

Praca oryginalna • Original Article

Osteoprotegeryna, RANKL i PSA u chorych na raka stercza z przerzutami do kośćca

Osteoprotegerin RANKL, and PSA in prostate cancer

Urszula Rychlik, Jadwiga Tarapacz, Janusz Jaszczyński*, Jan Kanty Kulpa

Zakład Analityki i Biochemii Klinicznej, *Klinika Chirurgii Onkologicznej, Centrum Onkologii, Oddział w Krakowie

Streszczenie

Wprowadzenie: W diagnostyce i monitorowaniu leczenia przerzutów do kośćca podejmowane są próby wykorzystania różnych produktów metabolizmu tkanki kostnej, w tym osteoprotegeryny oraz RANKL. Podjęto próbę oceny kształtowania się stężenia tych dwóch glikoprotein oraz PSA, testosteronu całkowitego i biodostępnego u chorych na raka stercza w zależności od wyników badania scyntygraficznego kośćca. Materiał: Badania OPG, RANKL, PSA, testosteronu, SHBG i albuminy wykonano przed badaniem scyntygraficznym kośćca u 95 chorych na raka stercza uprzednio nie leczonych hormonalnie oraz w grupie referencyjnej 26 zdrowych mężczyzn i 30 z łagodnym rozrostem gruczołu. Wyniki: U chorych na raka stercza z dodatnim wynikiem badania scyntygraficznego kośćca stężenie PSA, OPG i wartości stosunku OPG/RANKL były istotnie wyższe a stężenie i odsetkowa zawartość biodostępnego testosteronu istotnie niższe aniżeli u chorych bez przerzutów. U chorych z przerzutami do kośćca nie stwierdzano istotnych różnic w poziomie badanych wskaźników w zależności od stadium zaawansowania. Wnioski: U chorych na raka stercza z dodatnim wynikiem badania scyntygraficznego wyższe stężenia OPG oraz wartości stosunku OPG/RANKL aniżeli u chorych z ujemnym wynikiem tego badania przemawiają za dominacją procesów formowania i osteoblastycznym charakterem przerzutów. W grupie chorych na raka stercza z odsetkową zawartością biodostępnego testosteronu niższą od 49 % i dodatnim wynikiem badania scyntygraficznego kośćca istotnie wyższe stężenia PSA, OPG i wartości OPG/RANKL mogą sugerować udział w mechanizmach rozwoju przerzutów do kośćca ograniczeń w dostępności testosteronu.

Summary

Introduction: In diagnosis and monitoring treatment of bone metastases, there are making an attempts of using various products of bone tissue metabolism, among others osteoprotegerin and RANKL. There was made an attempt of evaluation of forming the concentration of this two glycoproteins as well as PSA, total and bioavailable testosterone in patients with prostatic carcinoma, depending on bone scintigraphy results. Material: Measurements: research of OPG, RANKL, PSA, testosterone, SHBG and albumins were made before bone scan at 95 patients with prostatic cancer, who did not take hormonal therapy as well as in reference group of 26 healthy men and 30 with benign prostatic hyperplasia. Results: In prostatic carcinoma patients with positive bone scan, the concentration of PSA, OPG and OPG/RANKL ratio were significantly higher and concentration as well as percentage of bioavailable testosterone were significantly lower than in patients without metastases. In patients with bone metastases there were not find any significant differences in level of testing markers depending on advanced stage of disease. Conclusions: In prostatic carcinoma patients with positive bone scintigraphy, the higher concentration of OPG and OPG/ RANKL ratio then in patients with negative scintigraphy seems to confirm domination of forming processes and osteoblastic character of metastases. Higher concentration of PSA, OPG and OPG/ RANKL ratio in group of prostatic cancer patients with percentage contents of bioavailable testosterone lower than 49% and positive scintigraphy, may suggest the participation of hormonal status changes in mechanism of bone metastases forming.

Słowa kluczowe: rak stercza, PSA, osteoprotegeryna, RANKL, biodostępny testosteron

Key words: prostate cancer, PSA, osteoprotegerin, RANKL, bioavailable testosterone

Wstęp

W Polsce podobnie jak w większości rozwiniętych krajów na świecie od szeregu lat obserwuje się tendencję do wzrostu liczby zachorowań na raka stercza. Stopniowe wydłużanie się w ostatnim pięćdziesięcioleciu średniej życia ludzi może w znacznym stopniu tłumaczyć wzrost liczby zachorowań; częstość zachorowań na raka stercza wzrasta wyraźnie wraz z wiekiem. Historia naturalna raka stercza różni się od innych nowotworów, zazwyczaj choroba rozwija się powoli, czas podwojenia liczby komórek nowotworowych oceniany jest na $2,4 \pm 0,4$ lat. W początkowym okresie nowotwór ograniczony jest do gruczołu, w dalszym etapie może przechodzić poza torebkę gruczołu, naciekać otaczające go tkanki w obrębie miednicy mniejszej, tworzyć przerzuty w węzłach chłonnych i odległych narządach, szczególnie w kościach [9, 23].

W diagnostyce jak i monitorowaniu przebiegu a także leczenia przerzutów nowotworowych do kośćca metodami z wyboru są różne techniki obrazowania, zwłaszcza zaś badania radiologiczne i scyntygraficzne. Czułość i swoistość diagnostyczna tych metod nie jest w pełni satysfakcjonująca, a ponadto koszt badań, konieczność posiadania pracowni spełniających wiele wymagań z zakresu ochrony przed promieniowaniem jonizującym, wysokospecjalistycznej aparatury oraz pewne ograniczenia odnośnie możliwości wielokrotnego powtarzania tego typu badań w stosunkowo krótkich odstępach czasu, skłaniają do poszukiwania innych wskaźników i metod diagnostycznych. Jedną z dziedzin oferującą potencjalnie znaczne możliwości w tym zakresie wydaje się być diagnostyka biochemiczna [5].

Przedmiotem szczególnego zainteresowania w diagnostyce przerzutów do kośćca u chorych na raka stercza była użyteczność wyników oznaczeń swoistego antygenu sterczowego (PSA). Badania zależności pomiędzy prawdopodobieństwem stwierdzenia w scyntygrafii przerzutów do kości a stężeniem PSA wykazały, że stężenie markera niższe od 10 ng/ml ma bliską 100% ujemną wartość predykcyjną dla wykluczenia obecności przerzutów do kośćca u chorych na raka stercza uprzednio nie leczonych hormonalnie, zwłaszcza z nowotworem o niezbyt dużych rozmiarach i wysoko zróżnicowanym [24, 25].

Od szeregu lat podejmowane są również próby wykorzystania w diagnostyce przerzutów nowotworowych do kości badań różnych biochemicznych wykładników metabolizmu tkanki kostnej, cyklicznie przebiegających procesów resorpcji i formowania [11, 21]. W trakcie tych procesów uwalnianych jest do krążenia szereg składników tkanki kostnej, substratów jak i produktów metabolizmu. W warunkach fizjologicznych zbilansowanie procesów resorpcyjnych i formowania jest podstawowym elementem decydującym o integralności tkanki kostnej. Ocenia się, że w ciągu roku w ustroju dorosłego człowieka przebudowie ulega ok. 10 % całkowitej masy kostnej, przy czym dla kości zbitej obrót wynosi ok. 4 % zaś dla kości gąbczastej ok. 29%. Procesy przebudowy kości dokonują się przez całe życie, przebiegają wieloetapowo - kontrolowana przez osteokla-

sty aktywacja procesów destrukcyjnych, erozja macierzy mineralnej i następowe wypełniania powstałych ubytków w procesach formowania kości w których aktywna rola przypisywana jest osteoblastom. Bezpośrednie oddziaływania pomiędzy osteoblastami/komórkami podścieliska szpiku kostnego i komórkami linii monocytarno-makrofagowej są warunkiem niezbędnym dla inicjacji osteoklastogenezy. W procesach różnicowania osteoklastów, ich aktywacji, regulacji długości życia i spełnianych funkcji postuluje się udział szeregu hormonów, czynników wzrostu i cytokin a m.in. PTH, witaminy D₃, PTHrP, prostaglandyny E2, tyroksyny, IL-11, a także receptora aktywującego jądrowy czynnik NF-κB (RANK), ligandu dla tego receptora (RANKL) i osteoprotegeryny (OPG), której przypisywana jest funkcja kompetycyjnego receptora dla RANKL. Ekspresję RANK wykazano w komórkach linii monocytarno-makrofagowej, prekursorach osteoklastów i osteoklastach, limfocytach B i T, komórkach dendrytycznych, fibroblastach i komórkach śródbłonna naczyniowego. RANKL wytwarzany jest natomiast przez linię osteoblastów, komórki podścieliska szpiku kostnego, niedojrzałe limfocyty T, fibroblasty, komórki nabłonkowe i może być uwalniany do krążenia. Osteoprotegeryna (OPG) występuje w postaci rozpuszczalnego homodimeru, a zdolnością jej wytwarzania cechują się komórki podścieliska, szpiku kostnego, komórki dendrytyczne, śródbłonna, limfoidalne, fibroblasty, monocyty, limfocyty B i T a także megakariocyty. OPG spełnia swoje funkcje w hamowaniu procesów różnicowania, regulacji długości życia prekursorów osteoklastów poprzez wiązanie RANKL, ale także może wiązać TRAIL, hamując w ten sposób apoptozę komórek. Triadzie RANK/RANKL/OPG przypisuje się kluczową rolę w regulacji procesów przebudowy kośćca, różnicowania osteoklastów i realizacji ich funkcji życiowych. Prawidłowy przebieg tych procesów jest w znacznej mierze zależny od równowagi pomiędzy RANKL i OPG, za pewnego rodzaju jej wykładnik uznaje się wartość stosunku stężenia RANKL/OPG [15, 17]. Względna przewaga RANKL nad OPG (podwyższony stosunek RANKL/OPG) wiąże się z nasileniem procesów resorpcji, natomiast przewaga OPG nad RANKL (obniżony stosunek RANKL/OPG) znajduje swój wyraz w zahamowaniu tych procesów i nasileniu procesów formowania.. Wpływ na ekspresję genów kodujących te trzy glikoproteiny wywiera szereg cytokin, czynników wzrostu, białek morfogenetycznych i hormonów [2, 7, 12, 17, 21, 26].

Rozwój przerzutów nowotworowych prowadzi do drastycznego zaburzenia tego stanu równowagi, dochodzi do niszczenia tkanki kostnej i zastępowania jej przez komórki nowotworowe. Komórki nowotworowe cechuje zdolność wzmożonej syntezy szeregu czynników wzrostu, cytokin, prostaglandyn, enzymów i hormonów, które mogą wykazywać działanie auto- i parakrynnne na procesy przebudowy tkanki kostnej [14, 15, 26, 29, 32]

Celem podjętych badań była ocena zależności pomiędzy wynikiem badania scyntygraficznego kośćca a stężeniem

osteoprotegeryny, RANKL, PSA oraz odsetkową zawartością bioaktywnego testosteronu u chorych na raka stercza uprzednio nie leczonych hormonalnie.

Material i metody

Badania stężenia PSA, osteoprotegeryny (OPG), RANKL, testosteronu całkowitego (tTEST), globuliny wiążącej hormony płciowe (SHBG) oraz albuminy przeprowadzono u 95 uprzednio nie leczonych hormonalnie chorych na raka stercza w różnych stadiach zaawansowania procesu chorobowego, zakwalifikowanych do badania scyntygraficznego kośćca. Ten sam panel badań biochemicznych wykonano w grupie referencyjnej składającej się ze zdrowych mężczyzn i chorych na gruczolaka stercza (n = 56) U wszystkich chorych rozpoznanie kliniczne było potwierdzone badaniem mikroskopowym materiału uzyskanego drogą biopsji. Dla każdego z badanych wyliczono stosunek stężenia OPG/RANKL oraz stężenie i odsetkową zawartość biodostępnego testosteronu na podstawie wyników oznaczeń stężenia całkowitego testosteronu, SHBG i albuminy [33].

Oznaczenia osteoprotegeryny i RANKL wykonywano metodą enzymoimmunochemiczną (ELISA) stosując zestawy odczynnikowe firmy Biomedica Medizinprodukte GmbH i dokonując pomiarów przy użyciu czytnika płytek. Stężenie PSA oznaczano metodą MEIA korzystając z zestawów odczynnikowych i analizatora immunochemicznego AxSym firmy Abbott Laboratories. Oznaczenia testosteronu wykonywano metodą elektrochemiluminescencyjną przy użyciu zestawów odczynnikowych i analizatora immunochemicznego ELECSYS 2010 firmy Roche Diagnostics, a SHBG - metodą immuradiometryczną, wykorzystując zestawy firmy Orion Diagnostics. Stężenie albuminy wyliczano na podstawie pomiarów densytometrycznych elektroforegramów białek surowicy krwi oraz stężenia białka całkowitego, oznaczanego

metodą biuretową.

Wyniki opracowano statystycznie przy użyciu programu Statistica 7, w ocenie istotności różnic wykorzystując nieparametryczny test Manna, a dla oceny zależności rachunek korelacji wg Pearsona. Ocena użyteczności diagnostycznej uzyskanych wyników przeprowadzono na podstawie analizy przebiegu krzywych ROC i istotności różnic pól powierzchni pod tymi krzywymi w oparciu o test Manna (MedCalc).

Wyniki

U chorych na raka stercza z wynikiem badania scyntygraficznego nie potwierdzającym obecności przerzutów do kośćca (ujemny wynik badania scyntygraficznego) w porównaniu do grupy referencyjnej stwierdzono istotnie wyższe stężenie PSA oraz OPG, przy braku różnic w zakresie stężenia RANKL, testosteronu całkowitego i biodostępnego testosteronu oraz wartościach OPG/RANKL i odsetkowej zawartości biodostępnego testosteronu. W grupie chorych na raka stercza ze stwierdzanymi w badaniu scyntygraficznym przerzutami do kośćca (dodatni wynik badania scyntygraficznego) obserwowano istotnie wyższe stężenie PSA, OPG, wartości stosunku OPG/RANKL oraz istotnie niższe stężenie i odsetkową zawartość biodostępnego testosteronu aniżeli w grupie referencyjnej, przy braku różnic w pozostałych wskaźnikach. W grupie chorych z dodatnim wynikiem badania scyntygraficznego w porównaniu do chorych bez przerzutów do kośćca obserwowano istotnie wyższe stężenie PSA, OPG, wartości stosunku OPG/RANKL oraz istotnie niższą zawartość odsetkową biodostępnego testosteronu, przy słabiej zaznaczonej tendencji do niskich stężeń tej frakcji i braku istotnych różnic w stężeniu RANKL i testosteronu całkowitego (tab. I).

Analiza przebiegu krzywych ROC wykazała, że u chorych

Tabela I.

Poziomy analizowanych parametrów w grupie referencyjnej (REF) i u pacjentów z rakiem stercza wyselekcjonowanych pod względem wyniku badania scyntygraficznego kośćca (SC).

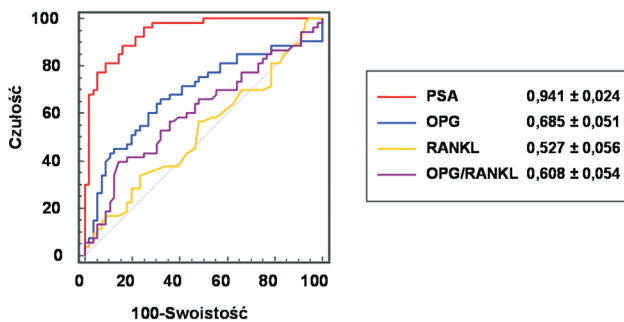
Parametr	REF	Rak stercza		REF vs. SC [-] p =	REF vs. SC [+] p =	SC [-] vs. SC [+] p =
		SC [-]	SC [+]			
PSA [ng/ml]	Mediana	2,23	13,27	0,0001	0,0001	0,00010
	Zakres	0,22 – 26,26	2,00 – 694,25			
OPG [pg/ml]	Mediana	43,72	59,16	0,0009	0,0001	0,0279
	Zakres	21,20 – 178,46	5,36 – 239,46			
RANKL[pg/ml]	Mediana	4,45	4,60	NS	NS	NS
	Zakres	1,70 – 9,80	2,20 – 14,80			
OPG/RANKL	Mediana	10,4	12,8	NS	0,0002	0,0181
	Zakres	2,9 – 39,5	1,1 – 56,8			
tTEST [nmol/l]	Mediana	14,96	15,69	NS	NS	NS
	Zakres	6,00 – 26,16	7,19 – 28,32			
bioTEST [nmol/l]	Mediana	7,22	6,83	NS	0,0023	NS
	Zakres	3,03 – 14,30	3,19 – 15,00			
bioTEST [%]	Mediana	49,2	45,9	NS	0,0001	0,0024
	Zakres	24,4 – 77,6	23,6 – 71,5			

na raka stercza z ujemnym wynikiem badania scyntygraficznego pole powierzchni dla PSA jest istotnie większe aniżeli pola dla OPG, a to z kolei jest istotnie większe aniżeli pola dla RANKL, czy stosunku OPG/RANKL, pomiędzy którymi nie obserwowano istotnych różnic (ryc. 1). Dla grupy chorych z dodatnimi wynikami badania scyntygraficznego kośćca utrzymywała się podobna hierarchia istotności różnic pomiędzy polami powierzchni, jednak wartości tych pól były wyraźnie większe, a ponadto istotna statystycznie była również różnica w polach pomiędzy wartościami stosunku OPG/RANKL i stężeniem RANKL (ryc. 2). Analiza pól powierzchni pod krzywymi ROC wykreślonymi dla grupy z dodatnim wynikiem badania scyntygraficznego kośćca względem grupy chorych bez przerzutów wykazała, że tylko wyniki oznaczeń stężenia PSA mogą być przydatne w diagnostyce różnicowej obu tych grup chorych (ryc. 3).

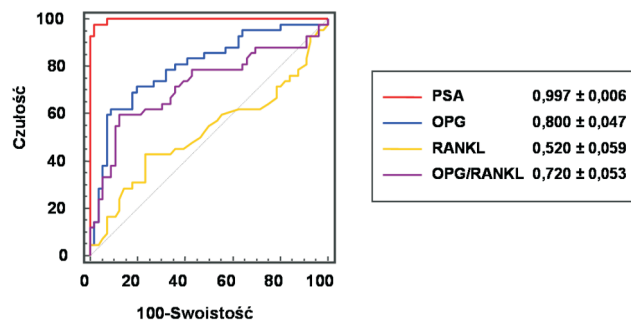
Ocena kształtowania się stężenia badanych wskaźników w zależności od zaawansowania była możliwa do przeprowadzenia tylko w grupie chorych na raka stercza z dodatnim wynikiem badania scyntygraficznego i nie wykazała istotnych różnic w poziomie badanych wskaźników pomiędzy chorymi w stadium [T1 + T2] i w stadium [T3 + T4] (tab. II).

W badanej grupie chorych na raka stercza obserwowano istotne odwrotne zależności pomiędzy stężeniem PSA a stężeniem testosteronu całkowitego ($r = -0,274$ $p = 0,007$) testosteronu biodostępnego ($r = -0,352$ $p = 0,0001$) oraz jego zawartością odsetkową ($r = -0,276$ $p = 0,007$) a także dodatnią zależność pomiędzy stężeniem PSA i wartościami stosunku OPG/RANKL (ryc. 4), przy czym te zależności były silniej zaznaczone u chorych z dodatnim wynikiem badania scyntygraficznego kośćca.

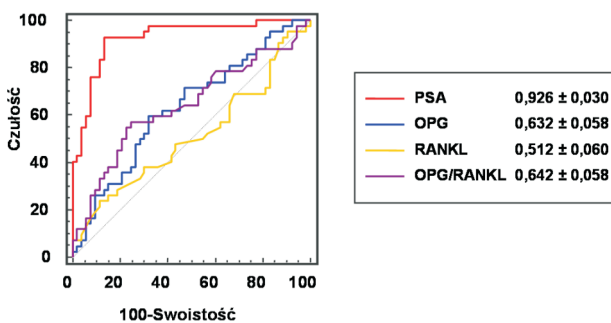
Analiza kształtowania się poziomów badanych wskaźników w zależności od wyniku badania scyntygraficznego kośćca w grupach chorych na raka stercza wydzielonych ze względu na odsetkową zawartość biodostępnego testosteronu - przyjmując jako wartość różnicującą medianę odsetkowej zawartości biodostępnego testosteronu w grupie referencyjnej ($\leq 49\%$ vs. $> 49\%$) - wykazała w grupie z niższą od 49% zawartością biodostępnego testosteronu istotnie wyższe stężenie PSA i OPG oraz wartości stosunku OPG/RANKL. W grupie chorych z odsetkową zawartością biodostępnego testosteronu wyższą od 49 % tylko stężenie PSA było istotnie wyższe u chorych z dodatnim wynikiem scyntygrafii kośćca w porównaniu do chorych bez przerzutów (tab. III).



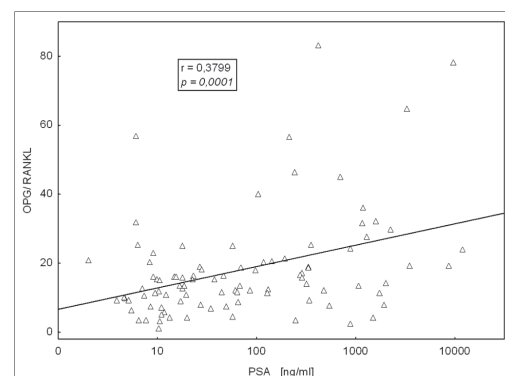
Rycina 1. Użyteczność diagnostyczna (krzywe ROC i wartości AUC) PSA, OPG, RANKL i współczynnika OPG/ RANKL u chorych na raka stercza z ujemnym wynikiem badania scyntygraficznego kośćca względem grupy referencyjnej.



Rycina 2. Użyteczność diagnostyczna (krzywe ROC i wartości AUC) PSA, OPG, RANKL i współczynnika OPG/ RANKL u chorych na raka stercza z dodatnim wynikiem badania scyntygraficznego kośćca względem grupy referencyjnej.



Rycina 3. Użyteczność diagnostyczna (krzywe ROC i wartości AUC) PSA, OPG, RANKL i współczynnika OPG/ RANKL u chorych na raka stercza z dodatnim wynikiem badania scyntygraficznego kośćca względem chorych na raka stercza z ujemnym wynikiem badania scyntygraficznego kośćca.



Rycina 4. Zależność między PSA a współczynnikiem OPG/RANKL u chorych na raka stercza.

Tabela II.

Poziomy analizowanych parametrów w grupach pacjentów z rakiem stercza i dodatnim wynikiem scyntygrafii w zależności od stopnia zaawansowania klinicznego.

Parametr		T1 + T2	T3 + T4	p =
PSA [ng/ml]	Mediana	309,10	378,43	NS
	Zakres	7,71 – 11891,66	19,83 – 8736,00	
OPG [pg/ml]	Mediana	75,42	73,59	NS
	Zakres	18,64 – 203,62	32,54 – 398,92	
RANKL [pg/ml]	Mediana	4,40	5,18	NS
	Zakres	1,67 – 13,07	1,60 – 15,47	
OPG/RANKL	Mediana	18,5	18,0	NS
	Zakres	3,5 – 78,3	2,4 – 83,1	
tTEST [nmol/l]	Mediana	15,70	15,57	NS
	Zakres	5,21 – 22,01	8,23 – 23,32	
bioTEST [nmol/l]	Mediana	6,13	6,34	NS
	Zakres	1,83 – 8,30	2,68 – 15,70	
bioTEST [%]	Mediana	35,4	35,0	NS
	Zakres	20,4 – 56,4	20,9 – 67,7	

Tabela III.

Poziomy analizowanych parametrów w grupach pacjentów z rakiem stercza w zależności od poziomu bioaktywnego testosteronu i wyniku badania scyntygraficznego kośćca (SC).

		bioTEST ≤ 49%		p =	bioTEST > 49%		p =
		SC [-]	SC [+]		SC [-]	SC [+]	
PSA [ng/ml]	Mediana	14,83	446,60	0,0000	10,71	210,36	0,0001
	Zakres	4,62 – 694,25	7,71 – 11891,66		2,00 – 44,42	57,70 – 2004,83	
OPG [pg/ml]	Mediana	58,74	76,43	0,0410	63,18	71,76	NS
	Zakres	5,36 – 239,46	18,64 – 203,62		17,92 – 181,82	36,82 – 398,92	
RANKL [pg/ml]	Mediana	4,60	4,60	NS	5,00	4,93	NS
	Zakres	2,20 – 14,80	1,60 – 15,47		2,60 – 8,80	2,58 – 6,46	
OPG/RANKL	Mediana	13,6	19,0	0,0422	11,6	13,2	NS
	Zakres	1,1 – 45,1	2,4 – 78,3		3,5 – 56,8	8,7 – 83,1	
tTEST [nmol/l]	Mediana	16,66	15,59	NS	12,83	15,52	NS
	Zakres	8,63 – 28,32	5,21 – 23,32		7,19 – 26,71	12,86 – 23,24	

Dyskusja

Szereg obserwacji klinicznych wskazuje na znaczne różnice w umiejscowieniu przerzutów w zależności od typu nowotworu. Do częstych lokalizacji przerzutów nowotworowych należą m.in. płuca, wątroba, węzły chłonne, kości, mózg. Uważa się że istotne znaczenie mają w tym względzie uwarunkowania hemodynamiczne, kierunek przepływu krwi; przerzuty powstają w pierwszym zespole kapilarnych naczyń krwionośnych napotkanym przez komórki nowotworowe, które znalazły się w krążeniu tj. w płucach dla nowotworów umiejscowionych w zasięgu żyły głównej i w wątrobie dla znajdujących się w zasięgu żyły wrotnej. Wsuwa się jednak opinie odnośnie istnienia również innych mechanizmów decydujących o umiejscowieniu wtórnego ogniska. Na powierzchni komórek nowotworowych przedostających się do krwiobiegu, zakłada się istnienie swojego rodzaju adresowego kodu antygenowego, wykazującego swoiste powinowactwo do cząsteczek adhezyjnych na wewnętrznej powierzchni naczyń krwionośnych w docelowej tkance/narządzie. Wśród wielu czynników mogących mieć wpływ na

lokalizację przerzutów zwraca się również uwagę na wysoką aktywność metaboliczną tkanki/narządu.

O ile pierwotne nowotwory kości należą do stosunkowo rzadkich to kości jest relatywnie częstym miejscem przerzutów raka piersi, płuca, nerek, tarczycy, stercza a także szeregu nowotworów limfatycznych i krwi, które cechuje w tym zakresie wyraźny osteotropizm. Relatywnie często przerzuty są zlokalizowane w kręgosłupie, kościach miednicy, czaszki, proksymalnych fragmentach kości długich [1, 3, 4, 13].

Rozwój przerzutów nowotworowych do kości prowadzi do drastycznych zmian równowagi pomiędzy RANKL i OPG. Cytokiny i ich receptory, czynniki wzrostu, metaloproteinazy a także hormony lub substancje hormono-podobne (m.in., IL-1, IL-6, IL-8, IL-11, RANKL, OPG GM-CSF, EGF, TGF-β, TNF, VEGF, PDGF, IFG-1, MMP1, MMP2, MMP3, IGFBP3, PGE2, kolagenazy, katepsyny D, PTH i PTH-podobne białka), wytwarzane przez komórki przerzutów powodują zaburzenia tego stanu równowagi, wykazując działanie auto i parakryne, zmieniają mikrośrodowisko kości. Równocześnie obecność nowotworu i wytwarzanych i uwalnianych

do krążenia przez jego komórki różnych substancji wywiera działanie układowe na procesy obrotu kostnego [6, 7, 12, 19]. Elementem pogłębiającym zaburzenia, zwłaszcza w późniejszym okresie rozwoju przerzutów mogą być zaburzenia unaczynienia tkanki kostnej, postępujący proces jej niedokrwienia, ogniska martwicy.

Czynniki wytwarzane i uwalniane do krążenia przez komórki nowotworowe stymulują wytwarzanie przez osteoblasty i komórki podścieliska szpiku kostnego RANKL, który łącząc się z receptorem RANK obecnym na komórkach linii monocytarno-makrofagowej, inicjuje w obecności M-CSF, powstawanie preosteoklastów, ich różnicowanie do osteoklastów, a w dalszych etapach aktywację osteoklastów. Efektem działania aktywnych osteoklastów, zmian mikrośrodowiska kości, jest nasilenie procesów resorpcji w tkance kostnej [28]. Równocześnie dochodzi do uwalniania z macierzy kostnej cytokin, czynników wzrostu, białek macierzy kostnej, które mogą działać jako czynniki stymulujące proliferację komórek nowotworowych i w efekcie dochodzi do intensyfikacji procesów niszczenia tkanki kostnej [7, 26].

Nowotwory kości podobnie jak i przerzuty do kości większości nowotworów o różnej lokalizacji narządowej prowadzą do znacznego nasilenia procesów destrukcji, mają charakter osteolityczny (szpiczak mnogi, rak piersi, rak płuca, rak tarczycy, rak nerki, rak trzonu macicy) [16]. Znacznie rzadziej w wyniku rozwoju przerzutów dochodzi do stymulacji procesów formowania kości - np. ma to miejsce w raku stercza - przy czym zazwyczaj towarzyszy im jednak wzrost nasilenia procesów osteolizy i w pewnym stopniu przerzuty mają charakter mieszany.

W przeciwieństwie do raka piersi, przerzuty raka stercza do kośćca mają zasadniczo charakter osteoblastyczny. Badania histomorfotyczne potwierdzają jednak znaczący udział osteoklastów w rozwoju osteoblastycznych przerzutów [24]. Ocenia się, że ok. 20% przerzutów raka stercza zawiera składowe lityczne. Przez długi czas dyskutowano kwestie, czy przy przerzutach raka stercza do kości nasilenie procesów formowania jest wyrazem wzrostu nowotworu, czy też powstawanie nowej tkanki kostnej decyduje o progresji nowotworu [23]. Efekty zahamowania rozwoju przerzutów osiągnięte przy podawaniu radiofarmaceutyków znakowanych strontem-89, lub samarem, gromadzących się wybiórczo w miejscach zwiększonej aktywności osteoblastów i syntezy nowej macierzy kostnej jednoznacznie wskazują, że inhibicja osteoblastów wywiera bezpośredni efekt hamujący progresję nowotworu. Równocześnie próby terapii pochodnymi bifosfonianów wykazały, że zahamowanie aktywności osteoklastów prowadzi do powodowanej hormonoterapią utraty tkanki kostnej, ale nie dochodzi do osłabienia progresji nowotworu. Wskazuje to na drugorzędową rolę osteoklastów w progresji nowotworu. Wśród czynników modulujących aktywność osteoblastów wyodrębnia się dwie grupy. Do pierwszej zalicza się czynniki wykazujące bezpośredni wpływ na funkcje osteoblastów a m.in. białka morfogenetyczne kości (BMP's) TGF- β 1 i TGF- β 2, IGF1, FGF, PDGF. Do drugiej grupy na-

leżą czynniki wykazujące pośrednie działanie, modyfikujące mikrośrodowisko, takie jak np. VEGF. Komórki raka stercza posiadają nie tylko zdolność wzmożonego wytwarzania szeregu z tych czynników ale również innych, które w warunkach fizjologicznych nie są związane z procesami przebudowy kośćca - np. aktywatora plazminogenu typu urokinazy (uPA) czy swoistego antygenu sterczowego (PSA) - ale pośrednio stymulują proliferację osteoblastów, hydrolizując białko typu 3 wiążące IGF a także wytwarzane przez komórki nowotworowe PTHrP, związane z indukcją procesów resorpcji. W komórkach przerzutów raka stercza do kości stwierdza się wzmożoną ekspresję zarówno OPG jak i RANKL, a także podwyższone stężenie tego kompetycyjnego receptora w osoczu chorych, szczególnie w zaawansowanych stadiach choroby. Stężenie RANKL pozostaje natomiast na poziomie spotykanym u chorych na gruczolaka stercza, czy zdrowych mężczyzn, a wartości stosunku RANKL/OPG są istotnie niższe. Wysokie stężenia OPG obserwowane u chorych na raka stercza mogą być związane nie tylko z funkcją tej glikoproteiny w procesach osteoklastogenezy, ale również jako inhibitora zależnego od TNF czynnika indukującego apoptozę (TRAIL). Potwierdzeniem takiej sugestii może być obserwowana w badaniach własnych korelacja pomiędzy stężeniem PSA i OPG u chorych na raka stercza. Wskazywać to może na relacje pomiędzy wzrostem stężenia OPG a progresją procesu nowotworowego [10].

Podejmowane były próby wykorzystania wyników oznaczeń stężenia OPG i RANKL w diagnostyce różnicowej chorych na raka stercza z przerzutami do kośćca i chorych bez przerzutów. Pierwsze wyniki były nader optymistyczne, sugerowały, że oznaczenia tej glikoproteiny cechują się wyższą czułością diagnostyczną od PSA [18, 19]. Jednak nie znalazły one szerszego grona naśladowców, ani potwierdzenia w wynikach prac innych badaczy. Można to wiązać zarówno z brakiem standaryzacji metod oznaczeń obu tych czynników wzrostu jak i faktem, że zmiany stężenia OPG i RANKL słabo manifestują się we wczesnych fazach rozwoju przerzutów [8, 10]. Większą użytecznością w diagnostyce różnicowej dla potwierdzenia przerzutów w raku stercza cechują się oznaczenia PSA u chorych uprzednio nie leczonych hormonalnie jak i szczególnie markerów procesów formowania [11]. Natomiast oznaczenia stężenia OPG i RANKL, odzwierciedlając nasilenie zaburzeń procesów metabolicznych w tkance kostnej, do jakich dochodzi w następstwie rozwoju przerzutów, mogą wносить istotne informacje odnośnie zaburzeń procesów obrotu kostnego oraz charakteru przerzutów. Może to okazać się przydatne w aspekcie oceny reakcji chorych na leczenie, jednak wymaga to dalszych, szeroko zakrojonych badań, weryfikujących ich użyteczność w tym względzie.

Wnioski:

1. U chorych na raka stercza ze stwierdzoną badaniem scyntygraficznym obecnością przerzutów do kośćca rysuje się tendencja do niższej odsetkowej zawartości biodostępnego testosteronu.

2. U chorych na raka stercza z dodatnim wynikiem badania scyntygraficznego wyższe stężenia OPG oraz wartości stosunku OPG/RANKL aniżeli u chorych z ujemnym wynikiem tego badania przemawiają za dominacją procesów formowania i osteoblastycznym charakterem przerzutów.
3. W grupie chorych na raka stercza z odsetkową zawartością biodostępnego testosteronu niższą od 49 % i dodatnim wynikiem badania scyntygraficznego kośćca istotnie wyższe stężenia PSA, OPG i wartości OPG/RANKL mogą sugerować udział w mechanizmach rozwoju przerzutów do kośćca ograniczeń w dostępności testosteronu.

Piśmiennictwo

1. Aznavoorian S, Murphy AN, Stetler-Stevenson WG, Liotta LA: Molecular aspects of tumor cell invasion and metastasis. *Cancer* 1993; 71: 1368-1383.
2. Bell NH. RANK ligand and the regulation of skeletal remodeling. *J Clin Invest* 2003; 111: 1120-1122.
3. Berruti A., Piovesan A., Torta M., Raucci C.A., Gorzegno G., Paccotti P., Dogliotti L., Angeli A.: Biochemical evaluation of bone turnover in cancer patients with bone metastases: relationship with radiograph appearances and disease extension. *Br J Cancer* 1996; 73: 1581-1587.
4. Bichler KH, Petri E, Hub A, Kleinknecht S, Heidenreich A: Investigations on bone metabolism of urological tumors forming metastases. *Urol Invest* 1996; 56: 61-68.
5. Bombardieri E, Martinetti A, Miceli R, Mariani L, Castellani MR, Seregni E: Can bone metabolism markers be adopted as an alternative to scintigraphic imaging in monitoring bone metastases from breast cancer? *Ur J Nucl Med* 1997; 24: 1349-1355.
6. Boyce BF, Xing L. Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis Res Ther* 2007; 9 suppl. 1: 1-7.
7. Boyce BF, Yoneda T, Guise TA. Factors regulating the growth of metastatic cancer in bone. *Endocrine-related Cancer* 1999; 6: 333-347.
8. Brown JM, Vessella RL, Kostenuik PJ, Dunstan CR, Lange PH, Corey E. Serum osteoprotegerin levels are increased in patients with advanced prostate cancer. *Clin Cancer Res* 2001; 7: 2977-2983.
9. Coleman RE. Skeletal complications of malignancy. *Cancer* 1997; 80: 1588-1594
10. Corey E, Brown LG, Kiefer JA, Quinn JE, Pitts TEM, Blair JM, Vesella RL. Osteoprotegerin in prostate cancer bone metastasis. *Cancer Res* 2005; 65: 1710-1718.
11. de la Piedra C, Castro-Errecaborde NA, Traba ML, Mendez-Davila C, Garcia-Moreno C, de Acuria LR, Rodriguez-Molina J. Bone remodeling markers in the detection of bone metastases in prostate. *Clin Chim Acta*, 2003; 331: 45-53.
12. Dougall WC, Chaisson M. The RANK/RANKL/OPG triad in cancer-induced bone disease. *Cancer Metastasis Rev* 2006; 25:541-549.
13. Eyre DR: Biochemical markers of bone metabolism. *Clin Lab* 1995; 41: 429-430.
14. Goldring SR, Goldring MB. Eating bone or adding it: the Wnt pathway decides. *Nature Med* 2007; 13: 133-134.
15. Guise TA, Mohammad KS, Clines G, Stebbins EG, Wong DH, Higgins LS, Vessella R, Corey E, Padalecki S, Suva L, Chirgwin JM. Basic mechanisms responsible for osteolytic and osteoblastic bone metastases. *Clin Cancer Res* 2006; 12 suppl. 20: 6213s-6216s.
16. Guise TA. Molecular mechanisms of osteolytic bone metastases. *Cancer* 2000; 88: 2892-2898.
17. Hofbauer LC, Khosla S, Dunstan CR, Lacey DL, Bouyle WJ, Riggs L. The roles of osetoprotegerin and osteoprotegerin ligand in the paracrine regulation of bone resorption. *J Bone Mineral Res* 2000; 15: 2-12.
18. Jung K, Lein M, Stephan C, von Hosslin K, Semjonow A, Sinha P, Loening S, Schonorr D. Comparison of 10 serum bone turnover markers in prostate carcinoma patients with bone metastatic spread: Diagnostic and prognostic implications. *Int J Cancer* 2004; 111: 783-791.
19. Jung K, Stephan C, Semjonow A, Lein M, Schnorr D, Loening SA. Serum osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor κ B as indicators of disturbed osteoclastogenesis in patients with prostate cancer. *J Urol* 2003; 2302-2305.
20. Kwan TS, Padrines M, Theoleyre S, Heymann D, Fortun Y. IL-6, RANKL, TNF-alpha/IL-1: interrelations in bone resorption pathophysiology. *Cytokine Growth Factors Rev* 2004; 15:49-60.
21. Lambertus WJ, Westerhuis JM, Delaere KP. Diagnostic value of some biochemical bone markers for the detection of bone metastases in prostate cancer. *Eur J Clin Chem Clin Biochem* 1997; 35:89-94.
22. Loberg RD, Logothetis CJ, Keller ET, Pienta KJ. Pathogenesis and treatment of prostate cancer bone metastases: Targeting to lethal phenotype. *J Clin Oncol* 2006; 23: 8232-8241.
23. Logothetis CJ, Lin S-H. Osteoblasts in prostate cancer metastasis to bone. *Nature Rev Cancer* 2005; 5: 21-28
24. Miller PD, Eardley J, Kirby RS. Prostate specific antigen and bone scan correlation in the staging and monitoring of patients with prostate cancer. *Br J Urol* 1992; 70: 295-302.
25. Partin AW, Oesterling JE, The clinical usefulness of prostate specific antigen: update 1994. *J Urol* 1994; 152: 1358-1368.
26. Roodman GD. Mechanisms of bone metastasis. *N Eng J Med* 2004; 350: 1655-1664.
27. Scher HI, Heller G. Clinical state in prostate cancer toward a dynamic model of disease progression. *Urology* 2000; 55: 323-327.
28. Suda T, Takahashi N, Udagawa N, Jimi E, Gillespie MT, Martin TJ. Modulation of osteoclast differentiation and function by the new members of tumor necrosis factor receptor and ligand family. *Endocrine Rev* 1999; 20: 345-367.
29. Syed F, Khosla S. Mechanisms of sex steroid effects on bone. *Biochem Biophys Res Comm* 2005; 328: 688-696.
30. Szulc P, Hofbauer LC, Heufelder AE, Roth S, Delmas PD. Osteoprotegerin serum levels in men: Correlation with age, estrogen, and testosterone status. *J Clin Endocrinol Metab* 2001; 86: 3162-3165.
31. Theoleyre S, Wittrant Y, Tat SK, Fortun Y, Redini F, Heymann D. The molecular triad OPG/RANK/RANKL: involvement in the orchestration of pathophysiological bone remodeling. *Cytokine Growth Factor Rev* 2004; 15: 49-60
32. Vela I, Gregory L, Gardiner EM, Clements JA, Nicol DL. Bone and prostate cancer cell interactions in metastatic prostate cancer. *BJU Internat* 2006; 99: 735-742.
33. Vermeulen A, Verdonck L, Kaufman JM. A critical evaluation of simple methods for the estimation of free testosterone in serum. *J Clin Endocrinol Metab* 1999; 84: 3666-3672.

Adres Autorów:

Zakład Analityki I Biochemii Klinicznej
Centrum Onkologii, Oddział w Krakowie
31-115 Kraków, ul. Garncarska 11
e-mail: z5rychli@cyfronet.krakow.pl

(Praca wpłynęła do Redakcji: 2010.03.22)

Praca przekazana do opublikowania: 2010.05.25)