

**С.В. Юренева**

Отделение гинекологической  
эндокринологии,  
Научный центр акушерства,  
гинекологии и перинатологии РАМН,  
Москва

## ОСТЕОПРОТЕГЕРИН И ЕГО ЛИГАНДЫ В РЕГУЛЯЦИИ КОСТНОЙ РЕЗОРБЦИИ: ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНЫЕ И КЛИНИЧЕСКИЕ АСПЕКТЫ ПРИМЕНЕНИЯ ПРИ ЭСТРОГЕНДЕФИЦИТНЫХ СОСТОЯНИЯХ

■ В статье представлены сформулированные на основе проведенных в последние годы экспериментальных исследований современные представления о роли системы OPG–RANK–RANKL в местном паракринном механизме регуляции процессов остеокластогенеза и костной резорбции. Приводятся результаты первых клинических исследований прогностической значимости определений OPG для оценки выраженности нарушений в костном метаболизме при эстрогендефицитных состояниях, а также данные об использовании OPG — в качестве антирезорбтивного агента при лечении постменопаузального остеопороза.

### Введение

В механизмах контроля костного метаболизма в последние годы отводится большое внимание местным факторам, обеспечивающим передачу сигналов со стороны системных (гормональных) и других регуляторов на клетки, участвующие в костном ремоделировании. При этом большой интерес исследователей привлекает влияние этих факторов на межклеточные взаимодействия, обеспечивающие поддержание нормального гомеостаза в костной ткани, что имеет целью уточнение патогенетических механизмов, приводящих к развитию остеопороза, и к поиску новых подходов к его терапии.

Следует отметить, что составляющие системы OPG–RANK–RANKL имеют много синонимов, что нередко затрудняет сравнительный анализ сообщений разных авторов об их эффектах. Между тем уточнение структуры и механизма действия OPG показывает, что этот белок оказывается идентичным факторам OCIF, TR-1, FDCR-1 [14, 24, 25, 28, 30]. Аналогичным образом одним и тем же поверхностным рецептором остеокластов являются RANK и ODAR [11], а рецептор предшественников остеобластов RANKL идентичен ODF, SOFA, TRANCE, OPGL [12, 15, 21, 27]. Причиной указанных терминологических расхождений является то, что перечисленные факторы были открыты и начали изучаться практически одновременно в разных лабораториях, использовавших собственные обозначения. Поэтому некоторые специалисты [23] считают целесообразным «стандартизовать» семантические подходы при указании одних и тех же субстанций, т.е. предлагают использовать названия OPG–RANK–RANKL, отказавшись от дублирующих терминов. С учетом этих предложений, поддерживаемых и президентским комитетом, утвержденным Американским Обществом по изучению костного и минерального обмена (ASBMR — American Society for Bone and Mineral Research), в своем последующем изложении мы придерживаемся этих рекомендаций, т.е. используем именно термины OPG–RANK–RANKL.

### Взаимодействия между составляющими системы RANK–RANKL–OPG в процессе регуляции костного ремоделирования

**RANK, RANKL.** При активации остеокластогенеза, провоцируемого теми или иными отклонениями системной гормональной регуляции (например, при повышении концентрации паратгормона) и иными причинами, усиливается взаимодействие между поверхностными рецепторами RANK и RANKL, экспрессируемыми, соответственно, предшественниками остеокластов (ОК) и стромальными остеобластами (ОБ). Интенсивное взаимодействие указанных рецепторов ОБ и предшественников ОК всегда происходит лишь после предварительной активации образования RANKL на фоне перmissive действия макрофагального колониестимулирующего фактора (M-CSF) [15].

Возрастание RANKL и его взаимодействие с RANK приводит к каскадным геномным трансформациям в костно-мозговых предшественниках ОК, превращающихся последовательно в преостеокласты и зрелые активные ОК, осуществляющие интенсивную резорбцию костной ткани [5, 7, 15]. При этом одновременно регистрируется торможение апоптоза зрелых ОК [7]. Введение мышам RANKL уже к концу первых суток сопровождается гиперкальциемией, а к концу третьих — заметной потерей костной массы [15].

**OPG.** Механизм действия OPG состоит в том, что белок, образуемый остеобластами и клетками стромы, является своего рода «ловушкой» для остеобластных рецепторов RANKL. Взаимодействие OPG с RANKL лишает последние способности связываться с RANK-рецепторами предшественников остеокластов и осуществлять стимуляцию процесса остеокластогенеза. Таким образом, OPG является фактором, ингибирующим взаимодействие RANK с RANKL. Это, в свою очередь, обуславливает выраженный антирезорбтивный эффект, ассоциируемый с ослаблением процессов дифференцировки, созревания и активации зрелых ОК [10].

OPG был открыт в 1997 году сразу в трех лабораториях. Анализ его структуры показал, что он относится к гликопротеинам и обладает особенностями, позволяющими отнести его к семейству рецепторов фактора некроза опухоли — TNF [20]. Биологическая активность OPG была первоначально изучена на трансгенных мышах, у которых его образование интенсивно осуществлялось в печени. У таких мышей отмечалось развитие остеопетроза (резкого увеличения минеральной плотности) в бедренных костях и позвоночнике, что было связано с заметным уменьшением числа остеокластов без снижения численности их макрофагальных предшественников. Было также установлено, что в экспериментах *in vitro* добавление OPG в микст-культуру гемопоэтических и стромальных клеток сопровождалось дозозависимым угнетением образования остеокластов в присутствии «классических» стимуляторов остеокластогенеза, включая  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , паратгормон, простагландины  $\text{E}_2$  и интерлейкин-11. В опытах *in vivo* подкожное введение этого фактора нелинейным мышам увеличивало у них костную массу [20].

Наоборот, у мышей с дефицитом OPG отмечалось раннее развитие остеопороза на фоне увеличения числа остеокластов, а также кальцификация аорты и ренальных артерий [16, 21]. Введение OPG оказывалось эффективным методом предотвращения таких осложнений [21].

Хотя OPG и образуется остеобластами, тем не менее его способны экспрессировать не только они, но еще и другие типы клеток, причем не только костной, но и других тканей, включая аорту и крупные артерии [11]. Вероятно с этим можно связать локальную кальцификацию в них при дефиците OPG [2].

Заслуживает внимания, что в настоящее время предметом интенсивных исследований являются не только эффекты OPG на костный метаболизм, но и его роль в дифференцировке и регуляции активности Т- и В-лимфоцитов [12], а также в процессах апоптоза в самых различных тканях [8, 23].

Таким образом, многие причинные факторы, способствующие аномальному доминированию резорбции над формированием костной ткани, например, избыток паратгормона, витамина  $\text{D}_3$ , простагландинов  $\text{E}_2$ , интерлейкина-11 [10, 23] или системная терапия глюкокортикоидами [4, 26] активируют остеокластогенез путем как блокады продукции OPG, так и за счет стимуляции образования RANKL. Эти данные способствовали формулированию гипотезы о том, что активность про- и антирезорбтивных агентов предопределяет уровни RANKL и OPG, финальное «конвергентное» соотношение которых собственно и контролирует степень остеокластной дифференцировки, активации и апоптоза [10].

### Перспективы использования OPG в диагностике и терапии остеопороза, ассоциируемого с гипоэстрогенным состоянием

Обобщение результатов экспериментальных исследований *in vitro* позволило некоторым специалистам выдвинуть предположение, что остеопороз на фоне эстрогендефицитных состояний также развивается вследствие ослабления образования OPG, сочетающегося с усиленной экспрессией RANKL [9, 19, 20, 22]. Это стимулировало проведение клинических исследований, направленных, во-первых, на оценку диагностической значимости определений OPG в целях характеристики активности течения остеопоретического процесса и, соответственно, для прогнозирования вероятности переломов, и во вторых, для уточнения терапевтического потенциала OPG, используемого в качестве антирезорбтивного средства у больных с постменопаузальным остеопорозом (ПМО)

*OPG как прогностический фактор вероятности переломов при постменопаузальном остеопорозе.* По данным А. Fahrleitner и соавт. [6] у женщин с остеопорозом и имевшими место спонтанными переломами уровень OPG сос-

твляет  $57 \pm 8$  pg/ml против  $97 \pm 10$  pg/ml ( $p < 0,01$ ) у женщин того же возраста без переломов. На этом основании указанными исследователями делается заключение о том, что у пациенток с остеопорозом снижение концентрации OPG связано с возрастанием риска переломов, т. е. определение OPG может быть использовано для прогнозирования данного осложнения. Другие авторы [17], наоборот, указывают что OGP оказывается повышенным при быстро прогрессирующем остеопорозе, сопровождающемся увеличением вероятности переломов. Возрастание OPG у больных с ускоренной потерей костной ткани рассматривается этими исследователями как компенсаторная реакция, направленная на торможение избыточной активности остеокластов.

Отдельные специалисты [18], однако, весьма скептически относятся к клинической значимости определений OPG для прогнозирования вероятности переломов при постменопаузальном остеопорозе. По их наблюдениям, даже успешная терапия постменопаузального остеопороза эстрогенами (констатируемая при нормализации концентраций важнейших маркеров костного ремоделирования) не отражается на уровне OPG, остающемся стабильно повышенным. Это означает, что определения OPG в крови не позволяют прогнозировать вероятность переломов при остеопорозе и объективно отразить эффективность антирезорбтивной терапии. Однако указанными авторами отмечается, что поскольку сами технические методы определения OGP пока еще далеки от совершенства, вряд ли сегодня можно сделать окончательное заключение о значимости регистрируемых отклонений OPG для прогнозирования связанных с остеопорозом переломов и для оценки результатов лечения подобно тому, как это практикуется с использованием определений маркеров костного ремоделирования типа пиридинолина, дезоксипиридинолина и др. Во многом это связано с тем, что OPG образуется не только в костной ткани [11] и поэтому его колебания в крови могут быть обусловлены теми или иными процессами, вообще не имеющими отношение к костному ремоделированию. То есть вопрос о том, насколько специфично общий уровень OPG в крови отражает состояние именно костного гомеостаза пока остается открытым.

*OPG как потенциальное терапевтическое средство при лечении постменопаузального остеопороза.* В оригинальных исследованиях по изучению биологической активности OPG было обнаружено, что OPG обладает костнопротективным действием у овариэктомированных крыс, использовавшихся в качестве модели постменопаузального остеопороза. Было пока-

зано, что OPG был столь же эффективен как антирезорбтивный агент, как и бисфосфонат памидронат [19]. Имеются сообщения о клиническом использовании OPG. В рандомизированном, двойном слепом, плацебоконтролируемом исследовании, включавшем 52 женщины в постменопаузе изучалась антирезорбтивная активность, переносимость и безопасность OPG [3]. В публикации P.J. Bekker и соавт. [3] сообщается, что единственная инъекция OPG (3 мг/кг) уменьшала экскрецию маркера резорбции N-телопептида на 80% через пять дней после введения, причем его уровень оставался стабильно пониженным в течение еще 4 недели. Переносимость препарата была хорошей. Эти данные продемонстрировали очевидную антирезорбтивную активность OPG у больных с ПМО. Однако, по заключению самих авторов, пока остается неясным, как длительно следует проводить такое лечение и насколько оно окажется эффективным по влиянию на абсолютные значения МПКТ и на частоту ассоциируемых с остеопорозом переломов.

Таким образом, несмотря на успехи экспериментальных исследований *in vitro* в изучении роли OPG как антирезорбтивного агента, из-за крайне малого числа клинических наблюдений пока еще не представляется возможным достаточно объективно оценить его терапевтический и диагностический потенциал. Вполне очевидно, что для решения этого вопроса потребуются не только масштабные, но и многолетние исследования, сопоставимые с теми, которые были проведены при уточнении многих технических деталей, связанных с тактикой использования эстрогенов, бисфосфонатов и других средств, применяемых сегодня для профилактики и терапии постменопаузального остеопороза.

#### Литература

1. Шварц Г.Я. Фармакотерапия остеопороза (лекарственные средства для лечения и профилактики) // М.: Медицинское формационное агентство, 2002. — 368 с.
2. Barends E.J., Berman M., Kukreja S.C. et al. Osteoporosis and coronary atherosclerosis in asymptomatic postmenopausal women // *Calcif Tissue Int*, 1998; — P. 62, 209–213.
3. Bekker P.J., Holloway D., Nalanishi A. et al. Osteoprotegerin (OPG) has potent and sustained anti-resorptive activity in postmenopausal women // *J. Bone Miner Res*, 1999; 14(Suppl 1): S.180.
4. Bornefalk E., Dahlen I., Johannsson G. et al. Serum levels of osteoprotegerin; effect of glucocorticoids and growth hormone // *Bone*, 1998; 23(Suppl 1): S.486.
5. Burgess T.L., Qian Y., Kaufman S. et al. The ligand for osteoprotegerin (OPGL) directly activates mature osteoclasts // *J Cell Biol*, 1999; 145:527–538.
6. Fahrleitner A., Dobnig H., Leeb G. et al. Osteoprotegerin serum levels in women: influence of age, bone mass, bone turnover and fracture status // *Osteoporosis Int*, 2002; 13 (Suppl.1): P. 161MO.



7. Fuller K., Wong B., Fox S. *et al.* TRANCE is necessary and sufficient for osteoblast-mediated activation of bone resorption in osteoclasts // *J. Exp. Med.*— 1998; 188: 997–1001.
8. Hofbauer L.C. Osteoprotegerin ligand and osteoprotegerin: novel implications for osteoclast biology and bone metabolism // *Eur. J. Endocrinol.*, 1999; 141:195–210.
9. Hofbauer L.C., Khosla S., Dunstan C.R. *et al.* Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells // *Endocrinology*, 1999; 140: 4367–4370.
10. Hofbauer L.C., Khosla S., Dunstan C.R. *et al.* The roles of osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption // *J. Bone Miner Res.*, 2000; 15: 2–12.
11. Hsu H., Lacey D.L., Dunstan C.R. *et al.* 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.
12. Kong Y.Y., Yoshida H., Sarosi I. *Et al.* OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis // *Nature*, 1999; 397:315–323.
13. Kostenuik P.J., Shalhoub V. Osteoprotegerin: a physiological and pharmacological inhibitor of bone resorption // *Curr Pharm Design.*— 2001.— Vol. 7.— P. 613–635.
14. Kwon B.S., Wang S., Udagawa N. *et al.* TR-1, a new member of the tumor necrosis factor receptor superfamily, induces fibroblast proliferation and inhibits osteoclastogenesis and bone resorption // *FASEB J.*— 1998; 12: 845–854.
15. Lacey D.L., Timms E., Tan H.L. *et al.* Osteoprotegerin ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation // *Cell.*— 1998; 93: 165–176.
16. Mizuno A., Amizuka N., Irie K. *et al.* Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin // *Biochem Biophys Res Commun.*— 1998; 247: 610–615.
17. Riggs B.L., Melton, III L.J., Atkinson E.J. *et al.* Evidence the postmenopausal women with vertebral fractures due to type I osteoporosis have enhanced responsiveness of bone to estrogen deficiency // *Osteoporosis Int.*— 2002; 13 (Suppl 1): P-33MO.
18. Rogers A., Pereda C.A., Naylor K.E. *et al.* Absence of a change in circulating levels of osteoprotegerin in response to subcutaneous estradiol implant in postmenopausal women // *Osteoporosis Int.*— 2002; 13(Suppl 1): P-328MO
19. Schevde N.K., Bendixen A.C., Maruyama M. *et al.* Estrogen inhibits RANKL stimulated osteoclastogenesis in isolated murine myeloid progenitors and the monocyte-macrophage cell line RAW 264-7 // *J. Bone Miner Res.*, 1999; 14 (Suppl 1): S.150.
20. Simonet W.S., Lacey D.L., Dunstan C.R. *et al.* Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density [see comments] // *Cell.*— 1997; 89: 309–319.
21. Solari F., Jurdic P. Nouveaux concepts sur l'origine des osteoclastes: relation avec les macrophages normaux et inflammatoires // *Medicine/Sciences.*— 1997; 13: 1285–1293.
22. Srivastava S.K., Weitzmann M.N., Chaudhari L.R. *et al.* Estrogen decreases the responsiveness osteoclast precursors to OPGL by down regulating OPGL induced JNK activity // *J. Bone Miner Res.*— 1999; 14 (Suppl 1): S.177.
23. Suda T., Takahashi N., Udagawa N. *et al.* Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of the tumor necrosis factor receptor and ligand families // *Endocr Rev.*— 1999; 20: 345–357.
24. Tan K.B., Harrop J., Reddy M. *et al.* Characterization of a novel TNF-like ligand and recently described TNF ligand and TNF receptor superfamily genes and their constitutive and inducible expression in hematopoietic and non-hematopoietic cells // *Gene.*— 1997; 204:35–46.
25. Tsuda E., Goto M., Mochizuki S. *et al.* Isolation of a novel cytokine from human fibroblast that specifically inhibits osteoclastogenesis // *Biochem Biophys Res Commun.*— 1997; 234:137–142.
26. Vidal N.O., Brandstrom H., Jonsson K.B. *et al.* Osteoprotegerin mRNA is expressed in primary human osteoblast-like cells: down regulation by glucocorticoids // *J. Endocrinol.*— 1998; 159:191–195.
27. Wong B.R., Josier R., Choi Y. TRANCE is a TNF family member that regulates dendritic cell and osteoclast function // *J. Leukoc Biol.*— 1999; 65: 715–724.
28. Yasuda H., Shima N., Nakagawa N. *et al.* Identity of osteoclastogenesis inhibitory factor (OCIF) and osteoprotegerin (OPG): a mechanism by which OPG/OCIF inhibits osteoclastogenesis in vitro // *Endocrinology.*— 1998; 139: 1329–1337.
29. Yasuda H., Shima N., Nakagawa N. *et al.* Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL // *Proc Natl Acad Sci USA.*— 1998; 95: 3597–3602.
30. Yun T.J., Chaudhary P.M., Shu G.L. OPG/FDCR-1, a TNF receptor family member, is expressed in lymphoid cells and is up-regulated by ligating CD40 // *J. Immunol.*— 1998; 161: 6113–6121.

#### OSTEOPROTEGERIN AND ITS LIGANDS FOR REGULATING THE OSTEOCLAST RESORPTION: EXPERIMENTAL AND CLINICAL APPLICATION ASPECTS UNDER ESTROGEN DEFICIENCY CONDITIONS

Yureneva S.V.

■ **The summary:** Modern conceptions concerning the role of OPG-RANK-RANKL system in a local paracrine mechanism of the regulation of osteoclastogenesis and osteal resorption processes are presented in this article. Here, results of the first clinical researches of prognostic signification of ORG determinations for estimating disruption manifestations in osteal metabolism under estrogen deficiency conditions as well as data on the OPG use as an anti-resorbable agent at the treatment of post-menopausal osteoporosis.