

Pregradnja koštanog sustava

The remodeling of the skeleton

Sanja Zoričić Cvek*, Dragica Bobinac, Luka Đudarić, Olga Cvijanović

Zavod za anatomiju, Medicinski fakultet
Sveučilišta u Rijeci, Rijeka

Sažetak. Koštani sustav kralježnjaka vrši dvije glavne uloge: prva je biomehanička uloga koja uključuje podupiranje tijela i zaštitu unutarnjih organa i struktura te inerciju mišićima u svrhu izvođenja pokreta, a druga uloga je metabolička koja uključuje održavanje mineralne homeostaze organizma. Zato, iako su smatrane „mrtvim“ inertnim strukturama, kao što to studenti tijekom svog studija medicine doživljavaju, kosti su metabolički iznimno aktivni organi podvrgnuti kontinuiranim cjeloživotnim promjenama. Tijekom rasta i razvoja kosti se formiraju procesom oblikovanja (engl. *bone modeling*), što uključuje izgradnju i odlaganje koštanog matriksa na razvojno određenim i biomehanički induciranim mjestima skeleta. Čak i prije nego li se skelet u potpunosti razvije, kosti se počinju kontinuirano pregrađivati (engl. *bone remodeling*) u svrhu održavanja tkivnog integriteta i biomehaničke funkcije, prilagodbe koštane arhitekture prema mehaničkim zahtjevima i zbog popravaka mikrooštećenja, te ako je potrebno mobilizirati kalcij i fosfor. Proces pregradnje uključuje niz precizno reguliranih i tijesno spregnutih staničnih i molekularnih procesa koje omogućuje koordinirana aktivnost osteocita, osteoblasta i osteoklasta. Ova tri različita tipa stanica koštanog tkiva organizirana su u specifičnu morfološku i funkcionalnu višestaničnu jedinicu (engl. *basic multicellular unit*) koja obavlja i koordinira dva temeljna procesa u biologiji kosti: razgradnju i izgradnju kosti tijekom ciklusa nazvanog ciklus koštane pregradnje. Ovaj ciklus počinje fazom aktivacije koja uključuje mehanosenzaciju i mehanotransdukciju osteocita ili staničnim odgovorom na sistemski humoralni faktor kao što je paratiroidni hormon. Ovi startni signali potiču stvaranje specifične strukture nad koštanom površinom koju treba pregraditi i nazivamo je odjeljak koštane pregradnje (engl. *bone remodeling compartment*). Nadalje ovi startni signali aktiviraju osteoklastne prekursore na proliferaciju, diferencijaciju, pričvršćivanje i razgradnju određene koštane površine u sljedećoj fazi resorpcije. Nakon što se razgradi određena količina koštanog matriksa, počinje faza obrata koja uključuje oslobađanje brojnih, još uvijek nedovoljno poznatih činitelja koji povezuju razgradnju i osteoblastnu izgradnju s mineralizacijom kosti u sljedećoj fazi. Kada se stvori ista količina kosti koja se razgradila, slijedi završna faza ciklusa u kojoj se ciklus koštane pregradnje zaustavlja, a koštana površina ulazi u mirnu fazu.

Ključne riječi: kost; osteoblasti; osteociti; osteoklasti; pregradnja kosti

Abstract. The bones of the vertebrate skeleton serve two main functions: the first is biomechanical function which includes support and protection of internal organs and structures, so as providing a muscle attachment for the locomotion and the second is essential metabolic function which includes mineral homeostasis maintaining. In spite skeleton is being presented as “dead”, inert structure, as often medical students learn in anatomy, it is metabolically, extremely active organ and undergoes continuous lifelong changes. Bones are initially formed by modeling processes, which include the production and deposition of bone tissue at developmental and biomechanical sites of the skeleton. Before being fully formed, bones undergo remodeling process which continues throughout life, in order to preserve the structural integrity and biomechanical function, to adjust bone architecture according to mechanical demands, to repair microdamages, and if it is needed, to mobilize stored calcium and phosphorus. The remodeling process involves a series of highly regulated and tightly coupled cellular and molecular processes, performed by coordinated activity of osteocytes, osteoblasts and osteoclasts. These different bone cells are organized into specific morphological

***Dopisni autor:**

Prof. dr. sc. Sanja Zoričić Cvek, dr. med.
Zavod za anatomiju,
Medicinski fakultet Sveučilišta u Rijeci
B. Branchetta 20, 51 000 Rijeka
e-mail: sanja.zoricic@medri.uniri.hr

<http://hrcak.srce.hr/medicina>

and functional bone multicellular units which perform and coordinate two basic bone biology processes: bone resorption and bone formation, throughout a cycle of events called bone remodeling. The bone remodeling cycle starts with phase of activation, which includes mechanosensation and mechanotransduction of the osteocytes, or with cellular response to systemic humoral factors such as PTH. These are start signals which induce a formation of a specific canopy structure over the bone surfaces which need to be remodeled, called the remodeling compartment. Furthermore, these signals will activate osteoclastic precursor to proliferate, differentiate, attach and to resorb bone surface in the following resorption phase. After the certain quantity of bone was removed, the reversal phase occurs, which involves releasing of numerous, yet unknown factors that couple bone resorption and upcoming bone formation and mineralization, which are done by osteoblasts in the formation phase. After the same quantity of new bone was formed, the termination phase proceeds in which the cycle ends and bone surfaces become quiescent or "at rest".

Key words: bone; bone remodeling; osteoblasts; osteoclasts; osteocytes

UVOD

Kosti su temeljne strukturne jedinice skeletnog sustava i imaju prvenstveno biomehaničku ulogu koja se očituje u oblikovanju tijela, podupiranju tijela i omogućavanju pokretanja, te mehaničkoj zaštiti unutarnjih organa¹. Uz glavnu mehaničku funkciju, kosti imaju i mnogobrojne druge važne fiziološke funkcije, prvenstveno metaboličke. Tako kosti predstavljaju glavni mineralni rezervoar u organizmu, uglavnom kalcija i fosfora koji se mogu mobilizirati u bilo kojem trenutku u svrhu održavanja sistemske mineralne homeostaze organizma. U koštanom matriksu uskladišteni su i važni lokalni činitelji rasta, kao što su transformirajući činitelj rasta tip β (engl. *transforming growth factor- β* ; TGF β), inzulinu sličan činitelj rasta (engl. *insulin like growth factor*; IGF) i koštani morfogenetski proteini (engl. *bone morphogenetic proteins*; BMP) koji se iz kosti oslobađaju resorpcijom i djeluju lokalno i sistemski. Osim toga, u masnoj koštanoj srži pohranjena je energija u obliku masnih kiselina. Koštani matriks ima ulogu kemijskog pufera regulirajući pH krvi tako da taloži ili otpušta alkalne soli. U koštanom se matriksu talože teški metali, pa, eliminirajući ih iz krvi, kosti tako služe kao detoksikacijski sustav. Nadalje, kost koštanoj srži osigurava odgovarajući mikrookoliš za odvijanje procesa hematopoeze².

Kost djeluje i kao endokrini organ što se očituje u kontroli metabolizma fosfata (oslobađa fibroblastni činitelj rasta-23 (engl. *fibroblast growth factor-23*; FGF-23) koji djeluje na bubrege i smanjuje reapsorpciju fosfata)³ i glukoze (osteokalcin osloboden razgradnjom iz koštanog matriksa pospješuje proizvodnju inzulina u gušterači)⁴.

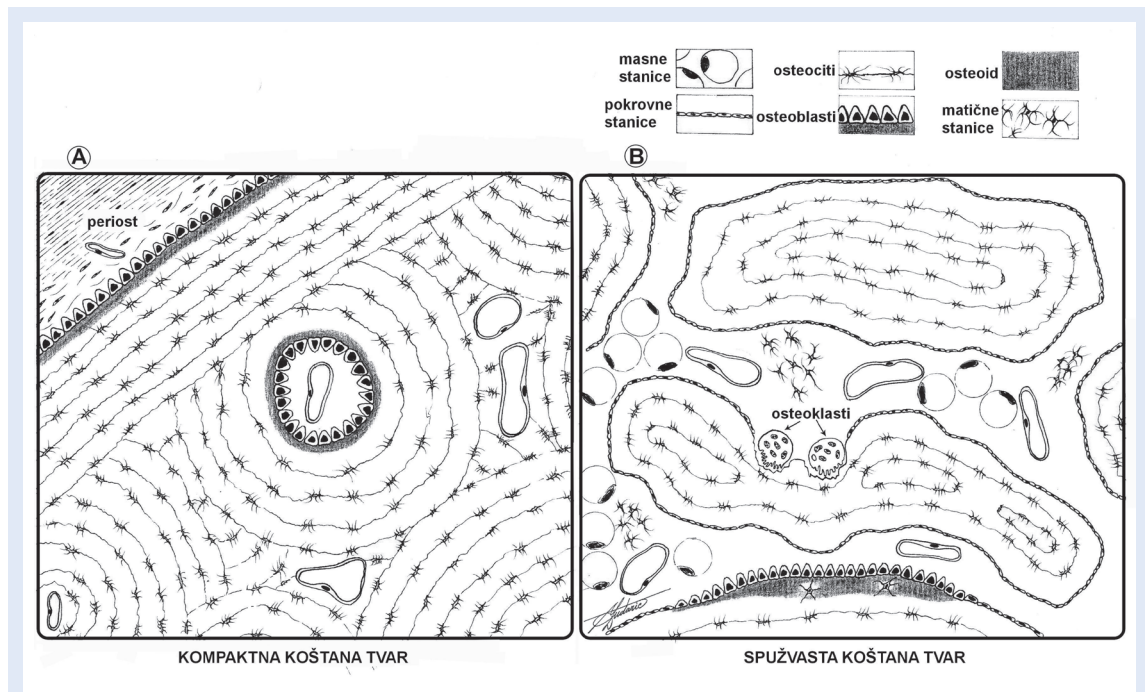
Kosti su građene od potpornih tkiva među kojima najveći maseni udio ima koštano tkivo. To je specijalizirana vrsta potpornog tkiva čija je međustanična tvar mineralizirana. Zbog toga je njegova

Osim biomehaničke, kosti imaju i metaboličke funkcije: održavanje sistemske mineralne homeostaze, skladištenje lokalnih činitelja rasta i citokina, skladištenje energije, održavanje acidobazne ravnoteže, detoksikaciju teških metala, osiguravanje mikrookoliša za odvijanje hematopoeze i kontrolu metabolizma fosfata i glukoze.

glavna karakteristika tvrdoća. No, osim tvrdoće, koštano tkivo posjeduje i čvrstoću i elastičnost, što u konačnici rezultira specifičnim biomehaničkim svojstvima koja osiguravaju optimalnu funkciju lokomotornog sustava^{5,6}. Djeluju paradoksalno svojstva čvrstoće i elastičnosti, snage i lakoće kostiju, no zbog posebnog sadržaja međustanične tvari i trodimenzionalnog rasporeda sastojaka koštanog tkiva, kost je idealan primjer strukture koja se minimalnom količinom materijala maksimalno odupire mehaničkim silama kojima je podvrgnuta. Kako je navedeno, koštano tkivo ima složenu i specifično organiziranu strukturu. Osnovne su karakteristike građe velika količina međustaničnog matriksa i različiti tipovi stanica koje svojom aktivnošću održavaju i prilagođavaju masu i kvalitetu koštane supstancije određenim biomehaničkim zahtjevima⁷.

STANICE KOŠTANOG TKIVA

Stanice koštanog tkiva održavaju homeostazu koštanog tkiva provođenjem produkcije i resorpcije kosti, odgovarajući tako na različite vanjske podražaje uključujući lokalne i sistemske, mehaničke, kemijske, električne i humoralne podražaje. Stanice koštanog tkiva vode podrijetlo iz dviju različitih staničnih linija. Jedna stanična linija je linija osteoprogenitornih stanica koje nastaju iz



Slika 1. Shematski prikaz građe kompaktne i spužvaste koštane tvari (ilustraciju izradio Luka Đudarić).

mezenhimalnih matičnih stanica. Njihovom diferencijacijom nastaju osteoblasti, osteociti i rubne *lining* stanice. Osteoprogenitorske stanice zadržavaju se tijekom života u koštanoj srži, endostu i periostu te koštanoj srži. U nediferenciranom pluripotentnom obliku osteoprogenitorne stanice zadržavaju se sve dok ne prime signal koji ih potiče na migraciju, proliferaciju i diferencijaciju u osteoblaste. Osteoprogenitorne stanice su, dakle, matične stanice koštanog tkiva^{8,9}. Druga stanična linija je hematopoetska, monocitno-makrofagna linija iz koje diferencijacijom nastaju osteoklasti^{10,11}. Tako koštano tkivo ima četiri osnovna tipa stanica: osteoblaste, osteocite, rubne *lining* stanice i osteoklaste. Svaki od ova četiri stanična tipa ima specifičnu funkciju u rastu, razvoju, oblikovanju, pregradnji i regeneraciji koštanog tkiva.

Osteoblasti

Osteoblasti su mononuklearne stanice koje produciraju koštani matriks. Poredani su na onim koštanim površinama koje su u procesu izgradnje ili nadogradnje. Tu najčešće leže neposredno nad slojem osteoida koji je njihov direktan produkt. Osim u neposrednoj produkciji koštanog matriksa

osteoblasti imaju važnu ulogu u mineralizaciji matriksa, ali i osteoklastogenezi. Osteoblasti aktivni u izgradnji koštanog matriksa su okruglasti i njihova ultrastrukturalna građa pokazuje tipične sekretorne karakteristike: razvijen zrnati endoplazmatski retikulum sa širokim cisternama, razvedeni Golgijev kompleks, vezikule i vakuole koje sadržavaju vlaknate strukture za koje se smatra da predstavljaju niti prokolagena i proteoglikana. Odgovorni su za sintezu organskih sastojaka međustanične tvari uključujući kolagen tipa I, proteoglikane i glukoproteine. Također sintetiziraju i enzim alkalnu fosfatazu koji je važan u procesu mineralizacije matriksa. Osteoblasti su terminalno diferencirane stanice i ne dijele se. Završetkom svoje sintetičke aktivnosti, propadaju apoptozom, transformiraju se u osteocite ili ostaju kao pokrovne *lining* stanice na slobodnim koštanim površinama⁵. Prema najnovijim saznanjima utvrđeno je da se u određenim uvjetima osteoblasti mogu i dediferencirati u osteoprogenitorne stanice. Osteoblasti nastaju iz multipotentnih mezenhimalnih matičnih stanica koje imaju sposobnost diferencijacije u različitim smjerovima staničnih tipova te se uz osteoblaste mogu diferencirati u adipocite, hondrocite, mio-

blaste i fibroblaste¹². Usmjeravanje osteoprogenitornih stanica u smjeru osteoplastne stanične linije povezano je s kanonskim Wnt/ β 3 (engl. *wingless/int β catenin signaling pathway*), pa je tako dokazano da je redukcija u Wnt signaliranju povezana s nastankom osteoporoze¹³. Ključni činitelj diferencijacije osteoblasta je transkripcijski činitelj povezan s proteinom runt ili Runx2 (engl. *runt-related transcription factor 2*). Runx2 i njegov nishodni činitelj osteriks ili Osx (engl. *osterix*) su najraniji i najspecifičniji molekularni biljezi osteoplastne diferencijacije¹⁴. Većina činitelja koji su uključeni u usmjeravanje nediferenciranih mezenhimskih matičnih stanica prema osteoplastnoj staničnoj liniji djeluju mijenjajući izražaj Runx2 i Osx. Tako, na primjer, paratiroidni hormon, glukokortikoidi, estrogeni te vitamin D nadziru izražaj Osx, Runx2, i proteina Wnt/ β -kateninskog puta¹⁵. Od lokalnih molekularnih činitelja koji potiču diferencijaciju osteoblasta posebno su važni koštani morfogenetski proteini (BMP -2, -4, -6, -7)^{16,17}, činitelj rasta sličan inzulinu I i II (engl. *insulin-like growth factor*; IGF I i IGF II)¹⁸, činitelj rasta fibroblasta (engl. *fibroblast growth factor, FGF*)¹⁹, te transformirajući činitelj rasta β (engl. *transforming growth factor- β*)²⁰ koji su nužni za usmjeravanje nediferenciranih mezenhimskih matičnih stanica prema osteoplastima. Njihovo je djelovanje autokrino/parakrino, a osteoplasti posjeduju receptore za ove činitelje. Također osteoplasti izražavaju receptore za više hormona koji stoga djeluju na kost: receptore za paratiroidni hormon (PTH) te PTH povezan protein (engl. *PTH-related protein*; PTHrP), tireoidni hormon, hormon rasta, inzulin, progesteron i prolaktin te nuklearne receptore za steroidne hormone kao što su estrogen, androgen, vitamin D i retinoid²¹. Po završetku svoje aktivnosti u sintezi koštanog matriksa, oko 15 % zrelih osteoplasta ukopava se u novostvoreni matriks i diferencira u osteocite, a ostali osteoplasti ili apoptotički propadaju ili zastaju na koštanoj površini kao pokrovne *lining* stanice.

Osteociti

Osteociti su stanice zvjezdolikog oblika, veličine 5 – 20 μ m i sadrže 50-ak dendritičkih izdanaka citoplazme. Tijela osteocita leže u šupljinicama (lat.

lacunae) dok se njihovi izdanci protežu duž razgranate mreže kanalića unutar koštanog matriksa (lat. *canaliculi*). Dendritički izdanci se radijarno šire u svim smjerovima, većinom okomito na koštanoj površini. Preko ovih dendritičkih izdanaka osteociti uspostavljaju vezu sa susjednim stanicama, koštanoj površinom ili vaskularnim prostorima. Izdanci se nalaze u sistemu kanalića kojima cirkulira tekućina te se tako dopremaju kisik i nutritivne tvari do svake stanice unutar mineralizira-

Glavni kreatori tkivne arhitekture i metaboličke funkcije kostiju su osteoplasti, osteociti i osteoklasti, od kojih svaki ima različitu i specifičnu funkciju u koštanoj metabolizmu, ali čine jedinstven stanični sustav nazvan temeljna višestanična jedinica kosti (BMU).

ne međustanične tvari. Tako, iako *živi zakopani* u koštanoj matriksu, osteociti i dalje ostaju vitalni, i dalje ostaju u međusobnoj vezi sa susjednim stanicama, koštanoj površinom i cirkulacijskim sustavom²². Lakuno-kanalikularni sustav koštanog matriksa tako osigurava prijenos signala među osteocitnom populacijom i međusobno najudaljenijim dijelovima koštanog tkiva. Na taj način osteociti čine važan dio tkivnog sustava koji prati, čuva i stvara cjelovitost sastava i strukture koštanog tkiva. Unatoč tome što osteociti čine 95 % svih stanica koštanog tkiva i predstavljaju najbrojniju staničnu populaciju, do unatrag desetak godina smatralo se da su osteociti pasivne, metabolički inaktivne stanice. No rezultati novih istraživanja pokazuju da su osteociti zapravo multifunkcionalne stanice s ključnom ulogom u regulaciji koštane i mineralne homeostaze, regulirajući aktivnost i osteoplasta i osteoklasta te da su glavne mehanosenzorne stanice koje koordiniraju prilagođavanje koštanog sustava na mehaničko opterećenje. Prema Manolagasu i suradnicima, osteoplasti koji aktivno produciraju koštani matriks imaju tri ishoda: ili će se terminalno diferencirati u osteocite ili će postati *lining* stanice ili će apoptotički propasti, a na temelju Parfitovih opažanja i pretpostavki da osteoplasti vjerojatno propadaju apoptozom²³⁻²⁵. Pretpostavljalo se da je terminalna diferencijacija u osteocite pasivan

proces i da nastaje zakapanjem osteoblasta u međustanični matriks koji postepeno mineralizira²², međutim, postoje jaki argumenti koji ukazuju na to da se ipak radi o aktivnom procesu iz nekoliko razloga. Kao prvi argument navodi se izrazita promjena morfologije u odnosu na osteoblaste te naročito polarizacija dendritičkih izdanaka koji se postavljaju okomito na mineralizacijsku frontu. Životni vijek osteocita najvjerojatnije je određen brzinom koštane pregradnje tako da osteociti kostiju sporije pregradnje imaju vijek i preko 10 godina. Ishod oslobađanja osteocita iz mineraliziranog koštanog matriksa tijekom koštane razgradnje još uvijek nije potpuno jasan. Postoje dokazi da se neki osteociti mogu ponovo ukopati²⁶, ali je najvjerojatnije da ih po oslobađanju fagocitiraju osteoklasti ili propadaju apoptozom²⁷. Također neka istraživanja ukazuju na to da se neki osteociti mogu ponovo dediferencirati u osteoblaste. Među prvima je opisana njihova ključna uloga u primanju i prenošenju mehaničke sile koja djeluje na lokomotorni aparat. Tako su osteociti okarakterizirani kao glavne mehanosenzorne i mehanotransduktorne stanice koštanog tkiva (engl. *mechanosensation/mechanotransduction*). Osjetljivost na mehaničko opterećenje prepoznao je još Julius Wolff i sažeo u zakonitosti koja kaže da se kost mijenja u ovisnosti o djelovanju vanjskog mehaničkog utjecaja, pa je tako jača ako je podvrgnuta većem mehaničkom opterećenju²⁸⁻³⁰. Isto tako, zbog rasprostranjenosti osteocita i njihove složene međusobne povezanosti u praktički jedinstvenu staničnu mrežu ili sincicij, pretpostavljeno je da su upravo osteociti stanice koštanog tkiva koje imaju mehanosenzornu sposobnost. Danas se pretpostavlja da su fizička deformacija međustaničnog matriksa, protok kanalikularne tekućine te električni potencijal koji nastaje zbog tog protoka, direktan stimulus za osteocite. Tako podraženi osteociti taj će mehanički signal pretvoriti u električno-kemijski signal, što je poznato kao mehanotransdukcija. Tijekom transdukcije povećava se intracelularni kalcij, pospješuje se oslobađanje dušikovog oksida, energije u obliku ATP-a, prostaglandina, povećava se otvaranje koneksinskih kanala i funkcioniranje tijesnih veza među stanicama, aktivira se genska transkripcija i translacija te se pospješuje produ-

ljivanje dendritičkih izdanaka. Diferencijacija osteocita povezana je s izražajem specifičnih gena, koje uključuje smanjeni izražaj kolagena tip I i alkalne fosfataze, a povećani izražaj za osteocite specifičnih biljega, kao što su protein matriksa dentina (engl. *dentin matrix protein 1*; DMP-1), sklerostin, podoplanin i FGF-23 (DMP1, E11/GP38/podoplanin, FGF-23), a indukcija SOST gena koji kodira protein sklerostin ukazuje na diferencijaciju zrelog osteocitnog fenotipa, tako da je sklerostin specifični osteocitni biljeg³¹. Sve je više dokaza da su osteociti glavni lokalni orkestratori mnogih funkcija kosti te proizvode brojne solubilne činitelje koji signaliraju dva temeljna procesa koštanog metabolizma; i osteoklastnu razgradnju i osteoblastnu izgradnju i mineralizaciju koštanog matriksa, te vrše i endokrinu funkciju regulirajući metabolizam glukoze i fosfata^{32,33}.

Pokrovne ili *lining* stanice koštanog tkiva

Pokrovne *lining* stanice koštanog tkiva također od osteoblasta i zapravo se smatraju njihovom relativno inaktivnom formom. Ove su stanice pločaste i pokrivaju mirne koštane površine, dakle na mjestima gdje se ne odvija niti produkcija niti resorpcija koštanog matriksa. *Lining* stanice u najvećem broju pojavljuju se kod odraslih individua, dakle u fazi kada su produkcija nove koštane mase i resorpcija stare koštane mase u ravnoteži. Pomoću staničnih izdanaka i ove su stanice u međusobnoj komunikaciji s osteocitima. Smatra se da su *lining* stanice aktivne u izdvajanju kalcija iz matriksa u trenutku kada je potreban u sistemskoj cirkulaciji.

Osteoklasti

Osteoklasti su 50 – 100 µm velike multinuklearne stanice i jedine stanice specijalizirane za razgradnju koštanog matriksa enzimatskom digestijom. Podrijetlo su im mononuklearni monocitno-makrofagni prekursori koji se nalaze u različitim tkivima, poglavito u koštanoj srži³⁴. Osteoklasti nastaju fuzijom mononuklearnih monocitno/makrofagnih prethodnika u zrele osteoklaste koji u citoplazmi mogu sadržavati i do 50-ak jezgara. Osteoklasti su relativno malobrojna satnična populacija kosti, osim na mjestima gdje se koncentriraju tijekom koštane pregradnje. Morfološki, osteoklasti su polarizirane stanice koje imaju bazolateralnu stranu,

okrenutu prema kosti, putem koje se odvija i razgradnja kosti³⁵. Ključni činitelji osteoklastogeneze su 2 citokina; receptor aktivator jezgrinog faktora kB (engl. *receptor activator of nuclear factor kB*; RANKL)³⁶ i faktor stimulacije makrofagnih kolonija (engl. *macrophage colony-stimulating factor*; M-CSF)³⁷, koje proizvode stromalne stanice koštane srži i osteoblasti. Nekoliko je istraživačkih skupina definiralo populacije osteoklastnih prethodnika iz koštane srži i slezene, te uvjete njihove diferencijacije *in vitro* u kulturi stromalnih stanica uz dodatak liganda receptora za pobudu jezgrinog čimbenika kB (engl. *receptor activator of nuclear factor kB ligand*; RANKL) i čimbenika stvaranja monocitnih kolonija koji usmjeravaju diferencijaciju stanica prema osteoklastima. Za preživljavanje i diferencijaciju već usmjerenih monocitno makrofagnih prethodnika ključan je M-CSF koji se veže za receptor činitelja stvaranja monocitnih kolonija (engl. *macrophage colony – stimulating factor receptor*; M-CSF; cFms) izražen na njihovoj površini. *In vitro* osteoklastogeneza može se potaknuti vitaminom D3, deksametazonom, paratiroidnim hormonom, prostaglandinom E2 i IL-6, no u kulturi je uvijek potrebna prisutnost stromalnih stanica koštane srži i preosteoblasta. Prisutnost osteoblasta je nužna jer je život osteoklasta ovisan o RANKL-u, membranskoj molekuli iz obitelji TNF-a izraženoj na osteoblastima, mezenhimnim matičnim stanicama, sinovijalnim stanicama i aktiviranim limfocitima T. RANKL se veže na receptor RANK i aktivira ga. S druge strane topljivi receptor osteoprotegerin (OPG), produkt zrelih osteoblasta, vezanjem za RANKL priječi aktivaciju RANK-a te posljedično priječi sazrijevanje i aktivaciju osteoklasta. Vezivanje RANKL-a za membranski RANK prekursora osteoklasta inducira njihovu diferencijaciju i sazrijevanje. RANKL i M-CSF proizvode i izlučuju stromalne stanice koštane srži i osteoblasti tako da se osteoklastogeneza može odvijati samo u prisutnosti ovih dvaju staničnih tipova³⁸. Osteoprotegerin (engl. *osteoclast inhibiting factor*; OCIF) je proteinski produkt osteoblasta suprotnog učinka, naime on sprječava vezivanje RANK-a i RANKL-a te na taj način inhibira regrutaciju, proliferaciju, diferencijaciju i aktivaciju osteoklasta. Ova tri molekularna činitelja tako čine jedan sustav i samo međusoban omjer RANK/RANKL/OPG-a određuje omjer razgradnje i izgradnje koštane tvari³⁹. Osim osteokla-

sta koji su podrijetlom monocitno-makrofagne stanične linije, u koštanoj srži nalaze se i tkivni makrofazi nazvani koštanim makrofazima (engl. *osteal macrophages*) za koje postoji sve više dokaza da imaju ključnu ulogu u stvaranju odjeljka za koštanu pregradnju^{40,41}.

MEĐUSTANIČNI MATRIKS KOŠTANOG TKIVA

Međustanična tvar ili matriks koštanog tkiva po količini premašuje stanični udio tkiva i sastoji se od organskog i anorganskog sadržaja. Najveći maseni udio matriksa, oko 50 – 70 % čini mineralni anorganski sadržaj, oko 5 do 10 % čini voda, a ostatak organski sadržaj. Oko 95 % organskog sadržaja matriksa čine vlaknati kolageni proteini od kojih je najzastupljeniji i za koštani matriks specifičan kolagena tip I⁴². Ostali udio organske tvari matriksa čine glukozaminoglikanske molekule udružene s proteinima u makromolekularne komplekse. Organski sastojci međustanične tvari koštanog tkiva imaju brojne uloge u koštanom tkivu, uključujući određivanje strukturnih, biomehaničkih i biokemijskih osobitosti koštanog tkiva. Organski dio koštanog matriksa naziva se osteoid. Ovi sastojci uključuju brojne proteine: osteonektin, osteopontin, osteokalcin, koštani sijaloprotein, proteoglikane i glikoproteine, zatim peptidne činitelje rasta i citokine. Svi ovi sastojci međustanične tvari imaju neznatan učinak na volumen i biomehaniku koštanog tkiva, ali zato imaju ključnu ulogu u biološkim funkcijama i metabolizmu koštanog tkiva. Rezultati brojnih istraživanja pokazali su da imaju brojne funkcije regulirajući mineralizaciju kolagena, modulirajući staničnu proliferaciju, migraciju, adheziju, diferencijaciju i sazrijevanje. Osteopontin prvi je put identificiran kao produkt aktivnosti osteoblasta i važan je izvanstanični strukturalni glikoprotein kojim je uključen u remodeliranje⁴³. U koštanom matriksu, osteopontin omogućuje pričvršćivanje osteoklasta za mineraliziranu površinu koštanog matriksa te omogućuje aktivaciju intracelularne propagacije različitih signala, ali isto tako utječe na osteoblaste, naročito u njihovu odgovoru na mehaničke sile. Osteonektin je prepoznat kao protein koji ima jak afinitet vezivanja prema kolagenu i mineralima. Osteonektin inicira i promovira proces stvaranja kristala minerala hidroksiapatita, stoga

ima glavnu ulogu u mineralizaciji novostvorenog koštanog tkiva. Osteonektin također ima afinitet za kolagen i omogućuje ostvarivanje stanično-staničnih interakcija⁴⁴. Smatra se da je osteonektin direktno i indirektno uključen u više bioloških funkcija uključujući mineralizaciju kosti i hrskavice, inhibiciju mineralizacije, modulaciju stanične proliferacije, održavanje diferenciranog fenotipa stanica, omogućavanje stanične adhezije i migracije. Osteokalcin spada u manje proteine koštanog matriksa i čini oko 10 do 20 % mase nevlaknatih proteina koštanog matriksa⁴⁵. U koštanom tkivu, kao što mu samo ime kaže, ima ulogu u mineralizaciji matriksa. Još uvijek nije detaljno poznata biološka uloga osteokalcina, no misli se da ima ulogu u privlačenju osteoklasta na mjesto resorpcije kosti. Mineralni sadržaj matriksa predstavlja oko 50 % suhe tvari i sadrži velike količine kalcija i fosfora, te manje količine bikarbonata, magnezija, natrija i klora. Najzastupljeniji među njima je kalcijev fosfat ($\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$) u kristaliničnom obliku hidroksiapatita⁴⁶. Tijekom izgradnje koštanog tkiva osteoblasti prvo produciraju i talože sloj osteoida na površinu kosti. Kada taj sloj osteoida zadeblja do 10 μm počinje njegova mineralizacija oko 20 dana nakon deponiranja. Ovaj je interval poznat kao spori mineralizacijski proces (engl. *the mineralization lag time*). Na histološkim rezovima koštanog tkiva kao rezultata normalnog procesa remodeliranja oko 20 % koštanih površina pokriveno je osteoidom, dakle nemineraliziranim koštanim matriskom.

VRSTE KOŠTANOG TKIVA

S obzirom na raspored i sastav međustanične tvari, razlikujemo dvije vrste koštanog tkiva. Primarno (primitivno, grubo isprepleteno) nezrelo je koštano tkivo koje sadrži nepravilno poredana kolagena vlakna, ima manji mineralni sadržaj i veći stanični udio tkiva. Primarno koštano tkivo je privremeno koštano tkivo i tijekom sazrijevanja skeleta postupno se zamjenjuje zrelim, ali i zaostaje na određenim mjestima skeleta (u blizini lubanjskih šavova, oko zubnih alveola, na inzerciji tetiva). Primarno koštano tkivo nastaje brзом produkcijom tako da se specifična tkivna organizacija ne može ostvariti. Zato je ova vrsta koštanog tkiva i mehanički slabija. Sekundarno (zrelo,

lamelarno) koštano tkivo je zrelo tkivo i pojavljuje se u odraslih organizama nakon završenog rasta i razvoja. Ovo je koštano tkivo visoko organizirano s koncentrično poredanim lamelama koje sadrže manje staničnih elemenata u odnosu na okružujuću matriks, a kolagena vlakna poredana su u pravilnim intervalima i paralelno. Zbog toga je sekundarno koštano tkivo čvršće⁶. Lamelarno koštano tkivo nastaje postupnom zamjenom primarnog koštanog tkiva u procesu koji se označava kao izmjena kosti (engl. *bone substitution*). S obzirom na mehanizam nastanka, koštano tkivo i kosti dijele se na one nastale intramembranskom osifikacijom, dakle, direktnom transformacijom mezenhimalnog u koštano tkivo i u kosti nastale endohondralnom osifikacijom, odnosno nastale na temelju hrskavičnog modela⁴⁷. Na temelju organizacije temeljnih sastojaka, koštano tkivo dijeli se u dvije vrste. Kompaktno koštano tkivo (lat. *substantia compacta*, kortikalna kost) tvrdo je i gusto koštano tkivo bez većih šupljina. Poput ljuske čini površinski dio praktički svih kostiju skeleta. Spongiozno koštano tkivo (lat. *substantia spongiosa*, trabekularna kost) je koštano tkivo koje karakteriziraju brojne šupljine. Nalazi se u dubljim dijelovima kosti i sastoji se od tankih koštanih gređica umreženih u trodimenzionalnu mrežu i orijentiranih u smjeru djelovanja biomehaničkih sila. Bez obzira na regionalne razlike unutar skeleta, mehanizam nastanka i vrste koštanog tkiva, osnovnu morfološku i funkcionalnu (metaboličku) jedinicu koštanog tkiva čine stanice (osteoblasti/osteociti, osteoklasti) i međustanična tvar ili koštani matriks (produkt aktivnosti stanica).

ODRŽAVANJE HOMEOSTAZE KOŠTANOG TKIVA – PREGRADNJA KOSTI

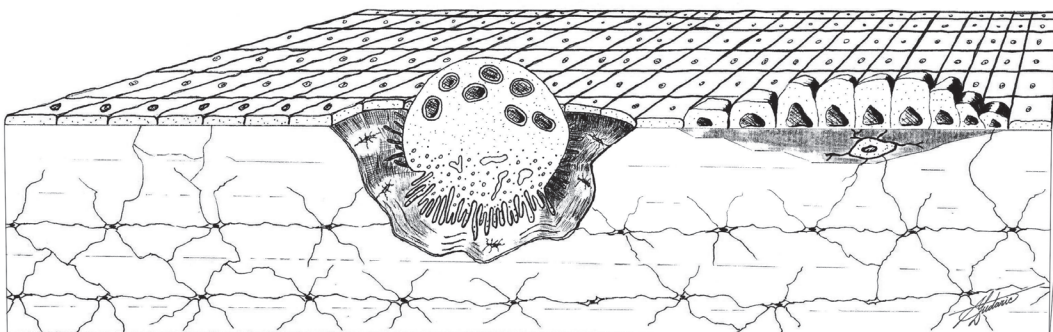
Iako se na prvi pogled čini vrlo inertnom i stabilnom strukturom, koštano tkivo je metabolički vrlo dinamično i podložno promjenama i nakon završenog rasta i razvoja. Naime, kosti se kontinuirano, tijekom čitavog života oblikuju (engl. *bone modeling*) u svrhu prilagođavanja promjenama biomehaničkih opterećenja⁴⁸, a istodobno se i pregrađuju (engl. *bone remodeling*) u cilju zamjene oštećenog koštanog tkiva koje je akumuliralo mikrooštećenja⁴⁹. Pregradnjom se kost stalno obnavlja i zamjenjuje novom koštanom masom koja

je mehanički otpornija, a sve u cilju održavanja biomehaničkog integriteta skeleta (održavanja mase i volumena koštane supstancije kao i njene snage, čvrstoće i elastičnosti). Osim toga, pregradnjom kosti održava se i mineralna homeostaza organizma. Pregradnja kosti uključuje dva precizno koordinirana procesa; razgradnju (engl. *bone resorption*) i izgradnju koštane tvari (engl. *bone formation*)⁵⁰, a odvijaju se sinkroniziranom aktivnošću i međusobnom interakcijom više staničnih tipova: osteoklasta, osteoblasta i osteocita⁵¹. Ovi različiti stanični tipovi čine jedinstven stanični sustav nazvan temeljna višestanična jedinica kosti (engl. *basic multicellular units*; BMUs). Budući da ovi stanični tipovi međusobno ovisnom aktivnošću vrše oblikovanje i preoblikovanje koštanog tkiva, neki je autori nazivaju jedinica pregradnja koštane mase (engl. *bone remodeling unit*).

Pregradnja koštanog tkiva uključuje niz morfoloških i funkcionalnih promjena koji čine međusobno spregnute procese. Označavamo ih zajedničkim nazivom ciklus koštane pregradnje (engl. *bone remodeling cycle*). Ovaj ciklus ima 4 faze koje slijede kako je navedeno redom (slika 2): faza aktivacije, faza razgradnje, faza obrata i faza proizvodnje koštane supstancije⁴⁹. Budući da se ciklus koštane pregradnje odvija na mjestu gdje je potrebno zamijeniti oštećenu koštanu masu, prvi korak koji prethodi samom ciklusu koštane pregradnje je detekcija i selekcija koštane površine koje će se pregraditi^{52,53}. Signal koji ukazuje na to koja će se koštana površina pregraditi najvjero-

jatnije dolazi od osteocita putem dendritičkih izdanaka i kanalikularnog sustava koji dopiru do površinskih *lining* stanica, ili signal produciraju same *lining* stanice. Na odabranom mjestu nastaje specifična struktura koja se naziva odjeljak koštane pregradnje (engl. *bone remodeling compartment*)⁵⁴, a pokriva ga sloj *lining* stanica, osteoblasta i tkivnih makrofaga (engl. *osteal macrophages/osteomac*)⁵⁵. Na taj način pomoću ove strukture koštana površina određena za pregradnju odvojena je od okolne koštane mase i koštane srži^{56,57}. Na ovako izoliranom mjestu ostvareni su jedinstveni uvjeti mikrookoliša koji omogućuju spregu osteoklastne resorpcije stare kosti i osteoblastnu produkciju nove koštane mase.

Prva faza koštane pregradnje je faza aktivacije i kao što je navedeno započinje detekcijom inicijalnog signala koji pokreće ciklus koštane pregradnje. Taj signal može biti ili strukturno oštećenje kosti (engl. *microdamage and/or microfracture*) izazvano mehaničkim utjecajem na kost ili sistemski humoralni faktori koji reguliraju mineralnu homeostazu organizma (hormoni npr. PTH)⁵⁸. Već je opisano da osteociti kao mehanosenzorne stanice, osim što detektiraju mehanički podražaj, taj podražaj pretvaraju u biološki, molekularni signal kojim zapravo i započinju sve promjene koje dovode do pregradnje kosti. Iako precizan molekularni mehanizam koji dovodi do faze aktivacije još uvijek nije potpuno jasan, postoji nekoliko mogućih mehanizama. Najprihvaćenija pretpostavka je da vanjski utjecaj koji dovodi do pokretanja ciklusa koštane pregradnje uzrokuje apoptozu osteo-



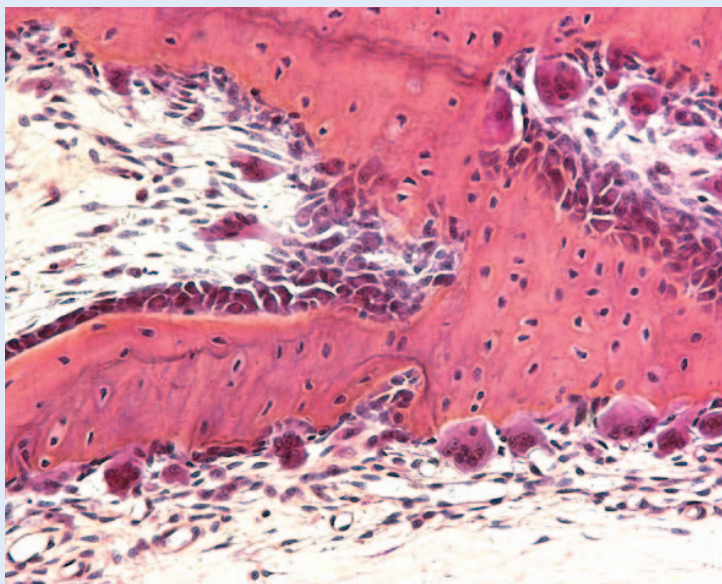
Slika 2. Shematski prikaz slijeda staničnih promjena u odjeljku koštane pregradnje koja prikazuje (slijeva udesno) mirnu koštanu površinu, Howshipovu lakunu s aktivnim osteoklastom i prethodno resorbiranu površinu koju nadograđuju osteoblasti sintezom novog matriksa (ilustraciju izradio Luka Đudarić).

cita i posljedično povećanje osteoklastogeneze⁵⁹. Naime, osteociti normalno proizvode TGF β koji lokalno u tkivu inhibira osteoklastogenezu, a apoptozom osteocita smanjuje se produkcija TGF β i tako omogućuje osteoklastogeneza. Posljedica mehanotransdukcije je regrutiranje i aktivacija monocitno-makrofagnih prekursora osteoklasta iz cirkulacije, fuzija prekursora u multinuklearne preosteoklaste. Osim toga osteoblasti luče matriks metaloproteinaze-13 (engl. *matrix metalloproteinase*; MMP-13) koje razgrađuju nemineralizirani osteoid i tako oslobađaju arginilglicilaspartatne motive proteina matriksa (engl. *arginylglycylaspartatic acid proteins*; RGD-proteins) kao vezujuća mjesta za pričvršćivanje osteoklasta⁶⁰. Humoralni podražaj koji potiče pokretanje pregradnje kosti je PTH. PTH se u lokalnom koštanom mikrookolišu vezuje i aktivira transmembranski G-protein vezani receptor osteoblasta nakon čega uslijedi aktivacija protein kinaze A i C. Nakon toga slijedi transkripcijska i translacijska aktivnost koja dovodi do proizvodnje signalnih molekula (npr. RANKL, M-CSF-1, činitelj rasta žilnog endotela; engl. *vascular endothelial growth factor*; VEGF) koje uzrokuju migraciju osteoklastnih prekursora, diferencijaciju i aktivaciju osteoklasta⁶¹. Osim toga, kao što je već opisano za osteocite, poznato je da djelova-

nje mehaničke sile na osteocite uzrokuje povećanje intracelularnog kalcija, pospješuje se oslobađanje dušikovog oksida, ATP-a i prostaglandina, povećava se otvaranje koneksinskih kanala i funkcioniranje tijesnih veza (engl. *gap junction*), aktivira se genska transkripcija i translacija te se pospješuje produljivanje dendritičkih izdanaka što su još neki od mogućih mehanizama koji djeluju na pokretanje pregradnje kosti, odnosno prvu fazu aktivacije.

Nakon faze aktivacije slijedi faza osteoklastne razgradnje (faza resorpcije) koštanog matriksa koja traje od 2 do 4 tjedna. Osteoklasti se vezuju za RGD-vezujuća mjesta preko svojih $\alpha_v \beta_3$ integrinskih receptora tako da nastane prstenasta zona kojom se osteoklast usidri na koštanoj površini koju treba resorbirati, a ispod njega se nalazi izolirani odjeljak u kojemu se počinje vršiti enzimatska razgradnja koštanog matriksa⁶². U ovaj odjeljak osteoklasti luče vodikove ione preko H⁺ ATP-aza protionske pumpe i kloridnih kanala stanične membrane u svrhu snižavanja pH i time omogućuje demineralizaciju koštanog matriksa⁶³. Osteoklasti luče tartarat rezistentnu kiselu fosfatazu, katepsin K, MMP 9 i gelatinazu pomoću kojih se resorbiraju sastojci međustaničnog matriksa⁶⁴. Rezultat resorpcije je nastanak udubljenja koje nazivamo Howshipova lakuna (slika 3). Osteoklastnu aktivaciju i resorpciju reguliraju omjer RANKL/OPG, interleukina -1 (engl. *interleukine -1*; IL-1 i IL-6) činitelj stimulacije kolonija (engl. *colony-stimulating factors*; CSF), parathormon, vitamin D i kalcitonin⁶⁵. Faza resorpcije završava apoptozom osteoklasta i započinje sljedeća faza obrata.

Tijekom faze obrata, završava razgradnja i počinje izgradnja koštanog matriksa. U Howshipovoj lakuni nastaloj kao posljedica razgradnje koštanog matriksa, nalaze se ostaci resorbiranog matriksa i različite mononuklearne stanice (vjerojatno monociti, osteociti i preosteoblasti) koje otklanjaju ove ostatke i tako čiste resorbiranu površinu te je pripremaju za fazu proizvodnje koštanog matriksa. Faza obrata je najvjerojatnije faza u kojoj se pomoću određenih molekularnih signala označava završetak resorpcije i početak produkcije koštanog matriksa i mada oni još uvijek nisu u potpunosti poznati, pretpostavljeno je da bi to mogle biti peptidne molekule razgrađenog koštanog



Slika 3. Mikrofotografija koštane površine intenzivnog procesa razgradnje (donja površina koštane gredice) i izgradnje (suprotno orijentirana koštana površina) (HE, povećanje 200 \times)

matriksa kao što su npr. TGF β , IGF-1 i IGF-2 BMPs te trombocitni činitelj rasta (engl. *platelet-derived growth factor*; PDGF) i FGF, ali i određeni faktori koje luče osteoklasti kao što je sfingozin 1-fosfat koji inducira regrutaciju osteoblastnih prekursora i potiče preživljavanje zrelih osteoblasta, te "cell anchored EphB4 ephrin-B2 bidirectional signaling complex" koji simultano inhibira koštanu razgradnju i aktivira koštanu izgradnju⁶⁶.

Četvrta faza je faza proizvodnje koštanog matriksa. U ovoj fazi dolazi do kemotaktičkog privlačenja preosteoblasta tako da se oni grupiraju na ovoj resorbiranoj koštanoj površini, proliferacije i diferencijacije u osteoblaste koji se aktiviraju i sintetiziraju sastojke međustaničnog matriksa (kolagen tip I, agrekan i ostale vlaknate i nevlaknate proteine i glikoproteine). Iako je nepoznato pod utjecajem kojih se činitelja to odvija, smatra se da su činitelji rasta oslobođeni iz resorbiranog koštanog matriksa kao što su TGF β i BMP odgovorni za ovaj slijed događaja. U ovoj fazi osteoblasti vrše i regulaciju mineralizacije novog matriksa izlučujući kalcij i fosfate, te razgrađujući inhibitore mineralizacije (pirofosfate i proteoglikane). Postepeno, okružujući se sve većom količinom nosintetiziranog matriksa, slijedi terminalna diferencijacija osteoblasta u osteocite, smanjuje se njihova sintetička aktivnost, mijenjaju morfološke značajke te dobivaju brojne citoplazmatske nastavke pomoću kojih se povezuju sa susjednim stanicama (*lining* stanicama, osteoblastima i osteocitima). Tako oblikovani i međusobno povezani osteociti čine funkcionalni sincicij, odnosno staničnu mrežu. Po završetku jednog ciklusa koštane pregradnje, nastaje nova koštana masa prilagođena novim biomehaničkim uvjetima zbog kojih je ciklus pregradnje prvotno i bio pokrenut. Neki autori ovim četirima fazama ciklusa koštane pregradnje dodaju i posljednju, petu fazu, koju nazivaju fazom završetka ciklusa pregradnje (engl. *termination phase*), a ona podrazumijeva moment u kojemu je nastala ista količina nove koštane supstancije i zamijenila razgrađenu staru koštanu supstanciju i određene signale koji to prepoznaju i zaustavljaju daljnju proizvodnju koštanog matriksa. Molekularni signal koji zaustavlja ciklus koštane pregradnje još uvijek je nepoznat, ali sve je više dokaza da bi u toj završnoj fazi ključnu ulogu trebali imati osteociti. Gubitak izra-

žaja sklerostina u osteocita koji su se okružili seceranim koštanom matriksom i terminalno se diferencirali, vjerojatno dovodi do završetka ciklusa pregradnje⁶⁷. Neki osteoblasti propadaju apoptozom, a neki se osteoblasti transformiraju u *lining* stanice, tako da je ponovno uspostavljena i obnovljena temeljna koštana struktura, sve do sljedećeg ciklusa koštane pregradnje.

Iako se pregradnja kosti odvija tijekom cijelog života, razgradnja i izgradnja koštane supstancije nisu uvijek u ravnoteži. Naime, do približno tride-

Održavanje tkivne homeostaze omogućuje proces pregradnje koštanog tkiva, a odvija se u seriji međusobno spregnutih procesa koji čine ciklus koštane pregradnje. Ciklus koštane pregradnje uključuje fazu aktivacije, fazu razgradnje koštanog matriksa, fazu obrata i fazu proizvodnje novog koštanog matriksa.

set godina starosti nad razgradnjom prevladava izgradnja nove koštane supstancije, tako da je bilanca pregradnje pozitivna i u tridesetim godinama koštana je masa individue na maksimumu (engl. *peak bone mass*). Od tridesetih do pedesetih godina starosti razgradnja i izgradnja nove koštane mase je u ravnoteži, tako da se koštana masa ne mijenja značajno, no nakon pedesetih godina starosti, razgradnja prevladava nad izgradnjom, te se koštana masa smanjuje. Proces koštane pregradnje i bilanca razgradnje i izgradnje nove koštane supstancije pod utjecajem je brojnih genetskih, mehaničkih, vaskularnih, živčanih, nutritivnih, endokrinih, sistemskih i lokalnih faktora. U ovom pregledu ukratko je spomenuto djelovanje mehaničkog i endokrinog faktora, kao i lokalnih faktora rasta i citokina. Opisivanje sistemске i lokalne regulacije koštanog metabolizma, kao i važan aspekt markera koštanog metabolizma za praćenje koštane razgradnje i izgradnje, zahtijeva dodatan prostor i nije predmet ovog pregleda. Posljednjih 20-ak godina postignut je izuzetan napredak u razumijevanju procesa pregradnje kosti, spoznaji brojnih interakcija među različitim staničnim tipovima koštane višestanične jedinice te brojnih biokemijskih i biomehaničkih faktora koji utječu na proces i reguliraju proces pregradnje. Nove spoznaje o pregradnji kosti nemaju samo akademski značaj, već omogućuju bolje ra-

zumijevanje patofizioloških mehanizama nastanka mnogih teških koštanih oboljenja kao što su osteoporoza, osteogenezis imperfekta ili fibrodisplazija osifikans progresiva. Osim toga razumijevanje složenosti, ali i plastičnosti građe i funkcije kostiju, te lokalnih i sistemskih regulatornih činitelja koji kontroliraju metabolizam kostiju, omogućuje razvoj novih učinkovitijih terapijskih procedura u liječenju oboljenja koštanog sustava.

Izjava o sukobu interesa: Autori izjavljuju da ne postoji sukob interesa.

LITERATURA

- McCarthy EF, Frassica FJ. Anatomy and physiology of bone. *Pathology of Bone and Joint Disorders*. Philadelphia, Pa: WB Saunders, 1998;25-50.
- Clarke B. Normal bone anatomy and physiology. *Clin J Am Soc Nephrol* 2008;3:S131-9.
- Razzaque MS. Bone-kidney axis in systemic phosphate turnover. *Arch Biochem Biophys* 2014;561:154-8.
- Faienza MF, Luce V, Ventura A, Colaianni G, Colucci S, Cavallo L. Skeleton and glucose metabolism: a bone-pancreas loop. *Int J Endocrinol* 2015;1-7.
- Adler CP. Bones and bone tissue: normal anatomy and histology. *Bone Diseases* 2000. New York, NY: Springer-Verlag, 1-30.
- Junqueira LC, Carneiro J, Long JA. Bone. *Basic Histology*. 5th ed. Norwalk, Conn: Appleton-Century-Crofts, 1986: 140-65.
- Marks SC and Hermey DC, Jr. The structure and development of bone. In: Bilezikian JP, Raisz LG, Rodan GA (Eds). *Principles of bone biology*. San Diego, USA: Academic Press 1996:3-79.
- Bianco P, Sacchetti B, Riminucci M. Osteoprogenitors and the hematopoietic microenvironment. *Best Pract Res Clin Haematol* 2011;24:37-47.
- Bianco P, Robey PG, Saggio I, Riminucci M. "Mesenchymal" stem cells in human bone marrow (skeletal stem cells): a critical discussion of their nature, identity, and significance in incurable skeletal disease. *Hum Gene Ther* 2010;21:1057-66.
- Boyce BF. Advances in osteoclast biology reveal potential new drug targets and new roles for osteoclasts. *J Bone Miner Res* 2013;28:711-22.
- Boyce BF, Xiu Y, Li J, Xing L, Yao Z. NF-κB-Mediated Regulation of Osteoclastogenesis. *Endocrinol Metab (Seoul)* 2015;30:35-44.
- Bianco P, Riminucci M, Gronthos S, Robey PG. Bone marrow stromal stem cells: nature, biology, and potential applications. *Stem Cells* 2001;19:180-92.
- Krishnan V, Bryant HU, Macdougald OA. Regulation of bone mass by Wnt signaling. *J Clin Invest* 2006;116: 1202-9.
- Ducy P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. *Osf2/Cbfa1*: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell* 1997;89:747-54.
- Cadigan KM, Liu YI. Wnt signaling: complexity at the surface. *J Cell Sci* 2006;119:395-402.
- Chen D, Zhao M, Mundy GR. Bone morphogenetic protein. *Growth Factors* 2004;22:233-41.
- Reddi AH. Bone and cartilage differentiation by bone morphogenetic proteins. *Cur Opin Cell Biol* 1992;4: 850-5.
- Canalis E, Pash J, Gabbitas B, Rydziel S, Varghese S. Growth factors regulate the synthesis of insulin-like factor-Inin bone cell cultures. *Endocrinology* 1993;133: 333-8.
- Globus RK, Plouet J, Gospodarowicz D. Cultured bovine bone cells synthesize basic fibroblastic growth factor and store it in their extracellular matrix. *Endocrinology* 1989;124:1539-47.
- Canalis E, Pash J, Varghese S. Skeletal growth factors. *Crit Rev Eukaryot Gene Expr* 1993;3:155-66.
- Hadjidakis DJ, Androulakis II. Bone remodeling. *Ann NY Acad Sci* 2006;1092:385-96.
- Franz-Odenaal TA, Hall BK, Written BK. Buried alive: how osteoblasts become osteocytes. *Dev Dyn* 2006; 235:176-90.
- Manolagas SC. Birth and death of bone cells: basic regulatory mechanism and implication for the pathogenesis and treatment of osteoporosis. *Endocr Rev* 2000; 21:115-37.
- Jilka RL, Weinstein RS, Bellido T, Parfitt AM, Manolagas SC. Osteoblast programmed cell death (apoptosis): modulation by growth factors and cytokines. *J Bone Miner Res* 1998;13:793-802.
- Parfitt AM Bone-forming cells in Clinical Conditions. In: BK H (ed). *Bone. The osteoblast and osteocyte*, vol. 1. Boca Raton, FL: Telford press and CRC Press, 1990: 351-429.
- Suzuki R, Domon T, Wakita M. Some osteocytes released from their lacunae are embedded again in the bone and not engulfed by osteoclasts during bone remodeling. *Anat Embryol (Berl)* 2000;202:119-28.
- Suzuki R, Domon T, Wakita M, Akisaka T. The reaction of osteoclasts when releasing osteocytes from osteocytic lacunae in the bone during remodeling. *Tissue Cell* 2003;35:189-97.
- Wolff J. The law of bone remodeling (translated from the 1892 original, *Das Gesetz der Transformation der Knochen*, by P. Maquet and R. Furlong). Berlin: Springer Verlag, 1986.
- Scott A, Khan KM, Duronio V, Hart DA. Mechanotransduction in human bone: in vitro cellular physiology that underpins bone changes with exercise. *Sports Med* 2008;38:139-60.
- Klein-Nulend J, Bakker AD, Bacabac RG, Vatsa A, Weinbaum S. Mechanosensation and transduction in osteocytes. *Bone* 2013;54:182-90.
- Dallas SL, Prideaux M, Bonewald LF. The osteocyte: an endocrine cell... and more. *Endocr Rev* 2013;34:658-90.
- Schalffler MB, Kennedy OD. Osteocyte signaling in bone. *Curr Osteoporos Rep* 2012;10:118-25.
- Bonewald LF. The amazing osteocyte. *J Bone Miner Res* 2011;26:229-38.
- Teitelbaum SL. Bone resorption by osteoclasts. *Science* 2000;289:1504-8.
- Vaananen HK, Zhao H, Mulari M, Halleen JM. The cell biology of osteoclast function. *J Cell Sci* 2000;113: 3773-81.

36. Boyle WJ, Simonet WS, Lacey DL. Osteoclast differentiation and activation. *Nature* 2003;423:337-42.
37. Stanley RE, Berg KL, Einstein DB, Lee PSW, Pixley FJ, Wang Y. Biology and action of colony-stimulating factor-1. *Mol Reprod Dev* 1997;46:4-10.
38. Simonet WS, Lacey DL, Dunstan CR, Kelley M, Chang MS, Lüthy R et al. Osteoprotegerin: a novel secreted protein involved in the regulation of bone density. *Cell* 1997;89:309-19.
39. Takahashi N, Maeda K, Ishihara A, Uehara S, Kobayashi Y. Regulatory mechanism of osteoclastogenesis by RANKL and Wnt signals *Front Biosci* 2011;16:21-30.
40. Cho SW. Role of osteal macrophages in bone metabolism. *J Pathol Transl Med* 2015;49:102-4.
41. Cho SW, Soki FN, Koh AJ, Eber MR, Entezami P, Park SI et al. Osteal macrophages support physiological skeletal remodeling and anabolic actions of parathyroid hormone in bone. *Proc Natl Acad Sci USA* 2014;111:1545-50.
42. Brodsky B, Persikov AV. Molecular structure of the collagen triple helix. *Adv Protein Chem* 2005;70:301-39.
43. Young MF. Bone matrix proteins: their function, regulation and relationship to osteoporosis. *Osteoporosis Inter* 2003;14:S35-42.
44. Termine JD, Kleinman HK, Whitson SW, Conn KM, McGarvey ML, Martin GR. Osteonectin: a bone specific protein linking mineral to collagen. *Cell* 1981;26:99-105.
45. Ducy P, Desbois C, Boyce B, Pinero G, Story B, Dunstan C et al. Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature* 1996;382:448-52.
46. Aerssens J, Dequeker J, Mbuyi-Muamba JM. Bone tissue composition: biochemical anatomy of bone. *Clin Rheumatol* 1994;13:54-62.
47. Buckwalter JA, Glimcher MJ, Cooper RR, Recker R. Bone biology Part II: Formation, modeling, remodeling and regulation of cell function. *J Bone Joint Surg* 1995;77A:1276-89.
48. Robling AG. The interaction of biological factors with mechanical signals in bone adaptation: recent development. *Curr Osteoporosis Rep* 2012;10:126-31.
49. Frost HM. Skeletal structural adaptations to mechanical usage (SATMU): 2. Redefining Wolff's law: the remodeling problem. *Anat Rec* 1990;226:414-22.
50. Raggatt LJ, Partridge NC. Cellular and molecular mechanisms of bone remodeling. *J Biol Chem* 2010;285:25103-8.
51. Sims NA, Mertin TJ. Coupling the activities of bone formation and resorption: a multitude of signals within the basic multicellular unit. *BoneKey Rep* 2014;3:1-17.
52. Parfitt AM. Targeted and nontargeted bone remodeling: relationship to basic multicellular unit organization and progression. *Bone* 2002;30:-7.
53. Burr DB. Targeted and nontargeted bone remodeling. *Bone* 2002;30:2-4.
54. Seref-Ferlengez Z, Kennedy OD, Schaffler MB. Bone microdamage, remodeling and bone fragility: how much damage is too much damage. *BoneKey Rep* 2015;4:1-7.
55. Chang MK, Raggatt LJ, Alexander KA, Kuliwaba JS, Fazalari NL, Schroder K et al. Osteal tissue macrophages are intercalated throughout human and mouse bone lining tissues and regulate osteoblast function in vitro and in vivo. *J Immunol* 2008;181:1232-44.
56. Parfitt AM. The bone remodeling compartment: a circulatory function of bone lining cells. *J Bone Miner Res* 2001;16:1583-5.
57. Hauge EM, Qvesel D, Eriksen EF, Mosekilde L, Melsen F. Cancellous bone remodeling occurs in specialized compartments lined by cells expressing osteoblastic markers. *J Bone Miner Res* 2001;16:1575-82.
58. Raisz LG. Physiology and pathophysiology of bone remodeling. *Clin Chem* 1999;45:1353-8.
59. Kogianni G, Mann V, Noble BS. Apoptotic bodies convey activity capable of initiating osteoclastogenesis and localized bone destruction. *J Bone Miner Res* 2008;23:915-27.
60. Rodan SB, Rodan GA. Integrin function in osteoclasts. *J Endocrinol* 1997;154:S47-56.
61. Karsenty G. Transcriptional control of skeletogenesis. *Annu Rev Genomics Hum Genet* 2008;9:183-96.
62. Fuller K, Kirstein B, Chambers TJ. Regulation and enzymatic basis of bone resorption by human osteoclasts. *Clin Sci* 2007;112:567-75.
63. Silver IA, Murrills RJ, Etherington DJ. Microelectrode studies on the acid microenvironment beneath adherent macrophages and osteoclasts. *Exp Cell Res* 1988;175:266-76.
64. Troen BR. The role of cathepsin K in normal bone resorption. *Drug News Perspect* 2004;17:19-28.
65. Blair HC, Athanasou NA. Recent advances in osteoclast biology and pathological bone resorption. *Histol Histo-pathol* 2004;19:189-99.
66. Delaisse J-M. The reversal phase of the bone remodeling cycle: cellular prerequisite for coupling resorption and formation. *BoneKey reports* 2014;3:1-7.
67. Compton JT, Lee FY. A review of osteocyte function and the emerging importance of sclerostin. *J Bone Joint Surg* 2014;96A:1659-68.