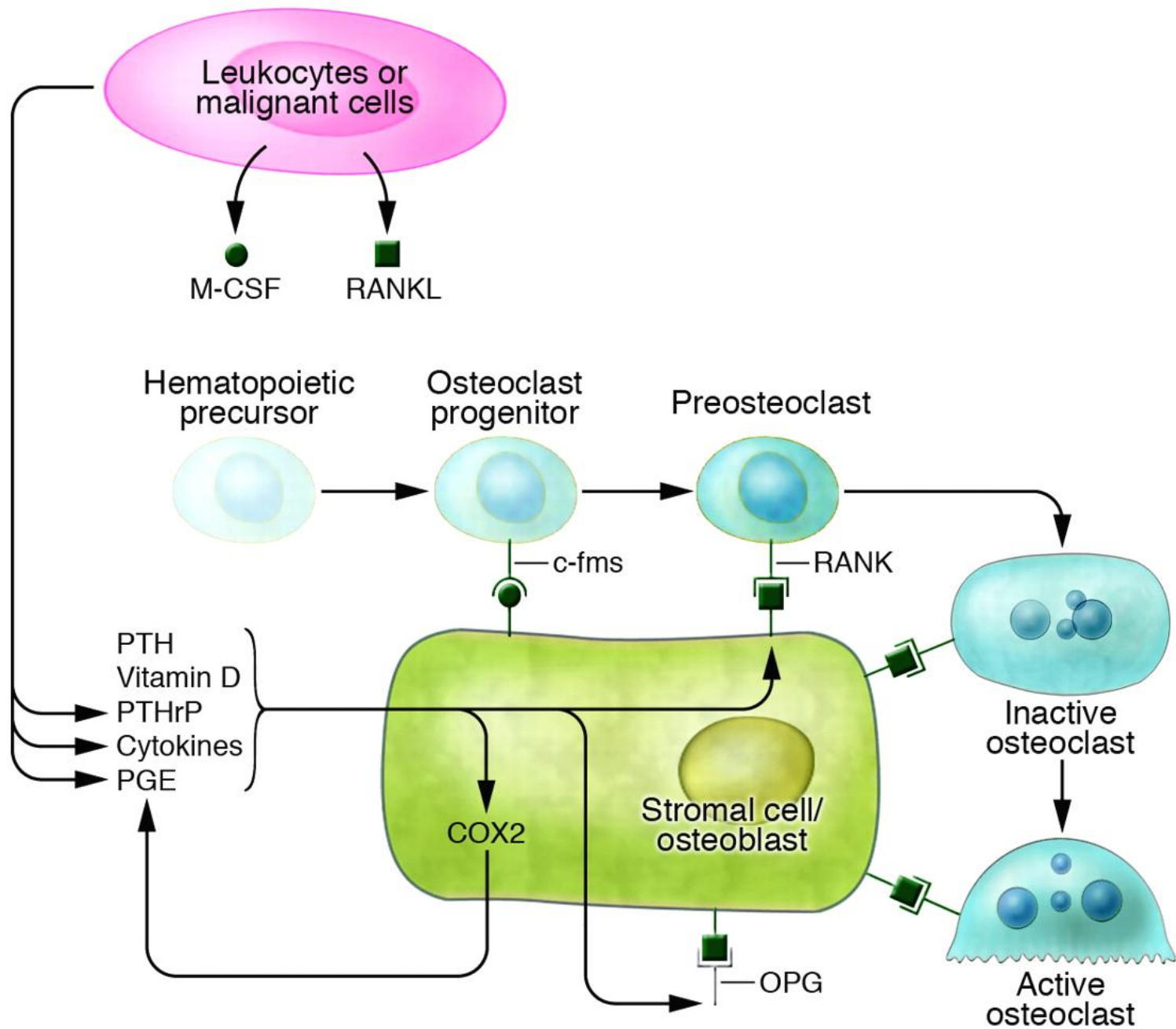


Patofyziologie nemocí kostí a kloubů

29. 3. 2017

Kostní remodelace

- **Aktivace osteoklastů**
 - **Resorbční fáze-** v důsledku aktivace osteoklastů- krátká
 - **Reverzní fáze-** kostní povrch je pokryt mononukleáry, ale novotvorba kosti dosud nezačala- krátká
 - **Formační fáze-** produkce osteblastů ve vlnách v kostní matrix- dlouhá. Tyto buňky se postupně seřadí, proniknou do kosti jako osteocyty a podlehnou apoptóze.
-

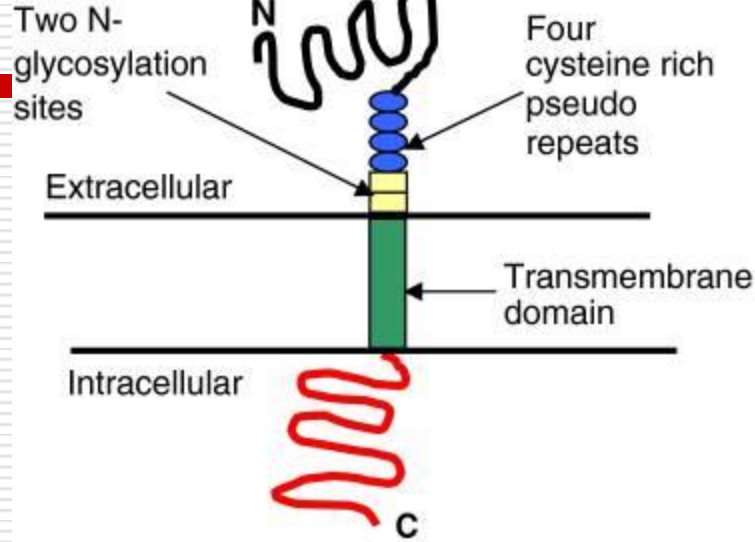


Místní a systémové růstové faktory

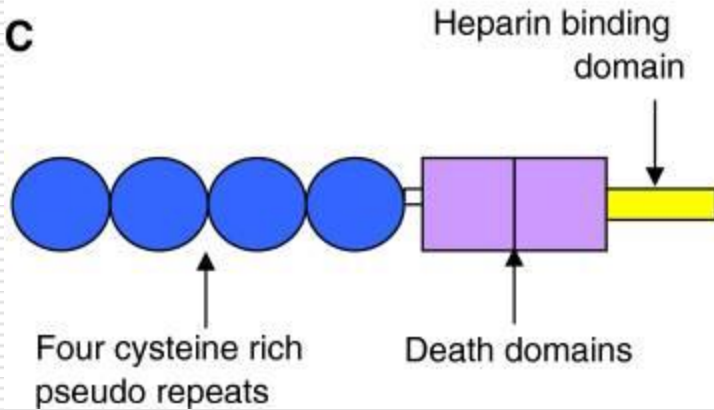
- ❑ Nerovnováha v remodelaci, charakterizovaná zhoršenou tvorbou kosti, je podstatnou složkou patogeneze osteoporózy.
 - ❑ To je dáno alespoň zčásti poklesem kapacity replikační a diferenciační schopnosti osteoblastů způsobeným věkem.
 - ❑ Účast specifických defektů v produkci a aktivitě místních i systémových růstových faktorů.
-

RANK

A

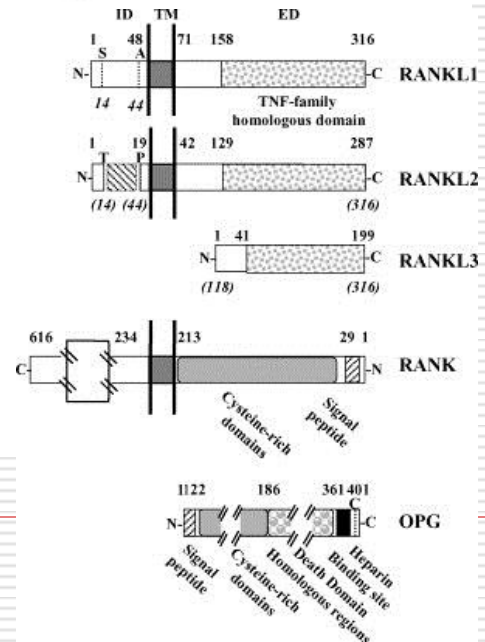
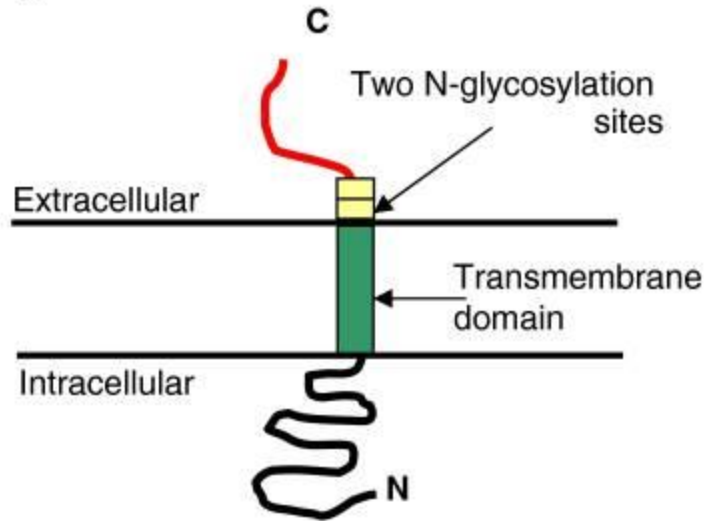


C

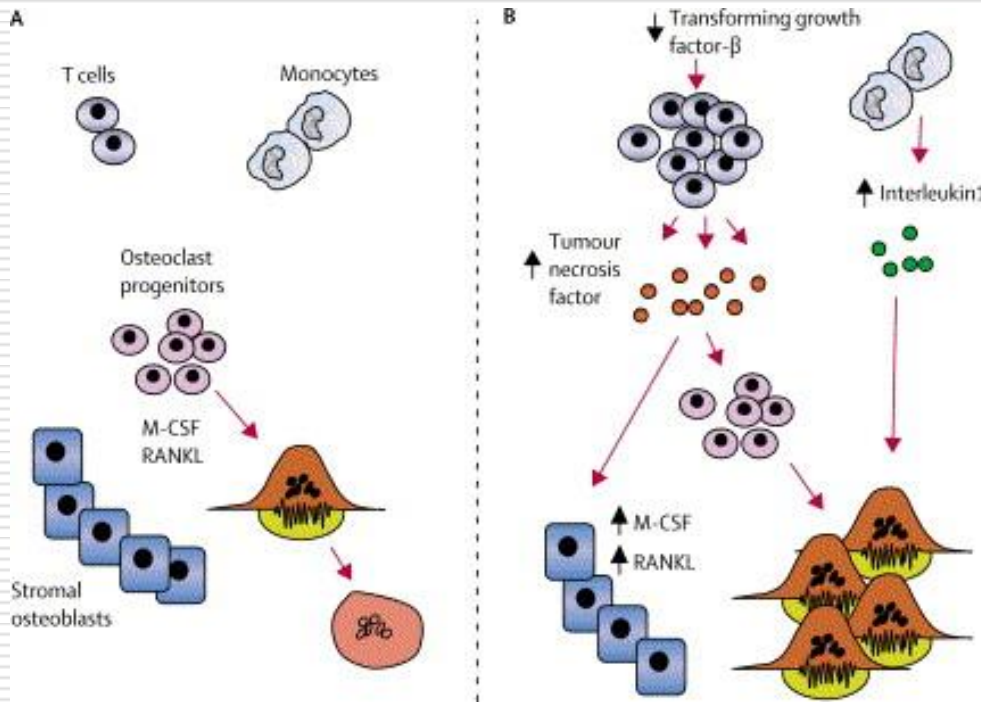


Osteoprotegerin

RANKL



A: Oestrogen replete state. Osteoclasts are formed by interaction between macrophagic, monocytic precursor cells and cells of the osteoblast lineage, but might also be initiated by inflammatory cells, especially T cells. Osteoclasts express receptor activator of NF κ B (RANK). The RANK ligand (RANKL) enhances each of these steps whereas osteoprotegerin, a decoy receptor, blocks this interaction.

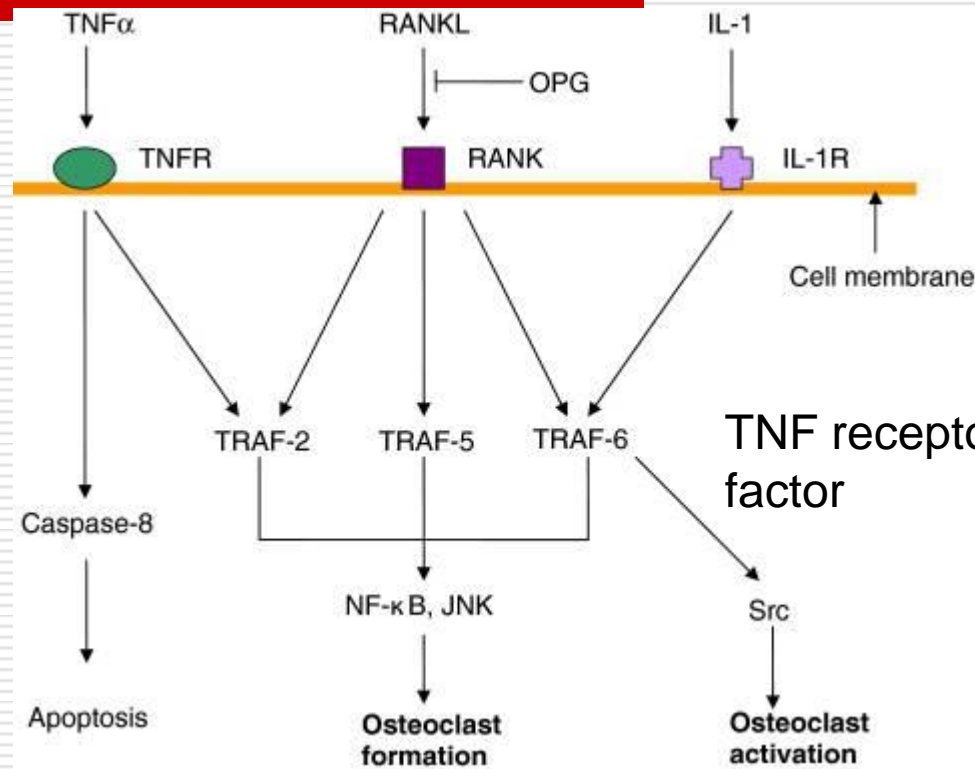


B: Oestrogen deficient state. Important bone sparing effects of oestrogen take place via modulation of bone cell lifespan and reduced cytokine-driven osteoclastogenesis. In the absence of oestrogen, the pool of T cells secreting tumour necrosis factor is expanded through a mechanism involving reduced transforming growth factor β . Additionally, monocytes secrete increased amounts of interleukin-1. Tumour necrosis factor stimulates M-CSF (macrophage colony-stimulating factor) and RANKL production and acts on osteoclast progenitors primed by RANKL, to heighten osteoclast generation. RANKL and interleukin-1 also act to increase osteoclast survival by preventing apoptosis. As a result, in oestrogen deficiency, the number of functional basic multicellular units in bone is substantially increased. This model is based predominantly on studies in ovariectomised animals.

Receptor aktivátor NF- κ B (RANK), jeho ligand (RANKL) a osteoprotegerin (OPG)

- Vyřešena interakce mezi osteoklastickými a osteoblastickými liniemi. Účastní se jí tři členové rodiny TNF a receptorů pro TNF. Osteoblasty produkují RANKL, ligand pro receptor aktivátor pro NF- κ B (RANK) na hemopoetických buňkách. Tento receptor aktivuje jejich diferenciaci a udržuje jejich funkci.
 - Osteoblasty produkují a sekretují osteoprotegerin (OPG), receptor, který blokuje interakci RANKL/RANK.
-

RANK-RANKL signální cesta, inhibice vazby RANK-RANKL osteoprotegerinem (OPG)



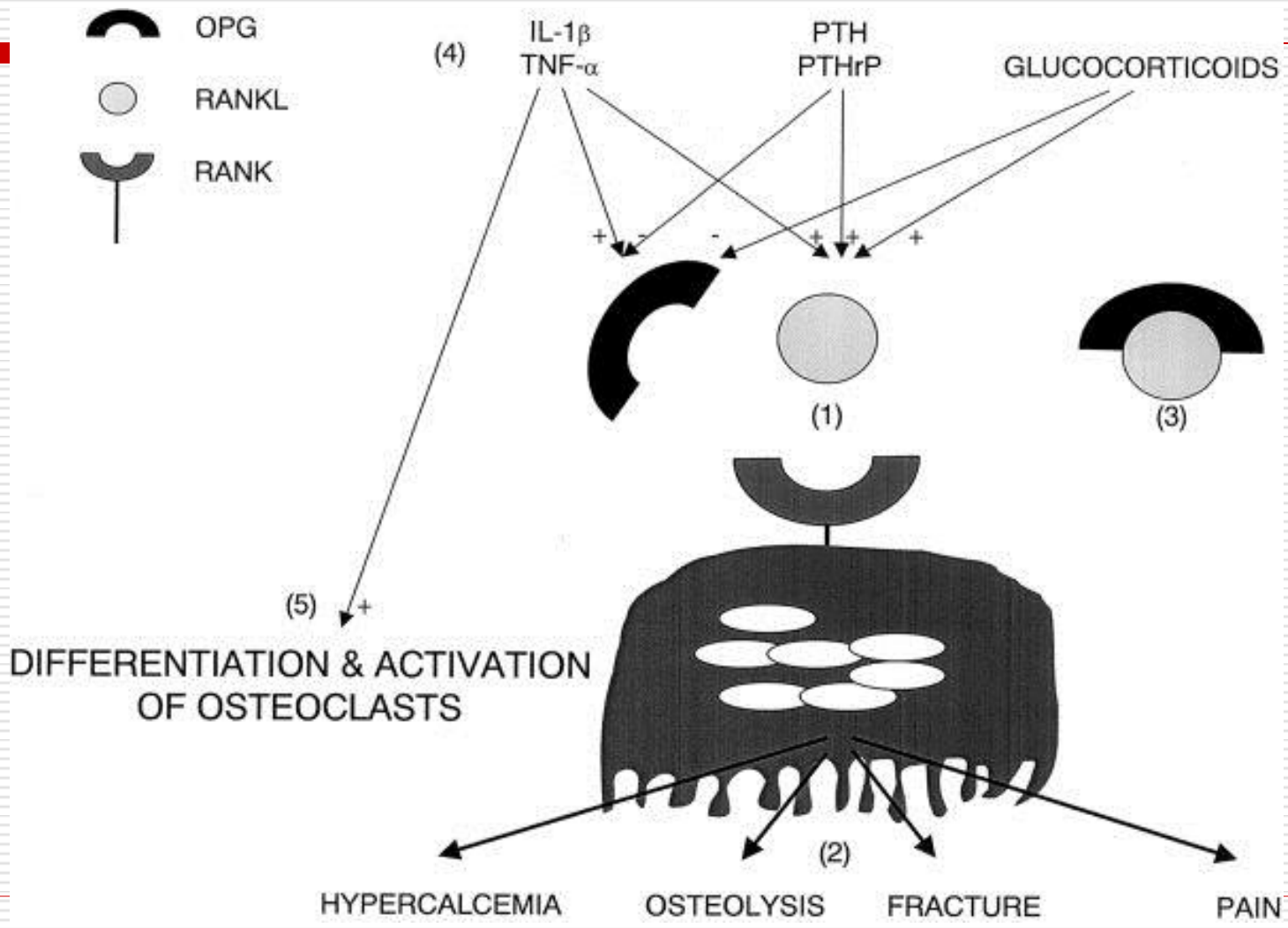
Gene	Mutation	Disease
RANK	18 bp duplication	Familial expansile osteolysis
	27 bp duplication	Early onset Paget's disease
	15 bp duplication	Expansile skeletal hyperphosphatasia
RANKL	Deletion of amino acids 145-177	Autosomal recessive osteopetrosis
	A single nucleotide change (596T-A) in exon 8 of both alleles	Autosomal recessive osteopetrosis
	Deletion of two nucleotides (828_829delCG)	Autosomal recessive osteopetrosis
OPG	Deletion making OPG inactive	Juvenile Paget's disease
	20 bp deletion resulting in premature termination of OPG translation	Juvenile Paget's disease

Molekulární charakteristiky třídy OPG/RANK/RANKL

- ❑ RANKL náleží k rodině TNF. Tři izoformy (RANKL1, RANKL2 a RANKL3-solubilní).
 - ❑ Membránově vázaný RANK a solubilní OPG patří do rodiny receptorů pro TNF. OPG je „lákačící“ receptor pro zábranu vazby RANKL na RANK.
-

Receptor aktivátor NF- κ B (RANK), jeho ligand (RANKL) a osteoprotegerin (OPG)

- Stimulátory resorbce kosti zvyšují expresi RANKL v osteoblastech a některé také snižují expresi OPG. Kostní buňky exprimují membránově vázanou formu RANKL, a proto musí osteoblasty vstupovat do fyzikální interakce s osteoklastickými prekurzory, aby došlo k aktivaci RANK.
 - Solubilní RANKL mohou produkovat aktivované T-lymfocyty.
 - Hladiny OPG rostou s věkem
 - Polymorfismy v genu pro OPG byly asociovány s osteoporotickými frakturami a rozdíly v kostní denzitě.
-



RANKL a osteoprotegrin (OPG) jako konečné efektorové cytokiny u maligních nemocí skeletu (k předchozímu obrázku).

- 1) Interakce RANKL s RANK podporuje diferenciaci a aktivaci osteoklastů
 - 2) Aktivované osteoklasty způsobují humorální hyperkalcémii u malignit, osteolytických metastáz, patologických fraktur a u bolestí spojených s malignitou
 - 3) OPG funguje jako receptor, který neutralizuje RANKL, čímž zabraňuje jeho vazbě s RANK.
 -
-

RANKL a osteoprotegrin (OPG) jako konečné efektorové cytokiny u maligních nemocí skeletu (k předchozímu obrázku).

- 4) Mnohé růstové faktory, cytokiny a hormony konvergují na úrovni RANKL a OPG a regulují diferenciaci a aktivaci osteoklastů. IL-1 a TNF podporují produkci RANKL a OPG, zatímco PTH, PTHrP a glukokortikoidy podporují produkci RANKL, ale snižují produkci OPG
 - 5) V malém rozsahu jsou IL-1 a TNF schopny modulovat diferenciaci a aktivitu osteoklastů nezávisle na RANKL a RANK.
-

STROMAL CELLS
(NORMAL)



$\frac{\text{RANKL}}{\text{OPG}}$

STROMAL CELLS
(GIANT CELL TUMOR)



$\frac{\text{RANKL}}{\text{OPG}}$

MULTIPLE MYELOMA



$\xrightarrow{\text{PTHrP}}$

$\frac{\text{RANKL}}{\text{OPG}}$

BREAST CANCER



$\xrightarrow{\text{PTHrP}}$

$\frac{\text{RANKL}}{\text{OPG}}$

PROSTATE CANCER



$\frac{\text{RANKL}}{\text{OPG}}$

Poměr RANKL k osteoprotegrinu (OPG) u pacientů s maligním kostním onemocněním

- Normální stromální buňky zajišťují stabilní poměr RANKL/OPG, který je nutný pro adekvátní kostní remodelaci.
 - Stromální buňky odvozené z obrovských tumorózních buněk zvýšeně exprimují RANKL, což má za následek zvýšení poměru RANKL/OPG s následným excesivním vývojem velkých polynukleárních osteoklastů.
 - Myelom a některé formy karcinomu prsu produkují PTHrP, který indukuje RANKL a inhibuje OPG, což favorizuje osteolýzu a hyperkalcémii během maligního onemocnění.
 - Opačný vývoj u rakoviny prostaty, který favorizuje spíše možnost rozvoje osteoblastického potenciálu.
-

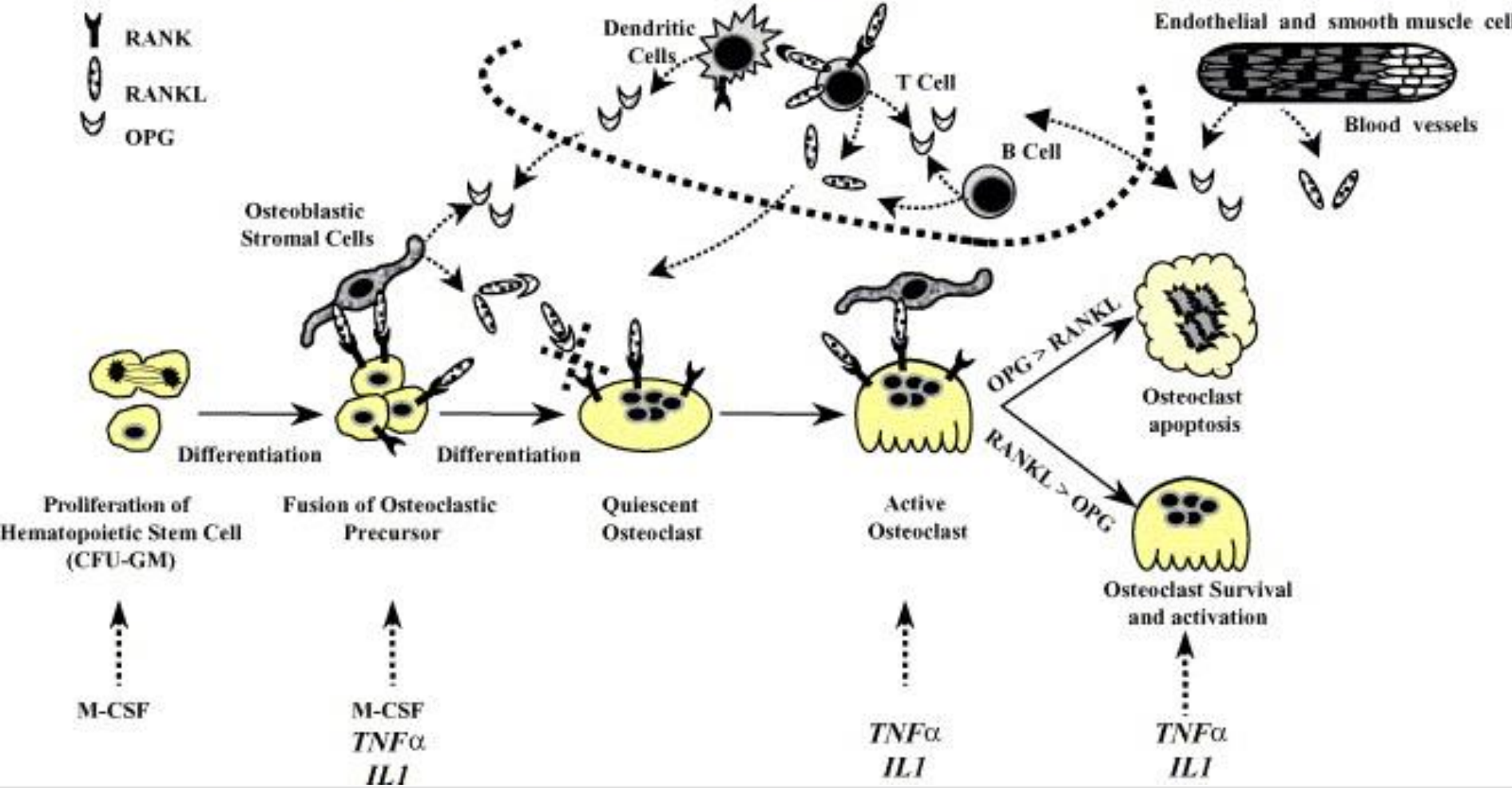
Bone System

Immune System

Vascular System

RANK
RANKL
OPG

Endothelial and smooth muscle cells
Blood vessels



OPG/RANK/RANKL jako společný efektor v kosti, imunitním systému a v cévním systému (k předchozímu obrázku).

- OPG, RANK a RANKL jsou selektivně produkovány četnými buněčnými typy v různých tkáních: lymfocyty, osteoblasty a endoteliálními buňkami.
 - RANKL funguje jako faktor přežití pro dendritické buňky a jako osteoklastogenetický faktor po vazbě na RANK.
 - OPG inhibuje osteolýzu a blokuje interakci RANKL/RANK.
 - OPG/RANKL/RANK triáda se považuje za **osteimmunomodulační komplex**.
-

Parathyroid Hormone Relation Peptide (PTHrP)

- PTHrP byl objeven jako mediátor syndromu "**humoral hypercalcemia of malignancy**" (HHM).
 - Při tomto syndromu dochází u různých typů rakovin, obvykle v nepřítomnosti kostních metastáz, k produkci látek podobných PTH, které mohou způsobit biochemické abnormality jako
 - **Hyperkalcémie**
 - **Hypofosfatémie**
 - **Zvýšená exkrece cAMP močí**
 - Tyto účinky se podobají účinku PTH, ale objevují se v nepřítomnosti detekovatelných cirkulujících hladin PTH.
-

Účinky PTHrP

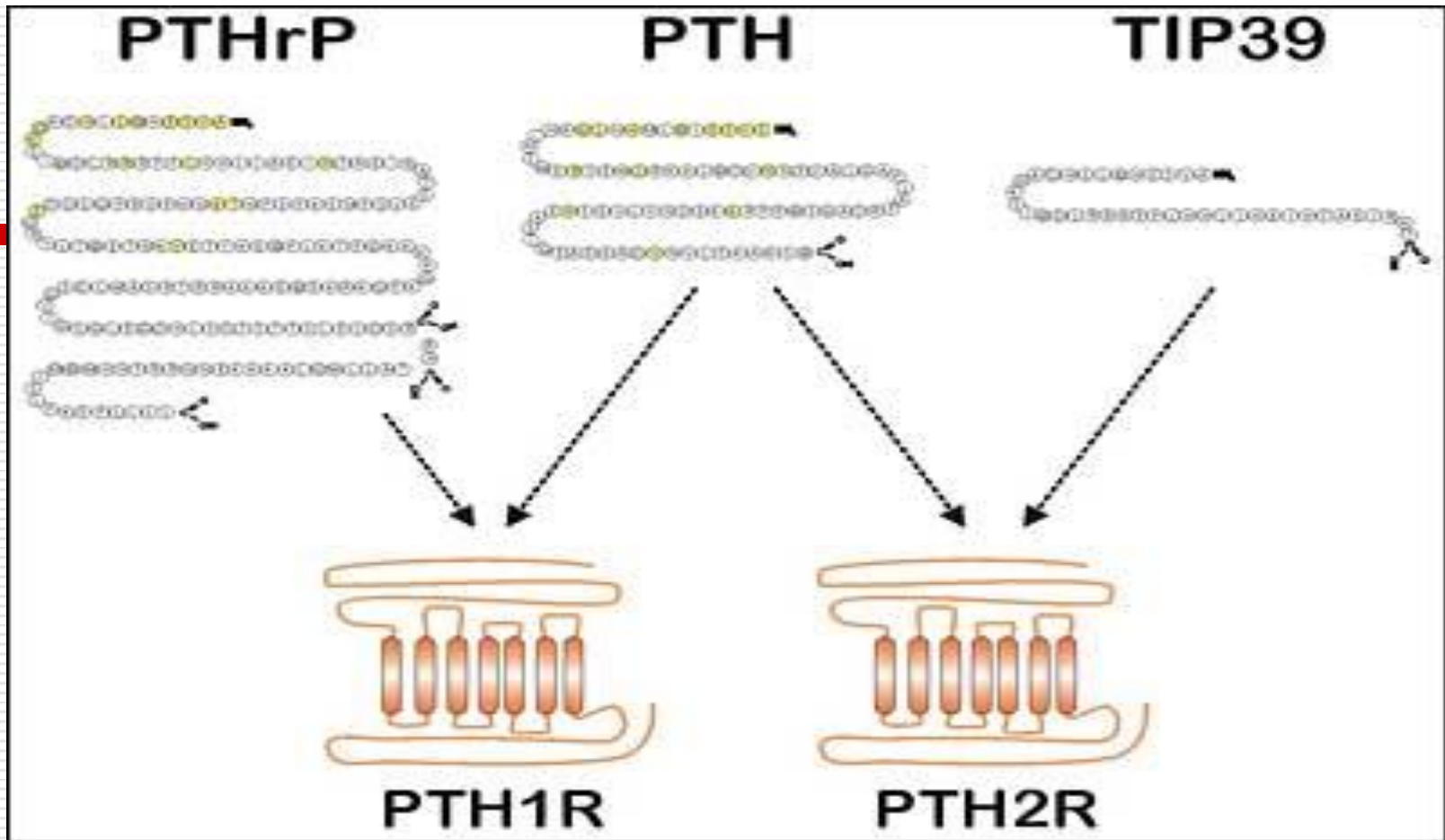
- PTHrP působí na
 - Iontovou homeostázu
 - Relaxaci hladkých svalů
 - Buněčný růst, diferenciaci a apoptózu.
 - Normální kalciovou homeostázu ve fetálním období

Většina fyziologických efektů se děje způsobem parakrinním/autokrinním.

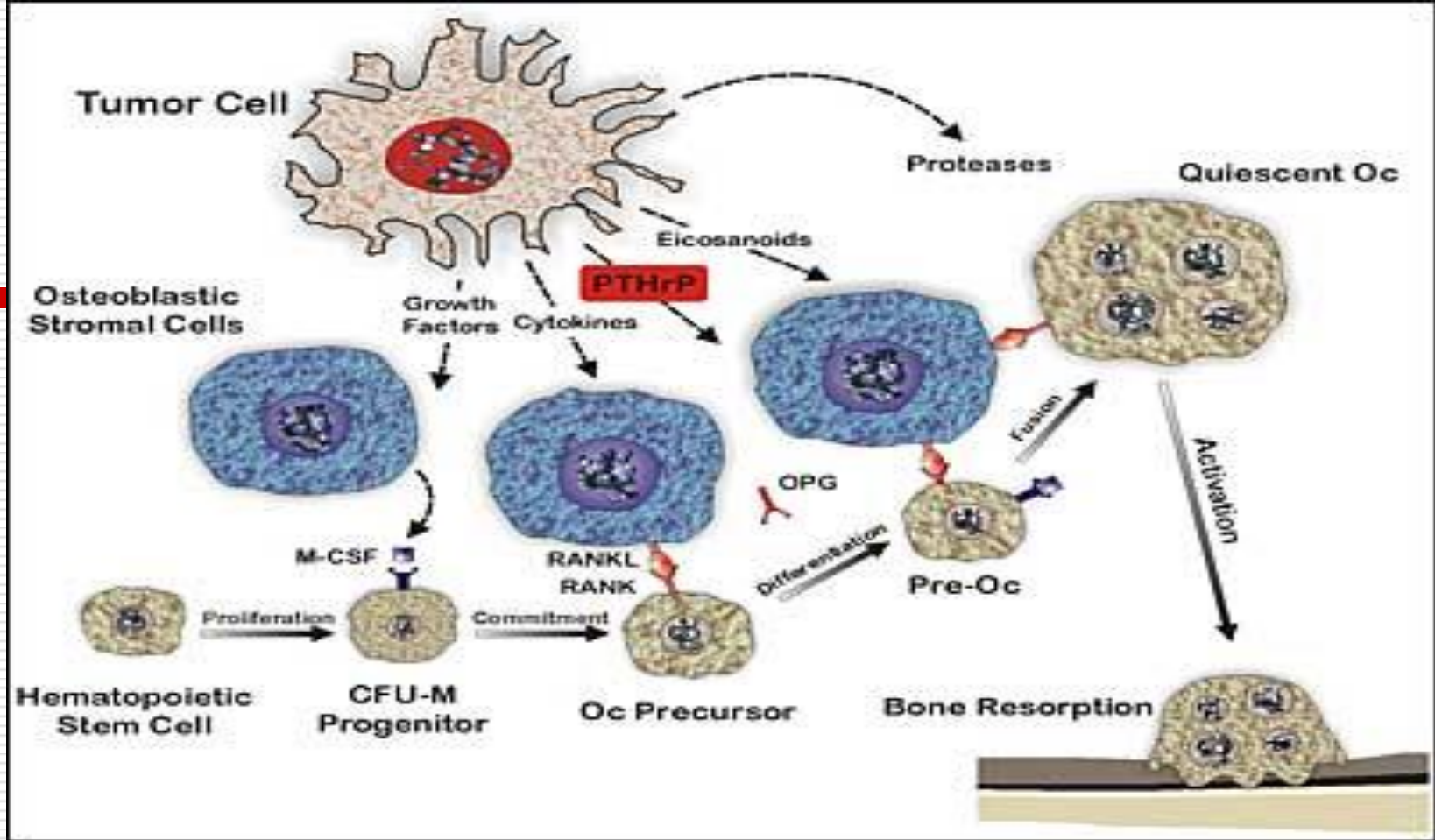
V dospělosti je homeostáza Ca a P pod vlivem PTH, zatímco hladiny PTHrP jsou u zdravých dospělých velmi nízké až nedetekovatelné. To se mění při vzniku neoplasmát konstitutivně produkujících PTHrP, kdy PTHrP napodobuje účinky PTH na kost a ledviny a rozvíjející se hyperkalcémie inhibuje endogenní sekreci PTH.

Účinky PTHrP na

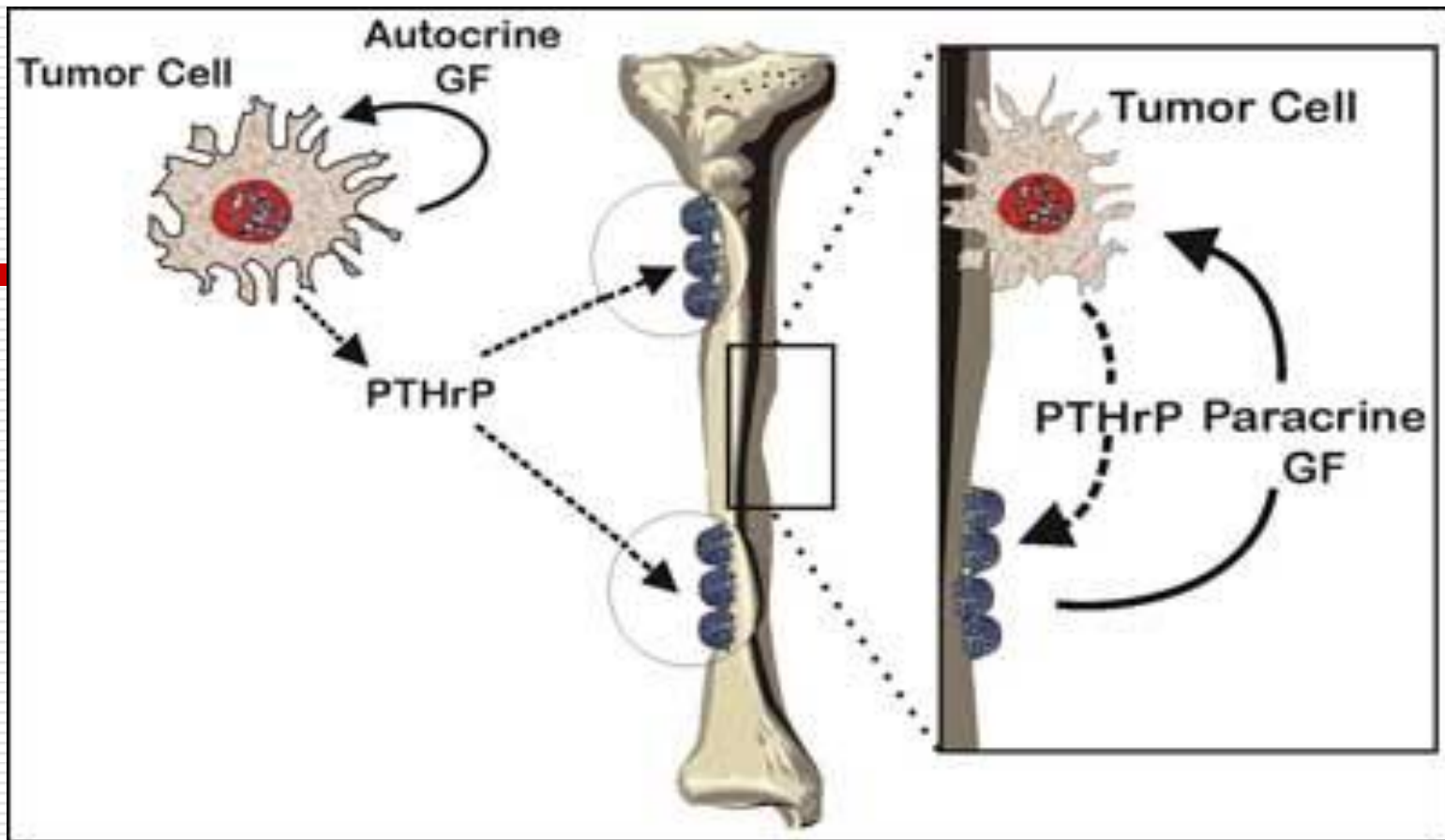
- ❑ **Buněčný růst, diferenciaci a apoptózu v mnohých fetálních i dospělých tkáních.** Největší účinky má na kost. Největší změny na chrupavčitých růstových ploténkách, kde v nepřítomnosti PTHrP dochází k redukci proliferace chondrocytů s akcentací diferenciaci a apoptózy chondrocytů
 - ❑ **Normální vývoj chrupavčité růstové ploténky.** Ve fetálním období PTH hraje dominantně anabolickou roli ve vývoji trabekulární kosti. PTHrP reguluje vývoj růstové ploténky.
 - ❑ Postnatálně PTHrP jako parakrinní/autokrinní regulátor přebírá **anabolickou roli pro homeostázu kosti**, kdežto PTH především udržuje hladinu Ca^{++} v ECT prostřednictvím resorbce kostí.
-



Genetické rodiny PTH a PTHrP: PTHrP, PTH and TIP39 jsou zřejmě členy jedné genetické rodiny. Jejich receptory PTH1R a PTH2R jsou 7 transmembránovými G protein-coupled receptory.



Produkce látek resorbujících kost nádorem. Nádorové buňky uvolňují proteázy, které mohou podporovat progresi tumoru přes nemineralizovanou matrix. Tyto buňky mohou uvolňovat také PTHrP, cytokiny, eikosanoidy a růstové faktory (EGF), které mohou stimulovat osteoblastické stromální buňky k tvorbě cytokinů jako M-CSF a RANKL. RANKL se může vázat na svůj receptor RANK na osteoklastických buňkách a zvyšovat produkci a aktivaci mnohojaderných osteoklastů, které jsou schopny resorbovat mineralizovanou kost.



Produkce PTHrP regulovaná růstovým faktorem (GF) v tumorózních stavech. Tumorózní buňky jsou schopny být na vzdálenost (mimo kost) stimulovány autokrinními růstovými faktory ke zvýšené produkci PTHrP. Ten se dostává cirkulací do kosti a podporuje resorbci kosti. Metastatické tumorové buňky v kosti jsou schopny sekretovat PTHrP, podporující resorbci kosti a sekreci parakrinních růstových faktorů, které dále udržují produkci PTHrP.

Stavy spojené s hyperparathyreoidismem - osteodystrofie

- *Primární hyperparathyreoidismus* je následkem onemocnění příštítných tělísek, nejčastěji adenomu.
 - Příznaky: chronická hyperkalcémie, nefrokalcinóza, **osteodystrofie** jako projev excesivní kostní remodelace.
-

Stavy spojené s hyperparathyreoidismem- osteodystrofiie

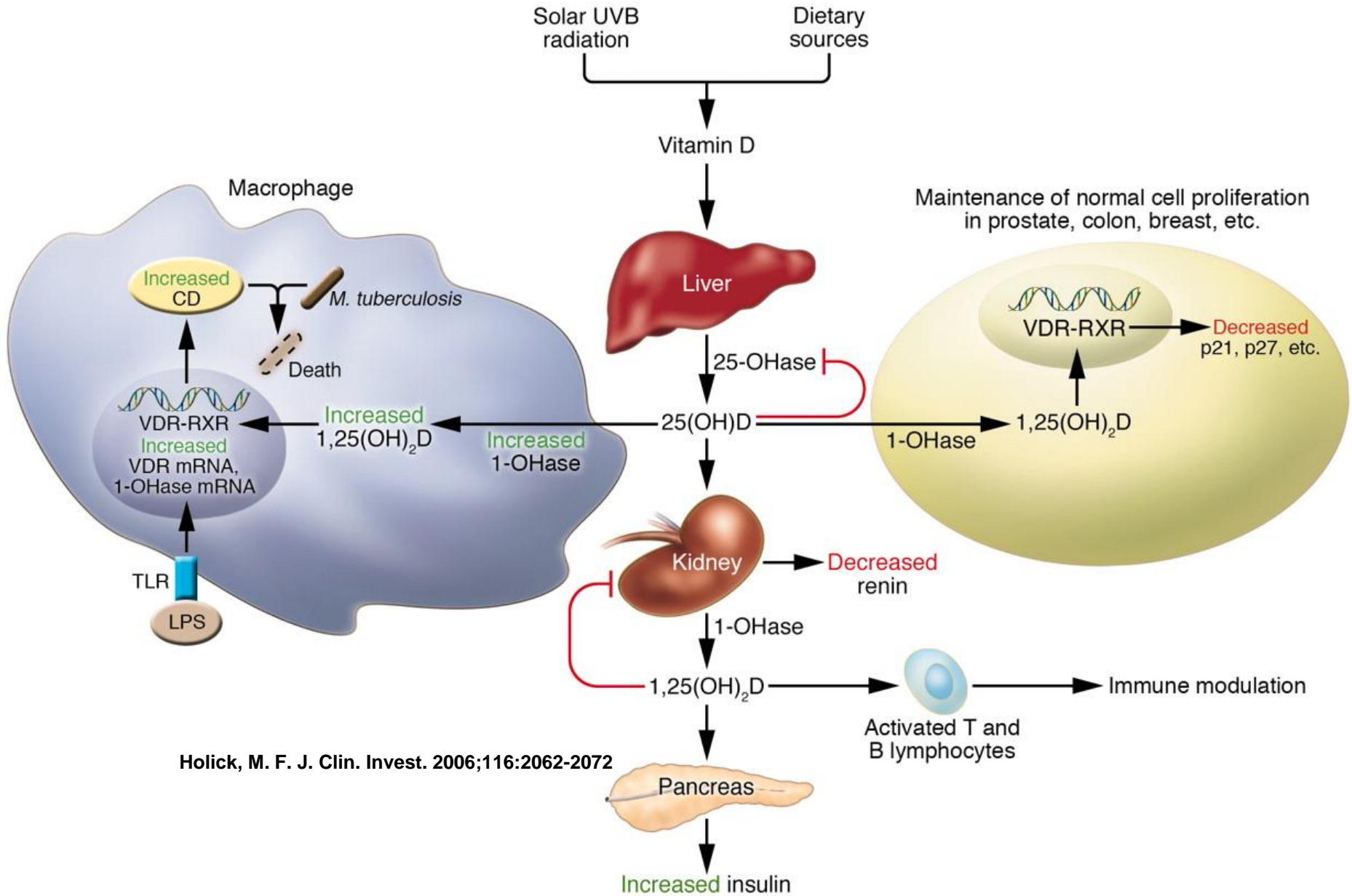
- *Sekundární hyperparathyreoidismus* – obvykle u chronického onemocnění ledvin s tendencí k rozvoji chronického ledvinného selhání v důsledku neschopnosti ledvin resorbovat kalcium- **renální osteodystrofiie** jako projev excesivní kostní remodelace. .
 - Jiné příčiny-obvykle nutriční: deficit kalcia a fosfátů ve stravě, nadbytek fosfátů ve stravě.
-

Stavy spojené s hypoparathyreoidismem

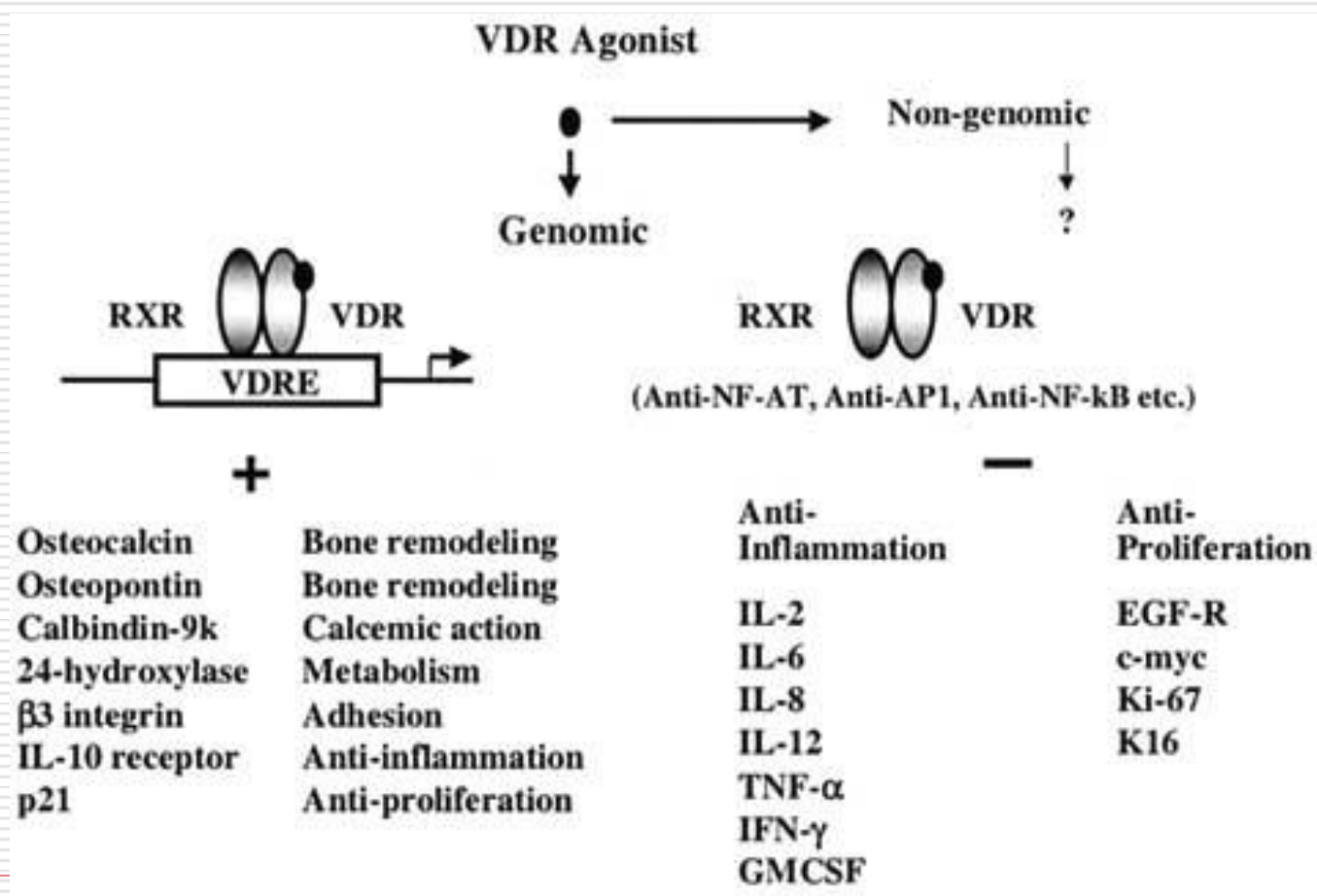
- *Hypoparathyreoidismus* – vede k poklesu hladin kalcia a vzestupu fosfátů v krvi.
 - Příčiny: chirurgické odstranění příštítných tělísek, resp. thyreoidey.
 - Příznaky: tetanické křeče v důsledku poklesu hladiny ionizovaného kalcia v krvi
-

Deficit vitamínu D

- ❑ U dětí křivice-deformace dlouhých kostí v důsledků zvýšené měkkosti kostí.
 - ❑ U dospělých osteomalácie.
 - ❑ *Genetické defekty ve VDR (syndromy hereditární resistance na vitamin D).*
 - ❑ *Vážná onemocnění jater a ledvin.*
 - ❑ *Nedostatečná expozice slunečnímu záření*
-



Regulation exprese genů prostřednictvím VDR



Osteoporóza



Normal



Osteoporotic bone

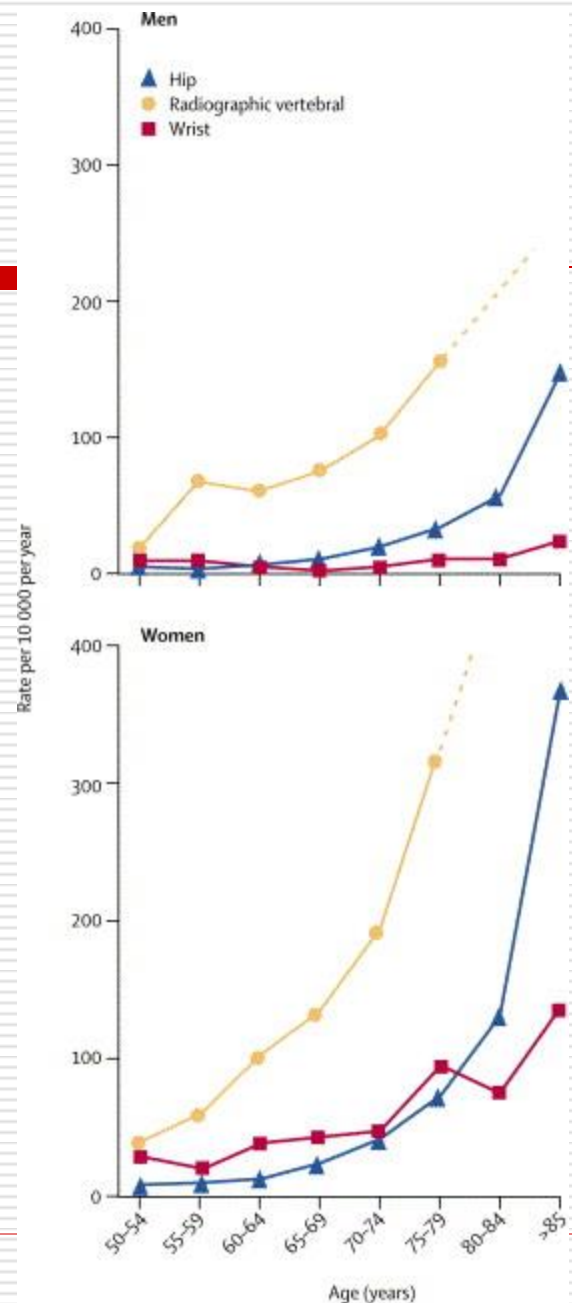
© Steiner 2004

Osteoporóza

- ❑ Estrogeny jsou kritické pro uzavírání epifyzálních štěrbin v pubertě u dívek i u hochů
 - ❑ Estrogeny regulují kostní obrat u žen i u mužů
 - ❑ Hladiny estrogenů udržujících kostní hmotu jsou nižší než hladiny pro udržení funkce klasických cílových orgánů pro estrogeny (prsni žláza a děloha). Tato vyšší senzitivita kostry na estrogeny zřejmě souvisí s věkem.
 - ❑ Osteoporóza u starých mužů je více asociována s nízkými hladinami estrogenů než androgenů.
 - ❑ Během menopauzy dochází k v důsledku poklesu estrogenů k akceleraci jak markerů destrukce, tak novotvorby kostí.
 - ❑ Deficit estrogenů narušuje novotvorbu během kostní remodelace reagující na mechanické zatížení, což vede v letech po menopauze k progresivní ztrátě denzity kostí.
 - ❑ Léčení estrogeny zvyšuje kostní masu i u 80letých žen.
-

Incidence radiologických fraktur páteře, kyčle a distálního předloktí v závislosti na věku a pohlaví.

Data derived from European Prospective Osteoporosis Study and General Practice Research Database.



Základní patogenetické mechanismy osteoporózy

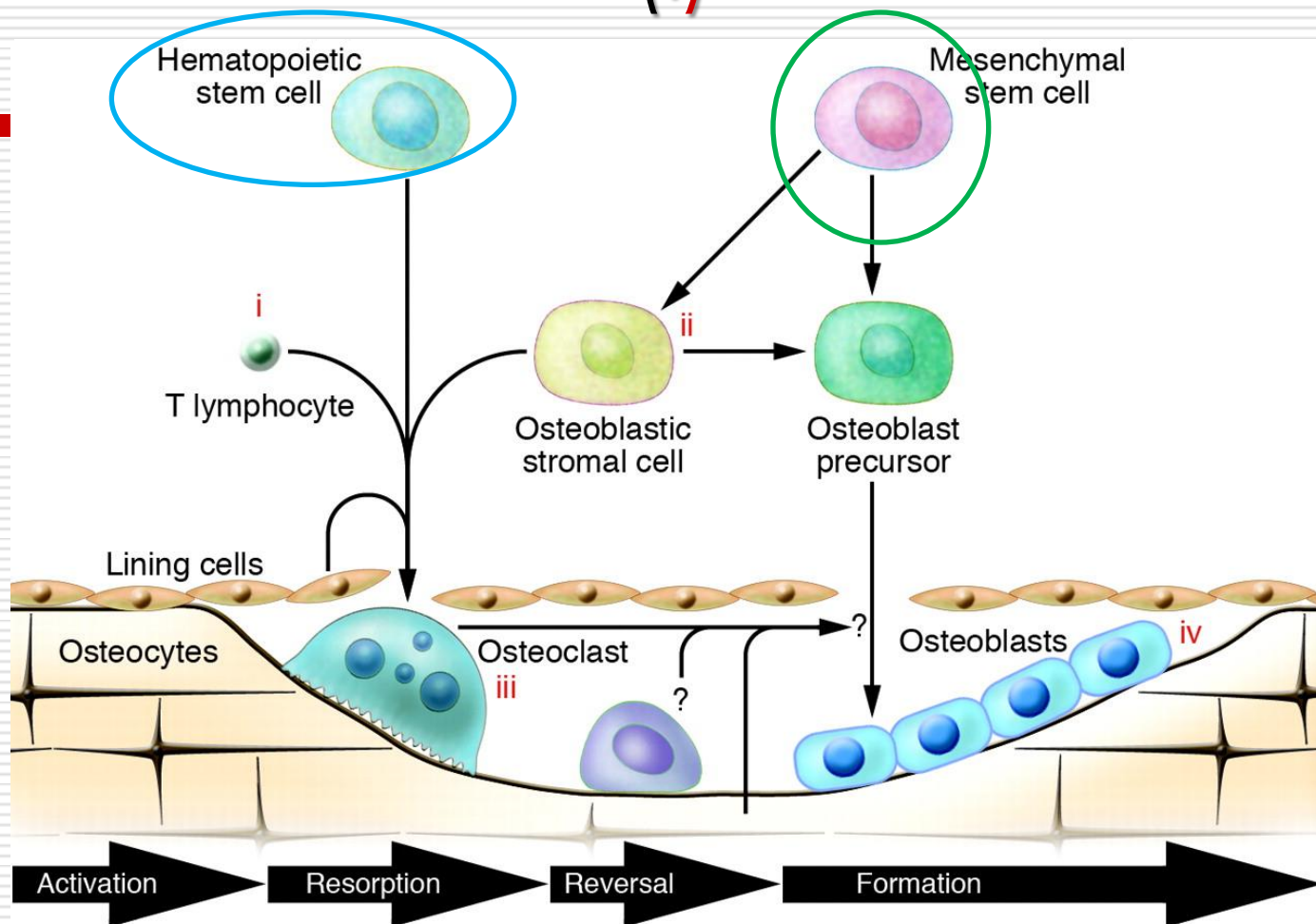
- ❑ Fragilita skeletu může být způsobena
 - ❑ (a) neschopností produkovat kostru optimální masy a síly během růstu
 - ❑ (b) zvýšenou kostní resorbci, která má za následek snížení kostní masy a porušení mikroarchitektury kosti
 - ❑ (c) neadekvátní novotvornou odpovědí kosti na zvýšenou resorbci během kostní remodelace.
 - ❑ Kostní remodelace představuje u dospělé kosti hlavní aktivitu. Kostní remodelace neboli BMU (=bone multicellular units).
-

Příčiny osteoporózy

- Nedostatek estrogenů
 - Nadbytek glukokortikoidů
 - Nedostatek vitamínu K2
-

Remodelace kostí. Místa pro akci estrogenů

(i)

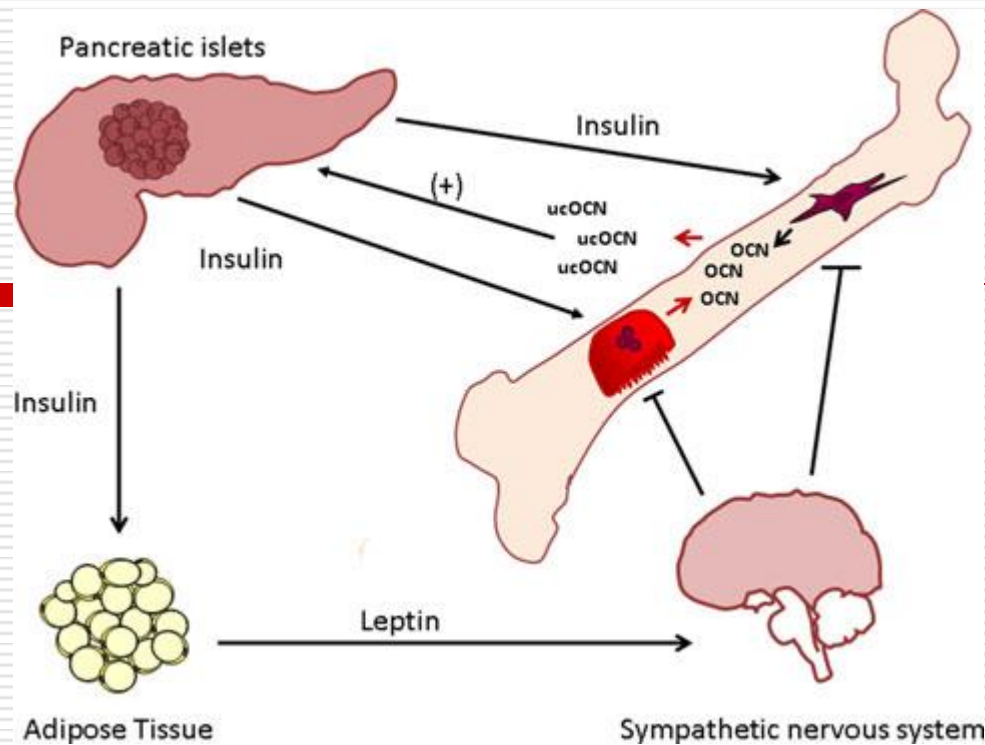


Raisz, L. G. J. Clin. Invest. 2005;115:3318-3325



Osteoporóza indukovaná kortikoidy

- ❑ Modifikují proliferativní a metabolické aktivity kostních buněk.
 - ❑ Inhibují osteoblastogenezi
 - ❑ Redukují životní poločas osteoblastů, což vede ke snížené novotvorbě kostí.
-



Glukokortikoidy
obecně působí
jako antagonisté
inzulínu ...

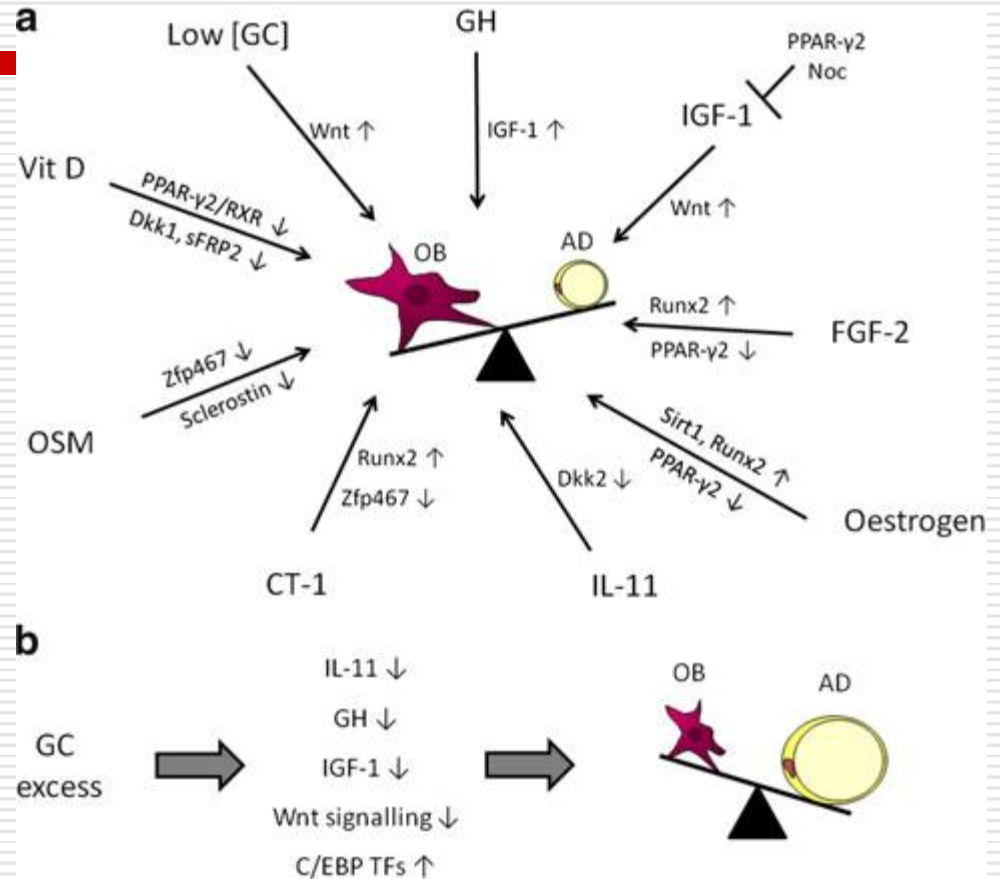
Předpokládaná reciproká endokrinní regulace funkcí kosti a tukové tkáně: Karboxylovaný osteokalcin (OCN) je produkován osteoblasty a je následně vázán na hydroxyapatitový minerál vyzrálé kosti.

Během resorbce kosti řízené osteoklasty se uvolňuje do cirkulace nekarboxylovaný osteokalcin (ucOCN), odkud významně podporuje produkci inzulínu pankreatem. Inzulín zvyšuje expresi OCN osteoblasty a zároveň podporuje jeho dekarboxylaci působenou osteoklasty. Inzulín má také pozitivní vliv na sekreci leptinu adipocyty, což vede k inhibici kostní produkce i resorbce hypotalamickým vlivem leptinu. Produkce ucOCN je tak snížena a dochází k modulaci orexigenních efektů ucOCN na produkci inzulínu pankreatem.

Regulace selekce mezi osteoblastogenezí (OB) a adipogenezí (AD) pomocí endokrinních a parakrinních faktorů

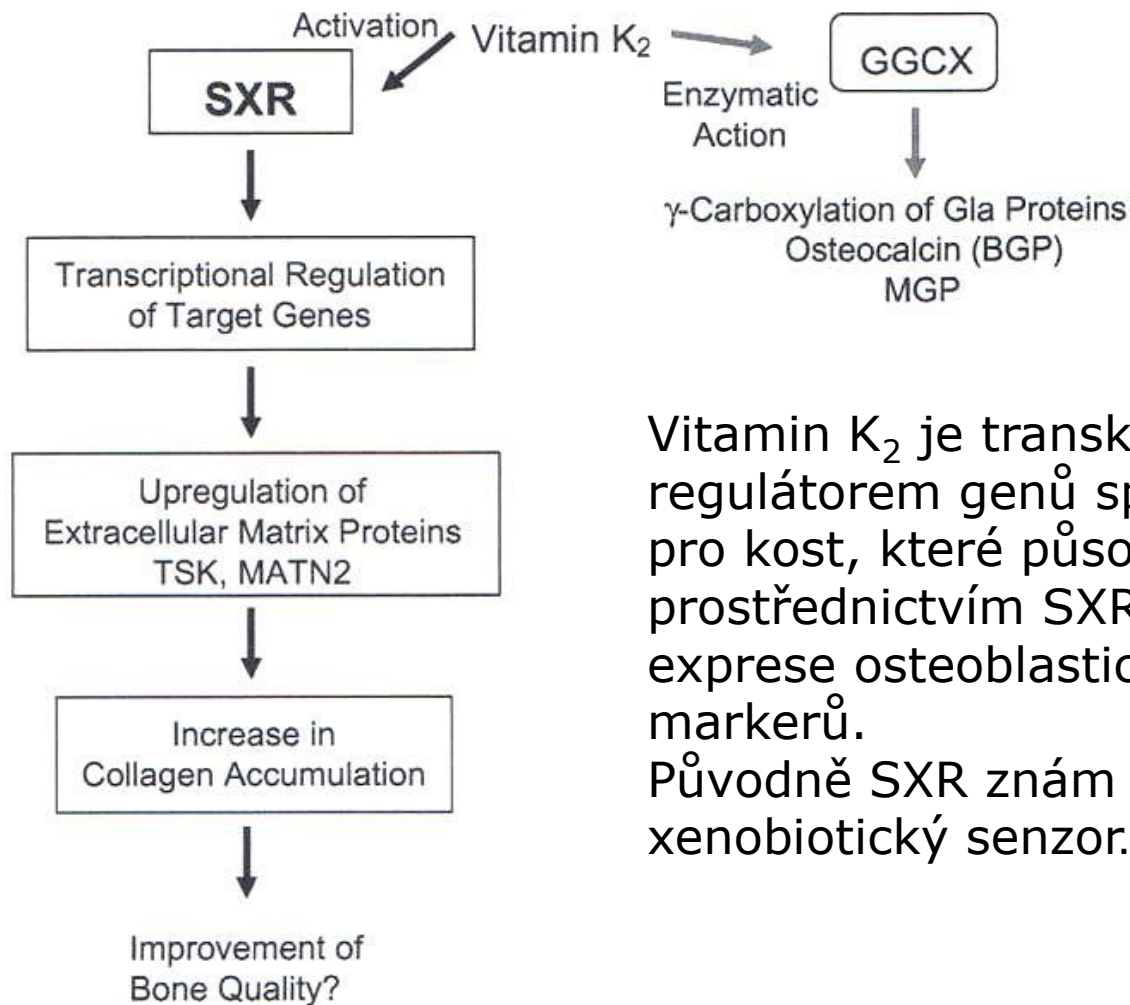
- a) Několik endogenních faktorů podporuje osteoblastogenezi oproti adipogenezi.
- b) Nadbytek glukokortikoidů podporuje adipogenezi na účet osteoblastogeneze několika mechanismy:

Low [GC] low (physiological) concentrations of glucocorticoids, GH-growth hormone, IGF-1 insulin-like growth factor-1, FGF-2 fibroblast growth factor-2, IL-11 interleukin-11, CT-1 cardiotrophin-1, OSM oncostatin M, OB osteoblast, AD-adipocyte



Vitamin K a kosti

- Vitamin K₂ je podstatným kofaktorem pro γ -karboxylázu, enzym, který katalyzuje konverzi specifických reziduí kyseliny glutamové kyseliny na rezidua Gla.
 - Vitamin K₂ je potřebný pro γ -karboxylaci proteinů kostní matrix obsahujících Gla, jako je **MGP (= matrix Gla protein) a osteokalcin**.
 - Nekompletní γ -karboxylace osteokalcinu a MGP vede k při nedostatku vitamínu K osteoporóze a zvýšenému riziku fraktur.
 - Vitamin K₂ stimuluje syntézu osteoblastických markerů a depozici kosti.
 - Vitamin K₂ snižuje resorbci kosti inhibicí tvorby osteoklastů a jejich resorbční aktivity.
 - Léčení vitamínem K₂ indukuje apoptózu osteoklastů, ale inhibuje apoptózu osteoblastů, což vede ke zvýšené tvorbě kosti.
 - Vitamin K₂ podporuje expresi osteokalcinu (zvyšuje jeho mRNA), což je možno dále modulovat podáváním 1 α ,25-(OH)₂ vitamin D₃.
-

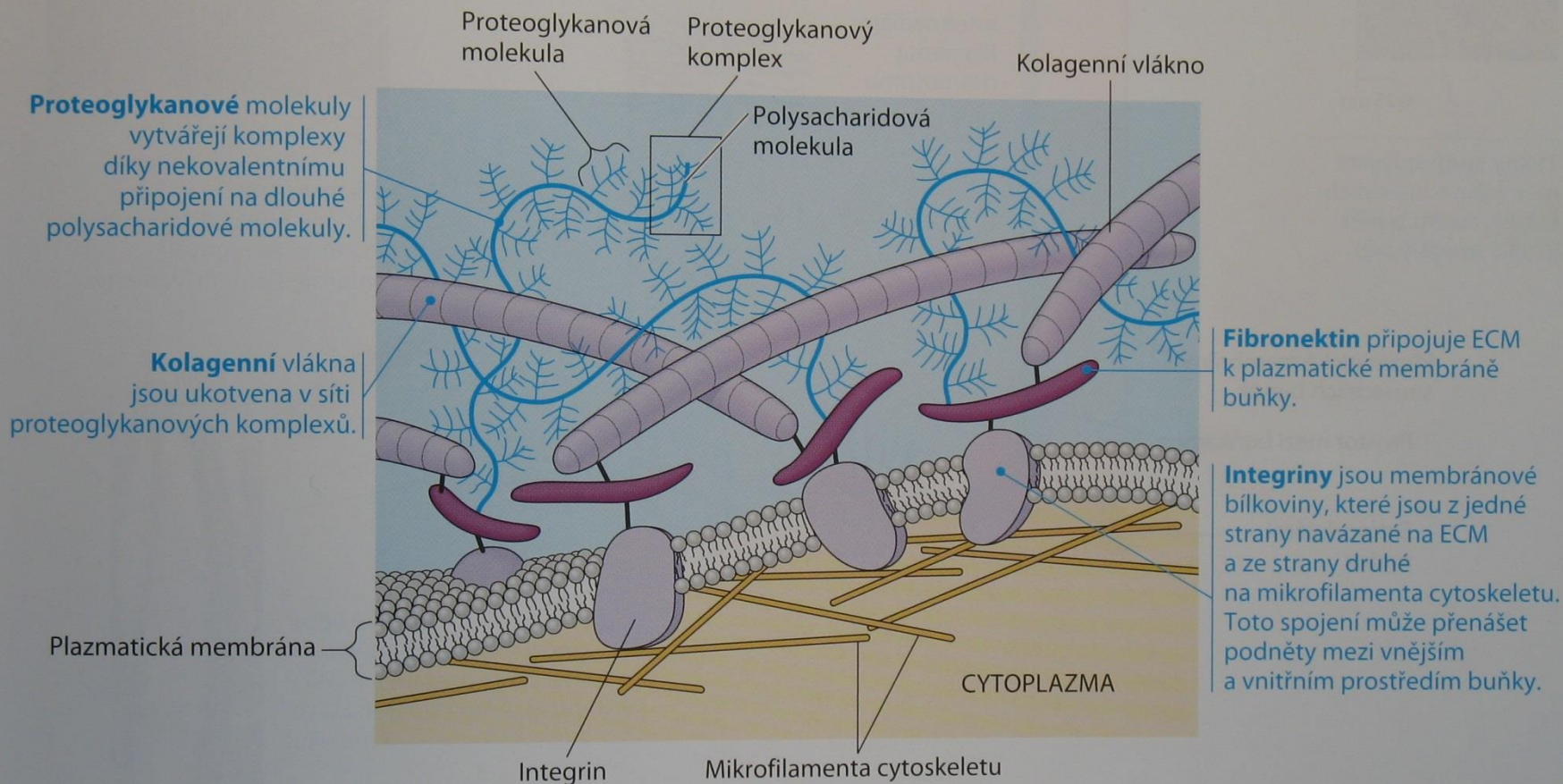


Vitamin K₂ je transkripčním regulátorem genů specifických pro kost, které působí prostřednictvím SXR zvýšení exprese osteoblastických markerů. Původně SXR znám jako xenobiotický senzor...

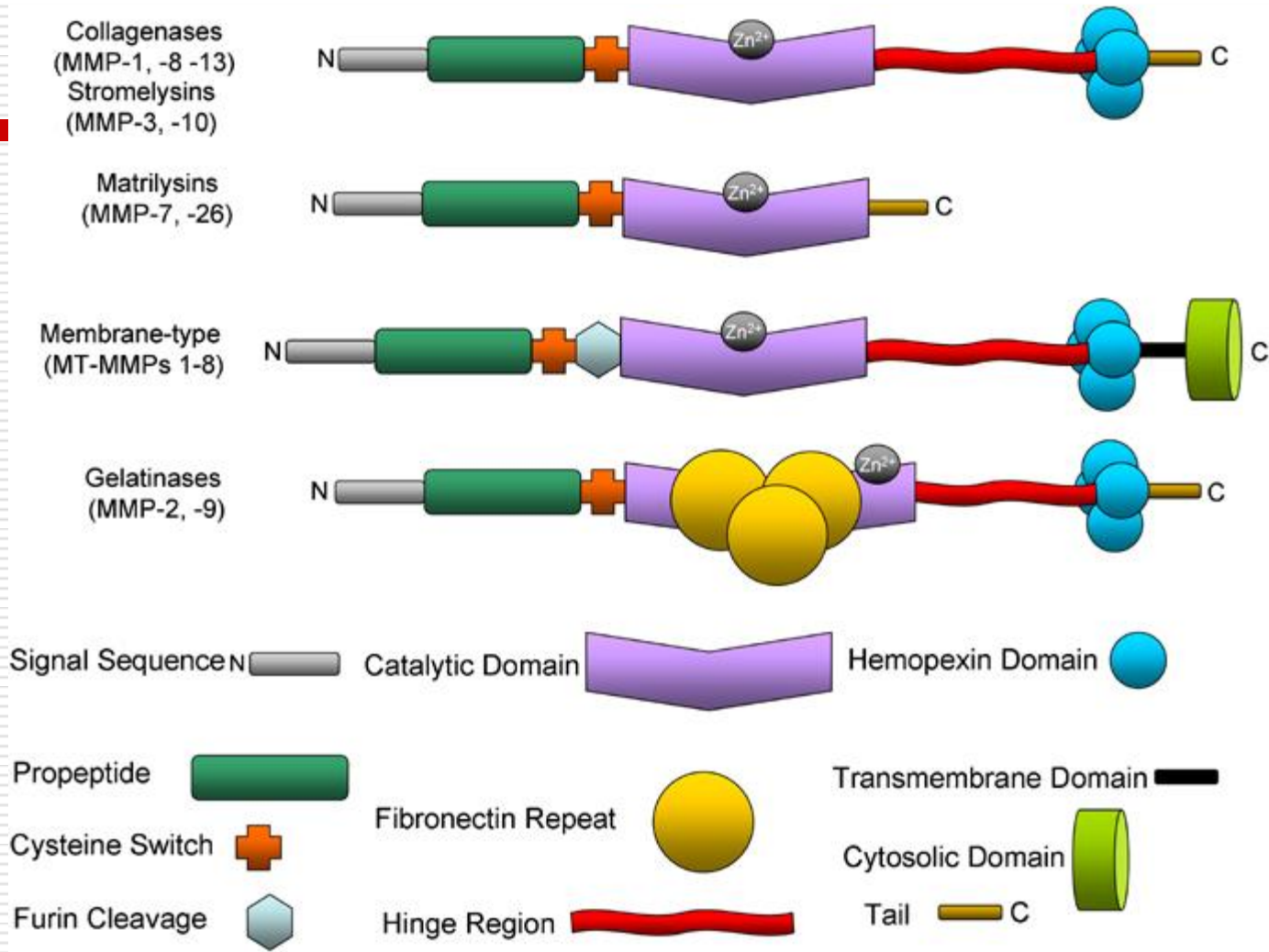
Fig. 3. SXR- and vitamin K₂-dependent regulatory mechanisms of bone metabolism in osteoblastic cells. SXR promotes collagen accumulation in osteoblastic cells by regulating the transcription of its target genes including those encode extracellular matrix proteins. Vitamin K₂ plays a role in the posttranslational modification of Gla proteins by functioning as a coenzyme of γ -glutamyl carboxylase (GGCX) and also acts as a potent SXR ligand in bone metabolism

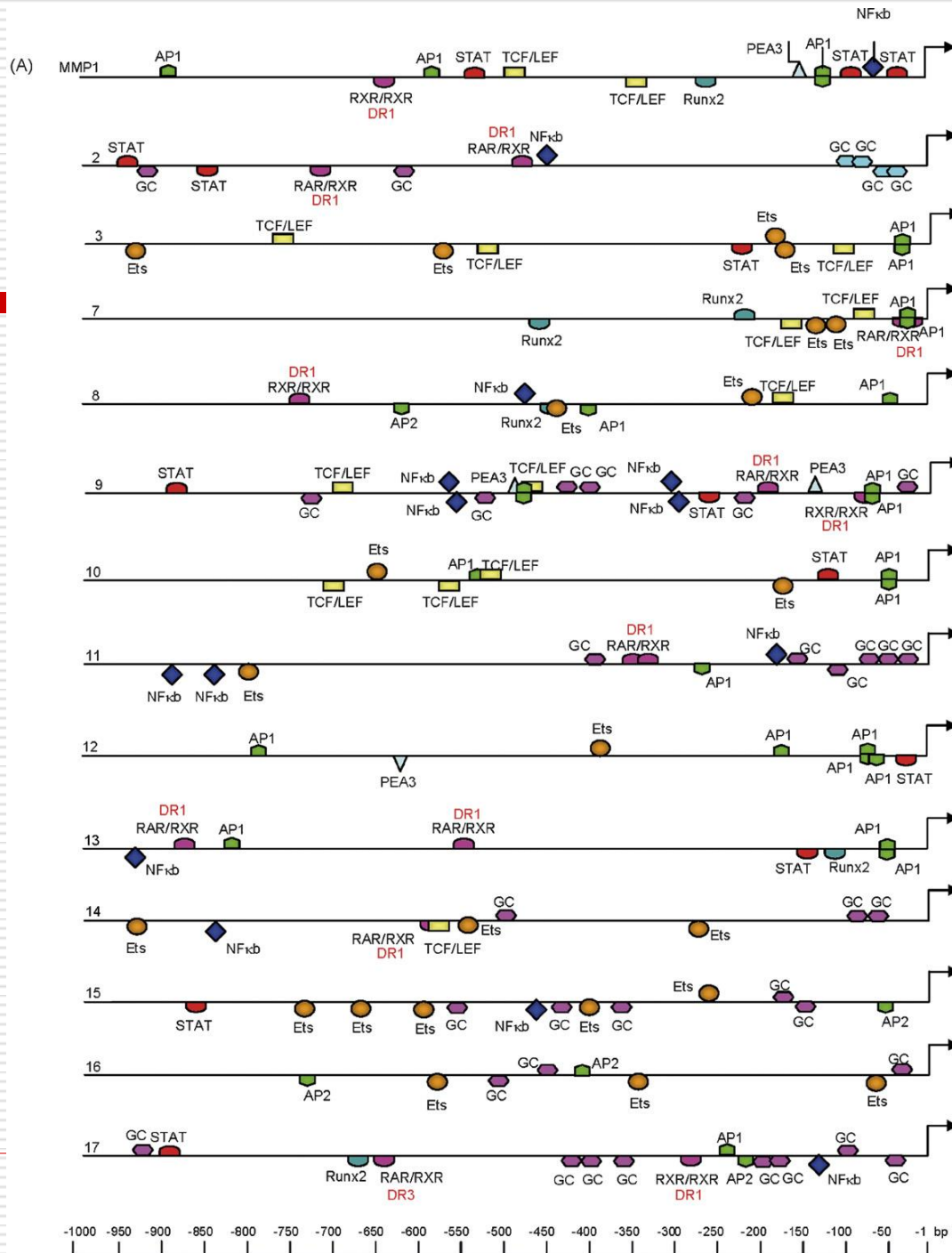
Kloubní degenerativní onemocnění

- Irreverzibilní destrukce chrupavky, šlachy a kosti, které postihují synoviální klouby je společným rysem revmatoidní artritidy a osteoartritidy.
 - Chrupavka: proteoglykany a kolagen typu II
 - Šlachy a kosti: kolagen typu I
 - RA je autoimunní nemoc
 - Podíl zánětlivých cytokinů u obou nemocí (interleukin-1 beta (IL-1 beta) a tumor necrosis factor-alpha (TNF-alpha)). Ty stimulují produkci matrix metalloproteináz (MMP), degradujících extracelulární matrix..
-

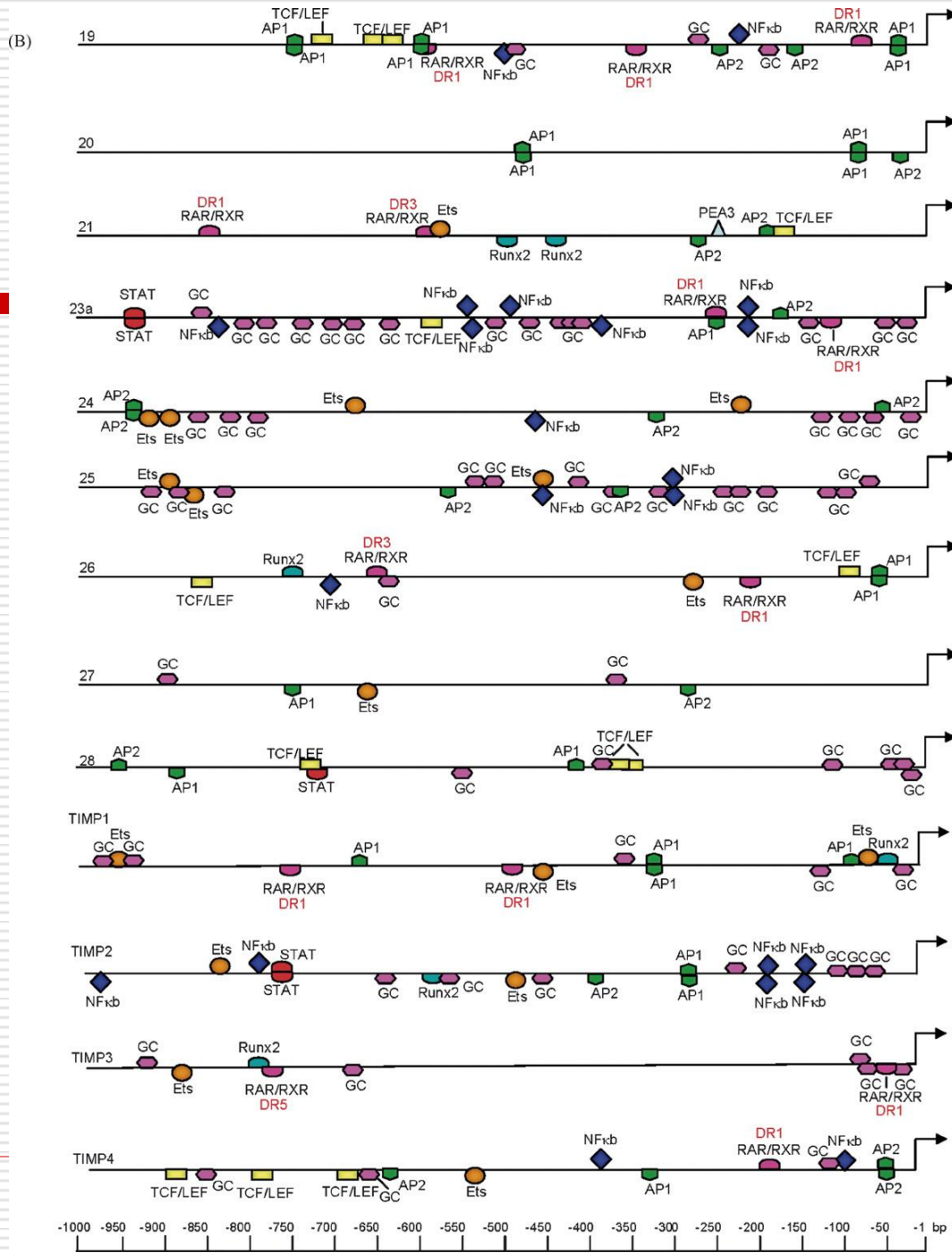


Obrázek 7.29 – Extracelulární matrix (ECM) živočišné buňky. Molekulární složení a struktura ECM se mezi jednotlivými buněčnými typy liší. Zde se nachází tři typy glykoproteinů: proteoglykan, kolagen a fibronektin. Kolagenová vlákna jsou ukotvena v proteoglykanových komplexech, které se skládají z molekul proteoglykanů, rozvětřujících se z dlouhých polysacharidových molekul jako malé stromečky. Fibronektinové molekuly jsou přílnavé, takže připojují ECM k plazmatické membráně buňky, a to díky svému spojení s membránovými bílkovinami, nazývanými integriny.





Clark, I. M., et al., The regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitors, *Int J Biochem Cell Biol* (2008), doi:10.1016/j.biocel.2007.12.006



Clark, I. M., et al., The regulation of matrix metalloproteinases and their inhibitors, *Int J Biochem Cell Biol* (2008), doi:10.1016/j.biocel.2007.12.006

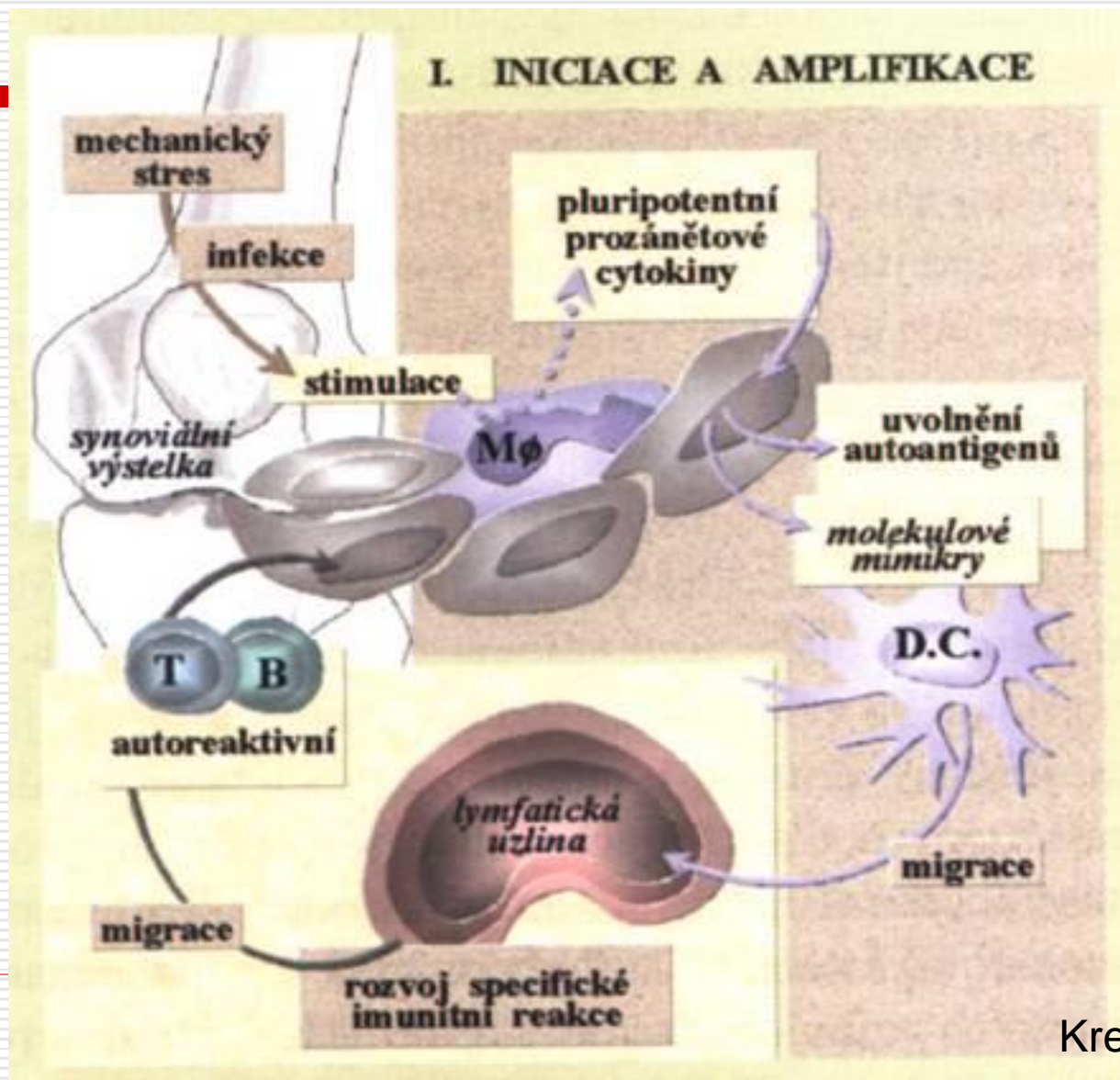
Kloubní degenerativní onemocnění

- ❑ Kolagenázy MMP-1 a MMP-13 hrají u těchto onemocnění dominantní roli, protože podstatně ovlivňují degradaci kolagenu.
 - ❑ MMP-1 je produkován především synoviálními buňkami, které lemuji kloub
 - ❑ MMP-13 je produkována chondrocyty v chrupavce. Kromě kolagenu MMP-13 degraduje také molekuly proteoglykanů (aggrecan)
 - ❑ Další matrix metaloproteinázy (MMP-2, MMP-3 a MMP-9) jsou u těchto onemocnění zvýšeny a degradují nekolagenní komponenty extracelulární matrix kloubů.
-

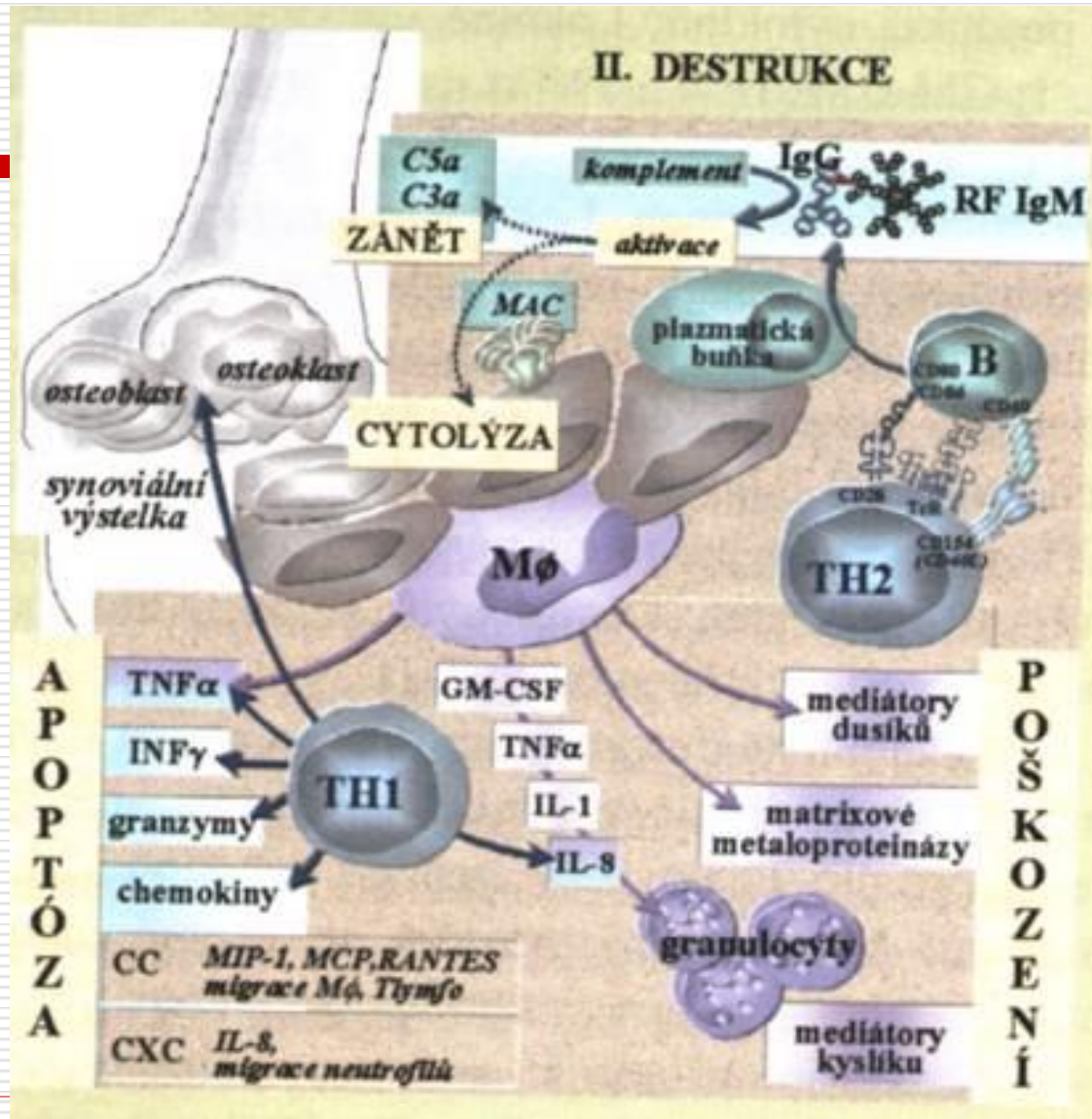
Revmatoidní artritida - patogeneze

- Běžné onemocnění (1% populace), ženy 40-60 let (Ž/M 3:1)
- Hlavním terčem imunopatologické reaktivity – synoviální membrána (hyperplastická, vaskularizovaná a infiltrovaná zánětlivými buňkami)
- Genetická predispozice (HLA DRB)

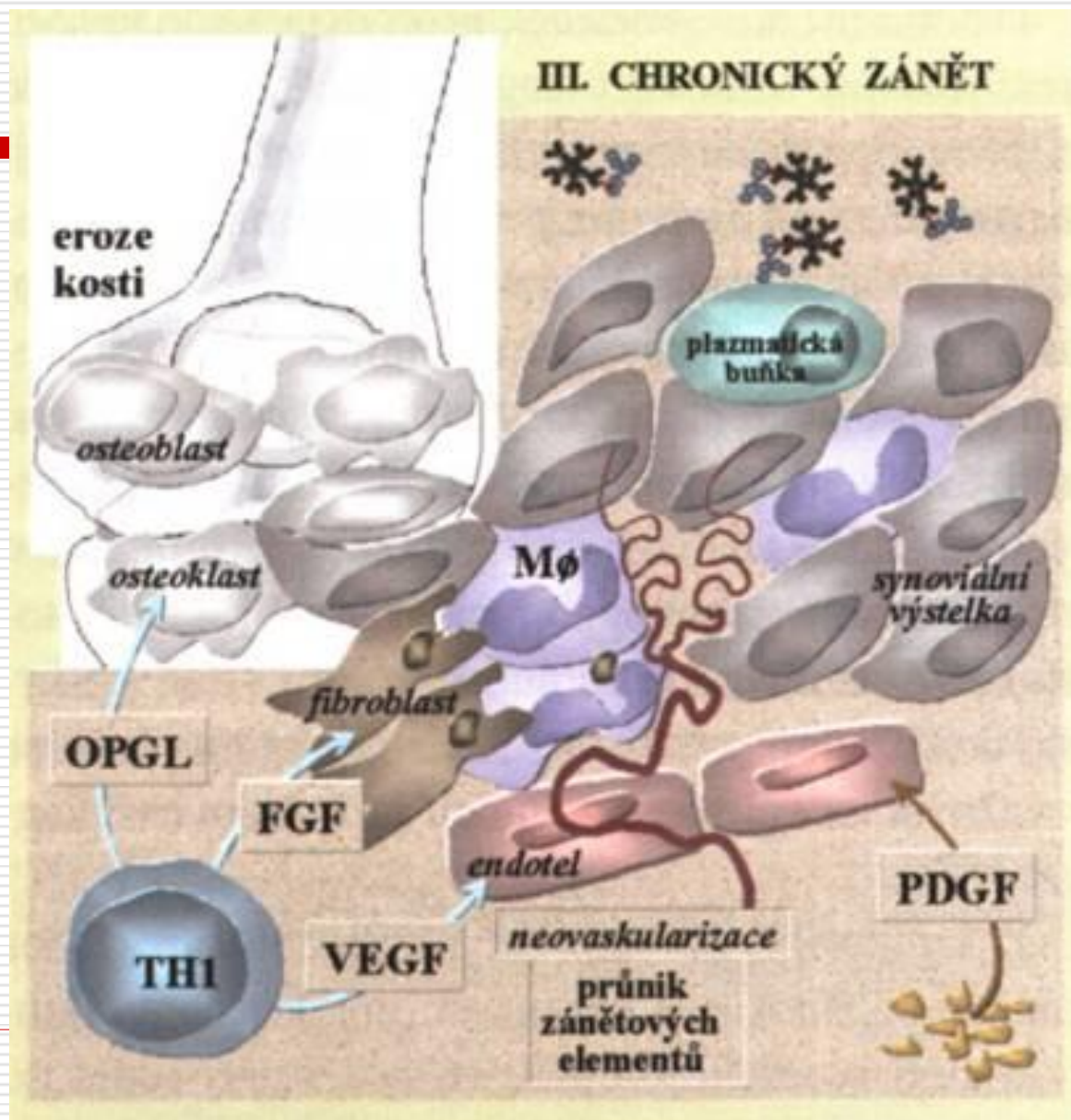
Revmatoidní artritida - patogeneze



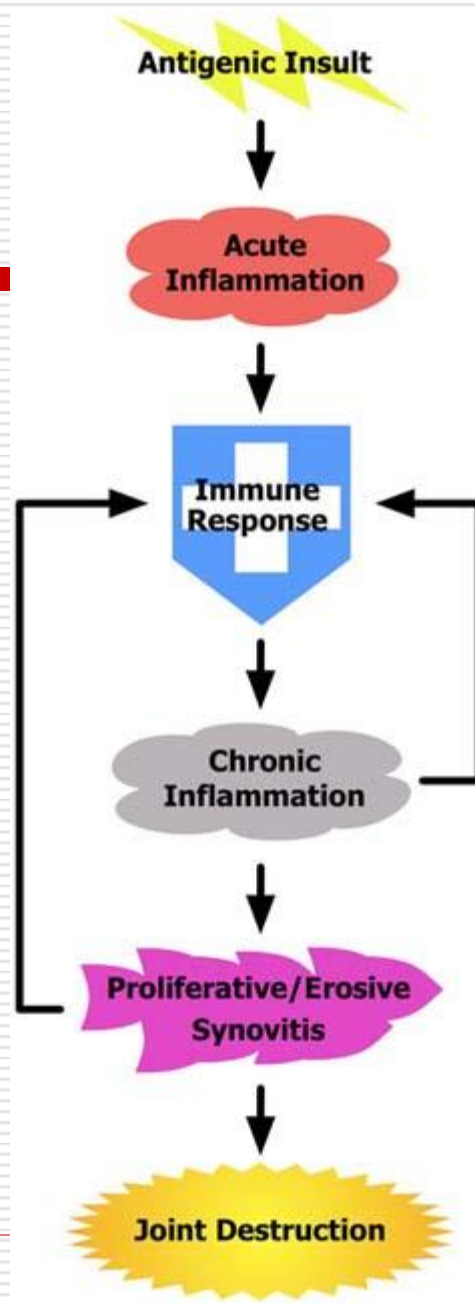
Revmatoidní artritida - patogeneze

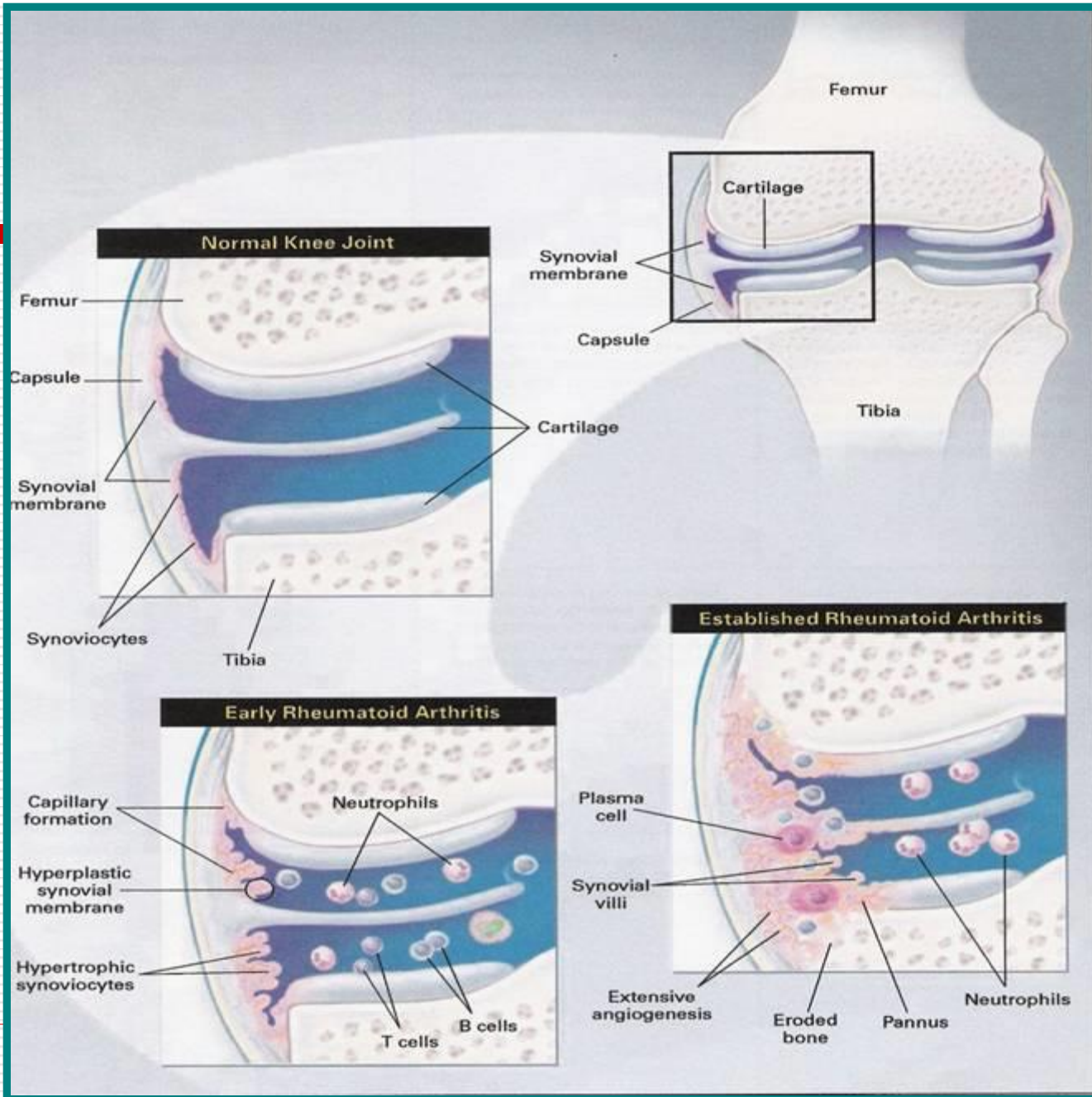


Revmatoidní artritida - patogeneze



Patogeneze
rheumatoidní arthritidy.

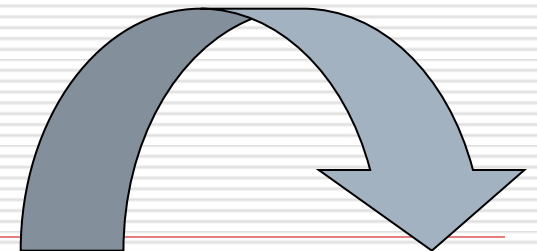


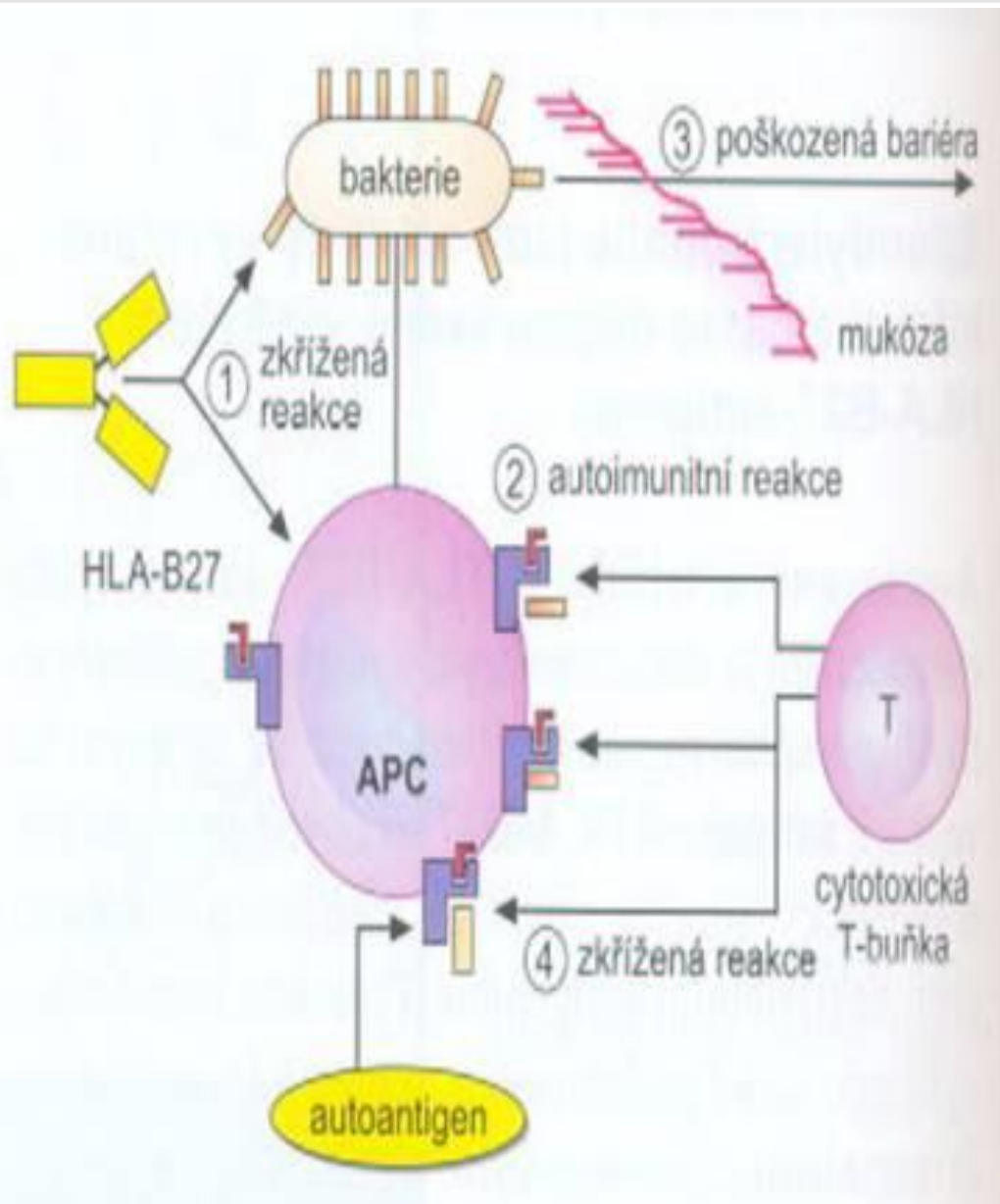


Ankylozující spondylitida (Bechtěrevova nemoc)

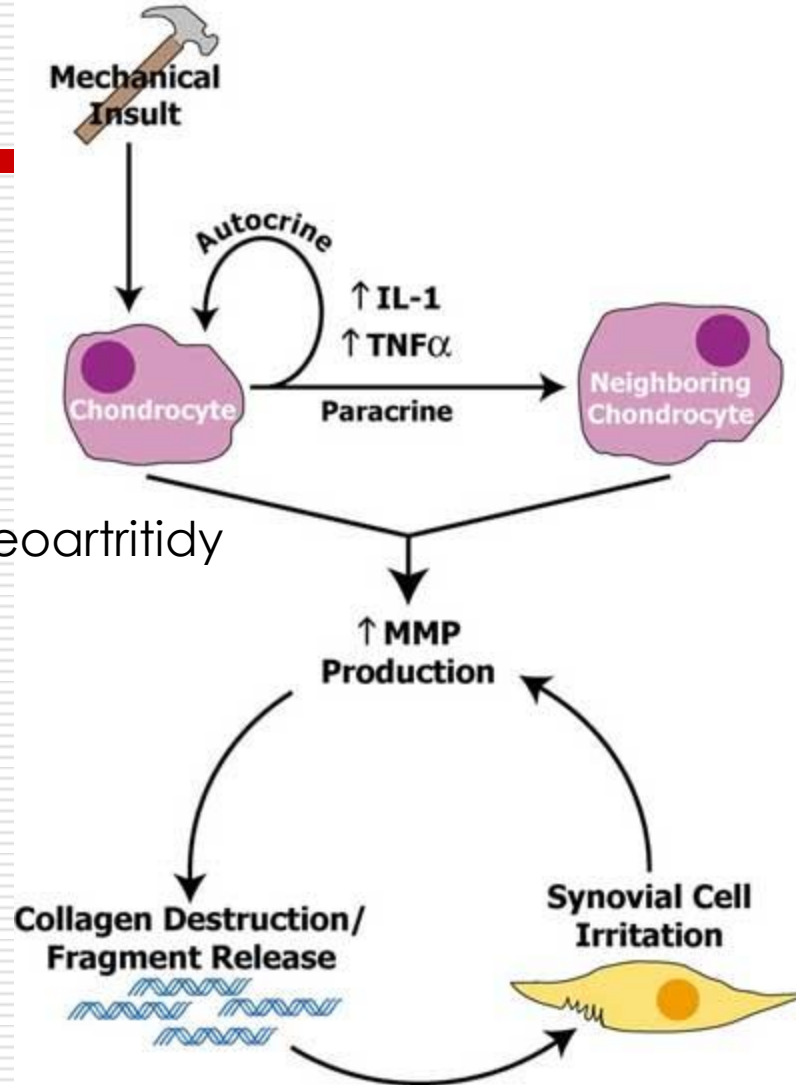
- ❑ Postihuje zejména **muže**
- ❑ Postižena páteř, intervertebrální, kostovertebrální a sakroiliakální klouby, příp. kořenové klouby (rizomelická forma) a klouby periferní (periferní forma)
- ❑ Těsná asociace s **HLA-B27**

- ❑ **Pestrý obraz:** usury, dekalifikace, syndesmofyty, ankylóza (ztuhnutí v kyfózním postavení), entézy
- ❑ **Mimokloubní projevy:** uveitis (iritis), perikarditis, uretritis, restriční porucha plic





Patogeneze of osteoartritidy



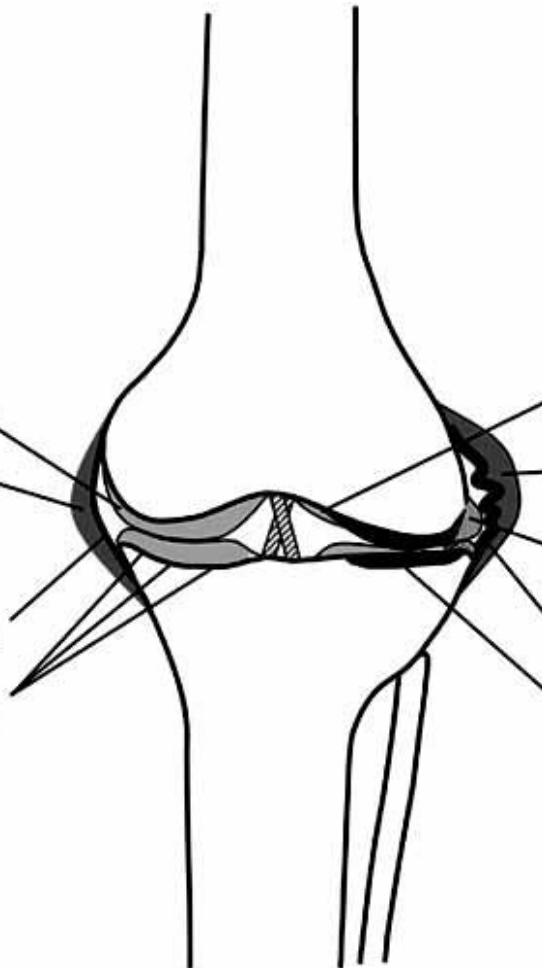
Osteoartritida

normal

articular cartilage
joint capsule
synovial membrane
(subchondral) bone

Osteoarthritis
(joint deformation)

destruced cartilage
capsular fibrosis
osteophyte formation
synovial hyperplasia
(subchondral) bone remodelling
and sclerosis



Děkuji vám za pozornost

