

Katarzyna Mizia-Stec¹, Zbigniew Gąsior¹, Michał Holeccki², Magdalena Mizia¹, Maciej Haberka¹,
Joanna Janowska², Klaudia Gieszczyk¹, Barbara Zahorska-Markiewicz²

¹Katedra i Klinika Kardiologii WOZ Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

²Katedra i Zakład Patofizjologii WL Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

Przebudowa strukturalna tętnic u kobiet z otyłością prostą a stężenie osteoprotegeryny w surowicy krwi

Arterial structure remodeling in women with simple obesity is related to osteoprotegerin serum levels

STRESZCZENIE

WSTĘP. Osteoprotegeryna (OPG) jest nowo odkrytą cytokiną, której działanie wiąże się z metabolizmem kostnym i kalcyfikacją tkanek miękkich, w tym naczyń tętniczych. Wyniki wcześniejszych badań przeprowadzonych przez autorów niniejszej pracy wskazują na zwiększoną sztywność tętnic u chorych z otyłością prostą — OPG może być potencjalnym czynnikiem istotnym w patogenezie tych zmian. Celem pracy było określenie zależności między stężeniem OPG w surowicy krwi a wskaźnikami przebudowy czynnościowej i strukturalnej tętnic u kobiet z otyłością prostą.

MATERIAŁ I METODY. Badaniem objęto 30 kobiet z otyłością prostą (badane w okresie okołomenopauzalnym; BMI: $34,2 \pm 5,3$ kg/m²; wiek: $51,3 \pm 5,3$ roku). Przeprowadzono nieinwazyjną ultrasonograficzną ocenę parametrów przebudowy czynnościowej (tj. FMD) i strukturalnej naczyń: grubość kompleksu błona wewnętrzna–błona środkowa (IMT) tętnicy szyjnej wspólnej (CCA), w tym parametrów podatności korelujących ze zmianami strukturalnymi dużych

naczyń (prędkość rozchodzenia się fali tętna [PWV], całkowita podatność tętnicza [TAC], podatność aorty [AoC], podatność CCA [CCA C], wskaźnik sztywności). Stężenie OPG w surowicy krwi mierzono metodą ELISA.

WYNIKI. Stężenia OPG w surowicy krwi wykazywały istotne korelacje z wiekiem ($r = 0,320$; $p = 0,03$), wskaźnikiem masy lewej komory ($r = 0,387$; $p = 0,03$), IMT ($r = 0,397$; $p = 0,02$) i CCA C ($r = 0,470$; $p = 0,01$). Nie stwierdzono istotnych zależności między stężeniem OPG a FMD. W analizie wieloczynnikowej ze stężeniem OPG jako zmienną zależną wiek, IMT i CCA C były niezależnymi czynnikami wpływającymi na stężenie OPG ($p = 0,02$).

WNIOSKI. Wyższe stężenie OPG w surowicy krwi ma związek z większym wymiarem IMT oraz zwiększoną sztywnością tętnic u kobiet z otyłością prostą, co sugeruje udział OPG w strukturalnej przebudowie naczyń tętniczych. Osteoprotegeryna może stanowić czynnik ryzyka chorób układu krążenia w tej populacji.

Słowa kluczowe: otyłość prosta, osteoprotegeryna, grubość kompleksu błona wewnętrzna–błona środkowa, sztywność tętnic

Endokrynologia, Otyłość i Zaburzenia Przemiany Materii 2009, tom 5, nr 2, 60–65

ABSTRACT

INTRODUCTION. Osteoprotegerin (OPG) is recently identified cytokine that has been proposed as a link molecule between bone metabolism and arterial calcification. Our previous research re-

Adres do korespondencji: dr hab. med. Katarzyna Mizia-Stec
Katedra i Klinika Kardiologii WOZ Śląskiego Uniwersytetu Medycznego
w Katowicach

ul. Ziołowa 45/47, 40–635 Katowice

tel./faks: + 48 32 252 74 07

e-mail: kmizia@op.pl

Copyright © 2009 Via Medica

Nadesłano: 05.02.2009 Przyjęto do druku: 01.03.2009

vealed that simple obesity is an important factor that accelerates alterations in arterial stiffness and OPG might probably play a role in these processes.

Our aim was to assess a relationship between OPG serum levels and indexes of arterial structure and function in women with a simple obesity.

MATERIAL AND METHODS. 30 patients with a simple obesity (females in peri-menopausal period; BMI: 34.2 ± 5.3 kg/m²; age: 55.2 ± 10.6 years) were enrolled in the study. High-resolution ultrasound was used to measure endothelial-dependent flow mediated dilation (FMD), nitroglycerin-mediated dilation (NMD), and the parameters of arterial structural changes: intima-media-thickness (IMT) of common carotid artery (CCA); pulse wave velocity (PWV), total arterial compliance (TAC), aorta compliance (AoC), common carotid artery compliance (CCA C) and stiffness index. OPG serum levels were measured by ELISA method. **RESULTS.** There were significant correlations between OPG serum levels and age ($r = 0.320$; $p = 0.03$), left ventricular mass index ($r = 0.387$; $p = 0.03$), IMT ($r = 0.397$; $p = 0.02$), and CCA C ($r = 0.470$; $p = 0.01$). However, no significant relationship was found between serum OPG levels and endothelial-dependent FMD. In a multiple regression analysis with OPG as the dependent variable, age, IMT, and CCA C were the significant predictors of serum OPG level ($p = 0.02$).

CONCLUSIONS. Circulating osteoprotegerin levels are associated with increased IMT and arterial stiffness in females with simple obesity. It may suggest significant role of the OPG in structural remodeling of arteries. Osteoprotegerin may be an important risk factor for cardiovascular diseases.

Key words: simple obesity, osteoprotegerin, intima-media thickness, arterial stiffness

Endocrinology, Obesity and Metabolic Disorders 2009, vol. 5, No 2, 60–65

Wstęp

Otyłość stanowi czynnik ryzyka chorób układu krążenia [1]. Ponieważ liczba osób otyłych ciągle wzrasta, niezwykle istotne jest wczesne wykrycie wskaźników przebudowy układu naczyniowego oraz badania nad czynnikami prowadzącymi do zmian w układzie krążenia. Dysfunkcja śródbłonna stanowi kluczową zmianę zapoczątkowującą proces miażdżycowy [2, 3]. Współczesne metody ultrasonograficzne pozwalają zobrazować stopień przebudowy naczyń — zarówno stopień dysfunkcji śródbłonna za pomocą oceny przy użyciu wazodylatacji indukowanej przepływem (FMD, *flow mediated dilation*), jak i wskaźniki zmian strukturalnych, na przykład grubość kompleksu błona wewnętrzna–błona środkowa (IMT, *intima-media thickness*), czy wskaźniki sztywności tętnic. Wyniki wcześniejszych prac prowadzonych przez autorów niniejszego artykułu u kobiet z otyłością prostą potwierdzają nasiloną przebudowę naczyń tętniczych — wskazują na zwiększoną sztywność naczyń w tej populacji badanych [4, 5].

Osteoprotegeryna (OPG, *osteoprotegerin*) jest niedawno odkrytą cytokiną, którą uważa się za molekułę odpowiedzialną za powiązania metabolizmu kostnego z procesami kalcyfikacji układu sercowo-naczyniowego. W komórkach śródbłonna OPG może hamować apoptozę, ponieważ łączy się z ligandem zależnym od czynnika martwicy nowotworów (TRAIL, *tumor necrosis factor — related apoptosis-inducing ligand*) [6, 7].

Jak wynika z danych zawartych w piśmiennictwie [8, 9], stężenie OPG w surowicy krwi jest niezależnym czynnikiem ryzyka miażdżycy i czułym markerem miażdżycy obwodowej. W swoich dotychczasowych pracach autorzy niniejszego artykułu wykazali, że stężenia OPG u osób otyłych są niższe niż u osób z prawidłową masą ciała [10, 11].

Obecnie nie wiadomo jakie jest potencjalne znaczenie OPG dla przebudowy układu naczyniowego w otyłości. Potencjalnie OPG może prowadzić do obserwowanego wzrostu sztywności naczyń.

Celem niniejszej pracy jest określenie zależności między stężeniem OPG w surowicy krwi otyłych kobiet a ultrasonograficznymi wskaźnikami przebudowy czynnościowej i strukturalnej naczyń.

Materiał i metody

Do badania włączono 30 otyłych kobiet w wieku okołomenopauzalnym (BMI: $34,2 \pm 5,3$ kg/m²; wiek: $51,3 \pm 5,3$ roku). U wszystkich rozpoznano otyłość prostą, bez schorzeń współistniejących.

Kryteriami wykluczającymi z badania były: aktualna lub przebyta w ciągu 3 miesięcy infekcja, farmakoterapia, przebyta owariektomia, palenie tytoniu, nadużywanie alkoholu. Wszystkie kobiety poinformowano o badaniu i wyraziły świadomą zgodę na udział w nim.

U wszystkich badanych przeprowadzono badanie podmiotowe i przedmiotowe. Zmierzono masę ciała i wzrost, wyznaczono wskaźnik masy ciała (BMI, *body mass index*). Wykonano podstawowe badania laboratoryjne uwzględniające lipidogram (stężenia: cholesterolu całkowitego [TC, *total cholesterol*] w surowicy krwi, cholesterolu frakcji LDL, frakcji HDL w surowicy krwi oraz triglicerydów [TG, *triglyceride*]).

Krew do badania pobierano na czczo, między godziną 8.00 a 9.00. Po uzyskaniu skrzepu próbki odwirowywano w temperaturze pokojowej ($1000 \times G$, 10 min). Surowice odciągano do plastikowych probówek i przechowywano w temperaturze $-80^{\circ}C$ do czasu oznaczeń. Stężenie OPG w surowicy krwi oznaczano za pomocą gotowych zestawów firmy BioVendor (Czechy), metodą ELISA.

Ocena uwzględniała pełne badanie echokardiograficzne — u wszystkich kobiet wyznaczano frakcję wyrzutową lewej komory (EF, *ejection fraction*) oraz wskaźnik masy lewej komory (LVMI, *left ventricular mass index*). Badania ultrasonograficzne przeprowadzono przy użyciu aparatu Toshiba Aplio, stosując głowicę sektorową (częstotliwość 3 MHz) i liniową (częstotliwość 7–10 MHz).

Wazodylatacja indukowana przepływem (FMD)

Badanie przeprowadzano w godzinach rannych, po 15 minutach odpoczynku, badana pacjentka była na czczo. Wykonywano kilkakrotne pomiary średnicy tętnicy ramiennej i wielkości maksymalnego przepływu przez to naczynie w warunkach podstawowych. Następnie zaciskano na 3 minuty mankiet do pomiaru ciśnienia tętniczego do wartości 200 mm Hg. W ten sposób uzyskiwano zamknięcie naczynia. Po deflacji mankieta i indukcji reaktywnego przekrwienia (po 60 s) wykonywano kolejne pomiary średnicy tętnicy ramiennej — poszerzenie naczynia odzwierciedlało zależną od śródbłonna wazodylatację. Następnie wyznaczano 1) średnie z kolejnych pomiarów, 2) różnicę między średnicą naczynia po deflacji mankieta i pomiarem wyjściowym, 3) odsetkowy przyrost średnicy naczynia (FMD). Po 15 minutach podawano podjęzykowo 0,5 mg nitrogliceryny i wykonywano ponowne pomiary badanych parametrów w celu oceny wazodylatacji niezależnej od przepływu — wyznaczano NMD.

Ocena grubości kompleksu błona wewnętrzna–błona środkowa (IMT)

Oceniano grubość IMT tętnicy szyjnej wspólnej na tylnej ścianie naczynia — wykonywano wielokrotne pomiary maksymalnej grubości, a następnie wyznaczano wartość średnią ze wszystkich pomiarów.

Metody nieinwazyjnej oceny sztywności tętnic

Prędkość propagacji fali tętna (PWV)

Stosowana metoda oceny prędkości propagacji fali tętna (PWV, *pulse wave velocity*) polegała na detekcji fali tętna na tętnicy szyjnej wspólnej i na tętnicy udowej. Porównując czas przybycia obu fal tętna — mierząc czas między załamkiem R krzywej EKG a doplerowskim sygnałem fali tętna — otrzymuje się czas opóźnienia pomiędzy przybyciem fali tętna do obydwu miejsc. Prędkość propagacji fali tętna kalkulowano, dzieląc dystans między miejscami pomiaru na powierzchni ciała przez czas opóźnienia (m/s) [6].

Zmiany średnicy i pola przekroju naczynia w zależności od ciśnienia tętna

Oceniano zmiany średnicy tętnic — aorty (opuszka aorty) i tętnicy szyjnej wspólnej pod wpływem ciśnienia tętna. Analizowano następujące parametry:

A. Ciśnienie tętna (PP, *pulse pressure*)

$$PP = SBP - DBP$$

Różnica ciśnień między ciśnieniem skurczowym (SBP) i rozkurczowym (DBP).

B. Podatność (C, *compliance*)

$$C = \Delta V / \Delta P$$

Podatność definiowano jako zmianę objętości (w przypadku aorty i tętnicy szyjnej wspólnej — wymiaru lub pola powierzchni) na jednostkę ciśnienia.

Całkowitą podatność tętniczą (TAC, *total arterial compliance*) oszacowano ze stosunku objętości wyrzutowej lewej komory serca (SV, *stroke volume*) i ciśnienia tętna (TAC = SV/PP).

Podatność aorty (AoC, *aorta compliance*) i tętnicy szyjnej wspólnej (CCA, *common carotid artery*) wyznaczano ze wzoru:

$$C = (Dd - Ds) / PP,$$

gdzie: Dd — wymiar rozkurczowy (w okresie skurczu serca i wyrzutu fali tętna), Ds — wymiar skurczowy naczynia (w okresie rozkurczu serca), natomiast PP — ciśnienie tętna [6].

C. Wskaźnik sztywności (*stiffness index β*)

$$\beta = \ln(SBP - DBP) / [(Dd - Ds) / Ds]$$

Wskaźnik sztywności (*stiffness index β*) reprezentujący mechaniczne właściwości ściany tętnicy był kalkulowany według wzoru:

$$\beta = \ln(SBP - DBP) / [(Ds - Dd) / Dd].$$

Wskaźniki sztywności wyznaczano dla Ao i CCA [6].

Badanie zostało zatwierdzone przez Komisję Bioetyczną Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach.

Bazę danych materiału klinicznego utworzono w arkuszu kalkulacyjnym EXCEL v. 2000 firmy Microsoft. Tak sporządzoną bazę danych poddano analizie statystycznej, wykorzystując standardowe procedury statystyczne.

W statystycznej analizie opisowej zmiennych logicznych opierano się na ich wartościach odsetkowych. W statystycznej analizie zmiennych liczbowych obliczano średnią arytmetyczną i odchylenie standardowe. Za pomocą analizy regresji, w tym regresji wielokrotnej, oceniano zależności między stężeniem OPG a parametrami klinicznymi. We wszystkich weryfikacjach za pomocą testów statystycznych przyjmowano poziomy znamienności statystycznej: $p \geq 0,05$ — brak znamienności statystycznej; $p < 0,05$ — znamienność statystyczna.

Wyniki

Wyniki badań klinicznych (BMI, stężenia lipidów w surowicy krwi, wskaźniki echokardiograficzne) przedstawiono w tabeli 1.

Tabela 1. Charakterystyka badanych grup

| Parametr | Grupa badana |
|---------------------------------|--------------|
| N | 30 |
| BMI [kg/m ²] | 34,2 ± 5,3 |
| HR [uderzenia/min] | 71,1 ± 8,3 |
| TC [mg/dl] | 186,2 ± 28,4 |
| Cholesterol frakcji HDL [mg/dl] | 45,6 ± 10,2 |
| Cholesterol frakcji LDL [mg/dl] | 127,3 ± 29,3 |
| TG [mg/dl] | 105,5 ± 88,9 |
| LVM [g] | 228,1 ± 50,3 |
| LVMl [g/m ²] | 117,5 ± 20,1 |
| LV EF (%) | 61,7 ± 6,7 |

BMI (*body mass index*) — wskaźnik masy ciała; EF (*ejection fraction*) — frakcja wyrzutowa; HR (*heart rate*) — częstość rytmu serca; LV (*left ventricular*) — lewa komora; LVM (*left ventricular mass*) — masa lewej komory serca; LVMl (*left ventricular mass index*) — wskaźnik masy lewej komory; TC (*total cholesterol*) — cholesterol całkowity; TG (*triglyceride*) — triglicerydy

Zakres stężeń OPG w surowicy krwi wynosił: 2,21–8,64 pg/ml; średnia wartość: 4,57 ± 1,48 pg/ml.

Wyniki oceny wskaźników naczyniowych przedstawiono w tabeli 2.

Analiza regresji

Stwierdzono istotne korelacje między stężeniem OPG w surowicy krwi a wiekiem ($r = 0,320$; $p = 0,03$) (ryc.1), LVMl ($r = 0,387$; $p = 0,03$), IMT ($r = 0,397$; $p = 0,02$) (ryc. 2) oraz CCA C ($r = 0,470$; $p = 0,01$). Nie stwierdzono zależności między stężeniem OPG a FMD.

W analizie regresji wielokrotnej ze stężeniem OPG jako zmienną zależną wykazano, że niezależnymi czynnikami wpływającymi na OPG były wiek, IMT oraz CCA C ($p = 0,02$).

Dyskusja

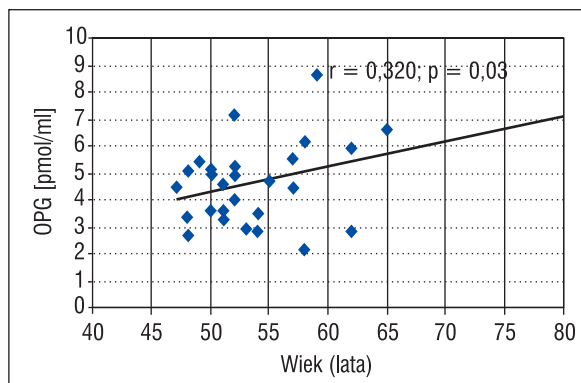
W ostatnich latach wykazano, że OPG jest produkowana przez różne narządy, w tym układ sercowo-naczyniowy, płuca, nerki i układ immunologiczny [12, 13]. W układzie sercowo-naczyniowym OPG jest syntezowana przez mięśnie gładkie i komórki śródbłonna [14, 15]. Jej ekspresję i produkcję regulują inne cytokiny i hormony [13, 16, 17]. W modelach doświadczalnych z użyciem zwierząt genetycznie zmodyfikowanych wykazano, że niedobór OPG prowadzi do kalcyfikacji aorty i tętnic nerkowych, a zjawisko to nie występuje u zwierząt z prawidłową ekspresją genu dla OPG [18, 19]. Pierwsze prace na temat OPG także dotyczą powiązań między metabolizmem kostnym a wapnieniem tętnic u zwierząt [12, 18]. W pierwszym badaniu epidemiologicznym (populacja 490 osób) na temat OPG Browner i wsp. [20] wykazali, że kobiety w starszym wieku umierające z powodu udaru mózgu lub innych przyczyn naczyniowych miały wyższe stężenie OPG. Z kolei Kiechl i wsp. stwierdzili, że OPG jest zarówno niezależnym czynnikiem związanym z progresją miażdżycy tętnic szyjnych, jak i czynnikiem ryzyka incydentów sercowo-naczyniowych i śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych [8].

Także w niniejszej pracy autorzy wykazali powiązania między stężeniem OPG a wskaźnikami przebudowy strukturalnej tętnic, co może stanowić kolejny argument przemawiający za znaczeniem OPG w patofizjologii schorzeń naczyniowych. Dokładny mechanizm wpływu OPG na układ naczyniowy pozostaje nieznan, a hipotezy uzasadniające ten wpływ mogą być różne. Jak przedstawiono w pierwszej części dyskusji istnieją rozbieżności na temat wpływu OPG na układ krążenia — według jednych prac może być on korzystny,

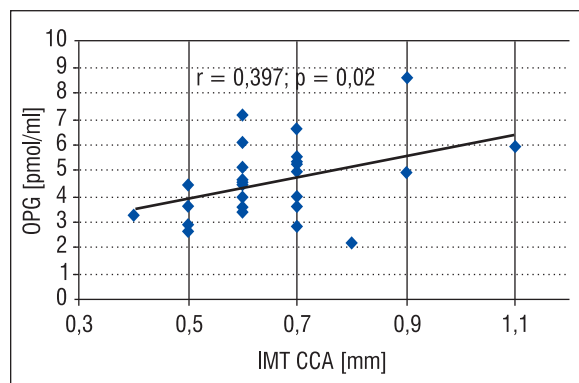
Tabela 2. Parametry przebudowy naczyń w grupie badanej

| Parametr | Grupa badana |
|--|---------------|
| Wazodylatacja indukowana przepływem (FMD) (%) | 20,4 ± 11,9 |
| Wazodylatacja indukowana nitrogliceryną (NMD) (%) | 28,8 ± 8,2 |
| Grubość kompleksu błona wewnętrzna–błona środkowa (IMT) [mm] | 0,66 ± 0,14 |
| Prędkość propagacji fali tętna (PWV) [m/s] | 12,9 ± 5,4 |
| Ciśnienie tętna (PP) [mm Hg] | 51,7 ± 12,4 |
| Całkowita podatność tętnicza (TAC) [ml/bpm × mm Hg] | 1,207 ± 0,41 |
| Podatność aorty (AoC) [mm/mm Hg] | 0,041 ± 0,036 |
| Podatność tętnicy szyjnej wspólnej (CCA C) [mm/mm Hg] | 0,142 ± 0,052 |
| Wskaźnik sztywności | 44,5 ± 8,4 |
| Wskaźnik sztywności CCA | 48,5 ± 11,6 |

AoC (*aorta compliance*) — podatność aorty; CCA (*common carotid artery*) — tętnica szyjna wspólna; CCA C (*common carotid artery compliance*) — podatność tętnicy szyjnej wspólnej; FMD (*flow mediated dilation*) — wazodylatacja indukowana przepływem; IMT (*intima-media thickness*) — grubość kompleksu błona wewnętrzna–błona środkowa; NMD (*nitroglycerin-mediated dilation*) — wazodylatacja indukowana nitrogliceryną; PP (*pulse pressure*) — ciśnienie tętna; PWV (*pulse wave velocity*) — prędkość propagacji fali tętna; TAC (*total arterial compliance*) — całkowita podatność tętnicza



Rycina 1. Korelacja między wiekiem a stężeniem OPG w surowicy krwi



Rycina 2. Korelacja między IMT a stężeniem OPG w surowicy krwi

Tabela 3. Wyniki analizy regresji wielokrotnej zmiennej zależnej OPG

| Czynniki niezależne | Współczynnik | Błąd standardowy | t | p |
|---------------------|--------------|------------------|-------|--------|
| Stała | 7,76664 | | | |
| IMT | 3,72686 | 1,18290 | 3,151 | 0,0045 |
| CCA C | 1,62321 | 0,67587 | 2,402 | 0,0248 |
| Wiek | 1,62952 | 0,76959 | 2,117 | 0,0453 |
| Znamienność | | p = 0,018 | | |

CCA C (*common carotid artery compliance*) — podatność tętnicy szyjnej wspólnej; IMT (*intima-media thickness*) — grubość kompleksu błona wewnętrzna-błona środkowa

według innych niekorzystny. Wyższe stężenia OPG w surowicy krwi mogą na zasadzie mechanizmu zwrotnego hamować progresję miażdżycy, szczególnie, że OPG blokuje ligand indukujący apoptozę zależną od czynnika martwicy nowotworu (TNF, *tumor necrosis factor*). Z drugiej strony wiadomo, że choroby naczyniowe są indukowane przez układ immunologiczny [21], a ekspresja OPG w ścianie naczyń jest stymulowana przez takie cytokiny prozapalne, jak: interleukinę 1, TNF- α , płytko-pochodny czynnik wzrostu [22]. Udowodniono, że receptor γ aktywowanych proliferatorów peroksysomów (PPAR γ , *peroxisome proliferator-activated receptor γ*) o działaniu antyzapalnym i antymiażdżycowym zmniejszają ekspresję OPG [23]. Niniejsza praca nie daje odpowiedzi na te wątpliwości, natomiast wykazuje, że wyższe stężenia OPG wiążą

się z pogrubieniem IMT oraz większą sztywnością naczyń. Temat jest niezwykle aktualny — w literaturze opisano tylko jedną zbliżoną zależność. Frost i wsp. [24] wykazali dodatnią korelację między OPG a PWV u kobiet w wieku pomenopauzalnym. Równocześnie PWV ujemnie korelowała z gęstością mineralną kości.

Wnioski

Wyższe stężenie OPG w surowicy krwi wiąże się z większym wymiarem IMT oraz zwiększoną sztywnością tętnic u kobiet z otyłością prostą, co sugeruje udział OPG w strukturalnej przebudowie naczyń tętniczych. Osteoprotegeryna może stanowić czynnik ryzyka chorób układu krążenia w tej populacji.

Piśmiennictwo

- American Diabetes Association: consensus development conference on the diagnosis of coronary heart disease in people with diabetes. *Diabetes Care* 1998; 21: 1551–1559.
- Behrendt D., Ganz P.: Endothelial function; from vascular biology to clinical applications. *Am. J. Cardiol.* 2002; 90: 40L–48L.
- Kuvin J.T., Karas R.H.: Clinical utility of endothelial function testing: ready for prime time? *Circulation* 2003; 107: 3243–3247.
- Mizia-Stec K., Zahorska-Markiewicz B., Gąsior Z. i wsp.: Wybrane parametry przebudowy czynnościowej i strukturalnej ściany naczyniowej u pacjentów z otyłością prostą. *Endokrynol. Otył. Zab. Przem. Mat.* 2006; 2: 50–55.

5. Mizia-Stec K., Gašior Z., Zahorska-Markiewicz B. i wsp.: The indexes of arterial structure and function in women with simple obesity: a preliminary study. *Heart Vessels* 2008; 23: 224–229.
6. Emery J.G., McDonnell P., Burke M.B. i wsp.: Osteoprotegerin is a receptor for cytotoxic ligand TRAIL. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 14363–14367.
7. Malyankar U.M., Scatena M., Suchland K.L. i wsp.: Osteoprotegerin is an alpha 3-induced, NF-kappa B-dependent survival factor for endothelial cells. *J Biol Chem.* 2000; 275: 20959–20962.
8. Kiechl S., Schett G., Wenning G. i wsp.: Osteoprotegerin is a risk factor for progressive atherosclerosis and cardiovascular disease. *Circulation* 2004; 109: 2175–2180.
9. Ziegler S., Kudlacek S., Luger A., Minar E.: Osteoprotegerin plasma concentration correlate with severity of peripheral artery disease. *Atherosclerosis* 2005; 182: 175–180.
10. Holecki M., Zahorska-Markiewicz B., Janowska J. i wsp.: Osteoprotegerin — does it play a protective role in the pathogenesis of bone loss in obese perimenopausal women? *Endokrynol. Pol.* 2007; 58: 7–10.
11. Holecki M., Zahorska-Markiewicz B., Janowska J. i wsp.: The influence of weight loss on serum osteoprotegerin concentration in obese perimenopausal women. *Obesity* 2007; 15: 1925–1929.
12. 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.
13. Schoppet M., Preissner K.T., Hofbauer L.C.: RANK ligand and osteoprotegerin. Paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2002; 22: 549–556.
14. Hofbauer L.C., Shui C., Riggs B.L. i wsp.: Effects of immunosuppressants on receptor activator of NF-kB ligand and osteoprotegerin production by human osteoblastic and coronary artery smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001; 280: 334–339.
15. Collin-Osdoby P., Rothe L., Anderson F., Nelson M., Maloney W., Osdoby P.: Receptor activator of NF-kappa B and osteoprotegerin expression by human microvascular endothelial cells, regulation by inflammatory cytokines, and role in human osteoclastogenesis. *J. Biol. Chem.* 2001; 276: 20659–20672.
16. Brandstrom H., Bjorkmann T., Ljunggren O.: Regulation of osteoprotegerin secretion from primary cultures of human bone marrow stromal cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2001; 280: 831–835.
17. Hofbauer L.C., Gori F., Riggs B.L. i wsp.: Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocrinology* 1999; 140: 4382–4389.
18. Bucay N., Sarosi I., Dunstan C.R. i wsp.: Osteoprotegerin — deficient mice develop early onset osteoporosis and arterial calcification. *Genes Dev.* 1998; 12: 1260–1268.
19. Min H., Morony S., Sarosi I. i wsp.: Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J. Exp. Med.* 2000; 192: 463–474.
20. Browner W.S., Lui L-Y., Cummings S.R.: Associations of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.* 2001; 86: 631–637.
21. Ross R. Atherosclerosis: an inflammatory disease. *N. Engl. J. Med.* 1999; 340: 115–126.
22. Zhang J., Fu M., Myles D. i wsp.: PDGF induces osteoprotegerin expression in vascular smooth muscle cells by multiple signal pathways. *FEBS Lett.* 2002; 521: 180–184.
23. Fu M., Hang J., Lin Y. i wsp.: Activation of peroxisome proliferators-activated receptor α inhibits osteoprotegerin gene expression in human aortic smooth muscle cells. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2002; 294: 597–601.
24. Frost M.L., Grella R., Millasseau S.C. i wsp.: Relationship of calcification of atherosclerotic plaque and arterial stiffness to bone mineral density and osteoprotegerin in postmenopausal women referred for osteoporosis screening. *Calcif. Tissue Int.* 2008; 83: 112–120.