

Znaczenie układu OPG/RANKL/RANK w destrukcji kości w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów

The role of OPG/RANKL/RANK in bone destruction in rheumatoid arthritis

Małgorzata Wiśłowska, Danuta Jakubicz, Katarzyna Olczyk-Wrochna

Oddział Chorób Wewnętrznych i Reumatologii Centralnego Szpitala Klinicznego MSWiA w Warszawie, ordynator Oddziału dr hab. med. Małgorzata Wiśłowska

Słowa kluczowe: reumatoidalne zapalenie stawów, osteoporoza, badanie densytometryczne, markery obrotu kostnego.

Key words: rheumatoid arthritis, osteoporosis, densitometry examination, bone turnover markers.

Streszczenie

W przewlekłych chorobach zapalnych narządu ruchu często obserwuje się zmniejszenie gęstości mineralnej kości. U ok. 50% chorych z chorobami reumatycznymi rozwija się „osteoporoza śródstawowa” o nasileniu proporcjonalnym do stopnia aktywności choroby i wieku chorych. We wczesnym reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS) jej przyczyną jest aktywacja osteoklastów, a jednym z objawów – okołostawowy zanik kostny spowodowany miejscowym odczynem zapalnym. Osteoporoza w RZS może być także powodowana przez unieruchomienie i leczenie glikokortykosteroidami, a u kobiet w okresie menopauzy zaburzeniami hormonalnymi. Ryzyko złamań niskoenergetycznych u chorych na RZS jest zwiększone. Pojawia się pytanie, czy główną przyczyną osteoporozy w RZS jest zapalenie czy działanie glikokortykosteroidów oraz, czy doprowadza to tylko do ubytku gęstości mineralnej kości czy także do zwiększonej liczby złamań u chorych.

Epidemiologia osteoporozy w reumatoidalnym zapaleniu stawów

W reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS) przewlekły proces zapalny o podłożu autoimmunologicznym powoduje postępującą destrukcję tkanek miękkich stawów, struktur okołostawowych i chrząstki. Jest przyczyną niszczenia osteoporotycznego przynasadowych od-

Summary

A decrease in bone mineral density (BMD) is common in chronic inflammatory diseases of the musculoskeletal system. So-called “inflammatory osteoporosis” concerns up to 50% of rheumatic patients. Its intensity is relevant to the disease activity and the patient’s age. In rheumatoid arthritis (RA) it is primarily caused by osteoclast activation and its most apparent manifestation is periarticular osteoporosis due to a local inflammatory process. Apart from chronic inflammation RA-related osteoporosis can be caused by glucocorticosteroid (GSS) use and immobilization. In menopausal women hormonal disturbances can contribute to the damage. RA patients are at increased risk of low-energy fractures. The questions are whether it is inflammation per se or GSS that affects bones most in this disease, and whether accelerated bone loss results in increased susceptibility to osteoporotic fractures in RA patients.

inków kości oraz źródłem zmian pozastawowych w przebiegu choroby i jej powikłań, m.in. uogólnionej tzw. „śródstawowej” osteoporozy szkieletu [1]. Wprawdzie Dequeker i wsp. [2] stwierdzili, że osteoporoza nie jest częstym pozastawowym objawem RZS, Supronik [3] u kobiet z RZS obserwował jedynie statystycznie nieznamiennie zmniejszenie masy części osiowej szkieletu w porównaniu z wartościami należnymi, a Leszczyński

Adres do korespondencji:

dr hab. med. Małgorzata Wiśłowska, Oddział Chorób Wewnętrznych i Reumatologii CSK MSWiA, ul. Wołoska 137, 02-507 Warszawa

Praca wpłynęła: 23.01.2009 r.

i wsp. [4] u młodych kobiet z RZS o średnio wysokiej aktywności, stosujących małe, stabilne dawki glikokortykosteroidów (GKS) oraz metotreksatu, nie odnotowali znacząco podwyższonego ryzyka złamań, przynajmniej w krótkim czasie trwania choroby, to jednak powszechnie uważa się, że uogólniony ubytek masy kostnej dotyczy nawet 50% chorych na RZS [5]. Niskie wartości gęstości mineralnej kości (*bone mineral density* – BMD) oraz zaburzenia jej struktury i elastyczności stwierdzono w RZS metodą densytometrii i ultrasonografii ilościowej u prawie 15% kobiet przed menopauzą, około 50% po menopauzie i aż u 50% mężczyzn [6].

W przebiegu RZS zmiany osteoporotyczne częściej obserwuje się w obrębie szyjki kości udowej niż w kręgosłupie [2], zwłaszcza u kobiet po menopauzie [7]. Niektórzy autorzy tłumaczą to zjawisko wpływem zmian zwyrodnieniowych kręgosłupa i zwapnień w aorcie brzusznej na wyniki densytometrii [5] lub działaniem niesteroidowych leków przeciwzapalnych, które hamują syntezę prostaglandyny E2 (PGE2), a zatem także jej wpływ kataboliczny na ten odcinek szkieletu [2].

W RZS zwiększa się ryzyko niskoenergetycznych złamań kości. Huusko i wsp. [8], badając fińskich pacjentów, stwierdzili, że ryzyko złamania osteoporotycznego kości udowej zwiększa się wraz z wiekiem i stopniem unieruchomienia chorych i jest większe u osób o drobnej budowie ciała, wczesnym początku choroby oraz leczonych GKS. Otyłość i stosowanie estrogenów mają natomiast wpływ ochronny na kość [8]. Stwierdzono także, że w RZS nasilenie zmian osteoporotycznych jest proporcjonalne do stopnia aktywności oraz zaawansowania choroby i zwiększa się wraz z długością jej trwania, narastaniem niepełnosprawności chorych i w przypadku występowania innych czynników ryzyka. Jest też większe w okresie pomenopauzalnym i poandropauzalnym oraz u pacjentów starszych lub seropozytywnych [2, 8, 9]. Stwierdzono, że najszybszy ubytek masy kostnej następuje w początkowym okresie RZS oraz każdorazowo w zaostrzeniach jego przebiegu [10].

Doniesień na temat częstości występowania złamań trzonów kręgow w RZS jest mało. Przeważnie dotyczą one przypadków długiego przebiegu choroby, leczenia stosunkowo wysokimi dawkami GKS, kobiet w okresie menopauzy i obciążonych dodatkowymi czynnikami ryzyka złamań [11].

Nie wszyscy autorzy są zgodni w kwestii, czy największe znaczenie w rozwoju osteoporozy w RZS ma sam proces zapalny, niepełnosprawność i unieruchomienie chorych, okres meno- lub andropauzy (u większości pacjentów), związany z przedziałem wiekowym największej zapadalności na tę chorobę czy też wpływ leków, zwłaszcza GKS i cytotatyków [3, 4, 12]. Z pew-

nością RZS samo może indukować osteoporozę, nawet u pacjentów nieleczonych GKS. Lodder i wsp. u chorych z małą i umiarkowaną aktywnością RZS wykazali istnienie związku zaawansowanych zmian radiologicznych z niskim wskaźnikiem gęstości mineralnej szyjki kości udowej [5]. W surowicach kobiet z RZS w wieku pomenopauzalnym, nigdy nieleczonych GKS, stwierdzono znamienne większe stężenia fosforu, fosfatazy alkalicznej i osteokalcyny w porównaniu z grupą kontrolną. W moczu tych kobiet stwierdzono zwiększone stężenie hydroksyproliny i glikoaminoglikanów, co świadczy o wzmożonej aktywności metabolicznej ich kości [2]. Z kolei zarówno stosowanie GKS w dawce równoważnej co najmniej 5 mg prednizonu na dobę dłużej niż przez 3 mies., jak i leczenie antymetabolitami lub lekami immunosupresyjnymi upośledza metabolizm kostny i zwiększa ryzyko złamań [2, 6, 12].

Niezależnie od przyczyn i mechanizmu patogenetycznego zarówno miejscowa, jak i uogólniona osteoporoza są bez wątpienia czynnikiem przyczyniającym się do obniżenia jakości życia chorych na RZS, ich niezdolności do pracy, kalectwa i przedwczesnej śmierci. Także leczenie tego powikłania, w tym rehabilitacja i zaopatrzenie ortopedyczne pacjentów, niosą ze sobą poważne obciążenia ekonomiczne, zarówno dla samych chorych, jak i dla społeczeństwa. Zapobieganie osteoporozie w RZS, wczesna diagnostyka zaburzeń metabolizmu kości w tej chorobie oraz ich leczenie stanowią w związku z tym niezwykle istotny problem kliniczny.

Perspektywy diagnostyki osteoporozy

Od wielu lat poszukuje się metod diagnostycznych, które pozwoliłyby na lepsze określenie podatności na złamanie, a co za tym idzie na wczesne rozpoczęcie profilaktyki. Badanie gęstości mineralnej kości (BMD), dotychczas uznawane za kryterium decydujące o rozpoznaniu osteoporozy lub jej wykluczeniu, nie jest już wykonywane w celu diagnostyki, ale do oceny bezwzględnego ryzyka złamania. Badanie gęstości mineralnej kości jest najczęściej stosowanym parametrem wykorzystywanym w ocenie masy kostnej w określaniu skuteczności leczenia osteoporozy. Nie ma bezpośredniego, liniowego przełożenia między wzrostem BMD a zmniejszeniem liczby złamań. Obecnie udokumentowano konieczność zasadniczej zmiany stanowiska wobec osteoporozy (definicji, rozpoznania, celu, leczenia). Biorąc pod uwagę wieloprzyczynowy charakter łamliwości kości w osteoporozie, nie diagnozujemy „osteoporozy”, tylko całkowite, indywidualne, dziesięcioletnie zagrożenie złamaniem (RB-10), uwzględniając niezależne i samowystarczające czynniki ryzyka, którymi są: zaawansowany wiek, uprzednio przebyte złamanie, zła-

manie biodra u rodziców, niski BMI, mała masa kostna, leczenie GKS, RZS, nikotynizm i nadużywanie alkoholu [13].

W praktyce monitorowania leczenia osteoporozy nadal najczęściej stosuje się pomiar gęstości mineralnej odcinka L2-L4 kręgosłupa lub szyjki kości udowej metodą podwójnej energii promieniowania rentgenowskiego (*dual energy X-ray absorptiometry* – DEXA). Badanie to jest już w zasadzie powszechnie dostępne, nieinwazyjne, trwa krótko i jest stosunkowo bezpieczne dla pacjenta. Wyniki densytometrii, dokładne i międzyośrodkowo porównywalne, umożliwiają diagnostykę ubytku gęstości mineralnej kości i monitorowanie skuteczności leczenia. Badanie metodą DEXA jest jednak badaniem radiologicznym, co w niektórych przypadkach może stanowić pewne obciążenie dla chorego, wymaga też kosztownej aparatury, odpowiednich pomieszczeń i pracy wykwalifikowanego personelu. Miarodajność tej metody diagnostycznej jest ograniczona w wielu przypadkach wpływem zmian zwyrodnieniowych i zniekształceń szkieletu oraz obecnością elementów obcych (np. endoprotez) w układzie kostno-stawowym. Ponadto dzięki densytometrii można poznać wartość tylko jednego parametru struktury i oporności mechanicznej kości – jej mineralnej gęstości, podczas gdy wytrzymałość tkanki kostnej zależy także od innych czynników, np. składu i metabolizmu białek tkanki kostnej – kolagenu typu I i innych. W RZS nie wykazano dotąd bezpośredniej korelacji między wzrostem BMD a redukcją ryzyka złamań.

Interesujące jest pytanie, czy markery obrotu kostnego u chorych na RZS mogą być pomocne w określeniu ryzyka złamań, gdy już wiadomo, że sama choroba jest czynnikiem ryzyka. Markery obrotu kostnego to białka oraz peptydy strukturalne i enzymatyczne, a także produkty ich rozpadu, uwalniane do krążenia w procesach morfogenezy i resorpcji kości, a wyniki takich oznaczeń obrazują w pełniejszy sposób stan kości, zarówno w jej warstwie beleczkowej, jak i korowej [14, 15].

Do aktualnie oznaczanych markerów kościotworzenia należą: izoenzym kostny fosfatazy zasadowej (*bone specific alkaline phosphatase* – BSALP), osteokalcyna (OC) oraz C- i N-końcowy telopeptyd prokolagenu typu I (*carboxy and amino terminal propeptides of type I collagen* – PICP, PINP). Do markerów resorpcji kości zalicza się: pirydynolinę (PYD), deoksypirydynolinę (DPD), usieciowany N-terminalny telopeptyd kolagenu typu I (NTx) i usieciowany C-terminalny telopeptyd kolagenu typu I (CTX). Obecnie oznaczenia stężeń niektórych markerów obrotu kostnego (PINP, CTx oraz OC) wykonuje się w celu oceny 10-letniego ryzyka złamań kości, jeśli nie ma możliwości pomiaru BMD, o czym wspomniano powyżej. Pomiar stężeń tych substancji służy też krótkoterminowej ocenie skuteczności leczenia osteoporozy.

Dotychczasowe badania EPIDOS [9] i OFFLEY [15] wykazały dwukrotny wzrost ryzyka złamań u kobiet po menopauzie, u których stwierdzono zwiększone stężenia markerów obrotu kostnego. Cortet i wsp. [16] stwierdzili zwiększoną zawartość PINP i PICP oraz CTx w surowicach 54 chorych z RZS oraz negatywną korelację między wartościami stężeń PINP i PICP a BMD i stężeniami osteokalcyny. Odnotowali także mniejsze wartości stężeń markera morfogenezy (PINP) w późniejszych stadiach choroby wg Larsena-Dale'a i zmniejszenie stężeń markera resorpcji kości (CTX) wraz z postępem zmian stawowych. Może to wskazywać na obniżenie metabolizmu kostnego w RZS wraz z postępem zmian radiologicznych. Mohamara i wsp. [17] wykazali istnienie negatywnej korelacji między stężeniami markerów osteoblastów (BSALP i OC) a OB, CRP i MMP-3 oraz dodatnią korelację wskaźników aktywności zapalenia ze stężeniem markera resorpcji (NTx), co wskazuje na nasilenie resorpcji kości wraz ze wzrostem aktywności zapalnej. Dias i wsp. [18] stwierdzili większe stężenia BSALP i OC u kobiet z RZS w porównaniu z grupą kontrolną zdrowych kobiet. W badaniu wenezuelskich kobiet z RZS w okresie przedmenopauzalnym wykazano też zwiększone stężenia OC i NTx, co wiązało się z przyspieszoną utratą masy kostnej oraz wzrostem ryzyka osteopenii i osteoporozy po menopauzie [19].

Badania dotyczące analizy stężeń markerów metabolizmu kości w RZS są dotychczas nieliczne, a ich wyniki wskazują jedynie na istnienie zmian tych stężeń zależnie od czasu trwania i aktywności choroby, dlatego też nie ulega wątpliwości, że kwestia zastosowania klinicznego takich oznaczeń u chorych na RZS wymaga dalszych intensywnych badań.

Patogeneza osteoporozy w reumatoidalnym zapaleniu stawów – implikacje kliniczne

Odporność mechaniczna kości zależy od jej gęstości mineralnej oraz takich właściwości mechanicznych, jak sztywność, sprężystość, twardość i wytrzymałość [20]. Na nie z kolei mają wpływ czynniki genetyczne, środowiskowe, fizjologiczne i patologiczne, decydujące o mikroarchitekturze beleczek kostnych, prawidłowym przebiegu mineralizacji i obecności mikrouszkodzeń [21]. Przebudowa wewnętrzna kości toczy się w ciągu całego życia w określonych miejscach szkieletu, zwanych jednostkami przebudowy. Zachodzi tam proces resorpcji i kościotworzenia, mający na celu zapewnienie prawidłowej mineralizacji tkanki kostnej, utrzymanie prawidłowej liczby osteocytów i naprawę mikrouszkodzeń [22]. Kościotworzenie jest funkcją osteoblastów – pochodnych mezenchymalnej komórki pnia, a osteoliza – osteoklastów, z szeregu dojrzewania

monocytów/makrofagów [23]. Gough i wsp. [24] wykazali, że procesem o dominującym znaczeniu w utracie masy kostnej w RZS jest aktywacja osteoklastów. Przebieg obrotu kostnego regulują złożone mechanizmy fizjologiczne, w których kluczową rolę odgrywa układ białek, w skład którego wchodzi osteoprotegereyna, receptor aktywujący jądrowy czynnik NF- κ B (*receptor activator of nuclear factor NF- κ B* – RANK) i ligand RANK (*receptor activator of nuclear factor NF- κ B ligand* – RANKL) – OPG/RANKL/RANK. Białka te są obecne na licznych komórkach i w przestrzeni pozakomórkowej, zarówno w kościach, jak i strukturach sąsiednich, a także innych – m.in. w tkance limfatycznej. Związek układu OPG/RANKL/RANK z układem immunologicznym ma zasadnicze znaczenie w patogenezie osteoporozy w przebiegu chorób autoimmunologicznych i zapalnych.

Geneza i funkcjonowanie komórek kościogubnych – osteoklastów – pobudzane są przede wszystkim przez interakcję ligandu RANK (RANKL) z receptorem RANK obecnym na powierzchni tych komórek. Procesy te są hamowane wówczas, gdy RANKL zostanie uprzednio związany przez osteoprotegereynę, która jest również jego receptorem o wysokim powinowactwie, współzawodniczącym z RANK [25].

Wzajemne interakcje OPG/RANKL/RANK zmieniają się w warunkach patologicznych pod wpływem różnych czynników, m.in. komórek i mediatorów odczynu zapalnego. Zaburzenia funkcji tego układu, oprócz zmian stężeń innych czynników kościotworzenia i resorpcji kości, takich jak witamina D, wapń, kalcytonina, estrogeny i parathormon, mogą być przyczyną osteoporozy w RZS [26]. Korekcja tych zaburzeń przy użyciu odpowiednich, bezpośrednio lub pośrednio działających czynników może zapobiegać zarówno osteoporozie uogólnionej, jak i uszkodzeniu stawów w tej chorobie. Z uwagi na podstawowe znaczenie przystawowej resorpcji kości w patogenezie RZS, szczególnie ten drugi kierunek działania może mieć fundamentalne znaczenie w rozwoju nowych metod terapii.

Białka RANK, RANKL i OPG należą do nadrodziny receptorów czynnika martwicy nowotworów (*tumour necrosis factor* – TNF). Ligand RANK jest białkiem transbłonowym, którego 3 podjednostki tworzą cząsteczkę czynną, zakotwiczoną w błonie komórkowej i mogą być uwalniane pod wpływem dezintegryny metaloproteazy konwertazy TNF- α [25]. Ligand RANK ulega silnej ekspresji na osteoblastach, osteoklastach, pierwotnych komórkach mezenchymalnych otaczających chrząstkę i chondrocytach, na komórkach śródbłonka [27], a także na aktywowanych limfocytach T i niedojrzałych tymocytach (CD4/CD8) [28]. Jego obecność wykazano w węzłach chłonnych, śledzionie, grasicy i grudkach chłonnych jelit [25]. Ekspresję RANKL wzmagają czynni-

ki pobudzające osteoklastogenezę, takie jak witamina D₃ i PGE₂, te same, które zmniejszają ekspresję OPG na osteoblastach [29]. Ligand RANK odgrywa istotną rolę w różnicowaniu osteoklastów z prekursorów. Nasila aktywność i żywotność tych komórek poprzez hamowanie apoptozy, pobudzając w ten sposób resorpcję kości [27]. U myszy pod wpływem RANKL dochodzi do znacznej utraty kości i hiperkalcemii, z kolei u osobników go pozbawionych obserwuje się osteopetrozę i brak dojrzałych osteoklastów [30].

Receptor aktywujący jądrowy czynnik NF- κ B to heterodimer zawierający 3 wewnątrzkomórkowe domeny. Ulega ekspresji na prekursorach szpikowych osteoklastów, dojrzałych osteoklastach, chondrocytach, komórkach dendrytycznych, dojrzałych limfocytach T i prekursorach komórek hemopoetycznych. Jego obecność stwierdzono również na komórkach nabłonka gruczołów piersiowych i trofoblastu [31]. RANK, wiążąc RANKL, powoduje osteoklastogenezę z komórek macierzystych i aktywację dojrzałych osteoklastów [32] oraz proliferację limfocytów T aktywowanych przez komórki dendrytyczne [31]. Aktywacja RANK przez RANKL na osteoklastach powoduje pobudzenie kaskady białek sygnałowych zależnych od MAP-kinazy, takich jak JNK, p38 i ERK [33]. Dochodzi do tego poprzez interakcję śródkomórkowych domen RANK z białkami adaptorowymi TRAF (czynnikami związanymi z receptorem TNF), zwłaszcza TRAF6, co prowadzi do indukcji NF- κ B i JNK [33]. Osteoklastogeneza indukowana przez RANKL może zachodzić także za pośrednictwem czynników transkrypcyjnych (c-Fos i czynnika jądrowego aktywowanych komórek c1 – NF-ATc1) [34]. Ligand RANK aktywuje też antyapoptotyczną kinazę serynowo-treoninową (B/akt) poprzez kompleks sygnałowy c-Src i TRAF6 [35].

Osteoprotegereyna jest uwalniana z wielu komórek, takich jak osteoblasty, komórki dendrytyczne i limfocyty. Ulega ekspresji w płucach, nerkach, jelitach, śledzionie i sercu. Transformujący czynnik β (*transforming growth factor β* – TGF- β) i BMP-2, które pobudzają różnicowanie osteoblastów, indukują ekspresję OPG, natomiast związki nasilające resorpcję kości, takie jak PGE₂ i witamina D₃, zmniejszają ekspresję OPG na osteoblastach [36]. Osteoprotegereyna hamuje różnicowanie osteoklastów i aktywuje ich apoptozę [36]. Zmniejsza ekspresję markerów osteoklastów, takich jak receptor kalcytoniny, TRAP i α v β 3-integryna. Duże stężenia OPG powodują osteopetrozę u myszy transgenicznych [37], brak OPG – znaczną osteoporozę i duże ryzyko złamań, co wykazano na modelach zwierzęcych, w tym u myszy [37].

Za udziałem układu OPG/RANKL/RANK w osteoporozie w przebiegu chorób zapalnych przemawia obec-

ność tych białek w tkance limfatycznej i na komórkach odpowiedzi immunologicznej, co opisano powyżej. U chorych na RZS obserwuje się duże stężenia OPG i rozpuszczalnego RANKL [38]. Ligand RANK mRNA jest obecny w komórkach wyściółki *synovium* szczurów w kolagenowym zapaleniu stawów, natomiast nie wykrywa się go w prawidłowej błonie maziowej [23]. Ligand RANK ulega ekspresji na limfocytach, makrofagach, a w RZS także na fibroblastach błony maziowej [39]. Aktywowane limfocyty T, monocyty i fibroblasty błony maziowej w RZS mają związany z błoną i rozpuszczalny RANKL. Aktywowane limfocyty T z ekspresją RANKL mogą indukować osteoklastogenezę z autologicznych monocytów obwodowych. Można proces ten blokować, stosując OPG [40]. Takie działanie stwierdzono także u zdrowych ochotników, w związku z czym uznaje się, że aktywacja komórek T może przyczyniać się do utraty kości poprzez system RANKL/RANK [41].

Wykazano też, że w RZS indukcja osteoklastów z mononuklearów krwi obwodowej zależy od stężenia RANKL wydzielanego przez fibroblasty błony maziowej [39]. Ponadto RANKL może zwiększać liczbę i przeżycie komórek dendrytycznych prezentujących antygen i syntezę IL-12 przez te komórki. Interakcja RANKL-RANK na komórkach dendrytycznych może indukować ekspresję CD40, która, przeciwnie do wywołanej działaniem CD40 liganda (CD40L), utrzymuje się *in vitro* przez 96 godz., co sugeruje, że stymulacja RANK/RANKL może działać także po fazie początkowej, CD40/CD40L-zależnej [42]. Stosowanie RANKL powoduje odpowiedź limfocytów T pamięci [42]. Układ RANKL/RANK może mieć istotny wpływ na rozwój tkanki limfoidalnej i dojrzewanie prekursorów limfocytów T i B w szpiku. U myszy bez RANK lub RANKL limfocyty T i tymocyty rozwijają się nieprawidłowo i nieprawidłowo reagują na stymulację przez komórki dendrytyczne [25]. Uważa się, że limfocyty T nie są potrzebne do utrzymania homeostazy prawidłowej kości, ponieważ myszy ich pozbawione mają prawidłowe kości i zęby [43], jednak przewlekła aktywacja tych komórek może wpływać na przebudowę tkanki kostnej [41]. Układ RANKL/RANK może regulować funkcję komórek dendrytycznych i limfocytów oraz ich interakcje, OPG może zaś przeciwdziałać tym efektom [44]. Stwierdzono także, że komórki błony maziowej w RZS mogą pobudzać genozę osteoklastów, hamowaną skutecznie przez OPG [45].

Innym argumentem przemawiającym za udziałem układu OPG/RANKL/RANK w resorpcji kości w przebiegu chorób zapalnych jest ich związek z układem cytokin uczestniczących w przebiegu zapalenia i o uznanej roli patogenetycznej w RZS. Wiadomo, że TNF i IL-1 stymulują osteoklastogenezę [46], m.in. przez pobudzenie

produkcji IL-7 w osteoblastach i komórkach zrębu, co stymuluje układ RANKL/RANK. Pobudzają też wydzielanie M-CSF, co zwiększa pulę prekursorów osteoklastów [26]. Interleukina 6 indukuje ekspresję RANKL-messenger RNA w hodowlach komórek zrębu u gryzoni *in vitro* [47]. Interleukina 17, silny induktor RANK, jest cytokiną kluczową w resorpcji osteoporotycznej kości [48]. Osteoprotegeryna zmniejsza także produkcję cytokin (np. IL-6 i IL-11) w odpowiedzi na stymulację komórek dendrytycznych przez RANKL i syntezę IL-12 i IL-15 przez proliferujące limfocyty T [42]. Z kolei IL-4 opóźnia genozę osteoklastów przez hamowanie RANK za pośrednictwem c-Fos i NFATc1 [49]. Interferon γ interferuje z RANKL poprzez selektywną redukcję ekspresji TRAF6. Funkcję układu OPG/RANKL/RANK w RZS badano także na modelach zwierzęcych zapaleń stawów. Receptor aktywujący jądrowy czynnik NF- κ B i RANKL wykryto w stawach szczurów z kolagenowym zapaleniem stawów [50], a RANKL także u pacjentów z RZS [51], podczas gdy w zdrowych stawach RANK nie występuje [23]. U myszy pozbawionych RANKL w miejscach resorpcji kości nie wykrywa się TRAP-dodatnich komórek osteoklastopodobnych [52]. W modelu surowiczopochodnego zapalenia stawów wywołanego przez przeciwciała hamowanie RANKL przez OPG na początku choroby może zmniejszyć liczbę osteoklastów i powstrzymać resorpcję kości [53]. W adiuwantowym zapaleniu stawów i kolagenowym zapaleniu stawów u szczurów OPG hamowała erozję kości poprzez zwiększenie liczby osteoblastów i zwiększenie objętości tkanki kostnej [54]. W modelu zapalenia stawów wywołanym przeciwciałami (K/BxN) [52] i w modelach TNF- α – transgenicznym myszy, u których rozwija się spontaniczne destrukcyjne zapalenie wielostawowe w młodym wieku, OPG hamuje rozwój osteoklastów, powoduje wzrost gęstości mineralnej i/lub objętości kości [55]. Osteoprotegeryna może też chronić chrząstkę stawową przed wnikaniem komórek zapalnych ze szpiku [53]. Stwierdzono, że w zapaleniu stawów wywołanym kolagenem typu II układ RANKL/RANK odgrywa istotną rolę w miejscowej i uogólnionej resorpcji kości [54]. Wu i wsp. [56] u myszy rekombinantów wsobnych C57BL/6 i DBA/2 oceniali rolę RANK/RANKL w powstawaniu osteoklastów. Obserwowali u nich dużą liczbę osteoklastów w pobliżu makrofagów i fibroblastów w miejscach nadżerek kości. Fibroblasty ich błony maziowej autonomicznie wydzielają RANKL, tak jak i u chorych na RZS, w ilości większej niż w grupie kontrolnej, i indukują powstawanie osteoklastów poprzez różnicowanie makrofagów szpiku. Podobnie do innych modeli zwierzęcych [53] blokowanie RANKL nie wpływa na odczyn zapalny, ale całkowicie hamuje resorpcję kości i częściowo – chrząstki. W 2001 r. stwierdzono zmniejszenie resorp-

cji kości pod wpływem OPG także u kobiet po menopauzie [57]. Inhibitory RANKL stosowane w postaci przeciwciał monoklonalnych zapobiegały osteoporozie u myszy w kolagenowym zapaleniu stawów [58]. Doniesienia o wynikach trwających obecnie badań klinicznych nad denosumabem (całkowicie ludzkim przeciwciałem monoklonalnym przeciwko RANKL) pozwalają przypuszczać, że będzie on stanowił opcję terapeutyczną o znacznej skuteczności w prewencji destrukcji stawów w RZS [59].

W ostatnich latach wykazano także, że jednym z mechanizmów działania terapeutycznego obecnie stosowanych w RZS leków jest prewencja przystawowej resorpcji kości poprzez wpływ na układ OPG/RANKL/RANK. Stwierdzono, że infliksymab i etanercept zwiększają ekspresję OPG w stawach chorych na RZS [60]. Infliksymab ponadto zmniejsza produkcję RANKL [61] i pulę preosteoklastów [61] oraz hamuje dojrzewanie komórek dendrytycznych [62]. Także klasyczne leki modyfikujące przebieg choroby: metotrexat i sulfasalazyna zmniejszają wytwarzanie RANKL w komórkach płynu stawowego i monocytach krwi obwodowej chorych [61].

Przedstawione dane świadczą wyraźnie o istotnym znaczeniu układu OPG/RANKL/RANK w destrukcji kości w przebiegu RZS i pozostałych chorób zapalnych oraz w osteoporozie innego pochodzenia. Wydaje się racjonalne opracowywanie strategii hamowania resorpcji kostnej przez wpływ na elementy tego układu. Terapie takie mogą być w przyszłości równocześnie skutecznymi metodami leczenia RZS, w którym podstawowym zjawiskiem patologicznym oraz źródłem największych cierpień chorych jest niszczenie kości w rejonie objętym przez zapalenie stawów.

Osteoporoza w przebiegu RZS stanowi istotny problem kliniczny, o coraz większym znaczeniu w miarę postępów badań nad tym zagadnieniem. Wyniki tych badań pozwalają obecnie żywić nadzieję na rozwój nowych, skuteczniejszych metod terapii tej okaleczającej choroby.

Piśmiennictwo

- Haugeberg G, Green MJ, Conaghan PG, et al. Hand bone densitometry: a more sensitive standard for the assessment of early bone damage in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 1513-1517.
- Dequeker J, Maenaut J, Verwilghen J, et al. Osteoporosis in rheumatoid arthritis. *Clin Exp Rheumatol* 1995; 13 (Suppl 12): S21-S26.
- Supronik J. Próba oceny mineralizacji i metabolizmu kości u kobiet chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. Praca doktorska, Białystok 1992.
- Leszczyński P, Hrycaj P, Mackiewicz SH. Osteoporoza u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów – realny problem czy fikcja? Ocena występowania złamań trzonów kręgowych u kobiet z reumatoidalnym zapaleniem stawów w wieku do 50 lat. *Reumatologia* 2007; 45: 362-368.
- Lodder MC, De Jong Z, Kostence PJ, et al. Bone mineral density in patients with rheumatoid arthritis: relation between disease severity and low bone mineral density. *Ann Rheum Dis* 2004; 63: 1576-1580.
- Leszczyński P, Łącki JK, Mackiewicz SH. Osteoporoza posteroidea u chorych na reumatoidalne zapalenie stawów. *Przegl Lek* 2000; 57: 108-110.
- Guler-Yuksel M, Bijsterbosch J, Goekoop-Ruiterman YP, et al. Bone mineral density in patients with recently diagnosed, active rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2007; 66: 1508-1512.
- Huusko TM, Korpella M, Karpi P, et al. Threefold increased risk of hip fractures with rheumatoid arthritis in central Finland. *Ann Rheum Dis* 2001; 60: 521-522.
- Chapurlat RD, Garnelo P, Breat G, et al. Serum type I collagen break down product (serum Ctx) predicts hip fracture risk in elderly women: the EPIDOS study. *Bone* 2000; 27: 283-286.
- Badurski J, Sawicki A, Boczoń S. Osteoporoza. *Osteoprint, Białystok* 1994; 61-69.
- Orstavik RE, Haugeberg G, Uhlig T, et al. Incidence of vertebral deformities in 255 female rheumatoid arthritis patients measured by morphometric X-ray absorptiometry. *Osteoporosis Int* 2005; 16: 35-42.
- Keller C, Hafstrom I, Svensson B. BARFOT study group. Bone mineral density in women and men with early rheumatoid arthritis. *Scand J Rheumatol* 2001; 30: 213-220.
- Badurski JE, Czerwiński E, Marcinowska-Suchowierska E. Osteoporoza – ocena ryzyka złamania. *Status Quo Arte Anno* 2007/2008: Przegląd stanowisk: Światowej Organizacji Zdrowia (WHO), Europejskiej Agencji Medycznej (EMA), Europejskiego Towarzystwa Klinicznych i Ekonomicznych Aspektów Osteoporozy (ESEAO), Międzynarodowej Fundacji Osteoporozy (IOF), Polskiej Fundacji Osteoporozy (PFO) i Polskiego Towarzystwa Osteoartrologii (PTOA). *Postępy Nauk Medycznych* 2008; 21: 335-359.
- Garnero P. Markery metabolizmu kości. *Medicographia* 2005; 18: 100-109.
- Garnero P, Sornay-Rendu E, Claustar B, et al. Biochemical markers of bone turnover, endogenous hormones and the risk of fracture in postmenopausal women: the OFFLEY study. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 1526-1536.
- Cortet B, Filipo RM, Pigny P, et al. Is bone turnover a determinant of bone mass in rheumatoid arthritis? *J Rheumatol* 1998; 25: 2339-2344.
- Momohara S, Okamoto H, Yago T, et al. The study of bone mineral density and bone turnover markers in postmenopausal women with active rheumatoid arthritis. *Mod Rheumatol* 2005; 15: 410-414.
- Dias A, Lopes Vaz A, Hargreaves M, et al. Biomarkers in secondary osteoporosis. *Clin Rheum* 1989 (suppl 2): 89-94.
- Manrique F, Gamero P, de Elguizabal N. Abnormalities of bone mineral density and bone metabolism in Venezuelan patients with rheumatoid arthritis. *J Clin Rheumatol* 2003; 9: 219-227.
- Turner CH. Biomechanics of bone. Determinants of skeletal fragility and bone quality. *Osteoporosis Int* 2002; 13: 97-104.
- Paschalis EP, Shane E, Lyritis G, et al. Bone fragility and collagen cross-links. *J Bone Miner Res* 2004; 19: 2000-2004.

22. Parfitt AM. What is the normal rate of bone remodeling? *Bone* 2004; 35: 1-3.
23. Takayanagi H, Iizuka H, Juji T, et al. Involvement of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand/osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis from synoviocytes in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 259-269.
24. Gough A, Sambrook P, Delvin J, et al. Osteoclastic activation is the principal mechanism leading to secondary osteoporosis in rheumatoid arthritis. *J Rheumatol* 1998; 25: 1282-1298.
25. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, et al. OPG is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature* 1999; 397: 315-323.
26. Łukaszewicz J, Lorenc SR. Udział czynników endokrynych i parakrynych w etiopatogenezie osteoporozy. *Terapia* 2008; 5 (209).
27. Lacey DL, Timms E, Tan HL, et al. Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell* 1998; 93: 165-176.
28. Kim N, Odgren PR, Kim DK, et al. Diverse roles of the tumor necrosis factor family member TRANCE in skeletal physiology revealed by TRANCE deficiency and partial rescue by a lymphocyte-expressed TRANCE transgene. *Proc Natl Acad Sci U S A* 2000; 97: 10905-10910.
29. Hofdbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, et al. The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J Bone Miner Res* 2000; 15: 2-12.
30. Wong BR, Rho J, Arron J, et al. TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-Jun N-terminal kinase in T cells. *J Biol Chem* 1997; 272: 25190-25194.
31. Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, et al. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci U S A* 1999; 96: 3540-3545.
32. Fata JE, Kong YY, Li J, et al. The osteoclast differentiation factor osteoprotegerin-ligand is essential for mammary gland development. *Cell* 2000; 103: 41-50.
33. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003; 423: 337-342.
34. Ishida N, Hayashi K, Hoshijima M, et al. Large scale gene expression analysis of osteoclastogenesis in vitro and elucidation of NFAT2 as a key regulator. *J Biol Chem* 2002; 277: 41147-41156.
35. Wong BR, Besser D, Kim N, et al. TRANCE, a TNF family member, activates Akt/PKB through a signaling complex involving TRAF6 and c-Src. *Mol Cell* 1999; 4: 1041-1049.
36. Morony S, Capparelli C, Lee R, et al. A chimeric form of osteoprotegerin inhibits hypercalcemia and bone resorption induced by IL-1 beta, TNF-alpha, PTH, PTHrP, and 1,25(OH)₂D₃. *J Bone Miner Res* 1999; 14: 1478-1485.
37. Bucay N, Sarosi I, Dunstan CR, et al. Osteoprotegerin-deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev* 1998; 12: 1260-1268.
38. Ziótkowska M, Kurowska M, Radzikowska A, et al. High levels of osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor kappa B ligand in serum of rheumatoid arthritis patients and their normalization after anti-tumor necrosis factor alpha treatment. *Arthritis Rheum* 2002; 46: 1744-1753.
39. Shigeyama Y, Pap T, Kunzler P, et al. Expression of osteoclast differentiation factor in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 2523-2530.
40. Nakashima T, Wada T, Penninger JM. RANKL and RANK as novel therapeutic targets for arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2003; 15: 280-287.
41. Vidal NO, Brandstrom H, Jonsson KB, et al. Osteoprotegerin mRNA is expressed in primary human osteoblast-like cells: down-regulation by glucocorticoids. *J Endocrinol* 1998; 159: 191-195.
42. Josien R, Li HL, Ingulli E, et al. TRANCE, a tumor necrosis factor family member, enhances the longevity and adjuvant properties of dendritic cells in vivo. *J Exp Med* 2000; 191: 495-502.
43. Kotake S, Udagawa N, Hakoda M, et al. Activated human T cells directly induce osteoclastogenesis from human monocytes: possible role of T cells in bone destruction in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum* 2001; 44: 1003-1012.
44. Josien R, Wong BR, Li HL, et al. TRANCE, a TNF family member, is differentially expressed on T cell subsets and induces cytokine production in dendritic cells. *J Immunol* 1999; 162: 2562-2568.
45. Saitenberg-Kermanach N, Cohen-Solal M, Bessis N, et al. Role for osteoprotegerin in rheumatoid inflammation. *Joint Bone Spine* 2004; 71: 9-13.
46. Goldring SR, Gravallese EM. Pathogenesis of bone erosions in rheumatoid arthritis. *Curr Opin Rheumatol* 2000; 12: 195-199.
47. Kotake S, Sato K, Kim KJ, et al. Interleukin-6 and soluble interleukin-6 receptors in the synovial fluids from rheumatoid arthritis patients are responsible for osteoclast-like cell formation. *J Bone Miner Res* 1996; 11: 88-95.
48. Lubberts E, Koenders MI, van den Berg WB. The role of T cell interleukin-17 in conducting destructive arthritis: lessons from animal models. *Arthritis Res Ther* 2005; 7: 29-37.
49. Kamel Mohamed SG, Sugiyama E, Shinoda K, et al. Interleukin-4 inhibits RANKL-induced expression of NFATc1 and c-Fos: a possible mechanism for downregulation of osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun* 2005; 329: 839-845.
50. Romas E, Bakharevski O, Hards DK, et al. Expression of osteoclast differentiation factor at sites of bone erosion in collagen-induced arthritis. *Arthritis Rheum* 2000; 43: 821-826.
51. Haynes DR, Crotti TN, Loric M, et al. Osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappa B ligand (RANKL) regulate osteoclast formation by cells in the human rheumatoid arthritic joint. *Rheumatology (Oxford)* 2001; 40: 623-630.
52. Pettit AR, Ji H, von Stechow D, et al. TRANCE/RANKL knockout mice are protected from bone erosion in a serum transfer model of arthritis. *Am J Pathol* 2001; 159: 1689-1699.
53. Kong YY, Feige U, Sarosi I, et al. Activated T cells regulate bone loss and joint destruction in adjuvant arthritis through osteoprotegerin ligand. *Nature* 1999; 402: 304-309.
54. Mori H, Kitazawa R, Mizuki S, et al. RANK ligand, RANK, and OPG expression in type II collagen-induced arthritis Mouse. *Histochem Cell Biol* 2002; 117: 283-292.
55. Schett G, Redlich K, Hayer S, et al. Osteoprotegerin protects against generalized bone loss in tumor necrosis factor-transgenic mice. *Arthritis Rheum* 2003; 48: 2042-2051.

56. Wu Y, Liu J, Feng X, et al. Synovial fibroblasts promote osteoclast formation by RANKL in a novel model of spontaneous arthritis. *Arthritis Rheum* 2005; 52: 3257-3268.
57. Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A, et al. The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. *J Bone Miner Res* 2001; 16: 348-360.
58. Kamijo S, Nakajima A, Ikeda K, et al. Amelioration of bone loss in collagen-induced arthritis by neutralizing anti-RANKL monoclonal antibody. *Bioche Biophys Res Commun* 2006; 347: 124-132.
59. Romas E, Gillespie MT. Inflammation-induced bone loss: can it be prevented? *Rheum Dis Clin North Am* 2006; 32: 759-773.
60. Catrina AI, af Klint E, Ernestam S, et al. Anti-tumor necrosis factor therapy increases synovial osteoprotegerin expression in rheumatoid arthritis. *Arthritis Rheum* 2006; 54: 76-81.
61. Lee CK, Lee EY, Chung SM, et al. Effects of disease-modifying antirheumatic drugs and antiinflammatory cytokines on human osteoclastogenesis through interaction with receptor activator of nuclear factor kappa B, osteoprotegerin, and receptor activator of nuclear factor kappa B ligand. *Arthritis Rheum* 2004; 50: 3831-3843.
62. Van Lieshout AW, Barrera P, Smeets RL, et al. Inhibition of TNF alpha during maturation of dendritic cells results in the development of semi-mature cells: a potential mechanism for the beneficial effects of TNF alpha blockade in rheumatoid arthritis. *Ann Rheum Dis* 2005; 64: 408-414.