

Osteoprotegerin, Rank ve Rank Ligandı

[Osteoprotegerin, Rank and Rank Ligand]

¹Sevil Kurban,
¹İdris Mehmetoğlu

¹Selçuk Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı, Konya

Yazışma Adresi
(Correspondence Address)

Dr. Sevil Kurban

Selçuk Üniversitesi, Meram Tıp Fakültesi,
Biyokimya Anabilim Dalı, 42080-KONYA
E-mail: kurbanseminer@yahoo.com
Tel: 0 332 2236790
Fax: 0 332 2236225
GSM: 0 506 6087650

ÖZET

Osteoprotegerin, reseptör aktivatör nükleer kapp B ve reseptör aktivatör nükleer kapp B ligand'ın keşfi ve osteoklastojenezisteki rollerinin belirlenmesi kemik biyolojisinin anlaşılmasına çok önemli katkılar sağlamıştır. Reseptör aktivatör nükleer kapp B ligand preosteoklastların üzerindeki reseptörü reseptör aktivatör nükleer kapp B'e bağlanarak, onların osteoklastlara dönüşmesini uyarır ve böylece kemik rezorpsiyonu oluşur. Osteoprotegerin ise reseptör aktivatör nükleer kapp B ligand için yalancı reseptör görevi görür ve kemik rezorpsiyonunu inhibe eder. Kemik biyolojisinin anlaşılmasına sağladıkları bu temel bakış açısı dışında osteoprotegerin, reseptör aktivatör nükleer kapp B ve reseptör aktivatör nükleer kapp B ligand'ın immün sistem, arteryel kalsifikasyon ve pek çok metabolik kemik hastalığı ile de ilgili olabilecekleri belirtilmiştir. Bu derlemede osteoprotegerin, reseptör aktivatör nükleer kapp B ve reseptör aktivatör nükleer kapp B ligand'ın kemik rezorpsiyonu, immün sistem ve arteryel kalsifikasyondaki rolünün ve tedavideki yerinin özetlenmesi amaçlanmıştır.

Anahtar Kelimeler: Osteoprotegerin, reseptör aktivatör nükleer kapp B, reseptör aktivatör nükleer kapp B ligand, Kemik rezorpsiyonu, Immün sistem, Arteryel kalsifikasyon

ABSTRACT

The discovery of the osteoprotegerin, receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand and receptor activator of nuclear factor-kappa B and identification of their role in osteoclastogenesis provided a major advance in bone biology. Receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand binds to its receptors on the surface of preosteoclasts and stimulates their differentiation into active osteoclasts, leading to bone resorption. Osteoprotegerin is a soluble decoy receptor for the receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand thereby inhibiting bone resorption. In addition to providing fundamental insights in bone biology, they may be involved in the immune system, arterial calcification and a number of metabolic bone diseases. In this review, we summarize the roles of receptor activator of nuclear factor-kappa B, receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand and osteoprotegerin in bone metabolism, immune system and arterial calcification and discuss their potential in the treatment of these diseases.

Key Words: Osteoprotegerin, receptor activator of nuclear factor-kappa B, receptor activator of nuclear factor-kappa B ligand, Bone resorption, Immune system, Arterial calcification

1. GİRİŞ

Kemik kütlesi, iskeletin bütünlüğünü ve hareket yeteneğini sağlaması; kaslar için destek ve mineral iyonları için de depo oluşturması bakımından önemlidir. Kemik dokusu, eski dokunun osteoklastlar tarafından yıkılıp, yerine osteoblastlar tarafından yenisinin oluşturulması ile hayat boyu yenilenir. Bu yeniden yapılanma, kemik yapımı ve yıkımı ile hücreler arasındaki değişik bağlantılar tarafından sağlanır. Bundan dolayı, hücreler arası sinyal yollarının ve protein mediyatörlerin yapısı önemlidir. Kemik rezorpsiyonu ve bu proteinler arasındaki bağlantıların anlaşılması, çeşitli kemik hastalıklarının (kemik yıkımının arttığı, kemik kütlesinin azaldığı ve kırık riskinin arttığı hastalıklar) tedavilerinde ve yeni terapötik ajanların belirlenmesinde yeni bir dönemi başlatabilir (1,2).

1997'de, birbirinden bağımsız iki araştırma grubu tarafından, kemik yıkımını engelleyen ve osteoprotegerin (OPG) olarak isimlendirilen yeni bir protein bulunmuştur (3,4). Daha sonra bu konudaki çalışmalar hızlanarak fizyolojik ve patolojik kemik rezorpsiyonunu kontrol eden iki farklı protein daha keşfedilmiştir. Bunlardan, reseptör aktivator nükleer kappa B (RANK) osteoklastlarda bulunan ve RANK ligand (RANKL) ile uyarılarak kemik yıkımına neden olan reseptördür (5,6).

2. OSTEOPROTEGERİN

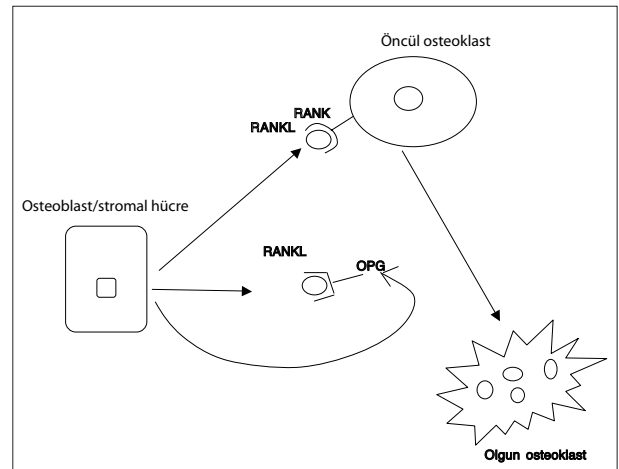
İki farklı bilim adamı grubu tarafından keşfedilen OPG (3,4), başlangıçta 401 amino asit olarak sentezlenen bir polipeptiddir. 21 amino asitlik propeptid kısmı ayrıldıktan sonra 380 amino asitlik olgun protein oluşur. Hücre dışına 60 kDa'luk monomerik ve 120 kDa'luk disülfid bağı içeren homodimerik, çözünür bir glikoprotein olarak salgılanır. OPG, tümör nekroz faktörü reseptörleri (TNFR) süper ailesinin bir üyesi olup TNFR süper ailesinin diğer reseptörlerinden farklı olarak transmembran ve sitoplazmik kısımlar içermez. OPG yedi yapısal bölgeden oluşur. N-terminalinde TNFR-2 ve CD40 ile yakından ilişkili olan ve diğer TNFR ailesinin üyelerinin hücre dışındaki kısımlarının özelliklerine benzer özellik gösteren dört adet sisteinden zengin bölge vardır. OPG'nin 1. ve 4. bölgeleri osteoklastojenezis inhibe edici aktiviteye sahiptir. Proteinin 5. ve 6. bölgelerinin bulunduğu C-terminalinde ölüm bölgeleri bulunmaktadır. Bu tip ölüm bölgeleri TNFR-1, DR3, CD95/Fas ve TNF ilişkili apoptozisi indükleyen ligand (TRAIL) gibi apoptozis mediyatörlerinin sitoplazmik bölgesinde bulunur. OPG'nin 4., 5. ve 6. bölgelerinin apoptotik sinyalin iletimi ile ilişkili olduğu ve OPG'nin TRAIL'e bağlanarak TRAIL'le indüklenen apoptozisi inhibe edebileceği belirtilmiştir. TRAIL de OPG'nin osteoklastojenezis üzerine olan inhibitör etkisini engelleyebilir. Proteinin 7. bölgesinde heparin bağlayan bir kısım bulunur. OPG bir transmembran proteoglikanı olan sindekan-1'e heparin bağlayan bölgesi aracılığıyla

heparin sülfat yan zincirleri ile bağlanarak hücre içine alınır ve en azından bir kısmı lizozomlar aracılığıyla yıkılır. OPG'nin heparin bağlayan bölgesi, RANKL bağlayan bölgesinden uzaktadır ve RANKL bağlanması veya kemik yıkımını inhibe edici etkisi ile ilişkili değildir. RANKL/OPG kompleksinin yıkımının da sindekan-1'e bağlanması aracılığıyla olabileceği belirtilmiştir (1,7-10).

OPG osteoklastların yaptığı kemik yıkımını inhibe eder. Hipokalsemik ve anti-resorptif etkilidir. Onun kemik dokudaki biyolojik etkileri, aşağıda anlatıldığı gibi, RANK/RANKL'in etkisi ile terstir. OPG, RANKL'a bağlanarak bir tuzak reseptör gibi fonksiyon görür ve RANK'a bağlanmasını engeller (Şekil 1). Sonuç olarak osteoklast farklılaşması ve aktivasyonu inhibe olur ve RANKL kemik rezorpsiyonu oluşturamaz (1,2,7,9-12).

Otozomal resesif geçişli iki juvenil Paget hastasında, OPG'nin 100 kilobazlık kısmında homozigot delesyon görülmüştür. Bu hastalarda kemik yıkımının artması, osteopeni ve kırıklar bulunması OPG'nin insanlarda da kemik koruyucu rolü olduğunu göstermektedir (13). OPG'nin üçüncü eksonunda inaktive edici delesyonun belirlendiği otozomal resesif geçişli bir kemik hastalığı olan idiopatik hipofosfatazyada görülen uzun kemiklerde deformiteler, kifozis ve artmış kemik "turnover"i de insanlarda OPG'nin rolü olduğu ile ilgili diğer örneği oluşturmaktadır (14).

OPG, osteoblastlar dışında kardiyovasküler sistem (kalp, arter ve venler) dahil, böbrek, karaciğer, dalak, beyin, akciğer ve kemik iliği gibi pek çok doku ve hematopoetik ve immün hücreler tarafından sentezlenir (2,9-11). Salgılanması pek çok sitokin, peptid, hormon ve ilaç tarafından düzenlenir. Transforme edici büyüme faktörü (TGF)- α , TGF- β , IL-1 α , IL-18, kemik morfojenetik proteinleri ve OPG mRNA seviyelerini artıran 17 β -östradiol bunlardan birkaçıdır (1,7,12,15). Kemik yıkımını arttırdığı bilinen glukokortikoidler, osteoporoz ve vasküler hastalık oluşturma eğilimi olan siklosporin A, paratiroid hormon (PTH), prostaglandin



Şekil 1. Öncül osteoklastın olgun osteoklasta farklılaşmasında OPG, RANK ve RANKL'in rolü

E_2 ve fibroblast büyüme faktörü-2 ise OPG sentezini inhibe ederler (1,7,12,13,15-17). OPG'nin sentezi aynı zamanda osteoblastlarda osteoblastik kemik oluşumunu da düzenleyen Wnt/ β -katenin sinyali ile de düzenlenmektedir (18).

Kemik iliği hücrelerinin sentezlediği OPG'nin yaşla azaldığı görülmüştür (19). Kemik yüzeyine uygulanan gerilme kuvveti ise OPG mRNA sentezini artırır (20). Bunlar senil osteoporoz ve immobilizasyona bağlı kemik kaybı durumunda OPG'nin önemli bir mediyatör olduğunu göstermektedir. Renal osteodistrofi, romatoid artrit, primer bilier siroz, Cushing ve HIV hastaları ve kemik metastazı olan prostat kanserlerinde OPG seviyelerinde artma, litik kemik lezyonu olan multipl miyelom hastalarında ise OPG seviyelerinde azalma tespit edilmiştir (7,12,21).

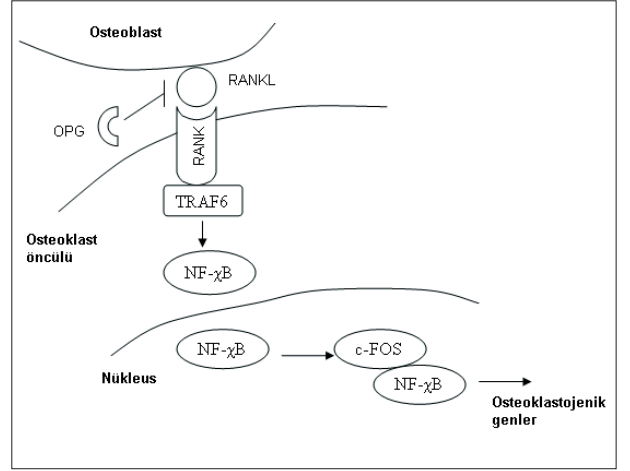
Biz, osteoporoz ile karakterize bir hastalık olan multipl skleroz (MS) hastalarında OPG ve RANKL seviyelerinin yüksek olduğunu tespit ettik. Bu hastalarda hareket kısıtlılığına veya kortizon gibi çok kullanılan ilaçlara bağlı olarak osteoporoz gelişebilmekle beraber bunun sebebi tam olarak anlayamadık. Çalışmamızda, MS hastalarındaki osteoporoz artmış RANKL seviyelerinin yol açabileceği ve RANKL seviyelerindeki yükselmenin ise bu hastalığıdaki immün sistemin aktivasyonuna bağlı olabileceği sonucuna vardık. OPG seviyelerindeki yükselmenin ise RANKL seviyelerindeki yükselmeyi telafi edici olarak gelişebileceğini düşündük (22).

3. RANKL

Kemik kütlesi osteoblast ve osteoklastların birlikte çalışması ile belirlenir. Osteoblastlarda bunu belirleyen temel iki yolak ise RANKL/RANK ve Wnt/ β -katenin sistemidir (12,18).

Normal ve patolojik durumlarda kemik rezorpsiyonunun anahtar mediyatörü olan RANKL, TNF ligand ailesinin bir üyesidir. 40-45 kDa'luk membrana bağlı hücreler ve 32 kDa'luk biyolojik olarak aktif, çözünür iki formdan oluşmuş 317 amino asitlik bir peptiddir. Lenf nodları, timus ve akciğerde daha fazla olmak üzere dalak ve kemik iliği gibi dokularda ve osteoblastlarda sentezlenir. RANKL sentezi transkripsiyonel, translasyonel ve posttranslasyonel seviyelerde hormonlar (1,25-dihidroksi vitamin D_3 gibi), büyüme faktörleri ve peptidler (TGF- β_1 , fibroblast büyüme faktörü-2 ve PTH ilişkili protein gibi), sitokinler (IL-1 β , IL-6, IL-11 ve TNF α gibi) ve glukokortikoidler gibi pek çok faktör tarafından düzenlenir. Osteoblast/stromal hücrelerde RANKL sentezlenmesi, osteoklast oluşumu ve aktivasyonunu uyaran pek çok faktör ile uyarılır (2,5,8,10,23).

RANKL; öncül ve olgun osteoklastlar, uyarılmış T ve dendritik hücrelerin yüzeyinde bulunan kendine ait reseptörü RANK'a bağlanarak bu hücreleri uyarır (Şekil-1) (2,5,8-12). RANK'ın RANKL tarafından uyarılması aşağıda daha ayrıntılı bahsedileceği gibi c-jun, NF- κ B ve serin/treonin kinaz Akt/protein kinaz B (PKB) yollarını içeren hücre içi sinyal kaskadını başlatır



Şekil 2. OPG, RANKL ve RANK'ın osteoklastojenezdeki rolleri ve hücre içi sinyal iletimi. Fizyolojik koşullarda osteoblastlar tarafından üretilen RANKL'ın öncül osteoklastlar yüzeyinde bulunan RANK'a bağlanması TRAF6'yı uyararak NF- κ B aktivasyonu sebep olur. NF- κ B aktivasyonu aracılığıyla artan c-Fos sentezi NFATc1 ile etkileşerek osteoklastojenik genlerin transkripsiyonunu tetikler ve böylece uyarı çekirdeğe iletilmiş olur. OPG, RANKL'a bağlanarak onun RANK'a bağlanmasını engeller.

(Şekil-2). Bu yolların uyarılması öncül osteoklastların olgun osteoklastlara farklılaşmasını, aktive olmasını ve canlılıklarını sürdürmelerini sağlar (2,7,8). RANKL'ın kemikteki ana görevi osteoklast oluşumunu ve apoptozun inhibisyonunu sağlayarak kemik kaybı ve rezorpsiyonunu artırmaktır. Osteoblastlar yanında T hücrelerinden de artmış miktarda RANKL salgılanması artrit ve diğer inflamatuvar hastalıklara bağlı kemik kaybında RANKL'ın rol oynayabileceğini düşündürmektedir (24). Fakat, T hücrelerinden salgılanan RANKL, uyarılmış osteoklastlardan c-fos yolu ile kendi salınımını negatif etkileyen interferon- β üretimini artırır (25).

RANKL'ın osteoporotik etkisi yanında immün sistem üzerinde de önemli etkileri vardır (2,10). Farede meme bezi gelişimi ve laktasyon için gerekli olduğu belirtilmiştir (26). Bazı malin tümör hücrelerinin RANKL yanında RANK da sentezlemesi tümör hücre proliferasyonunun uyarılmasında rol oynayabileceklerini düşündürmektedir (27). Kemik metastazlarının patojenezinde RANKL birkaç noktada etkilidir; RANKL seviyelerindeki artmaya bağlı gelişen artmış kemik yıkımı tümör hücrelerinin bölünme ve yaşam sürelerini hızlandıran büyüme faktörlerinin salgılanmasına sebep olur (28). Ayrıca, RANKL'ın kemiğe metastaz yapan belirli kanser hücreleri için kemoatraktan olduğu ve kemik metastazlarında vaskularizasyonu uyardığı düşünülmektedir (28,29).

OPG/RANKL oranının kemik kütlesini belirleyen esas faktör olduğu belirtilmiştir (2,7). Osteoblastlar sentezledikleri RANKL miktarını değiştirebilirler ve RANKL sentezini indükleyen pek çok faktör osteoblastlarda OPG sentezini de düzenler. Genellikle RANKL seviyesindeki artma OPG seviyesindeki azalma ile birliktedir. OPG/RANKL oranını azaltan glukokortikoidler, fibroblast büyüme faktörü-2, PTH

(OPG sentezini inhibe eder ve RANKL sentezini artırır), IL-1 β , IL-4, IL-6, IL-11, IL-17 ve TNF α gibi bazı sitokinler (RANKL sentezini artırır), prostaglandin E₂ pek çok mezenkimal transkripsiyon faktörü (cbfa-1, PPAR-gamma) ve 1,25-dihidroksi vitamin D₃ gibi pek çok faktör kemik rezorpsiyonuna sebep olurken, OPG/RANKL oranını artıran östrojen (osteoblastik hücrelerde OPG sentezini artırır ve RANKL sentezini inhibe eder) ve TGF- β (OPG sentezini artırır) antirezorptif etki gösterir (7-12).

4. RANK

Hücre dışı kısmı 28 amino asitlik sinyal peptid olan RANK, 21 amino asitlik kısa transmembran ve geniş sitoplazmik kısımları ile toplam 616 amino asitlik bir transmembran proteindir (30). Preosteoklastlara RANKL'in bağlanması sağlayan tek reseptördür. Osteoklastojenez ve kalsiyum metabolizmasını kontrol eden bu reseptörün; makrofaj/monositik hücreler, T ve B lenfositleri, fibroblastlar, dendritik hücreler ve öncül ve olgun osteoklastların yüzeyinde bulunduğu belirlenmiştir (9,11,23,30,31). RANK protein sentezi meme bezi (26) ve kemik metastazı potansiyeli yüksek iki kanser türü olan meme (27) ve prostat (32) kanserini de kapsayan bazı kanser hücrelerinde de gösterilmiştir.

RANK ve RANKL nakavt farede osteoklastların olmamasına bağlı olarak ağır osteopetrozis geliştiği belirtilmiştir (33). İnsanlarda, günümüze kadar RANKL geninde konjenital hastalığa sebep olan ve RANK delesyonu veya inhibisyonuna yol açan mutasyonlar belirlenmemiştir (8,11). Fakat RANK'ın aktivasyonu veya OPG'nin inhibisyonu yolu ile RANK sinyalinin artması ile sonuçlanan RANK ve OPG genindeki mutasyonlar sırası ile ailesel ekspansil osteoliz (34) ve ailesel Paget hastalığında (13) saptanmıştır. Ayrıca, ailesel Paget hastalığına sahip bazı hastalarda da RANK geninde aktive edici mutasyon saptanması ve bunun RANK aracılığıyla NF- κ B sinyalinde artışa ve sonuç olarak osteolize yol açması bu sistemin insanlarda da önemini göstermektedir (34).

RANKL'in RANK'a bağlanması ile en az yedi hücre içi sinyal yolağı uyarılır (Şekil 2). Bunlardan dördü (NF- κ B inhibitörü/NF- κ B, c-jun aminoterminal kinaz/aktivatör protein-1, c-myc ve kalsinörin/uyarılmış T hücrelerinin nükleer faktörü (NFAT) c1) doğrudan osteoklastojenez aracılık eder. Diğer üçü ise osteoklast aktivasyonuna (src ve MKK6/p38/MITF) ve canlılığını sürdürmesine (src ve hücre dışı sinyal-düzenleyici kinaz) aracılık eder (2,7,30,31,35,36).

RANKL, RANK'a bağlandıktan sonra oluşacak sinyallerden ilki TNFR ilişkili faktör (TRAF)'lerin RANK'ın sitoplazmik kısmındaki kendine özgü bölüme bağlanmasıdır (37,38). TRAF2, TRAF5 ve TRAF6 hepsi RANK'a bağlanmasına rağmen bunlardan sadece TRAF6'nın osteoklastlar için önemli olduğu anlaşılmıştır. Çünkü, sadece TRAF6 nakavt farede osteopetrozis gelişmektedir (39).

TRAF'lar aracılığıyla uyarının iletimi için pek çok adaptör molekül RANK'a bağlanır. Bunların arasında adaptör moleküller ailesinin bir üyesi olan Grb-2 ilişkili bağlayıcı protein-2, tirozin kalıntılarında fosforlanarak Src homolog-2 bölgelerini de içeren pek çok sinyal molekülünü uyarır. Grb-2 ilişkili bağlayıcı protein-2'nin kaybı osteoklast farklılaşması, kemik rezorpsiyonunun azalması ve sonuçta ciddi osteopetrozis ile sonuçlanır. Bu durum, Grb-2 ilişkili bağlayıcı protein-2'nin RANKL ile uyarılan osteoklastojenezde önemli bir rol oynadığını göstermektedir (40). RANKL/RANK kompleksi hücre içine alınarak lizozomlarda yıkılır (8).

5. OPG, RANKL, RANK ve İMMÜN SİSTEM

Pek çok çalışmada OPG ve RANKL'in immün sistemle ilişkisi gösterilmiştir. RANKL'in RANK'a bağlanması Bcl-x_L'nin de katılımı ile dendritik hücrelerin canlılığını, immün sistemi uyarma kapasitesini ve apoptozun inhibisyonunu artırır (30,41-43). Ayrıca, T hücrelerinin c-jun N-terminal aktivasyonunu sağlar ve uyarılmış T hücrelerinin fonksiyonunu düzenler (30,36). İmmün sistemde uyarılmış T hücrelerinden salgılanan RANKL ise lenfosit farklılaşması ve lenf nodu organogenez için gereklidir (42). Ayrıca, RANKL TNF gibi olgunlaşmamış öncüllerin dolaşıma salgılanmasını da uyarır (2).

Yukarıda belirttiğimiz gibi, insanlarda RANKL geninde belirlenmiş bir mutasyon yoktur (8). Fakat, RANKL nakavt farelerde ciddi osteopetrozis ve lenf nodlarının azlığı yanında diş, timus ve erken dönemde T ve B hücrelerinde farklılaşma defekti görülmüş, dalak yapısı ve payer plaklarının ise normal olduğu belirlenmiştir (9,44). RANK nakavt fareler ise yukarıda bahsettiğimiz RANKL nakavt fareler gibi T ve B hücrelerinde olgunlaşma defekti ve periferik lenf nodlarının azlığı ile seyretse de RANKL nakavt farelerden farklı olarak normal timus gelişimi göstermişlerdir (33).

OPG yoksun farelerle yapılan çalışmalar OPG'nin B hücrelerinin olgunlaşması ve etkili antikör cevabının oluşması ile ilişkili olduğunu göstermiştir. Kemik iliğinden alınan dendritik hücrelerin, OPG yoksun farelerin allojenik T hücrelerini normal farelerin T hücrelerinden daha çok uyardığı görülmüştür (45).

6. OPG, RANKL ve RANK'IN ARTERYEL KALSİFİKASYONDAKİ ROLÜ

OPG'nin temel fonksiyonu osteoklast farklılaşması ve aktivasyonunun inhibisyonu olarak bilindiğinden diğer dokularda sentezlenen OPG'nin rolü tam olarak bilinmemektedir. Büyük arterlerin mediasında ve koroner arter düz kası ve endotel hücreleri gibi farklı damar hücre tiplerinde OPG sentezinin gösterilmiş olması vasküler yatakta fonksiyonu olduğunu göstermektedir (46,47). Endotel hücrelerinde OPG'nin otokrin canlılık faktörü gibi rol oynadığı belirtilmiştir

(46). OPG yoksun farelerde, sadece artmış osteoklast aktivasyonuna bağlı olarak osteoporoz oluşmakla kalmayıp (48) aynı zamanda büyük arterlerinde kalsifikasyon, intima ve medialarında proliferasyon ve aort diseksiyonu görülmüş olması (46) OPG'nin büyük arterleri medial kalsifikasyona karşı koruduğunu göstermektedir. OPG ve RANKL'in osteoporoz ve arteriyel kalsifikasyonla ilişkisi özellikle postmenapozal kadınlar ve osteoporozlu yaşlılarda klinik olarak kardiyovasküler hastalık ve arteriyel kalsifikasyonla uygunluk göstermektedir (49,50). Yaşlı kadınlarda serum OPG seviyeleri ile kardiyovasküler mortalite arasında önemli bir korelasyon olduğu belirtilmiştir (51). Ayrıca, OPG'nin ratlarda kemik rezorpsiyonunu inhibe eden konsantrasyonlarda kullanıldığında varfarin ve D vitamini ile oluşturulan vasküler kalsifikasyonu inhibe ettiği kaydedilmiştir (52).

OPG yoksun farenin kalsifiye lezyonlarında RANK ve RANKL sentezi belirlenmiş olmasına rağmen normal fareninde belirlenememiştir (53). Ayrıca, RANK ve RANKL'in insan vasküler hastalıkları ile doğrudan ilişkisi de gösterilememiştir (10).

Sonuç olarak, OPG'nin yalnız kemik için değil vasküler sistem için de koruyucu bir faktör olduğu söylenebilir. Fakat gelecekteki çalışmalar ile OPG, RANKL ve RANK'ın vasküler hastalığındaki rolleri ve biyokimyasal belirteç olarak önemlerinin açığa kavuşturulması gerekmektedir.

7. OPG, RANKL ve RANK'IN KEMİK METABOLİZMA BOZUKLUKLARININ TEDAVİSİNDEKİ YERİ

Bifosfonatlar gibi kemik rezorpsiyonu ve vasküler kalsifikasyonu inhibe ettiği bilinen ilaçlara benzer etki gösteren OPG (54) ile RANK ve RANKL multiple myelom ve diğer tümörlerin kemik metastazları veya postmenapozal osteoporoz gibi artmış kemik rezorpsiyonu durumlarında terapötik kullanıma sahip olabilirler.

Postmenapozal veya yaşla ilişkili osteoporozun patojenezinde OPG, RANK ve RANKL'in rolü hakkındaki bilgiler çelişkilidir. Yukarıda belirtildiği gibi östrojen, osteoblast ve kemik iliği stromal hücrelerinde OPG üretimini arttırır (55). Fakat, kemik iliği stromal hücrelerinde OPG üretimi yaşla azalmasına (19) rağmen erkek ve kadınlarda serum OPG seviyelerinin yaşla arttığı gösterilmiştir (56). Ayrıca, postmenapozal osteoporotik kadınların osteoporotik olmayanlarla kıyaslandığında serum OPG seviyelerinin daha yüksek olduğu görülmüştür (56). Belki de bu durum onları daha hızlı kemik kaybı oluşmasına karşı korumaktadır. Postmenapozal kadınlara tek doz OPG-Fc füzyon proteini verilmesinin kemik yıkımını engellediği belirtilmiştir (57).

Kemik metastazı olan osteosarkom, meme, kolon, prostat kanserli ve overektomi yapılmış hastalara

verilen rekombinant OPG'nin osteoporozu azalttığı gösterilmiştir (11). OPG'nin sarkomaya bağlı kemik yıkımını ve ağrıyı da azalttığı belirtilmiştir (58).

RANK-Fc füzyon proteininin kobaylarda oluşturulan malignansinin humoral hiperkalsemi modelinde kemik yıkımı ve hiperkalsemiyi inhibe ettiği gösterilmiştir (59).

RANKL inhibisyonunun osteoporoz, kemik metastazı, inflamatuvar eklem hastalıkları ve habisliğe bağlı hiperkalsemi de kemik koruyucu olduğu görülmüştür (60). RANKL uyarımını inhibe etmek için OPG ve çözünür RANK veya RANKL'a karşı monoklonal antikor kullanımı gündeme gelmiştir. RANKL'a karşı oluşturulan monoklonal antikorların hem sağlıklı kişilerde (61) hem de kemik metastazı olan meme kanserli hastalarda (62) kemik rezorpsiyonunu inhibe ettiği gösterilmiştir.

Yukarıda belirttiğimiz gibi postmenapozal osteoporoz, kemik metastazları ve habisliğe bağlı hiperkalsemiye ilave olarak glukokortikoid kullanımı, Paget hastalığı ve romatoid artrit gibi OPG, RANK ve RANKL sisteminin dengesinin bozulduğu hastalıkların tedavisinde OPG, RANK, RANKL ve RANKL'a karşı monoklonal antikor kullanımı gelecekte uygulanabilir görünmektedir.

8. SONUÇ

Son yıllarda OPG, RANK ve RANKL ile ilgili yapılmış olan çalışmaların sonuçları kemik biyolojisini neredeyse tam olarak anlamamızı sağlamanın yanı sıra nadir veya yaygın pek çok kemik hastalığının patojenezine de yeni bir bakış açısı getirmiştir. TNF süper ailesinin üyeleri olan RANKL ve OPG, kemik metabolizması yanında immün fonksiyonlar için de temel parakrin araçlar olup romatoid artrit gibi kemik ve immün sistemin birlikte rol aldığı pek çok hastalıkta rol alırlar. Ayrıca, vasküler sistemde düz kas ve endotel hücreleri tarafından üretilen OPG büyük arterleri medial kalsifikasyona karşı korumaktadır. OPG, RANK ve RANKL'ın kemik rezorpsiyonu ile giden bazı hastalıkların tedavisinde kullanımı ile ilgili yapılan çalışmaların sonuçları gelecekte umut vaat etmektedir. Bu buluşların yeni terapötik yaklaşımlara dönüşmesini ise zaman belirleyecektir.

Kaynaklar

- [1] Kostenuik PJ, Shalhoub V. (2001) Osteoprotegerin: A Physiological and Pharmacological Inhibitor of Bone Resorption. *Curr Pharm Des.* 7: 613-35.
- [2] Boyce BF, Xing L. (2007) Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther.* 9:1.
- [3] Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Luthy R, Nguyen HQ, Wooden S, Bennett L, Boone T, Shimamoto G, DeRose M, Elliott R, Colombero A, Tan HL, Trail G, Sullivan J, Davey E, Bucay N, Renshaw-Gregg L, Hughes TM, Hill D, Pattison W, Campbell P, Boyle WJ. (1997) Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 89: 309-319.
- [4] Tsuda E, Goto M, Mochizuki SI, Yano K, Kobayashi F, Morinaga T, Higashio K. (1997) Isolation of a novel cytokine from human fibroblasts that specifically inhibits osteoclastogenesis. *Biochem Biophys Res Commun.* 234: 137-42.
- [5] Lacey DL, Timms E, Tan H-L, Kelly MJ, Dunstan CR, Burgess T, Elliott R, Colombero A, Elliott G, Scully S, Hsu H, Sullivan J, Hawkins N, Davy F, Capparelli C, Eli A, Qian YX, Kaufman S, Sarosi I, Shalhoub V, Senaldi G, Guo J, Delaney J, Boyle WJ. (1998) Osteoprotegerin (OPG) ligand is a cytokine that regulates osteoclast differentiation and activation. *Cell.* 93: 165-176.
- [6] Yasuda H, Shima N, Nakagawa N, Yamaguchi K, Kinoshita M, Mochizuki S, Tomoyasu A, Yano K, Goto M, Murakami A, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Udagawa N, Takahashi N, Suda T. (1998) Osteoclast differentiation factor is a ligand for osteoprotegerin/osteoclastogenesis-inhibitory factor and is identical to TRANCE/RANKL. *Proc Natl Acad Sci USA.* 95: 3597-602.
- [7] Hofbauer LC. (1999) Osteoprotegerin ligand and osteoprotegerin: novel implications for osteoclast biology and bone metabolism. *Eur J Endocrinol* 141: 195-210.
- [8] Blair JM, Zheng Y, Dunstan CR. (2007) RANK ligand. *Int J Biochem Cell Biol.* 39: 1077-81.
- [9] Khosla S. (2001) Minireview: the OPG/RANKL/RANK system. *Endocrinology.* 142: 5050-5.
- [10] Schoppet M, Preissner KT, Hofbauer LC. (2002) RANK ligand and osteoprotegerin: paracrine regulators of bone metabolism and vascular function. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 22: 549-53.
- [11] Stejskal D, Bartek J, Pastorkova R, Ruzicka V, Oral I, Horalik D. (2001) Osteoprotegerin, RANK, RANKL. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 145: 61-4.
- [12] Hofbauer LC, Neubauer A, Heufelder AE. (2001) Receptor activator of nuclear factor-kappaB ligand and osteoprotegerin: potential implications for the pathogenesis and treatment of malignant bone diseases. *Cancer.* 92: 460-70.
- [13] Whyte MP, Obrecht SE, Finnegan PM, Jones JL, Podgornik MN, McAlister WH, Mumm S. (2002) Osteoprotegerin deficiency and juvenile Paget's disease. *N Engl J Med.* 347: 175-84.
- [14] Cundy T, Hegde M, Naot D, Chong B, King A, Wallace R, Mulley J, Love DR, Seidel J, Fawcner M, Banovic T, Callon KE, Grey AB, Reid IR, Middleton-Hardie CA, Cornish J. (2002) A mutation in the gene TNFRSF11B encoding osteoprotegerin causes an idiopathic hyperphosphatasia phenotype. *Hum Mol Genet.* 11: 2119-27.
- [15] Brandstrom H, Bjorkmann T, Ljunggren O. (2001) Regulation of osteoprotegerin secretion from primary cultures of human bone marrow stromal cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 280: 831-35.
- [16] Onyia JE, Miles RR, Yang X, Halladay DL, Hale J, Glasebrook A, McClure D, Seno G, Churgay L, Chandrasekhar S, Martin TJ. (2000) In vivo demonstration that human parathyroid hormone 1-38 inhibits the expression of osteoprotegerin in bone with the kinetics of an immediate early gene. *J Bone Miner Res.* 15 :863-71.
- [17] Hofbauer LC, Gori F, Riggs BL, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Khosla S. (1999) Stimulation of osteoprotegerin ligand and inhibition of osteoprotegerin production by glucocorticoids in human osteoblastic lineage cells: potential paracrine mechanisms of glucocorticoid-induced osteoporosis. *Endocrinology.* 140: 4382-9.
- [18] Boyce BF, Xing L, Chen D. (2005) Osteoprotegerin, the bone protector, is a surprising target for beta-catenin signaling. *Cell Metab.* 2: 344-5.
- [19] Makhlef HA, Mueller SM, Mizuno S, Glowacki J. (2000) Age-related decline in osteoprotegerin expression by human bone marrow cells cultured in three-dimensional collagen sponges. *Biochem Biophys Res Commun.* 268: 669-7.
- [20] Kobayashi Y, Hashimoto F, Miyamoto H, Kanao K, Miyazaki-Kawashita Y, Nakashima T, Shibata M, Kobayashi K, Kato Y, Sakai H. (2000) Force-induced osteoclast apoptosis in vivo is accompanied by elevation in transforming growth factor- and osteoprotegerin expression. *J Bone Miner Res.* 15: 1924-34.
- [21] Szalay F, Hegedus D, Lakatos PL, Tornai I, Bajnok E, Dunkel K, Lakatos P. (2003) High serum osteoprotegerin and low RANKL in primary biliary cirrhosis. *J Hepatol.* 38: 395-400.
- [22] Kurban S, Akpinar Z, Mehmetoglu I. (2007) Receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) and osteoprotegerin levels in multiple sclerosis *Multiple Sclerosis.* (yayın aşamasında).
- [23] Wada T, Nakashima T, Hiroshi N, Penninger JM (2006) RANKL-RANK signaling in osteoclastogenesis and bone disease. *Trends Mol Med.* 12: 17-25.
- [24] Takayanagi H. (2005) Inflammatory bone destruction and osteoimmunology. *J Periodont Res.* 40: 287-93.
- [25] Takayanagi H, Kim S, Matsuo K, Suzuki H, Suzuki T, Sato K, Yokochi T, Oda H, Nakamura K, Ida N, Wagner EF, Taniguchi T. (2002) RANKL maintains bone homeostasis through c-Fos-dependent induction of interferon-beta. *Nature.* 416: 744-9.
- [26] Fata JE, Kong YY, Li J, Sasaki T, Irie-Sasaki J, Moorehead RA, Elliott R, Scully S, Voura EB, Lacey DL, Boyle WJ, Khokha R, Penninger JM. (2000) The osteoclast differentiation factor osteoprotegerin-ligand is essential for mammary gland development. *Cell.* 103: 41-50.
- [27] Kim NS, Kim HJ, Koo BK, Kwon MC, Kim YW, Cho Y, Yokota Y, Penninger JM, Kong YY. (2006) Receptor activator of NF-kappaB ligand regulates the proliferation of mammary epithelial cells via Id2. *Mol Cell Biol.* 26: 1002-13.
- [28] Jones DH, Nakashima T, Sanchez OH, Kozieradzki I, Komarova SV, Sarosi I, Morony S, Rubin E, Sarao R, Hojilla CV, Komnencovic V, Kong YY, Schreiber M, Dixon SJ, Sims SM, Khokha R, Wada T, Penninger JM. (2006) Regulation of cancer cell migration and bone metastasis by RANKL. *Nature.* 440: 692-6.
- [29] Kim HH, Shin HS, Kwak HJ, Ahn KY, Kim JH, Lee HJ, Lee MS, Lee ZH, Koh GY. (2003) RANKL regulates endothelial cell survival through the phosphatidylinositol 3'-kinase/Akt signal transduction pathway. *FASEB J.* 17: 2163-5.
- [30] Anderson MA, Maraskovsky E, Billingsley WL, Dougall WC, Tometsko ME, Roux ER, Teepe MC, DuBose RF, Cosman D, Galibert L. (1997) A homologue of the TNF receptor and its ligand enhance T-cell growth and dendritic-cell function. *Nature.* 390: 175-9.
- [31] Hsu H, Lacey DL, Dunstan CR, Solovyev I, Colombero A, Timms E, Tan HL, Elliott G, Kelley MJ, Sarosi I, Wang L, Xia XZ, Elliott R, Chiu L, Black T, Scully S, Capparelli C, Morony S, Shimamoto G, Bass MB, Boyle WJ. (1999) Tumor necrosis factor receptor family member RANK mediates osteoclast differentiation and activation induced by osteoprotegerin ligand. *Proc Natl Acad Sci USA.* 96: 3540-3545
- [32] Chen G, Sircar K, Aprikian A, Potti A, Goltzman D, Rabbani SA. (2006) Expression of RANKL/RANK/OPG in primary and metastatic human prostate cancer as markers of disease stage and functional regulation. *Cancer.* 107: 289-98.

- [33] Li J, Sarosi I, Yan XQ, Morony S, Capparelli C, Tan HL, McCabe S, Elliott R, Scully S, Van G, Kaufman S, Juan SC, Sun Y, Tarpley J, Martin L, Christensen K, McCabe J, Kostenuik P, Hsu H, Fletcher F, Dunstan CR, Lacey DL, Boyle WJ. (2000) RANK is the intrinsic hematopoietic cell surface receptor that controls osteoclastogenesis and regulation of bone mass and calcium metabolism. *Proc Natl Acad Sci USA* 97: 156-71.
- [34] Hughes AE, Ralston SH, Marken J, Bell C, MacPherson H, Wallace RG, van Hul W, Whyte MP, Nakatsuka K, Hovy L, Anderson DM. (2000) Mutations in TNFRSF11A, affecting the signal peptide of RANK, cause familial expansile osteolysis. *Nat Genet.* 24: 45-8.
- [35] Feng X. (2005) RANKing intracellular signaling in osteoclasts. *IUBMB Life.* 57: 389-95.
- [36] Wong BR, Rho J, Arron J, Robinson E, Orlinick J, Chao M, Kalachikov S, Cayani E, Bartlett 3rd FS, Frankel WN, Lee SY, Cho Y. (1997) TRANCE is a novel ligand of the tumor necrosis factor receptor family that activates c-jun Nterminal kinase in T cells. *J Biol Chem.* 272: 25190-4.
- [37] Wong BR, Josien R, Young Lee S, Vologodskaia M, Steinman RM & Choi Y. (1998) The TRAF family of signal transducers mediates NF- κ B activation by the TRANCE receptor. *J Biol Chem.* 273: 28355-9.
- [38] Galibert L, Tometsko ME, Anderson DM, Cosman D, Dougall WC. (1998) The involvement of multiple tumor necrosis factor receptor (TNFR)-associated factors in the signaling mechanism of receptor activator of NF- κ B, a member of the TNFR superfamily. *J Biol Chem.* 273: 34120-7.
- [39] Lomaga MA, Yeh WC, Sarosi I, Duncan GS, Furlonger C, Ho A, Morony S, Capparelli C, Van G, Kaufman S, van der Heiden A, Itie A, Wakeham A, Khoo W, Sasaki T, Cao Z, Penninger JM, Paige CJ, Lacey DL, Dunstan CR, Boyle WJ, Goeddel DV, Mak TW. (1999) TRAF6 deficiency results in osteopetrosis and defective interleukin-1, CD40, and LPS signaling. *Genes Dev.* 13: 1015-24.
- [40] Wada T, Nakashima T, Oliveira-dos-Santos AJ, Gasser J, Hara H, Schett G, Penninger JM. (2005) The molecular scaffold Gab2 is a crucial component of RANK signaling and osteoclastogenesis. *Nat Med.* 11: 394-9.
- [41] Josien R, Li HL, Ingulli E, Sarma S, Wong BR, Vologodskaia M, Steinman RM, Choi Y. (2000) TRANCE, a TNF family member, enhances the longevity and adjuvant properties of dendritic cells in vivo. *J Exp Med.* 191: 495-502.
- [42] Wong BR, Josien R, Choi Y. (1999) TRANCE is a TNF family member that regulates dendritic cell and osteoclast function. *J Leukoc Biol.* 65: 715-24.
- [43] Schoppet M, Henser S, Ruppert V, Stübiger T, Al-Fakhri N, Maisch B, Hofbauer LC. (2007) Osteoprotegerin expression in dendritic cells increases with maturation and is NF- κ B-dependent. *J Cell Biochem.* 100: 1430-9.
- [44] Kong Y-Y, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, Morony S, Oliveira-dos-Santos AJ, Van G, Itie A, Khoo W, Wakeham A, Dunstan CR, Lacey DL, Mak TW, Boyle WJ, Penninger JM. (1999) OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature.* 397: 315-23.
- [45] Yun TJ, Tallquist MD, Aicher A, Rafferty KL, Marshall AJ, Moon JJ, Ewings ME, Mohaupt M, Herring SW, Clark EA. (2001) Osteoprotegerin, a crucial regulator of bone metabolism, also regulates B cell development and function. *J Immunol.* 166: 1482-91.
- [46] Malyankar UM, Scatena M, Suchland KL, Yun TJ, Clark EA, Giachelli CM. (2000) Osteoprotegerin is an alpha v beta 3-induced, NF- κ B-dependent survival factor for endothelial cells. *J Biol Chem* 275: 20959-62.
- [47] Hofbauer LC, Shui C, Riggs BL, Dunstan CR, Spelsberg TC, O'Brien T, Khosla S. (2001) Effects of immunosuppressants on receptor activator of NF- κ B ligand and osteoprotegerin production by human osteoblastic and coronary smooth muscle cells. *Biochem Biophys Res Commun.* 280: 334-9.
- [48] Mizuno A, Amizuka N, Irie K, Murakami A, Fujise N, Kanno T, Sato Y, Nakagawa N, Yasuda H, Mochizuki S, Gomibuchi T, Yano K, Shima N, Washida N, Tsuda E, Morinaga T, Higashio K, Ozawa H. (1998) Severe osteoporosis in mice lacking osteoclastogenesis inhibitory factor/osteoprotegerin. *Biochem Biophys Res Commun.* 247: 610-5.
- [49] Hak AE, Pols HA, van Hemert AM, Hofman A, Witteman JC. (2000) Progression of aortic calcification is associated with metacarpal bone loss during menopause: a population-based longitudinal study. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 20: 1926-31.
- [50] Kado DM, Browner WS, Blackwell T, Gore R, Cummings SR. (2000) Rate of bone loss is associated with mortality in older women: a prospective study. *J Bone Miner Res.* 15: 1974-80.
- [51] Browner WS, Lui LY, Cummings SR. (2001) Associations of serum osteoprotegerin levels with diabetes, stroke, bone density, fractures, and mortality in elderly women. *J Clin Endocrinol Metab.* 86: 631-7.
- [52] Price PA, June HH, Buckley JR, Williamson MK. (2001) Osteoprotegerin inhibits artery calcification induced by warfarin and by vitamin D. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 21: 1610-6.
- [53] Min H, Morony S, Sarosi I, Dunstan CR, Capparelli C, Scully S, Van G, Kaufman S, Kostenuik PJ, Lacey DL, Boyle WJ, Simonet WS. (2000) Osteoprotegerin reverses osteoporosis by inhibiting endosteal osteoclasts and prevents vascular calcification by blocking a process resembling osteoclastogenesis. *J Exp Med.* 192: 463-74.
- [54] Price PA, Faus SA, Williamson MK. (2001) Bisphosphonates alendronate and ibandronate inhibit artery calcification at doses comparable to those that inhibit bone resorption. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 21: 817-824.
- [55] Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Spelsberg TC, Riggs BL. (1999) Estrogen stimulates gene expression and protein production of osteoprotegerin in human osteoblastic cells. *Endocrinology.* 140: 4367-70.
- [56] Yano K, Tsuda N, Kobayashi F, Kobayashi F, Goto M, Harada A, Ikeda K, Higashio K, Yamada Y. (1999) Immunological Characterization of Circulating Osteoprotegerin/osteoclastogenesis inhibitory factor: increased serum concentrations in postmenopausal women with osteoporosis. *J Bone Miner Res.* 14: 518-27.
- [57] Bekker PJ, Holloway D, Nakanishi A, Arrighi M, Leese PT, Dunstan CR. (2001) The effect of a single dose of osteoprotegerin in postmenopausal women. *J Bone Miner Res.* 16: 348-60.
- [58] Honore P, Luger NM, Sabino MC, Schwei MJ, Rogers SD, Mach DB, O'Keefe PF, Ramnaraine ML, Clohisey DR, Mantyh PW. (2000) Osteoprotegerin blocks bone cancer-induced skeletal destruction, skeletal pain and pain-related neurochemical reorganization of the spinal cord. *Nat Med.* 6: 521-8.
- [59] Oyajobi BO, Anderson DM, Traianedes K, Williams PJ, Yoneda T, Mundy GR. (2001) Therapeutic efficacy of a soluble receptor activator of nuclear factor κ B IgG Fc fusion protein in suppressing bone resorption and hypercalcemia in a model of humoral hypercalcemia of malignancy. *Cancer Res.* 61: 2572-8.
- [60] Dunstan CR. (2000) Osteoprotegerin and osteoprotegerin ligand mediate the local regulation of bone resorption. *Endocrinologist.* 10: 18-21.
- [61] Bekker PJ, Holloway DL, Rasmussen AS, Murphy R, Martin SW, Leese PT, Holmes GB, Dunstan CR, DePaoli AM. (2004) A single-dose placebo-controlled study of AMG 162, a fully human monoclonal antibody to RANKL, in postmenopausal women. *J Bone Miner Res.* 19: 1059-66.
- [62] Body JJ, Facon T, Coleman RE, Lipton A, Geurs F, Fan M, Holloway D, Peterson MC, Bekker PJ. (2006) A study of the biological receptor activator of nuclear factor- κ B ligand inhibitor, denosumab, in patients with multiple myeloma or bone metastases from breast cancer. *Clin Cancer Res.* 12: 1221-8.