

## Tkanka kostna jako narząd wydzielania wewnętrznego – wybrane zagadnienia

### *Bone Tissue as an Endocrine Organ – Chosen Issues*

**Artur Mazur**

Wydział Medyczny Uniwersytetu Rzeszowskiego

**Adres do korespondencji:** Artur Mazur, e-mail: drmazur@poczta.onet.pl

**Słowa kluczowe:** tkanka kostna, osteokalcyna, fibroblast growth factor 23  
**Key words:** bone tissue, osteocalcin, fibroblast growth factor 23

#### STRESZCZENIE/ABSTRACT

Układ kostny jest znany jako miejsce działania hormonów wpływających na stężenie jonów wapnia i fosforu oraz strukturę kości. Najnowsze dane dostarczają dowodów, że sam szkielet jest również źródłem syntezy wielu hormonów. FGF23 (Fibroblast Growth Factor 23) jest produkowany przez osteocyty i działa na nerki, prowadząc do hamowania 1 alfa-hydroksylacji witaminy D i promowania wydalania jonów fosforowych. Natomiast produkt osteoblastów, osteokalcyna, działa w komórkach beta trzustki, powodując zwiększanie uwalniania insuliny, utylizację glukozy w tkankach obwodowych i zmniejszenie tłuszczu trzewnego. W pracy przedstawiono wybrane aspekty aktualnych danych na temat roli kości jako narządu wydzielania wewnętrznego. *Endokrynol. Ped.* 12/2013;1(42):57-66.

Bone has long been recognized as a target for hormones influencing calcium and phosphate homeostasis and bone structure, however recently published data shows that the skeleton itself produces also hormones. FGF23 (Fibroblast Growth Factor 23) is produced by osteocytes in bone and acts on the kidney to inhibit 1alpha-hydroxylation of vitamin D and promote phosphate excretion. Osteocalcin (OC) produced by osteoblasts is known to affect pancreatic beta-cell by increasing insulin production and also peripheral tissues where OC increases glucose utilization resulting from increased insulin sensitivity. Furthermore, OC reduces the content of visceral fat. This review paper highlights the recent studies indicating the specific role of bone as an endocrine organ. *Pediatr. Endocrinol.* 12/2013;1(42):57-66.

#### Wstęp

Przez szereg lat rolę układu szkieletowego sprowadzano do mechanicznej podpory dla mięśni i ochrony narządów wewnętrznych. Tymczasem odkrycia ostatnich lat wskazują, że kości zbudowa-

ne są z wyspecjalizowanej, dynamicznie reagującej tkanki ze skomplikowanym systemem aktywnych metabolicznie komórek i macierzy zewnątrzkomórkowej, które są niezbędne do utrzymania jej struktury oraz roli mechanicznej i metabolicznej. Stosunkowo niedawno zainteresowano się znaczeniem

tkanki kostnej w procesach przemiany materii i jej rolę jako narządu wydzielania wewnętrznego.

Podstawowymi elementami kości są komórki (osteocyty, osteoblasty, osteoklasty) oraz substancja zewnątrzkomórkowa (*macierz kostna*). Macierz kostna składa się z części organicznej (kolagen typu I i inne białka) oraz nieorganicznej (głównie hydroksyapatyt) [1].

Układ homeostazy kostnej zależy od równowagi między osteoblastami i osteoklastami. Najważniejszymi czynnikami wpływającymi na kościotworzenie są: kalcytonina, estrogeny, androgeny, hormony osi somatotropinowej, transformujący czynnik wzrostu TGF  $\beta$  i interferon  $\gamma$  (IFN  $\gamma$ ). Czynniki aktywującymi osteoklastogenezę są: Interleukiny (IL) IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$  (Tumor necrosis factor), (prostaglandyny) PGE2, glikokortykosteroidy, 25-OHD3, parhormon (PTH) oraz czynniki, które również stymulują aktywność osteoblastów, jak estrogeny czy TGF $\beta$  [2–4].

Zachowanie równowagi pomiędzy kościotworzeniem a resorpcją kostną gwarantuje względnie stałą masę kostną. Wiele schorzeń kostnych, dotyczących przede wszystkim osoby dorosłe, ale także dzieci i młodzież, związanych jest ze zwiększeniem aktywności osteoklastów i w związku z tym z zakłóceniem równowagi homeostazy kostnej [3]. Dotyczy to takich schorzeń, jak osteoporoza, choroby przyzębia, reumatoidalne zapalenie stawów, szpiczak mnogi oraz przerzuty nowotworowe do kości [3, 4].

### **Osteoprotegeryna-RANK (receptor activator of nuclear factor NF- $\kappa$ B)-RANKL (receptor activator of nuclear factor NF- $\kappa$ B ligand)**

Właściwe dojrzewanie i funkcjonowanie osteoklastów znajduje się pod kontrolą układu, którego głównymi uczestnikami są osteoprotegeryna (OPG, ang. *osteoprotegerin*), receptor aktywujący jądrowy czynnik NF- $\kappa$ B (RANK, ang. *receptor activator of nuclear factor NF- $\kappa$ B*) oraz ligand RANK (RANKL, ang. *receptor activator of nuclear factor NF- $\kappa$ B ligand*) [3, 4].

Osteoprotegeryna jest białkiem należącym do rodziny receptorów czynników martwicy nowotworów (TNFR, ang. *tumor necrosis factor receptor*). Jest produkowana w wielu tkankach, między innymi układu krwionośnego (serce, tętnice, żyły), płucach, nerkach, jelitach, kości, komórkach hemato-

poetycznych i związanych z układem odpornościowym [4, 5]. Na wzrost ekspresji genu OPG wpływa wiele czynników: cytokiny (TNF- $\alpha$ , IL-1 $\alpha$ , IL-18, TNF- $\beta$ ), białka morfogenetyczne kości, 17 $\beta$ -estradiol, obciążenia mechaniczne działające na kość (ang. *tensional forces*), a leki (glikokortykosteroidy, leki immunosupresyjne), PTH, prostaglandyna E2, podstawowe FGF (ang. *fibroblast growth factor*) – zmniejszają ekspresję tego genu [4, 5].

RANKL, należący do rodziny białek czynników martwicy nowotworów (TNF, ang. *tumor necrosis factor*), nie występuje tak powszechnie jak białko OPG. Ligand RANK ulega silnej ekspresji na osteoblastach, osteoklastach, pierwotnych komórkach mezenchymalnych otaczających chrząstkę i chondrocytach, komórkach śródbłonna, a także na aktywowanych limfocytach T i niedojrzałych tymocytach (CD4/CD8) [4–6]. Jego obecność wykazano w węzłach chłonnych, śledzionie, grasicy i grudkach chłonnych jelit [6]. Na jego ekspresję wpływają między innymi cytokiny (IL-1, IL-6, IL-11, TNF- $\alpha$ ), glikokortykosteroidy oraz PTH, PTHrP i 1, 25(OH)2D3 [7]. Jest to czynnik aktywujący cały proces tworzenia dojrzałych osteoklastów: różnicowanie, fuzję, funkcjonowanie oraz przeżywanie komórek resorpcji kości poprzez hamowanie ich apoptozy [4, 7]. Ligand RANK działa przez receptor RANK znajdujący się na powierzchni osteoklastów [4, 5, 7].

Osteoprotegeryna ma zdolność wiązania się z RANKL (stanowi jego rozpuszczalny receptor), co uniemożliwia wiązanie się RANKL z RANK [4, 5, 7]. OPG wiążąc RANKL, blokuje dojrzewanie, aktywację osteoklastów oraz wzmaga ich apoptozę [4, 5, 7]. Równowaga pomiędzy RANKL a OPG reguluje rozwój i aktywację osteoklastów, a tym samym reguluje metabolizm kostny [4, 5, 7]. U myszy pod wpływem RANKL dochodzi do znacznej utraty kości i hiperkalcemii, z kolei u osobników pozbawionych go obserwuje się osteopetrozę i brak dojrzałych osteoklastów [4, 5, 7, 9]. Usunięcie genu OPG u myszy skutkuje osteopenią, obniżeniem wytrzymałości mechanicznej kości oraz złamaniami (4, 10, 11). Poznanie mechanizmów wzajemnego oddziaływania układu RANKL/RANK/OPG ułatwiło zrozumienie etiologii wielu chorób. Stwierdzono udział tego szlaku w patomechanizmach schorzeń kostnych i pozaszkieletowych.

Nowotwory wywierają różnoraki wpływ na układ RANKL/ RANK/OPG. Komórki szpiczaka mnogiego zwiększają ekspresję RANKL i zmniejszają produkcję OPG w komórkach prekursoro-

wych osteoblastów poprzez bezpośrednie interakcje między komórkami lub przez sekrecję dickkopf-1 –inhibitora różnicowania osteoblastów. Dodatkowo komórki szpiczaka są zdolne do produkcji proteoglikanu – syndekan-1 (ang. *syndecan-1*), który pozwala tym komórkom na pozyskiwanie OPG i degradowanie jej [4, 7]. Komórki nowotworowe raka sutka, prostaty, neuroblastoma oraz szpiczaka mnogiego mogą również bezpośrednio produkować RANKL, także w formie pierwotnie rozpuszczalnej [4, 7, 12]. W konsekwencji zwiększa się stosunek RANKL do OPG, co prowadzi do nasilenia resorpcji kości z następową hiperkalcemią. Może ona również być spowodowana sekrecją przez komórki rakowe peptydów podobnych do PTH (ang. *parathyroid hormone-related peptide*) lub rozpuszczalnej formy RANKL, co również zwiększa stosunek RANKL/OPG i uwalnianie jonów wapnia w procesie degradacji kości [4, 12].

Już pierwsze doniesienia o roli układu RANKL-RANK-OPG wskazywały na wzrost stężenia OPG wraz z wiekiem oraz podwyższony poziom osteoprotegeryny u kobiet ze zwiększonym obrotem kostnym, co może być może kompensacyjną odpowiedzią organizmu na zwiększoną aktywność resorpcyjną związaną z wiekiem [8]. Hofbauer i wsp. [7] obserwowali u kobiet w wieku pomenopauzalnym podwyższony poziom RANKL (stymulatora osteoklastogenezy) w komórkach szpiku kostnego (potencjalne źródło prekursorów osteoblastów) oraz w limfocytach w stosunku do kobiet w wieku premenopauzalnym lub kobiet w wieku pomenopauzalnym przyjmujących estrogeny (estrogeny oraz selektywne modulatory receptora estrogenowego stymulują produkcję OPG w osteoblastach oraz obniżają ekspresję RANKL) [4, 7]. Dodatkowo na ekspresję genu kodującego RANKL pozytywnie wpływają glikokortykosteroidy [4]. Obniżają one także produkcję OPG oraz jej poziom w surowicy. Wszystko to podnosi stosunek RANKL do OPG (RANKL/OPG) [4, 5, 7]. W badaniach laboratoryjnych na zwierzętach stosunek ten był również podwyższony przy ciągłej ekspozycji komórek szpiku kostnego na PTH, co stymulowało osteoklasty do dojrzewania i funkcjonowania [4, 5, 7]. Ekspresję genu OPG zmniejszają również leki immunosupresyjne [9]. Wymienione wyżej fakty mogą tłumaczyć patomechanizmy osteoporozy pomenopauzalnej, potransplantacyjnej oraz powstałej wskutek przyjmowania steroidów i przy nadczynności przytarczyc. Schoppet i wsp. [13] stwierdzili, że siły naprężeniowe przyłożone do powierzch-

ni kości zwiększają ilość mRNA osteoprotegeryny, co może częściowo tłumaczyć mechanizmy rozwoju osteoporozy przy długotrwałym unieruchomieniu [4, 10, 11, 13].

W chorobie Pageta powodem zwiększenia aktywności osteolitycznej może być nadekspresja genu RANKL z jednoczesną nadwrażliwością osteoklastów na RANKL [4, 7]. W dziedzicznej postępującej osteolizie (ang. *familial expansile osteolysis*) zidentyfikowano dwie różne tandemowe duplikacje genu RANK. Produktem jednej z nich jest ciągle aktywne białko RANK występujące wewnątrz komórki. Druga mutacja jest powodem występowania dziedzicznej hiperfosfatazji, która objawia się nadmiernym rozrostem kości (hyperostoza), głuchotą, hiperkalcemią i przedwczesną utratą zębów [9]. Niektórzy pacjenci z młodzieńczą chorobą Pageta mają różne mutacje w genie OPG. Całkowita delecja genu OPG z następowym brakiem osteoprotegeryny prowadzi do utraty kontroli nad aktywnością RANKL. Mutacje w eksonach powodują zmiany w trzeciorzędowej strukturze OPG i zmniejszenie jej powinowactwa do RANKL (mutacje w eksonach 2 i 3) lub obniżenie stabilności tego białka (mutacje w eksonie 5) [4, 7].

Gough i wsp. [14] wykazali, że procesem o dominującym znaczeniu w utracie masy kostnej w reumatoidalnym zapaleniu stawów (RZS) jest aktywacja osteoklastów. Związek układu OPG-RANKL-RANK z układem immunologicznym ma zasadnicze znaczenie w patogenezie osteoporozy w przebiegu chorób autoimmunologicznych i zapalnych. OPG oprócz działania hamującego osteoklastogenezę, jest także zaangażowana w proces zapalny. Pod wpływem prozapalnych cytokin, obecnych w płynie stawowym, wykazuje działanie anty-apoptotyczne przez zablokowanie TRAIL-zależnej apoptozy, prowadząc tym samym do nadmiernej hiperplazji komórek błony maziowej w przebiegu zapalenia stawów [4, 14–15]. TRAIL jest białkiem należącym do rodziny TNF. U chorych na RZS pod wpływem prozapalnych cytokin IL-1 $\beta$ , IL-6, TNF $\alpha$  dochodzi do wzrostu ekspresji RANKL, którego dodatkowym źródłem stają się aktywne limfocyty T oraz fibroblasty błony maziowej [4, 15]. Aktywne limfocyty T poprzez RANKL inicjują transformację monocytów do osteoklastów. Również poprzez cytokiny IL-1 $\beta$ , IL-6, IL-11, TNF $\alpha$  rośnie ekspresja RANKL na osteoblastach, co prowadzi do nasilonego procesu uszkodzenia kości [7, 15]. Cytokiny prozapalne prawdopodobnie mogą mieć także znaczący wpływ na wzrost ekspresji OPG [7, 15], któ-

ra w obrębie zapalnie zmienionego stawu jest wydzielana przez komórki dendrytyczne, limfocyty B i inne komórki immunokompetentne [16]. Masi i wsp. [16] obserwowali wyższe stężenie OPG u pacjentów z nasilonym procesem zapalnym i obecnymi zmianami radiologicznymi. Niektórzy autorzy sugerują zatem, że OPG może być dobrym markerem aktywności procesu zapalnego w RZS [4, 15]. Skoumal i wsp. [7] wykazali w płynie stawowym podwyższone stężenie RANKL przy obniżonym stężeniu OPG, co korelowało ze znacznym uszkodzeniem struktur stawowych. Wskazuje to na brak mechanizmów ochronnych przed nadmierną aktywacją osteoklastów. Dlatego też Geusens i wsp. [18] stwierdzili, że w ocenie aktywności procesu zapalnego oraz postępu leczenia najlepsze rezultaty daje badanie wzajemnego stosunku OPG do RANKL. W ostatnich latach wykazano również, że jednym z mechanizmów działania terapeutycznego leków obecnie stosowanych w RZS jest prewencja przystawowej resorpcji kości przez wpływ na układ OPG-RANKL-RANK. Stwierdzono, że leki biologiczne, takie jak: infliksymab i etanercept, zwiększają ekspresję OPG w stawach chorych na RZS [18]. Infliksymab ponadto zmniejsza produkcję RANKL i pulę preosteoklastów oraz hamuje dojrzewanie komórek dendrytycznych [15].

Klasyczne leki modyfikujące przebieg choroby: metotreksat i sulfasalazyna zmniejszają także wytwarzanie RANKL w komórkach płynu stawowego i monocytach krwi obwodowej chorych [15, 18]. Abedin i wsp. [19] stwierdzili istnienie niezależnego związku między stężeniem osteoprotegeryny w surowicy a stężeniem wapnia w naczyniach wieńcowych w populacji ogólnej, sugerując, że może ona stanowić nowy biomarker miażdżycy. W kolejnych badaniach potwierdzono korelację stężenia osteoprotegeryny w surowicy z obecnością choroby wieńcowej oraz jej nasileniem [18]. Shina i wsp. [20] obserwowali ścisłą zależność między podwyższonymi stężeniami osteoprotegeryny a dysfunkcją śródbłonna naczyń u chorych na cukrzycę typu 2. Knudsen i wsp. [21] wykazali z kolei podwyższone stężenia osteoprotegeryny u chorych na cukrzycę typu 2 z mikroalbuminurią i makulopatią cukrzycową, co może świadczyć o związku zaburzeń układu OPG-RANKL-RANK z występowaniem powikłań z grupy mikroangiopatii. Jak stwierdzają jednak autorzy tych badań, nie można na razie jednoznacznie stwierdzić, czy zaburzenia układu OPG-RANKL-RANK odgrywają rolę przyczynową w rozwoju miażdżycy, czy jest to tylko odpowiedź kompensacyjna.

Chociaż kości już dawno zostały uznane za cel działania hormonów, jak i ich wpływ na homeostazę wapniowo-fosforanową oraz strukturę kostną, badania z ostatnich lat wykazują, że sam szkielet wytwarza również substancje o charakterze hormonów, z których najważniejszą rolę przypisuje się czynnikiowi wzrostu fibroblastów 23 (FGF23) i osteokalcynie.

## FGF 23 (Fibroblast Growth Factor 23)

FGF-23 należy do fosfatonin, substancji o działaniu endokrynnym, które uczestniczą w regulacji homeostazy fosforanowej [22–24]. Jest polipeptydem zbudowanym z 251 aminokwasów o masie cząsteczkowej 25 kDa, syntetyzowanym i wydzielanym w większości przez osteoblasty i osteocyty. Transkrypt genu FGF-23 został zidentyfikowany również w narządach układu wewnątrzwydzielniczego (podwzgórze, jajniki, jądra, gruczoły przytarczycy) oraz w mięśni sercowym i ośrodkowym układzie nerwowym. Istnieje siedem podrodziny ludzkiego FGF, wśród których wyróżniamy podrodzinę FGF-19, do której należą FGF-19, FGF-21 oraz FGF-23 [22–24]. Zawierają one wiązanie dwusiarczkowe stabilizujące unikalną strukturę beta-koniczynki. Konformacja ta powoduje brak powinowactwa FGF-19 i FGF-23 do siarczanu heparanu, przez co ich cząsteczki mogą być przenoszone przez krwiobieg do odległych miejsc, gdzie pełnią swoje funkcje. Okres półtrwania natywnej cząsteczki FGF-23 w krążeniu u osób zdrowych wynosi 58 min. Inne podrodziny FGF wiążą się z cząsteczką siarczanu heparanu na powierzchni komórek, co ogranicza zasięg ich oddziaływania do funkcji parakrynych [22–24]. Transkrypt (m-RNA) oraz białko FGF-23 zostały wykryte podczas skringingu genetycznego chorych z autosomalną dominującą krzywicą hipofosfatemiczną [25]. Mutacja jednego z regionów FGF-23 powoduje oporność cząsteczki na działanie proteaz, co prowadzi do wydłużenia czasu półtrwania i wzrostu jej stężenia w surowicy. Podwyższone stężenia FGF-23 w osoczu są również spotykane w takich schorzeniach, jak krzywica hipofosfatemiczna sprzężona z chromosomem X i osteomalacja [26]. Zaobserwowano, iż u osób zdrowych osoczowe stężenia FGF-23 zaczynają wzrastać już po 6 godzinach od spożycia diety bogatej w fosforany [22]. Do bodźców stymulujących produkcję FGF-23 należą również: aktywna postać witaminy D3 (1, 25-dihydroksywitamina D3) oraz parathormon (PTH). Jednocześnie wyka-

zono, że zwiększenie stężenia fosforu w osoczu nie stymuluje produkcji FGF-23, jeżeli nie jest związane ze zwiększoną podażą w diecie [26–28]. Zwiększone wydzielanie FGF-23 powoduje obniżenie stężenia fosforanów przez dwa mechanizmy. Peptyd ten zmniejsza reabsorpcję zwrotną fosforanów, hamując ekspresję kotransporterów sodowo-fosforanowych NPT2a i NPT2c w cewce proksymalnej kanalika nerkowego, a w konsekwencji zwiększając ich wydalanie. Ponadto FGF-23 zmniejsza aktywność enzymu 1-alfa-hydroksylazy witaminy D w nerkach, hamując konwersję witaminy 25-(OH)-D<sub>3</sub> do jej aktywnej postaci – kalcytriolu, w następstwie czego dochodzi do zmniejszenia ekspresji jelitowego kotransportera sodowo-fosforanowego NPT2b, a dalej do absorpcji fosforanów w jelicie cienkim [26–29]. W stanach patologii nadmierna produkcja FGF-23 u osób z prawidłową funkcją wydalniczą nerek indukuje hipofosfatemię, powoduje obniżenie stężenia kalcytriolu, co prowadzi do wzrostu stężenia parathormonu (PTH) i demineralizacji kości (osteomalacja w przebiegu wtórnej nadczynności przytarczyc) [27–28]. Dlatego u chorych obciążonych mutacjami genu FGF-23 powodującymi oporność cząsteczki na proteolizę i nadmierne działanie FGF-23 (autosomalna dominująca krzywica przebiegająca z hipofosfatemią, ADR) obserwuje się przewlekłą hipofosfatemię [2, 28]. Również niektóre nowotwory charakteryzujące się zwiększoną ekspresją genu FGF-23 powodują osteomalację (OOM) i wzmózoną nerkową utratę fosforanów [15, 33, 40]. Ponadto zaobserwowano zwiększoną ekspresję oraz działanie FGF-23 we wrodzonych zaburzeniach układu kostno-szkieletowego, przebiegających pod postacią krzywicy bądź osteomalacji związanych z mutacjami genów DMP1, PHEX, GNAS1. Peptydy FGF działają poprzez wiązanie z receptorami wykazującymi aktywność kinazy tyrozynowej [2, 28]. Do prawidłowego działania FGF-23 niezbędna jest obecność białka Klotho, koreceptora stabilizującego połączenie FGF-23 z receptorem [2, 28]. Ekspresję białka Klotho wykazano w tkankach docelowych dla FGF-23 [2, 28]. Krzywica hipofosfatemiczna rodzinna (*X-linked hypophosphataemia*, XLH) jest też najczęstszą postacią w grupie krzywic opornych na witaminę D, chociaż występuje rzadko – około 1 : 20 000 żywych urodzeń [2, 28]. Dziedziczy się jako cecha dominująca związana z chromosomem X, w związku z czym u dziewcząt zdarzają się przypadki z obrazem klinicznym łagodniejszym, objawiające się jedynie hipofosfatemią na czczo. W 1996 r.

sklonowano gen odpowiedzialny za powstawanie XLH, który nazwano PHEX (*Phosphate regulating gene with homology to neutral endopeptidases on the X chromosome*). Ustalono, że jest on zlokalizowany na chromosomie X w rejonie p22.1-22.2 [2, 28]. Produktem genu PHEX jest specyficzna endopeptydaza, zaś substratem dla niej – FGF 23. Stężenie we krwi FGF23 jest podwyższone u tzw. myszy Hyp (model zwierzęcy XLH) i u większości pacjentów z XLH [2, 28]. Niektóre doniesienia wskazują na rolę produktu genu PHEX nie tylko w regulowaniu stężenia fosforanów w surowicy, lecz także w mineralizacji i przebudowie kości. Postuluje się, że w etiologii XLH możliwe jest istnienie kilku zmian w postaci: ciągłej produkcji FGF 23 wadliwie hamowanej przez patologiczną endopeptydazę (produkt PHEX), zmniejszonej 1-25 hydroksylacji /lub zwiększonego katabolizmu 1, 25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub> do nieczynnych metabolitów (zwiększona aktywność nerkowej, mitochondrialnej 24-hydroksylazy), wadliwej fosforylacji specyficznych białek pozakomórkowych macierzy kostnej oraz genetycznie uwarunkowanego defektu metabolizmu samego osteoblastu [2, 28].

Osteomalacja onkogeniczna oraz autosomalna dominująca krzywica hipofosfatemiczna są jednostkami chorobowymi fenotypowo bardzo podobnymi do XLH. W zaburzeniach tych występują hipofosfatemia, zmniejszona reabsorpcja fosforanów w nerkach, prawidłowe lub zmniejszone stężenie kalcytriolu w surowicy, prawidłowe stężenia wapnia i parathormonu oraz niedostateczna mineralizacja szkieletu [2, 28]. Autosomalna dominująca krzywica hipofosfatemiczna (*autosomal dominant hypophosphatemic rickets*, ADHR) spowodowana jest mutacją genu kodującego FGF-23. Mutacja odpowiedzialna za ADHR powoduje oporność FGF-23 na trawienie endopeptydazą (produktu niezmutowanego PHEX). Prowadzi to do zwiększenia stężenia FGF-23 w surowicy, który jest czynnikiem fosfaturycznym [2, 28]. Osteomalacja onkogeniczna (*oncogenic hypophosphatemic osteomalacia*, OHO, *tumor induced osteomalacia*, TIO) opisywana była u pacjentów z łagodnymi nowotworami pochodzenia mezenchymalnego, ale także u chorych z nowotworami złośliwymi, takimi jak: rak prostaty, osteosarcoma, chondroblastoma, fibrosarcoma, rak drobnokomórkowy płuc. W OHO wykryto zwiększoną ekspresję innego czynnika fosfaturycznego – MEPE (*matrix extracellular phosphoglycoprotein*), który wykazuje podobieństwo do grupy białek macierzy kostno-zębowej, takich jak: osteopontyna, sialofosfoproteina zębiny, białko macierzy zębiny 1,

kostna sialoproteina II oraz białka morfogenetyczne kości [2, 28]. Gen dla MEPE został zlokalizowany na chromosomie 4q21.1. Czynniki MEPE działają w mechanizmie zmniejszania aktywności promotora genu dla Na-P1 transportera w nerwie. W przeciwieństwie do PHEX ekspresja MEPE jest w warunkach fizjologicznych zmniejszona podczas mineralizacji matrix, w której biorą udział osteoblasty. Stwierdzono, że 1, 25(OH)2D3 zmniejsza ekspresję MEPE. Zwiększone stężenia MEPE wykryto u myszy Hyp, co dodatkowo podkreśla podobieństwo między XLH i OHO [2, 28]. MEPE i FGF-23 nie są tymi samymi białkami, niemniej efekt działania obydwu prowadzi do hipofosfatemii. Pacjenci z OHO mają osłabioną siłę mięśniową, co powoduje nieraz całkowite unieruchomienie; doznają oni ponadto złamań patologicznych, mają zmniejszoną gęstość mineralną kości. Często ze względu na rozmiary guzów i trudności z ich wykryciem pacjenci z tymi schorzeniami są przez długi czas leczeni na schorzenia nerwowo-mięśniowe. Objawy krzywicy onkogenicznej ustępują po usunięciu guza. Autosomalnie recesywnie dziedziczona krzywica hipofosfatemiczna i rozmiękanie kości (ARHR) są spowodowane przez inaktywujące mutacje białka macierzy zębiny 1 (*dentin matrix protein 1*, DMP1) [2, 27–29]. Stężenie FGF23 jest podwyższone u pacjentów z ARHR i Dmp1-null myszy (zwierzęcy model ARHR), a badania immunohistochemiczne wykazały, że źródłem podwyższonego FGF 23 są w tym schorzeniu osteocyty. Poziom FGF23 jest również wysoki u pacjentów z hipofosfatemią spowodowaną dysplazją włóknistą kości z lub bez zespołu McCune-Albrighta [27–29]. W przeciwieństwie do tych chorób związanych z hipofosfatemią *familial hyperphosphatemic tumoral calcinosis* (FHTC) – rodzinna hiperfosfatemiczna wapnica nowotworowa charakteryzuje się wzmożoną zwrotną resorpcją cewkową fosforanów i wysokim stężeniem 1, 25 (OH) 2D3 [2, 29]. Dotychczas zidentyfikowano trzy geny, które mogą być odpowiedzialne za tę chorobę – są to GALNT3, FGF23 i KLOTHO. UDP-N-acetylo-D-a-galaktozamina: polipeptyd N-acetylgalaktozaminyl-transferazy -3 (GALNT3) koduje białka zaangażowane w syntezie mucyny typu O-glikanów. Część cząsteczki FGF23 ma trzy podjednostki zbudowane z mucyny typu O- glikanów oraz GALNT3. Zostało to wykorzystane do testów monoklonalnych służących do określenia stężenia FGF 23. Bada się zatem C-końcowy fragment FGF 23, N-końcowy fragment FGF 23 oraz całą cząsteczkę. FGF23 jest wysokie, gdy mierzy się C-końco-

wy fragment i niskie w teście badającym całą cząsteczkę u pacjentów z FHTC chorych w wyniku inaktywujących mutacji genów GALNT3 lub FGF23 (2, 27–29). Niski poziom całych cząsteczek FGF 23 powoduje zwiększenie stężenia 1, 25 (OH) 2D oraz hiperfosfatemii. Z kolei mutacje genu KLOTHO kodującego białko o tej samej nazwie, będącego koreceptorem stabilizującym połączenie FGF-23 z receptorem, prowadzą do oporności receptorowej FGF 23 z następnym wysokim stężeniem FGF 23 we krwi.

## Osteokalcyna

Osteokalcyna, zwana także białkiem Gla, jest białkiem zawierającym kwas gamma-karboksy glutaminowy (Gla), który występuje również w niektórych czynnikach krzepnięcia krwi. Osteokalcyna wiąże  $Ca^{+2}$ , dostarczając substrat do wytwarzania soli wapnia [2, 29]. Synteza osteokalcyny zależy od 1, 25-dihydroksycholekalcyferolu (witaminy D3) i witaminy K, stąd udział tych witamin w kościotworzeniu. Jest produkowana przez dojrzałe osteoblasty, silnie związana z hydroksyapatytem, przechowywana w macierzy kostnej i uwalniana do krwiobiegu, służy jako marker kościotworzenia [2–27]. Zainteresowanie tym białkiem znacznie wzrosło, gdy badania najpierw na zwierzętach, a następnie kliniczne przyniosły informacje, że może mieć ona wpływ na metabolizm glukozy, uwalnianie insuliny oraz działać na tkanki. Insulina posiada w obrębie osteoblastów receptory, których aktywacja prowadzi do stymulacji osteoblastów do produkcji osteokalcyny [2]. Aktywacja receptora insulinowego w obrębie osteoblastów powoduje również zahamowanie OST-PTP (*osteotesticular protein tyrosine phosphatase*) enzymu mającego wpływ na aktywność receptora insulinowego w osteoblastach oraz inhibicję czynników transkrypcyjnych Twist 2 i FoxO1, hamujących różnicowanie się osteoblastów, które to działanie sprzyja kościotworzeniu [30–33]. Połączenie się insuliny ze swoim receptorem w obrębie osteoblastów doprowadza jednak również do obniżenia stężenia osteoprotegryny oraz zwiększenia ekspresji dwóch genów w obrębie osteoklastów – Katepsyny K (Cathepsin K Ctsk) oraz Tcirl1, których aktywacja zwiększa resorpcję kostną. Obniżenie stężenia OPG i zmiana stosunku OPG/RANKL również sprzyja aktywacji resorpcji kości [30–33]. Działania te pomagają w aktywacji osteokalcyny do formy gamma niekarboksylowanej. Aktywacja osteokalcyny do tej po-

staci odbywa się w macierzy kostnej przy zmianie pH do około 4. Jest ona możliwa dzięki wspomnianej wcześniej aktywacji genów resorpcji kostnej, w następstwie czego dochodzi w macierzy kostnej do aktywacji odpowiedniej ATP azowej pompy protonowej oraz kanałów chlorkowych [30–33].

Niekarboksylowana gamma osteokalcyna uwalniana do krwiobiegu stymuluje komórki beta trzustki do sekrecji insuliny oraz adipocyty do produkcji adiponektyny, która jest adipocytokiną poprawiającą insulinowrażliwość tkanki tłuszczowej, wątrobowej i mięśniowej. W wyniku tych działań następuje wzrost insulinowrażliwości tkanek, zmniejszenie lipolizy oraz poprawa bilansu energetycznego [30–33]. Leptyna pobudzając receptory  $\beta 2$  adrenergiczne działa antagonistycznie w obrębie osteoblastów w stosunku do insuliny. Stymulowanie tych receptorów powoduje aktywację enzymu OST-PTP (*osteotesticular protein tyrosine phosphatase*), który powoduje inaktywację receptora insulinowego w obrębie osteoblastów [30–33].

Ostatnie doniesienia z literatury wskazują, że osteokalcyna może również wpływać na produkcję testosteronu w komórkach Leydiga. Osteokalcyna aktywuje białko G dla receptora osteokalcyny (Gprc6a) w komórkach Leydiga, powodując wzrost produkcji cAMP i aktywację czynnika transkrypcyjnego CREB. Czynniki te pełnią rolę promotorów genów: StAR, Cyp11a, 3 $\beta$ -HSD i Cyp17, kodujących enzymy niezbędne do biosyntezy testosteronu [34–36].

## Udział leptyny i serotoniny w regulacji gęstości mineralnej kości

Leptyna jest hormonem polipeptydowym wytwarzanym przez dojrzałe komórki tłuszczowe. Jest ona produkowana przede wszystkim przez tkankę tłuszczową oraz w niewielkich ilościach przez żołądek, łożysko, mięśnie szkieletowe oraz w ośrodkowym układzie nerwowym [37]. Stężenie leptyny wzrasta wraz ze zwiększaniem się masy tłuszczowej, proporcjonalnie do wypełnienia lipidami komórek tłuszczowych [38]. Na jej rolę w regulacji masy kostnej zwróciły uwagę obserwacje osób z mutacjami inaktywującymi gen leptyny. Wspólną cechą fenotypową tych osób, wynikającą z braku leptyny, jest znacznego stopnia otyłość występująca od pierwszych miesięcy życia, hipotyreoza, hipogonadyzm hipogonadotropowy, a także zwiększona gęstość mineralna kości z towarzyszącym wzrostem markerów kościotworzenia. Leptyna bierze udział w kontroli masy kostnej poprzez dwa mechanizmy

[38–40]. Aktywuje układ sympatyczny przez stymulację neuronów podwzgórza, a następnie przez receptory  $\beta 2$  adrenergiczne zwiększa zarówno tworzenie, jak i resorpcję tkanki kostnej. Stymulacja receptorów beta 2 adrenergicznych w obrębie osteoblastów powoduje aktywację czynnika transkrypcyjnego Atf4, zwiększającego ekspresję RANKL, ale jednocześnie dochodzi do rekrutacji czynników transkrypcyjnych, między innymi cMyc i CREB u myszy, które hamują proliferację osteoblastów. Tak więc aktywacja układu współczulnego prowadzi do zmniejszenia przyrostu masy kostnej. Potwierdzają to obserwacje osób stosujących bloker beta 2 adrenergiczne, u których stwierdza się zwiększoną masę kostną. Drugi mechanizm polega na hamowaniu przez nią resorpcji kostnej poprzez receptory leptynowe w podwzgórzu. Wpływa to na stężenie proopiomelanokortyny w neuronach jądra łukowatego, a tym samym zwiększa podwzgórzową ekspresję transkryptu kokainy i amfetaminy (CART), co powoduje obniżenie ekspresji RANKL i aktywację resorpcji kości [37–40]. Ostatnie doniesienia piśmiennictwa wskazują na to, że leptyna może również wpływać na gęstość mineralną kości, a także bilans energetyczny ustroju poprzez regulację stężenia serotoniny w ośrodkowym układzie nerwowym [40]. Serotonina jest pochodną tryptofanu. Blisko 90% serotoniny w naszym organizmie produkowane jest w przewodzie pokarmowym głównie, w dwunastnicy, pozostała część w obrębie pnia mózgu. Działa ona poprzez siedem klas receptorów serotoninowych- Htr. Serotonina nie przenika przez barierę krew–mózg, tak więc istnieją dwie niezależne od siebie „pule” serotoniny, które jak się okazało mają inny mechanizm i miejsce działania [40–42]. Pierwsze obserwacje kliniczne nad rolą serotoniny w regulacji równowagi energetycznej ustroju oraz masy kostnej dotyczyły pacjentów stosujących w leczeniu depresji selektywne inhibitory zwrotnego wychwyty serotoniny. U osób tych obserwowano zwiększony apetyt, przyrost masy ciała i utratę masy kostnej. Serotonina produkowana w neuronach szwu grzbietowego pnia mózgu przekazuje sygnał do neuronów jądra brzuszno-przyśrodkowego podwzgórza, w których obrębie znajdują się receptory serotoninowe Htr2c. To połączenie powoduje zahamowanie produkcji adrenaliny w obrębie neuronów jądra brzuszno-przyśrodkowego i obniżenie aktywności układu sympatycznego. Spadek aktywności tego układu skutkuje zmniejszeniem pobudzenia receptorów  $\beta 2$  adrenergicznych w osteoblastach, w wyniku cze-

go dochodzi do wzrostu aktywności genu cycliny D1(CycD1), niezbędnego do proliferacji osteoblastów. Obniżenie aktywności układu sympatycznego powoduje jednocześnie wzrost aktywności reabsorpcji kostnej w następstwie aktywacji czynnika transkrypcyjnego Atf 4 niezbędnego do syntezy RANKL [2, 40–44].

Serotonina ma w ośrodkowym układzie nerwowym wspólne miejsca działania z leptyną. Ostatnie doniesienia sugerują, że leptyna hamuje syntezę i uwalnianie serotoniny w obrębie jąder brzuszno-przyśrodkowego i łukowatego podwzgórza oraz neuronów pnia mózgu, koordynując jej działanie regulujące równowagę energetyczną ustroju i masy kostnej [40–44]. Serotonina produkowana przez komórki dwunastnicy hamuje aktywność osteoblastów, przez co sprzyja resorpcji kości. Hamowanie proliferacji osteoblastów odbywa się po połączeniu serotoniny ze swoim receptorem Htr1b w obrębie osteoblastów. To połączenie z kolei hamuje fos-

forylację podjednostki CREB kinazy fosforanowej cAMP, w następstwie czego dochodzi do obniżenia ekspresji genu Cycliny (Cyc) i obniżenia proliferacji osteoblastów. Produkcja i wydzielanie serotoniny w komórkach enterochromofilnych dwunastnicy znajduje się pod hamującą kontrolą czynnika transkrypcyjnego Lrp5, który reguluje aktywność hydroksylazy tryptofanowej 1 niezbędnej do syntezy serotoniny [2, 40–44].

Mimo rosnącej wiedzy na temat wszystkich mechanizmów regulacyjnych dotyczących układu kostnego oraz jego powiązania z metabolizmem całego ustroju nadal nie mamy o tym pełnej wiedzy. Rokrocznie przybywa wiadomości o funkcjonowaniu tkanki kostnej, która odsłania kolejne swoje oblicza pod względem strukturalnym i funkcjonalnym. Miejmy nadzieję, że poznanie jej budowy i metabolizmu umożliwi opracowanie w przyszłości skutecznych metod prewencji i leczenia wielu schorzeń opisanych w niniejszej pracy.

## PIŚMIENNICTWO/REFERENCES

- [1] Baron R.: General Principles of Bone Biology. In: Favus MJ, ed. Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism. 5th ed. Washington, D.C: American Society for Bone and Mineral Research, 2003:3, 1-8.
- [2] Fukumoto S., Martin T.J.: Bone as an endocrine organ. Trends Endocrinol. Metab., 2009;20, 230-236.
- [3] Lerner U.H.: New molecules in the tumor necrosis factor ligand and receptor superfamilies with importance for physiological and pathological bone resorption. Crit. Rev. Oral. Biol. Med., 2004;15, 64-81.
- [4] Kryśkiewicz E., Lorenc R.: Szlak RANKL/RANK/OPG i jego znaczenie w fizjologii i patofizjologii kości. Terapia, 2006;3, 52-57.
- [5] Rogers A., Eastell R.: Review: Circulating osteoprotegerin and receptor activator for nuclear factor (B ligand: clinical utility in metabolic bone disease assessment. J. Clin. Endocrinol. Metab., 2005;90, 6323-6331.
- [6] Guo D.K.A., Guthrie J., Veno P.A. et al.: Identification of osteocyte-selective proteins. Proteomics, 2010;10, 3688-3698.
- [7] Hofbauer L.C., Schoppet M.: Clinical implications of the osteoprotegerin/RANKL/RANK system for bone and vascular diseases. JAMA, 2004;292, 490-495.
- [8] Bonewald L.F.: The amazing osteocyte. J. Bone. Miner. Res., 2011;26, 229-238.
- [9] Boyle W.J. et al.: Osteoclast differentiation and activation. Nature, 2003;423, 337-342.
- [10] Jiang J.X., Siller-Jackson A.J., Burra S.: Roles of gap junctions and hemichannels in bone cell functions and in signal transmission of mechanical stress. Front Biosci., 2007;12, 1450-1462.
- [11] Cherian P.P., Cheng B., Gu S. et al.: Effects of mechanical strain on the function of Gap junctions in osteocytes are mediated through the prostaglandin EP2 receptor. J. Biol., 2003;278, 43146-43156.
- [12] Body J.J. et al.: A phase I study of AMGN-0007, a recombinant osteoprotegerin construct, in patients with multiple myeloma or breast carcinoma related bone metastases. Cancer, 2003;97 (Suppl 3), 887-892.
- [13] Schoppet M. et al.: RANK ligand and osteoprotegerin. Paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol., 2002;22, 549-553.
- [14] Gough S.C., Simmonds M.J.: The HLA region and autoimmune disease: associations and mechanism of action. Curr. Genomics, 2007;8, 453-465.
- [15] Gough A.K., Foo J.: Current treatment of rheumatoid arthritis. BMJ, 2011;11, 343-350.
- [16] Masi L. et al.: The role of osteoprotegerin and estrogen receptor gene polymorphism in rheumatoid arthritis. Clin. Cases Miner. Bone. Metab., 2007;4, 156-160.
- [17] Skoumal M. et al.: The imbalance between osteoprotegerin and cathepsin K in the serum of patients with longstanding rheumatoid arthritis. Rheumatol. Int., 2008;7, 637-641.
- [18] Geusens P.: The role of Rank ligand/osteoprotegerin in rheumatoid arthritis. Ther. Adv. Musculoskelet Dis., 2012;4, 225-233.
- [19] Abedin M., Omland T., Ueland T. et al.: Relation of osteoprotegerin to coronary calcium and aortic plaque (from the Dallas Heart Study). Am. J. Cardiol., 2007;99, 513-518.



- [20] Shin J., Shin Y., Chung C.: Elevated serum osteoprotegerin levels are associated with vascular endothelial dysfunction in type 2 diabetes. *Diabetes Care*, 2006;29, 1664-1666.
- [21] Knudsen S.T., Foss C., Poulsen P.L. et al.: Increased plasma concentrations of osteoprotegerin in type 2 diabetic patients with microvascular complications. *Eur. J. Endocrinol.*, 2003;149, 39-42.
- [22] Antonucci D.M., Yamashita T., Portale A.A.: Dietary phosphorus regulates serum fibroblast growth factor-23 concentrations in healthy men. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2006;91, 3144-3152.
- [23] Goetz R., Beenken A., Ibrahimi O.A. et al.: Molecular insights into the klotho-dependent, endocrine mode of action of fibroblast growth factor 19 subfamily members. *Mol. Cell. Biol.*, 2007;27, 3417-3423.
- [24] Yamashita T.: Structural biochemical properties of fibroblast growth factor 23. *Ther. Apher. Dial.*, 2005;9, 313-318.
- [25] De Beur S.M., Finnegan R.B., Vassiliadis J.J.: Tumors associated with oncogenic osteomalacia express genes important in bone and mineral metabolism. *J. Bone. Miner. Res.*, 2002;17, 1102-1010.
- [26] Yamazaki Y., Okazaki R., Shibata M. et al.: Increased circulatory level of biologically active fulllength FGF-23 in patients with hypophosphatemic rickets/osteomalacia. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2002;87, 4957.
- [27] Prie D., Urena Torres P., Friedlander G.: Latest findings in phosphate homeostasis. *Kidney. Int.*, 2009;75, 3820-3829.
- [28] Quarles L.D.: Endocrine Functions of bone in mineral metabolism regulation. *J. Clin. Invest.*, 2008;118, 3820-3827.
- [29] Bacic D. et al.: The renal Na<sup>+</sup>/phosphate cotransporter NaPi-IIa is internalized via the receptor-mediated endocytic route in response to parathyroid hormone. *Kidney Int.*, 2006;69, 495-503.
- [30] Gandhi A., Beam H.A., O'Connor J.P. et al.: The effects of local insulin delivery on diabetic fracture healing. *Bone*, 2005;37, 482-490.
- [31] Botolin S. & McCabe L.R.: Bone loss and increased bone adiposity in spontaneous and pharmacologically induced diabetic mice. *Endocrinology*, 2007;148, 198-205.
- [32] Martin L.M. & McCabe L.R.: Type I diabetic bone phenotype is location but not gender dependent. *Histochemistry and Cell Biology*, 2007;128, 125-133.
- [33] Ferron M., Wei J., Yoshizawa T. et al.: Insulin signaling in osteoblasts integrates bone remodeling and energy metabolism. *Cell*, 2010: 142, 296-308.
- [34] Oury F., Sumara G., Sumara O., Ferron M. et al.: Endocrine regulation of male fertility by the skeleton. *Cell*, 2011;144, 796-809.
- [35] Callewaert F., Boonen S., Vanderschueren D.: Sex steroids and the male skeleton: a tale of two hormones. *Trends Endocrinol. Metab.*, 2010;21, 89-95.
- [36] Pi M., Chen L., Huang M.Z., Zhu W., Ringhofer B. et al.: GPRC6A null mice exhibit osteopenia, feminization and metabolic syndrome. *PLoS One*, 2008;1, 3858-3862.
- [37] Karsenty G.: Convergence between bone and energy homeostases: leptin regulation of bone mass. *Cell Metab.*, 2006;4, 341-348.
- [38] Ahn J.D., Dubern B., Lubrano-Berthelie C., Clement K., Karsenty G.: Cart overexpression is the only identifiable cause of high bone mass in melanocortin 4 receptor deficiency. *Endocrinology*, 2006;6, 3196-3202.
- [39] Clarke B.L., Khosla S.: Physiology of bone loss. *Radiol. Clin. North. Am.*, 2010;48, 483-495.
- [40] Yadav V.K., Oury F., Suda N., Liu Z.W. et al.: A serotonin-dependent mechanism explains the leptin regulation of bone mass, appetite, and energy expenditure. *Cell*, 2009;5, 976-989.
- [41] Yadav V.K. and Ducey P.: Lrp5 and bone formation : A serotonin dependent pathway. *Ann. N. Y. Acad. Sci.*, 2010;1192, 103-109.
- [42] Ducey P., Amling M., Takeda S., Priemel M. et al.: Leptin inhibits bone formation through a hypothalamic relay: a central control of bone mass. *Cell.*, 2000;100, 197-207.
- [43] Dhillon H., Zigman J.M., Ye C. et al.: Leptin directly activates SF1 neurons in the VMH, and this action by leptin is required for normal body-weight homeostasis. *Neuron.*, 2006;49, 191-203.
- [44] Collet C., Schiltz C., Geoffroy V. et al.: The serotonin 5-HT2B receptor controls bone mass via osteoblast recruitment and proliferation. *FASEB J.*, 2008;22, 418-427.