

Klinický význam komponentov systému RANK/RANKL/OPG u reumatoidnej artritídy

Clinical perspective of RANK/RANKL/OPG system components in rheumatoid arthritis

Andrea Gažová¹, Martin Kužma², Zdenko Killinger², Juraj Payer², Ján Kyselovič²

¹Ústav farmakológie a klinickej farmakológie, LF UK, Bratislava, Slovensko

²V. interná klinika, LF UK a UNB, Nemocnica Ružinov, Bratislava, Slovensko

✉ **PharmDr. Andrea Gažová, PhD.** | aandreagazova@gmail.com | www.uniba.sk

Received | Doručeno do redakce | Doručené do redakcie 14. 11. 2018

Accepted | Prijato po recenzii | Prijaté po recenzii 3. 12. 2018

Abstrakt

Reumatoidná artritída (RA) je chronické, systémové, zápalové autoimunitné ochorenie primárne postihujúce synoviálne tkanivo. Nedostatočná kontrola zápalovej aktivity vedie nielen k deštrukcii kĺbov, ale aj k zvýšenej mortalite pacientov, na ktorej sa významnou mierou podieľa postihnutie kardiovaskulárneho systému. Pochopenie kľúčovej úlohy cytokínového systému, zodpovedného za rozvoj zápalového procesu RA, objasnenie patofyziologických súvislostí s kardiovaskulárnym systémom by mohlo viesť k detekcii markerov schopných predikovať kardiovaskulárne riziko u pacientov s RA.

Kľúčové slová: kardiovaskulárny systém – NF-κB signálna dráha – RANK/RANKL/OPG – reumatoidná artritída

Abstract

Rheumatoid arthritis (RA) is a chronic, systemic, inflammatory autoimmune disease affecting mainly synovial tissue as its primary target. Uncontrolled disease activity causes not only joint destruction but is associated with increased mortality mainly due to cardiovascular involvement. Understanding the role of cytokines in pathophysiology of RA and their link to cardiovascular system could contribute to cardiovascular risk markers detection in RA patients.

Key words: cardiovascular system – NF-κB signal system – RANK/RANKL/OPG – rheumatoid arthritis

Reumatoidná artritída a zlyhanie kardiovaskulárneho systému

Reumatoidná artritída (RA) je chronické, systémové, zápalové autoimunitné ochorenie primárne postihujúce prevažne synoviálne kĺby, avšak vysoká zápalová aktivita ochorenia spôsobuje invalidizáciu pacienta a zvýšenú mortalitu. Ochorenie postihuje približne 1 % dospeljej populácie na celom svete. Najčastejšou príčinou predčasnej smrti u pacientov s RA sú choroby kardiovaskulárneho, respiračného systému a infekcie [1].

Postihnutie kardiovaskulárneho (KV) systému je desaťročie známou komplikáciou RA a túto skutočnosť potvr-

dzujú dokonca aj štúdie uskutočnené ešte v 50. rokoch minulého storočia. Z ich záverov vyplýva, že RA spôsobuje predčasnú smrť, pričom 50 % úmrtí je spôsobené práve zlyhaním KV-systému [1,2]. Vo všeobecnosti náhla kardiovaskulárna smrť predstavuje približne 50 % zo všetkých KV-úmrtí, avšak u pacientov s RA je 2-krát častejšia v porovnaní s jej výskytom u pacientov s diabetes mellitus (DM). Najvyššie riziko KV-mortality je u pacientov s vysokými titrami reumatoidného faktora resp. anticitrulínových protilátok a vysokou zápalovou aktivitou a dlhším trvaním ochorenia. Klasické rizikové faktory KV-mortality u pacientov s RA nedokážu dostatočne ob-

jasniť vysokú KV-mortalitu. V súčasnosti máme k dispozícii dôkazy o vplyve chronického zápalového procesu na funkciu KV-systému. Tieto patologické zmeny vedú k vzniku koronárnej choroby srdca (Coronary Artery Disease – CAD), elektrofyziologickým abnormalitám zahŕňajúce myokardiálnu repolarizáciu (QTc interval, rozptyl QT) a autonómne dysfunkcie (variabilita srdcového rytmu), ktoré sú prepojené so zápalovým procesom. Detailnejšie pochopenie patologických procesov RA v posledných dvoch dekádach viedlo aj ku kľúčovým zmenám v terapeutických postupoch [3–5].

Liečba cielenými syntetickými (targeted synthetic Disease Modifying Antirheumatic Drugs – tsDMARD) a biologickými chorobu modifikujúcimi liekmi (biological Disease Modifying Antirheumatic Drugs – bDMARD) umožňuje potlačenie systémového zápalového procesu a viaceré metaanalýzy svedčia aj pre možný priaznivý vplyv anti-TNF liečby na KV-mortalitu.

Recentné experimentálne štúdie poukazujú na fakt, že práve prozápalový TNFα predlžuje trvanie akčného potenciálu na kardiomyocyte prostredníctvom regulácie iónových kanálov ovplyvňujúcich repolarizáciu predsiení. TNFα ovplyvňuje draslíkové kanály, a aj animálne štúdie zamerané na ďalšie prozápalové cytokíny IL1 a IL6 poukázali na ovplyvnenie trvania akčného potenciálu, ale cez vápnikové kanály. Zároveň, hladina CRP

a hladiny TNFα receptorov sú silnými a nezávislými prediktormi kardiovaskulárnej smrti u pacientov s RA [6,7].

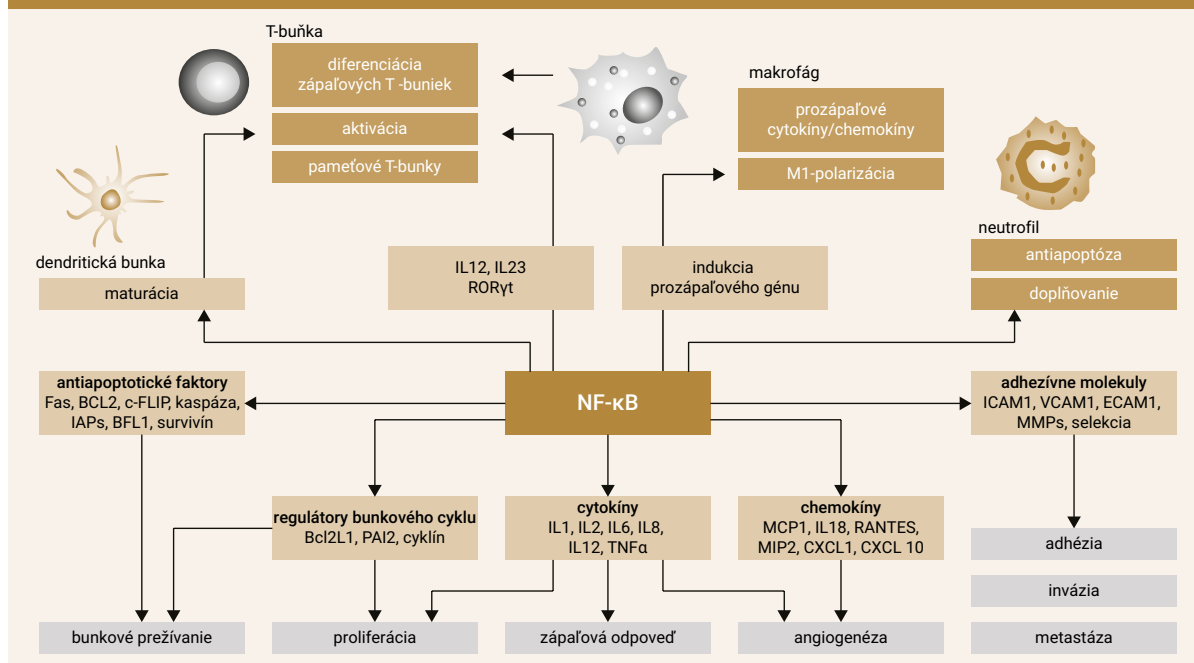
Reumatoidná artritída a nukleárny faktor-κB (NF-κB)

V skorých fázach ochorenia je synoviálne tkanivo infiltrované bunkami imunitného systému (ako napr. lymfocyty, plazmatické bunky, makrofágy) a jeho zrnčenie spôsobuje bolesť, stuhnutosť a opuchy kĺbov. Tieto bunky prispievajú k zápalovému procesu prostredníctvom produkcie matrixových metaloproteináz, cytokínov a chemokínov, pričom ich prítomnosť spôsobuje aktiváciu a prechod buniek imunitného systému do synoviálneho tkaniva. V počiatkových štádiách tohto ochorenia dochádza k neoangiogenéze, ktorá sa taktiež zúčastňuje na ďalšom vývoji patologického procesu. Výsledkom týchto zmien v kĺbovom puzdre je strata kĺbovej chrupavky, poškodenie kĺbovej kapsuly a štruktúr periartikulárneho systému [6,8,9].

Medzi lokálne mechanizmy prebiehajúce v synoviálnom tkanive patrí aktivácia rôznych signálnych transdukčných dráh. Jednou zo sledovaných a popísaných je aj dôležitá signálna cesta patogenézy RA, a to cez aktiváciu nukleárneho faktora κB (NF-κB).

NF-κB indukuje expresiu viacerých prozápalových génov, ktoré kódujú produkciu cytokínov a chemokínov zúčastňu-

Schéma | Náčrt funkcií NF-κB v patogenéze RA. Upravené podľa [6]



BCL2 – génová rodina lymfómu B-buniek **BFL1** – člen rodiny BCL génov (B-cell fetal liver) **c-FLIP** – inhibičný proteín **CXCL** – chemokínový ligand **ECAM** – na endotelu adhezívna molekula **IAPs** – inhibitory apoptózy **ICAM** – vnútrobunková adhezívna molekula **MCP** – monocytový chemoatraktívny proteín **MIP** – makrofágové zápalové proteíny **MMPs** – metaloproteinázy matrixu **PAI** – inhibitor plazminogénového aktivátora **RANTES** – regulátor aktivity exprimovaný a vylučovaný T-bunkami **VCAM** – adhezívna molekula cievnej steny

júcich sa v regulácii zápalu a taktiež participuje v regulácii celej inflamácie (schéma). Považuje sa za hlavný mediátor zápalu v RA, čo bolo demonštrované ako na experimentálnych modeloch, tak aj u pacientov, pričom viaceré prvotné štúdie detegovali aktiváciu NF-κB v synoviálnom tkanive RA pacientov [6,10–13].

Transkripčný faktor NF-κB reguluje viaceré regulačné miesta vrodenej a získanej imunity a je dôležitým mediátorom vlastnej zápalovej odpovede, indukuje expresiu širokej škály génov, zahŕňujúc tie, ktoré kódujú cytokíny a chemokíny. NF-κB hrá kritickú úlohu v regulácii prežívania, aktivácii a diferenciácii vrodenných imunitných buniek a zápalových T-buniek. Dysregulácia aktivácie NF-κB prispieva k rozvoju patologických procesov aj v rôznych typoch zápalových ochorení. Zvýšenie niektorých aktivátorov NF-κB je asociované so zvýšenou mortalitou práve najmä na kardiovaskulárne choroby [10–13].

NF-κB reprezentuje rodinu indukovaných transkripčných faktorov, ktorá reguluje širokú základňu génov, ktoré ovplyvňujú rôzne procesy imunitných a zápalových procesov. Táto rodina má piatich štruktúrne odlišných členov, a to NF-κB1 (taktiež sa nazýva aj p50), NF-κB2 (p52), RelA (p65), RelB a c-Rel, ktoré sprostredkovávajú transkripciu cieľových génov inkorporujúc sa do špecifických štruktúr DNA. Proteíny NF-κB sú za fyziologických okolností prítomné v pokojnom stave v cytoplazme spolu s inhibičnými proteínmi, vrátane aj inhibítorov členov rodiny κB (IκB) [14,15].

Kanonická a nekanonická cesta aktivácie NF-κB

Aktivácia NF-κB zahŕňa dve hlavné signálne dráhy, kanonickú a nekanonickú (alternatívnu), avšak obe sú dôležité pre reguláciu imunitnej a zápalovej odpovede, napriek veľkým rozdielom v signálnom mechanizme. Kanonická cesta NF-κB môže byť aktivovaná stimuláciou mnohých membránových receptorov (receptory pre TNF, IL1, toll-like receptory), prozápalovými stimulmi ako lipopolysacharidy, IL1 a TNF ako aj cez receptory pre T- a B-bunky.

Primárna aktivácia NF-κB cez kanonickú cestu prebieha cez indukovanú degradáciu IκBα, ktorá sa začne po strnovo špecifickej fosforylácii za prítomnosti viacerých podjednotiek inhibičných κB kinázových komplexov (IKK). IKK je tvorená dvoma katalytickými podjednotkami, a to IKKα a IKKβ, a aj regulačnou podjednotkou nazývanou NF-κB esenciálny modulátor (NEMO) alebo aj ako IKKγ. IKK môže byť aktivovaný rozdielnymi stimulmi, zahŕňujúc cytokíny, rastový faktor, mitogény, mikrobiálne komponenty a stresové podnety. Po aktivácii IKK fosforyluje IκBα na dvoch N-terminálnych serínoch a nasleduje na ubiquinone závislá IκBα degradácia v proteazóme, vyúsťujúca do rýchlej a prechodnej translokácie jadier kanonických členov NF-κB predovšetkým dimérov p50/RelA a P50/c-Rel. V tejto aktivačnej ceste je za aktiváciu NF-κB zodpovedný inhibítor κB kinázy (IKK – inhibítor kappa kinázy) β, pričom IKKα je nadbytočný [7,16,17].

Nekanonická cesta, teda alternatívna cesta aktivácie NF-κB, bola popísaná v posledných 10 rokoch. Táto cesta môže byť aktivovaná cez mnohých členov superrodiny TNF-receptorov, zahŕňajúc receptor pre lymfotoxín β, CD40, aktivačný faktor B-buniek a receptorový aktivátor NF-κB (RANK). RANK sa zúčastňuje oboch ciest aktivácie. Táto alternatívna cesta je striktné závislá na homodiméroch IKKα a na rozdiel od kánonickej nepotrebuje IKKβ ale IKKγ. Centrálna signálna molekula pre túto cestu je kináza indukovaná NF-κB (NIK), ktorá aktivuje a funkčne spolupracuje s IKKα sprostredkujúc fosforyláciu p100. Proces aktivácie je sprostredkovaný degradáciou C-terminálu IKKβ podobnej štruktúry, vyúsťujúcej do dozretia generácia NF-κB p52 a jadrovej translokácie komplexu NF-κB p52/RelB (tab) [6,18].

Ak sa pozrieme na rozdielne funkcie, tak kanonická cesta je ovplyvňovaná všetkými imunitnými procesmi, kým nekanonická cesta slúži ako doplnková signálna časť spolupracujúca s kanonickou cestou v regulácii špecifických funkcií adaptívneho imunitného systému.

Funkcia NF-κB je dobre špecifikovaná a opísaná v procese zápalu, v ktorom sa cez NF-κB aktivujú, di-

Tab. | Súhrn kanonickej a nekanonickej cesty aktivácie NF-κB

cesta	aktivácia	translokácia jadier	za aktiváciu NF-κB zodpovedá
kanonická cesta NF-κB	membránové receptory (receptory pre TNF, IL1, Toll-like),	diméry p50/RelA a P50/c-Rel	IKKβ
	prozápalové stimuly (lipopolysacharidy, IL1 a TNF)		
	receptory pre T- a B-bunky		
nekanonická cesta NF-κB	superrodina TNF-receptorov	p52/RelB	IKKα
	receptor pre lymfotoxín β, CD40		
	aktivačný faktor B-buniek		
	receptorový aktivátor NF-κB (RANK)		

ferencujú a efektívne určujú úlohy T-buniek. Nie je prekvapujúce, že pri chronickom zápale sa aktivita NF- κ B znižuje, dereguluje, čo je hlavným charakteristickým znakom chronického zápalu. Pochopenie mechanizmov potencujúcich aktiváciu NF- κ B a jeho prozápalovej úlohy je veľkou výzvou pre vytvorenie terapeutických stratégií v rámci terapie ochorení, ktorých podstatou je chronický zápal, ako je reumatoidná artritída.

Terapeutické biomarkery

Dôležitou otázkou ostáva možnosť určenia správneho a výpovedného biomarkera KV-rizika, teda molekuly, ktorá bude mať dostatočnú klinicky výpovednú hodnotu. Perspektívnu sa ukazuje analýza molekúl patriacich do superrodiny TNF-receptorov. Medzi členov tejto superrodiny zaraďujeme osteoprotegerín (OPG) a jeho ligandy, ktoré sú ligandami pre receptory aktivujúce NF- κ B ligandy (RANKL) a od TNF odvodený apoptózu indukujúci ligand (TRAIL). Tieto molekuly sú prítomné, exprimovateľné a regulovateľné a ich funkcia a prítomnosť sa potvrdila v mnohých fyziologických, ale aj patologických procesoch [1].

Objasnenie patogenézy kostných erózií pri RA dopomohlo k objaveniu osteoklastmi sprostredkovanej kostnej resorpcii, ktorá je regulovaná RANKL. RANKL je exprimovaný na viacerých typoch buniek, napr. T-bunky a synoviocyty [21], a ukazuje sa ako významný potenciálny diagnostický a terapeutický cieľ. Tieto bunky v prítomnosti cytokínov ako TNF- α a M-CSF prispievajú k maturácii a aktivácii osteoklastov. Solubilné receptory pre RANK, OPG a RANKL sú zvýšené u RA, ale normalizujú sa po liečbe TNF-inhibítormi.

V klinických štúdiách s osteoporózou sa dokázalo, že inhibíciou RANKL sa zníži strata kostného tkaniva. Ľudská humánna monoklonálna protilátka proti RANKL (denosumab) sa dlhodobo využíva na liečbu osteoporózy. V klinickej štúdii FREEDOM denosumab podávaný 2-krát za rok počas 36 mesiacov redukoval vznik nových vertebrálnych fraktúr o 68 %, zlomenín proximálneho femoru o 40 % a nevertebrálnych fraktúr o 20 % v porovnaní s placebom [1,6,20].

Vzťah medzi reguláciou kostných proteínov a cievnej biológie je sledovaný a ukazuje sa, že OPG môže byť zodpovedný aj za sprostredkovanie vaskulárnej kalcifikácie a kardio-metabolických chorôb. Cievna kalcifikácia, hlavný znak aterosklerózy, je obdobný ako proces remodelácie kostí. Ide o aktívny proces, ktorý zahŕňa aj indukčné ale aj inhibičné procesy. Pacienti s cievnu kalcifikáciou majú vyššie riziko vedľajších kardiovaskulárnych príhod. Ešte nie je dostatočne objasnený prirodzený vzťah medzi metabolizmom kostí, cievnu kalcifikáciou a kardiovaskulárnymi ochoreniami, ale zvyšujú sa dôkazy potvrdzujúce, že triáda RANK/RANKL/OPG

môže byť dôležitá pri iniciácii rôznych ochorení, teda aj týchto procesov [22]. RANK – receptorový aktivátor NF- κ B, RANKL – receptory aktivujúce NF- κ B ligandy a OPG – osteoprotegerín po svojej aktivácii alebo inhibícii by mohli byť spúšťačmi ochorení. Zvýšené uvoľňovanie OPG môže súvisieť so zvýšeným kardiovaskulárnym rizikom a je dokázané, že zvýšené hladiny OPG súvisia s cievny poškodením [1], respektíve na základe cievneho poškodenia zvýšené hladiny OPG zodpovedajú spusteniu protektívneho mechanizmu. Práve OPG sa ukazuje ako nezávislý biomarker kardiovaskulárných ochorení u pacientov s akútnymi alebo chronickými kardiometabolickými ochoreniami. Interakcia medzi RANK a jeho ligandom RANKL hrá dôležitú úlohu v biológii osteoklastov. U pacientov s RA sa potvrdila vysoká expresia RANKL, pričom zvýšené hladiny sa dokázali v sére aj v synoviálnej tekutine pacientov s RA [1,19].

Molekula OPG bola objavená v roku 1997 ako vzájomný prenášač informácií medzi kosťou, cievnou a srdcom. Aj napriek tomu, molekulový mechanizmus regulácie cievnej kalcifikácie nie je doteraz objasnený a ani úloha OPG nie je úplne do detailov známa v tomto procese a neustále sa objavujú jeho nové potenciálne funkcie. Potenciál OPG je hlavne v jeho možnosti stať sa diagnostickým markerom či terapeutickým cieľom. Resorpcia kostí nastáva po aktivácii osteoklastogenézy a svoju aktivitu zvyšuje po expresii receptorového aktivátora RANKL. OPG bol prvýkrát použitý ako terapeutický cieľ, keď dokázal zablokovať RANKL, čím sa znížila možnosť aktivácie receptorov, ktoré aktivujú NF- κ B ligandy. Tento mechanizmus umožnil vytvoriť protilátku OPG. Rekombinantný OPG proteín bol použitý v experimentálnych animálnych modeloch, bol použitý na potkanoch pri liečbe artritídy a u psov na indukciu a zvýšené hojenie poranenia kostí.

Pri zameraní sa na kliniku, početné štúdie uvádzajú vyššie hladiny OPG v sére, ktoré súvisia s horším kardiovaskulárnym stavom hlavne s prítomnosťou CAD, aortálnymi aneurizmami a kardiovaskulárnou mortalitou. Výsledky štúdií poukazujú na fakt, že zvýšenie sérovej hladiny OPG predikuje KV-mortalitu u pacientov so stabilnými CAD [24]. V 10-ročnom sledovaní sérových hladín OPG bol jeho význam ako prediktora progresie aterosklerózy potvrdený a bol označený ako nezávislý rizikový faktor rozvoja aterosklerózy ako aj výskytu mortality na KV-ochorenia [23]. Asociácia medzi sérovými hladinami OPG bola dokázaná u pacientov s reumatoidnou artritídou a hladiny OPG boli asociované s prevalenciou KV-ochorení u týchto pacientov.

Záver

Aj keď reumatoidná artritída postihuje predilekčne kĺby, pacienti s RA majú signifikantne zvýšenú morbiditu a mor-

talitu, na ktorej sa veľkou mierou podieľa zlyhanie kardiovaskulárneho systému. Výskum v patofyziológii RA poukazuje na význam triády RANK/RANKL/OPG nielen v ovplyvnení kostného metabolizmu, ale aj v prepojení na cievný a kardiovaskulárny systém.

Bližšie objasnenie úlohy triády RANK/RANKL/OPG v kardiovaskulárnom systéme by mohlo prispieť k detekcii markeru schopného definovať pacientov s vysokým kardiovaskulárnym rizikom, resp. perspektívne aj jej využitie v terapii schopnej priaznivo ovplyvniť zvýšenú KV-mortalitu u pacientov s RA.

Literatúra

- Rochette L, Meloux A, Rigal E et al. The role of osteoprotegerin in the crosstalk between vessels and bone: Its potential utility as a marker of cardiometabolic diseases. *Pharmacol Ther* 2018;182:115–132. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1016/j.pharmthera.2017.08.015>>.
- Masoud S, Lim PB, Kitas GD et al. Sudden cardiac death in patients with rheumatoid arthritis. *World J Cardiol* 2017; 9(7): 562–573. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.4330/wjc.v9.i7.562>>.
- Abraham C, Cho JH. Inflammatory bowel disease. *N Engl J Med* 2009; 361(21): 2066–2078. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1056/NEJMra0804647>>.
- Wallace KL, Zheng LB, Kanazawa Y et al. Immunopathology of inflammatory bowel disease. *World J Gastroenterol* 2014; 20(1): 6–21. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.3748/wjg.v20.i1.6>>.
- McInnes IB, Schett G. The pathogenesis of rheumatoid arthritis. *N Engl J Med* 2011; 365(23): 2205–2219. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1056/NEJMra1004965>>.
- Liu T, Zhang L, Joo D et al. NF- κ B signaling in inflammation. *Signal Transduct Targeted Ther* 2017; 2: e17023. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1038/sigtrans.2017.23>>.
- Noort AR, Tak PP, Tas SW. Non-canonical NF- κ B signaling in rheumatoid arthritis: Dr Jekyll and Mr Hyde? *Arthritis Res Ther* 2015;17(1):15. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1186/s13075-015-0527-3>>.
- Sun SC. Non-canonical NF- κ B signaling pathway. *Cell Res* 2011; 21: 71–85. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1038/cr.2010.177>>.
- Beinke S, Ley SC. Functions of NF- κ B1 and NF- κ B2 in immune cell biology. *Biochem J* 2004; 382(Pt 2): 393–409. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1042/BJ20040544>>.
- Vallabhapurapu S, Karin M. Regulation and function of NF- κ B transcription factors in the immune system. *Annu Rev Immunol* 2009; 27: 693–733. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1146/annurev.immunol.021908.132641>>.
- Zhang H, Sun SC. NF- κ B in inflammation and renal diseases. *Cell Biosci* 2015; 5: 63. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1186/s13578-015-0056-4>>.
- Karin M, Delhase M. The I κ B kinase (IKK) and NF- κ B: key elements of proinflammatory signalling. *Semin Immunol* 2000; 12(1): 85–98. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1006/smim.2000.0210>>.
- Sun SC, Ley SC. New insights into NF- κ B regulation and function. *Trends Immunol* 2008; 29(10): 469–478. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1016/j.it.2008.07.003>>.
- Israel A. The IKK complex, a central regulator of NF- κ B activation. *Cold Spring Harb Perspect Biol* 2010; 2(3):a000158. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1101/cshperspect.a000158>>.
- Wei F, Chang Y, Wei W. The role of BAFF in the progression of rheumatoid arthritis. *Cytokine* 2015; 76(2): 537–544. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1016/j.cyto.2015.07.014>>.
- Tas SW, Remans PH, Reedquist KA et al. Signal transduction pathways and transcription factors as therapeutic targets in inflammatory disease: towards innovative antirheumatic therapy. *Curr Pharm Des* 2005; 11(5): 581–611.
- Tak PP, Firestein GS. NF- κ B: a key role in inflammatory diseases. *J Clin Invest* 2001;107(1): 7–11. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1172/JCI11830>>.
- Weih F, Carrasco D, Durham SK et al. Multiorgan inflammation and hematopoietic abnormalities in mice with a targeted disruption of RelB, a member of the NF- κ B/Rel family. *Cell* 1995; 80(2): 331–340.
- Aya K, Alhawagri M, Hagen-Stapleton A et al. NF-(κ)B-inducing kinase controls lymphocyte and osteoclast activities in inflammatory arthritis. *J Clin Invest* 2005; 115(7): 1848–1854. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1172/JCI23763>>.
- Bresnihan B, Pontifex E, Thurlings RM et al. Synovial tissue sublining CD68 expression is a biomarker of therapeutic response in rheumatoid arthritis clinical trials: consistency across centers. *J Rheumatol* 2009; 36(8): 1800–1802. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.3899/jrheum.090348>>.
- Firestein GS. Evolving concepts of rheumatoid arthritis. *Nature* 2003; 423(6937): 356–361. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1038/nature01661>>.
- Rochette L, Meloux A, Rigal E et al. The role of osteoprotegerin in the crosstalk between vessels and bone: Its potential utility as a marker of cardiometabolic diseases. *Pharmacol Ther* 2018; 82: 115–132. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1016/j.pharmthera.2017.08.015>>.
- Kiechl S, Werner P, Knoflach M et al. The osteoprotegerin/RANK/RANKL system: A bone key to vascular disease. *Expert Rev Cardiovasc Ther* 2006; 4(6): 801–811. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1586/14779072.4.6.801>>.
- Jono S, Otsuki S, Higashikuni Y et al. Serum osteoprotegerin levels and long-term prognosis in subjects with stable coronary artery disease. *J Thromb Haemost* 2010; 8(6): 1170–1175. Dostupné z DOI: <<http://doi:10.1111/j.1538-7836.2010.03833.x>>.