

Rola osteoprotegeryny w patogenezie zaburzeń gospodarki wapniowo-fosforanowej i metabolizmu kostnego w przewlekłej chorobie nerek

The role of osteoprotegerine in pathogenesis of mineral and bone disorders in chronic kidney disease (CKD-MBD)

Marzena Żelaźnicka-Wilk¹, Jarosław Wajda², Magdalena Olszanecka-Glinianowicz³, Jerzy Chudek⁴

STRESZCZENIE

Zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej i metabolizmu kostnego należą do najczęstszych patologii u chorych na przewlekłą chorobę nerek (PChN), powodujących przyspieszony rozwój miażdżycy. W związku z tym są zaliczane do nieklasycznych czynników ryzyka sercowo-naczyniowego będących przyczyną zwiększonej chorobowości i śmiertelności, zwłaszcza u chorych leczonych nerkozastępczo.

Osteoprotegeryna (OPG) jest ważnym fizjologicznym regulatorem różnicowania osteoklastów. Jako fałszywy receptor wiąże ligand receptora aktywującego czynnik jądrowy κ B (RANKL), uniemożliwiając jego wiązanie z receptorem RANK i dojrzewanie komórek prekursorowych osteoklastów. Fizjologiczna rola OPG wykracza jednak poza funkcję czynnika regulującego metabolizm kostny, ponieważ jest ona również inhibitorem procesu apoptozy indukowanego przez proces zapalny.

Podwyższone stężenia krążącej OPG stwierdza się u chorych z nasilonymi zmianami miażdżycowymi. Wyniki badań eksperymentalnych wskazują, że OPG nie stymuluje, a wręcz hamuje proces aterogenezy. Niniejsza praca stanowi przegląd dostępnego piśmiennictwa przedstawiającego udział OPG w patogenezie zaburzeń gospodarki wapniowo-fosforanowej i metabolizmu kostnego oraz zwapnień naczyniowych w PChN. Wyniki tych badań wskazują na akumulację OPG w krążeniu chorych na PChN. Osteoprotegeryna nie jest czynnikiem uczestniczącym w patogenezie zwapnień naczyniowych, a jedynie ich wskaźnikiem.

SŁOWA KLUCZOWE

osteoprotegeryna, osteodystrofia nerkowa, zwapnienia naczyniowe, przewlekła choroba nerek

Received: 09.12.2013
Revised: 08.01.2014
Accepted: 08.01.2014
Published online: 27.08.2014

¹Stacja Dializ Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego Nr 2 w Jastrzębiu-Zdroju
²Stacja Dializ Samodzielny Publicznego Zakładu Opieki Zdrowotnej Wojewódzkiego Szpitala Specjalistycznego Nr 3 w Rybniku
³Zakład Promocji Zdrowia Katedry Patofizjologii
⁴Katedra Patofizjologii Wydziału Lekarskiego w Katowicach Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach

ADRES DO KORESPONDENCJI:

Prof. dr hab. n. med. Jerzy Chudek
Katedra Patofizjologii Wydziału Lekarskiego w Katowicach Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach
ul. Medyków 18
40-752 Katowice
tel. +48 32 252 60 91
e-mail: chj@poczta.fm

Ann. Acad. Med. Siles. 2014, 68, 4, 255–260
Copyright © Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach
eISSN 1734-025X

ABSTRACT

Mineral and bone disorders are the most common pathology in patients with chronic kidney disease (CKD) resulting in the development of accelerated atherosclerosis. Therefore, they are considered as non-traditional cardiovascular risk factors and the cause of increased morbidity and mortality, especially in patients on renal replacement therapy.

Osteoprotegerin (OPG) is an important physiological regulator of osteoclastogenesis. As decoy receptor, it binds to the receptor activator of nuclear factor NF- κ B ligand (RANKL), preventing it from binding to the (RANK) receptor and maturation of osteoclast precursors. The physiological role of OPG, beyond the regulatory function of bone turnover is the inhibition of cell apoptosis induced by inflammatory processes.

Elevated levels of circulating OPG is observed in patients with severe atherosclerotic lesions. The experimental studies suggest that OPG does not stimulate, but on the contrary, inhibits the process of atherogenesis.

This paper provides an overview of the available literature presenting the role of OPG in the pathogenesis of mineral and bone disorders in CKD. The results of these studies revealed the accumulation of circulating OPG in CKD patients. Additionally, OPG is rather a marker and not a factor involved in the pathogenesis of vascular calcification development in this group of patients.

KEY WORDS

osteoprotegerin, renal osteodystrophy, vascular calcifications, chronic kidney disease

WSTĘP

Osteoprotegeryna (OPG) – białko regulujące różnicowanie osteoklastów – została odkryta w 1997 r. przez Simoneta i wsp. podczas sekwencjonowania cDNA jelita szczurów, jako białko wykazujące dużą homologię z rodziną receptorów TNF- α [1]. Białko to okazało się identyczne z czynnikiem hamującym różnicowanie osteoklastów – OCIF (*osteoclastogenesis inhibitory factor*), receptorem pochodzącym z komórki dendrytycznej grudki (FDCR-1 – *follicular dendritic cell-derived receptor 1*) oraz z molekułą hamującą osteoklastogenezę i resorpcję kości – TR1 (*TNF-receptor-like molecule-1*) [2,3,4].

Jest ona rozpuszczalnym, fałszywym receptorem dla ligandu aktywatora receptora jądrowego czynnika kappaB (RANKL – *receptor activator of NF-kappaB ligand*), należącym do nadrodziny TNF- α (*tumor necrosis factor α*). Ta zbudowana z 401 aminokwasów glikoproteina o masie cząsteczkowej 55 kDa jest kodowana u człowieka przez gen *TNFRSF11B* złożony z 5 eksonów, zlokalizowany na chromosomie 8q24. [3,5].

W cząsteczce OPG wyróżnia się 3 grupy aktywnych biologicznie domen: pierwsza grupa to 4 domeny bogate w cysteinę (D1-D4), odpowiedzialne za wiązanie się z ligandem (RANKL) i dimeryzację (ich obecność jest wystarczająca do zahamowania różnicowania osteoklastów); druga grupa – 2 domeny homologiczne z tzw. domenami śmierci (D5-D6) – uczestniczą w transdukcji sygnału apoptozy; trzecia grupa – domena wiążąca proteoglikany (D7) – nadaje cząsteczce dodatni ładunek i umożliwia jej interakcję m.in.

z heparyną. Jako rozpuszczalny receptor OPG nie zawiera hydrofobowej domeny międzybłonowej [6].

Osteoprotegeryna występuje w 3 izoformach, jako: monomer, homodimer oraz w formie związanej z ligandem RANKL. Dominującą izoformą *in vivo* jest homodimer, który powstaje wewnątrzkomórkowo przez wytwarzanie mostków dwusiarczkowych między dwoma łańcuchami w pozycji Cys400. Jest to izoforma wykazująca największe powinowactwo do RANKL.

Osteoprotegeryna jest fizjologicznym regulatorem różnicowania osteoklastów, jako jedna ze składowych układów OPG-RANK-RANKL. Proces dojrzewania komórek prekursorowych osteoklastów wymaga m.in. aktywacji jądrowego czynnika- κ B, zależnej od wiązania błonowego receptora RANK z jego ligandem. Proces ten jest ważnym elementem interakcji wspomnianych komórek prekursorowych z komórkami podścieliska i osteoblastami. Ligand RANKL jest wytwarzany przez osteoblasty oraz limfocyty T. Wiązanie RANKL z RANK może zostać zablokowane przez tzw. receptor wabikowy (*decoy receptor*) – OPG, wydzielaną przez osteoblasty oraz komórki podścieliska, szpiku kostnego i dendrytyczne, a także fibroblasty, limfocyty, monocyty i makrofagi [6]. Brak aktywacji RANK uniemożliwia komórkom prekursorowym osteoklastów różnicowanie inicjowane przez czynnik stymulujący wzrost kolonii makrofagów (M-CSF). Dlatego uważa się, że stosunek OPG do RANKL moduluje proces resorpcji kości poprzez regulację różnicowania osteoklastów [7].

Fizjologiczna rola OPG wykracza poza regulację metabolizmu kostnego. Odgrywa ona rolę w regulacji procesu apoptozy przez wiązanie TNF-zależnego ligandu indukującego apoptozę – TRAIL (*TNF-*

-related apoptosis-inducing ligand), w efekcie hamuje jego wiązanie z receptorami śmierci komórki (*death receptors*: DR4 – TRAIL/R1 i DR5 – TRAIL/R2) [8,9]. W hodowli komórek fibroblastopodobnych błony maziowej – FLS (*fibroblast-like synovial cells*), OPG hamowała apoptozę indukowaną przez rekombinowany TRAIL. Natomiast równoczesne dodanie do tej hodowli przeciwciał monoklonalnych anti-OPG nasilało apoptozę indukowaną przez TRAIL [10]. Należy podkreślić, że stężenie OPG w płynie maziowym u chorych z reumatoidalnym zapaleniem stawów koreluje ze stężeniami cytokin prozapalnych, takich jak IL-1 β i IL-6.

Co odzwierciedla stężenie krążącej osteoprotegeryny?

Średnie stężenie krążącej OPG u osób zdrowych, według różnych autorów, mieści się w szerokich granicach od 2,6 do 43,3 pmol/l [11,12]. W badaniu Framingham (N = 3250) średnie stężenie OPG wynosiło 5,4 pmol/l [13]. Wraz z wiekiem stężenie krążącej OPG zwiększa się zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet. Kudlacek i wsp. zaobserwowali, że stężenie OPG w osoczu zwiększało się z $2,25 \pm 1,05$ pmol/l u kobiet młodych (< 30 lat), poprzez $3,48 \pm 3,15$ pmol/l po menopauzie (61–70 r.ż.), do $11,3 \pm 5$ pmol/l w późnej starości (po 80 r.ż.). Podobnie w populacji mężczyzn rosło z $2,03 \pm 1,31$ pmol/l u młodych, do $11,3 \pm 0,39$ pmol/l po 80 r.ż. [14].

Stężenie krążącej OPG u chorych na przewlekłą chorobę nerek (PChN) jest często podwyższone, co wydaje się odzwierciedlać zarówno upośledzenie funkcji wydalniczej nerek, jak i nasilenie zaburzeń gospodarki wapniowo-fosforanowej i metabolizmu kostnego. Wzrost stężenia OPG w osoczu obserwuje się począwszy od 3 stadium PChN [15]. Na stężenie OPG w krążeniu mogą również wpływać cytokiny i hormony (tab. I) [16].

Tabela I. Czynniki wpływające na stężenie osteoprotegeryny w krążeniu
Table I. Factors affecting osteoprotegerin concentrations in circulation

Czynniki zwiększające stężenie OPG	Czynniki obniżające stężenie OPG
1,25 (OH) $_2$ -D $_3$	parathormon (PTH)
Wapń	glikokortykosteroidy
17 β -estradiol	leki immunosupresyjne
Interleukina-1 (IL-1)	prostaglandyna E $_2$
Białko macierzy kostnej typu 2 (BMP2)	
Czynnik martwicy nowotworów-alfa (TNF- α)	
Transformujący czynnik wzrostu – β (TGF- β)	

Osteoprotegeryna a zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej i metabolizmu kostnego w przewlekłej chorobie nerek

Stężenie OPG u chorych na PChN jest odwrotnie proporcjonalne do gęstości mineralnej kości (BMD – *bone mineral density*) [15], dlatego powszechnie uważa się, że jest to jeden z mechanizmów kompensacyjnych mających ograniczać utratę masy kostnej w PChN. Zwiększenie stężenia OPG odzwierciedla ponadto wyczerpanie zdolności kompensacyjnych zaburzeń gospodarki fosforanowej przez czynnik wzrostu fibroblastów 23 (FGF-23) [15].

U chorych hemodializowanych, podobnie jak w populacji ogólnej, stężenie OPG rośnie z wiekiem, a także proporcjonalnie do czasu leczenia nerkozastępczego [17,18,19]. Co ciekawe, obserwowano, że stężenie krążącej OPG odzwierciedla nasilenie zwapnień naczyń u hemodializowanych [20,19]. W grupie z prawidłowym i przyspieszonym obrotem kostnym stężenie iPTH jest wprost proporcjonalne do poziomów OPG i odwrotnie proporcjonalne do wskaźnika RANKL/OPG [18]. Natomiast u chorych ze zwolnionym obrotem kostnym (iPTH < 100 pg/ml) zależność między PTH i OPG jest odwrotnie proporcjonalna, pojawia się również dodatnia zależność między stężeniem iPTH i RANKL [18]. Dlatego uważa się, że zwiększone wydzielanie OPG stymulowane przez PTH ogranicza różnicowanie osteoklastów i resorpcję kostną, stanowiąc mechanizm kontrregulacyjny, tłumaczący częściowo oporność tkanki kostnej na działanie PTH u chorych z wtórną nadczynnością przytarczyc [18]. W wielu badaniach nie wykazano jednak zależności między stężeniem OPG a iPTH i innymi parametrami obrotu kostnego [17,21].

Paratyreoidektomia u chorych hemodializowanych z oporną na leczenie farmakologiczne wtórną nadczynnością przytarczyc powoduje gwałtowne obniżenie stężenia iPTH i przejściowy wzrost aktywności fosfatazy zasadowej. Jednak nie we wszystkich badaniach obserwowano wpływ paratyreoidektomii na stężenie OPG w krążeniu [22]. Jedynie Zheng i wsp. stwierdzili wzrost stężenia OPG od drugiego tygodnia po paratyreoidektomii, z najwyższymi wartościami po około 2 miesiącach. Co ciekawe, zwiększenie stężenia OPG po zabiegu, a nie jej wyjściowe stężenie, korelowało z przyrostem gęstości mineralnej odcinka lędźwiowego kręgosłupa po 12 miesiącach od paratyreoidektomii. Należy więc sądzić, że wzrost stężenia OPG może odzwierciedlać hamowanie procesu różnicowania osteoklastów po paratyreoidektomii [23]. U chorych hemodializowanych stężenia OPG są wyższe niż u dializowanych otrzewnowo [17], co prawdopodobnie wiąże się z mniejszym nasileniem zaburzeń gospodarki wapniowo-fosforanowej u pacjentów dializowanych otrzewnowo. Należy podkreślić, że sam

zabieg hemodializy nie wpływa na stężenie OPG, ponieważ rozmiary monomeru i homodimeru OPG nie pozwalają na ich przechodzenie nawet przez błonę polisulfonową wysokoprzepuszczalną typu *high-flux* [24,25].

Chorzy z przewlekłą niewydolnością nerek dość powszechnie są leczeni aktywnymi preparatami witaminy D₃ lub jej analogami. Większość prac wskazuje na dodatnią korelację między stężeniami 25(OH)D₃ a stężeniem OPG [11,26]. W badaniu interwencyjnym dożylnie podanie kalcytriolu w grupie 30 pacjentów hemodializowanych z wtórną nadczynnością przytarczyc (iPTH > 300 pg/ml), nie wywierało wpływu na stężenia OPG w okresie 6-miesięcznej obserwacji [27]. Natomiast Kazama i wsp. wykazali, że dożylnie podawanie analogu witaminy D (maxacalcitol) pacjentom hemodializowanym z wtórną nadczynnością przytarczyc (iPTH > 300 pg/ml) powoduje istotne obniżenie stężenia OPG po 24 tygodniach leczenia [28].

Czynnikami mogącymi wpływać na stężenie krążącej OPG u pacjentów hemodializowanych są stosowane w trakcie zabiegów hemodializy preparaty heparyny niefrakcjonowanej (UFH) lub drobnocząsteczkowej (LMWH). Od dawna wiadomo, że długotrwałe podawanie heparyn indukuje rozwój osteoporozy, częściej w przypadku stosowania UFH niż LMWH. Wykazano, że zwiększenie stężenia OPG w krążeniu występuje już po 15 minutach od podania zarówno UFH, jak i LMWH, powracając do wartości wyjściowych przed upływem 24 godzin [29]. U osób zdrowych nie wykazano znamiennych statystycznie różnic między UFH i LMWH.

Osteoprotegeryna jako wskaźnik ryzyka sercowo-naczyniowego

Wyniki badań doświadczalnych wykazały, że u myszy pozbawionych genu OPG (*knockout mice*) rozwija się ciężka osteoporoza, dochodzi także u nich do masywnej kalcyfikacji aorty i dużych tętnic oraz zwiększonej podatności na rozwarstwienie aorty [30,31]. Obserwano ponadto, że podawanie OPG tym myszom zapobiegało powstawaniu zwapnień indukowanych przez warfarynę lub witaminę D₃ [32]. Wyniki tych badań sugerują, że OPG hamuje powstawanie zwapnień naczyniowych. Niezależnie od stężenia OPG czynnikiem aktywującym kalcyfikację naczyń zależnym od aktywności układu RANK–RANKL jest angiotensyna II, która zwiększa w komórkach mięśni gładkich naczyń krwionośnych (VSMC) ekspresję RANKL oraz czynników transkrypcyjnych stymulujących różnicowanie tych komórek w kierunku osteoblastów – RUNX2 (*runt-related transcription factor 2*) [33].

Wyniki badania epidemiologicznego opublikowanego przez Brownera i wsp. wykazały, że u starszych kobiet umierających z przyczyn sercowo-naczyniowych, w tym z powodu udaru mózgu, stężenia krążącej OPG

były wyższe [34]. Wykazano również związek między stężeniem krążącej OPG a stopniem zaawansowania choroby wieńcowej i ryzyka śmiertelności z przyczyn sercowo-naczyniowych [35]. Ponadto stężenie OPG w surowicy korelowało ze wskaźnikiem masy lewej komory (LVMI – *left ventricular mass index*), grubością kompleksu błona wewnętrzna – błona środkowa (IMT – *intima-media thickness*) oraz podatnością tętnicy szyjnej wspólnej (CCA C – *common carotid artery compliance*) u otyłych kobiet [36].

Wyniki analizy regresji wieloczynnikowej w badaniu Framingham w czasie 4,6-letniej obserwacji pokazały, że wyższe stężenia OPG wpływały na zwiększenie ryzyka incydentu sercowo-naczyniowego oraz śmierci (w grupie 3084 uczestników pierwszy incydent sercowo-naczyniowy wystąpił u 143, a zmarło 253). Stwierdzono również, że na stężenie krążącej OPG wpływał nie tylko wiek, ale również palenie tytoniu, występowanie cukrzycy typu 2 oraz wartości skurczowego ciśnienia tętniczego [13]. Zarówno wyniki tych, jak i wielu innych badań wskazują, że OPG jest markerem uszkodzenia tętnic i ryzyka sercowo-naczyniowego. Sugeruje się, że zwiększenie stężenia krążącej OPG jest prawdopodobnie mechanizmem kontrregulacyjnym dla procesu zapalnego w śródbłonku i ścianie naczyniowej, odgrywającego główną rolę w patogenezie miażdżycy.

Szczególne nasilenie zmian miażdżycowych i kalcyfikacji naczyń występuje u chorych na PChN. Proces kalcyfikacji naczyń w tej grupie chorych w znacznej mierze ma charakter czynny i przypomina proces kościotworzenia [37]. Jest on powiązany z zaburzeniami gospodarki wapniowo-fosforanowej, rozwijającymi się już od wczesnych etapów przewlekłej choroby nerek. Najcięższe zaburzenia gospodarki wapniowo-fosforanowej i najszybsza progresja zmian naczyniowych występują u chorych na schyłkową niewydolnością nerek (dializowanych) i są przyczyną przedwczesnej śmierci z przyczyn sercowo-naczyniowych [38,39,40,41].

Mhairi i wsp. obserwowali średnio przez 40 miesięcy 134 chorych na PChN, w tym 60 hemodializowanych, 28 dializowanych otrzewnowo i 46 w stadium IV choroby. W czasie obserwacji zmarło 31 chorych, u których wcześniej na podstawie badania obrazowego techniką wielowarstwowej spiralnej tomografii komputerowej stwierdzono znaczną kalcyfikację tętnicy udowej powierzchownej. Wyniki analizy regresji wieloczynnikowej wykazały, że na ryzyko wystąpienia zgonu wpływało, niezależnie od nasilenia stanu zapalnego (hsCRP), stężenie OPG > 25 pmol/l [42]. Nakashima i wsp. [43] w czasie 6-letniej obserwacji 151 pacjentów dializowanych co najmniej od 3 lat, również wykazali, że podwyższone stężenie OPG jest czynnikiem ryzyka zgonu z przyczyn sercowo-naczyniowych. Ponadto u chorych z obciążającym wywiadem sercowo-naczyniowym stwierdzono wyż-

sze stężenie OPG, które było odwrotnie proporcjonalne do prędkości szerzenia się fali tętna w aorcie (PWV – *pulse wave velocity*). Należy podkreślić, że PWV jest uznanym predykatorem śmiertelności sercowo-naczyniowej u pacjentów hemodializowanych [43].

W okresie 41,5-miesięcznej prospektywnej obserwacji 99 pacjentów rozpoczynających leczenie nerkozastępcze z zastosowaniem hemodializ, przeprowadzonej przez Nishiura i wsp. [44], incydenty sercowo-naczyniowe wystąpiły u 27 badanych, a 21 pacjentów zmarło, w tym 12 z przyczyn sercowo-naczyniowych. W analizie korelacji jednoczynnikowej śmiertelność bez względu na przyczynę była związana z wyższymi od średnich stężeniami krążącej OPG. Wyniki analizy regresji wieloczynnikowej nie potwierdziły jednak niezależnego od wieku stężenia albumin i wskaźnika zwapnień aorty brzusznej (ACI – *abdominal aortic calcification index*) wpływu stężeń krążącej OPG na śmiertelność [44].

Z kolei Kurnatowska i wsp. [20] w grupie 47 pacjentów hemodializowanych obserwowanych przez 30 miesięcy wykazali zależność stężenia OPG z nasileniem zwapnień tętnic wieńcowych [20]. W badaniach własnych, które objęły 104 chorych hemodializowanych w analizach korelacji jednoczynnikowych, stwierdzono zależność między nasileniem zwapnień w tętnicach wieńcowych i aorcie brzusznej ocenianych metodą spiralnej tomografii komputerowej a stężeniem krążącej OPG. Wyniki analizy regresji

wieloczynnikowej nie potwierdziły jednak niezależnego od wieku i czasu leczenia nerkozastępczego wpływu OPG na nasilenie zwapnień tętnic w obu lokalizacjach [19]. Wyniki tych badania sugerują, że OPG jest tylko markerem, a nie czynnikiem uczestniczącym w patogenezie powstawania zwapnień tętnic. Prześlanki potwierdzające kontregulacyjne działanie OPG wobec zwiększonego wydzielania cytokin prozapalnych u chorych na PChN znajdujemy m.in. w badaniu Mesquita i wsp. [21], którzy wykazali, że u chorych w stadium IV PChN stężenie krążącej OPG było proporcjonalne nie tylko do wieku, wartości skurczowego i rozkurczowego ciśnienia tętniczego, eGFR, stężenia fosforu, iloczynu Ca x P, ale również do stężenia w surowicy CRP.

PODSUMOWANIE

Rola OPG w patogenezie zaburzeń gospodarki wapniowo-fosforanowej i metabolizmu kostnego występujących w przewlekłej chorobie nerek jest złożona i wciąż nie do końca poznana. Osteoprotegeryna uczestniczy w mechanizmach kontregulacyjnych, przeciwdziałając nadmiernej stymulacji różnicowania osteoklastów i kalcyfikacji ściany naczyniowej. Jest również wskaźnikiem nasilenia miażdżycy i kalcyfikacji naczyń.

PIŚMIENNICTWO

1. 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.
2. 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.
3. Mizuno A., Murakami A., Nakagawa N. i wsp. Structure of the mouse osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) gene and its expression in embryogenesis. *Gene* 1998; 215: 339–343.
4. Tsuda E., Goto M., Mochizuki S. i wsp. Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1997; 234: 137–142.
5. Morinaga T., Nakagawa N., Yasuda H., Tsuda E., Higashio K. Cloning and characterization of the gene encoding human osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor. *Eur. J. Biochem.* 1998; 254: 685–691.
6. Yamaguchi K., Kinoshita M., Goto M. i wsp. Characterization of structural domains of human osteoclastogenesis inhibitory factor. *J. Biol. Chem.* 1998; 273: 5117–5123.
7. Boyle W., Simonet W., Lacey D. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003; 423: 337–342.
8. Hsu H., Lacey D.L., Dunstan C.R. i wsp. Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc. Natl. Acad. Sci. (USA)* 1999; 96: 3540–3545.
9. Zauli G., Melloni E., Capitani S., Secchiero P. Role of full-length osteoprotegerin in tumor cell biology. *Cell. Mol. Life. Sci.* 2009; 66: 841–851.
10. Miyashita T., Kawakami A., Nakashima T. i wsp. Osteoprotegerin (OPG) acts as an endogenous decoy receptor in tumour necrosis factor-related apoptosis-inducing ligand (TRAIL)-mediated apoptosis of fibroblast-like synovial cells. *Clin. Exp. Immunol.* 2004; 137: 430–436.
11. Eleftheriadis T., Antoniadis G., Liakopoulos V., Stefanidis I., Galaktidou G. Inverse association of serum 25-hydroxyvitamin D with markers of

- inflammation and suppression of osteoclastic activity in hemodialysis patients. *Iran J. Kidney Dis.* 2012; 6: 129–135.
12. Khosla S., Arrighi H.M., Melton III L.J. i wsp. Correlates of osteoprotegerin levels in women and men. *Osteoporosis Int.* 2002; 13: 394–399.
13. Lieb W., Gona P., Larson M.G. i wsp. Biomarkers of the osteoprotegerin pathway: clinical correlates, subclinical disease, incident CVD and mortality. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2010; 30: 1849–1854.
14. Kudlacek S., Schneider B., Wołoszczuk W. i wsp. Serum levels of osteoprotegerin increase with age in a healthy adult population. *Bone* 2003; 32: 681–686.
15. Jiang J.Q., Lin S., Xu P.C., Zheng Z.F., Jia J.Y. Serum osteoprotegerin measurement for early diagnosis of chronic kidney disease-mineral and bone disorder. *Nephrology (Carlton)* 2011; 16: 588–594.
16. Mikoś H., Mikoś M., Mikoś M., Obara-Moszyńska M., Niedziela M. Rola szlaku OPG/RANKL/RANK w otyłości u dzieci i młodzieży. *Nowiny Lek.* 2010; 5: 403–409.
17. Doi S., Yorioka N., Masaki T., Ito T., Shigemoto K., Harada S. Increased serum osteoprotegerin level in older and diabetic hemodialysis patients. *Ther. Apher. Dial.* 2004; 8: 335–339.
18. Doumouchtsis K., Perrea D., Doumouchtsis S. i wsp. Regulatory effect of parathyroid hormone on sRANKL-Osteoprotegerin in hemodialysis patients with renal bone disease. *Ther. Apher. Dial.* 2009; 13: 49–55.
19. Pencak P., Czerwieńska B., Ficek R. i wsp. Calcification of coronary arteries and abdominal aorta in relation to traditional and novel risk factors of atherosclerosis in hemodialysis patients. *BMC Nephrology* 2013, 14: 10.
20. Kurnatowska I., Grzelak P., Kaczmarek M., Stefańczyk L., Nowicki M. Progression of atherosclerosis and coronary calcification in hemodialysis patients. *Nephron. Clin. Pract.* 2011; 117: c297–c304.
21. 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.
22. Peters B.M., Moyses R.M., Jorgetti V., Martini L.A. Effects of parathyroidectomy on bone remodeling markers and vitamin D status in patients with

- chronic kidney disease-mineral and bone disorder. *Int.Urol. Nephrol.* 2007; 39: 1251–1256.
23. Zheng C.M., Chu P., Wu C.C. i wsp. Association between increased serum osteoprotegerin levels and improvement in bone mineral density after parathyroidectomy in hemodialysis patients. *Tohoku J. Exp. Med.* 2012; 226: 19–27.
24. Kazama J.J., Kato H., Sato T. i wsp. Circulating osteoprotegerin is not removed through haemodialysis membrane. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2002; 17: 1860–1861.
25. Nescimento M.M., Hayashi S.Y., Qureshi A.R. i wsp. Changes in circulating biomarkers during a single hemodialysis session. *Hemodial. Int.* 2013; 17: 59–66.
26. Jankowska A., Korzon-Burakowska A., Kamińska B. System osteoprotegeryna, receptor aktywujący jądrowy czynnik κ B oraz ligand dla receptora aktywującego jądrowy czynnik κ B a zmiany kostne u dzieci z nieswoistymi zapaleniami jelit. *Prz. Gastroenterol.* 2011; 6: 213–217.
27. Nishi H., Nii-Kono T., Ikeda K., Fujimori A., Fukagawa M. No change in circulating osteoprotegerin levels by intravenous calcitriol therapy among dialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Clin. Nephrol.* 2006; 65: 149–150.
28. Kazama J.J., Omori K., Takahashi N. i wsp. Maxacalcitol therapy decreases circulating osteoprotegerin levels in dialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Clin. Nephrol.* 2005; 64: 64–68.
29. Cianciolo G., La Manna G., Donati G. i wsp. Effects of unfractionated heparin and low-molecular-weight heparin on osteoprotegerin and RANKL plasma levels in haemodialysis patients. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2011; 26: 646–652.
30. 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.
31. 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.
32. Price P.A., June H., Buckley J., Williamson M. Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D. *Arterio. Thromb. Vasc. Biol.* 2001; 21: 1610–1616.
33. Osako M.K., Nakagami H., Shimamura M. i wsp. Cross-talk of receptor activator of nuclear factor- κ B ligand signaling with renin-angiotensin system in vascular calcification. *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2013; 33: 1287–1296.
34. 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.* 2003; 88: 60–72.
35. Jono S., Ikari Y., Shioi A. i wsp. Serum osteoprotegerin levels are associated with the presence and severity of coronary artery disease. *Circulation* 2002; 106: 1192–1194.
36. Mizia-Stec K., Gąsior Z., Holeccki M. i wsp. Przebudowa strukturalna tętnic u kobiet z otyłością prostą a stężenie osteoprotegeryny w surowicy krwi. *Endokrynol. Otył.* 2009; 5: 60–65.
37. Mizobuchi M., Towler D., Slatopolsky E. Vascular calcification: The killer of patients with chronic kidney disease. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2009; 20: 1453–1464.
38. Block G.A., Klassen P.S., Lazarus J.M., Ofsthun N., Lowrie E.G., Chertow G.M. Mineral metabolism, mortality, and morbidity in maintenance hemodialysis. *J. Am. Soc. Nephrol.* 2004; 15: 2208–2218.
39. Floege J., Kim J., Ireland E. i wsp. Serum iPTH, calcium and phosphate, and the risk of mortality in a European haemodialysis population. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2011; 26: 1948–1955.
40. Palmer S.C., Hayen A., Macaskill P. Serum levels of phosphorus, parathyroid hormone, and calcium and risks of death and cardiovascular disease in individuals with chronic kidney disease: a systematic review and meta-analysis. *JAMA* 2011; 305: 1119–1127.
41. Block G.A., Hulbert-Shearon T.E., Levin N.W., Port F.K. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am. J. Kidney Dis.* 1998; 31: 607–617.
42. Sigrist M.K., Levin A., Er L., McIntyre C.W. Elevated osteoprotegerin is associated with all-cause mortality in CKD stage 4 and 5 patients in addition to vascular calcification. *Nephrol. Dial. Transplant.* 2009; 24: 3157–3162.
43. Nakashima J.J., Carrero A.R., Qureshi T. i wsp. Plasma osteoprotegerin, arterial stiffness, and mortality in normoalbuminemic Japanese hemodialysis patients. *Osteoporosis Int.* 2011; 22: 1695–1701.
44. Nishiura R., Fujimoto S., Sato Y. i wsp. Elevated osteoprotegerin levels predict cardiovascular events in new hemodialysis patients. *Am. J. Nephrol.* 2009; 29: 257–263.