

Rola osteoprotegeryny w modulowaniu powstawania miażdżycy i możliwość wykorzystania jej oznaczenia w celu stratyfikacji ryzyka sercowo-naczyniowego

Łukasz Krzych¹, Maciej Wybraniec²

¹I Oddział Kardiochirurgii, SP SK nr 7 SUM, Górnośląskie Centrum Medyczne w Katowicach

²SP SK nr 7 SUM, Górnośląskie Centrum Medyczne w Katowicach

Streszczenie

Proces tworzenia blaszki miażdżycowej jest silnie związany z rozwijającym się stanem zapalnym w ścianie naczynia. Od dawna trwają prace nad znalezieniem takich markerów stanu zapalnego, których oznaczenie pozwoliłoby na ocenę zagrożenia wystąpieniem powikłań miażdżycy, także w obrębie tętnic wieńcowych. Jak dotąd, ze względu na małą swoistość, oznaczenie takich markerów stanu zapalnego w chorobach układu krążenia, jak białko C-reaktywne nie pozwala na wykluczenie obecności choroby niedokrwiennej serca. Coraz większe nadzieje wiąże się z oznaczeniem białka — osteoprotegeryny (OPG), będącego elementem osi RANKL/OPG/RANK, zaangażowanego w kontrolę metabolizmu kostnego. Istnieją doniesienia o dodatnim związku pomiędzy stężeniem OPG a nasileniem miażdżycy obwodowej, stopniem uwapnienia tętnic wieńcowych, występowaniem zdarzeń sercowo-naczyniowych oraz niekorzystnym rokowaniem w ostrych zespołach wieńcowych. Chociaż związek pomiędzy metabolizmem kostnym a zaawansowaniem miażdżycy z pewnością wymaga dalszych badań, oznaczenie OPG może być cennym uzupełnieniem oceny ryzyka sercowo-naczyniowego zarówno w populacji osób zdrowych, jak i u chorych z już rozpoznaną chorobą wieńcową. (Folia Cardiologica Excerpta 2012; 7, 4: 201–212)

Słowa kluczowe: osteoprotegeryna, OPG, RANK ligand, RANKL, białko C-reaktywne, CRP, miażdżyca, zapalenie

Wprowadzenie — miażdżyca jako choroba zapalna

Patogeneza choroby wieńcowej jest jednym z najszerszych obszarów badań w kardiologii. Choroby sercowo-naczyniowe zajmują czołową pozycję w strukturze zgonów dzisiejszego społeczeństwa, odpowiadając za 1/3 wszystkich zgonów w populacji w skali światowej oraz nawet 50% w krajach rozwiniętych [1]. Pierwsze próby wyjaśnienia patogeny miażdżycy sięgają roku 1966, kiedy to Friedman i Byers opisali komórki piankowe (*foam cells*)

będące w istocie makrofagami przekształconymi pod wpływem lipidów [2]. Wprawdzie początkowo wiązano miażdżycę z procesem zwyrodnieniowym polegającym na śródściennej akumulacji lipidów zapoczątkowanej przez pierwotne uszkodzenie śródbłonna, w połowie lat 80. XX wieku stało się jasne, że to zapalenie odkrywa kluczową rolę w rozwoju blaszki miażdżycowej [3]. W 1992 roku uzyskano dokładniejszy wgląd w proces aterogenezy dzięki odkryciu zwierzęcego modelu miażdżycy w postaci myszy pozbawionych genu dla apolipoproteiny E (*ApoE-knockout mice*) [4], co było możliwe

Adres do korespondencji: Dr hab. n. med. Łukasz Krzych, I Oddział Kardiochirurgii, SP SK nr 7 SUM, Górnośląskie Centrum Medyczne, ul. Ziołowa 47, 40–635 Katowice, tel.: (32) 359 86 11, faks: (32) 252 70 66, e-mail: l.krzych@wp.pl

dzięki wynalezieniu metody tzw. celowania genowego (*gene-targeting*). Zgodnie z aktualną wiedzą rdzeń blaszki miażdżycowej tworzy pozakomórkowy lipidowy debris otoczony licznymi komórkami układu odpornościowego (limfocyty T, limfocyty B, komórki NK, monocyty, makrofagi, mastocyty, komórki dendrytyczne), a także komórkami piankowatymi i komórkami mięśniówki gładkiej naczyń (VSMC, *vascular smooth muscle cells*) [5–7]. Od strony światła naczynia blaszkę pokrywa warstwa włókniasta wyścielona komórkami endotelialnymi. Okazało się, że nie tyle samo zapalenie, ile ścieżka immunologicznej aktywacji związana z limfocytami Th1 (przewaga odpowiedzi komórkowej nad humoralną) promuje proces aterogenezy i może doprowadzać do ewentualnej destabilizacji blaszki poprzez indukcję ekspresji metaloproteinaz tkankowych (MMP, *matrix metalloproteinase*). W obliczu powyższych faktów nie dziwi powszechne dążenie do wytypowania immunologicznego wyznacznika stopnia zagrożenia miażdżycą.

Celem niniejszego doniesienia jest podsumowanie dostępnej wiedzy na temat przydatności oznaczenia markerów stanu zapalnego związanych z metabolizmem kostnym w stratyfikacji ryzyka sercowo-naczyniowego oraz ocenie zaawansowania miażdżycy.

Material i metody

Podczas tworzenia opracowania posłużono się informacjami zawartymi w oryginalnych doniesieniach i pracach poglądowych wyszukiwanych poprzez *Medline* przez *PubMed*, *EmBase* oraz *The Cochrane Central Register of Controlled Trials*, na podstawie wybranych słów kluczowych i ich kombinacji: *atherosclerosis and inflammation*, *hs-CRP*, *osteoprotegerin*, *OPG*, *receptor activator of nuclear factor kappa-B*, *RANK*, *RANKL*, *denosumab*, *bone turnover*, *osteoprotegerin gene polymorphism*, *endothelial progenitor cells*, *EPC*, *osteocalcin*. Data ostatniego przeszukania to: 04.06.2012 r. Do przeglądu włączono pełnotekstowe prace polsko- i angielskojęzyczne.

Białko C-reaktywne

Na przestrzeni ostatnich lat prowadzono badania nad wieloma markerami zapalnymi o znaczeniu predykcyjnym, a także prognostycznym w chorobie wieńcowej, takimi jak czynnik martwicy nowotworu α (*TNF- α* , *tumour necrosis factor α*), interleukina 6, fibrynogen, prokalcytonina czy też osoczowe białko amyloidu A (*SAA*, *serum amyloid antigen*) [8–10]. Do dzisiaj najwięcej wiadomo na temat klinicznej

przydatności białka C-reaktywnego (*CRP*, *C-reactive protein*) oznaczanego za pomocą testu wysokiej czułości (*hs-CRP*, *high sensitivity-C-reactive protein*), wykrywającego stężenia rzędu 0,06 mg/l (w odróżnieniu od klasycznych testów wykorzystywanych w diagnostyce infekcji i chorób układowych, wykrywających stężenia $CRP > 3-7$ mg/l) [11, 12]. Wydzielanie *CRP* przez hepatocyty wzrasta w ogólnoustrojowym stanie zapalnym i jest pobudzane przez interleukinę 6 produkowaną przez makrofagi, limfocyty i adipocyty. Chociaż *CRP* zostało odkryte już w 1930 roku przez Tilletta i Francisa z Uniwersytetu Rockefellera u pacjenta cierpiącego na zapalenie płuc o podłożu bakteryjnym [13], wciąż istnieją niejasności związane z jego fizjologiczną rolą. Z pewnością wiadomo, iż *CRP* pełni funkcję pomocniczą w procesie fagocytozy (łącząc się z receptorem *Fc γ*), a także aktywacji układu dopełniacza (powinowactwo do składowej *C1q* i czynnika *H*). Nie powinien dziwić więc fakt, że z wysokim stężeniem *CRP* mamy do czynienia przede wszystkim w przypadku stanów zapalnych o etiologii infekcyjnej i autoimmunologicznej [13]. Powinowactwo cząsteczki *CRP* do lipoprotein *LDL* (*low density lipoproteins*) i jego obecność w blaszce miażdżycowej wpisuje się w zapalną teorię patogenezy miażdżycy, a podwyższenie stężenia *CRP* występuje zarówno w przewlekłych, jak i ostrych zespołach wieńcowych (*ACS*, *acute coronary syndrome*) [14]. Co więcej, podwyższone stężenie *CRP* dotyczy również pacjentów obciążonych jedynie pojedynczymi czynnikami ryzyka sercowo-naczyniowego, bez jawnej choroby wieńcowej, np. u chorych palących tytoń, z nadciśnieniem, otyłością czy także chorych z zespołem metabolicznym [14]. Podsumowanie powyższych spostrzeżeń stanowią wyniki metaanalizy przeprowadzonej przez grupę *ERFC* (*Emerging Risk Factors Collaboration*), w której dowiedziono klinicznej roli *hs-CRP* jako elementu oceny ryzyka sercowo-naczyniowego. Wzrost wyrażanego logarytmicznie stężenia *CRP* o 1 odchylenie standardowe korelował dodatnio z ryzykiem wystąpienia choroby wieńcowej [hazard względny (*hazard ratio*) skorygowany względem wieku, płci i czynników ryzyka sercowo-naczyniowego: $HR = 1,37$; 95% $CI: 1,27-1,48$], udaru niedokrwiennego mózgu ($HR = 1,27$; 95% $CI: 1,15-1,40$), ryzykiem zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych ($HR = 1,55$; 95% $CI: 1,37-1,76$) oraz z przyczyn innych niż naczyniowe ($HR = 1,54$; 95% $CI: 1,40-1,68$) [15].

Potwierdzeniem powyższych ustaleń były również wyniki randomizowanego prospektywnego badania *JUPITER* (*Justification for the Use of Statins in Prevention: an Intervention Trial Evaluating Rosuvastatin*) obejmującego blisko 18 tys. pacjen-

tów, w którym stosowano rosuwastatynę w dawce 20 mg w celu prewencji pierwotnej u pacjentów bez hipercholesterolemii (LDL < 130 mg/dl), z wysokim stężeniem hs-CRP (> 2 mg/l) [16, 17]. Na szczególną uwagę zasługuje fakt, że w badanej grupie interwencja przy użyciu statyn, w porównaniu z placebo, wiązała się m.in. ze zmniejszeniem ryzyka wystąpienia niepożądanych zdarzeń sercowo-naczyniowych (HR = 0,56; 95% CI: 0,46–0,69; p < 0,001) oraz całkowitego ryzyka zgonu niezależnie od przyczyny (HR = 0,80; 95% CI: 0,67–0,97; p = 0,02). Potwierdziły się zatem przypuszczenia, że statyny mają działanie plejotropowe, oddziałując nie tylko na stężenie cholesterolu poprzez blokowanie reduktazy HMG-CoA (3-hydroksy-3-metyloglutarylokoenzymu A), ale również wywołując efekt przeciwzapalny, wyrażony jako spadek stężenia hs-CRP (spadek stężenia LDL w grupie leczonej rosuwastatyną względem placebo o 50%; spadek stężenia hs-CRP odpowiednio o 37%). Chociaż badanie JUPITER zostało skrytykowane z powodu m.in. zbyt krótkiego czasu obserwacji (średnio 1,8 roku) i braku porównania skuteczności statyn u pacjentów z wysokim i niskim stężeniem hs-CRP [18], niewątpliwie dostarczyło ono kolejnego dowodu na kluczową rolę zapalenia w rozwoju miażdżycy.

Wprawdzie oznaczenie stężenia hs-CRP pozwala na zdefiniowanie celów prewencji pierwotnej, jednak trudno na podstawie pojedynczego wyniku wykluczyć obecność choroby wieńcowej, a w przypadku jej obecności określić ryzyko niestabilności blaszki miażdżycowej. Dlatego podjęto próby uzupełnienia oceny ryzyka sercowo-naczyniowego o określenie stopnia uwapnienia tętnic wieńcowych, wyrażanego w postaci wskaźnika tzw. *calcium score* (*coronary artery calcium score*), obliczanego na podstawie wyniku badania tomograficznego tętnic wieńcowych. Wapnienie tętnic wieńcowych (szczególnie w zakresie wewnętrznej warstwy ściany naczyń) odzwierciedla bowiem stopień zaawansowania rozwoju blaszki miażdżycowej i stanowi czynnik ryzyka jej destabilizacji [19]. Okazało się, że pacjenci z dużym *calcium score* (CS) i podwyższonym stężeniem hs-CRP (kryteria włączenia i wykluczenia jak w badaniu JUPITER) odnieśli korzyść z leczenia statynami w większym stopniu niż chorzy z wysokim hs-CRP, ale bez obecnych istotnych zwapnień w tętnicach wieńcowych [20]. Niemniej jednak, badania obrazowe z wykorzystaniem tomografii komputerowej stanowią kosztowne rozwiązanie dla systemu opieki zdrowotnej i trudno przy ich użyciu szacować ryzyko sercowo-naczyniowe na szeroką skalę. Rokownicze znaczenie procesu wapnienia zmian miażdżycowych wskazuje jednak na

brakujące ogniwo w teorii aterogenezy, łączące patologię układu krążenia z metabolizmem kostnym.

Oś RANKL/OPG/RANK

Już wiele lat temu zwrócono uwagę na stosunkowo częste współwystępowanie chorób sercowo-naczyniowych i osteoporozy, szczególnie u kobiet po menopauzie. Przełomem było odkrycie w 1997 roku przez trzy niezależne zespoły badawcze białka — osteoprotegeryny (OPG, *osteoprotegerin*; OCIF, *osteoclastogenesis inhibitory factor*). Kodujący ją gen na chromosomie 8 został zsekwencjonowany rok później (gen TNFRSF11B). Osteoprotegeryna jest 401-aminokwasową glikoproteiną należącą do rodziny białek związanej z receptorem TNF (TNFR, *tumour necrosis factor receptor superfamily*), występującą w formie związanej z błonami komórkowymi, a także rozpuszczalnej i wydzielanej m.in. przez osteoblasty, komórki o zróżnicowaniu osteoblastycznym (OLC, *osteoblast-like cells*) i komórki układu odpornościowego. Omawiane białko może przybierać formę monomeru (masa cząsteczkowa 60-kDa) bądź homodimeru (120-kDa), jednak niezależnie od postaci, posiada podobną aktywność biologiczną. Osteoprotegeryna pełni funkcję fałszywego rozpuszczalnego receptora dla ligandu aktywatora receptora jądrowego czynnika κ B (RANKL, *receptor activator of nuclear factor κ B*; ODF, *osteoclast differentiation factor*) [21–24].

Osteoprotegeryna w swojej funkcji przypomina białko ostrej fazy, a jej stężenie wzrasta w stanach zapalnych o różnej etiologii (szczególnie silnym bodźcem jest interleukina 4 (tab. 1) [25]. Wykazano, że stężenie OPG koreluje z wiekiem oraz jest wyższe u kobiet (zwłaszcza w trakcie hormonalnej terapii zastępczej) i osób rasy czarnej i żółtej [26, 27]. Wzrost stężenia OPG jest szczególnie zauważalny u kobiet po 60. roku życia i u mężczyzn po 70. roku życia [28, 29].

Dokładniejszego omówienia wymaga istota osi regulacyjnej RANKL-OPG-RANK, zaangażowanej przede wszystkim w kontrolę metabolizmu kostnego. Produkowany i wydzielany przez osteoblasty RANKL stanowi końcową drogę sygnalizacji prowadzącej do różnicowania się prekursorów osteoklastów [powstających z linii monocytarnej wskutek działania GM-CSF (*granulocyte-macrophage colony-stimulating factor*)] poprzez pobudzenie błonowego receptora RANK [wewnątrzkomórkowe przekaznictwo drogą czynnika transkrypcyjnego STAT6 (*signal transducer and transcription activator 6*)]. W ten sposób RANKL odpowiada za resorpcję tkanki kostnej. Jego wysokie stężenie towarzyszy osteoporo-

Tabela 1. Czynniki modulujące ekspresję elementów OPG i RANKL [25, 26]

Ekspresja	Osteoprotegeryna	RANKL
Pobudzenie	IL-4 IL-13 Estrogeny IFN- γ TGF- β BMP2	PTH PTHrP 1,25-Dihydroksycholekalcyferol Glikokortykosteroidy IL-1 IL-7 IL-17 TNF- α IFN- γ PGE ₂
Hamowanie	Glikokortykosteroidy PTH PTHrP IL-17 PGE ₂	IL-13

IL — interleukina; IFN- γ — interferon γ ; TGF- β (*transforming growth factor β*) — transformujący czynnik wzrostu β ; PTH (*parathyroid hormone*) — parathormon; PTHrP (*parathyroid hormone-related protein*) — peptyd PTH-podobny; TNF- α (*tumour necrosis factor α*) — czynnik martwicy nowotworu α ; BMP2 (*bone morphogenetic protein 2*) — białko morfogenetyczne kości 2; PGE₂ (*prostaglandin E2*) — prostaglandyna E2

zie oraz rozsianej chorobie nowotworowej z obecnością przerzutów do kości [30], a osteoprotegeryna swoiście kompensuje efekty działania tego białka [21, 26]. Istnieją również interesujące doniesienia o udziale RANKL w rozwoju embrionalnym węzłów chłonnych i grasicy, przygotowaniu gruczołów mlecznych do laktacji, a także ośrodkowej termoregulacji poprzez indukcję enzymu cyklooksygenazy 2 i stymulację ekspresji prostaglandyny E2, odpowiedzialnej za wzrost temperatury ciała [31]. Jednak natura interakcji między OPG i RANKL wciąż pozostaje niejasna. Oczywisty do tej pory udział OPG w hamowaniu resorpcji tkanki kostnej nie znalazł odzwierciedlenia w wynikach badania *Tromso*, w którym wysokie stężenie OPG korelowało z ryzykiem złamań osteoporotycznych szyjki kości udowej [32], złamań kompresyjnych kręgow [33] i spadkiem gęstości mineralnej kości (BMD, *bone mass density*) u mężczyzn, a także u kobiet nie stosujących hormonalnej terapii zastępczej po menopauzie [34]. Prawdopodobnie to spadek hormonów płciowych w okresie przekwitania odpowiada za zachwianie proporcji między RANKL i OPG oraz za przyspieszoną utratę BMD, a wzrost stężenia OPG stanowi niewydolny mechanizm kompensacyjny [34].

Niespodziewanie okazało się, że u myszy pozbawionych genu osteoprotegeryny (*OPG knock-out mice*) rozwija się nie tylko przedwczesna i nasilona osteoporoza, ale również przyspieszeniu ulega proces miażdżycy i wapnienia dużych tętnic, w tym aorty [35]. Co więcej, u szczurów z rozsianą kalcyfikacją naczyń tętniczych wywołaną podawaniem warfaryny (hamującej gamma-karboksylację białka

Gla będącego inhibitorem wapnienia) i witaminy D seryjne podskórne wstrzyknięcia osteoprotegeryny spowodowały stabilizację blaszek miażdżycowych (wzmocnienie włóknistej pokrywy blaszki miażdżycowej), a także regresję zwapnień oraz rozwój osteopetrozy [36]. Doniesienia te sugerują, że RANKL może pośredniczyć w procesie kalcyfikacji blaszki miażdżycowej. Tymczasem Sandberg i wsp. dowiedli w doświadczeniach *in vitro*, że RANKL powoduje stymulację tkankowych metaloproteinaz (MMP, *matrix metalloproteinase*), co skutkuje destabilizacją blaszki miażdżycowej [37], niezależnie od stopnia jej mineralizacji. Jednocześnie zaobserwowano, że inkubacja komórek mięśniówki gładkiej naczyń wieńcowych (CASMC, *coronary artery smooth muscle cells*) w obecności RANKL powoduje mineralizację macierzy pozakomórkowej wskutek nasilenia ekspresji BMP-4 (*bone morphogenetic protein 4*) [38]. Jednocześnie w dużych badaniach populacyjnych, takich jak EPIC-Norfolk i *Tromso Study*, nie odnotowano związku pomiędzy stężeniem RANKL i występowaniem chorób sercowo-naczyniowych [39, 40].

Co więcej, to osteoprotegeryna, zapobiegająca aterosogenezie u myszy, w większości badań klinicznych w populacji ludzi wykazuje statystycznie znamiennej związek z obecnością choroby wieńcowej i jej zaawansowaniem, a także stopniem uwapnienia zmian miażdżycowych. Jednym z mechanizmów tłumaczących powyższe sprzeczne wyniki jest możliwość występowania różnicy w aktywności biologicznej osteoprotegeryny i RANKL pomiędzy organizmem myszy i ludzi. W myśl osteoklastycznego modelu wapnienia tętnic, wysokie stężenie osteoprotegeryny hamuje przemianę komórek mięśni

gładkich, komórek dendrytycznych i makrofagów w komórki o fenotypie osteoklasycznym (OCL, *osteoclast-like cells*), czego skutkiem jest depozycja związków wapnia w błonie wewnętrznej tętnic (w odróżnieniu od dystroficznego wapnienia błony środkowej w przewlekłej niewydolności nerek, cukrzyca itd.) [19]. Znany jest również pogląd, że wzrost stężenia OPG należy interpretować jako mechanizm kompensacyjny wobec uogólnionego stanu zapalnego prowadzącego do aktywacji RANKL. Skutkuje to spadkiem wykrywalnego stężenia RANKL (testy immunoenzymatyczne nie wykrywają RANKL związanego z OPG). Postuluje się zatem konieczność łącznego oznaczania obu markerów i przedstawiania wyniku w formie stosunku stężeń RANKL i OPG, co prawdopodobnie stanowi lepsze odzwierciedlenie całkowitego ryzyka sercowo-naczyniowego [36].

Znaczenie OPG w chorobie wieńcowej

Niezależnie od rzeczywistej roli poszczególnych elementów osi RANKL/OPG/RANK, w ostatnim czasie ukazało się wiele publikacji oceniających kliniczną przydatność oznaczenia OPG u chorych z problemami kardiologicznymi. Okazało się, że oznaczanie osteoprotegeryny ma duży potencjał, by stać się rutynowo oznaczanym badaniem laboratoryjnym, uzupełniającym zintegrowaną strategię oceny ryzyka i pozwalającym na identyfikację pacjentów zagrożonych wystąpieniem niepożądanych zdarzeń sercowo-naczyniowych.

W największym opublikowanym dotąd przekrojowym badaniu populacyjnym obejmującym blisko 6 tys. osób uczestniczących w *Copenhagen City Heart Study* Mogelvang i wsp. dowiedli, że stężenie OPG jest znamienne większe u pacjentów z rozpoznaną chorobą sercowo-naczyniową (tutaj definiowaną jako wystąpienie niestabilnej dławicy piersiowej, zawału serca, choroby naczyń mózgowych oraz konieczności wykonania rewaskularyzacji) niż u chorych bezobjawowych (stężenie OPG równe odpowiednio 1,34 ng/ml i 1,77 ng/ml; $p < 0,001$) [41]. U osób bez choroby sercowo-naczyniowej stężenie OPG dodatnio korelowało z obecnością uznanych pojedynczych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, takich jak cukrzyca, nadciśnienie tętnicze, hipercholesterolemia i palenie tytoniu oraz choroba naczyń obwodowych [tutaj definiowana jako ABI (*ankle-brachial index*) $< 0,9$] ($p < 0,001$ dla wszystkich powyższych). Chociaż wysokie stężenie hs-CRP również przewidywało obecność choroby wieńcowej (pole pod krzywą ROC: AUC = 0,59), związek ten był słabszy niż w przypadku oznaczenia

OPG (AUC = 0,67) [41]. Po wyeliminowaniu wpływu czynników zakłócających już tylko oznaczenie OPG w sposób znamieny statystycznie pozwalało przewidywać ryzyko wystąpienia dławicy piersiowej. Interesujące jest, że odnotowano słabą korelację pomiędzy stężeniem OPG i hs-CRP ($r = 0,12$) [41].

Stężenie OPG wnosi więc dodatkową informację o zagrożeniu wystąpieniem choroby wieńcowej, uzupełniając wywiad dotyczący obecnych już czynników ryzyka sercowo-naczyniowego [41]. Co ważne, stężenie OPG ma związek nie tylko z występowaniem pojedynczych czynników ryzyka, ale także z rosnącym 10-letnim prawdopodobieństwem rozwoju jawnej klinicznie choroby wieńcowej szacowanym na podstawie algorytmu *Framingham Score* ($r = 0,52$; $p < 0,001$) [42]. Model ten w swej matematycznej postaci uwzględnia wiek, płeć, całkowite stężenie cholesterolu i jego frakcji HDL (*high density lipoproteins*), a także palenie tytoniu i skurczowe ciśnienie tętnicze [43], czyli całe spektrum uznanych czynników ryzyka chorób układu krążenia.

Mimo że stężenie OPG jest znacznie podwyższone u chorych na cukrzycę typu 2, u pacjentów bez zaburzeń gospodarki węglowodanowej jest ono ujemnie skorelowane z masą ciała, wskaźnikiem masy ciała (BMI, *body mass index*) i obwodem tali [44]. Stężenie OPG koreluje także dodatnio ze stężeniem adiponektyny ($r = 0,39$; $p < 0,001$), dlatego może mieć znaczenie w modelowaniu wrażliwości komórek na insulinę [44].

Inną znaną składową zespołu metabolicznego, w której powstawaniu może uczestniczyć OPG, jest samoistne nadciśnienie tętnicze. W pracy Kilińskiej i wsp. odnotowano wyższe stężenie OPG, TNF- α i hsCRP w grupie 30 chorych z rozpoznaniem nadciśnieniem tętniczym (stężenie OPG = $4,5 \pm 2,0$ pmol/l) niż w grupie kontrolnej (stężenie OPG = $2,5 \pm 0,9$; $p < 0,05$) [45]. Postuluje się, że wzrost stężenia markerów stanu zapalnego u osób z nadciśnieniem tętniczym może być indukowany przez angiotensynę II lub mieć charakter wtórny do uszkodzenia śródbłonna [46]. Jednak ze względu na fakt, że wzrost stężenia białka C-reaktywnego często poprzedza rozwój nadciśnienia tętniczego [47], ocena roli procesu zapalnego w etiopatogenezie nadciśnienia tętniczego wymaga ostrożności.

OPG a rokowanie w ostrych zespołach wieńcowych

Udokumentowano także, że OPG ma znaczenie rokownicze u chorych z już rozwiniętą chorobą wieńcową. Oznaczenie stężenia OPG w pierwszej dobie po ostrym zespole wieńcowym pozwala sza-

cować ryzyko zgonu (HR = 1,4; 95% CI: 1,2–1,7; $p < 0,0001$) oraz hospitalizacji z powodu niewydolności krążenia (HR = 1,6; 95% CI: 1,2–2,1; $p = 0,0002$) [48]. Nieoczekiwanie, wartość prognostyczna oznaczenia OPG w szacowaniu ryzyka zgonu po incydentach wieńcowych była w tym badaniu większa niż ta dla troponiny I oraz CRP i porównywalna dla BNP (*B-type natriuretic peptide*) oraz frakcji wyrzutowej lewej komory (LVEF, *left ventricle ejection fraction*) [48]. Osteoprotegeryna najprawdopodobniej odgrywa również rolę w procesie pozawalowej przebudowy lewej komory, a także przeroscie uwarunkowanym innymi czynnikami. Stwierdzono bowiem wysokie stężenie OPG w surowicy pacjentów z niewydolnością serca oraz znaczną tkankową ekspresję OPG i RANKL w kardiomiocytach po niedokrwieniu spowodowanym zawałem [49]. W odniesieniu do poruszanego problemu remodelingu udokumentowano także, że wysokie stężenie OPG w surowicy koreluje ujemnie z LVEF, a dodatkowo z masą i grubością ściany lewej komory [27].

OPG a ryzyko sercowo-naczyniowe

Z dużym entuzjazmem spotkały się wyniki badania *Tromso* sugerujące, że stężenie OPG trafnie określa zagrożenie wystąpieniem zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych w populacji pacjentów bez wcześniejszego zawału serca i udaru mózgu. Wysokie stężenie OPG wskazywało na ryzyko wystąpienia zawału serca (HR = 1,20; 95% CI: 1,11–1,31; $p < 0,001$), udaru mózgu (HR = 1,32; 95% CI: 1,18–1,47; $p < 0,001$) oraz przewidywało zagrożenie wystąpieniem zgonu bez względu na przyczynę (HR = 1,34; 95% CI: 1,26–1,42; $p < 0,001$), śmierci z powodu choroby wieńcowej (HR = 1,35; 95% CI: 1,18–1,54; $p < 0,001$), udaru mózgu (HR = 1,44; 95% CI: 1,19–1,75; $p < 0,001$) oraz zgonu z przyczyn pozasercowych (HR = 1,31; 95% CI: 1,22–1,41; $p < 0,001$) [50]. Wyniki analizy badania EPIC-Norfolk (*European Prospective Investigation into Cancer and Nutrition*) [39] oraz badania Brunek [51] potwierdziły powyższe ustalenia, torując drogę koncepcji powszechnego zastosowania szybkich testów oznaczających OPG w celu identyfikacji pacjentów wymagających dokładnej obserwacji kardiologicznej lub przeprowadzania badań obrazowych, takich jak np. tomografia komputerowa czy angiografia naczyń wieńcowych.

OPG a wskaźnik CAC

Udział OPG w procesie wapnienia blaszek miażdżycowych znalazł umocowanie w wynikach

badania klinicznych oceniających tomograficzny wskaźnik uwapnienia tętnic wieńcowych CS. Jako przykład może posłużyć prospektywne badanie obejmujące blisko 400 pacjentów z rozpoznaną cukrzycą typu 2, bez jawnej choroby wieńcowej, u których wyjściowo wysokie stężenie OPG przewidywało progresję wapnienia tętnic wieńcowych [52]. W innym, przekrojowym badaniu, stężenie OPG mieszczące się w czwartym kwartylu pozwalało przewidzieć obecność zwapnień w tętnicach wieńcowych wyrażaną jako dodatni wskaźnik CS (RR = 1,39; 95% CI: 1,01–1,93) oraz wiązało się z obecnością zmian miażdżycowych w aorcie (RR = 1,42; 95% CI: 1,09–1,86) [53].

Diagnostyczna przydatność OPG w ocenie obecności zwapnień w układzie krążenia nie dotyczy jednak choroby zastawkowej serca. Stężenie osteoprotegeryny najprawdopodobniej nie zależy od występowania degeneracyjnego zwężenia zastawki aortalnej. Adamczyk i wsp. udowodnili, że ewentualny wzrost stężenia OPG u pacjentów ze zwężeniem zastawki aortalnej wskazuje raczej na towarzyszącą chorobę wieńcową niż na stopień jej uwapnienia [54].

OPG w aspekcie chorób autoimmunologicznych

Wszystkich pacjentów z reumatoidalnym zapaleniem stawów (RA, *rheumatoid arthritis*) uznawano dotąd za osoby szczególnie zagrożone rozwojem miażdżycy. W osteoporozie towarzyszącej RA dochodzi do wzrostu stosunku RANKL/OPG, co przyczynia się do aktywacji osteoklastów, skutkującej spadkiem BMD [55, 56]. Stężenie OPG u chorych z RA zmniejsza się lub pozostaje na stałym poziomie, a jego względny wzrost (odwrócenie trendu) może odpowiadać za rozwój miażdżycy w tej grupie pacjentów. Dowiedziono, że obecność zwężeń w tętnicach szyjnych łączy się z wysokim stężeniem OPG ($p = 0,04$), niezależnie od aktywności choroby i stężenia CRP. Oznaczenie stężenia OPG pozwala zatem zakwalifikować pacjentów z RA do grupy niskiego i wysokiego ryzyka sercowo-naczyniowego [57].

OPG a miażdżycy tętnic obwodowych

Przełomowym punktem w badaniach dotyczących OPG były opublikowane w 2004 roku wyniki cytowanego już badania *Tromso*, którego pierwotnym celem było ustalenie związku pomiędzy stężeniem hemoglobiny glikowanej (HbA_{1c}) a grubością kompleksu intima-media w tętnicy szyjnej (IMT, *intima-media thickness*). Okazało się, że oprócz średniego poziomu glikemii, także wzrastające stę-

zenie OPG odzwierciedla przyrost grubości kompleksu intima-media, niezależnie od występowania innych czynników ryzyka ($r = 0,36$; $p < 0,0001$). Autorzy zauważyli również, że zależność ta nie dotyczyła uczestników badania poniżej 45. rż. i zasugerowali, że prawdopodobnie OPG nie odgrywa istotnej roli w rozwoju miażdżycy u młodszych chorych [40]. Choć aktualnie znany jest pogląd o słabym związku pomiędzy IMT a ryzykiem zdarzeń sercowo-naczyniowych (występuje ono tylko w przypadku zmian $> 1,5$ mm, przy normie $< 0,9$ mm) [58], OPG jest ewidentnie związana z niekorzystną przebudową ściany tętnic, która — jak wiadomo — często ma charakter wielopoziomowy.

W odróżnieniu od innych białek ostrej fazy, takich jak IL-6 i hs-CRP, oznaczenie stężenia OPG trafnie identyfikuje również pacjentów z miażdżycą kończyn dolnych (PAD, *peripheral artery disease*) i pozwala określić jej zaawansowanie, korelując ujemnie ze wskaźnikiem ABI ($r = -0,26$; $p = 0,03$), niezależnie od płci, wieku i wyrównania glikemicznego [59]. Spadek wskaźnika ABI odzwierciedla stopień zwężenia tętnic obwodowych i wiąże się z przebudową i wapnieniem wewnętrznej warstwy naczynia.

Paradoksalnie jednak w niektórych badaniach odnotowano dodatnią korelację między stężeniem OPG a szybko-udową prędkością fali tętna (cfPWV, *carotid-femoral pulse wave velocity*) powszechnie uznawanej za wyznacznik arteriosklerozy, czyli stwardnienia środkowej warstwy naczynia w wyniku jej wapnienia. Opisana została ona po raz pierwszy w 1903 roku przez Mönckeberga (jako tzw. *arteriosclerosis*), a dziś wiadomo już, że charakteryzuje się wysokimi wartościami wskaźnika ABI (zazwyczaj $> 1,4$). Wiadomo, że wapnienie warstwy środkowej tętnic ma charakter niezapalny i występuje głównie u ludzi starszych, obciążonych cukrzycą i przewlekłą chorobą nerek. Choć związek pomiędzy zapalną aterogenezą i zwyrodnieniową arteriosklerozą nie został dotąd w pełni wyjaśniony [43], wydaje się, że OPG jest mediatorem zaangażowanym jednocześnie w oba odmiennie procesy patologiczne, co znalazło potwierdzenie w wynikach badań mówiących o dodatniej zależności pomiędzy wskaźnikiem CS i cfPWV ($r = 0,36$; $p = 0,01$) oraz stężeniem OPG wśród bezobjawowych pacjentów z rozpoznaną cukrzycą typu 2 [60]. Najczęściej miażdżycą Mönckeberga przebiega bezobjawowo lub manifestuje się izolowanym skurczowym nadciśnieniem tętniczym. Jednak wystąpienie arteriosklerozy znacząco pogarsza rokowanie, gdyż zgodnie z doniesieniem Resnicka i wsp. zależność pomiędzy wskaźnikiem ABI a ryzykiem zgonu ma charakter krzywej U-kształtnej, z około dwukrot-

nie większą śmiertelnością w przypadku skrajnie wysokich i niskich wartości ABI [61].

OPG a przewlekła choroba nerek

Pacjenci z rozpoznaną przewlekłą chorobą nerek (CKD, *chronic kidney disease*) stanowią grupę szczególnie obciążoną ryzykiem rozwoju miażdżycy i postępującym stwardnieniem tętnic [62]. Zgodnie z zaproponowaną przez Ronco klasyfikacją rozwój choroby wieńcowej lub niewydolności serca na podłożu przewlekłej choroby nerek stanowi typ 4 zespołu sercowo-nerkowego [63]. Charakterystyczne dla CKD zaburzenia metaboliczne, obejmujące przede wszystkim zmiany w zakresie gospodarki wapniowo-fosforanowej, przyczyniają się do przyspieszonego rozwoju miażdżycy. Okazało się, że nie tylko iloczyn stężenia jonów wapnia i fosforanów w surowicy (wzrost ryzyka, gdy $[Ca \times P] > 55$ mg/dl), ale przede wszystkim stężenie OPG odzwierciedla stopień uwapnienia tętnic wieńcowych i ryzyko jego progresji, a także przewiduje wystąpienie zgonu [64–66]. Dowiedziono również, że osoby dializowane z nadmierną masą ciała (tutaj BMI > 28 kg/m²) cechują się niższymi wartościami wskaźnika CS [66]. Obserwacja ta potwierdza tezę o szybszym rozwoju miażdżycy u wyniszczonych chorych ze schyłkową niewydolnością nerek, co przyjęło się definiować jako zespół MIA (*malnutrition, inflammation, atherosclerosis*) [67].

Oprócz wymienionych sytuacji klinicznych stężenie OPG w surowicy wzrasta także u pacjentów z idiopatycznym nadciśnieniem płucnym. W tej grupie chorych jego oznaczenie jest przydatne do oceny rokowania, co wynika ze wzmożonej ekspresji OPG w komórkach mięśni gładkich przebudowanych naczyń płucnych (pacjenci z OPG < 4728 pg/ml — 1-roczone przeżycie: 91% vs pacjenci z OPG > 4728 pg/ml — przeżycie: 41%, $p = 0,04$) [68]. Ponadto tkankowa zawartość OPG w ścianie tętniaków aorty brzusznej, w odróżnieniu od jej stężenia w surowicy, koreluje z rozmiarem tętniaka, rocznym tempem przyrostu jego średnicy oraz zawartością metaloproteinaz tkankowych [69]. Interesująco przedstawia się również związek OPG z żylną chorobą zakrzepowo-zatorową [70]. W świetle powyższych obserwacji osteoprotegeryna jawi się jako kluczowy modulator przebudowy ściany tętnic na wielu poziomach układu krążenia.

Polimorfizm genu dla OPG

Ekspresja genu osteoprotegeryny (gen TNFRSF11B na chromosomie 8) wzrasta z wiekiem

i zależy od wielu modyfikowalnych czynników ryzyka choroby wieńcowej. Jednak u pewnej grupy obciążonych osób miażdżycy oraz zwapnienia w tętnicach wieńcowych nie rozwijają się lub występują w małym natężeniu. Czy istnieje zatem genetyczna predyspozycja do wzmożonej ekspresji czynników biorących udział w rozwoju miażdżycy i wapnienia tętnic? Pierwsze obserwacje były bardzo obiecujące. W 2004 roku w badaniu SILVHIA (*The Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol*) udokumentowano zależność pomiędzy obecnością homozygotycznego wariantu polimorfizmu pojedynczego nukleotydu (SNP, *single nucleotide polymorphism*) w pozycji 950 (substytucja T na C) regionu promotorowego genu OPG a grubością kompleksu intima-media w tętnicy szyjnej wspólnej u pacjentów z nadciśnieniem tętniczym i przerostem lewej komory [71]. W spójności z powyższymi ustaleniami przedstawia się korelacja pomiędzy jednoczesnym występowaniem hetero- i homozygotycznych wariantów polimorfizmu w pozycji 950 (T → C) i 1181 (G → C) genu OPG a występowaniem znamienych zwężeń w tętnicach wieńcowych w badaniu angiograficznym (OR = 1,67; 95% CI: 1,02–2,72; p = 0,04) [72].

Niestety największe przeprowadzone dotąd badanie oceniające przydatność genotypowania OPG, w którym uczestniczyło 1333 kobiet rasy kaukaskiej po przebytej menopauzie, nie wykazało różnicowości pomiędzy przedstawionymi wcześniej wariantami allelicznymi w zakresie występowania czynników ryzyka sercowo-naczyniowego, stężenia OPG, a także częstości zgonu [84]. Niezależnie od posiadanego genotypu, osoby z wysokim stężeniem OPG (> 2,18 ng/ml) były obciążone większym ryzykiem zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych (OR = 1,89; 95% CI: 1,13–3,15; p = 0,01), co dowodzi braku związku między analizowanymi polimorfizmami a ekspresją białka OPG [73]. Przedstawione wyniki są zbieżne z obserwacjami poczynionymi przez koreańskich naukowców w homogennej grupie 251 zdrowych kobiet pochodzenia azjatyckiego [74]. Na dzień dzisiejszy nie znamy więc klinicznie istotnych polimorfizmów genu dla OPG, które wnosząby nowe dane na temat modelowania ryzyka sercowo-naczyniowego.

Krążące komórki prekursorowe o zróżnicowaniu osteoblastycznym (CD34+/CD133±/KDR+/OCN+)

Badania dotyczące związku między rozwojem miażdżycy a metabolizmem kostnym doprowadziły do odkrycia całkiem nowej płaszczyzny wzajemnych

interakcji. Okazało się, że w odpowiedzi na uszkodzenie śródbłonna ze szpiku kostnego uwalniane są do krążenia komórki prekursorowe (o fenotypie CD34+/CD133+/KDR+) zaangażowane w procesy naprawy ściany naczynia (EPC, *endothelial progenitor cells*). Okazało się ponadto, że komórki śródbłonna i osteoblasty wywodzą się ze wspólnej linii komórek progenitorowych, a część z krążących endotelialnych komórek prekursorowych wykazuje dodatkowo różnicowanie osteoblastyczne, manifestujące się dodatnią ekspresją osteokalcyny (OCN+, *osteocalcin*) powszechnie uznawanej za marker aktywności osteoblastów. Co więcej, na podstawie ekspresji cząsteczki CD133 można różnić prekursorów nisko (CD133-) lub wysoko zróżnicowanych (CD133+) [75, 76]. Postuluje się, że w przypadku obecności czynników uszkadzających ścianę naczynia (np. wysokie ciśnienie tętnicze, uraz, pęknięcie blaszki miażdżycowej) wspomniane komórki migrują do miejsca uszkodzenia, gdzie zapoczątkowują miejscowy proces naprawczy, prowadzący jednocześnie do niekorzystnego wapnienia ściany naczynia. EPC wykazują bowiem powinowactwo do mikrośrodowiska o zwiększonym stężeniu jonów wapnia. W takich warunkach w EPC dochodzi do wzrostu ekspresji chemotaktycznego białka zwanego osteopontyną (OPN, *osteopontin*) [77]. Za jej pośrednictwem EPC modulują proliferację, migrację i akumulację komórek mięśni gładkich naczynia (VSMC) oraz monocytów, które za sprawą innych mechanizmów mogą różnicować się w komórki o fenotypie osteoblastycznym i doprowadzać do procesu naczyniowej kalcyfikacji (fizjologicznie osteopontyna bierze udział w procesie resorpcji tkanki kostnej poprzez łączenie się z receptorem CD44 obecnym na błonie komórkowej osteoklastów i hamuje odkładanie się związków wapnia w macierzy pozakomórkowej).

Gössl i wsp. w swojej nowatorskiej na tym polu pracy porównali stężenie wyżej wymienionych EPC o fenotypie osteogennym u pacjentów zdrowych oraz z rozpoznaną wczesną (definiowaną jako obecność zwężeń < 30% światła naczynia i patologiczny skurcz pod wpływem acetylocholino) i zaawansowaną chorobą wieńcową (obecność zwężeń > 50% w przynajmniej 2 głównych tętnicach wieńcowych) [78]. W badaniu tym komórki jednojądrzaste krwi obwodowej (PBMNCs, *peripheral blood mononuclear cells*) wyodrębniono za pośrednictwem gradientu gęstości, następnie komórki EPC zostały wybarwione immunofluorescencyjne przy użyciu przeciwciał monoklonalnych anty-CD34, anty-CD133, anty-KDR, anty-OCN, a ostatecznie ich zawartość została określona za pomocą cytometrii

przełykowej. Procent komórek wykazujących ekspresję osteokalcyny (OCN+) spośród wszystkich komórek EPC o fenotypie CD34+/CD133-/KDR+ był około 5 razy większy u chorych z wczesną ($p = 0,001$) i 2 razy większy u pacjentów z zaawansowaną chorobą wieńcową ($p = 0,05$), w porównaniu z grupą kontrolną [78]. Należy podkreślić, że przydatność powyższego testu laboratoryjnego (skorygowana względem wieku powierzchnia pod krzywą ROC: AUC = 0,84) w ocenie występowania miażdżycy tętnic wieńcowych przewyższała oznaczenie hs-CRP (AUC = 0,58), a różnica ta była znamienna statystycznie [78]. Mimo że rutynowe użycie cytometrii przepłykowej w diagnostyce choroby wieńcowej jest niemożliwe ze względu na duże koszty i ograniczenia techniczne, doniesienie to stanowi koronny dowód na udział osteogennych prekursorów w inicjacji i progresji zmian miażdżycowych.

Denosumab, monoklonalne przeciwciało anti-RANKL

Odkrycie kolejnego ogniwa w patogenezie miażdżycy przyniosło nowy potencjalny punkt uchwytu dla wykorzystania hipotetycznych inhibitorów kalcyfikacji tętnic, odwracających niekorzystną przebudowę ściany naczyniowej. Zrozumienie roli osteoprotegeryny i RANKL w kontroli metabolizmu kostnego doprowadziło do stworzenia ludzkiego monoklonalnego przeciwciała skierowanego przeciwko RANKL, denosumabu. W badaniu III fazy o akronimie FREEDOM (*Fracture Reduction Evaluation of Denosumab in Osteoporosis every 6 Months*) stosowanie denosumabu w dawce 60 mg co 6 miesięcy skutecznie zmniejszało, w porównaniu z placebo, prawdopodobieństwo występowania złamań osteoporotycznych: kręgosłupa o 68%, biodra o 40% i innych kości o 20% [79]. Skuteczność nowej terapii oddaje fakt, że po jednorazowym wstrzyknięciu 3 mg denosumabu stężenie osoczowego markera osteolizy, N-końcowego telopeptydu kolagenu typu 1 (NTx, *N-terminal telopeptide*), malało aż o 81% [80]. Co więcej, w badaniu DECIDE (*The Determining Efficacy: Comparison of Initiating Denosumab vs Alendronate*) udowodniono, że u kobiet po menopauzie denosumab był skuteczniejszy w przywracaniu BMD od alendronianu (należącego do grupy bisfosfonianów) w 1-roczej obserwacji [81]. Denosumab znalazł także zastosowanie w terapii osteoporozy w przebiegu reumatoidalnego zapalenia stawów. Co więcej, przeciwciało to okazało się skuteczne w leczeniu szpiczaka mnogiego oraz kostnych przerzutów raka stercza i sutka. W celu poparcia tych tez warto przytoczyć wy-

niki badania, do którego włączono 2049 kobiet z zaawansowanym rakiem piersi, u których denosumab w dawce 120 mg był skuteczniejszy od kwasu zoledronowego w opóźnieniu czasu do wystąpienia pierwszego i kolejnych powikłań związanych z obecnością przerzutów do kości odpowiednio o 18% i 23% [82]. Poza doniesieniami o pojedynczych przypadkach zapalenia tkanki podskórnej (*cellulitis*) i wysypki, lek ten był pozbawiony krótkoterminowych działań ubocznych. Niemniej jednak, wbrew początkowym nadziejom, w trwającym badaniu FREEDOM nie zaobserwowano zauważalnego wpływu podania przeciwciała anti-RANKL na progresję choroby wieńcowej, a także występowanie incydentów sercowo-naczyniowych [79].

Interesujące są również próby wykorzystania OPG jako markera odpowiedzi na leczenie mającego na celu zmniejszenie ryzyka sercowo-naczyniowego (analogicznie do wpływu leczenia statynami na hs-CRP w badaniu JUPITER). W badaniu *South Danish Diabetes Study* porównano wpływ na stężenie OPG w osoczu łącznego leczenia insuliną i rozyglitazonem w cukrzycy typu 2 w porównaniu ze standardową terapią insuliną i metforminą [83]. Co ciekawe, chociaż oba schematy leczenia skutecznie zmniejszały odsetek HbA_{1c}, jedynie stosowanie rozyglitazonu wiązało się ze spadkiem stężenia OPG ($p = 0,003$), co może skutkować redukcją ryzyka sercowo-naczyniowego w tej grupie chorych. Najprawdopodobniej spadek stężenia OPG odpowiada za wzrost częstości złamań osteoporotycznych, co zostało wcześniej udokumentowane w badaniu ADOPT (*Diabetes Outcome Progression Trial*) [84]. Jak wynika z niedawno opublikowanej metaanalizy, rozyglitazon może niestety zwiększać ryzyko wystąpienia zawału serca (OR = 1,28; 95% CI: 1,01–1,62; $p = 0,04$), dlatego znaczenie obserwowanych zmian stężenia OPG pozostaje niejasne [85].

Podsumowanie

Wzrost stężenia białek ostrej fazy, takich jak hs-CRP czy IL-6, pośrednio i nieswoiście odzwierciedla aktywację układu immunologicznego, która towarzyszy rozwojowi miażdżycy. Niewątpliwą przewagą osteoprotegeryny nad wspomnianymi białkami jest jej bezpośredni udział w patogenezie aterosclerozy. Jest ona bowiem nie tyle wskaźnikiem, ile mediatorem lokalnej, śródściennej osteogenezy, mającej niebagatelne znaczenie w ocenie ryzyka niekorzystnej przemiany blaszki miażdżycowej, a skutkującej wystąpieniem ostrego zespołu wieńcowego. Bezpośredni udział OPG w transformacji zmian miażdżycowych stwarza możliwość in-

terwencji farmakologicznej w zakresie elementów osi RANKL/OPG/RANK przy użyciu dziś jeszcze hipotetycznych inhibitorów wapnienia naczyń. Choć nie odkryto dotąd substancji, która odgrywałaby rolę swoistej „vasculo-protegeryny” [86], stosunek stężeń RANKL do OPG ma dużą szansę stać się rutynowo oznaczanym parametrem laboratoryjnym u pacjentów z już rozpoznaną chorobą wieńcową, a także u osób pozornie zdrowych w celu stratyfikacji indywidualnego ryzyka sercowo-naczyniowego i wdrożenia leczenia prewencyjnego.

Piśmiennictwo

- World Health Organization. World Health Statistics 2012. Dostępne pod adresem: http://www.who.int/gho/publications/world_health_statistics/EN_WHS2012_Full.pdf Dane analizowane w maju 2012.
- Friedman M., Byers S.O., St George S. Site of origin of the luminal foam cells of atherosclerosis. *Am. J. Clin. Pathol.* 1966; 45: 238–246.
- Schwartz C.J., Valente A.J., Sprague E.A., Kelley J.L., Suenram C.A., Rozek M.M. Atherosclerosis as an inflammatory process. The roles of the monocyte-macrophage. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 1985; 454: 115–120.
- Meir K.S., Leitersdorf E. Atherosclerosis in the apolipoprotein-E deficient mouse: a decade of progress. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2004; 24: 1006–1014.
- Libby P. Inflammation in atherosclerosis. *Nature* 2002; 420: 868–874.
- Hansson G.K., Libby P. The immune response in atherosclerosis: a double-edged sword. *Nature Reviews Immunology* 2006; 6: 508–519.
- Hansson G.K., Libby P., Schönbeck U., Yan Z.Q. Innate and adaptive immunity in the pathogenesis of atherosclerosis. *Circ. Res.* 2002; 91: 281–291.
- Pai J.K., Pischon T., Ma J. i wsp. Inflammatory markers and the risk of coronary heart disease in men and women. *N. Engl. J. Med.* 2004; 351: 2599–2610.
- Ridker P.M., Hennekens C.H., Buring J.E., Rifai N. C-reactive protein and other markers of inflammation in the prediction of cardiovascular disease in women. *N. Engl. J. Med.* 2000; 342: 836–843.
- Schiopu A., Hedblad B., Engström G., Struck J., Morgenthaler N.G., Melander O. Plasma procalcitonin and the risk of cardiovascular events and death: a prospective population-based study. *J. Intern. Med.* 2012 Apr 24. doi: 10.1111/j.1365-2796.2012.02548.x.
- Ridker P.M., Cushman M., Stampfer M.J., Tracy R.P., Hennekens C.H. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N. Engl. J. Med.* 1997; 336: 973–979.
- Roberts W.L., Moulton L., Law T.C. i wsp. Evaluation of nine automated high-sensitivity C-reactive protein methods: implications for clinical and epidemiological applications. Part 2. *Clin. Chem.* 2001; 47: 418–425.
- Tillett W.S., Francis T. Jr. Serological reactions in pneumonia with a non-protein fraction of pneumococcus. *J. Exp. Med.* 1930; 52: 561–571.
- Koenig W., Sund M., Fröhlich M. i wsp. C-Reactive protein, a sensitive marker of inflammation, predicts future risk of coronary heart disease in initially healthy middle-aged men: results from the MONICA (Monitoring Trends and Determinants in Cardiovascular Disease) Augsburg Cohort Study, 1984 to 1992. *Circulation* 1999; 99: 237–242.
- Emerging Risk Factors Collaboration, Kaptoge S., Di Angelantonio E. i wsp. C-reactive protein concentration and risk of coronary heart disease, stroke, and mortality: an individual participant meta-analysis. *Lancet* 2010; 375: 132–140.
- Ridker P.M., Danielson E., JUPITER Study Group i wsp. Rosuvastatin to Prevent Vascular Events in Men and Women with Elevated C-Reactive Protein. *N. Engl. J. Med.* 2008; 359: 2195–2207.
- Ridker P.M. The time for cardiovascular inflammation reduction trials has arrived: how low to go for hsCRP? *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2008; 28: 1222–1224.
- Morrissey R.P., Diamond G.A., Kaul S. The JUPITER Trial: Myth or Reality? *Curr. Atheroscler. Rep.* 2011; 13: 413–421.
- Doherty T.M., Fitzpatrick L.A., Inoue D. i wsp. Molecular, endocrine, and genetic mechanisms of arterial calcification. *Endocrine Reviews* 2004; 25: 629–672.
- Blaha M.J., Budoff M.J., DeFilippis A.P. i wsp. Associations between C-reactive protein, coronary artery calcium, and cardiovascular events: implications for the JUPITER population from MESA, a population-based cohort study. *Lancet* 2011; 378: 684–692.
- Simonet W.S., Lacey D.L., Dunstan C.R. i wsp. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997; 89: 309–319.
- Tsuda E., Goto M., Mochizuki S.-I. i wsp. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997; 234: 137–142.
- Yasuda H., Shima N., Nakagawa N. i wsp. Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro. *Endocrinology* 1998; 139: 1329–1337.
- Kwon B.S., Wang S., Udagawa N. i wsp. TR1, a new member of the tumor necrosis factor receptor family, induces fibroblast proliferation and inhibits osteoclastogenesis and bone resorption. *FASEB J.* 1998; 12: 845–854.
- Stein N.C., Kreutzmann C., Zimmermann S.P. i wsp. Interleukin-4 and Interleukin-13 Stimulate the Osteoclast Inhibitor Osteoprotegerin by Human Endothelial Cells Through the STAT6 Pathway. *J. Bone Miner. Res.* 2008; 23: 750–758.
- Kearns A.E., Khosla S., Kostenuik P.J. Receptor Activator of Nuclear Factor κ B Ligand and Osteoprotegerin Regulation of Bone Remodeling in Health and Disease. *Endocr. Rev.* 2008; 29: 155–192.
- Omland T., Drazner M.H., Ueland T. i wsp. Plasma Osteoprotegerin Levels in the General Population Relation to Indices of Left Ventricular Structure and Function. *Hypertension* 2007; 49: 1392–1398.
- Kudlacek S., Schneider B., Woloszczuk W., Pietschmann P., Willwonseder R.; Austrian Study Group on Normative Values of Bone Metabolism. Serum levels of osteoprotegerin increase with age in a healthy adult population. *Bone* 2003; 32: 681–686.
- Mainini G., Incoronato M., Urso L., Scaffa C. Serum osteoprotegerin correlates with age and bone mass in postmenopausal, but

- not in fertile age women. *Clin. Exp. Obstet. Gynecol.* 2011; 38: 355–359.
30. Mikami S., Katsube K., Oya M. i wsp. Increased RANKL expression is related to tumour migration and metastasis of renal cell carcinomas. *J. Pathol.* 2009; 218: 530–539.
 31. Hanada R., Leibbrandt A., Hanada T. i wsp. Central control of feber and female body temperature by RANKL/RANK. *Nature* 2009; 462: 505–509.
 32. Jørgensen L., Hansen J.B., Ahmed L. i wsp. Osteoprotegerin is associated with hip fracture incidence: the Trømsø Study. *Int. J. Epidemiol.* 2012 Apr 25.
 33. Jørgensen L., Hansen J.B., Brox J., Mathiesen E., Vik A., Jacobsen B.K. Serum osteoprotegerin levels are related to height loss: the Tromsø Study. *Eur. J. Epidemiol.* 2011; 26: 305–312.
 34. Jørgensen L., Vik A., Emaus N. i wsp. Bone loss in relation to serum levels of osteoprotegerin and nuclear factor-kappaB ligand: the Tromsø Study. *Osteoporos. Int.* 2010; 21: 931–938.
 35. Bennett B.J., Scatena M., Kirk E.A. i wsp. Osteoprotegerin inactivation accelerates advanced atherosclerotic lesion progression and calcification in older ApoE^{-/-} mice. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2006; 26: 2117–2124.
 36. Mohammadpour A.H., Shamsara J., Nazemi S., Ghadirzadeh S., Shahsavand S., Ramezani M. Evaluation of RANKL/OPG Serum Concentration Ratio as a New Biomarker for Coronary Artery Calcification: A Pilot Study. *Thrombosis* 2012; 2012: 306263. Epub 2012 Mar 28.
 37. Sandberg W.J., Yndestad A., Øie E. i wsp. Enhanced T-cell expression of RANK ligand in acute coronary syndrome: possible role in plaque destabilization. *Arteriosclerosis, Thrombosis, and Vascular Biology* 2006; 26: 857–863.
 38. Panizo S., Cardus A., Encinas M. i wsp. RANKL increases vascular smooth muscle cell calcification through a RANK-BMP4-dependent pathway. *Circ. Res.* 2009; 104: 1041–1048.
 39. Semb A.G., Ueland T., Aukrust P. i wsp. Osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor-kappaB 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.
 40. Vik A., Mathiesen E.B., Brox J. i wsp. Relation between serum osteoprotegerin and carotid intima media thickness in a general population — the Tromsø Study. *Journal of Thrombosis and Haemostasis* 2010; 8: 2133–2139.
 41. Mogelvang R., Pedersen S.H., Flyvbjerg A. i wsp. Comparison of Osteoprotegerin to Traditional Atherosclerotic Risk Factors and High-Sensitivity C-Reactive Protein for Diagnosis of Atherosclerosis. *Am. J. Cardiol.* 2012; 109: 515–520.
 42. Davenport C., Ashley D.T., O'Sullivan E.P. i wsp. Identifying coronary artery disease in men with type 2 diabetes: osteoprotegerin, pulse wave velocity, and other biomarkers of cardiovascular risk. *Journal of Hypertension* 2011; 29: 2469–2475.
 43. D'Agostino R.B. Sr., Grundy S., Sullivan L.M., Wilson P.; CHD Risk Prediction Group. Validation of the Framingham coronary heart disease prediction scores: results of a multiple ethnic groups investigation. *JAMA* 2001; 286: 180–187.
 44. Ashley D.T., O'Sullivan E.P., Davenport C. i wsp. Similar to adiponectin, serum levels of osteoprotegerin are associated with obesity in healthy subjects. *Metabolism* 2011; 60: 994–1000.
 45. Kilińska L., Bogdański P., Miller-Kasprzak E. i wsp. Evaluation of osteoprotegerin level and selected inflammatory markers in patients with essential hypertension. *Arterial Hypertension* 2010; 14: 375–380.
 46. Preston R.A., Jy W., Jimenez J.J. i wsp. Effects of severe hypertension on endothelial and platelet microparticles. *Hypertension* 2003; 41: 211–217.
 47. Sung K., Suh J., Kim B. i wsp. High sensitivity C-reactive protein as an independent risk factor for essential hypertension. *Am. J. Hypert.* 2003; 16: 429–433.
 48. Omland T., Ueland T., Jansson A.M. i wsp. Circulating osteoprotegerin levels and long-term prognosis in patients with acute coronary syndromes. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008; 51: 627–633.
 49. Ueland T., Yndestad A., Øie E. i wsp. Dysregulated osteoprotegerin/RANK ligand/RANK axis in clinical and experimental heart failure. *Circulation* 2005; 111: 2461–2468.
 50. Vik A., Mathiesen E.B., Johnsen S.H. i wsp. Serum osteoprotegerin, sRANKL and carotid plaque formation and growth in a general population — the Tromsø study. *J. Thromb. Haemost.* 2010; 8: 898–905.
 51. Kiechl S., Schett G., Wenning G. i wsp. Osteoprotegerin is a risk factor for progressive atherosclerosis and cardiovascular disease. *Circulation* 2004; 109: 2175–2180.
 52. Anand D.V., Lim E., Darko D. i wsp. Determinants of progression of coronary artery calcification in type 2 diabetes role of glycemic control and inflammatory/vascular calcification markers. *Journal of the American College of Cardiology* 2007; 50: 2218–2225.
 53. Abedin M., Omland T., Ueland T. i wsp. Relation of osteoprotegerin to coronary calcium and aortic plaque (from the Dallas Heart Study). *Am. J. Cardiol.* 2007; 99: 513–518.
 54. Adamczyk T., Mizia-Stec K., Mizia M. i wsp. Biomarkers of calcification and atherosclerosis in patients with degenerative aortic stenosis in relation to concomitant coronary artery disease. *Pol. Arch. Med. Wewn.* 2012; 122: 14–21.
 55. Geusens P.P., Landewé R.B., Garnero P. i wsp. The ratio of circulating osteoprotegerin to RANKL in early rheumatoid arthritis predicts later joint destruction. *Arthritis Rheum.* 2006; 54: 1772–1777.
 56. Xu S., Wang Y., Lu J., Xu J. Osteoprotegerin and RANKL in the pathogenesis of rheumatoid arthritis-induced osteoporosis. *Rheumatol. Int.* 2011 Nov 6.
 57. Asanuma Y.F., Shimada Y., Kouzu N. i wsp. Serum osteoprotegerin concentration is associated with carotid atherosclerotic plaque in patients with rheumatoid arthritis. *Mod. Rheumatol.* 2012 May 15.
 58. Polak J.F., Pencina M.J., Pencina K.M., O'Donnell C.J., Wolf P.A., D'Agostino R.B. Sr. Carotid-wall intima-media thickness and cardiovascular events. *N. Engl. J. Med.* 2011; 365: 213–221.
 59. O'Sullivan E.P., Ashley D.T., Davenport C. i wsp. Osteoprotegerin is higher in peripheral arterial disease regardless of glycaemic status. *Thromb. Res.* 2010; 126: 423–427.
 60. Jung C.H., Lee W.Y., Kim S.Y. i wsp. The relationship between coronary artery calcification score, plasma osteoprotegerin level and arterial stiffness in asymptomatic type 2 DM. *Acta Diabetol.* 2010; 47: 145–152.
 61. Resnick H.E., Lindsay R.S., McDermott M.M. i wsp. Relationship of high and low ankle brachial index to all-cause and cardiovascular disease mortality: the Strong Heart Study. *Circulation* 2004; 109: 733–739.
 62. Foley R.N., Parfrey P.S., Sarnak M.J. Clinical epidemiology of cardiovascular disease in chronic renal disease. *Am. J. Kidney Dis.* 1998; 32: 112–119.
 63. Ronco C., Haapio M., House A.A., Anavekar N., Bellomo R. Cardiorenal syndrome. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008; 52: 1527–1539.

64. Kurnatowska I., Grzelak P., Kaczmarek M., Stefańczyk L., Nowicki M. Serum osteoprotegerin is a predictor of progression of atherosclerosis and coronary calcification in hemodialysis patients. *Nephron Clin. Pract.* 2011; 117: 297–304.
65. Mesquita M., Demulder A., Damry N. i wsp. Plasma osteoprotegerin is an independent risk factor for mortality and an early biomarker of coronary vascular calcification in chronic kidney disease. *Clin. Chem. Lab. Med.* 2009; 47: 339–346.
66. Cianciolo G., La Manna G., Donati G. i wsp. Coronary calcifications in end-stage renal disease patients: a new link between osteoprotegerin, diabetes and body mass index? *Blood Purif.* 2010; 29: 13–22.
67. Stenvinkel P., Heimbürger O., Lindholm B., Kaysen G.A., Bergström J. Are there two types of malnutrition in chronic renal failure? Evidence for relationships between malnutrition, inflammation and atherosclerosis (MIA syndrome). *Nephrol. Dial. Transplant.* 2000; 15: 953–960.
68. Condliffe R., Pickworth J.A., Hopkinson K. i wsp. Serum osteoprotegerin is increased and predicts survival in idiopathic pulmonary arterial hypertension. *Pulm. Circ.* 2012; 2: 21–27.
69. Koole D., Hurks R., Schoneveld A. i wsp. Osteoprotegerin is associated with aneurysm diameter and proteolysis in abdominal aortic aneurysm disease. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2012; 32: 1497–1504.
70. Rattazzi M., Faggini E., Galliazzo S. i wsp. Osteoprotegerin levels are increased in patients with venous thromboembolic disease. *J. Thromb. Haemost.* 2012; 10: 1183–1185.
71. Brändström H., Stiger F., Kahan T. i wsp. A single nucleotide polymorphism in the promoter region of the osteoprotegerin gene is related to intima-media thickness of the carotid artery in hypertensive patients. The Swedish Irbesartan Left Ventricular Hypertrophy Investigation vs Atenolol (SILVHIA). *Blood Press.* 2004; 13: 152–157.
72. Soufi M., Schoppet M., Sattler A.M. i wsp. Osteoprotegerin gene polymorphisms in men with coronary artery disease. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2004; 89: 3764–3768.
73. Ueland T., Wilson S.G., Amirul Islam F.M. i wsp. A cohort study of the effects of serum osteoprotegerin and osteoprotegerin gene polymorphisms on cardiovascular mortality in elderly women. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 2009; 71: 828–833.
74. Rhee E.J., Oh K.W., Jung C.H. i wsp. The relationship between four single nucleotide polymorphisms in the promoter region of the osteoprotegerin gene and aortic calcification or coronary artery disease in Koreans. *Clin. Endocrinol. (Oxf.)* 2006; 64: 689–697.
75. Eghbali-Fatourehchi G.Z., Moedder U.I., Charatcharoenwithaya N. i wsp. Characterization of circulating osteoblast lineage cells in humans. *Bone* 2007; 40: 1370–1377. 2008; 27: 285–299.
76. Friedrich E.B., Walenta K., Scharlau J., Nickenig G., Werner N. CD34-/CD133+/VEGFR-2+ endothelial progenitor cell subpopulation with potent vasoregenerative capacities. *Circ. Res.* 2006; 98: 20–25.
77. Standal T., Borset M., Sundan A. Role of osteopontin in adhesion, migration, cell survival and bone remodeling. *Exp. Oncol.* 2004; 26: 179–184.
78. Gössl M., Mödder U.I., Atkinson E.J., Lerman A., Khosla S. Osteocalcin expression by circulating endothelial progenitor cells in patients with coronary atherosclerosis. *J. Am. Coll. Cardiol.* 2008; 52: 1314–1325.
79. Cummings S.R., San Martin J., McClung M.R. i wsp. Denosumab for prevention of fractures in post-menopausal women with osteoporosis. *N. Engl. J. Med.* 2009; 361: 756–765.
80. Bekker P.J., Holloway D.L., Rasmussen A.S. i wsp. A single-dose placebo-controlled study of AMG 162, a fully human monoclonal antibody to RANKL, in postmenopausal women. *J. Bone Miner. Res.* 2004; 19: 1059–1066.
81. Brown J.P., Prince R.L., Deal C. i wsp. Comparison of the effect of denosumab and alendronate on BMD and biochemical markers of bone turnover in postmenopausal women with low bone mass: a randomized, blinded, phase 3 trial. *J. Bone Miner. Res.* 2009; 24: 153–161.
82. Stopeck A.T., Lipton A., Body J.-J. i wsp. Denosumab compared with zoledronic acid for the treatment of bone metastases in patients with advanced breast cancer: a randomized, double-blind study. *J. Clin. Oncol.* 2010; 28: 5132–5139.
83. Nybo M., Preil S.R., Juhl H.F. i wsp. Rosiglitazone decreases plasma levels of osteoprotegerin in a randomized clinical trial with type 2 diabetes patients. *Basic Clin. Pharmacol. Toxicol.* 2011; 109: 481–485.
84. Kahn S.E., Zinman B., Lachin J.M. i wsp. Diabetes Outcome Progression Trial (ADOPT) Study Group. Rosiglitazone-associated fractures in type 2 diabetes: an Analysis from A Diabetes Outcome Progression Trial (ADOPT). *Diabetes Care* 2008; 31: 845–851.
85. Nissen S.E., Wolski K. Rosiglitazone revisited: an updated meta-analysis of risk for myocardial infarction and cardiovascular mortality. *Arch. Intern. Med.* 2010; 170: 1191–1201.
86. Ziegler S., Kudlacek S., Luger A., Minar E. Osteoprotegerin plasma concentrations correlate with severity of peripheral artery disease. *Atherosclerosis* 2005; 182: 175–180.