

Received: 16.11.2017  
Accepted: 10.01.2019  
Published: 13.03.2019

## Sklerostyna, periostyna i mikroRNA jako potencjalne markery osteoporozy

### Sclerostin, periostin and microRNA as potential markers of osteoporosis

Jakub Mielnik, Elżbieta Świętochowska, Zofia Ostrowska

Katedra i Zakład Biologii Medycznej i Molekularnej, Wydział Lekarski z Oddziałem Lekarsko-Dentystycznym w Zabrze, Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach

#### Streszczenie

W ostatnich latach duże nadzieje wiąże się z możliwością wykorzystania oznaczeń tzw. nowoczesnych wskaźników obrotu kostnego w rozpoznawaniu, diagnostyce przebiegu oraz przewidywaniu wystąpienia powikłań chorób metabolicznych kości, zwłaszcza osteoporozy. Dotychczas wyodrębniono kilka przydatnych diagnostycznie markerów obrotu kostnego, wśród których na uwagę zasługują: PINP i CTx. Jednak w wielu badaniach podkreśla się, że ich zastosowanie w diagnostyce osteoporozy jest dość ograniczone, ze względu na ich zmienność międzypersonalną i wewnątrzpersonalną, nieswoistość tkankową, niemożność oceny poszczególnych przedziałów tkanki kostnej oraz możliwość oceny aktywności metabolicznej jedynie osteoblastów i/lub osteoklastów, z pominięciem osteocytów. W artykule przedstawiono dane wskazujące na potencjalną przydatność oznaczeń: sklerostyny, związanej przede wszystkim z aktywnością metaboliczną osteocytów; periostyny, jako wskaźnika aktywności metabolicznej okostnej oraz mikroRNA, jako grupy swoistych markerów wczesnego wykrywania osteoporozy. Uważa się, że każdy z wymienionych wskaźników może być potencjalnym markerem predykcyjnym złamań osteoporotycznych - sklerostyna u pacjentów z cukrzycą typu 2, periostyna, zwłaszcza w pozakręgowych złamaniach u kobiet w wieku pomenopauzalnym, a mikroRNA we wczesnej predykcji tych złamań. W wielu badaniach podkreśla się jednak pewne ograniczenia, związane z ich wykorzystaniem w diagnostyce osteoporozy. Niejednoznaczne wyniki przedstawionych badań mogą być spowodowane przede wszystkim: doбором populacji, liczebnością grup, rodzajem badanych złamań oraz czasem trwania obserwacji. Obiektywną decyzję będzie można podjąć wówczas, gdy odpowiednia liczba standaryzowanych i niezależnych badań, umożliwi wykluczenie lub potwierdzenie przydatności każdego z nich w praktyce klinicznej.

#### Słowa kluczowe:

sklerostyna · periostyna · mikroRNA · osteoporoza

#### Summary

In recent years, people have had high hopes for the possibility of using measurements of the so-called modern bone turnover markers in diagnosis, diagnostics of the course and the prediction of the occurrence of complications of bone metabolic diseases, especially osteoporosis. So far, several diagnostic markers of bone turnover have been identified, particular importance attached to PINP and CTx. However, many studies have highlighted that their use in the diagnosis of osteoporosis is rather limited due to their inter-individual and intra-individual variability, tissue non-specificity, the inability to evaluate individual bone tissue compartments, and the ability to assess metabolic activity of only osteoblasts and/or osteoclasts without

osteocytes. The data presented in the thesis indicates the potential usefulness of sclerostin measurements, primarily associated with metabolic activity of osteocytes, periostin, as the indicator of metabolic activity of periosteum and microRNAs as the group of specific markers in the early detection of osteoporosis. All of the above-mentioned candidates could possibly become a predictor of osteoporotic fractures: sclerostin in patients with type 2 diabetes; periostin, especially in non-vertebral fractures in postmenopausal women and microRNA in early prediction of these fractures. However, many of the studies underline some of the limitations associated with their use in the diagnosis of osteoporosis. Ambiguous results of the presented studies may be primarily due to population selection, population size, type of fractures and duration of the observation itself. An objective judgement will be made when an adequate number of standardized and independent studies will allow for the exclusion or validation of each of them in clinical practice.

**Keywords:** sclerostin · periostin · microRNA · osteoporosis

**GICID** 01.3001.0013.0924  
**DOI:** 10.5604/01.3001.0013.0924  
**Word count:** 3006  
**Tables:** –  
**Figures:** –  
**References:** 61

**Adres autora:** Jakub Mielnik, Katedra i Zakład Biologii Medycznej i Molekularnej w Zabrze Śląski Uniwersytet Medyczny w Katowicach, 41-808 Zabrze, ul. Jordana 19; e-mail: kuba.mielnik@gmail.com

**Wykaz skrótów:** **BMD** – gęstość mineralna kości (bone mineral density), **BMI** – wskaźnik masy ciała (body mass index), **BMP2** – białko morfogenetyczne kości 2 (bone morphogenetic protein 2), **BTM** – markery obrotu kostnego (bone turnover markers), **CTx** – C-terminalny usieciowany telopeptyd łańcucha <1 kolagenu typu I (collagen type I crosslinked C-telopeptide), **IFCC** – Międzynarodowa Federacja Chemii Klinicznej (International Federation of Clinical Chemistry), **IGF-1** – insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (insulin-like growth factor 1), **IL** – interleukina (interleukin), **IOP** – Międzynarodowa Fundacja Osteoporozy (Internal Osteoporosis Foundation), **miRNA** – mikroRNA (microRNA), **PDGF** – płytkopochodny czynnik wzrostu (platelet-derived growth factor), **PINP** – N-końcowy propeptyd prokolagenu typu I (procollagen I aminoterminal propeptide), **POSTN** – periostyna (periostin), **PTH** – parathormon (parathormone), **SCL** – sklerostyna (sclerostin), **TGF-β** – transformujący czynnik wzrostu β (transforming growth factor β), **TNF-a** – czynnik martwicy nowotworów (tumor necrosis factor a), **T1DM** – cukrzyca typu 1 (diabetes mellitus type 1), **T2DM** – cukrzyca typu 2 (diabetes mellitus type 2), **VF** – złamania kręgow (vertebral fracture), **WHO** – Światowa Organizacja Zdrowia (World Health Organisation).

## WSTĘP

Tkanka kostna podlega stałej przebudowie, pozostając w stanie równowagi dynamicznej między procesami resorpcji i kościotworzenia. Gdy dochodzi do przewagi procesów resorpcji nad kościotworzeniem, bilans staje się ujemny i wtedy może dojść do rozwoju osteoporozy, objawiającej się ubytkiem masy kostnej i zwiększoną łamliwością kości [16]. Dotyczy to przede wszystkim osób powyżej 50 roku życia, zwłaszcza kobiet w wieku pomenopauzalnym (osteoporoza pierwotna). Osteoporoza może się rozwinąć także w przebiegu chorób przewlekłych, np. cukrzycy, chorób reumatologicznych, czy chorób nerek (osteoporoza wtórna) [25, 30, 41]. Występują wówczas tzw. złamania osteoporotyczne, z których najczęstszymi są złamania kości biodrowej, kręgow i nadgarstków [1, 29]. Szacuje się, że na świecie osteoporoza występuje u około 200 milionów mężczyzn i kobiet,

z czego u 20-25% osób stwierdza się powikłania w postaci złamań, co w połączeniu z wysokimi kosztami leczenia, czyni osteoporozę chorobą cywilizacyjną [14].

Do rozpoznawania, diagnostyki przebiegu oraz przewidywania wystąpienia powikłań osteoporozy, wykorzystuje się m.in. biochemiczne markery obrotu kostnego (BTM). Grupa ekspertów Międzynarodowej Fundacji Osteoporozy (IOP), we współpracy z ekspertami Międzynarodowej Federacji Chemii Klinicznej (IFCC), na podstawie najnowszych badań, opracowała wytyczne, zgodnie z którymi rekomendowany jest pomiar N-końcowego propeptydu prokolagenu typu I (PINP) i C-terminalnego usieciowanego telopeptydu łańcucha a1 kolagenu typu I (CTx), jako wiarygodnych biochemicznych markerów kościotworzenia i resorpcji kostnej [54]. W wielu badaniach podkreśla się jednak, że ich wykorzystanie w diagnostyce osteoporozy ma pewne ograniczenia, do których należy zaliczyć:

- nieswoistość tkankową,
- niemożność oceny poszczególnych przedziałów tkanki kostnej,
- możliwość oceny aktywności metabolicznej jedynie w odniesieniu do osteoblastów i/lub osteoklastów, z pominięciem osteocytów.

Najnowsze badania wskazują na główną rolę osteocytów w regulacji przebudowy tkanki kostnej [21]. W ostatnich latach stale rośnie zainteresowanie tzw. nowocześniejszymi markerami obrotu kostnego, związanymi zarówno z dobrze poznanymi mechanizmami regulacji metabolizmu kostnego – układ RANK-RANKL-OPG – jak i z mechanizmami słabiej zbadanymi – szlak sygnałowy Wnt/ $\beta$ -katenina. Tematem niniejszego opracowania jest ocena przydatności trzech potencjalnych markerów kostnych w diagnostyce osteoporozy: sklerostyny, jako markera związanego przede wszystkim z aktywnością metaboliczną osteocytów; periostyny, jako markera aktywności metabolicznej okostnej oraz mikroRNA (miRNA), jako grupy specyficznych markerów wczesnego wykrywania osteoporozy.

## SKLEROSTYNA

Sklerostyna (SCL) jest glikoproteiną wytwarzaną i uwalnianą przede wszystkim przez dojrzałe osteocyty. W niewielkim stopniu ulega ekspresji w całej kości długiej, szpiku kostnym, chrząstce, nerkach, sercu, płucach, trzustce, wątrobie, mięśniach szkieletowych, jak również w łożysku i skórze płodu [48]. Sklerostyna, przez hamowanie szlaku sygnałowego Wnt/ $\beta$ -katenina, ogranicza funkcje osteoblastów, zmniejszając procesy kościotwórcze. Ponadto, działając za pośrednictwem liganda receptora aktywatora czynnika jądrowego- $\kappa$ B (RANKL), wzmacnia aktywność osteoklastów [34, 58]. Pierwsze badania, dotyczące oceny zależności sklerostyny od metabolizmu kostnego u pacjentów ze sklerosteozą wykazały, że obserwowany u tych pacjentów wzrost masy kostnej jest związany z mutacją genu *SOST*, kodującego tę glikoproteinę, co prowadzi do deficytu sklerostyny w organizmie [9]. Późniejsze badania *in vivo* u myszy z delecją genu *SOST*, potwierdziły istnienie tej zależności [33]. Przedstawione wyniki przyczyniły się do podjęcia badań, dotyczących poszukiwania związku między nadmierną ekspresją sklerostyny a ryzykiem rozwoju chorób metabolicznych (ujawniających się jakościowymi i/lub ilościowymi zmianami w obrębie tkanki kostnej), ze szczególnym uwzględnieniem osteoporozy.

## SKLEROSTYNA A OSTEOPOROZA PIERWOTNA

Sklerostyna, w związku z wykazaniem wpływem na tkankę kostną, zyskała miano potencjalnego, nowego markera obrotu kostnego [21]. Badania dowiodły, że istnieje dodatnia zależność między stężeniami sklerostyny a wiekiem pacjentów obu płci, przy czym wyższe stężenia tej glikoproteiny wykazano u płci żeńskiej [39]. Natomiast u kobiet w wieku pomenopauzalnym stwierdzono znamiennej korelację między podwyższonymi stężeniami

sklerostyny a obniżonymi stężeniami parathormonu (PTH) i wolnego estradiolu [37]. Wyniki te przyczyniły się do podjęcia wnikliwych badań u pacjentów w starszym wieku, mających na celu ustalenie przydatności klinicznej oznaczania stężenia sklerostyny w diagnostyce osteoporozy pierwotnej.

Jedno z dotychczasowych największych badań – CEOR, obejmujące kobiety w okresie pomenopauzalnym (powyżej 50 roku życia), wykazało istnienie dodatniej zależności między sklerostyną a ryzykiem złamań, niezależnej od gęstości mineralnej kości (BMD) oraz innych czynników ryzyka (BMI, stopień aktywności fizycznej, podaż wapnia w diecie, stężenie witaminy D we krwi oraz obecność i liczba ostatnich upadków). U kobiet, u których stężenie sklerostyny mieściło się w najwyższym kwartyle, stwierdzono prawie 15-krotne zwiększenie ryzyka złamań, w porównaniu z kobietami, u których stężenie sklerostyny mieściło się w kwartyle najniższym [4]. Wyniki badań u kobiet w wieku  $\geq 65$  lat, potwierdziły istnienie zwiększonego ryzyka złamań kości biodrowej u kobiet, u których stężenie sklerostyny mieściło się w kwartyle najwyższym. Jednak, po uwzględnieniu wieku, wskaźnika masy ciała (BMI) oraz historii wcześniejszych złamań, zależność ta utraciła znamiennej statystyczną [2]. Odmienne wyniki uzyskano w badaniu OFELY, przeprowadzonym u kobiet w wieku pomenopauzalnym. Nie stwierdzono istotnej zależności między stężeniami sklerostyny u tych kobiet a ryzykiem złamań kręgosłupa w czasie 6-letniej obserwacji [22]. Natomiast w badaniu MINOS, obejmującym populację starszych mężczyzn wykazano, że wysokim stężeniom sklerostyny towarzyszyło istotnie mniejsze ryzyko złamań [51].

Niejednoznaczne wyniki opisanych wyżej badań mogą być spowodowane niewystandaryzowanymi warunkami samego badania. Różnice dotyczą przede wszystkim: doboru populacji, liczebności grup, rodzaju badanych złamań oraz czasu trwania obserwacji. Mogą również wynikać z zastosowania do oznaczeń stężenia sklerostyny komercyjnych testów ELISA różniących się pod względem czułości i precyzji. W przypadku badań OFELY i MINOS został do tego celu wykorzystany komercyjny test TECOmedical (Szwecja), a pozostałe badania przeprowadzono testem Biomedica (Austria). Analiza porównawcza wyników jednocześnie przeprowadzonych oznaczeń stężenia sklerostyny w surowicy u 20 pacjentów szpitalnych, 34 osób z chorobami metabolicznymi kości i 10 pacjentów z przewlekłymi chorobami nerek z użyciem testów TECOmedical i Biomedica wykazała wysoce znamiennej korelację ( $r = 0,9$ ;  $p < 0,001$ ) [15]. Średnie stężenia sklerostyny w surowicy były podobne, chociaż czułość testu TECOmedical była mniejsza, a błędy wewnątrzseryjny i międzyseryjny wyższe w porównaniu z testem Biomedica. Natomiast badania Durosier i wsp. [17], przeprowadzone u 187 osób zdrowych z użyciem trzech aktualnie dostępnych komercyjnych testów ELISA: Meso Scale Discovery (USA), Biomedica i TECOmedical wykazały istotne różnice w otrzymanych

wynikach oznaczeń. Stężenie sklerostyny w testach: Meso Scale Discovery wynosiło 37,3 (18,0-69,2) ng/L, Biomedica – 1165,8 (464,0-2296,4) ng/L, a TECO – 513,5 (250,7-950,9) ng/L. Przy czym czułość testu Meso Scale Discovery w porównaniu z testami Biomedica i TECO-medical była największa, a błędy wewnątrzseryjny i międzyseryjny podobne do analogicznych w zestawie TECOmedical. Wykorzystanie sklerostyny, jako predykcyjnego wskaźnika złamań osteoporotycznych, wymaga dokładnej standaryzacji oznaczeń tego białka i zastosowania najlepszego pod względem czułości i precyzji komercyjnego testu ELISA.

## SKLEROSTYNA A OSTEOPOROZA WTÓRNA

Występowanie złamań osteoporotycznych może się także wtórnie wiązać z występowaniem chorób metabolicznych, np. cukrzyca [28, 55]. Cukrzyca wpływa na metabolizm kości – obniża tempo obrotu kostnego – pogarszając zależną od wieku jakość kości. W związku z tym cukrzyca jest obecnie uważana za niezależny czynnik ryzyka złamań w osteoporozie [19]. W zależności od typu cukrzyca zmiany te mają różny charakter. U pacjentów z cukrzycą typu 1 (T1DM) stwierdza się zmniejszone wartości BMD, natomiast u pacjentów z cukrzycą typu 2 (T2DM) wartości BMD są prawidłowe w porównaniu do osób zdrowych. W T1DM obserwuje się prawie 7-krotnie większe ryzyko wystąpienia złamań kości biodrowej, przy 1,4-krotnie większym ryzykiem złamań tej kości w T2DM [55].

Dotychczasowe wyniki badań, dotyczące oceny stężenia sklerostyny u osób z T1DM nie są jednoznaczne. Genari i wsp. [24] wykazali obniżenie stężenia sklerostyny u pacjentów z T1DM w porównaniu do osób zdrowych. Podobne wyniki w oznaczeniach stężenia sklerostyny w T1DM uzyskali Catalano i wsp. [11]. Natomiast Neumann i wsp. [40] stwierdzili zwiększone stężenie sklerostyny u kobiet w okresie przedmenopauzalnym (w średnim wieku: 42 lat), u których czas trwania choroby wynosił 22 lata. Podobne rezultaty uzyskali Starup-Linde i wsp. [50] prowadząc badania u mężczyzn i kobiet z T1DM w wieku powyżej 50 lat. Wykazano ponadto istotną korelację między zwiększonymi stężeniami sklerostyny a zmniejszonym ryzykiem złamań osteoporotycznych u osób z T1DM. Ryzyko wystąpienia złamań u pacjentów ze stężeniami sklerostyny mieszczącymi się w najwyższym tercylu było o 81% mniejsze w porównaniu z pacjentami, u których stężenia tej glikoproteiny mieściły się w tercylu najniższym [50]. Należy jednak podkreślić, że przedstawione badania nie były jednorodne pod względem liczby i wieku pacjentów, a także czasu trwania choroby od ustalenia diagnozy, co może być przyczyną różnic w uzyskiwanych wynikach. Badania przeprowadzone w grupie pacjentów pediatrycznych z T1DM wykazały dodatnią korelację stężenia sklerostyny z niektórymi markerami obrotu kostnego – CTX i OPG – w obu grupach. W podobnych badaniach osób dorosłych, zarówno zdrowych, jak i z T1DM, korelacje te nie zostały odnotowane, wykazując nawet

w jednym z badań, w grupie zdrowych kobiet w okresie pomenopauzalnym, korelację ujemną. Różnice w wynikach tych badań mogą odzwierciedlać różne stany funkcjonalne szkieletu w zależności od wieku – wzrostu kośćca u dzieci i stanu równowagi dynamicznej u dorosłych – a także ograniczenie procesów kościotworzenia u osób starszych, u których sklerostyna może odgrywać istotną rolę [52].

Przeprowadzone dotychczas badania u pacjentów z T2DM wskazują jednoznacznie na zwiększone stężenia sklerostyny w porównaniu z osobami zdrowymi. Stężenia sklerostyny są istotnie wyższe u mężczyzn w porównaniu z kobietami. Wykazano ponadto dodatnią korelację między stężeniami sklerostyny a wartościami BMD oraz czasem trwania choroby u obu płci [4, 20, 23, 24, 50, 60]. Stwierdzono również związek między wysokimi stężeniami sklerostyny a zwiększonym ryzykiem złamań kręgow (VF) u osób obu płci z T2DM w wieku powyżej 50 lat [26, 60]. Występowanie podobnej zależności potwierdziły także inne badania, prowadzone u kobiet w wieku pomenopauzalnym z T2DM. Zaobserwowano również, że największe ryzyko VF występuje u kobiet z wysokimi stężeniami sklerostyny oraz niskimi stężeniami insulinopodobnego czynnika wzrostu 1 (IGF-1) [3]. Najnowsze badania *in vivo* u szczurów wskazują, że hiperglikemia wpływa istotnie na ekspresję sklerostyny w T2DM, powodując jej wzrost, co czyni ją pośrednim czynnikiem predykcyjnym złamań [43]. Pomimo pozytywnych wyników przeprowadzonych badań, należy pamiętać, że na ryzyko wystąpienia złamań osteoporotycznych u pacjentów z T2DM mają także wpływ inne czynniki: płeć, wiek, czas trwania cukrzycy, umiejscowienie złamania i stosowane leczenie. Wykazano, że długi czas trwania choroby, obecność powikłań cukrzycowych, niewystarczająca kontrola glikemii i stosowanie insuliny mogą zwiększać ryzyko wystąpienia złamania [38]. Dlatego dopiero po zbadaniu stężenia sklerostyny w połączeniu z innymi czynnikami ryzyka będzie można sformułować obiektywne wnioski i ustalić możliwość wykorzystania tej glikoproteiny w praktyce klinicznej.

## PERIOSTYNA

Periostyna (POSTN) jest białkiem wydzielanym głównie przez tkanki łączne bogate w kolagen, takie jak: okostna, więzadła przyzębia, ścięgna, zastawki serca, a także skóra [27, 36]. Znaczny wzrost jej ekspresji stwierdza się w czasie ontogenezy, jak również w następstwie obciążenia czynnikami mechanicznymi wymienionych wyżej tkanek [6]. Periostyna podlega licznym regulacjom na poziomie transkrypcji, znajduje się również pod regulacyjnym wpływem parathormonu (PTH), czynników mechanicznych, czynników wzrostu (transformującego czynnika wzrostu  $\beta$  – TGF- $\beta$ , białek morfogenetycznych kości 2 – BMP2), cytokin (czynnika martwicy nowotworów – TNF- $\alpha$ , interleukin – IL-4, -13) [36]. Należy podkreślić, że wiele spośród tych czynników wpływa na metabolizm tkanki kostnej. W kościach, periostyna



wpływa na rekrutację i adhezję komórek progenitorowych ze szpiku kostnego, pobudzając regenerację kości [6]. Badania *in vivo* u myszy wykazały, że delekcja genu *POSTN* upośledza wzrost kości długich i krótkich, zwiększając podatność na złamania [7, 44]. Wyniki przedstawionych badań pozwoliły na sformułowanie teorii, że periostyna wpływa nie tylko na procesy przebudowy kości, ale także na ich kształtowanie i wytrzymałość, co stało się podstawą do podjęcia badań, dotyczących poszukiwania powiązań między periostyną a rozwojem chorób metabolicznych tkanki kostnej.

## PERIOSTYNA A OSTEOPOROZA

Rolę periostyny badano dotąd głównie w związku z onkogenезą. Wyniki niektórych badań wskazują na znaczny wzrost stężenia tego białka w surowicy u pacjentów z rakiem gruczołu krokowego, jelita grubego, przerzutami do kości raka sutka, czy też u pacjentów z niedrobnokomórkowym rakiem płuc [13]. Dalsze badania potwierdziły m.in. wpływ periostyny na tkankę kostną u myszy, co dało solidną podstawę do wykorzystania periostyny jako potencjalnego markera biochemicznego w diagnostyce osteoporozy u ludzi [8, 44, 45].

Pierwsze i jednocześnie największe badanie OFELY, dotyczące kobiet w wieku pomenopauzalnym, w czasie 7-letniego okresu obserwacji, wykazało zwiększone ryzyko wystąpienia złamań u kobiet z wysokimi stężeniami periostyny w surowicy, niezależne od wieku, BMD i klasycznych BTM [45]. Podobne wyniki uzyskali Kim i wsp. [31], prowadząc badania u koreańskich kobiet w wieku pomenopauzalnym. Autorzy skupili się głównie na określeniu zależności między stężeniami periostyny a ryzykiem złamań, nie uwzględniając niezależnych czynników ryzyka, takich jak: wiek, lata od początku menopauzy, palenie tytoniu, spożywanie alkoholu, aktywność fizyczna, czy też dodatni wywiad w kierunku złamań osteoporotycznych u rodziców. W badaniach tych wykazano istotną korelację między podwyższonymi stężeniami periostyny w osoczu u pacjentów ze złamaniami osteoporotycznymi w porównaniu do osób z brakiem złamań. Wyniki, uzyskane po uwzględnieniu BMD kości udowej, różniły się nadal istotnie w porównaniu z grupą kontrolną [31]. Znamiennej zależności między stężeniem periostyny we krwi a BMD zaobserwowano także w najnowszych badaniach, obejmujących kobiety w okresie pomenopauzalnym z ostrymi złamaniami osteoporotycznymi kości biodrowej. Wykazano ponadto znamiennej korelację między stężeniami periostyny a PINP i  $\beta$ -CTX [61]. Natomiast Bonnet i wsp. [5] poddali analizie złamania kręgosłupa i pozakręgosłupa, uzyskując znacznie wyższe stężenia periostyny w krążeniu u osób ze złamaniami pozakręgosłupowymi, nawet po uwzględnieniu czynników ryzyka.

Porównanie uzyskiwanych wyników oznaczeń stężenia periostyny w przedstawionych wyżej badaniach może być utrudnione, ze względu na różnice w zastosowanych metodach oznaczeń tego białka. W badaniach

Rosseau i wsp. [45, 46] oraz Yan i wsp. [61] zastosowano test ELISA (USCN Life Science, Chiny), w którym wykorzystuje się przeciwciała poliklonalne przeciwko domenie FAS-1 genu *POSTN* wykrywające, według zapewnień producenta, wszystkie izoformy periostyny. W pozostałych badaniach wykorzystywano testy ELISA, których metodyka jest oparta na dwóch przeciwciałach monoklonalnych, których czułość i swoistość względem niektórych izoform periostyny nie została jeszcze dokładnie poznana [46]. Należy podkreślić, że periostyna jest markerem nieswoistym tkankowo, zatem jej podwyższone stężenia mogą być związane z aktywnością metaboliczną także innych tkanek [27]. Wykorzystanie izoform swoistych dla okostnej, a także wystandaryzowanie metod oznaczeń, może umożliwić obiektywne określenie przydatności klinicznej periostyny jako markera osteoporozy.

## MikroRNA

MikroRNA (miRNA) tworzą liczną grupę jednoniciowych, endogennych, niekodujących cząsteczek RNA o długości 18-24 nukleotydów. Pełnią główną rolę w regulacji ekspresji genów na poziomie potranskrypcyjnym, obejmując swoim działaniem około 30% ludzkiego genomu [18]. Uczestniczą w wielu ważnych procesach biochemicznych, takich jak: podziały i różnicowanie komórek, apoptoza, a także angiogeneza, czy onkogeneza [47]. Poszczególne miRNA pobudzają różnicowanie komórek przez hamowanie aktywności inhibitorów odpowiednich szlaków sygnałowych (tzw. regulacja „podwójnie negatywna”). W obrębie fizjologicznej tkanki kostnej, niektóre miRNA wykorzystują ten mechanizm w regulacji zarówno osteoblastogenezy (np. miR-218), jak i osteoklastogenezy (np. miR-148a) [53]. Najnowsze badania wykazały ponadto, że miRNA zawarte w egzosomach, transportowanych od komórek tkanki kostnej (osteoblasty, osteoklasty i ich prekursorzy) do komórek docelowych, odgrywają znaczącą rolę w procesach różnicowania osteoklastów i osteoblastów [59]. Stało się to podstawą do rozpoczęcia badań, dotyczących roli miRNA w rozwoju chorób metabolicznych kości, szczególnie osteoporozy, a także do wyselekcjonowania miRNA, które w przyszłości mogłyby być wykorzystywane w praktyce klinicznej.

## MikroRNA A OSTEOPOROZA

Cząsteczki miRNA charakteryzują się dużą stabilnością, nawet w tak trudnych warunkach jak: niskie/wysokie pH, gotowanie, czy też wielokrotnie powtarzane cykle zamrażania/rozmarzania. Ponadto wyniki oznaczeń ich stężenia, uzyskane w próbkach pobranych od różnych pacjentów, w odstępach czasowych (w codziennie lub cotygodniowo powtarzanych badaniach), charakteryzują się dużą czułością i powtarzalnością [12]. Umożliwiło to przeprowadzenie badań, które potwierdziły istotną rolę miRNA w metabolizmie tkanki kostnej i przyczyniły się do rozwoju badań, mających na celu określenie możliwości ich wykorzystania, jako czułych i swoistych markerów stanów patologicznych tkanki kostnej, zwłaszcza osteoporozy.

Pierwsze badania *in vivo* u kobiet w okresie pomenopauzalnym skupiły się na wyselekcjonowaniu miRNA, którego stężenie w krążących monocytach korelowało z obniżonymi wartościami BMD [56]. Spośród 365 różnych miRNA wybrano miR-133a. Wykazano, że u kobiet z niskimi wartościami BMD stężenia miR-133a były znacznie wyższe w porównaniu do kobiet z wysokimi wartościami BMD. Występowanie podobnej korelacji między miR-133a a BMD potwierdziły także badania Li i wsp. [32]. W badaniach tych zaobserwowano również znamienne obniżenie stężeń miR-21-5p u kobiet w wieku pomenopauzalnym, które korelowały z podwyższonymi wartościami BMD. Natomiast Cao i wsp. [10], opierając się na wcześniejszych badaniach [56], przeanalizowali cztery miRNA (miR-27b-3p, miR-422a, miR-151-3p, miR-152-3p), których stężenia zmieniały się nieznacznie w zależności od BMD. Badania te wykazały zwiększoną ekspresję miRNA-422a w krążących monocytach u kobiet w okresie pomenopauzalnym, u których wartości BMD były zmniejszone. Odmienne wyniki uzyskano w badaniach, dotyczących oceny korelacji między miRNA u osób ze złamaniami osteoporotycznymi. Seeliger i wsp. [49] zwrócili uwagę na występowanie zmian w stężeniach miRNA u osób ze złamaniami osteoporotycznymi kości biodrowej, u osób ze złamaniami urazowymi i współistniejącą chorobą zwyrodnieniową stawów. Od każdego pacjenta pobierano do badań próbkę krwi obwodowej oraz próbkę bioptatu tkanki kostnej. U pacjentów ze złamaniami osteoporotycznymi stwierdzono zwiększenie stężeń pięciu miRNA (miR-21, miR-23a, miR-24, miR-25, miR-100, miR-125b) w obydwu badanych materiałach [49]. Natomiast Weilner i wsp. [57] wykazali istotne zmiany w ekspresji sześciu miRNA (miR-10a-5p, miR-10b-5p, miR-133b, miR-22-3p, miR-328-3p i let-7g-5p) w surowicy u kobiet w wieku pomenopauzalnym z ostrymi złamaniami osteoporotycznymi w porównaniu do kobiet zdrowych w podobnym wieku. Badania Panach i wsp. [42] potwierdziły istotną rolę miR-21-5p oraz miR-125b-5p w indukowaniu złamań osteoporotycznych, wskazując dodatkowo na zwiększoną ekspresję miR-122-5p w surowicy pacjentów ze złamaniami osteoporotycznymi w porównaniu do pacjentów z chorobą zwyrodnieniową stawów. Meng i wsp. [35], analizując stężenia 331 różnych miRNA, pobranych z krwi obwodowej kobiet z osteoporozą w porównaniu do kobiet z osteopenią, wyróżnili miR-94-8p, jako potencjalny marker osteoporozy u kobiet w wieku pomenopauzalnym,

Użyteczność omówionych wyżej oznaczeń w diagnostyce osteoporozy jest jak dotąd niewielka. Podstawowe różnice, dotyczące np. rodzaju materiału pobieranego do badań (surowica, krążące monocyty, bioptaty tkanki kostnej), warunków przeprowadzonych badań (obecność złamania, wartości BMD, wiek i płeć pacjentów, ich liczebność oraz dobór grupy kontrolnej), czy też różnych paneli miRNA wykorzystywanych w badaniach, w większości przypadków uniemożliwiają porównanie uzyskanych wyników. Dlatego też, zanim będzie można wykorzystać w praktyce klinicznej którekolwiek z przedstawionych miRNA, niezbędna będzie standaryzacja wszystkich zmiennych oraz przeprowadzenie dalszych badań wśród liczniejszej grupy pacjentów, wykorzystując najlepiej rokujące miRNA. Na podstawie przedstawionych wyżej wyników badań do najlepiej rokujących w tym zakresie miRNA można zaliczyć: miR-21, miR-133a, miR-422a oraz miR-194-8p [10, 32, 35, 56, 57].

## PODSUMOWANIE

Klasyczne markery obrotu kostnego od wielu lat są standardem w ocenie ryzyka złamań osteoporotycznych, monitorowaniu leczenia osteoporozy, a od niedawna stają się pomocne także w diagnostyce. W ostatnich latach znacząco wzrosła intensywność badań nad nowymi markerami, które mogłyby wypełnić luki w wykorzystaniu obecnie stosowanych oraz przyczynić się do dokładniejszego poznania etiologii rozwoju osteoporozy. Szczególne zainteresowanie dotyczy sklerostyny, periostyny i mikroRNA. Większość dostępnych wyników badań wskazuje jednak na pewne ograniczenia, dotyczące ich wykorzystania w praktyce klinicznej, budzące czasem kontrowersje. Każdy z opisanych wyżej kandydatów mógłby w szczególnych sytuacjach stać się markerem predykcyjnym złamań w osteoporozie; sklerostyna u pacjentów z cukrzycą typu 2, periostyna, zwłaszcza w pozakręgowych złamaniami u kobiet w wieku pomenopauzalnym, a miRNA we wczesnej predykcji tych złamań. Jednak określenie potencjału tych markerów w diagnostyce klinicznej osteoporozy pozostaje nadal niewyjaśnione. Obiektywną decyzję będzie można podjąć dopiero wtedy, gdy odpowiednia liczba standaryzowanych i niezależnych badań, umożliwi wykluczenie lub potwierdzenie przydatności każdego z nich do tego celu.

## PIŚMIENICTWO

[1] Åkesson K., Marsh D., Mitchell P.J., McLellan A.R., Stenmark J., Pierroz D.D., Kyer C., Cooper C.: Capture the fracture: a best practice framework and global campaign to break the fragility fracture cycle. *Osteoporos. Int.*, 2013; 24: 2135-2152

[2] Arasu A., Cawthon P.M., Lui L.Y., Do T.P., Arora P.S., Cauley J.A., Ensrud K.E., Comings S.R.: Serum sclerostin and risk of hip fracture in older caucasian women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012; 97: 2027-2032

[3] Ardawi M.S., Akhbar D.H., AlShaikh A., Ahmed M.M., Qari M.H., Rouzi A.A., Ali A.Y., Abdulrafee A.A., Saeda M.Y.: Increased serum sclerostin and decreased serum IGF-1 are associated with vertebral fractures among postmenopausal women with type-2 diabetes. *Bone*, 2013; 56: 355-362

[4] Ardawi M.S., Rouzi A.A., Al-Sibiani S.A., Al-Senani N.S., Qari M.H., Mousa S.A.: High serum sclerostin predicts the occurrence of osteoporotic fractures in postmenopausal women: The Center of Excellence for Osteoporosis Research Study. *J. Bone Miner. Res.*, 2012; 27: 2592-2602

[5] Bonnet N., Biver E., Durosier C., Chevalley T., Rizzoli R., Ferrari S.: Additive genetic effects on circulating periostin contribute to the heritability of bone microstructure. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2015; 100: E1014-E1021

[6] Bonnet N., Garnerio P., Ferrari S.: Periostin action in bone. *Mol. Cell. Endocrinol.*, 2016; 432: 75-82

[7] Bonnet N., Lesclous P., Saffar J.L., Ferrari S.: Zoledronate effects on

- systemic and jaw osteopenias in ovariectomized periostin-deficient mice. *PLoS One*, 2013; 8: e58726
- [8] Bonnet N., Standley K.N., Bianchi E.N., Stadelmann V., Foti M., Conway S.J., Ferrari S.L.: The matricellular protein periostin is required for sost inhibition and the anabolic response to mechanical loading and physical activity. *J. Biol. Chem.*, 2009; 284: 35939-35950
- [9] Brunkow M.E., Gardner J.C., Van Ness J., Paeper B.W., Kovacevich B.R., Prohl S., Skonier J.E., Zhao L., Sabo P.J., Fu Y., Alisch R.S., Gillet L., Colbert T., Tacconi P., Galas D. i wsp.: Bone dysplasia sclerosteosis results from loss of the *SOST* gene product, a novel cysteine knot-containing protein. *Am. J. Hum. Genet.*, 2001; 68: 577-589
- [10] Cao Z., Moore B.T., Wang Y., Peng X.H., Lappe J.M., Recker R.R., Xiao P.: MiR-422a as a potential cellular microRNA biomarker for postmenopausal osteoporosis. *PLoS One*, 2014; 9: e97098
- [11] Catalano A., Pintauro B., Morabito N., Di Vieste G., Giunta L., Bruno M.L., Cucinotta D., Lasco A., Di Benedetto A.: Gender differences in sclerostin and clinical characteristics in type 1 diabetes mellitus. *Eur. J. Endocrinol.*, 2014; 171: 293-300
- [12] Chen X., Ba Y., Ma L., Cai X., Yin Y., Wang K., Guo J., Zhang Y., Chen J., Guo X., Li Q., Li X., Wang W., Zang Y., Wang J. i wsp.: Characterization of microRNAs in serum: a novel class of biomarkers for diagnosis of cancer and other diseases. *Cell Res.*, 2008; 18: 997-1006
- [13] Contié S., Voorzanger-Rousselot N., Litvin J., Clézardin P., Garnero P.: Increased expression and serum levels of the stromal cell-secreted protein periostin in breast cancer bone metastases. *Int. J. Cancer*, 2011; 128: 352-360
- [14] Cooper C., Mitchell P., Kanis J.A.: Breaking the fragility fracture cycle. *Osteoporos. Int.*, 2011; 22: 2049-2050
- [15] Costa A.G., Cremers S., Dworakowski E., Lazaretti-Castro M., Bilezikian J.P.: Comparison of two commercially available ELISAs for circulating sclerostin. *Osteoporos. Int.*, 2014; 25: 1547-1554
- [16] Cummings S.R., Melton L.J.: Epidemiology and outcomes of osteoporotic fractures. *Lancet*, 2002; 359: 1761-1767
- [17] Durosier C., van Lierop A., Ferrari S., Chevalley T., Papapoulos S., Rizzoli R.: Association of circulating sclerostin with bone mineral mass, microstructure, and turnover biochemical markers in healthy elderly men and women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2013; 98: 3873-3883
- [18] Farina N.H., Wood M.E., Perrapato S.D., Francklyn C.S., Stein G.S., Stein J.L., Lian J.B.: Standardizing analysis of circulating MicroRNA. *J. Cell. Biochem.*, 2014; 115: 805-811
- [19] Farr J. N., Khosla S.: Determinants of bone strength and quality in diabetes mellitus in humans. *Bone*, 2016; 82: 28-34
- [20] García-Martín A., Rozas-Moreno P., Reyes-García R., Morales-Santana S., García-Fontana B., García-Salcedo J.A., Muñoz-Torres M.: Circulating levels of sclerostin are increased in patients with type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012; 97: 234-241
- [21] Garnero P.: New developments in biological markers of bone metabolism in osteoporosis. *Bone*, 2014; 66: 46-55
- [22] Garnero P., Sornay-Rendu E., Munoz F., Borel O., Chapurlat R.D.: Association of serum sclerostin with bone mineral density, bone turnover, steroid and parathyroid hormones, and fracture risk in postmenopausal women: the OFELY study. *Osteoporos. Int.*, 2013; 24: 489-494
- [23] Gaudio A., Privitera F., Battaglia K., Torrisi V., Sidoti M.H., Pulvirenti I., Conzonieri E., Tringali G., Fiore C.E.: Sclerostin levels associated with inhibition of the Wnt/ $\beta$ -catenin signaling and reduced bone turnover in type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012; 97: 3744-3750
- [24] Gennari L., Merlotti D., Valenti R., Ceccarelli E., Ruvio M., Pietrini M.G., Capodarca C., Franci M.B., Campagna M.S., Calabrò A., Cataldo D., Stolakis K., Dotta F., Nuti R.: Circulating sclerostin levels and bone turnover in type 1 and type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2012; 97: 1737-1744
- [25] Głuszko P., Lorenc R.: Osteoporoza pierwotna i wtórna. Wskazówki postępowania dla reumatologów. *Reumatologia*, 2012; 50: 370-377
- [26] Heilmeier U., Carpenter D.R., Patsch J.M., Harnish R., Joseph G.B., Burghardt A.J., Baum T., Schwartz A.V., Lang T.F., Link T.M.: Volumetric femoral BMD, bone geometry, and serum sclerostin levels differ between type 2 diabetic postmenopausal women with and without fragility fractures. *Osteoporos. Int.*, 2015; 26: 1283-1293
- [27] Horiuchi K., Amizuka N., Takeshita S., Takamatsu H., Katsuura M., Ozawa H., Toyama Y., Bonewald L.F., Kudo A.: Identification and characterization of a novel protein, periostin, with restricted expression to periosteum and periodontal ligament and increased expression by transforming growth factor  $\beta$ . *J. Bone Miner. Res.*, 1999; 14: 1239-1249
- [28] Janghorbani M., Van Dam R.M., Willett W.C., Hu F.B.: Systematic review of type 1 and type 2 diabetes mellitus and risk of fracture. *Am. J. Epidemiol.*, 2007; 166: 495-505
- [29] Johnell O., Kanis J.A.: An estimate of the worldwide prevalence and disability associated with osteoporotic fractures. *Osteoporos. Int.*, 2006; 17: 1726-1733
- [30] Kanis J.A., McCloskey E.V., Johansson H., Cooper C., Rizzoli R., Reginster J.Y.: European guidance for the diagnosis and management of osteoporosis in postmenopausal women. *Osteoporos. Int.*, 2012; 24: 23-57
- [31] Kim B.J., Rhee Y., Kim C.H., Baek K.H., Min Y.K., Kim D.Y., Ahn S.H., Kim H., Lee S.H., Lee S.Y., Kang M.I., Koh J.M.: Plasma periostin associates significantly with non-vertebral but not vertebral fractures in postmenopausal women: Clinical evidence for the different effects of periostin depending on the skeletal site. *Bone*, 2015; 81: 435-441
- [32] Li H., Wang Z., Fu Q., Zhang J.: Plasma miRNA levels correlate with sensitivity to bone mineral density in postmenopausal osteoporosis patients. *Biomarkers*, 2014; 19: 553-556
- [33] Li X., Ominsky M.S., Niu Q.T., Sun N., Daugherty B., D'Agostin D., Kurahara C., Gao Y., Cao J., Gong J., Asuncion F., Barrero M., Warming-ton K., Dwyer D., Stolina M. i wsp.: Targeted deletion of the sclerostin gene in mice results in increased bone formation and bone strength. *J. Bone Miner. Res.*, 2008; 23: 860-869
- [34] Li X., Zhang Y., Kang H., Liu W., Liu P., Zhang J., Harris S.E., Wu D.: Sclerostin binds to LRP5/6 and antagonizes canonical Wnt signaling. *J. Biol. Chem.*, 2005; 280: 19883-19887
- [35] Meng J., Zhang D., Pan N., Sun N., Wang Q., Fan J., Zhou P., Zhu W., Jiang L.: Identification of miR-194-5p as a potential biomarker for postmenopausal osteoporosis. *Peer J.*, 2015; 3: e971
- [36] Merle B., Garnero P.: The multiple facets of periostin in bone metabolism. *Osteoporos. Int.*, 2012; 23: 1199-1212
- [37] Mirza F.S., Padhi I.D., Raisz L.G., Lorenzo J.A.: Serum sclerostin levels negatively correlate with parathyroid hormone levels and free estrogen index in postmenopausal women. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2010; 95: 1991-1997
- [38] Moayeri A., Mohamadpour M., Mousavi S. F., Shirzadpour E., Mohamadpour S., Amraei M.: Fracture risk in patients with type 2 diabetes mellitus and possible risk factors: a systematic review and meta-analysis. *Ther. Clin. Risk Manag.*, 2017; 13: 455-468
- [39] Mödder U.I., Hoey K.A., Amin S., McCreedy L.K., Achenbach S.J., Riggs B.L., Melton L.J.3rd., Khosla S.: Relation of age, gender, and bone mass to circulating sclerostin levels in women and men. *J. Bone Miner. Res.*, 2011; 26: 373-379
- [40] Neumann T., Hofbauer L.C., Rauner M., Lodes S., Kästner B., Franke S., Kiehnopf M., Lehmann T., Müller U.A., Wolf G., Hamann C., Sämann A.: Clinical and endocrine correlates of circulating sclerostin levels in patients with type 1 diabetes mellitus. *Clin. Endocrinol.*, 2014; 80: 649-655
- [41] Ostrowska Z.: Menopauza, otyłość a stan kośćca. *Postępy Hig. Med. Dośw.*, 2009; 63: 39-46

- [42] Panach L., Mifsut D., Tarín J.J., Cano A., García-Pérez M.Á.: Serum circulating microRNAs as biomarkers of osteoporotic fracture. *Calcif. Tissue Int.*, 2015; 97: 495-505
- [43] Pereira M., Gohin S., Lund N., Hvid A., Smitham P.J., Oddy M.J., Reichert I., Farlay D., Roux J.P., Cleasby M.E., Chenu C.: Sclerostin does not play a major role in the pathogenesis of skeletal complications in type 2 diabetes mellitus. *Osteoporos. Int.*, 2017; 28: 309-320
- [44] Rios H., Koushik S.V., Wang H., Wang J., Zhou H.M., Lindsley A., Rogers R., Chen Z., Maeda M., Kruzynska-Frejtak A., Feng J.Q., Conway S.J.: Periostin null mice exhibit dwarfism, incisor enamel defects, and an early-onset periodontal disease-like phenotype. *Mol. Cell. Biol.*, 2005; 25: 11131-11144
- [45] Rousseau J.C., Sornay-Rendu E., Bertholon C., Chapurlat R., Garnero P.: Serum periostin is associated with fracture risk in postmenopausal women: a 7-year prospective analysis of the OFELY study. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2014; 99: 2533-2539
- [46] Rousseau J.C., Sornay-Rendu E., Bertholon C., Garnero P., Chapurlat R.: Serum periostin is associated with prevalent knee osteoarthritis and disease incidence/progression in women: the OFELY study. *Osteoarthritis Cartilage*, 2015; 23: 1736-1742
- [47] Satoh J., Tabunoki H.: Comprehensive analysis of human microRNA target networks. *BioData Min.*, 2011; 4: 17
- [48] Sebastian A., Loots G.G.: Transcriptional control of *Sost* in bone. *Bone.*, 2017; 96: 76-84
- [49] Seeliger C., Karpinski K., Haug A.T., Vester H., Schmitt A., Bauer J.S., van Griensven M.: Five freely circulating miRNAs and bone tissue miRNAs are associated with osteoporotic fractures. *J. Bone Miner. Res.*, 2014; 29: 1718-1728
- [50] Starup-Linde J., Lykkeboe S., Gregersen S., Hauge E.M., Langdahl B.L., Handberg A., Vestergaard P.: Bone structure and predictors of fracture in type 1 and type 2 diabetes. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2016; 101: 928-936
- [51] Szulc P., Bertholon C., Borel O., Marchand F., Chapurlat R.: Lower fracture risk in older men with higher sclerostin concentration: a prospective analysis from the MINOS study. *J. Bone Miner. Res.*, 2013; 28: 855-864
- [52] Tsentidis C., Gourgiotis D., Kossiva L., Marmarinos A., Doulgeraki A., Karavanaki K.: Sclerostin distribution in children and adolescents with type 1 diabetes mellitus and correlation with bone metabolism and bone mineral density. *Pediatr. Diabetes*, 2016; 17: 289-299
- [53] van Wijnen A.J., van de Peppel J., van Leeuwen J.P., Lian J.B., Stein G.S., Westendorf J.J., Oursler M.J., Im H.J., Taipaleenmäki H., Hesse E., Riester S., Kakar S.: MicroRNA functions in osteogenesis and dysfunctions in osteoporosis. *Curr. Osteoporos. Rep.*, 2013; 11: 72-82
- [54] Vasikaran S., Eastell R., Bruyère O., Foldes A.J., Garnero P., Griesmacher A., McClung M., Morris H.A., Silverman S., Trenti T., Wahl D.A., Cooper C., Kanis J.A.: Markers of bone turnover for the prediction of fracture risk and monitoring of osteoporosis treatment: a need for international reference standards. *Osteoporos. Int.*, 2011; 22: 391-420
- [55] Vestergaard P.: Discrepancies in bone mineral density and fracture risk in patients with type 1 and type 2 diabetes – a meta-analysis. *Osteoporos. Int.*, 2007; 18: 427-444
- [56] Wang Y., Li L., Moore B.T., Peng X.H., Fang X., Lappe J.M., Recker R.R., Xiao P.: MiR-133a in human circulating monocytes: a potential biomarker associated with postmenopausal osteoporosis. *PLoS One*, 2012; 7: e34641
- [57] Weilner S., Skalicky S., Salzer B., Keider V., Wagner M., Hildner F., Gabriel C., Dovjak P., Pietschmann P., Grillari-Voglauer R., Grillari J., Hackl M.: Differentially circulating miRNAs after recent osteoporotic fractures can influence osteogenic differentiation. *Bone*, 2015; 79: 43-51
- [58] Wijenayaka A.R., Kogawa M., Lim H.P., Bonewald L.F., Findlay D.M., Atkins G.J.: Sclerostin stimulates osteocyte support of osteoclast activity by a RANKL-dependent pathway. *PLoS One*, 2011; 6: e25900
- [59] Xie Y., Chen Y., Zhang L., Ge W., Tang P.: The roles of bone-derived exosomes and exosomal microRNAs in regulating bone remodelling. *J. Cell. Mol. Med.*, 2017; 21: 1033-1041
- [60] Yamamoto M., Yamauchi M., Sugimoto T.: Elevated sclerostin levels are associated with vertebral fractures in patients with type 2 diabetes mellitus. *J. Clin. Endocrinol. Metab.*, 2013; 98: 4030-4037
- [61] Yan J., Liu H.J., Li H., Chen L., Bian Y.Q., Zhao B., Han H.X., Han S.Z., Han L.R., Wang D.W., Yang X.F.: Circulating periostin levels increase in association with bone density loss and healing progression during the early phase of hip fracture in chinese older women. *Osteoporos. Int.*, 2017; 28: 2335-2341

---

Autorzy deklaruja brak potencjalnych konfliktow interesow.