

ЭНДОКРИННАЯ ФУНКЦИЯ КОСТНОЙ ТКАНИ

Т.А. ГРЕБЕННИКОВА¹, Ж.Е. БЕЛАЯ², Т.Т. ЦОРИЕВ³, Л.Я. РОЖИНСКАЯ^{4*}, Г.А. МЕЛЬНИЧЕНКО⁵

ФГБУ Эндокринологический научный центр МЗ РФ

¹ ординатор отделения нейроэндокринологии и остеопатий² главный научный сотр. отделения нейроэндокринологии и остеопатий, д.м.н.³ ординатор отделения нейроэндокринологии и остеопатий⁴ зав. отделением нейроэндокринологии и остеопатий, д.м.н., профессор⁵ зам. директора ФГБУ ЭНЦ МЗ РФ, д.м.н., профессор, академик РАН

Обзор литературы посвящен обсуждению биологической функции гормонов, продуцируемых скелетом: фактора роста фибробластов 23 (ФРФ23) и остеокальцина. ФРФ23 секретируется остеоцитом и воздействует на почки, ингибируя 1-альфа-гидроксилазу, что предупреждает активацию витамина D, а также способствует выведению фосфора через почечные каналцы. Сродство ФРФ23 к рецептору фактора роста фибробластов (ФРФ-Р) низкое, однако при взаимодействии ФРФ23 и Клото связь значительно повышается и происходит активация рецепторного комплекса. Таким образом, Клото определяет преимущественно почечные эффекты ФРФ23. Увеличение содержания ФРФ23 или Клото из-за генетических нарушений или эктопической продукции опухолью сопряжено со снижением уровня фосфора в сыворотке крови человека. Напротив, низкое содержание ФРФ23 или Клото приводит к гиперфосфатемии и эктопической кальцификации.

Генетические исследования на моделях мышей показали, что продукт секреции остеобластов - остеокальцин, в декарбокислированной форме оказывает воздействие на β -клетки поджелудочной железы, увеличивая продукцию инсулина, а в периферических тканях его эффекты повышают утилизацию глюкозы в результате повышения чувствительности к инсулину и уменьшают содержание висцерального жира. Кроме того, декарбокислированный остеокальцин может оказывать прямые гормональные эффекты на клетки Лейдига у мужчин, усиливая секрецию тестостерона, что было показано в исследованиях, как на культурах клеток, так и у живых особей. В обоих случаях, при эффектах на поджелудочную железу и на яички, остеокальцин оказывает воздействие через GPCR6A рецептор, в результате активации которого запускается цАМФ связанный сигнальный путь.

Таким образом, статья обобщает исследования, посвященные эндокринной функции костной ткани.

**ВВЕДЕНИЕ**

В эндокринологии принято рассматривать кость в качестве органа-мишени для таких гормонов, как половые гормоны, гормон роста, паратиреоидный гормон (ПТГ), D-гормон, кальцитонин, а также целый ряд других гормонов, осуществляющих регуляцию костного обмена [1,2]. Однако исследования последних лет показывают, что кость обладает самостоятельной эндокринной функцией, секретируя, по меньшей мере, два гормона — фактор роста фибробластов 23 и остеокальцин.

Фактор роста фибробластов 23 (ФРФ23) синтезируется остеоцитами и является основным регулятором обмена фосфора в организме. Остеокальцин секретируется преимущественно остеобластами и в декарбокислированном виде, способен связываться с собственным рецептором на бетаклетках поджелудочной железы и клетках Лейдига яичек. Таким образом, декарбокислированная форма остеокальцина участвует в регуляции энергетического обмена и половой функции у мужчин [3].

Регуляция фосфорно-кальциевого обмена

Традиционно считается, что за регуляцию фосфорно-кальциевого обмена отвечает биологическая ось ПТГ/витамин D. В ответ на снижение уровня кальция в сыворотке крови в околотитовидных железах увеличивается продукция ПТГ. Воздействуя на почечные каналцы, ПТГ активирует фермент 1 α -гидроксилазу, в результате чего 25-гидроксиголекальциферол превращается в активный 1,25-дигидроголекальциферол (1,25(OH)₂D), или D-гормон. D-гормон увеличивает всасывание кальция и фосфора в желудочно-кишечном тракте. Кроме того, за счет влияния на рецепторы остеобластов и остеокластов, ПТГ стимулирует ремоделирование кости, в процессе которого из костной ткани высвобождаются соли кальция (Рисунок 1).

Открытие ФРФ23 позволило расширить современные представления о фосфорно-кальциевом обмене и включить данный гормон в ось ПТГ/витамин D в качестве контррегулирующего элемента, приводящего к снижению уровня 1,25(OH)₂D и увеличению выведения фосфатов почками (Рисунок 2). Кроме ФРФ23 обнаружены и другие новые

гуморальные факторы, такие как секретируемый белок связанный с фризельдом 4 (SRFP4), матричный внеклеточный фосфогликопротеин (MEPE), фактор роста фибробластов 7 (ФРФ7), которые также способствуют развитию гипофосфатемии [4].

В настоящее время биологическая роль ФРФ23 активно изучается в связи с его влиянием на метаболизм фосфатов при хронической болезни почек (ХБП) и развитие вторичного гиперпаратиреоза. ФРФ23 рассматривается как возможный предиктор развития минерально-костных осложнений ХБП на доклинической стадии для ранней коррекции нарушений и замедления их прогрессирования. Возможно, ФРФ23 и его ко-рецептор Клото вовлечены в механизмы развития атеросклероза у пациентов с почечной недостаточностью. Соответственно изучаются перспективы фармакологического влияния на ФРФ23, которое может открыть новые перспективы в лечении осложнений ХБП [5,6]. Проводятся исследования влияния ФРФ23 на процессы, не связанные с фосфорно-кальциевым обменом, так, на данный момент, известно об участии гормона в развитии гипертрофии левого желудочка [7].

Общие сведения о ФРФ23

ФРФ23 в основном секретируется остеоцитами в кости, однако, в небольшом количестве экспрессируется в слюнных железах, желудке, скелетных мышцах, головном мозге, молочных железах, печени и сердце. На молекулярном уровне ФРФ23 представляет собой белок молекулярной массой 32 kDa, N-концевой домен которого гомологичен всем другим факторам роста фибробластов, а C-концевой фрагмент является филогенетически новым [8]. Большинство факторов роста фибробластов действуют за счет связывания гепарансульфата, входящего в состав протеогликанов базальных мембран клеток, что позволяет осуществлять паракринную функцию. ФРФ23 вместе с ФРФ19 и ФРФ21 образуют группу белков, которые имеют слабое сродство к гепарансульфату [9], что предотвращает их захват внеклеточным матриксом. Для осуществления биологического эффекта они связываются с альтернативным ко-фактором — Клото, и в

* e-mail: rozhinskaya@rambler.ru

таким виде связываются с рецепторами в других органах и тканях, реализуя эндокринную функцию [10].

Ген Клото был идентифицирован при изучении трансгенных мышей с заблокированной экспрессией Клото. Эти животные имели все признаки преждевременного старения (атрофия кожи, замедление роста, эктопическая кальцификация, бесплодие, короткий жизненный цикл). Введение рекомбинантного Клото нивелировало симптомы старения у экспериментальных животных [11]. В последующем было выявлено, что Клото-дефицитные мыши по аналогии с ФРФ23-дефицитными мышами демонстрируют не только схожий фенотип, но и имеют гиперфосфатемию [12].

В настоящее время выделено 2 формы существования белка Клото: трансмембранная (а Клото) и экстрацеллюлярная (б Клото), влияющая на продукцию инсулина и содержание инсулиноподобный фактор роста через связывание с ФРФ19 и ФРФ21. ФРФ23 образует комплекс с а-Клото, который, связываясь с несколькими подтипами рецепторов к фактору роста фибробластов 23 (ФРФР), а именно ФРФ-Р1, ФРФ-Р3 или ФРФ-Р4, осуществляет гепаран-независимую активацию ФРФ-Р. [12,13,14,15]. Клото секретируется в кровь посредством ADAMs (A Disintegrin and Metalloproteinases) – ADAM 10 и ADAM 7 [16,17,18]. Сродство ФРФ23 к ФРФ-Р без Клото очень низкое, поэтому локализация экспрессии Клото определяет тканевую специфичность функции ФРФ23: почки, околощитовидные железы, гипофиз и сосудистые сплетения [19].

В почках ФРФ23 ингибирует реабсорбцию фосфатов посредством воздействия на натрий-зависимый фосфат ко-транспортёр NaPi2a и NaPi2c в эпителиальных клетках проксимальных канальцев, тем самым способствуя фосфатурии и гипофосфатемии. ФРФ23 также влияет на уровень витамина D посредством ингибирования 1-α гидроксилазы. Таким образом, 25(OH)D не преобразуется в активную форму- 1,25(OH)₂D, а за счет 24-гидроксилазы превращается в метаболиты 24,25(OH)₂D с меньшей биологической актив-

ностью. В кишечнике FGF23 уменьшает всасывание фосфатов за счет подавления экспрессии интестинального натрий-фосфатного транспортера NPT2b [4, 20].

В околощитовидных железах физиологическое действие ФРФ23 остается неясным [14,19]. С одной стороны, клинически доказано, что избыток ФРФ23 стимулирует секрецию ПТГ [12] — выявлена ассоциация между повышенным уровнем ФРФ23 и тяжелым гиперпаратиреозом при терминальных стадиях хронической болезни почек. С другой стороны, было показано, что ФРФ23 подавляет экспрессию мРНК ПТГ in vitro и снижает сывороточный уровень ПТГ in vivo [21].

Кроме того, ФРФ23 секретируется в вентролатеральных ядрах таламуса и может воздействовать на сосудистые сплетения, где экспрессируется комплекс Клото-ФРФР. Между спинномозговой жидкостью и сывороткой крови существует градиент фосфата (в ликворе уровень фосфатов ниже), в связи с чем, существует предположение об участии ФРФ23 в регуляции уровня фосфатов в спинномозговой жидкости. Еще одним потенциальным органом-мишенью ФРФ23 является гипофиз, где выявлено повышение экспрессии генов раннего реагирования в ответ на введение ФРФ23 при исследовании на мышах. В отсутствие ФРФ23 у мышей наблюдают тяжелую задержку роста, что может быть связано с регулирующим воздействием ФРФ23 на гипофиз [10].

Не до конца понятным остается вопрос, обладает ли ФРФ23 паракринным действием в кости. Клото, необходимый для оказания эффекта ФРФ23, не экспрессируется в костной ткани, и наблюдаемые изменения в участках с низким и высоким содержанием ФРФ23 являются скорее вторичными по отношению к изменению уровня фосфатов и 1,25(OH)₂D в сыворотке крови. Тем не менее, есть сведения о том, что ФРФ23 подавляет дифференцировку остеобластов [22]. Также, по мнению ряда авторов, ФРФ23 может воздействовать на гомеостаз глюкозы, функции тимуса, рост и процессы старения [23,24,25]. Однако, другие эксперты счи-

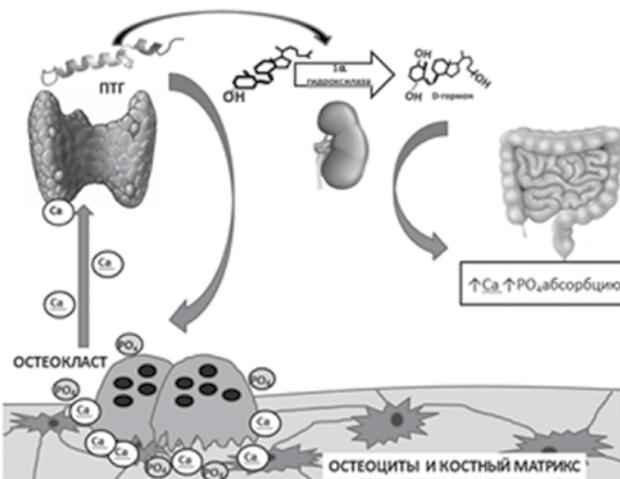


Рис. 1. Регуляция обмена кальция. Эффекты паратгормона.
Снижение уровня кальция в сыворотке крови приводит к повышению концентрации паратгормона. Паратгормон активизирует фермент 1-альфа-гидроксилазу, что способствует переходу нативного витамина D в активную форму — 1,25дигидроколекальциферол, или D-гормон. D-гормон увеличивает всасывание кальция и фосфора в желудочно-кишечном тракте, повышая его концентрацию в сыворотке крови. Кроме того, паратгормон увеличивает экспрессию лиганда рецептора активатора ядерного фактора каппа-бета (РАНКЛ), что приводит к увеличению количества остеокластов, а также паратгормон напрямую способствует повышению активности этих клеток. Таким образом, кальций высвобождается при разрушении костной ткани и его концентрация в сыворотке крови повышается.

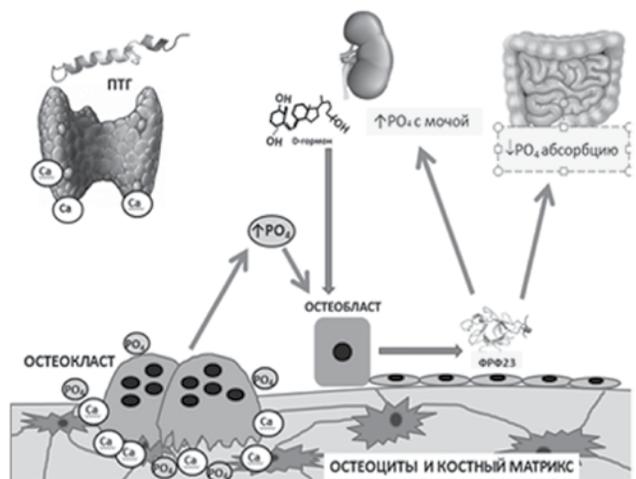


Рис. 2. Регуляция обмена фосфора. Эффекты фактора роста фибробластов 23 (ФРФ23).
При разрушении костной ткани помимо кальция в сыворотку крови выделяется фосфор. Кроме того, D-гормон повышает всасывание фосфора из желудочно-кишечного тракта вместе с кальцием. D-гормон и повышение уровня фосфора в сыворотке крови повышает выработку фактора роста фибробластов 23 (ФРФ23). ФРФ23 способствует выведению фосфора с мочой и дезактивирует D-гормон, повышая активность 24-альфа-гидроксилазы. Дезактивация D-гормона способствует снижению всасывания фосфора в кишечнике. Таким образом, ФРФ23 способствует снижению уровня фосфора в сыворотке крови.

тают, что в отсутствие Клото эти изменения представляют собой вторичные эффекты повышенного уровня $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ и гиперфосфатемии [26, 27,28].

Предполагается, что высокие концентрации ФРФ23, такие, например, как при ХБП, могут неспецифически воздействовать на ФРФ-Р независимо от Клото [7]. Была выявлена взаимосвязь между ростом уровня ФРФ23 и сердечно-сосудистыми осложнениями при ХБП. Высокие уровни ФРФ23 были независимо связаны с эндотелиальной дисфункцией. При терапии препаратами фосфатбиндеров наблюдается снижение концентрации ФРФ23 с улучшением поток-опосредованной вазодилатации (маркер эндотелиальной функции) [29]. Также получены данные о корреляции высоких уровней ФРФ23 с гипертрофией левого желудочка [30]. Кроме того, у Клото выявлен ряд функций, не требующих образования комплекса с ФРФ23. Одна из них — прямое регулирование фосфатного транспорта в проксимальных канальцах путем депгликозилирования $\text{NaPi}2\text{a}$, что делает его более восприимчивым к протеазам проксимальных канальцев, приводя к снижению количества и активности $\text{NaPi}2\text{a}$, тем самым содействуя фосфатурии независимо от ФРФ23 [16,20].

Генетические нарушения секреции ФРФ23

Наиболее достоверную информацию о роли ФРФ23 и Клото у человека можно получить при изучении редких генетических заболеваний, ассоциированных с повреждением гена ФРФ23 или его ко-фактора Клото, а также генов, регулирующих синтез этих белков и их деградацию. Механизмы развития данных заболеваний, на сегодняшний день, достаточно хорошо изучены (Таблица 1).

Высокий уровень ФРФ23, обусловленный нарушениями в регуляции синтеза и деградации белка, приводит к гипофосфатемии из-за резкого снижения почечной реабсорбции фосфатов при нормальном уровне $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, рахиту или остеомалиции. Характерно, что гиперкальциурия при этом отсутствует. Несмотря на схожую клиническую картину заболеваний, механизмы повышения уровня ФРФ23 имеют отличия. Х-связанный гипофосфатемический рахит является наиболее частой причиной витамин-D-резистентного рахита. Его развитие связано с инактивирующей мутацией в *PHEX* (фосфат-регулирующем гене), локализованном в X-хромосоме [31]. Мутация в гене *PHEX* у мышей с гипофосфатемией (гомологична для Х-связанного гипофосфатемического рахита у человека) приводит к дефектной минерализации костей, ассоциированной с повышением ФРФ23 и гипофосфатемией [10]. Механизм, посредством которого снижение уровня *PHEX* приводит к увеличению ФРФ23, остается неясным.

Причиной развития аутосомно-рецессивной гипофосфатемии и остеомалиции (АРГО) является инактивирующая мутация в *DMP1* (dentin matrix protein 1) [32,33]. Уровень ФРФ23 у пациентов с АРГО увеличивается, как и у *DMP1*-дефицитных мышей. Иммуногистохимический анализ показал увеличение транскрипции ФРФ23 в остеоцитах [32]. У пациентов с гипофосфатемическим рахитом и остеомалицией, связанной с фиброзной дисплазией с или без МакКьюин-Олбрайт синдрома, также наблюдается гипофосфатемия с повышенным уровнем ФРФ23 [34].

При аутосомно-доминантной гипофосфатемии и остеомалиции (АДГО) мутации гена *ФРФ23* делают белок устойчивым к протеолитическому расщеплению, что приводит к увеличению его активности и потере фосфата почками. [35,36].

Остеомалиция, индуцированная опухолью - это паранеопластический синдром, включающий в себя потерю фосфатов почками, аномальное изменение метаболизма витамина D и остеомалицию, что также ассоциировано с повышением уровня ФРФ23. В одном из исследований было предположено, что нарушения в *МЕРЕ* и *ФРФ-Р4* могут регулировать *PHEX* и метаболизм *DMP1*, соответственно, и вызывать повышение ФРФ23. Тем не менее, у пациентов с эктопической

секрецией ФРФ23 опухолью фосфатонины не повышены. Дефицит *PHEX* приводит к гипофосфатемии, однако уровни *МЕРЕ* и *ФРФР4* при это не повышены. Таким образом, ФРФ23, по-видимому, является основным гуморальным фактором развития гипофосфатемических заболеваний, хотя вполне возможно, что фосфатонины вносят вклад в их развитие вместе с ФРФ23 [4].

При дефиците ФРФ23 клиническая картина обратная: гиперфосфатемия и повышение продукции $1,25(\text{OH})_2\text{D}$. Семейный гиперфосфатемический опухолевый кальциноз является редким аутосомно-рецессивным заболеванием и характеризуется гиперфосфатемией, нормальным или повышенным уровнем $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, кальцификацией мягких тканей и околосуставной кальцификацией [37]. При исследовании на грызунах: у ФРФ23-дефицитных мышей имеется кальцификация мягких тканей, отставание в росте, нарушенная минерализация кости и сокращается жизненный цикл [24,25,27]. В настоящее время, известны три генетические мутации, вызывающие данное заболевание. Они включают в себя мутации в генах *ФРФ23*, *Клото* и *GALNT3* [38,39,40]. Мутация в *GALNT3* приводит к дестабилизации структуры ФРФ23, деактивируя С-концевые домены ФРФ23, в результате чего уровень биологически активного ФРФ23 снижается. При мутации в гене *ФРФ23* возрастает чувствительность ФРФ23 к протеолизу. Мутация в гене, кодирующем *Клото*, приводит к снижению экспрессии Клото, вследствие чего количество комплексов ФРФ23-Клото-ФРФ-Р снижается и возникает резистентность к ФРФ23 [39]. При исследовании на мышах уменьшение уровня Клото приводит к фенотипу, схожему с фенотипом ФРФ23-дефицитных мышей [41].

Регуляция эффектов ФРФ23

И гиперфосфатемия и гипофосфатемия обладают негативным действием на организм, поэтому эволюционно должны были появиться адаптационные механизмы, позволяющие избежать данных состояний. Биологическая ось

Таблица 1.

Заболевания, связанные с нарушением действия ФРФ23

Заболевание	Ген	Механизмы нарушения ФРФ23
Заболевания, связанные с избыточной продукцией ФРФ23		
Х-связанный гипофосфатемический рахит	<i>PHEX</i>	Избыточная продукция ФРФ23
Аутосомно-доминантная гипофосфатемия и остеомалиция	<i>ФРФ23</i>	Резистентность ФРФ23 к протеолизу, его избыточная продукция
Аутосомно-рецессивный гипофосфатемический рахит и остеомалиция	<i>DMP1</i>	Увеличение ФРФ23 в сыворотке крови
Остеомалиция, индуцированная опухолью	Заболевание	Избыток продукции ФРФ23 опухолью
Гипофосфатемический рахит и остеомалиция, связанная с фиброзной дисплазией с или без синдрома МакКьюин-Олбрайт синдромом	<i>GNAS1</i>	Избыток ФРФ23
Заболевания, связанные с недостаточной продукцией ФРФ23		
Семейный гиперфосфатемический кальциноз опухолей	<i>GALNT3</i>	Повышенная чувствительность ФРФ23 к расщеплению протеинов (дефицит ФРФ23)
Семейный гиперфосфатемический кальциноз опухолей	<i>ФРФ23</i>	Повышенная чувствительность ФРФ23 к протеолизу
Семейный гиперфосфатемический кальциноз опухолей	<i>Клото</i>	Резистентность к ФРФ23

ПТГ-витамин D давно рассматривалась с позиции регулирования метаболизма фосфатов, однако ПТГ обладает преимущественным влиянием на кальциевый обмен. ФРФ23 также участвует в фосфорно-кальциевом обмене за счет осуществления трех физиологических функций: контррегуляция витамина D, влияние на метаболизм ПТГ, координация почечного метаболизма фосфатов с минерализацией костей.

Из возможных факторов, которые могли бы регулировать экспрессию ФРФ23 (кальций, фосфаты, ПТГ и $1,25(\text{OH})_2\text{D}$), только $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ оказывает влияние на продукцию ФРФ23. $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ непосредственно стимулирует экспрессию ФРФ23 в остеоцитах через участок в промотере ФРФ23, чувствительный к витамину D, в то время как ФРФ23 в почках по механизму обратной связи подавляет образование $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ [42] (Рисунок 2). В ситуации с повышенным уровнем $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, когда снижается уровень ПТГ, ФРФ23-опосредованная фосфатурия позволяет предотвратить потенциальную возможность гиперфосфатемии в связи с $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ -индуцированным увеличением всасываемости фосфатов в желудочно-кишечном тракте и снижением ПТГ-опосредованной фосфатурии [10]. Таким образом, способность ФРФ23 увеличивать экскрецию фосфатов и снижать образование активного $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, возможно, защищает организм от избытка витамина D [42].

ФРФ23 действует в окоцитовидных железах, образуя комплекс с Клото-ФРФР [43]. Исследования показали, что ФРФ23 подавляет экспрессию мРНК ПТГ *in vitro* и снижает сывороточный уровень ПТГ *in vivo* [21]. Однако когда у пациентов с терминальной ХБП развивается вторичный гиперпаратиреоз (ВГПТ), уровень ФРФ23 прямо коррелирует с уровнем ПТГ [17,44]. Возможно, при ВГПТ развивается относительная резистентность гиперплазированных окоцитовидных желез (ОЦЖ) к действию ФРФ23 за счет уменьшения в их ткани основных типов рецепторов: CaSR, VDR, ФРФ-Р и Клото, а также вследствие снижения (или прекращения) экспрессии Клото в почках у пациентов с терминальной стадией ХБП [44,45,46,47]. Другим возможным объяснением является то, что увеличение ФРФ23 приводит к уменьшению уровня $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, содействуя гипокальциемии и хронической стимуляции секреции ПТГ [20].

Открытым остается вопрос наличия обратной связи — влияние ПТГ на уровень ФРФ23. При исследованиях *in vitro* ПТГ не стимулирует ФРФ23 в остеобластах или у мышей с нормальной функцией почек [42]. ФРФ23 также не повышается при первичном гиперпаратиреозе [48]. Однако, *in vivo* — после выполнения паратиреоидэктомии в сыворотке крови уремических крыс отмечалось отчетливое снижение уровня ФРФ23 [49]. Также потенциально возможно перекрестное взаимодействие между ПТГ и ФРФ23 через косвенный механизм стимуляции $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ [50].

Ни уровень сывороточного кальция, ни уровень ПТГ напрямую не стимулируют секрецию ФРФ23. Предполагается, что их воздействие является косвенным или влияние ПТГ может быть различным в зависимости от длительности действия. Известно, что костное ремоделирование меняется в зависимости от прерывистого или непрерывного действия ПТГ. Это поддерживает гипотезу о том, что уровень ФРФ23 находится в зависимости от костного ремоделирования, и ПТГ может влиять на уровень ФРФ23 косвенно путем воздействия через местные факторы при ремоделировании костной ткани [10].

Роль ФРФ23 в координации почечного метаболизма фосфатов с минерализацией костной ткани и костным ремоделированием

Помимо снижения содержания фосфора в сыворотке крови и координации почечного метаболизма фосфатов, ФРФ23, возможно, опосредовано вовлечен в регуляцию минерализации костей и костное ремоделирование. Гипотеза

о данной функции ФРФ23 возникла в результате изучения X-связанного гипофосфатемического рахита и аутосомно-рецессивной гипофосфатемии и остеомаляции, связанных с повышением ФРФ23. Развитие данных заболеваний связано с инактивирующими мутациями в генах *PHEX* и *DMP1* соответственно. *PHEX* и *DMP1* секретируются в остеоцитах и остеобластах костной ткани, где они регулируют минерализацию внеклеточного пространства, тем самым обеспечивая сигнальные пути для координации увеличения фосфатов в кости с почечной потерей путем регулирования уровня ФРФ23. Инактивация генов *PHEX* и *DMP1* вызывает увеличение уровня ФРФ23, которое приводит к гипофосфатемии и снижению $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, а также к повышенной экспрессии предполагаемого ингибитора минерализации — мингибина. В результате, возникает внутренний дефект минерализации внеклеточного матрикса, не зависящий от уровня фосфатов [51, 52]. Было предположено, что ФРФ23 обладает прямым действием на кость, подавляя минерализацию. Однако не удалось обнаружить экспрессию Клото в костях [53], что опровергает предполагаемое прямое действие ФРФ23 на кости посредством комплекса Клото-ФРФ-Р. У *PHEX*-дефицитных мышей внутренние нарушения минерализации сохранились даже после удаления ФРФ23 и восстановления уровня фосфатов. Механизм влияния *PHEX* на минерализацию костной ткани до конца не изучен. В исследованиях восстановление гена *PHEX* у мышей лишь частично корректировало фенотип кости, не влияя на компенсацию гипофосфатемии.

Роль *DMP1* в минерализации костной ткани более ясна. *DMP1* является неактивным белком, который активируется при расщеплении на фрагменты — 37 kDa и 57 kDa — с помощью *BMPL1* или катепсина В. Высоко фосфолированный С-конец 57 kDa-фрагмента выполняет функцию ядра минерализации. NH₂-концевой фрагмент *DMP1* обладает способностью связываться с ФРФ23 [54]. Последние исследования показывают, что ФРФ23 увеличивается в костной мозоли при переломе кости и является местным стимулирующим фактором [55]. Вероятно, повышение экспрессии ФРФ23 в остеоцитах у *PHEX*- и *DMP1*-дефицитных мышей объясняется наличием неизвестных матричных факторов, увеличивающихся вследствие мутации в гене *PHEX* или *DMP1*.

Таким образом, существует местная регуляция экспрессии ФРФ23 в остеоцитах. В физиологических условиях *DMP1* взаимодействует с *PHEX* с помощью *ASARM* и интегринов, образуя комплекс *PHEX-DMP1*-интегрин, необходимый для подавления транскрипции ФРФ23. При наличии инактивирующей мутации в генах *PHEX* и *DMP1* уровень ФРФ23 увеличивается, возможно, через опосредованную продукцию и накопление в костном матриксе биологически активных веществ, которые обладают ФРФ23-стимулирующей активностью [10]. Кроме того, на экспрессию *PHEX* и *DMP1* могут влиять другие факторы роста фибробластов. Например, ФРФ2, синтезирующийся в остеобластах, оказывает паракринный ингибирующий эффект на дифференциацию остеобластов и вызывает гипофосфатемию, возможно, через стимуляцию секреции ФРФ23.

При изучении профиля экспрессии генов в кости при гипофосфатемии были определены ранее неизвестные нарушения в факторах, регулирующих минерализацию в кости. Например, выявлено, что экспрессия матричного Gla-белка (ингибитора минерализации) была увеличена, как и уровень Тромбоспондина 4, который экспрессируется в костной ткани и, возможно, является ингибитором минерализации [10].

Клото: общие характеристики, основные функции и терапевтический потенциал

Клото представляет собой белок молекулярной массой 130 kDa, кодируемый геном *Klotho*. Секретируемая форма Клото имеет молекулярную массу 70 kDa и является резуль-

татом альтернативного сплайсинга [19,56,57,58]. Внеклеточный домен мембранного Клото, который еще называют растворимой формой Клото, может выделяться и циркулировать в крови [59,60]. Отщепление внеклеточного домена происходит за счет влияния ADAM 10 и ADAM 17, которые стимулируются инсулином и подавляются ингибиторами металлопротеиназ [59]. Основными местами синтеза Клото являются почки и головной мозг, хотя экспрессия происходит во многих органах.

Одной из функций Клото является поддержание минерального гомеостаза в результате образования комплекса с ФРФ23. Имеются данные, что секретируемая часть Клото участвует в регуляции почечной экскреции калия [61], кальция [62], фосфора [63].

Уровень Клото снижен при хронической болезни почек (ХБП) различной этиологии: ишемическом снижении перфузии, субтотальной нефроэктоми, хроническом гломерулонефрите, диабетической нефропатии и др. При изучении *Клото*-дефицитных мышей выявлена гиперфосфатемия [19,63-65], которая, как известно, является одним из осложнений ХБП, непосредственно увеличивающим риск сердечно-сосудистых осложнений. В исследованиях на *Клото*-дефицитных мышах ФРФ23 тоже был повышен [66]. Интересным является наблюдение, что у *Клото*-дефицитных мышей развивается эктопическая кальцификация, в том числе артерий [19,67], такая же как при ХБП [68,69]. Дефицит Клото ассоциирован с дисфункцией и истощением стволовых клеток, что характерно для старения организма в норме. Уменьшение количества стволовых клеток связано с увеличением клеток-предшественников старения. Секретируемый Клото связывается с различными компонентами Wnt сигнального пути и ингибирует их активность. Более того, активация Wnt сигнального пути при дефиците Клото ускоряет старение клеток *in vitro* и *in vivo* [70].

При ХБП возникает вторичный дефицит Клото, что способствует преждевременному старению почечных эпителиальных клеток [71]. Как следствие уменьшается способность почек к регенерации [72].

При исследовании на *Клото*-дефицитных мышах, было отмечено, что у них нарушается функция эндотелия [73] и ангиогенез [74]. Эти два фактора также могут способствовать прогрессированию хронической болезни почек [75,76,77].

Почечный фиброз является одной из гистологических характеристик ХБП, причем у *Клото*-дефицитных мышей тубулоинтерстициальный фиброз выражен в большей степени [78]. Известно, что TGF- β 1 играет ключевую роль в развитии фиброза [79,80,81]. Предполагается, что белок Клото подавляет почечный фиброз посредством подавления передачи сигнала TGF- β 1. Ингибитор активатора плазминогена-1 также регулирует фибринолиз и протеолиз. Его уровень увеличен в почках при гломерулонефрите, нефросклерозе, диабетической нефропатии и др. По результатам исследований на грызунах [82] выявлено, что дефицит Клото увеличивает активность экспрессии мРНК ингибитора активатора плазминогена-1 [72].

Дефицит Клото не только ускоряет развитие ХБП, но и способствует развитию его осложнений, таких как кальцификация сосудов [19,66], левожелудочковая гипертрофия [67], вторичный гиперпаратиреоз [83,84], минеральные нарушения в костях [64,85,86]. Клото является потенциальным биомаркером ХБП, причем его можно исследовать как в крови, так и в моче. Проводятся исследования уровня секретируемого Клото в крови у здоровых людей, предложен референтный интервал для иммуноферментного анализа [87]. Однако требуется дальнейшее изучение уровня Клото в крови у пациентов, страдающих ХБП [72]. Согласно современным представлениям, восстановление уровня КЛОТО при ХБП может замедлить прогрессирование заболевания и развития осложнений [72]. Теоретически генная терапия имеет

потенциал для лечения ХБП на фундаментальном уровне. Эксперименты на животных показали обнадеживающие результаты, например, аденовирус-опосредованный перенос генов *Клото*. Однако токсичность и иммуногенность данного метода ограничивает его клиническое применение [88, 89]. Более реальным методом является введение экзогенного Клото. Рекомбинантный белок Клото способен модулировать почечные ионные каналы и транспортеры [90], контролировать действие ФРФ23 [91]. В исследованиях на мышах получен положительный эффект от его введения [92]. Таким образом, введение экзогенного белка Клото является перспективным методом заместительной терапии Клото-дефицитных состояний. Терапия, направленная на стимуляцию продукции эндогенного Клото, возможна только на ранних стадиях ХБП. Последние исследования показали, что ангиотензин II способствует развитию заболеваний почек за счет снижения экспрессии *Клото* в почках [93], поэтому его блокада может иметь терапевтический эффект [72].

Возможности терапевтического воздействия на ФРФ23

В последние годы предметом пристального изучения исследователей стала возможность коррекции повышенного уровня ФРФ23 у пациентов с терминальными стадиями хронической болезни почек (ХБП). Пациенты с ХБП находятся в группе повышенного риска развития сердечно-сосудистых осложнений. Основным прогностическим маркером кардиоваскулярных осложнений является кальцификация сосудов, ассоциированная со значительным повышением их жесткости [94], гипертрофией левого желудочка [95]. В дополнение к «классическим» (т.е. сахарный диабет, артериальная гипертензия, дислипидемия, пожилой возраст) выделены «неклассические» факторы риска сердечно-сосудистых событий и смертности у пациентов с ХБП: нарушения минерального обмена (гиперкальциемия [96], гиперфосфатемия [97]), гормональный дисбаланс (например, вторичный гиперпаратиреоз [98]), повышенный уровень ФРФ23 в сыворотке крови. В исследованиях показана корреляция повышенного уровня ФРФ23 с прогрессированием почечной недостаточности [99], гипертрофией левого желудочка [100], частотой неблагоприятных сердечно-сосудистых событий [101] и смертностью [100,102] у пациентов с ХБП, независимо от уровня фосфатов крови. Кроме того, увеличение ФРФ23 связано с развитием минерально-костных нарушений у пациентов с ХБП. Поэтому возможность фармакологического влияния непосредственно на ФРФ23 представляется обоснованной в комплексной терапии ХБП.

В 2012 году было проведено исследование эффективности применения антител к ФРФ23 у пациентов с хронической почечной недостаточностью [5]. Лечение антителами к ФРФ23 привело к повышению уровня кальция, витамина D, фосфатов крови и снижению уровня ПТГ. Однако, смертность на этом фоне увеличилась, что было связано с внутрисосудистой кальцификацией и гиперфосфатемией. Гиперкальциемия, и гиперфосфатемия связаны с увеличением всасывания электролитов в ЖКТ на фоне повышения уровня витамина D. В этом же исследовании выявили положительное влияние антител к ФРФ23 на костную минерализацию, что вероятнее всего было связано с опосредованным действием антител к ФРФ23 через увеличение уровня активного витамина D в сыворотке крови и уменьшением уровня ПТГ [5].

В 2015 году проводилось исследование эффективности антител к ФРФ23 на мышинной модели ХБП с оценкой костной минерализации [103], которое также показало улучшение качества кости на фоне лечения. В ходе данного эксперимента у мышей наблюдалось снижение уровня ПТГ, увеличение уровня витамина D, кальция, фосфора в сыворотке крови, а также нормализация костных маркеров. Однако использование антител к ФРФ23 при ХБП может усугубить

гиперфосфатемии и, возможно, гиперкальциемии в результате увеличения $1,25(\text{OH})_2\text{D}$, как было показано в исследовании на ФРФ23-дефицитных мышах.

Более показательным в отношении эффективности действия антител к ФРФ23 стало рандомизированное клиническое исследование влияния антител к ФРФ23 при X-связанном гипофосфатемическом рахите [6]. Пациентам с данной патологией проводилась однократная инъекция KRN23. KRN23 представляет собой рекомбинантный человеческий IgG₁ моноклональное антитело, которое, связываясь с ФРФ23, блокирует его биологическую активность. На фоне лечения у пациентов отмечалось клинически значимое увеличение фосфатов крови, причем гиперфосфатемии не наблюдалось. Витамин D также повышался, уровень кальция крови значимо не поднимался и не отличался от контрольной группы. Уровень ПТГ не увеличивался. Предполагается, что введение KRN23 1 раз в месяц станет оптимальной патогенетической терапией X-связанного гипофосфатемического рахита.

Общие сведения об остеокальцине

Остеокальцин – костно-специфический белок неколлагенового ряда, состоящий из 46-50 (обычно 49) аминокислот, который претерпевает посттрансляционные изменения путем витамин К-зависимого γ -карбоксилирования тремя остатками глутаминовой кислоты. Его синтез происходит в остеобластах посредством экспрессии гена *BGLAP*, напрямую стимулируется витамином D. ПТГ тоже стимулирует продукцию остеокальцина, связываясь с рецептором PTH1R и активируя цАМФ-зависимую протеинкиназу A, запуская тем самым внутриклеточный сигнальный путь [104,105]. Вновь синтезируемый остеокальцин встраивается в костный матрикс и лишь небольшое его количество выделяется в циркуляцию, отражая позднюю стадию костеобразования. Уровень остеокальцина в сыворотке крови показывает сильную корреляционную зависимость с активностью костеобразования, полученного при гистоморфометрии кости и исследованиях кинетики кальция [106,107].

Остеокальцин в регуляции углеводного и энергетического обмена

Исследователи долго не могли определить функциональную роль остеокальцина для скелета. Первоначально считалось, что остеокальцин нужен для минерализации костной ткани. Однако исследования на генетически модифицированных животных (не экспрессирующих остеокальцин) не продемонстрировали тяжелых нарушений минерализации. Мыши с заблокированным геном *остеокальцина* демонстрировали клиническую картину ожирения, сахарного диабета и лишь небольшую остеопению [108]. Первые наблюдения фенотипа мышей с нулевой экспрессией остеокальцина долгое время оставались без объяснения. Однако затем в серии экспериментов было показано, что у мышей, «нулевых» по гену *Esp* (также известный как *Ptprv* [109]), кодирующему синтез тирозинфосфатазы остеостимуляторного белка (OST-PTP), имеются отличия, в частности, наблюдалось высокая смертность у новорожденных, вызванная тяжелой гипогликемией [109-112]. Обследование выживших мышей показало увеличение размеров панкреатических островков, числа β -клеток и уровня циркулирующего инсулина, рост чувствительности к инсулину, несмотря на гипогликемию, снижение количества жировой ткани и усиление экспрессии генов-мишеней инсулина в печени и мышцах [112]. Так как фенотип этих животных был прямо противоположным по сравнению к генетически модифицированным мышам «нулевыми» по остеокальцину, последние были обследованы повторно. При этом обнаружено усиление висцерального ожирения, нарушения толерантности к глюкозе, уменьшение уровня инсулина в крови и пролиферации островковых

клеток. Этот фенотип был аналогичен таковому у мышей с повышенной экспрессией *OST-PTP* в остеобластах. Таким образом, при генетических исследованиях, проводившихся на мышах, было установлено, что остеокальцин воздействует на β -клетки поджелудочной железы, усиливает выработку инсулина, и повышает утилизацию глюкозы в них за счет улучшения чувствительности к инсулину [109]. Рецепторов к самому остеокальцину не было обнаружено, но белок может изменять активность широко представленного G-белок-связанного рецептора — GPRC6A [110, 111]. Биологической активностью обладает декарбокислированная форма остеокальцина. Несмотря на то, что определение циркулирующего остеокальцина различными методиками не стандартизовано и затруднено ввиду гетерогенности его фрагментов, доля декарбокислированного остеокальцина оценивается более чем в 50% от общего остеокальцина в образцах сыворотки здоровых людей [111]. В дальнейшем в ходе экспериментов *in vitro* с остеокальцин-продуцирующими остеобластами было установлено, что указанный белок усиливает продукцию инсулина островками и повышает чувствительность к инсулину.

Дальнейшее изучение роли остеокальцина было проведено с использованием клеточных технологий; лечение нормальных (немутантных) мышей *in vivo* с применением генно-инженерного декарбокислированного остеокальцина обнаружило возрастные количества панкреатических β -клеток, секреции инсулина, расхода энергии и чувствительности к инсулину [112]. В ходе исследований с генетически модифицированными животными было установлено ингибирование лептином секреции инсулина посредством снижения выработки биоактивного (декарбокислированного) остеокальцина [113]. Избирательная блокада симпатергических сигнальных путей в остеобластах привела к лептин-зависимому усилению секреции инсулина [114]. Та же самая генетическая манипуляция/модификация была ассоциирована со сниженной продукцией OST-PTP, фермента, подавляющего активность остеокальцина, что в дальнейшем приводило к нарастанию гиперинсулинемии [114].

В подтверждение этому, результаты некоторых (но не всех) эпидемиологических исследований у человека показали обратную связь между общей концентрацией остеокальцина в сыворотке крови и уровнем гликемии, а также выраженностью ожирения [115]. Тем не менее, в нескольких исследованиях, где оценивалась концентрация декарбокислированных форм остеокальцина, не было показано подобных связей между декарбокислированными формами остеокальцина и уровнем глюкозы или ожирением [115]. Различия в строении генов остеокальцина (один ген человека сопоставим с тремя генами мышей), его концентрации и метаболизме у человеческих и мышных особей могут объяснить это несоответствие [115]. Сложная связь между уровнем витамина К и остеокальцина может иметь другой характер. Увеличение витамина К приводило к снижению концентрации декарбокислированных форм остеокальцина [115,116], однако оказывало неодинаковое влияние на метаболизм глюкозы по данным ограниченного количества исследований у людей [115]. Кроме того, не имеется никаких точных сведений о влиянии на энергетический обмен перорального антагониста витамина К - варфарина.

С другой стороны, в двух исследованиях у пациентов с сахарным диабетом уровни остеокальцина крови были значительно ниже по сравнению со здоровым контролем. Концентрация остеокальцина была обратно пропорциональна жировой массе и уровню глюкозы крови [117,118]. У женщин в постменопаузе с сахарным диабетом 2 типа уровни остеокальцина были значительно ниже по сравнению с контрольной группой [119], и в исследовании эффектов гиперкалорийной диеты и физической активности уровни остеокальцина в плазме прямо соотносились с чувствитель-

ностью к инсулину и обратно — с уровнем триглицеридов в плазме крови натошак [120]. Важно отметить, что при анализе уровня остеокальцина во всех указанных исследованиях использовался общий — не только декарбокислированный — остеокальцин, в то время как именно декарбокислированная форма гормона оценивалась в исследованиях на мышцах. Таким образом, неизвестно, как декарбокислированный остеокальцин участвует в регуляции энергетического обмена и является ли не- γ -карбокислированный остеокальцин гормонально активным у человеческих особей. Данный вопрос требует разрешения с помощью использования диагностических наборов с возможностью определения двух форм остеокальцина.

Остеокальцин и репродуктивная функция у мужчин

Экспериментальные исследования у животных, по аналогии с исследованиями, посвященными энергетическому обмену, продемонстрировали биологические эффекты остеокальцина на мужские половые гонады. Мыши с заблокированными генами *Esp*^{-/-} и *Ocn*^{-/-}, что в свою очередь демонстрирует избыточную или отсутствие продукции остеокальцина, принципиально отличались по продукции тестостерона. Мужские особи мышей с дефицитом остеокальцина демонстрировали низкую репродуктивную активность, что ассоциировалось со сниженным объемом яичек и семенных везикул, а также 50% снижением количества сперматозоидов [121-123]. У женских особей мышей нарушений со стороны репродуктивной системы не наблюдалось. Вместе с тем, особи мышей с генотипом *Esp*^{-/-} имели увеличенный объем яичек и 30% увеличение количества сперматозоидов. При этом изолированное удаление гена остеокальцина клеток Лейдига не приводило к таким же изменениям, что свидетельствует о прямом вовлечении скелета в эндокринную регуляцию половой функции мужчин. Модели мышей с заблокированным геном остеокальцина, продуцируемого остеообластами, демонстрировали значительное ухудшение созревание клеток Лейдига и сниженный синтез тестостерона. Уровень андрогенов в периферической крови был значимо снижен у *Ocn*^{-/-} мышей и повышен у *Esp*^{-/-} животных. Последующие исследования, показали, что остеокальцин увеличивает продукцию цАМФ в клетках Лейдига путем воздействия на тот же, что и в поджелудочной железе - G-белок-связанный рецептор - GPRC6A. Этот рецептор не экспрессируется в тканях яичников, и женские половые гонады остаются нечувствительными к остеокальцину. В подтверждение этой гипотезы делеция гена *GPRC6A* в клетках Лейдига приводила к уменьшению фертильности мужских особей и снижению уровня тестостерона. Взаимодействие остеокальцина с рецептором GPRC6A обеспечивает синтез ферментов через механизм CREB, необходимых для продукции тестостерона клетками Лейдига. Однако эти исследования не доказывают сохраняются ли подобные регуляторные механизмы у человека.

Вместе с тем, было проведено несколько клинических исследования у человека, которые в целом поддерживают гипотезу эндокринных эффектов остеокальцина на мужскую репродукцию [123,124,125]. В первом исследовании у молодых мужчин в период роста скелета уровень остеокальцина статистически значимо коррелировал с уровнем тестостерона, что также было связано с увеличением периростального костеобразования по данным pQCT лучевой кости, выполненного за период терапии. Такая же корреляция наблюдалась с уровнем декарбокислированного остеокальцина. Максимальная сила корреляции между остеокальцином и тестостероном была в возрасте 11-14 лет, то есть в период максимального роста скелета. В этот период увеличение уровня остеокальцина (ввиду быстрого роста скелета) может больше стимулировать продукцию тестостеро-

на, что в свою очередь, еще усиливает набор пика костной массы. Можно предположить, что это объясняет больший размер скелета у мужчин по сравнению с женщинами при одинаковой плотности костной ткани [130]. В различных исследованиях, проведенных у пациентов с сахарным диабетом 2 типа циркулирующий декарбокислированный остеокальцин демонстрировал прямую положительную зависимость с уровнем свободного тестостерона (даже после коррекции на ФСГ и ЛГ) и отрицательную зависимость с гликированным гемоглобином. Корреляционная зависимость между уровнем остеокальцина и тестостерона была выявлена в когорте мужчин (n=1338) в возрасте 25-86 лет, независимо от наличия или отсутствия диабета, также как и в меньшей популяции пациентов с патологией костной ткани [126].

Таким образом, костная ткань является активным секреторным органом, вовлеченным в процессы регуляции фосфорно-кальциевого обмена, энергетического обмена и продукции тестостерона у мужчин. Эндокринная активность фактора роста фибробластов 23 доказана у человека при изучении врожденных генетических дефектов, сопряженных с нарушением обмена фосфора и приобретенной эктопической продукцией ФРФ23 опухолью. Дальнейшие исследования в этой области имеют широкий терапевтический потенциал.

Генетические исследования на моделях животных привнесли новую концепцию регуляции углеводного обмена, согласно которой остеокальцин, секретлируемый остеообластами способствует усилению продукции инсулина, выживанию бета-клетки, увеличению чувствительности тканей к инсулину и уменьшению висцерального жира у мужчин и женщин. Кроме того, остеокальцин способствует увеличению продукции тестостерона у мужчин. Хотя эффекты остеокальцина только частично были подтверждены у человека, очевидна необходимость продолжения исследований в этой области для оценки клинического значения определения уровня остеокальцина или его декарбокислированной формы у пациентов с диабетом или другими метаболическими заболеваниями.

SUMMARY

This review discusses the recent evidence showing that the skeleton itself produces at least two hormones: fibroblast growth factor 23 (FGF23) and osteocalcin.

FGF23 is secreted by osteocytes in bone and acts on the kidney to inhibit 1-alpha-hydroxylation of vitamin D and promote phosphorous excretion. The affinity of FGF23 to FGF receptor is low, but FGF23 binds to FGF receptor-Klotho complex with more affinity. Therefore, Klotho determines the kidney-specific action of FGF23. Increase in FGF23 or Klotho levels due to genetic defects or ectopic production results in low serum phosphorous levels in humans. Contrary to this, low FGF23 or Klotho levels lead to hypophosphatemia and ectopic calcification.

Mouse genetics studies revealed that osteoblast product, osteocalcin, in its undercarboxylated stage acts on the pancreatic beta-cells to enhance insulin production and on peripheral tissues to increase glucose utilization as a result of increased insulin sensitivity and to reduce visceral fat. In addition to this, undercarboxylated osteocalcin may also have another hormonal role, this time as a mediator of testosterone secretion. Osteocalcin was shown to induce testosterone production in Leydig cells of the testes both in ex vivo and in vivo studies. In both localizations, at the pancreas and at the testes osteocalcin acts through the GPCR6A receptor; this activates the cAMP response element-binding protein signaling pathway.

Thus, this review reports the recent studies indicating bone's role as an endocrine organ.

Keywords: fibroblast growth factor 23, osteocalcin, bone, hypophosphatemia, Klotho, vitamin D.

ЛИТЕРАТУРА

1. Дедов И.И., Мельниченко Г.А., Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я.: «Остеопороз — от редкого симптома эндокринных болезней до безмолвной эпидемии 20-21 века»// Ж. Проблемы Эндокринологии, 2011, том 57, стр. 35-45,
2. Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Мельниченко Г.А. «Современные представления о действии тиреоидных гормонов и тиреотропного гормона на костную ткань» Ж. Проблемы эндокринологии, 2006 том 52 № 1, стр. 48-54
3. Schwetz V, Pieber V, Obermayer-Pietsch. The endocrine role of the skeleton: background and clinical evidence. *Eur J Endocrinol.* 2012 Jun;166(6):959-67. doi: 10.1530/EJE-12-0030.
4. Fukumoto S, Martin TJ. Bone as an endocrine organ. *Trends Endocrinol Metab.* 2009 Jul;20(5):230-6. doi: 10.1016/j.tem.2009.02.001.
5. Shalhoub V, Shatzken EM, Ward SC. FGF23 neutralization improves chronic kidney disease-associated hyperparathyroidism yet increases mortality. *J Clin Invest.* 2012 Jul 2; 122(7): 2543–2553. doi: 10.1172/JCI61405,
6. Carpenter TO, Imel EA, Ruppe MD et al. Randomized trial of the anti-FGF23 antibody KRN23 in X-linked hypophosphatemia. *J Clin Invest.* 2014 Apr;124(4):1587-97. doi: 10.1172/JCI72829
7. Vervloet MG, Massy ZA, Brandenburg VM. Bone: a new endocrine organ at the heart of chronic kidney disease and mineral and bone disorders. *Lancet Diabetes Endocrinol.* 2014 May;2(5):427-36. doi: 10.1016/S2213-8587(14)70059-2.
8. Yamashita T, Yoshioka M, Itoh N. Identification of a novel fibroblast growth factor, FGF-23, preferentially expressed in the ventrolateral thalamic nucleus of the brain. *Biochem Biophys Res Commun.* 2000 Oct 22;277(2):494-8.
9. Goetz R, Beenken A, Ibrahim OA. Molecular insights into the klotho-dependent, endocrine mode of action of fibroblast growth factor 19 subfamily members. *Mol Cell Biol.* 2007 May;27(9):3417-28.
10. Martin A, Quarles LD. Evidence for FGF23 involvement in a bone-kidney axis regulating bone mineralization and systemic phosphate and vitamin D homeostasis. *Adv Exp Med Biol.* 2012;728:65-83. doi: 10.1007/978-1-4614-0887-1_4.
11. Hu MC, Kuro-o M, Moe OW. Secreted klotho and chronic kidney disease. *Adv Exp Med Biol.* 2012;728:126-57. doi: 10.1007/978-1-4614-0887-1_9.
12. Urakawa I, Yamazaki Y, Shimada T et al. Klotho converts canonical FGF receptor into a specific receptor for FGF23. *Nature.* 2006 Dec 7;444(7120):770-4. Epub 2006 Oct 29.
13. Yu X, Ibrahim OA, Goetz R. Analysis of the biochemical mechanisms for the endocrine actions of fibroblast growth factor-23. *Endocrinology.* 2005 Nov;146(11):4647-56.
14. Li SA, Watanabe M, Yamada H et al. Immunohistochemical localization of Klotho protein in brain, kidney and reproductive organs of mice. *Cell Struct Funct.* 2004 Dec;29(4):91-9.
15. Yamazaki Y, Tamada T, Kasai N. Anti-FGF23 neutralizing antibodies show the physiological role and structural features of FGF23. *J Bone Miner Res* 2008; 23(9):1509-18.
16. John G.B., Cheng C.Y., Kuro-o M. Role of Klotho in aging, phosphate metabolism, and CKD. *Am J Kidney Dis.* 2011 Jul;58(1):127-34. doi: 10.1053/j.ajkd.2010.12.027.
17. Martin A., David V., Darryl Quarles L. Regulation and function of the FGF23/Klotho endocrine pathways. *Physiol Rev.* 2012 Jan;92(1):131-55. doi: 10.1152/physrev.00002.2011.
18. Oliveira R.B., Cancela A.L.E., Gracioli F.G. Early control of PTH and FGF23 in normophosphatemic CKD patients: a new target in CKD-MBD therapy? *Clin J Am Soc Nephrol.* 2010 Feb;5(2):286-91. doi: 10.2215/CJN.05420709.
19. Kuro-o M, Matsumura Y, Aizawa H. Mutation of the mouse klotho gene leads to a syndrome resembling ageing. *Nature.* 1997 Nov 6;390(6655):45-51.
20. Мелентьева А.А., Барышева О.Ю., Везикова Н.Н. и др. Роль фактора роста фибробластов 23 и фактора Klotho в развитии минерально-костных нарушений при хронической болезни почек. Курский научно-практический вестник “Человек и его здоровье”. 2014. № 3. С. 102-109.
21. Ben-Dov IZ, Galitzer H, Lavi-Moshayoff V. The parathyroid is a target organ for FGF23 in rats. *J Clin Invest.* 2007 Dec;117(12):4003-8.
22. Wang H, Yoshiko Y, Yamamoto R. Overexpression of fibroblast growth factor 23 suppresses osteoblast differentiation and matrix mineralization in vitro. *J Bone Miner Res* 2008; 23(6):939-48.
23. Liu S, Zhou J, Tang W. Pathogenic role of Fgf23 in Hyp mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2006; 291(1):E38-49.
24. Shimada T, Kakitani M, Yamazaki Y. Targeted ablation of Fgf23 demonstrates an essential physiological role of FGF23 in phosphate and vitamin D metabolism. *J Clin Invest* 2004; 113(4):561-8.
25. Sitara D, Razzaque MS, Hesse M. Homozygous ablation of fibroblast growth factor-23 results in hyperphosphatemia and impaired skeletogenesis and reverses hypophosphatemia in PheX-deficient mice. *Matrix Biol* 2004; 23(7):421-32.
26. Hesse M, Fröhlich LF, Zeitl U. Ablation of vitamin D signaling rescues bone, mineral and glucose homeostasis in Fgf-23 deficient mice. *Matrix Biol* 2007; 26(2):75-84.
27. Sitara D, Razzaque MS, St-Arnaud R. Genetic ablation of vitamin d activation pathway reverses biochemical and skeletal anomalies in fgf-23-null animals. *Am J Pathol* 2006; 169(6):2161-70.
28. Stubbs J, Liu S, Tang W et al. Role of Hyperphosphatemia and 1,25(OH)2D3 in Vascular Calcifications and Mortality in FGF23 Null Mice. *J Am Soc Nephrol* 2007; 17:689A.
29. Yilmaz MI, Sonmez A, Saglam M. Comparison of calcium acetate and sevelamer on vascular function and fibroblast growth factor 23 in CKD patients: a randomized clinical trial. *Am J Kidney Dis* 2012; 59: 177–85.
30. Jovanovich A, Ix JH, Gottdiener J, et al. Fibroblast growth factor 23, left ventricular mass, and left ventricular hypertrophy in community-dwelling older adults. *Atherosclerosis* 2013; 231: 114–19.
31. The HYP Consortium. A gene (PEX) with homologies to endopeptidases is mutated in patients with X-linked hypophosphatemic rickets. *Nat Genet.* 1995 Oct;11(2):130-6.
32. Feng JQ, Ward LM, Liu S et al. Loss of DMP1 causes rickets and osteomalacia and identifies a role for osteocytes in mineral metabolism. *Nat Genet.* 2006 Nov;38(11):1310-5.
33. Lorenz-Depiereux B, Bastepe M, Benet-Pagès A. DMP1 mutations in autosomal recessive hypophosphatemia implicate a bone matrix protein in the regulation of phosphate homeostasis. *Nat Genet.* 2006 Nov;38(11):1248-50.
34. Riminucci M, Collins MT, Fedarko NS. FGF-23 in fibrous dysplasia of bone and its relationship to renal phosphate wasting. *J Clin Invest.* 2003 Sep;112(5):683-92.
35. Bai XY, Miao D, Goltzman D. The autosomal dominant hypophosphatemic rickets R176Q mutation in fibroblast growth factor 23 resists proteolytic cleavage and enhances in vivo biological potency. *J Biol Chem* 2003; 278(11):9843-9.
36. Benet-Pagès A, Lorenz-Depiereux B, Zischka H. FGF23 is processed by proprotein convertases but not by PHEX. *Bone* 2004; 35(2):455-62.
37. Lyles KW, Burkes EJ, Ellis GJ. Genetic transmission of tumoral calcinosis: autosomal dominant with variable clinical expressivity. *J Clin Endocrinol Metab* 1985; 60(6):1093-6.
38. Benet-Pagès A, Orlik P, Strom TM. An FGF23 missense mutation causes familial tumoral calcinosis with hyperphosphatemia. *Hum Mol Genet.* 2005 Feb 1;14(3):385-90
39. Ichikawa S, Imel EA, Kreiter ML et al. A homozygous missense mutation in human KLOTHO causes severe tumoral calcinosis. *J Clin Invest.* 2007 Sep;117(9):2684-91.
40. Topaz O, Shurman DL, Bergman R. Mutations in GALNT3, encoding a protein involved in O-linked glycosylation, cause familial tumoral calcinosis. *Nat Genet.* 2004 Jun;36(6):579-81. Epub 2004 May 9.
41. Razzaque MS, Sitara D, Taguchi T. Premature aging-like phenotype in fibroblast growth factor 23 null mice is a vitamin D-mediated process. *FASEB J* 2006; 20(6):720-2.

42. Liu S, Tang W, Zhou J. Fibroblast growth factor 23 is a counter-regulatory phosphaturic hormone for vitamin D. *J Am Soc Nephrol* 2006; 17(5):1305-15.
43. Zhang F, Zhai G, Kato BS. Association between KLOTHO gene and hand osteoarthritis in a female Caucasian population. *Osteoarthritis Cartilage*. 2007 Jun;15(6):624-9.
44. Шутов Е.В. Значение фактора роста фибробластов-23 у больных хронической болезнью почек — обзор современных исследований. *Лечащий врач*. — 2012. — № 8. — С. 12-16.
45. Добронравов В.А. Современный взгляд на патофизиологию вторичного гиперпаратиреоза: роль фактора роста фибробластов 23 и Klotho. *Нефрология*. — 2011. — Т. 15, № 4. — С. 11-20.
46. Милованова Л.Ю., Милованов Ю.С., Козловская Л.В. Нарушения фосфорно-кальциевого обмена при хронической болезни почек III-V стадий. *Клиническая нефрология*. — 2011. — № 1. — С. 58-68.
47. Koizumi M., Komaba H., Nakanishi S. Cinacalcet treatment and serum FGF23 levels in haemodialysis patients with secondary hyperparathyroidism. *Nephrol Dial Transplant*. 2012 Feb;27(2):784-90. doi: 10.1093/ndt/gfr384.
48. Tebben PJ, Singh RJ, Clarke BL. Fibroblast growth factor 23, parathyroid hormone and 1alpha,25-dihydroxyvitamin D in surgically treated primary hyperparathyroidism. *Mayo Clin Proc* 2004; 79(12):1508-13.
49. Kawata T, Imanishi Y, Kobayashi K. Parathyroid hormone regulates fibroblast growth factor-23 in a mouse model of primary hyperparathyroidism. *J Am Soc Nephrol* 2007; 18(10):2683-8.
50. Saji F, Shiizaki K, Shimada S. Regulation of fibroblast growth factor 23 production in bone in uremic rats. *Nephron Physiol* 2009; 111(4):p59-66.
51. Xiao ZS, Crenshaw M, Guo R et al. Intrinsic mineralization defect in Hyp mouse osteoblasts. *Am J Physiol* 1998; 275(4 Pt 1):E700-8.
52. Liu S, Zhou J, Tang W. Pathogenic role of Fgf23 in Dmp1-null mice. *Am J Physiol Endocrinol Metab* 2008; 295(2):E254-61.
53. Liu S, Vierthaler L, Tang W. FGFR3 and FGFR4 do not mediate renal effects of FGF23 in vivo. *J Am Soc Nephrol*. 2008 Dec;19(12):2342-50. doi: 10.1681/ASN.2007121301
54. Ogbureke KU, Fisher LW. Expression of SIBLINGs and their partner MMPs in salivary glands. *J Dent Res* 2004; 83(9):664-70.
55. Goebel S, Lienau J, Rammoser U et al. FGF23 is a putative marker for bone healing and regeneration. *J Orthop Res*. 2009 Sep;27(9):1141-6. doi: 10.1002/jor.20857.
56. Matsumura Y, Aizawa H, Shiraki-Iida T. Identification of the human klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted klotho protein. *Biochem Biophys Res Commun*. 1998; 242(3):626-630.
57. Shiraki-Iida T, Aizawa H, Matsumura Y. Structure of the mouse klotho gene and its two transcripts encoding membrane and secreted protein. *FEBS Lett*. 1998 Mar 6;424(1-2):6-10.
58. Tohyama O, Imuxa A, Iwano A. Klotho is a novel beta-glucuronidase capable of hydrolyzing steroid beta-glucuronides. *J Biol Chem*. 2004 Mar 12;279(11):9777-84
59. Chen CD, Podvin S, Gillespie E. Insulin stimulates the cleavage and release of the extracellular domain of Klotho by ADAM10 and ADAM17. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2007; 104(50):19796-19801.
60. Bloch L, Sineschekova O, Reichenbach D. Klotho is a substrate for alpha-, beta- and gamma-secretase. *FEBS Lett*. 2009; 583(19):3221-3224.
61. Cha SK, Hu MC, Kurosu H. Regulation of renal outer medullary potassium channel and renal K(+) excretion by Klotho. *Mol Pharmacol*. 2009; 76(1):38-46.
62. Cha SK, Ortega B, Kurosu H. Removal of sialic acid involving Klotho causes cell-surface retention of TRPV5 channel via binding to galectin-1. *Proc Natl Acad Sci USA*. 2008; 105(28):9805-9810.
63. Hu MC, Shi M, Zhang J. Klotho: a novel phosphaturic substance acting as an autocrine enzyme in the renal proximal tubule. *FASEB J*. 2010; 24(9):3438-3450.
64. Fukagawa M, Kazama JJ. With or without the kidney: the role of FGF23 in CKD. *Nephrol Dial Transplant*. 2005; 20(7):1295-1298.
65. Weber TJ, Liu S, Indridason OS. Serum FGF23 levels in normal and disordered phosphorus homeostasis. *J Bone Miner Res*. 2003; 18(7):1227-1234.
66. Nakatani T, Sarraj B, Ohnishi M. In vivo genetic evidence for klotho-dependent, fibroblast growth factor 23 (Fgf23)-mediated regulation of systemic phosphate homeostasis. *FASEB J*. 2009; 23(2):433-441.
67. Hu MC, Shi M, Zhang J. Klotho deficiency causes vascular calcification in chronic kidney disease. *J Am Soc Nephrol*. 2011; 22(1):124-136.
68. Jono S, Shioi A, Ikari Y. Vascular calcification in chronic kidney disease. *J Bone Miner Metab*. 2006; 24(2):176-181.
69. London GM. Cardiovascular calcifications in uremic patients: clinical impact on cardiovascular function. *J Am Soc Nephrol*. 2003; 14 Suppl 4(9):S305-S309.
70. Liu H, Fergusson MM, Castilho RM. Augmented Wnt signaling in a mammalian model of accelerated aging. *Science*. 2007; 317(5839):803-806.
71. De Oliveira RM. Klotho RNAi induces premature senescence of human cells via a p53/p21 dependent pathway. *FEBS Lett*. 2006; 580(24):5753-5758.
72. Ming Chang Hu, Makoto Kuro-o, Orson W. Moe. Secreted Klotho and chronic disease. *Adv Exp Med Biol*. 2012 ; 728: 126-157. doi:10.1007/978-1-4614-0887-1_9.
73. Nakamura T, Saito Y, Ohyama Y, et al. Production of nitric oxide, but not prostacyclin, is reduced in klotho mice. *Jpn J Pharmacol*. 2002; 89(2):149-156.
74. Shimada T, Takeshita Y, Murohara T, et al. Angiogenesis and vasculogenesis are impaired in the precocious-aging klotho mouse. *Circulation*. 2004; 110(9):1148-1155.
75. Taniyama Y, Morishita R. Does therapeutic angiogenesis overcome CKD? *Hypertens Res*. 2010; 33(2):114-115.
76. Mu W, Long DA, Ouyang X. Angiotensin over expression is associated with an improvement in chronic kidney injury by an anti-inflammatory mechanism. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2009; 296(1):F145-F152.
77. Westerweel PE, Hoefler IE, Blankestijn PJ. End-stage renal disease causes an imbalance between endothelial and smooth muscle progenitor cells. *Am J Physiol Renal Physiol*. 2007; 292(4):F1132-F1140.
78. Sugiura H, Yoshida T, Kohei J, et al. TGF-β Was Upregulated in Renal Fibrosis Model of Klotho Defect Mouse and Affected Renal Klotho Expression Level (Abstract). *J Am Soc Nephrol*. 2010; 21:376A.
79. Zeisberg M, Hanai J, Sugimoto H, et al. BMP-7 counteracts TGF-beta1-induced epithelial-to-mesenchymal transition and reverses chronic renal injury. *Nat Med*. 2003; 9(7):964-968.
80. Iwano M. EMT and TGF-beta in renal fibrosis. *Front Biosci (Schol Ed)*. 2010; 2:229-238.
81. Sato M, Muragaki Y, Saika S. Targeted disruption of TGF-beta1/Smad3 signaling protects against renal tubulointerstitial fibrosis induced by unilateral ureteral obstruction. *J Clin Invest*. 2003; 112(10):1486-1494.
82. Takeshita K, Yamamoto K, Ito M. Increased expression of plasminogen activator inhibitor-1 with fibrin deposition in a murine model of aging, «Klotho» mouse. *Semin Thromb Hemost*. 2002; 28(6):545-554.
83. Krajcsnik T, Olauson H, Mirza MA. Parathyroid Klotho and FGF-receptor 1 expression decline with renal function in hyperparathyroid patients with chronic kidney disease and kidney transplant recipients. *Kidney Int*. 2010; 78(10):1024-1032.
84. Canalejo R, Canalejo A, Martinez-Moreno JM. FGF23 fails to inhibit uremic parathyroid glands. *J Am Soc Nephrol*. 2010; 21(7):1125-1135.
85. Tomida K, Hamano T, Mikami S, et al. Serum 25-hydroxy vitamin D as an independent determinant of 1-84 PTH and bone mineral density in nondiabetic predialysis CKD patients. *Bone*. 2009; 44(4):678-683.

86. Jassal SK, von Muhlen D, Barrett-Connor E. Measures of renal function, BMD, bone loss, and osteoporotic fracture in older adults: the Rancho Bernardo study. *J Bone Miner Res.* 2007; 22(2): 203–210.
87. Yamazaki Y, Imura A, Urakawa I et al. Establishment of sandwich ELISA for soluble alpha-Klotho measurement: Age-dependent change of soluble alpha-Klotho levels in healthy subjects. *Biochem Biophys Res Commun.* 2010; 398(3):513–518.
88. Appledorn DM, Seregin S, Amalfitano A. Adenovirus vectors for renal-targeted gene delivery. *Contrib Nephrol.* 2008; 159:47–62.
89. Imai E. Gene therapy approach in renal disease in the 21st century. *Nephrol Dial Transplant.* 2001; 16(Suppl 5):26–34.
90. Huang CL. Regulation of ion channels by secreted Klotho: mechanisms and implications. *Kidney Int.* 2010; 77(10):855–860.
91. Kurosu H, Ogawa Y, Miyoshi M. Regulation of fibroblast growth factor-23 signaling by klotho. *J Biol Chem.* 2006; 281(10):6120–6123.
92. Hu MC, Shi M, Zhang J. Klotho deficiency is an early biomarker of renal ischemia-reperfusion injury and its replacement is protective. *Kidney Int.* 2010; 78(12):1240–1251.
93. Mitani H, Ishizaka N, Aizawa T. In vivo klotho gene transfer ameliorates angiotensin II-induced renal damage. *Hypertension.* 2002; 39(4):838–843.
94. London GM, Guerin AP, Marchais SJ, Metivier F, Pannier B, Adda H. Arterial media calcification in end-stage renal disease: impact on all-cause and cardiovascular mortality. *Nephrol Dial Transplant.* 2003; 18(9):1731–1740. doi: 10.1093/ndt/gfg414.
95. Nitta K, et al. Left ventricular hypertrophy is associated with arterial stiffness and vascular calcification in hemodialysis patients. *Hypertens Res.* 2004; 27(1):47–52. doi: 10.1291/hyres.27.47.
96. Chertow GM, Raggi P, Chasan-Taber S, Bommer J, Holzer H, Burke SK. Determinants of progressive vascular calcification in haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2004; 19(6):1489–1496. doi: 10.1093/ndt/gfh125.
97. Block GA, Hulbert-Shearon TE, Levin NW. Association of serum phosphorus and calcium x phosphate product with mortality risk in chronic hemodialysis patients: a national study. *Am J Kidney Dis.* 1998; 31(4):607–617. doi: 10.1053/ajkd.1998.v31.pm9531176.
98. Sambrook PN, Chen JS, March LM. Serum parathyroid hormone is associated with increased mortality independent of 25-hydroxy vitamin d status, bone mass, and renal function in the frail and very old: a cohort study. *J Clin Endocrinol Metab.* 2004; 89(11):5477–5481. doi: 10.1210/jc.2004-0307.
99. Fliser D, Kollerits B, Neyer U. Fibroblast growth factor 23 (FGF23) predicts progression of chronic kidney disease: the Mild to Moderate Kidney Disease (MMKD) Study. *J Am Soc Nephrol.* 2007; 18(9):2600–2608. doi: 10.1681/ASN.2006080936.
100. Gutiérrez OM, Januzzi JL, Isakova T. Fibroblast growth factor 23 and left ventricular hypertrophy in chronic kidney disease. *Circulation.* 2009; 119(19):2545–2552. doi: 10.1161/CIRCULATIONAHA.108.844506
101. Seiler S, Reichart B, Roth D. FGF-23 and future cardiovascular events in patients with chronic kidney disease before initiation of dialysis treatment. *Nephrol Dial Transplant.* 2010; 25(12):3983–3989. doi: 10.1093/ndt/gfq309.
102. Jean G, Terrat JC, Vanel T. High levels of serum fibroblast growth factor (FGF)-23 are associated with increased mortality in long haemodialysis patients. *Nephrol Dial Transplant.* 2009; 24(9):2792–2796. doi: 10.1093/ndt/gfp191.
103. Sun N, Guo Y, Liu W. FGF23 neutralization improves bone quality and osseointegration of titanium implants in chronic kidney disease mice. *Sci Rep.* 2015 Feb 10; 5:8304. doi: 10.1038/srep08304.
104. Lee AJ, Hodges S, Eastell R. Measurement of osteocalcin. *Ann Clin Biochem.* 2000 Jul; 37 (Pt 4):432–46.
105. Белая Ж.Е., Рожинская Л.Я., Мельниченко Г.А., Ильин А.В., Драгунова Н.В., Колесникова Г.С., Бутрова С.А., Трошина Е.А.: Возможности маркера костного обмена — остеокальцина — для диагностики эндогенного гиперкортицизма и вторичного остеопороза. // Ж. Остеопороз и Остеопатии, 2011, № 2, стр. 7–10
106. Delmas PD, Malaval L, Arlot ME. Serum bone Gla-protein compared to bone histomorphometry in endocrine diseases. *Bone.* 1985; 6(5):339–41.
107. Charles P, Poser JW, Mosekilde L. Estimation of bone turnover evaluated by ⁴⁷Ca-kinetics. Efficiency of serum bone gammacarboxyglutamic acid-containing protein, serum alkaline phosphatase, and urinary hydroxyproline excretion. *J Clin Invest.* 1985 Dec; 76(6):2254–8.
108. Ducy P, Desbois C, Boyce B et al. Increased bone formation in osteocalcin-deficient mice. *Nature.* 1996 Aug 1; 382(6590):448–52
109. Lee, N.K. и Karsenty, G. Reciprocal regulation of bone and energy metabolism. *Trends Endocrinol Metab.* 2008 Jul; 19(5):161–6. doi: 10.1016/j.tem.2008.02.006
110. Wellendorph P, Bräuner-Osborne H. Molecular cloning, expression, and sequence analysis of GPRC6A, a novel family C G-protein-coupled receptor. *Gene* 2004; 335: 37–46
111. Lee NK, Sowa H, Hinoi E. Endocrine regulation of energy metabolism by the skeleton. *Cell* 2007; 130: 456–69.
112. Ferron M, Hinoi E, Karsenty G et al. (2008) Osteocalcin differentially regulates beta cell and adipocyte gene expression and affects the development of metabolic diseases in wild-type mice. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Apr 1; 105(13):5266–70. doi: 10.1073/pnas.0711119105
113. Shi Y, Yadav VK, Suda N. Dissociation of the neuronal regulation of bone mass and energy metabolism by leptin in vivo. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2008 Dec 23; 105(51):20529–33. doi: 10.1073/pnas.0808701106
114. Hinoi E, Gao N, Jung DY. The sympathetic tone mediates leptin's inhibition of insulin secretion by modulating osteocalcin bioactivity. *J Cell Biol.* 2008 Dec 29; 183(7):1235–42. doi: 10.1083/jcb.200809113
115. Booth SL, Centi A, Smith SR. The role of osteocalcin in human glucose metabolism: marker or mediator? *Nat Rev Endocrinol* 2013; 9: 43–55.
116. Sokoll LJ, Booth SL, O'Brien ME et al. Changes in serum osteocalcin, plasma phylloquinone, and urinary γ -carboxyglutamic acid in response to altered intakes of dietary phylloquinone in human subjects. *Am J Clin Nutr* 1997; 65: 779–84.
117. Kindblom JM, Ohlsson C, Ljunggren O. Plasma osteocalcin is inversely related to fat mass and plasma glucose in elderly Swedish men. *J Bone Miner Res.* 2009 May; 24(5):785–91. doi: 10.1359/jbmr.081234.
118. Pittas AG, Harris SS, Eliades M. Association between serum osteocalcin and markers of metabolic phenotype. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Mar; 94(3):827–32. doi: 10.1210/jc.2008-1422.
119. Im JA, Yu BP, Jeon JY et al. Relationship between osteocalcin and glucose metabolism in postmenopausal women. *Clin Chim Acta.* 2008 Oct; 396(1-2):66–9. doi: 10.1016/j.cca.2008.07.001
120. Fernández-Real JM, Izquierdo M, Ortega F et al. The relationship of serum osteocalcin concentration to insulin secretion, sensitivity, and disposal with hypocaloric diet and resistance training. *J Clin Endocrinol Metab.* 2009 Jan; 94(1):237–45. doi: 10.1210/jc.2008-0270.
121. Patti A, Gennari L, Merlotti D et al. Endocrine Actions of Osteocalcin. *Int J Endocrinol.* 2013; 2013:846480. doi: 10.1155/2013/846480.
122. Oury F, Sumara G, Sumara O. Endocrine regulation of male fertility by the skeleton. *Cell.* 2011 Mar 4; 144(5):796–809. doi: 10.1016/j.cell.2011.02.004.
123. Kirmani S, Atkinson EJ, Melton LJ 3rd et al. Relationship of testosterone and osteocalcin levels during growth. *J Bone Miner Res.* 2011 Sep; 26(9):2212–6. doi: 10.1002/jbmr.421.
124. Kanazawa I, Tanaka K, Ogawa N et al. Undercarboxylated osteocalcin is positively associated with free testosterone in male patients with type I diabetes mellitus. *Osteoporos Int.* 2013 Mar; 24(3):1115–9. doi: 10.1007/s00198-012-2017-7.
125. Hannemann A, Breer S, Wallaschofski H. Osteocalcin is associated with testosterone in the general population and selected patients with bone disorders. *Andrology.* 2013 May; 1(3):469–74. doi: 10.1111/j.2047-2927.2012.00044.x.
126. Seeman E. Pathogenesis of bone fragility in women and men. *Lancet.* 2002 May 25; 359(9320):1841–50.