uszkodzenia naczyń, jakim jest osteoprotegryna, to mechanizm mający na celu ograniczenie rozwoju chorób naczyniowych, czy też może glikoproteina ta aktywnie przyczynia się do progresji tych chorób.

System OPG/RANK/RANKL/TRAIL

Osteoprotegryna jest glikoproteiną należącą do rodziny receptorów czynników martwicy nowotworów (TNFR - ang. *Tumor Necrosis Factor Receptor*) powszechnie występującą w organizmie. Jest produkowana między innymi przez serce, naczynia krwionośne, jelita, kości oraz komórki hematopoetyczne i odpornościowe. Razem z aktywującym jądrowy czynnik NF- κ B (NF- κ B - ang. *Nuclear Factor kappa B*) receptorem o nazwie RANK (RANK - ang. *Receptor Activator of NF κ B*) oraz jego ligandem RANKL (RANKL - ang. *Receptor Activator of NF- κ B ligand*) osteoprotegryna bierze udział w szlaku biochemicznym regulującym różnicowanie i aktywację osteoklastów, co z kolei warunkuje równowagę między osteogenezą i osteolizą [9-11]. RANKL jest produkowany przez osteoblastyczną linię komórek (przez dojrzałe osteoblasty i ich prekursorzy) oraz przez zaktywowane limfocyty T [12]. Jest to czynnik aktywujący cały proces tworzenia dojrzałych osteoklastów: różnicowanie, fuzję, funkcjonowanie oraz przeżywanie komórek resorpcji kości. Działa on poprzez receptor RANK znajdujący się na powierzchni osteoklastów. W odpowiedzi na aktywację RANK poprzez RANKL dojrzewający osteoklast ulega zmianom strukturalnym i metabolicznym, które umożliwiają mu działanie resorpcyjne. RANKL obecny jest na każdym dalszym etapie osteoklastogenezy. Osteoprotegryna ma zdolność wiązania się z RANKL (stanowi jego rozpuszczalny receptor), co w konsekwencji uniemożliwia wiązanie się RANKL z RANK i prowadzi do zatrzymania całego szlaku dojrzewania osteoklastów już na jego początkowych etapach [8,13-14].

Oprócz tego osteoprotegryna jest także zdolna

do wiązania się do białka błonowego TRAIL (TNF - *related apoptosis-inducing ligand*) i tym samym neutralizacji jego pro-apoptotycznego działania. TRAIL ulega ekspresji na komórkach mięśni gładkich i komórkach T.

Modele zwierzęce

Badania wskazują, że u myszy pozbawionych genu dla osteoprotegryny, czyli u modeli (OPG^{-/-}) procesy tworzenia blaszek miażdżycowych zachodzą dużo szybciej i intensywniej niż u osobników typu dzikiego. Depozyty wapnia odkładają się u nich w cytoplazmie komórek mięśniowych i macierzy zewnątrzkomórkowej mięśniówki naczyń krwionośnych. Rozważa się różne szlaki uczestniczące w tym procesie. Badania podkreślają, że brak osteoprotegryny u myszy zwiększa aktywność fosfatazy zasadowej, co koreluje ze stopniem zwapnienia aorty [15]. Dowiedziono również, że inaktywacja osteoprotegryny u myszy zwiększa obszary naczyń zajętych procesem miażdżycowym poprzez zmniejszenie liczby komórek mięśniowych i zastąpienie ich tkanką łączną [16].

Rola osteoprotegryny w chorobach sercowo-naczyniowych

Miażdżycy jest przedmiotem badań od lat i etiologia tego schorzenia jest wieloczynnikowa. Powstanie blaszki miażdżycowej jest kaskadą wydarzeń zapoczątkowanych uszkodzeniem śródbłonna, prowadzącym do przechodzenia monocytów pod śródbłonek i przekształcenia ich w makrofagi, a następnie w komórki piankowe zawierające cholesterol, jak również do rozrostu komórek mięśni gładkich w błonie wewnętrznej. Pod wpływem wydzielanych cytokin i produkcji innych białek, dochodzi do ogniskowego wapnienia w blaszce miażdżycowej. W podeszłym wieku obserwuje się masywne wapnienie a ściana tętnic staje się twarda i krucha. Doniesienia o przeciwdziałaniu tworzeniu blaszek miażdżycowych u myszy przez osteoprotegrynę skłoniły badaczy do poszukiwań roli tego białka w rozwoju miażdżycy. Tymczasem większość badań klinicznych sugerowała zwiększenie stężenia osteoprotegryny w chorobach, rozwijających się na skutek nasilenia procesu miażdżycowego takich jak choroba wieńcowa, nadciśnienie tętnicze i cukrzyca.

Uważa się, że w naczyniach krwionośnych głównym źródłem osteoprotegryny są komórki mięśni

gładkich. Zwiększona ekspresja osteoprotegryny może być wykładnikiem uszkodzenia śródbłonna, rozrostu komórek mięśni gładkich błony wewnętrznej i zaawansowanego wapnienia płytki miażdżycowej. I tak też dzieje się w nadciśnieniu tętniczym czy też cukrzycy, w których stwierdza się nasiloną produkcję i uwalnianie osteoprotegryny w układzie krążenia. Skoro zakłada się protekcyjną funkcję tego białka, mającego jakoby zapobiegać tworzeniu się blaszki miażdżycowej, to można przypuszczać, że wzrost jego poziomu we krwi w chorobach sercowo-naczyniowych reprezentuje niewydolność mechanizmu kompensacyjnego [17]. Indukcyjny wpływ na wydzielanie osteoprotegryny, wydaje się mieć proces zapalny. Jak wykazały liczne badania wzrost stężenia w surowicy czynników prozapalnych jest charakterystyczny dla chorób sercowo-naczyniowych.

Najnowsze publikacje donoszą o istnieniu zależności pomiędzy podwyższonym poziomem osteoprotegryny a głównymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego, takimi jak wiek, cukrzyca, wskaźnik talia-biodro, profil lipidowy, nadciśnienie i stężenie homocysteiny [18-29]. Wykazano zależność pomiędzy stężeniem osteoprotegryny w surowicy a liczbą tętnic wieńcowych zmienionych miażdżycowo, co wskazuje na możliwość stosowania osteoprotegryny jako markera zaawansowania choroby wieńcowej [30-31]. Ponadto dowiedziono, że poza rolą tego białka w tworzeniu blaszki miażdżycowej w tętnicach wieńcowych, może ono indukować rozwój hipertrofii lewej komory i powodować zmniejszenie frakcji wyrzutowej [32-33].

Mechanizmy wyjaśniające naczyniową rolę osteoprotegryny

Mimo iż doświadczenia *in vitro* i badania *in vivo* prowadzone na zwierzętach sugerują, że osteoprotegryna przeciwdziała odkładaniu depozytów wapnia w zmienionych miażdżycowo naczyniach, to kilka doniesień wskazuje na zwiększone stężenie osteoprotegryny u pacjentów z uwapnionymi naczyniami. Prawdopodobnym wyjaśnieniem może być hipoteza interakcji procesów zwiększających produkcję osteoprotegryny, na przykład stanu zapalnego. Czynniki prozapalne, takie jak TNF- α mogą indukować ekspresję osteoprotegryny w komórkach mięśni gładkich i komórkach śródbłonna [34] i włączać się w rozwój kalcyfikacji naczyń poprzez indukcję fosfatazy zasadowej [35-36].

Innymi słowy, czynniki, które stymulują wapnie-

nie komórek mięśni gładkich naczyń, mogą też zwiększać produkcję osteoprotegryny, prawdopodobnie jako mechanizm ochronny, przeciwdziałający procesom kalcyfikacji. Ponadto internalizacja kryształów wapnia przez makrofagi stymuluje sekrecję prozapalnych cytokin zwiększających produkcję osteoprotegryny. Cytokiny nasilają wapnienie ścian tętnic, ale hamują wapnienie kości poprzez odpowiednio stymulację i inhibicję osteogenicznego różnicowania komórek naczyń i osteoblastów. Analogicznie, statyny obniżające produkcję osteoprotegryny indukowaną przez TNF w komórkach naczyń krwionośnych paradoksalnie stymulują wapnienie kości. Mechanizmy przeciwnego efektu czynników takich jak cytokiny i statyny na komórki naczyń i kości pozostają niejasne, jakkolwiek sugeruje się, że w procesach tych biorą udział białka ścieżki sygnałowej OPG/RANK/RANKL.

Liczne publikacje świadczące o korelacjach między osteoprotegryną a głównymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego takimi jak wiek, stężenie HbA1c, wskaźnik talia-biodro, profil lipidowy, nadciśnienie tętnicze i poziom homocysteiny zapewniają częściowe wyjaśnienie podwyższonego stężenia osteoprotegryny w surowicy w chorobach sercowo-naczyniowych [18-29]. Jednakże nawet po eliminacji konwencjonalnych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego poziom osteoprotegryny w surowicy pozostaje niezależnym czynnikiem ryzyka występowania i stopnia zaawansowania chorób sercowo-naczyniowych. Badania kliniczne wskazują na dodatnią korelację podwyższonego stężenia osteoprotegryny ze wzrostem poziomu wskaźników zapalenia (białka C-reaktywnego, fibrynogenu, odczynu Biernackiego) w populacji ogólnej a także w grupach pacjentów z chorobą wieńcową, cukrzycą i reumatoidalnym zapaleniem stawów. Zdolność czynników zapalnych takich, jak TNF α , interleukina-1, płytkopochodny czynnik wzrostu (PDGF - ang. *Platelet-Derived Growth Factor*) do wzmagania ekspresji osteoprotegryny może tłumaczyć dodatnią korelację między stężeniem osteoprotegryny a chorobami sercowo-naczyniowymi. Antyzapalne czynniki takie jak immunosupresanty czy terapia anty-TNF obniżają stężenie osteoprotegryny sugerując, że białko to może być wskaźnikiem procesu zapalnego.

Wnioski

Naczyniowa rola osteoprotegryny jest bardzo złożona i opiera się na wzajemnym oddziaływaniu jej

ligandów, RANKL i TRAIL i dwukierunkowej modulacji procesów osteogenezy, zapalenia i apoptozy [37-38].

Badania prowadzone na zwierzętach wykazały ochronną rolę osteoprotegeryny w zapobieganiu zwężeniu naczyń krwionośnych, wynikającą między innymi z inhibicji zależnego od fosfatazy zasadowej osteogenicznego różnicowania się komórek mięśni ścian naczyń [39-40].

Z drugiej strony, wzrost poziomu osteoprotegeryny w surowicy chorych obserwowany w szeregu zaburzeń sercowo-naczyniowych sugeruje potencjalne zastosowanie tej glikoproteiny jako biomarkera ryzyka i rokowania przebiegu chorób naczyń krwionośnych.

Adres do korespondencji:

Lidia Kilińska
Klinika Chorób Wewnętrznych, Zaburzeń
Metabolicznych i Nadciśnienia Tętniczego
Uniwersytet Medyczny w Poznaniu
ul. Szamarzewskiego 84, 60-569 Poznań
Tel. (+48 61) 854 93 77
E-mail: lidiakilinska@tlen.pl

Piśmiennictwo

1. Bagger YZ, Tanko LB, Alexandersen P, et al. Radiographic measure of aorta calcification is a site-specific predictor of bone loss and fracture risk at the hip. *J Intern Med* 2006;259:598-605.
2. Hak AE, Pols HA, van Hemert AM, et al. Progression of aortic calcification is associated with metacarpal bone loss during menopause: a population-based longitudinal study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2000;20:1926-31.
3. Kiel DP, Kauppila LI, Cupples LA, et al. Bone loss and the progression of abdominal aortic calcification over a 25 year period: the Framingham Heart Study. *Calcif Tissue Int* 2001;68:271-6.
4. Schulz E, Arfai K, Liu X, et al. Aortic calcification and the risk of osteoporosis and fractures. *J Clin Endocrinol Metab* 2004;89:4246-53.
5. Tanko LB, Bagger YZ, Christiansen C. Low bone mineral density in the hip as a marker of advanced atherosclerosis in elderly women. *Calcif Tissue Int* 2003;73:15-20.
6. Barenholts EI, Berman M, Kukreja SC, Kouznetsova T, Lin C, Chomka EV. Osteoporosis and coronary atherosclerosis in asymptomatic postmenopausal women. *Calcif Tissue Int* 1998; 62: 209-213.
7. Shargorodsky M, Boaz M, Luckish A, et al. Osteoprotegerin as an independent marker of subclinical atherosclerosis in osteoporotic postmenopausal women. *Atherosclerosis*. 2009 Jun;204(2):608-11
8. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997;89:309-19.
9. Tsuda E, Goto M, Mochizuki S, et al. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 1997;234:137-42.
10. Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, et al. Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1998;95:3597-602.
11. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998;12:1260-8.
12. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, et al. OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999;397:315-23.
13. Lacey DL, Timms E, Tan HL, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998;93:165-76.
14. Semb AG, Ueland T, Aukrust P, et al. Osteoprotegerin and Soluble Receptor Activator of Nuclear Factor- κ B Ligand and Risk for Coronary Events A Nested Case-Control Approach in the Prospective EPIC-Norfolk Population Study 1993-2003. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2009;29:975-980.
15. Orita Y, Yamamoto H, Kohno N, et al. Role of Osteoprotegerin in Arterial Calcification Development of New Animal Model. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2007;27:2058-2064.
16. Bennett BJ, Scatena M, Kirk EA, et al. Osteoprotegerin Inactivation Accelerates Advanced Atherosclerotic Lesion Progression and Calcification In Older ApoE $-/-$ Mice. *Arterioscler Thromb Vasc Biol* 2006;26:2117-2124.
17. Jono S, Ikari Y, Shioi A, et al. Serum Osteoprotegerin Levels Are Associated With the Presence and Severity of Coronary Artery Disease *Circulation* 2002;106:1192-1194.

18. Abedin M, Omland T, Ueland T, et al. Relation of osteoprotegerin to coronary calcium and aortic plaque (from the Dallas Heart Study). *Am J Kardiol* 2007;99:513–8.
19. Asanuma Y, Chung CP, Oeser A, et al. Serum osteoprotegerin is increased and independently associated with coronary-artery atherosclerosis in patients with rheumatoid arthritis. *Atherosclerosis* 2007;195:e135–41.
20. Anand DV, Lahiri A, Lim E, et al. The relationship between plasma osteoprotegerin levels and coronary artery calcification in uncomplicated type 2 diabetic subjects. *J Am Coll Cardiol* 2006;47:1850–7.
21. Rasmussen LM, Tarnow L, Hansen TK, et al. Plasma osteoprotegerin levels are associated with glycaemic status, systolic blood pressure, kidney function and cardiovascular morbidity in type 1 diabetic patients. *Eur J Endocrinol* 2006;154:75–81.
22. Xiang GD, Xu L, Zhao LS, et al. The relationship between plasma osteoprotegerin and endothelium-dependent arterial dilation in type 2 diabetes. *Diabetes* 2006;55:2126–31.
23. Gannage-Yared MH, Fares F, Semaan M, et al. Circulating osteoprotegerin is correlated with lipid profile, insulin sensitivity, adiponectin and sex steroids in an ageing male population. *Clin Endocrinol (Oxf)* 2006;64:652–8.
24. Oh ES, Rhee EJ, Oh KW, et al. Circulating osteoprotegerin levels are associated with age, waist-to-hip ratio, serum total cholesterol, and low-density lipoprotein cholesterol levels in healthy Korean women. *Metabolism* 2005;54: 49–54.
25. Szulc P, Hofbauer LC, Heufelder AE, et al. Osteoprotegerin serum levels in men: correlation with age, estrogen, and testosterone status. *J Clin Endocrinol Metab* 2001;86:3162–5.
26. Kudlacek S, Schneider B, Woloszczuk W, et al. Serum levels of osteoprotegerin increase with age in a healthy adult population. *Bone* 2003;32:681–6.
27. Knudsen ST, Foss CH, Poulsen PL, et al. Increased plasma concentrations of osteoprotegerin in type 2 diabetic patients with microvascular complications. *Eur J Endocrinol* 2003;149:39–42.
28. Khosla S, Atkinson EJ, Dunstan CR, et al. Effect of Estrogen *versus* Testosterone on Circulating Osteoprotegerin and Other Cytokine Levels in Normal Elderly Men *J Clin Endocrinol Metab* 2002; 87: 1550–1554.
29. Schoppet M, Sattler AM, Schaeffer JR, et al. Increased Osteoprotegerin Serum Levels in Men with Coronary Artery Disease. *The Journal of Clinical Endocrinology & Metabolism* 2003;88(3):1024–1028.
30. Jono S, Ikari Y, Shioi A, et al. Serum Osteoprotegerin Levels Are Associated With the Presence and Severity of Coronary Artery Disease *Circulation* 2002;106:1192–1194.
31. Omland T, Drazner, Ueland T, et al. Plasma Osteoprotegerin Levels in the General Population Relation to Indices of Left Ventricular Structure and Function *Hypertension* 2007;49:1392–1398.
32. Avignon A, Sultan A, Piot C, et al. Osteoprotegerin: A Novel Independent Marker for Silent Myocardial Ischemia In Asymptomatic Diabetic Patients. *Diabetes Care* 2007;30:2934–2939.
33. Hofbauer LC, Schoppet M. Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. *JAMA* 2004;292:490–5.
34. Zhang J, Fu M, Myles D, et al. PDGF induces osteoprotegerin expression in vascular smooth muscle cells by multiple signal pathways. *FEBS Lett* 2002;521:180–4.
35. Collin-Osdoby P, Rothe L, Anderson F, et al. Receptor activator of NF-kappa B and osteoprotegerin expression by human microvascular endothelial cells, regulation by inflammatory cytokines, and role in human osteoclastogenesis. *J Biol Chem* 2001;276:20659–72.
36. Tintut Y, Patel J, Parhami F, et al. Tumor necrosis factor-alpha promotes in vitro calcification of vascular cells via the cAMP pathway. *Circulation* 2000;102:2636–42.
37. Tintut Y, Patel J, Territo M, et al. Monocyte/macrophage regulation of vascular calcification in vitro. *Circulation* 2002;105:650–5.
38. Emery JG, McDonnell P, Burke MB, et al. Osteoprotegerin is a receptor for the cytotoxic ligand TRAIL. *J Biol Chem* 1998;273:14363–7.
39. Gochuico BR, Zhang J, MaBY, et al. TRAIL expression in vascular smooth muscle. *Am J Physiol Lung Cell Mol Physiol* 2000;278:L1045–50.
40. Sato K, Niessner A, Kopecky SL, et al. TRAIL-expressing T cells induce apoptosis of vascular smooth muscle cells in the atherosclerotic plaque. *J Exp Med* 2006;203:239–50.
41. Browner WS, Lui LY, Cummings SR. Associations of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 631–37.