

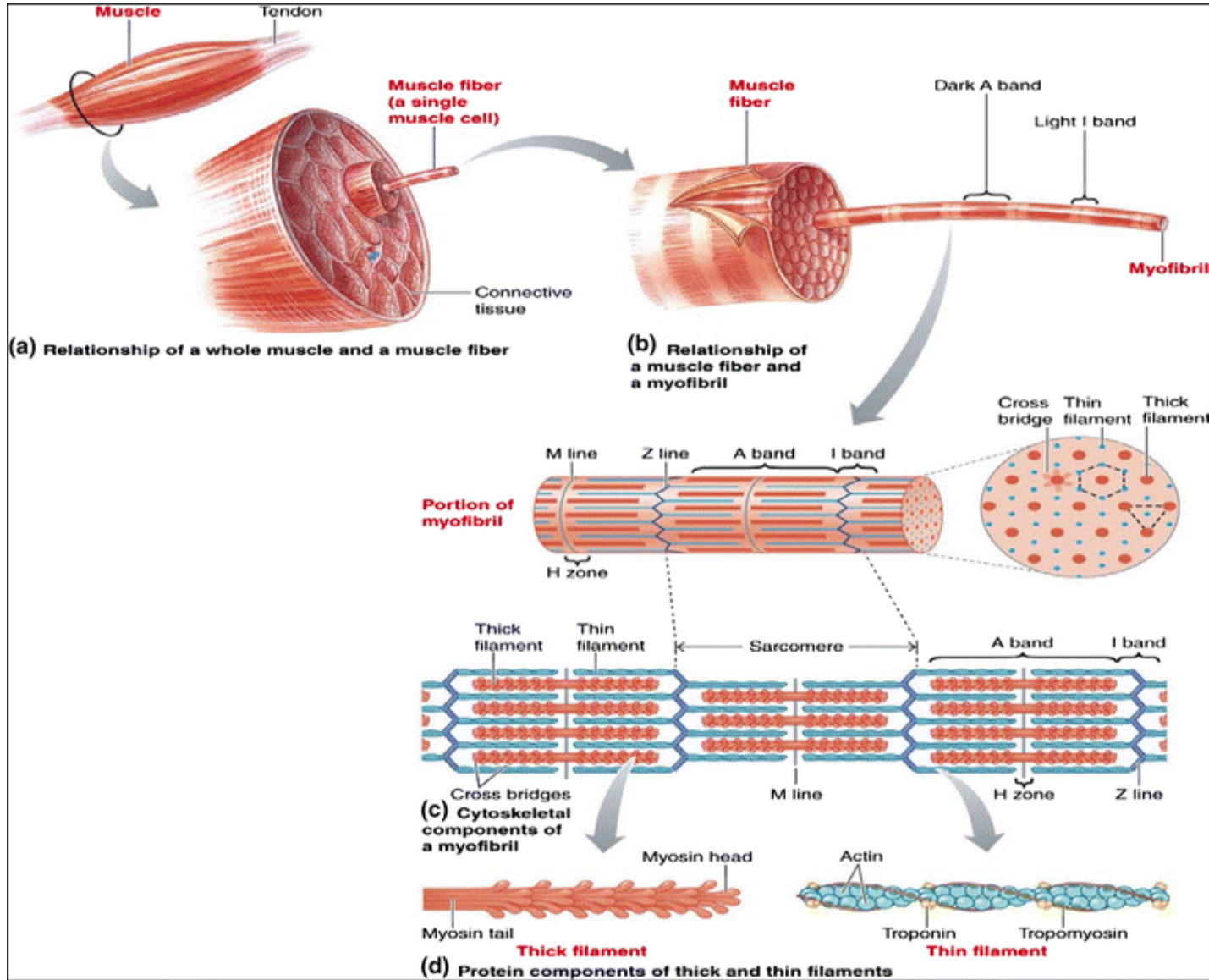
# **Patofyziologie nemocí svalů- sarkopenie, kachexie**

# Svaly

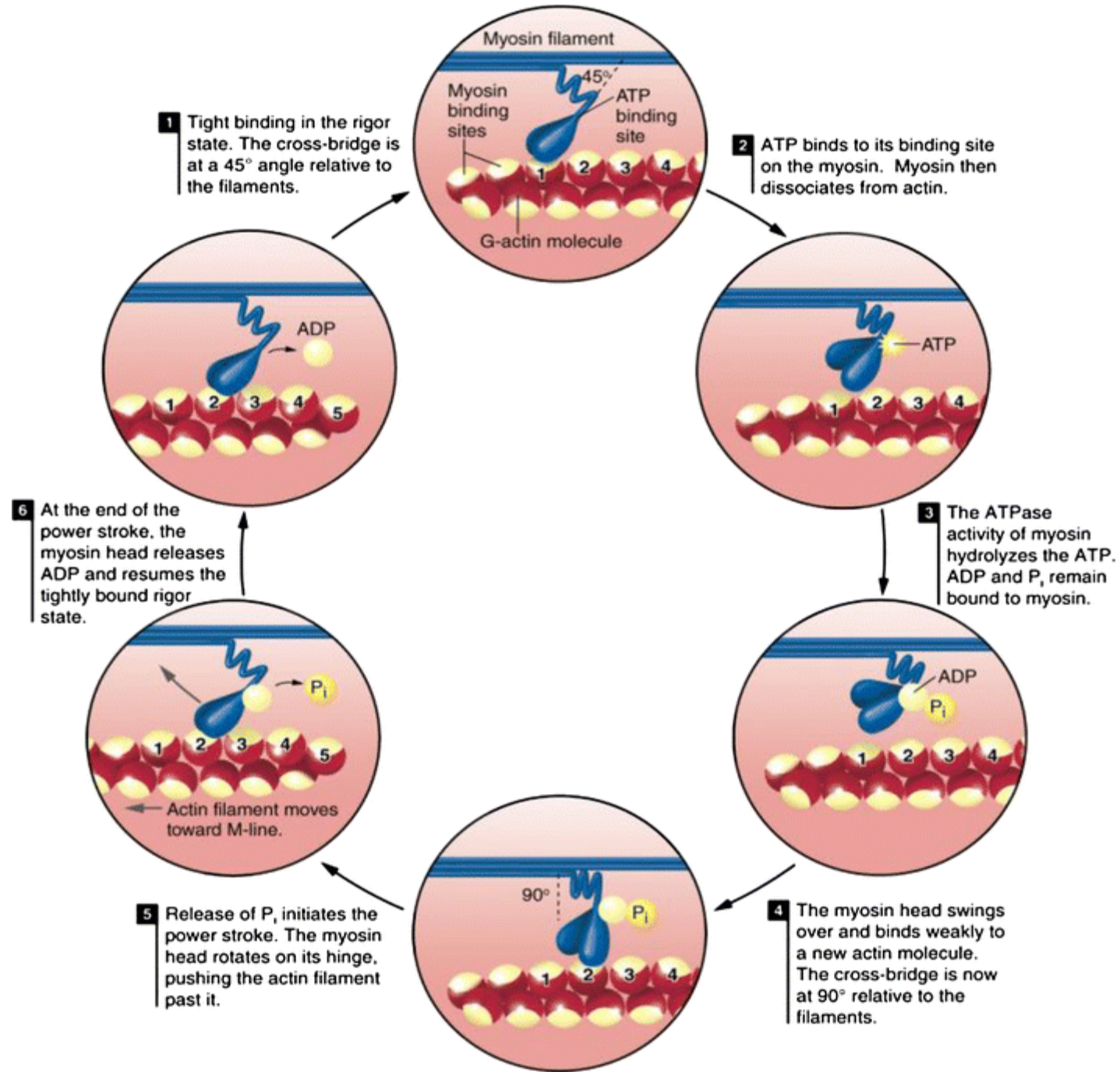
- – **Srdeční**
- – **Kosterní** příčně pruhované
- – **Hladké** (remodelace stěny cév a dýchacích cest, udržují si schopnost proliferace)

# Funkce kosterního svalu

- Kosterní svalstvo je nejobvyklejší orgán lidského těla, zahrnující 30–40% masy lidského těla .
- K naplnění základních funkcí svalstva, jako je pohyb, stabilizace postoje a dýchání potřebuje kosterní svalstvo extenzivní a kontinuální dodávku energie.
- Spotřeba kyslíku ve svalech dosahuje během cvičení až 90% celkové tělesné spotřeby kyslíku.
- Proto mají srdeční a kosterní sval mají zvýšenou oxidativní kapacitu i vyšší obsah mitochondriální DNA ve srovnání s ostatními lidskými tkáněmi.
- Proto lze očekávat excesivní produkci ROS během metabolismu svalové buňky.
- Svalová tkáň slouží společně s játry jako velmi důležitá tkáň regulující metabolismus. Proto potřebuje svalová tkáň výkonnou regulační mašinerii, která zabraňuje buněčnému poškození.
- Svalová tkáň obsahuje 50–75% všech tělesných proteinů a proto vyžaduje těsnou a multimodální regulaci syntézy proteinů a adaptivní odpověď na špatně zavinuté proteiny účinné ve zdraví i při poškození svalu.



Struktura kosterného svalu (From: Raven et al. ; original in Sherwood)



# Funkční souvislosti kosterního svalu

- Potřebné adaptace se projevují změnami velikosti svalu, distribuce svalových vláken, rychlosti kontrakce, produkce síly, kapacity výdrže, což jsou všechno výsledky **adaptace na kontraktální aktivitu**.
- Tato plasticita může zahrnovat krátkodobé i dlouhodobé mechanismy, což vede ke změnám v dostupnosti a aktivitě proteinů. Tyto změny jsou řízeny aktivací a represí specifických intracelulárních signálních cest, které řídí efekторы metabolických cest a transkripčně/translačně mění geny odpovídající na cvičení
- Tyto intracelulární signální mechanismy, které modifikují funkci kosterního svalstva v odpovědi na cvičení, jsou regulovány **výkyvy v homeostáze svalových buněk a alterací v tkáňové perfúzi, pO<sub>2</sub>, redox stavu, dynamice (Ca<sup>2+</sup>) a obratu ATP.**

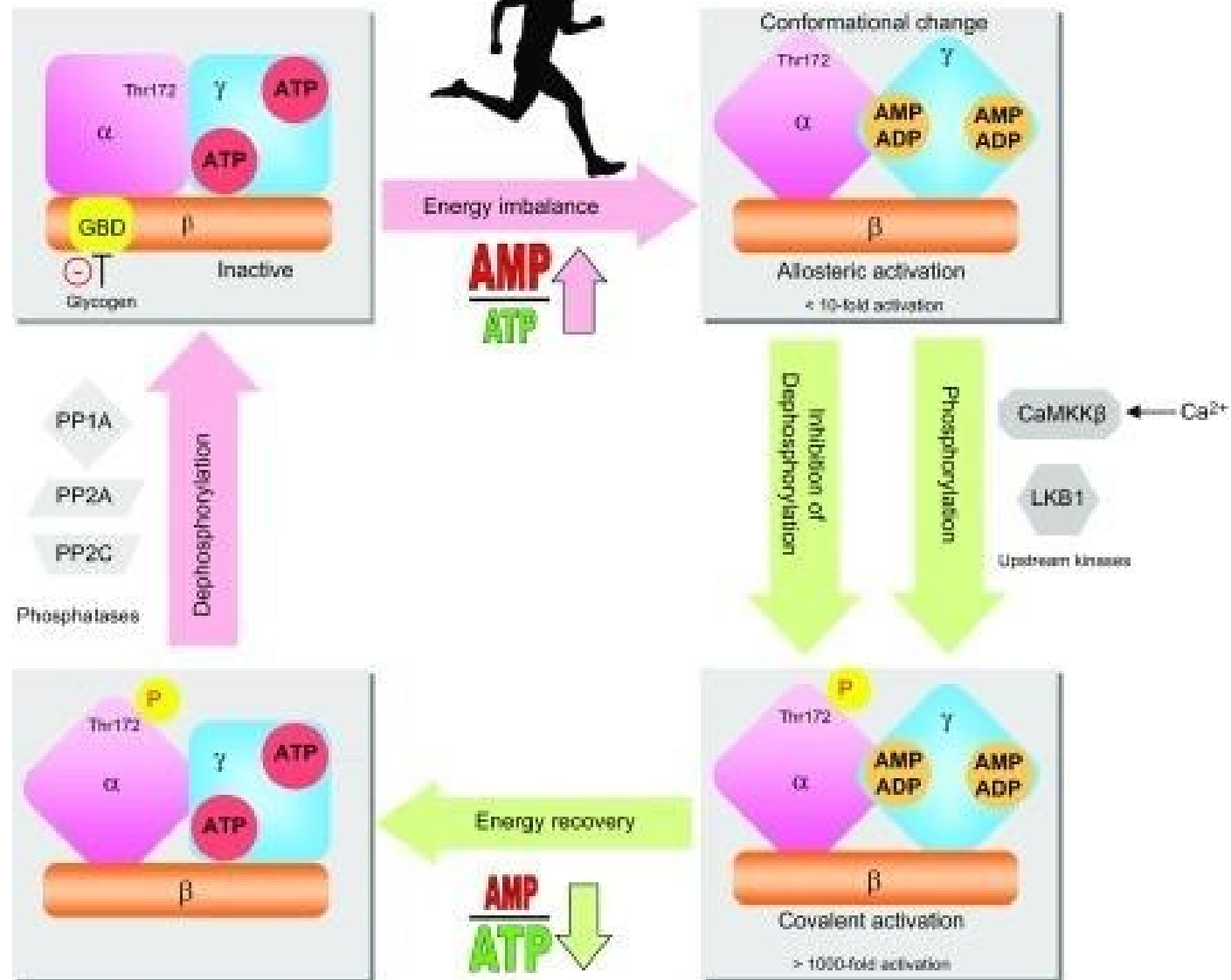
[FASEB J.](#) 2018 Apr; 32(4): 1741-1777

# Funkční souvislosti kosterního svalu

- Obrát ATP se může zvýšit během cvičení více než 100x.
- Protože se během cvičení zvyšuje spotřeba ATP, intracelulární AMP se zvyšuje v důsledku akce adenylát kinázy. To zvyšuje poměr AMP/ATP v buňce a poměr ADP/ATP, což vede k aktivaci AMPK.
- Tato kináza je zřejmě centrálním senzorem intracelulárního energetického stavu a udržuje energetické zásoby regulací anabolických a katabolických cest, čímž udržuje rovnováhu mezi potřebou a spotřebou energie
- Akutní farmakologická aktivace AMPK vede v kosterním svalstvu k podpoře transportu glukózy a oxidaci MK, zatímco syntetáza glykogenu je utlumena stejně jako syntéza proteinů.
- Chronická aktivace AMPK redukuje markery fragility skeletálního svalu a podporuje oxidační kapacitu svalových vláken stimulací mitochondriální biogenezy.
- Tyto procesy jsou iniciovány fosforylací klíčových metabolických enzymů a transkripčních faktorů prostřednictvím AMPK.

[FASEB J.](#) 2018 Apr; 32(4): 1741-1777





**Regulation of AMPK in skeletal muscle during contractile activity.** Exercise induces an energy imbalance in muscle, which leads to a rise in intracellular AMP and ADP concentrations. Binding of ADP and AMP at the Bateman domains of the  $\gamma$  subunit causes a conformational change that activates AMPK by up to 10-fold *via* an allosteric mechanism. This conformational change also triggers Thr172 phosphorylation of the  $\alpha$  catalytic subunit by the upstream LKB1 and protects against dephosphorylation by protein phosphatases, increasing the activity 100-fold. Together the allosteric effect and  $\alpha$ -Thr172 phosphorylation lead to a >1000-fold activation. AMPK is also activated by a rise in the intracellular  $\text{Ca}^{2+}$  concentration through  $\alpha$ -Thr172 phosphorylation catalyzed by CaMKK $\beta$ . After exercise and energy repletion, AMPK is converted back to an inactive form by dephosphorylation catalyzed by protein phosphatases (PP1A, PP2A, and PP2C) and undergoes inhibition by glycogen *via* binding to the GBD of the  $\beta$  subunit.

CaMKK $\beta$ -Ca $^{2+}$ /calmodulin dependent protein kinase kinase beta  
 GBD-glycogen-binding domain (GBD)  
 LKB1-liver kinase B1



# Buněčný stres

- Je relevantní patogenetický faktor mnoha onemocnění.
- Svalové buňky jsou díky své primární funkci prostřednictvím kontraktility, metabolismu a syntézy proteinů vystaveny stálým změnám buněčné homeostázy, které vyžadují přítomnost rychlých a koordinovaných adaptačních mechanismů. U mnoha svalových onemocnění dochází k **deregulaci buněčné stresové odpovědi**

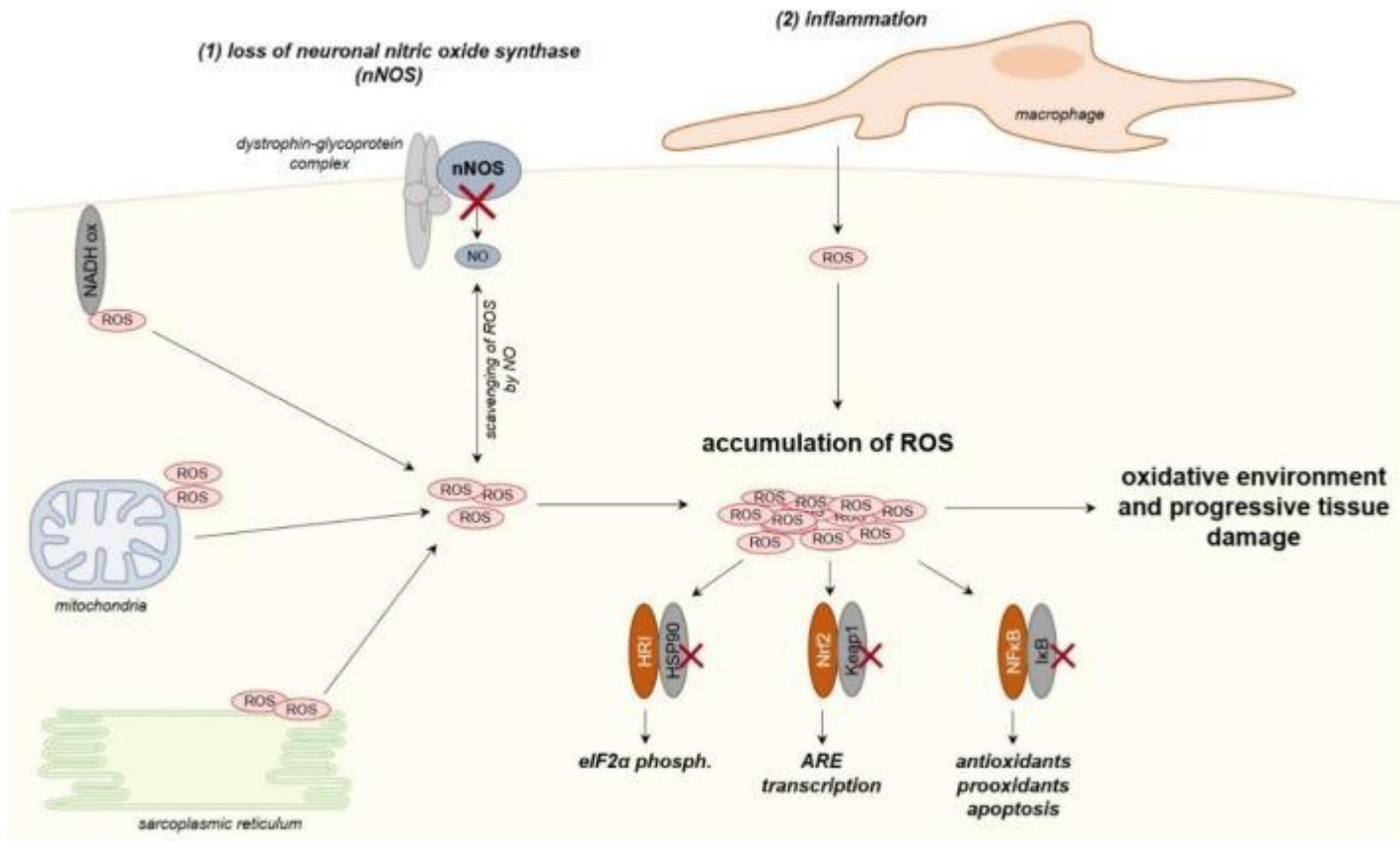
# Celulární buněčná odpověď

–Reakce buněk na externí i interní změny homeostázy prostřednictvím sladění buněčné stresové odpovědi je klíčovým aspektem buněčného přežití a udržení buněčné integrity. V souladu s tímto předpokladem byla **deregulace buněčné stresové odpovědi** identifikována jako relevantní příznak v patogeneze četných lidských onemocnění. Celulární stresová odpověď má zásadní roli v patogeneze četných **kardiovaskulárních, metabolických a neurodegenerativních nemocí.**

[Int J Mol Sci.](#) 2020 Aug; 21(16): 5830.

# Svalová tkáň a oxidativní stres

- Je obecně akceptováno, že svalová tkáň je ohrožena oxidativním stresem, protože produkuje excesivní množství prooxidačních faktorů. Pro kontrakci je potřebná vysoká energetická spotřeba. Za hlavní zdroje ROS se považuje oxidativní fosforylace a buněčné NAD(P)H-oxidázy. Přitom existuje pevné sepětí mezi oxidativním stresem a stresem endoplasmatického retikula (ER).
- Zatímco složitě balancovaný redox stav je nutný pro kvalitní „folding“ proteinů v ER, vlastní zavínování proteinů je asociováno s vysokou produkcí ROS. Takže deregulace antioxidantního systému nebo zavínování proteinů mají na sebe vzájemně zřejmě velký vliv.



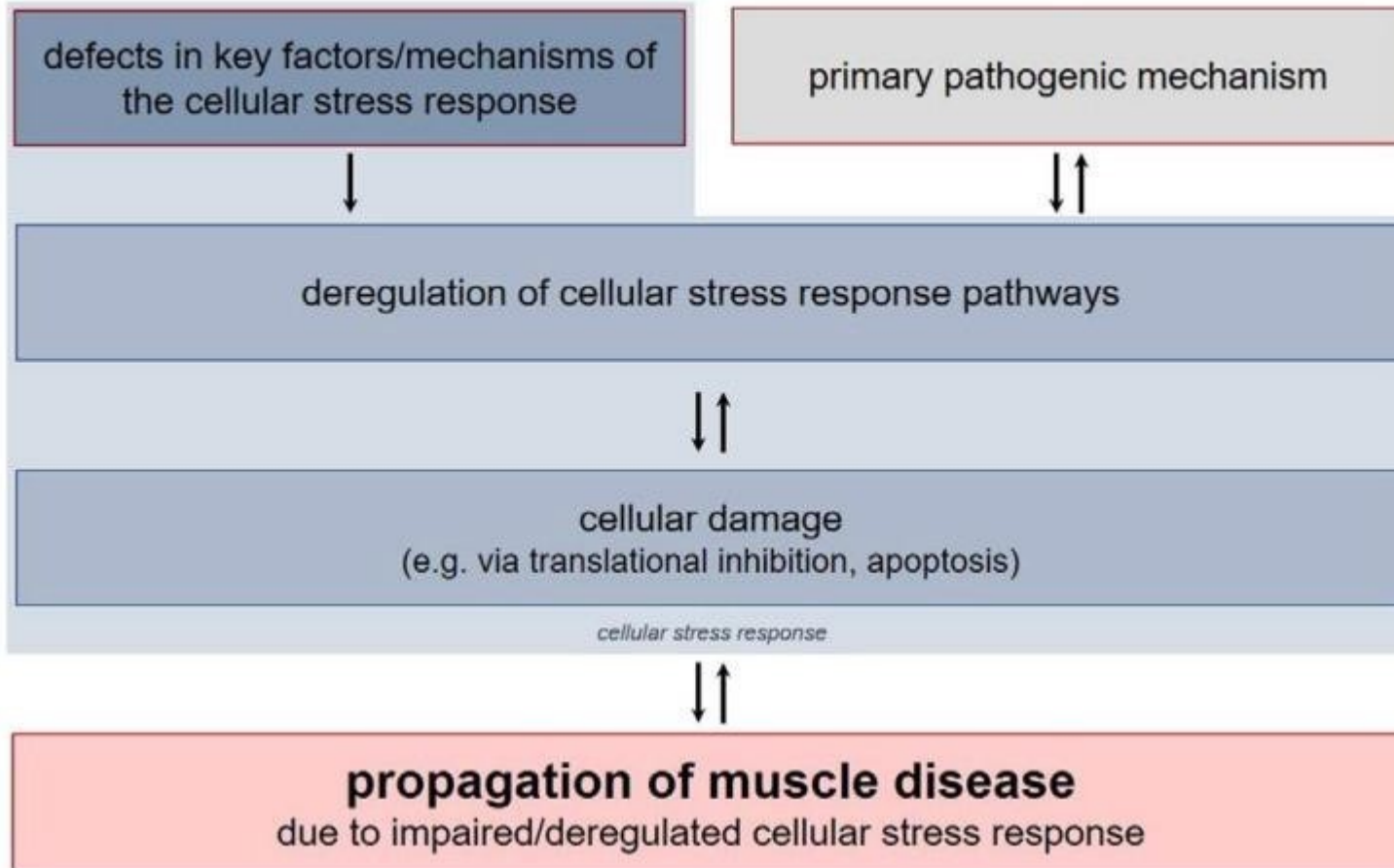
## Oxidativní stres u Duchennovy muskulární dystrofie (DMD)

Vzhledem k dysfunkci dystrophin-glykoproteinového komplexu dochází ke ztrátě neuronální NOS, která produkuje NO radikály vychytávající ROS. V důsledku toho dochází k progresivní akumulaci ROS.

Chronický zánět může použít ROS cestou makrofágy indukované ROS ovlivněné celulární lýzy. To má za následek aktivaci některých cest včetně „Nuclear factor-erythroid 2-related factor 2 (Nrf2)-pathway“ a „NFκB-pathway“.

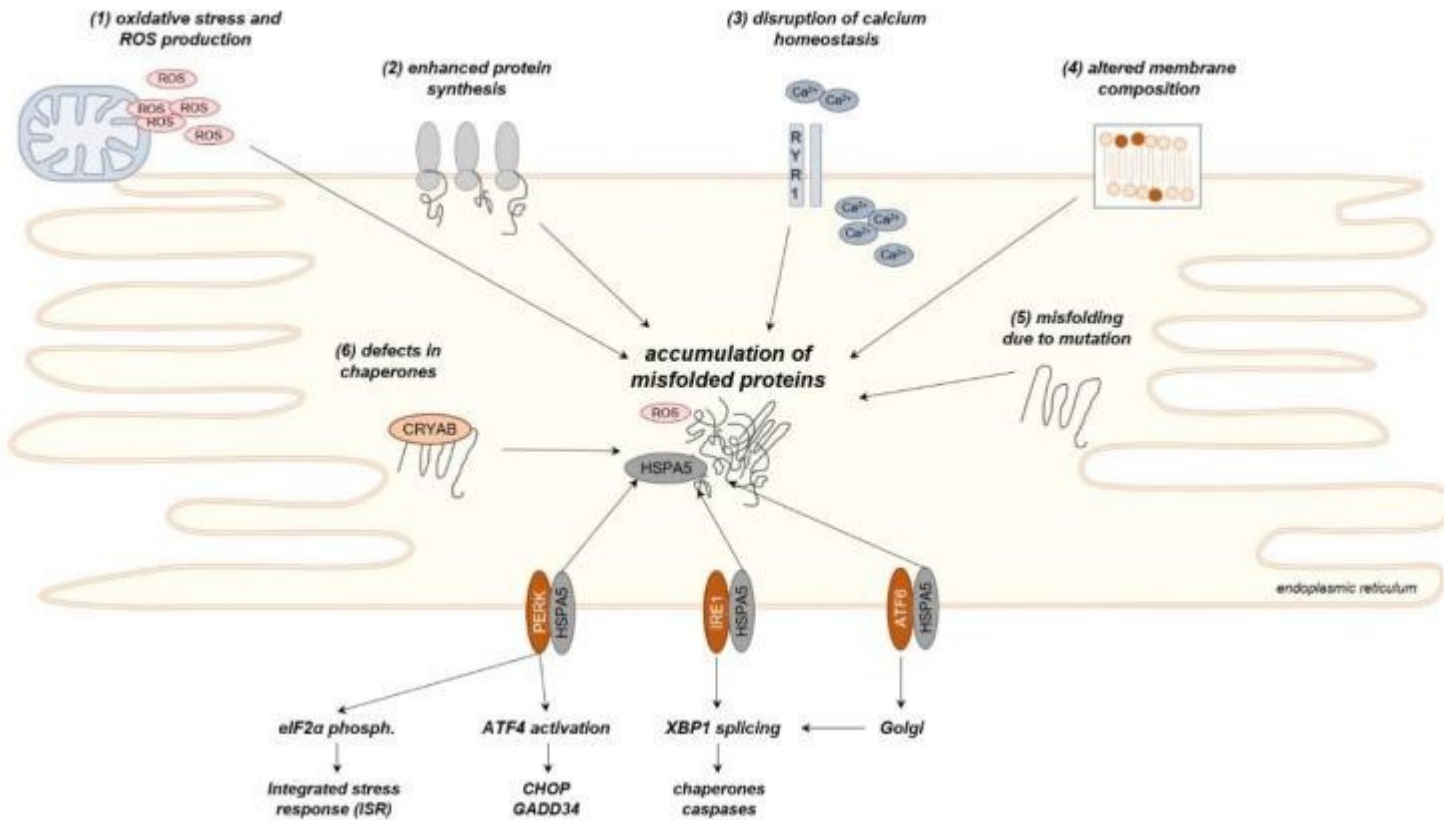
## cause

## consequence



## General principles of stress response-related pathogenesis in muscular disorders

While there are some muscular disorders that emerge from defects in key factors or mechanisms of the cellular stress response (**‘cause’**), in most muscle diseases, the deregulation of cellular stress response pathways arises as result of another pathogenic mechanism (**‘consequence’**).



## Schematic representation of relevant sources and mechanisms of **endoplasmic reticulum (ER)-stress** in muscular disorders

A variety of conditions result in the accumulation of misfolded proteins. HSPA5 dissociates from PERK, inositol-requiring protein 1 (IRE1), and activating transcription factor-6 (ATF6) in order to bind to the misfolded proteins, leading to the activation of several downstream pathways. *ROS* – *Reactive Oxygen Species*.

# ER-stress u muskulárních dystrofií

**Svalové dystrofie** jsou fenotypicky i genotypicky heterogenní skupinou **vrozených muskulárních nemocí**, které mají podobné histopatologické rysy včetně **degenerace/nekrózy, regenerace a fibrózy a vyššího obsahu tukové tkáně** ve svalech. Příčinné genové mutace zahrnují široké spektrum celulárních funkcí, zahrnující **proteiny extracelulární matrix, členy dystrofin-glykoproteinového komplexu, proteiny jaderné obálky a proteiny mitochondriální membrány**.

Jako další relevantní zdroj svalového poškození u četných muskulárních dystrofií byl identifikován **ER-stress**. Diskutuje se o akumulaci nezavinutých proteinů v důsledku somatických mutací strukturálních proteinů, o narušené kapacitě pro zavinutí proteinů v důsledku oxidativního stresu a o produkci ROS stejně jako o změnách v kalciové homeostáze.



# Dystrofinopatie

- Dystrofinopatie jsou prevaletními formami svalových dystrofií.
- **Duchennova muskulární dystrofie (DMD)** je devastující svalové onemocnění, které vede k rychlé progresi svalové slabosti až předčasné smrti .
- Kauzální jsou **mutace v genu pro dystrofin**, komponenty dystrofin-glykoproteinového komplexu, který upevňuje svalovou buňku do extracelulární matrix. To vede k disintegraci struktury svalu a k redukci rezistence na mechanickou zátěž. Jako relevantní faktor se u dystrofinopatií zřejmě uplatňuje také ER-stress a UPR („unfolded protein response“). Na stavu onemocnění se zřejmě podílí také nedokonalá interakce mezi ER a mitochondriemi včetně dysregulace kalciové homeostázy.
- **Beckerova muskulární dystrofie (BMD)** má obvykle lehčí průběh.

# ER –stress u metabolických myopatií

- **Metabolické myopatie** jsou heterogenní skupinou dědičných svalových chorob, které vznikají v důsledku mutací v klíčových enzymech svalového metabolismu. Potenciálně poškozené metabolické cesty zahrnují **glykolýzu, glykogenolýzu, transport mastných kyselin, oxidaci a produkci energie v mitochondriích.**
- Příkladem je **Glycogen storage disease type II (Pompe disease)**, autosomálně recesivní svalové onemocnění charakterizované abnormálním skladováním glykogenu v důsledku **deficitu lysozomální kyselé alfa-glukozidázy (GAA)**. Typickými příznaky jsou progresivní proximální svalová slabost, postižení myokardu a restriční poruchy dýchání.

# ER-stress u myasthenia gravis

- **Myasthenia gravis** je získané autoimunní onemocnění charakteristické svalovou slabostí, která se zhoršuje při pohybu.
- Primární příčinou jsou **autoprotilátky proti složkám neuromuskulárního spojení** (např. protilátky proti acetylcholinovému receptoru, autoprotilátky proti svalově specifickým kinázám), které způsobují podporu excitace a tak redukovanou svalovou kontrakci.
- **Destrukce postsynaptické neuromuskulární junkce řízená komplementem** se považuje za klíčový patogenetický mechanismus u myasthenia gravis s pozitivními autoprotilátkami proti acetylcholinovému receptoru, **stres ER** může být dalším mechanismem způsobujícím svalovou slabost. ER-stress zřejmě podporuje endocytózu acetylcholinového receptoru a přispívá tak k progresi onemocnění.

# Nemoci kosterního svalstva

- Syntéza a odbourávání svalové struktury jsou dány sítí regulačních cest vedoucích k regulaci transkripce.
- Dvě základní patologie: **sarkopenie a kachexie**
- Zvýšená exprese genů (geny ubiquitin-proteasomového systému, myostatin, faktory indukující apoptózu),
- Down regulace jiných faktorů (insulin-like growth factor 1).
- Fyzická aktivita a cvičení jako léčebná opatření velkého významu.

# DEFINICE SARKOPENIE DLE EWGSOP

– „Sarcopenia is a progressive and generalised skeletal **muscle disorder** that is associated with increased likelihood of adverse outcomes including falls, fractures, physical disability and mortality“.

# Kritéria pro diagnózu – operativní definice 2018

**Probable sarcopenia is identified by Criterion 1.**

**Diagnosis is confirmed by additional documentation of Criterion 2.**

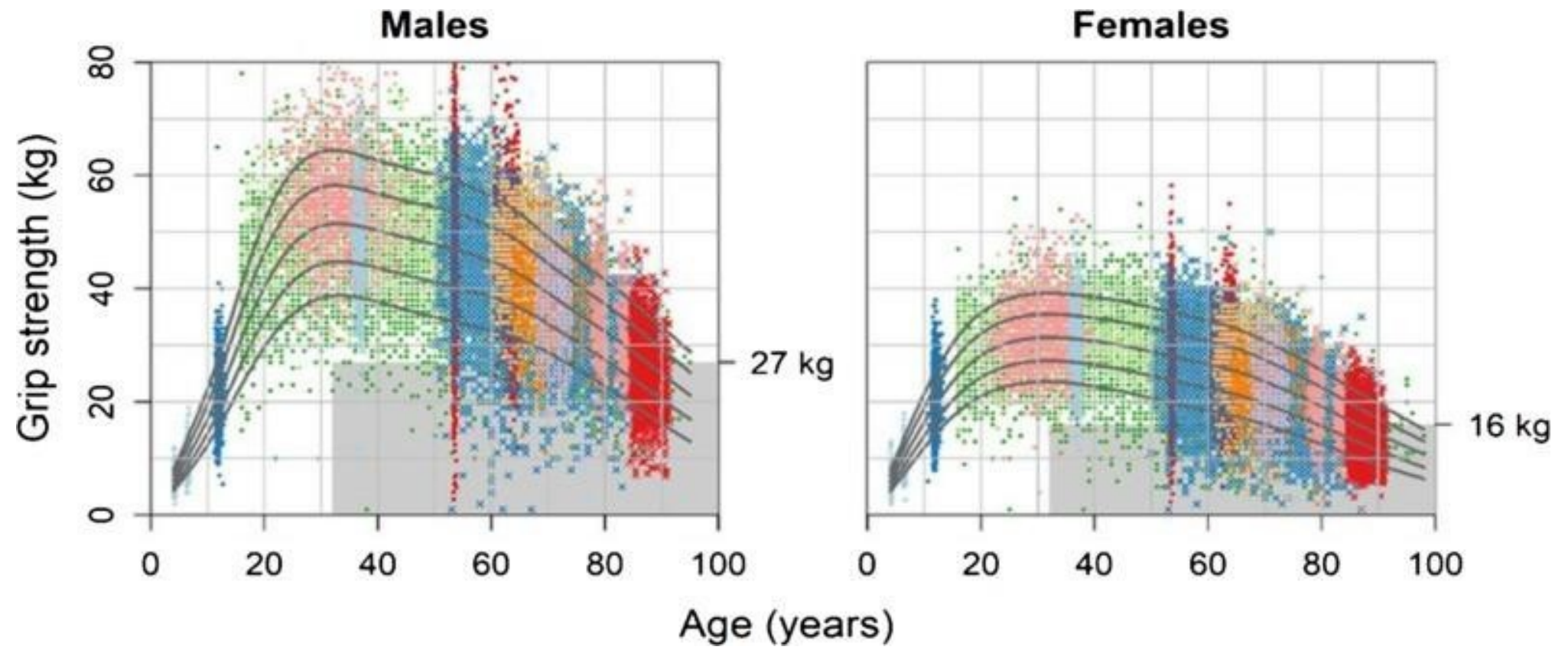
**If Criteria 1, 2 and 3 are all met, sarcopenia is considered severe.**

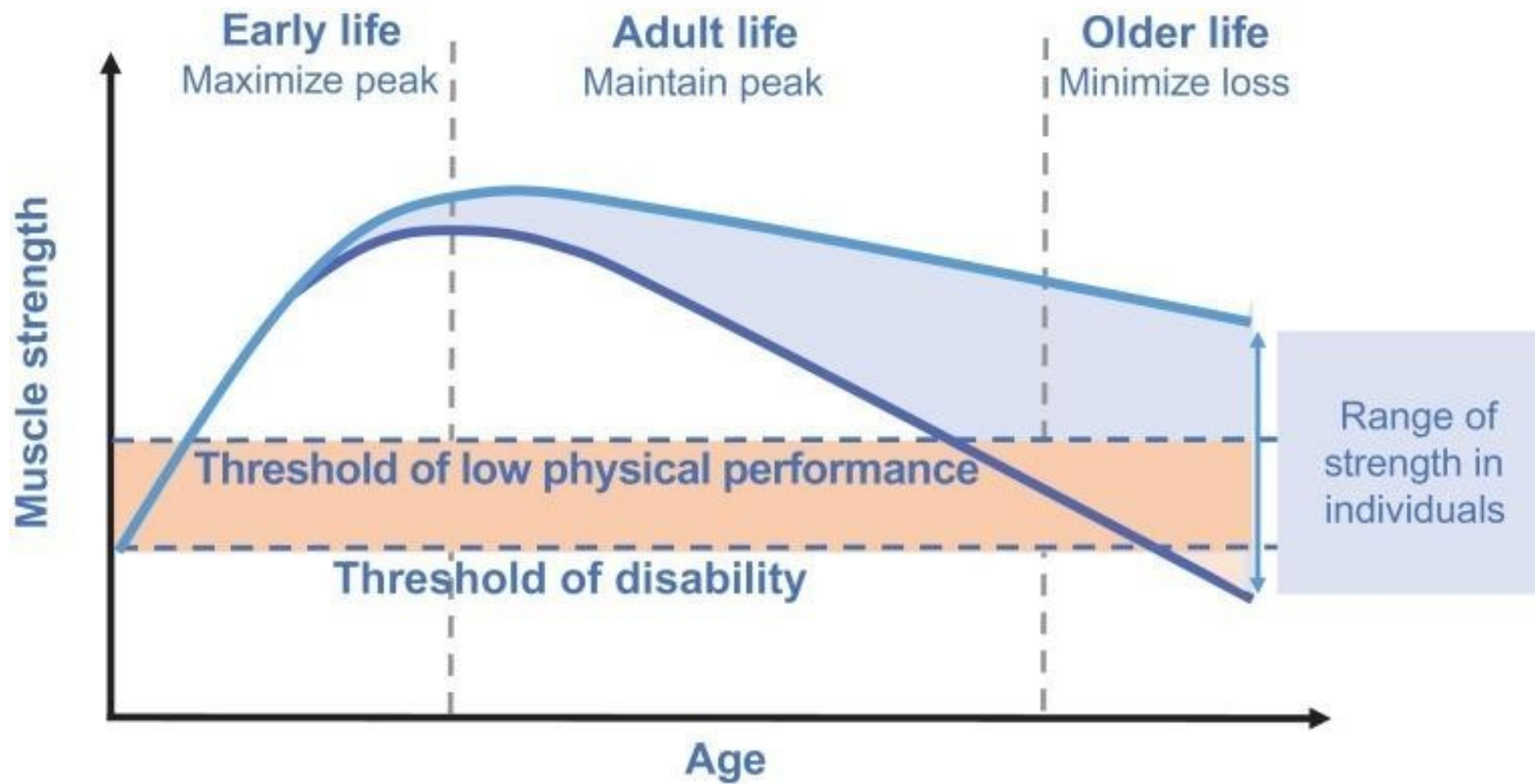
1. Low muscle strength
2. Low muscle quantity or quality
3. Low physical performance

# Vývoj sarkopenie – časový průběh

- Svalová hmota a síla se v průběhu života mění – zvyšuje se v průběhu růstu a vývoje a během časně dospělosti, udržuje se ve středním věku a klesá v průběhu stárnutí.







# Sarkopenie

- In the initial stages of sarcopenia development, an individual may be above the threshold of low physical performance and is very likely to be above the threshold of disability.
- While genetic and lifestyle factors can hasten muscle weakening and progression toward functional impairment and disability, interventions including **nutrition and exercise training** seem to slow or reverse these processes. Therefore, to prevent or delay sarcopenia, **the aim is to maximise muscle in youth and young adulthood, maintain muscle in middle age and minimise loss in older age.**

# Sarkopenie

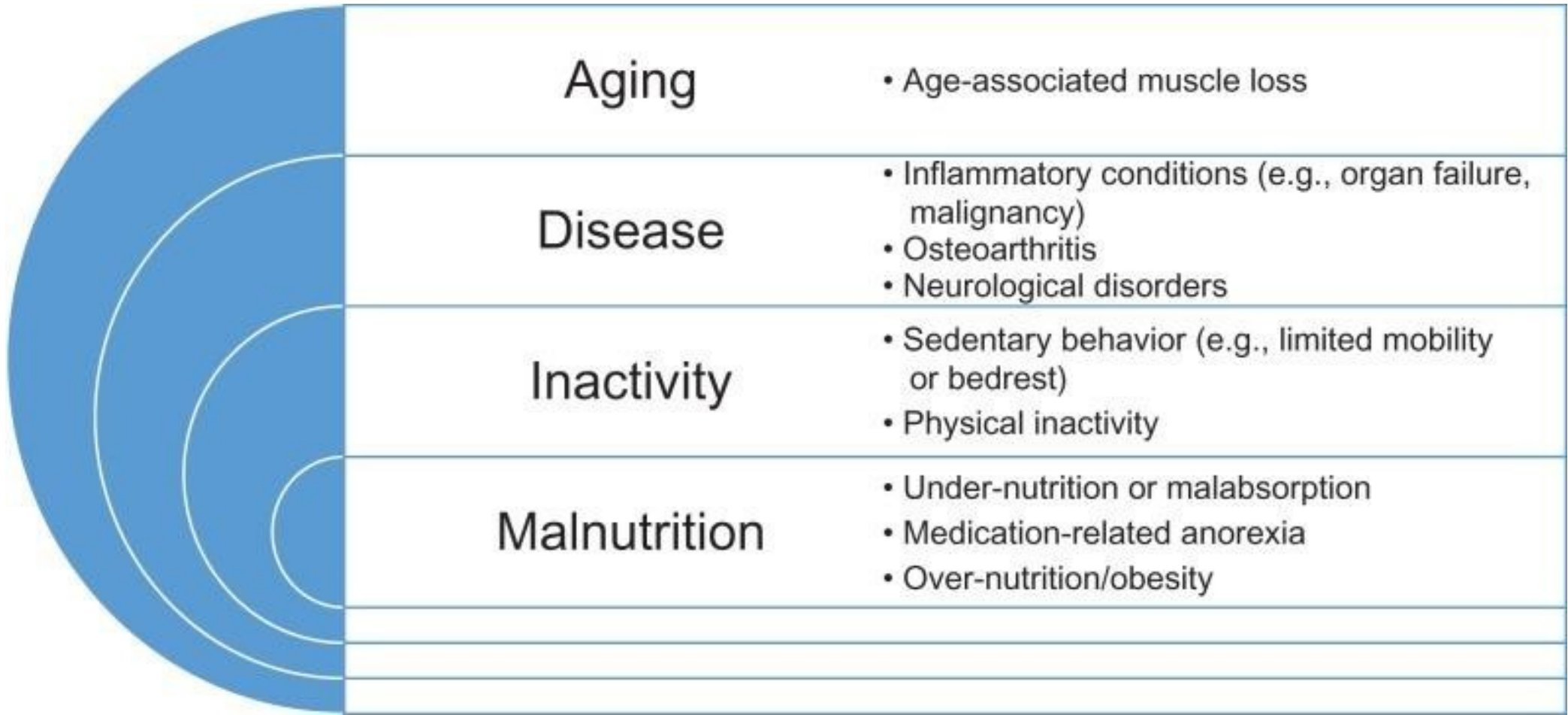
- Sarkopenia je degeneratívni kosterní svalové hmoty a síly svalstva spojená **s věkem**.
- Ztráta 5% svalové hmoty za 10 let od 4. dekády, s potenciálním nárůstem po 65. roku věku.
- Histologicky je sarkopenie charakterizovaná poklesem počtu a velikosti svalových vláken.

# Sarkopenie

- Sarkopenie byla dlouho asociována se stárnutím a s vyšším věkem, ale ukázalo se, že vzniká v časnějším věku. Sarkopenický fenotyp má mnoho přispívajících příčin. Jde o prevenci nebo oddálení vzniku sarkopenie.
- Považuje se za **nemoc svalů s malou svalovou silou spojenou zejména s malou hmotou svalů.**
- Přestože je sarkopenie asociována s nízkou kvantitou i kvalitou svalů, tyto parametry se v současné době spíše zkoumají než používají v klinické praxi. Je totiž obtížné přesně měřit svalovou masu a kvalitu svalu.
- Sarkopenie je přehlížena a podléčena v klinické praxi, zjevně kvůli komplexitě diagnostiky. Není zcela jasné, které parametry měřit a které z nich použít jako nejpřesvědčivější markery pro diagnostiku i terapii.

# Primary and secondary sarcopenia

- In some individuals, sarcopenia is largely attributable to ageing; in many cases, other causes can be identified. Thus, the categories of primary sarcopenia and secondary sarcopenia may be useful in clinical practice.
- Sarcopenia is considered '**primary**' (or age-related) when no other specific cause is evident, while sarcopenia is considered '**secondary**' when causal factors other than (or in addition to) ageing are evident.
- Sarcopenia can occur secondary to a **systemic disease**, especially one that may invoke inflammatory processes, e.g. **malignancy or organ failure**.
- Physical inactivity also contributes to development of sarcopenia, whether due to a **sedentary lifestyle or to disease-related immobility or disability**. Further, sarcopenia can develop as a result of inadequate intake of energy or protein, which may be due to **anorexia, malabsorption, limited access to healthy foods or limited ability to eat**.





# Acute and chronic sarcopenia

- EWGSOP2 newly identifies subcategories of sarcopenia as acute and chronic. Sarcopenia that has lasted less than 6 months is considered an **acute condition**, while sarcopenia lasting  $\geq 6$  months is considered a **chronic condition**.
- Acute sarcopenia is usually related to an **acute illness or injury** while chronic sarcopenia is likely to be associated with chronic and progressive conditions and increases the risk of mortality. This distinction is intended to underscore the need to conduct periodic sarcopenia assessments in individuals who may be at risk for sarcopenia in order to determine how quickly the condition is developing or worsening. Such observations are expected to facilitate early intervention with treatments that can help prevent or delay sarcopenia progression and poor outcomes.

# Sarkopenie a obezita

- Sarcopenic obesity is a condition of **reduced lean body mass in the context of excess adiposity**  
Sarcopenic obesity is most often reported **in older people**, as both risk and prevalence increase with age
- Obesity exacerbates sarcopenia, **increases the infiltration of fat into muscle, lowers physical function and increases risk of mortality**

# Křehkost (frailty)

**Křehkost** je multidimenzionální geriatrický syndrom, který je charakterizován kumulativním poklesem mnohočetných tělesných systémů a funkcí. Zvyšuje vulnerabilitu vzhledem ke špatným zdravotním výstupům, jako je neschopnost se o sebe starat, nutnost hospitalizace, redukováná kvalita života a dokonce smrt.

– Fyzický fenotyp křehkosti má velký průnik se sarkopenií v diagnostice i léčbě.

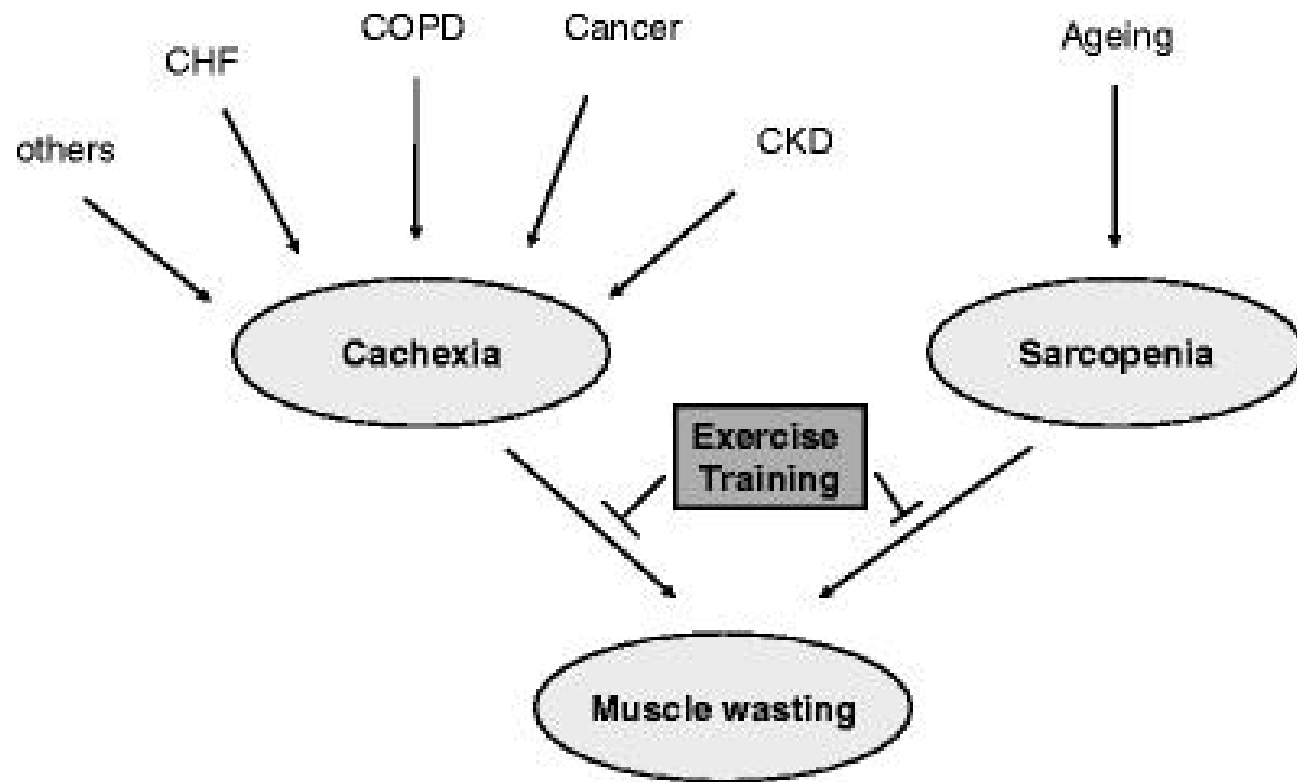
Křehkost je syndrom a sarkopenie je nemoc.

# Malnutrition-associated sarcopenia

- The sarcopenia phenotype is also associated with malnutrition, regardless of whether the malnourished condition is rooted in **low dietary intake** (starvation, inability to eat), **reduced nutrient bioavailability** (e.g. with diarrhea, vomiting) or **high nutrient requirements** (e.g. with inflammatory diseases such as cancer or organ failure with cachexia)
- Low muscle mass has recently been proposed as part of the definition of malnutrition. Also in malnutrition, low fat mass is usually present, which is not necessarily the case in sarcopenia.

# Kachexie

- Kachexie je komplexní metabolický syndrom spojený se základním onemocněním, charakterizovaný ztrátou svalové hmoty **se ztrátou a nebo bez ztráty tukové tkáně.**
- Typicky se manifestuje u **chronických nemocí** jako je rakovina, COPD, chronické srdeční selhání, chronické selhání ledvin.
- Klinickým příznakem je **ztráta hmotnosti** u dospělých, **korigovaná na retenci vody** nebo **zastavení růstu u dětí** (při vyloučení **endokrinního onemocnění**), **nebo ztráta hmotnosti (bez edémů) během 12 nebo méně posledních měsíců.**
- **Nediětní ztráta alespoň 5% hmotnosti (bez edémů) během 12 nebo méně posledních měsíců.**



Etiologické faktory, které vedou ke kachexii nebo sarkopenii a ztrátě svalové hmoty

Cvičení jako intervence je schopno modifikovat tento průběh.

# Úbytek svalové hmoty

- Nerovnováha mezi katabolismem a anabolismem proteinů.
- Příkladně 4 velké proteolytické cesty (lysosomální,  $\text{Ca}^{2+}$ -dependentní, caspase-dependentní a ubiquitin-proteasome-dependentní) mohou být alterovány u kachexie a sarkopenie.
- Autofagická/lysosomální cesta navíc: části cytoplasmu a buněčných organel jsou sekvastrovány do autofagosomů, které následně fúzí s lysozomy – proteiny jsou rozloženy a energeticky spotřebovány.

# Kachexie

- Ubiquitin–proteasome-dependentní (UPS) cesta je systematicky aktivovaná.
- V atrofujících svalech pacientů (např. u kachexie indukované rakovinou) prokázána up-regulace degradačních proteinů





# K předchozímu obrázku: ubiquitin proteasomový systém

–E1 ubiquitin activating enzymes transfer activated ubiquitin ( $aUb$ ) to E2 ubiquitin conjugating enzymes that associate with E3 ubiquitin ligases. E3 ubiquitin ligases catalyze the formation of an isopeptide bond between ubiquitin ( $Ub$ ) and the target protein. Substrate recognition often requires prior phosphorylation ( $PO_4$ ) of the target protein. E4 enzymes promote the formation of polyubiquitin chains. Receptor proteins containing UBL and UBA domains transfer the polyubiquitinated target protein to the proteasome for cleavage into **free amino acids and small peptides**. Deubiquitinating enzymes ( $DUBs$ ) promote recycling of ubiquitin monomers for reactivation by E1.

# Sarkopenie a zánět

- Vyšší hladiny prozánětlivých markerů jsou asociovány s poklesem fyzických schopností, možná díky katabolickým efektům prozánětlivých markerů ve svalu.
- TNF- $\alpha$  – prokázána asociace s poklesem svalové hmoty a síly.
- Ztráta svalové hmoty při zánětu nízkého stupně (low-grade inflammation) je možná dána ztrátou stimulace syntézy proteinů jídlem (insulin?) při nezměněné proteinové degradaci.

# Kachexie a zánět

- TNF- $\alpha$ , interleukin-1 (IL-1), IL-6 a IFN- $\gamma$  se účastní v indukci ztráty svalové hmoty v průběhu rakoviny.
- **Akcelerovaná proteolýza svalů během růstu maligního tumoru** je řízena aktivací non-lysosomální ATP-dependentní ubiquitin proteasomové cesty.
- **Prozánětlivé cytokiny** ovlivňují expresi funkčních enzymů u srdeční kachexie. TNF- $\alpha$ , IFN- $\gamma$  a IL-1 $\beta$ , jejichž hladiny bývají u kachektických pacientů zvýšeny, jsou mocnými **aktivátory exprese iNOS**. To vede k produkci **toxických hladin NO** schopných **inhibovat klíčové enzymy oxidativní fosforylace**. NO je schopen in vitro snížit kontraktilitu kosterních svalů.

## Sarkopenie a anabolické hormony

- Primární pro ztrátu svalové hmoty je deficit anabolických hormonů v důsledku věku, což je prostředí katabolické.
- E2 u žen
- Te u mužů
- dihydroepiandrosteron (DHEA) a růstový hormon u obou pohlaví

# Kachexie a anabolické hormony

- Relativní nedostatek nebo rezistence na anabolické hormony
- Až 50% mužů s metastatickým tumorem před chemoterapií má nízké koncentrace testosteronu. To může vést k redukci kostní hutnosti, svalové síly i sexuální funkce.
- Hlavními přispěvateli ke kachexii vedoucí ke ztrátě kosterního svalstva jsou nízké koncentrace testosteronu a dalších anabolických hormonů.

# Různé patofyziologické mechanismy vedoucí k nádorové kachexii (TNF $\alpha$ ?)

Klíčový mechanismus	Následek
<b>Anorexie</b>	Malnutrice
<b>Ztráta hmotnosti</b>	Ztráta kosterního svalstva, ztráta tuku
<b>Metabolické abnormality (C, T, B)</b>	Glukoneogeneze, proteolýza, lipolýza
<b>Insulinová resistance</b>	Degradace svalových proteinů a úbytek svalů
<b>Systémový zánět</b>	Reakce akutní fáze

Hetal J et al., 2016

## Molekulárně biologické efekty cvičení

- Anabolické efekty cvičení jsou zřejmě ovlivněny cytokiny, zejména **IL-6**. IL-6 je uvolňován při svalové kontrakci zdravých i nemocných. Cvičení zřejmě zvyšuje i kapacitu enzymů, které vychytávají ROS.
- Zvýšená svalová aktivita indukuje produkci **PGC-1 $\alpha$**  (=peroxisome proliferator-activated receptor gamma coactivator 1-alpha), který ochraňuje kosterní sval před atrofií tím, že suprimuje akci FoxO3 a genovou transkripci specifickou pro atrofii. Progresivní izotonický trénink vede ke zvýšené syntéze svalových proteinů zvýšením fosforylace mTOR a p70S6k.
- Cvičení u kachektických a nekachektických pacientů s COPD vede ke zvýšené tvorbě IGF (insulin-like growth factor) a ke zvýšené koncentraci MyoD (protein regulující diferenciaci svalu).



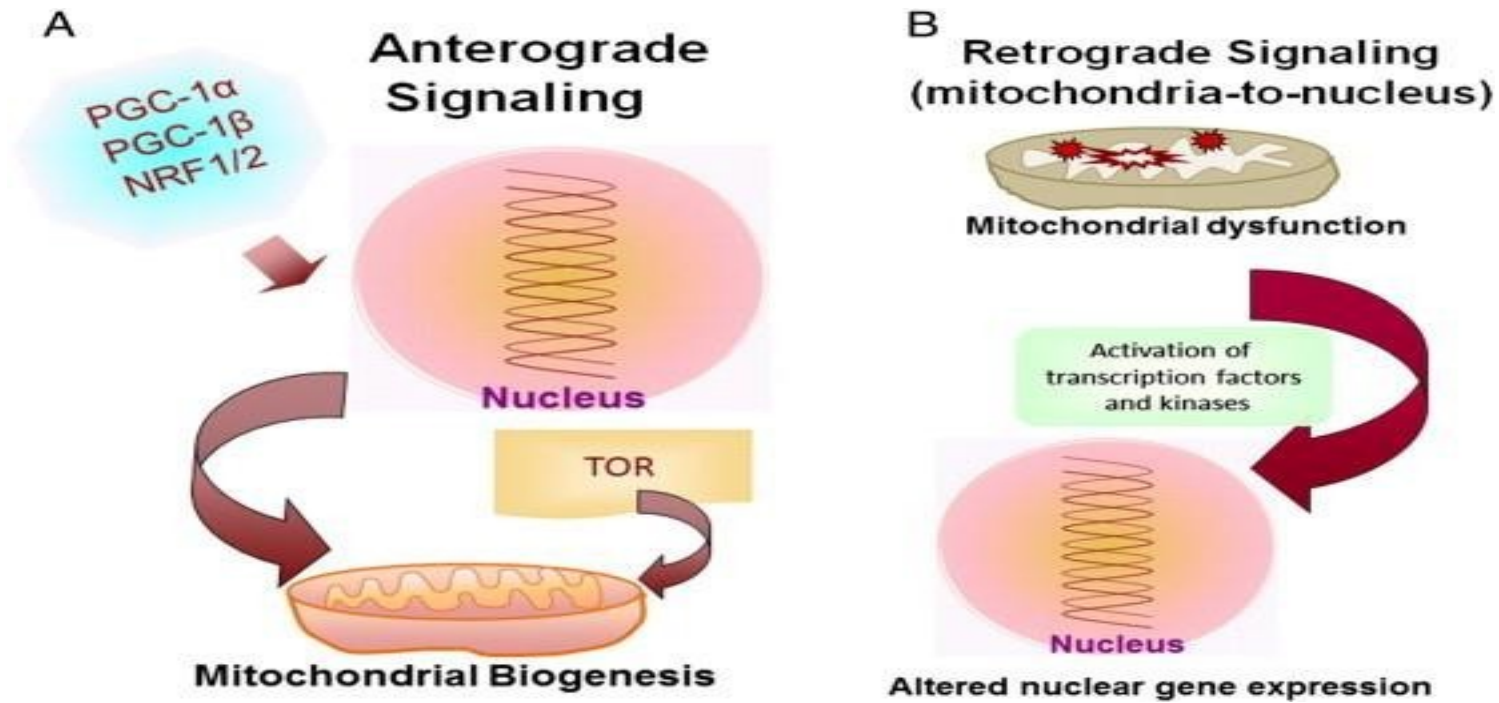


Fig. 1 Outline of the two major mitochondrial signaling pathways. (A) Anterograde signaling is transmitted by activated nuclear transcription factors and cytoplasmic proteins essential for mitochondrial biogenesis. (B) Retrograde signaling originates in dy...

Manti Guha , Narayan G. Avadhani

**Mitochondrial retrograde signaling at the crossroads of tumor bioenergetics, genetics and epigenetics**

Mitochondrion Volume 13, Issue 6 2013 577 - 591

<http://dx.doi.org/10.1016/j.mito.2013.08.007>