

Kurs z zakresu: Zaburzenia metabolizmu kostnego i tkanki tłuszczowej

Metabolizm kostny – czynniki regulacyjne

Dr n. biol. Joanna Gajewska

Zakład Badań Przesiewowych i Diagnostyki Metabolicznej IMID



Fundusze
Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



edu-metgen.imid.med.pl

SKŁAD KOŚCI:

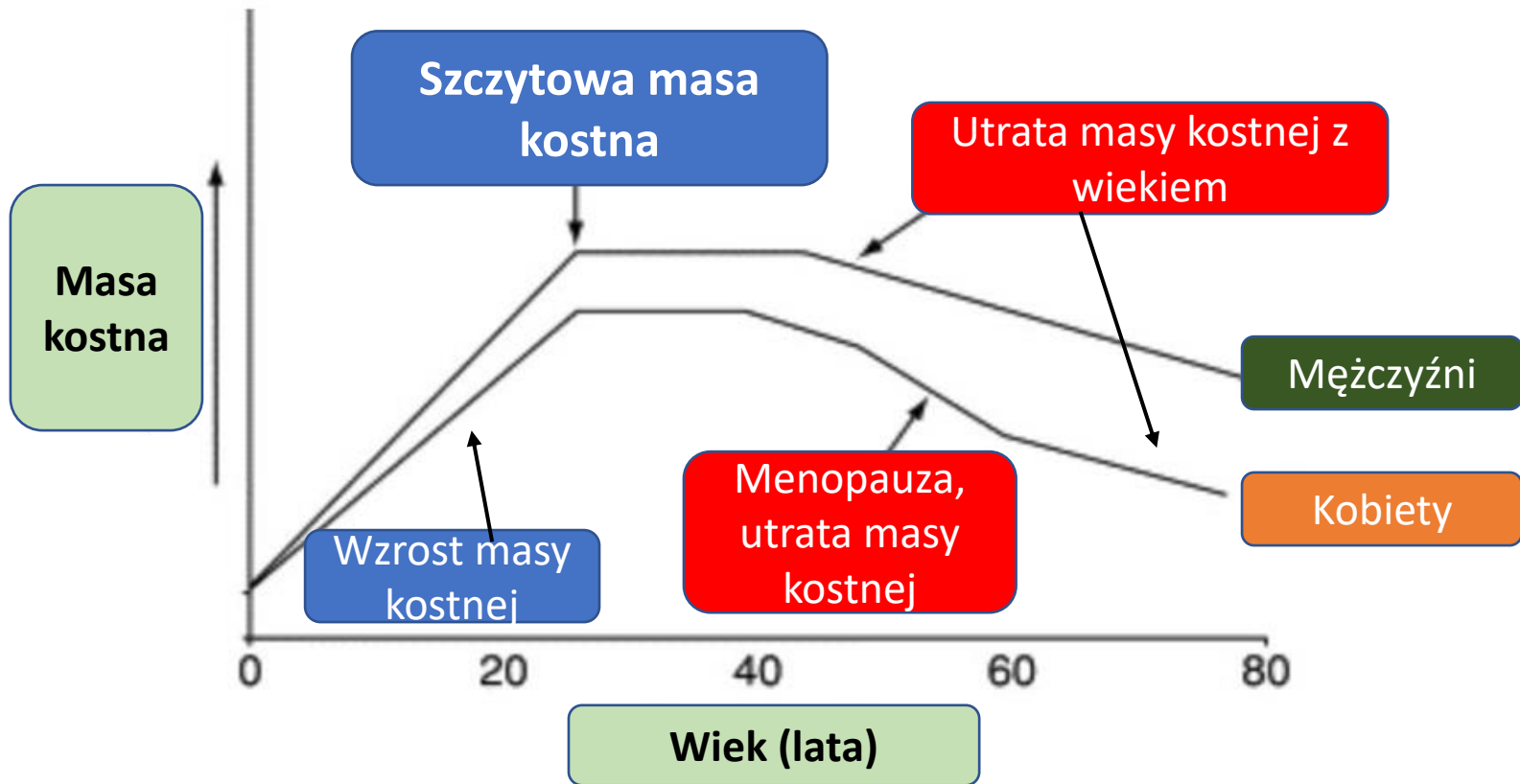
SKŁADNIKI NIEORGANICZNE - minerał kostny - hydroksyapatyt (65%)
wapń 26%, fosfor 34%,
magnez, sód, potas, węglany, chlorki, fluorki

MACIERZ ORGANICZNA (osteoid) (35%):

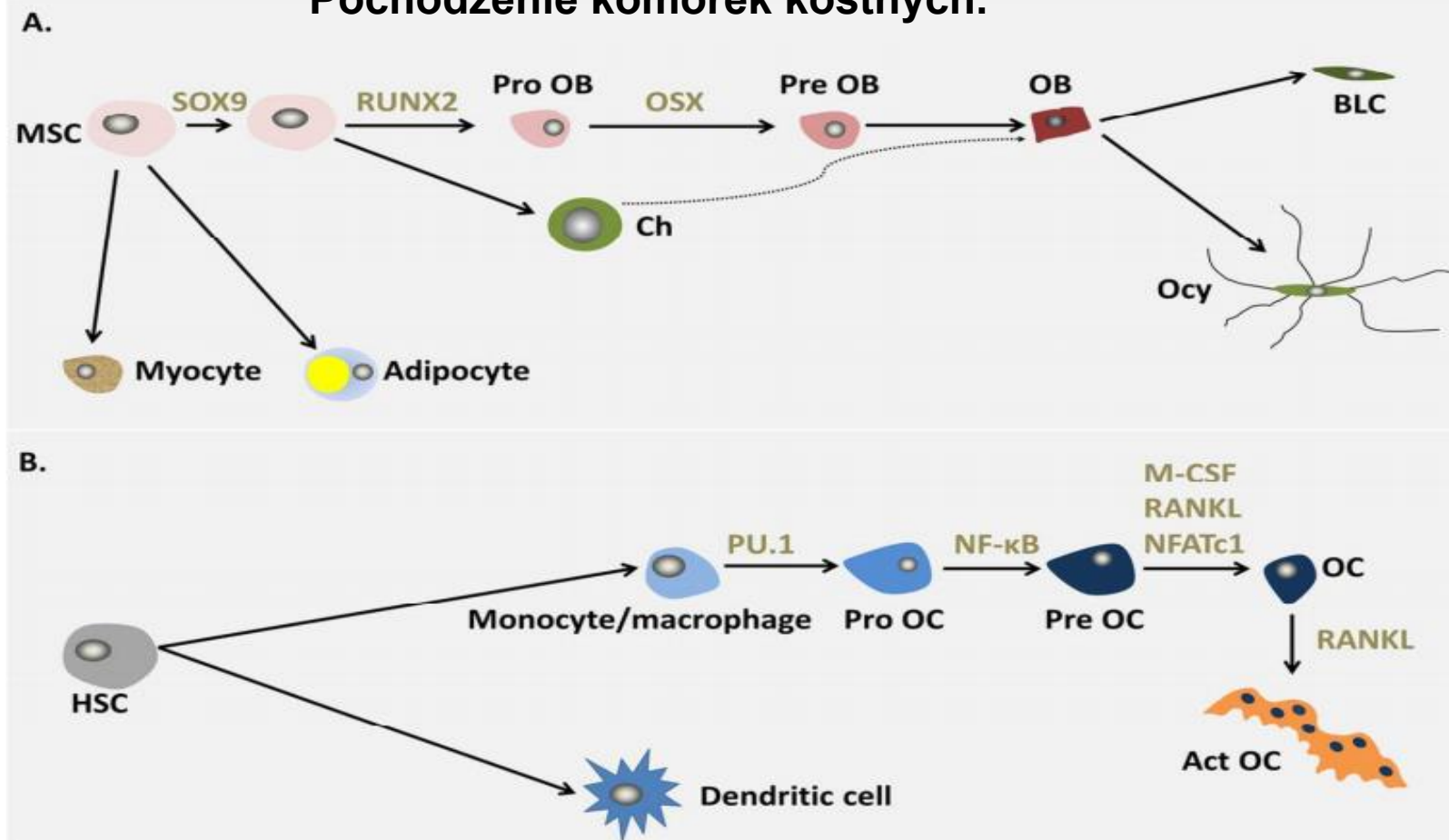
- KOLAGEN TYPU I (ŚLAD TYPU III,V,XI,XIII) - 93%
- BIAŁKA NIEKOLAGENOWE - 5%:
 - proteoglikany
 - sialoproteiny
 - osteonektyna
 - osteokalcyna
 - kolagenaza
 - czynniki wzrostu
- ELEMENTY MORFOTYCZNE (komórki kostne: osteoblasty, osteoklasty, osteocyty, i in.) - 2%



Zmiana masy kostnej z wiekiem



Pochodzenie komórek kostnych.



A. Mezenchymalne komórki macierzyste (MSC) mogą tworzyć adipocyty, chondrocyty (Ch), miocyty lub osteoblasty prekursorzy (Pro OB), pre-osteoblasty (Pre OB), a następnie osteoblasty (OB). Dojrzałe osteoblasty mogą różnicować do komórek wyściółki kostnej (BLC) lub osteocytów (Ocy).

B. Hematopoetyczne komórki macierzyste (HSC) różnicują się w monocyty/makrofagi lub komórki dendrytyczne. Monocyty/makrofagi następnie różnicują się w osteoklasty progenitorowe (Pro OC), pre-osteoklasty (Pre OC), a następnie osteoklasty (OC). Aktywna formacja OC (Act OC) jest stymulowane przez RANKL.

Kenre i wsp, Ann Clin Biochem 2018

OSTEOBLAST

- **jednojądrzaste komórki o wielkości 20-30 μm** , wywodzące się z komórek mezenchymalnych,
- budowa biegunowa - aparat Golgiego, siateczka śródplazmatyczna i liczne pęcherzyki wydzielnicze zgromadzone w części komórki zwróconej do nowotworzonej kości, liczne wypustki do komunikacji między osteoblastami,
- produkcja składników macierzy pozakomórkowej – kolagenu typu I oraz białek niekolagenowych niezbędnych w procesie mineralizacji kości,
- receptory na powierzchni oraz w jądrach osteoblastów dla hormonów (PTH, hormon wzrostu, hormon tarczycy) oraz dla witaminy D - regulacja funkcji osteoblastów.



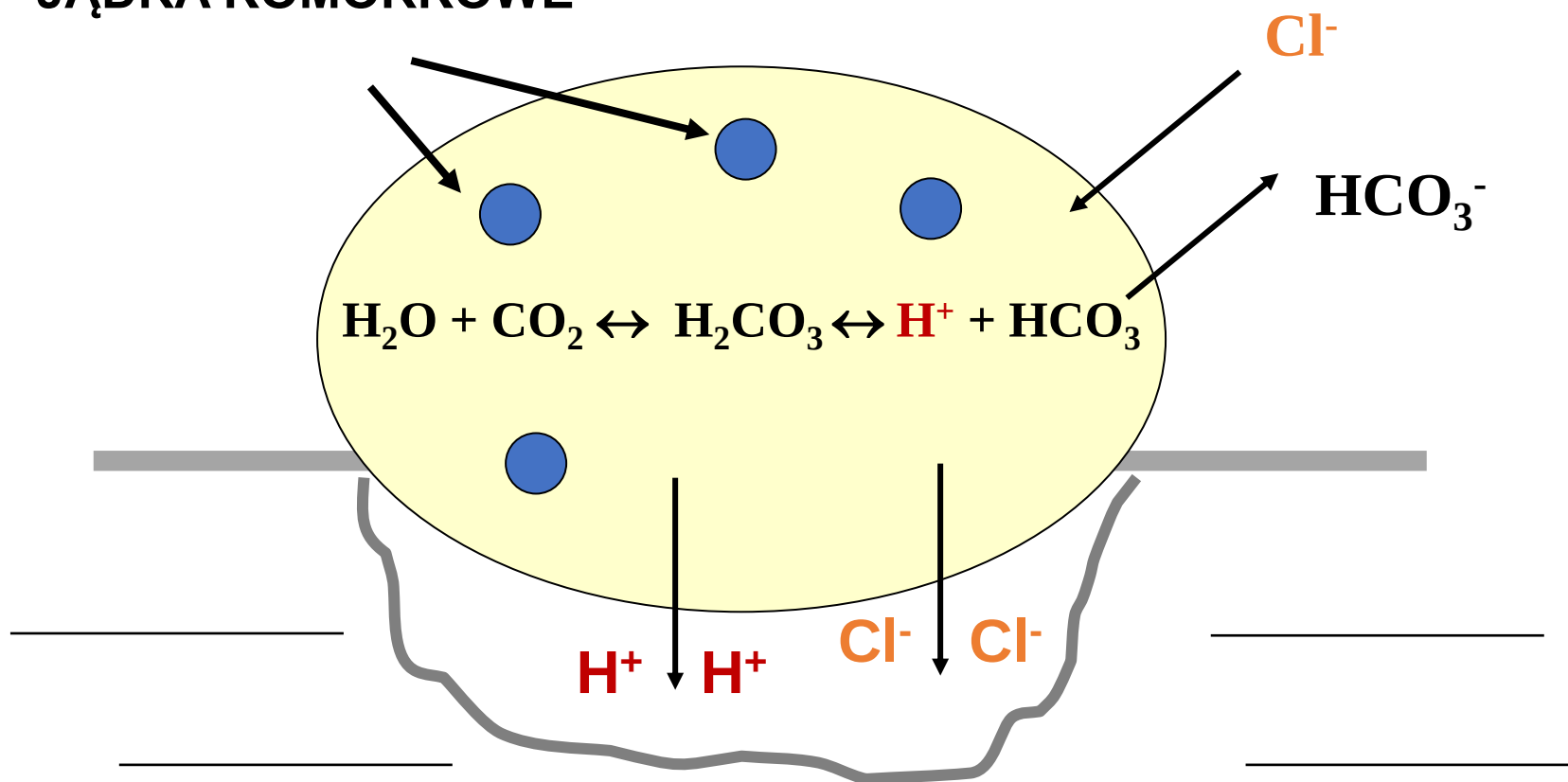
OSTEOKLAST

- **duże wielojądrzaste komórki (5-10 jąder)** o wielkości **około 100 μm** z dużą ilością lizosomów, mitochondriów, poliribosomów - powstają przez fuzję makrofagów jednojądrowych pobudzaną przez witaminę D,
- **wiele wypustek cytoplazmatycznych** zwiększających powierzchnię styku z macierzą międzykomórkową kości,
- **rozpuszczają** nieorganiczne składniki macierzy międzykomórkowej oraz trawią organiczną część istoty zewnątrzkomórkowej, fagocytują i trawią wewnątrzkomórkowo pofragmentowane struktury organiczne,
- **stymulująco** - na aktywność osteoklastów wpływa PTH, witamina D, **hamująco** – kalcytonina.



OSTEOKLAST

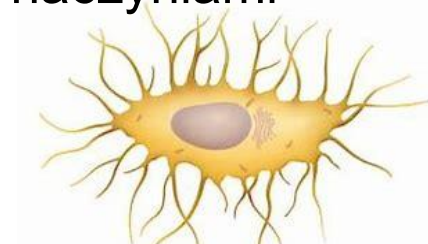
JĄDRA KOMÓRKOWE



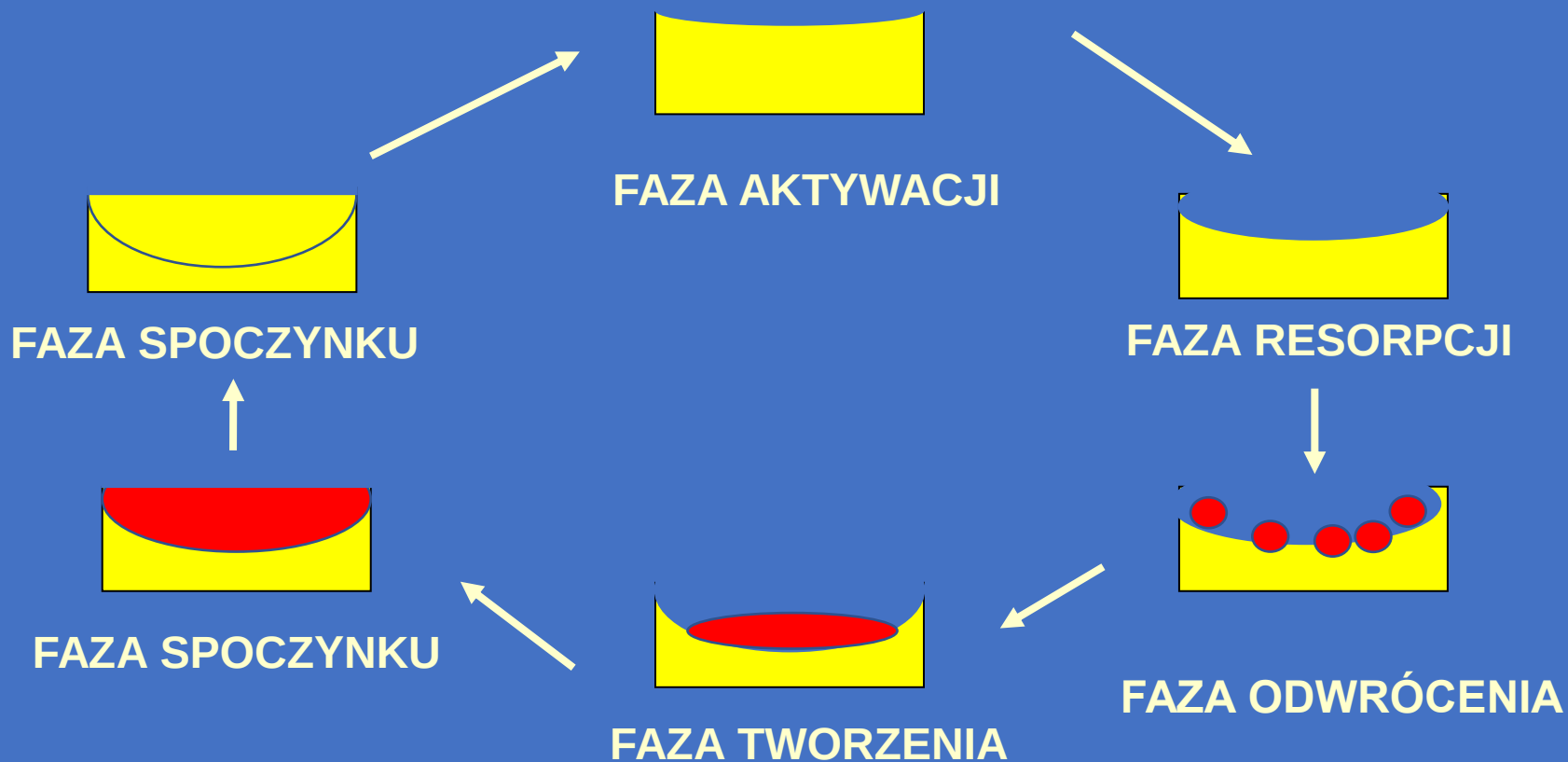
ZMINERALIZOWANA KOŚĆ

OSTEOCYT

- **dojrzałe, płaskie komórki o wielkości 20-50 μm** , powstające z osteoblastów, brak budowy biegunowej, występuje szorstka siateczka śródplazmatyczna, słabo rozwinięty aparat Golgiego i pęcherzyki wydzielnicze.
- **osteocyty występują w jamkach kostnych**, a ich wypustki w kanalikach kostnych, osteocyty licznymi wypustkami łączą się między sobą oraz z wypustkami osteoblastów i komórek wyściełających na powierzchni kości,
- **funkcją osteocytów** jest głównie wymiana substancji odżywczych oraz metabolitów między komórkami, ze względu na bliskość z naczyniami krwionośnymi,
- **procesy przekazywania** substancji między osteocytami zachodzą intensywniej w młodej tkance kostnej, efektywność tych procesów spada wraz z wiekiem.



CYKL PRZEBUDOWY TKANKI KOSTNEJ



BIOCHEMICZNE MARKERY OBROTU KOSTNEGO

Szybkość przemian w układzie kostnym może być oceniana dzięki zastosowaniu biochemicznych wskaźników obrotu kostnego, które odzwierciedlają aktywność wszystkich procesów odbywających się w danym czasie w obrębie szkieletu.

- * Enzymy uwalniane przez aktywne komórki kostne**
- * Składniki macierzy kostnej syntetyzowane przez osteoblasty**
- * Składniki macierzy kostnej pochodzące z osteoklastycznej degradacji kolagenu kości**

Markery obrotu kostnego

KOŚĆ

Proces resorpcji kości

HYP GHYL TRAP5b Pyd CTX
Dpd NTX

Proces kościotworzenia

BALP OC PICP PINP

Markery resorpcji kości: HYP – Hydroksyprolina, GHYL – Galaktozyd hydroksylizyny, TRAP5b – Winianooporna kwasna fosfataza, Pyd – Pirydynolina, Dpd – Dezoksypirydynolina, CTX – C-końcowy usieciowany telopeptyd łańcucha kolagenu typu I, NTX – N-końcowy usieciowany telopeptyd łańcucha kolagenu typu I

Markery kościotworzenia: BALP – kostna frakcja fosfatazy alkalicznej, OC – osteokalcyna, PICP – C-końcowy propeptyd prokolagenu typu I, PINP – N-końcowy propeptyd prokolagenu typu I

KOSTNA FRAKCJA FOSFATAZY ALKALICZNEJ (BALP)

- **Izoenzym fosfatazy alkalicznej (ALP)**, glikoproteina o masie cząsteczkowej 160 kDa, kodowana przez gen *tns* (ang. tissue non-specific) zlokalizowany na krótkim ramieniu chromosomu 1,
- **BALP zlokalizowana jest** w błonie komórkowej osteoblastów, należy do ektoenzymów działających na zewnątrz komórki,
- **Uwalniany do krwiobiegu w procesie kościotworzenia** podczas dojrzewania macierzy kostnej. Odgrywa rolę w inicjacji mineralizacji kości i/lub wpływa na wczesne etapy jej przebiegu,
- **W procesie hydrolizy** uwalnia fosforany, reguluje proces mineralizacji poprzez enzymatyczną degradację pirofosforanu w alkalicznym pH,

Właściwości BALP:

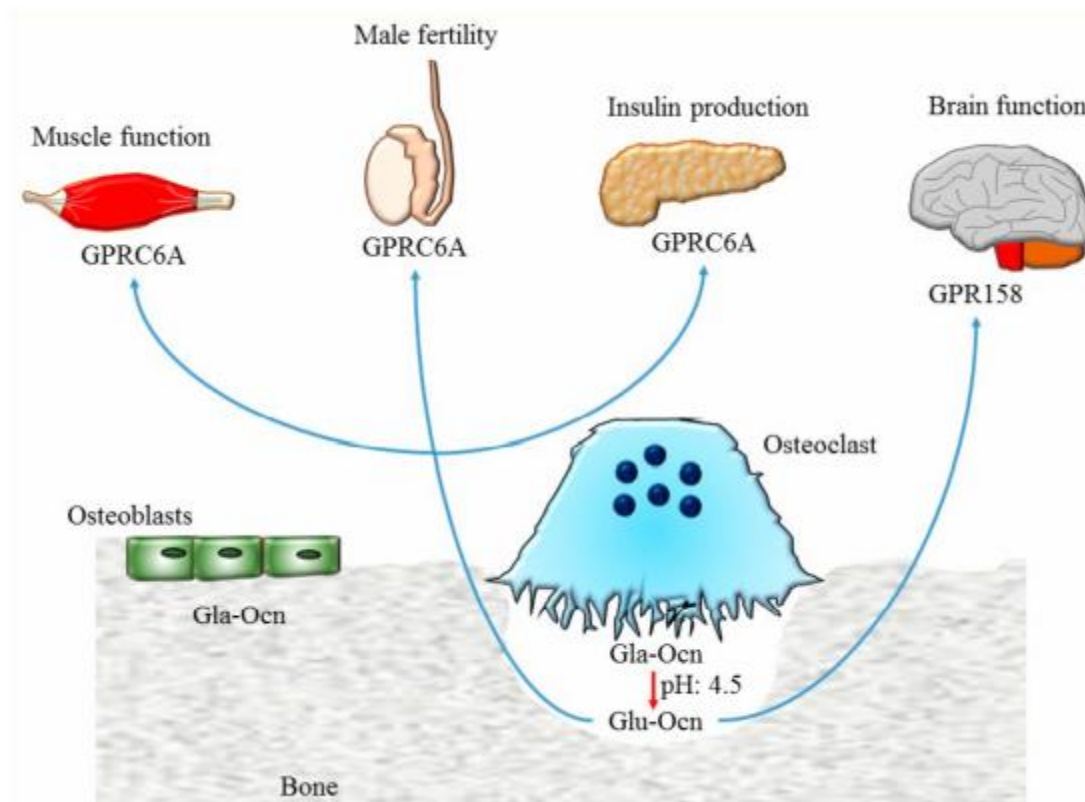
wysoka swoistość, niezależny od diety, niska zmienność osobnicza, odpowiada na terapię antyresorpcyjną,

Wysoka zmienność dobową – stałe pory pobierania materiału do badań.



OSTEOKALCYNA (OC)

- **Niekolagenowe białko macierzy kostnej o masie 5 kDa**, zbudowane z 49 aminokwasów, syntetyzowane przez dojrzałe osteoblasty i osteocyty (preosteokalcyna – 23 AA, propeptyd – 26 AA, dojrzała postać OC – 49 AA) - mineralizacja osteoidu, późny marker procesu mineralizacji (aktywności osteoblastów),
- **Karboksylowana postać** osteokalcyny posiada trzy reszty kwasu γ -karboksyglutaminowego (γ -carboxylated osteocalcin, Gla-OC) w pozycji 17,21,24, przez co ma duże powinowactwo do jonów wapnia. Jony te wiązane są w kryształach hydroksyapatytu zewnątrzkomórkowej macierzy kostnej.
- **Niedokarboksylowana forma** osteokalcyny (undercarboxylated osteocalcin, Glu-OC) ma mniej niż trzy reszty kwasu γ -karboksyglutaminowego, stąd jej powinowactwo do jonów wapnia i zdolność do mineralizacji jest mniejsza.



Osteokalcyna przechowywana w macierzy kostnej w postaci karboksylowanej (Gla – OC) ulega dekarboksylacji pod wpływem kwaśnego pH w jednostce resorpcyjnej. Niedokarboksylowana osteokalcyna (Glu – OC) jest uwalniana do krwiobiegu i reguluje pracę mięśni funkcji, męskiej płodności i wydzielania insuliny poprzez wiązanie się z receptorem GPRC6A, podczas gdy kontroluje funkcje poznawcze poprzez receptor GPR158 w mózgu.

Rossi i wsp. Int J Mol Sciences 2019

CTX i NTX

- **N-końcowy usieciowany telopeptyd łańcucha alfa kolagenu typu I (NTX),**
- **C-końcowy usieciowany telopeptyd łańcucha alfa kolagenu typu I (CTX)**

oktapeptydy usuwane są podczas resorpcji kości,

- podwyższone stężenie u kobiet po menopauzie,
- pozytywna odpowiedź na leczenie antyresorpcyjne,
- predyktory złamań kości u kobiet po menopauzie,
- stężenie CTX wykazuje pozytywną zależność z ubytkiem masy kostnej u pacjentów z osteoporozą,

- duża zmienność dobową,
- wpływ posiłku na stężenie markerów,
- w przypadku analizy w moczu wpływ czynności nerek na stężenie, oznaczanych markerów,

TRAP5b

- **isoforma 5b winianoopornej fosfatazy** – hydrolizuje monoestry w niskim pH, uwalniana przez osteoklasty,
- enzym lizosomalny w ząbkowanym obszarze osteoklastów oraz w przestrzeni resorpcyjnej,
- **powoduje fragmentację** kolagenu typu I,

- pozwala ocenić aktywność osteoklastów,
- wskaźnik tempa obrotu kostnego,

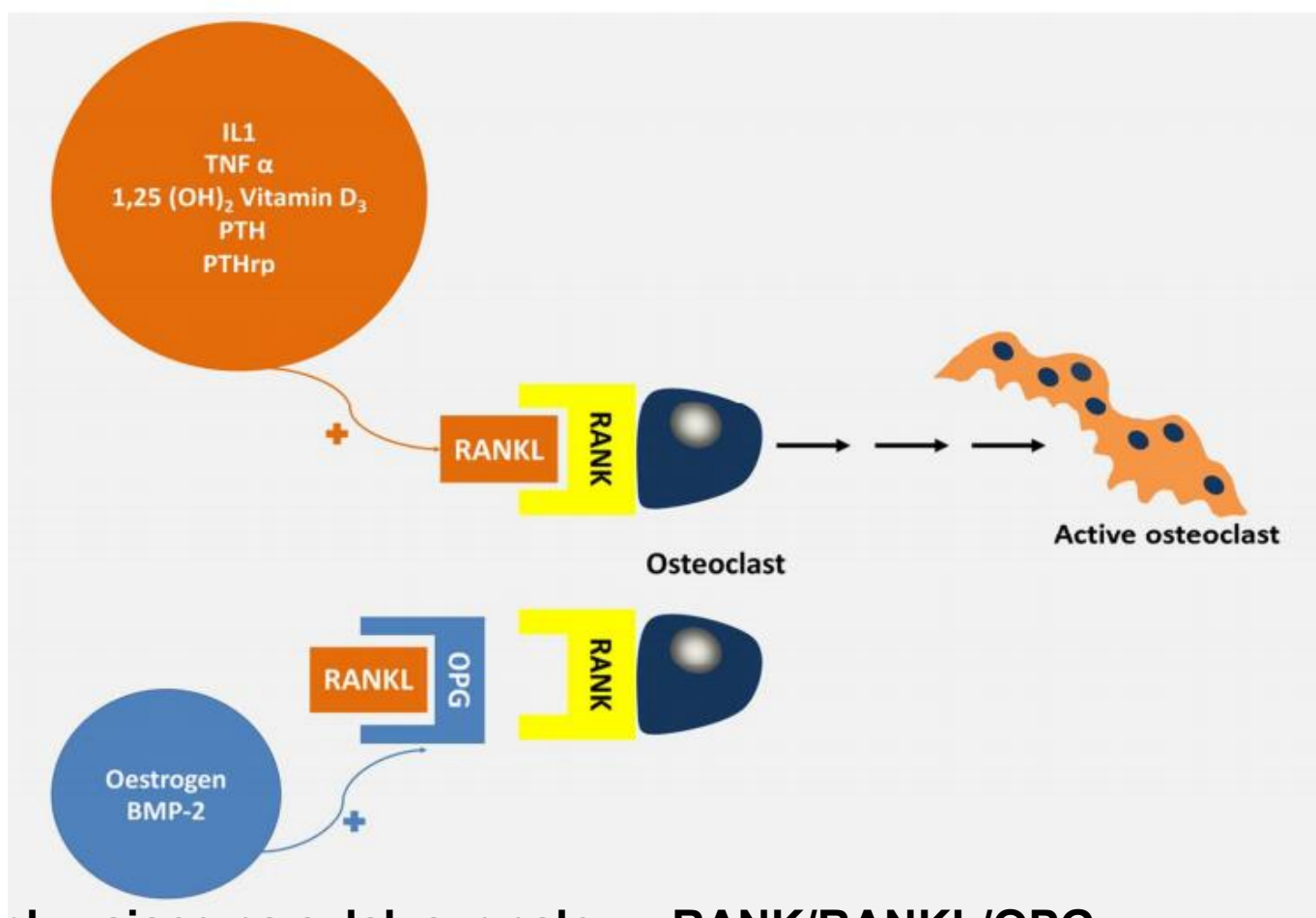
- zmienność dobową,
- brak stabilności w temperaturze pokojowej,
- trudności w odróżnieniu formy kostnej od form z tkanek pozakostnych.

RANK – RANKL – OPG

- ➡ **Proces dojrzewania** komórek prekursorowych osteoklastów wymaga m.in. aktywacji jądrowego czynnika- κ B, zależnej od wiązania błonowego receptora RANK z jego ligandem.
- ➡ **Ligand RANKL** jest wytwarzany przez osteoblasty oraz limfocyty T. Wiązanie RANKL z RANK może zostać zablokowane przez tzw. receptor wabikowy (decoy receptor) osteoprotegerynę (OPG), wydzielaną przez osteoblasty oraz komórki podścieliska, szpiku kostnego i dendrytyczne, a także fibroblasty, makrofagi i inne.
- ➡ **Brak aktywacji RANK** uniemożliwia komórkom prekursorowym osteoklastów różnicowanie inicjowane przez czynnik stymulujący wzrost kolonii makrofagów (MCSF).
- ➡ **Stosunek OPG do RANKL** moduluje proces resorpcji kości poprzez regulację różnicowania osteoklastów.

Osteoprotegeryna (OPG)

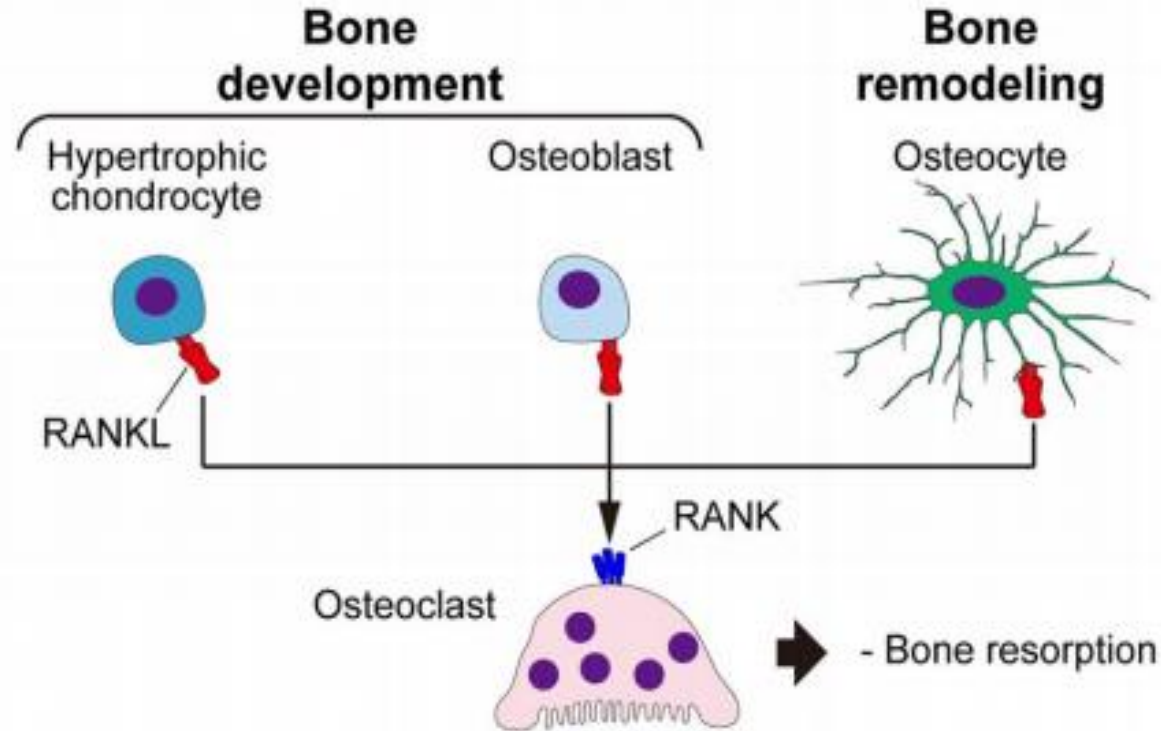
- ➡ **jest fizjologicznym regulatorem różnicowania osteoklastów**, składowa układu OPG-RANK-RANKL. Jest rozpuszczalnym receptorem dla ligandu aktywatora receptora jądrowego czynnika kappaB – RANKL (receptor activator of NF-kappaB ligand).
- ➡ **zbudowana z 401 aminokwasów glikoproteina** o masie cząsteczkowej 55 kDa jest kodowana u człowieka przez gen TNFRSF11B złożony z 5 eksonów, zlokalizowany na chromosomie 8q24. OPG występuje w 3 izoformach, jako: monomer, homodimer oraz w formie związanej z ligandem RANKL.



Czynniki wpływające na szlak sygnałowy RANK/RANKL/OPG.

Estrogeny i białko morfogenetyczne kości (BMP-2) indukują ekspresję osteoprotegeryny (OPG), podczas gdy 1,25 (OH) $_2$ witamina D $_3$, PTH, PTHrP, IL-1 i czynnik martwicy nowotworów α (TNF α) indukuje RANKL. OPG jest receptorem dla RANKL, blokującym jego wiązanie z RANK. Zatem to stosunek RANKL: OPG określa szybkość osteoklastogenezy.

Bone development and bone remodeling



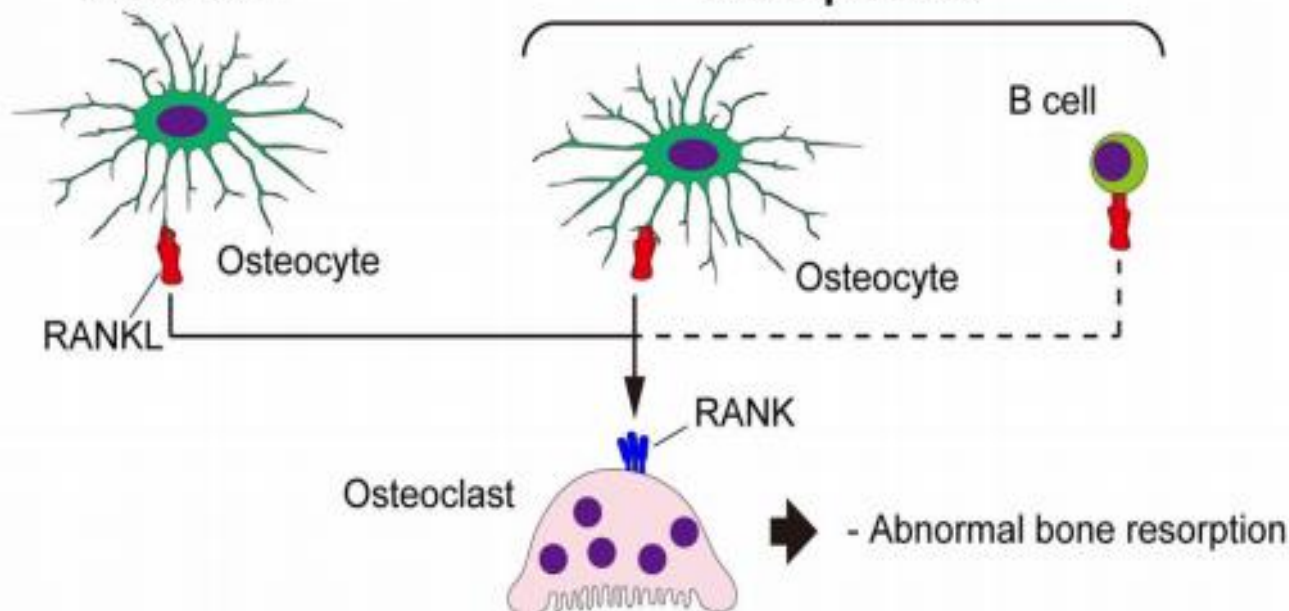
Rozwój kości i proces przebudowy kości

W tkance kostnej RANKL jest wytwarzany przez kilka typów komórki, w tym osteoblasty, osteocyty i komórki układu odpornościowego. Spośród tych komórek ekspresja RANKL jest najwyższa w osteoblastach i osteocytach.

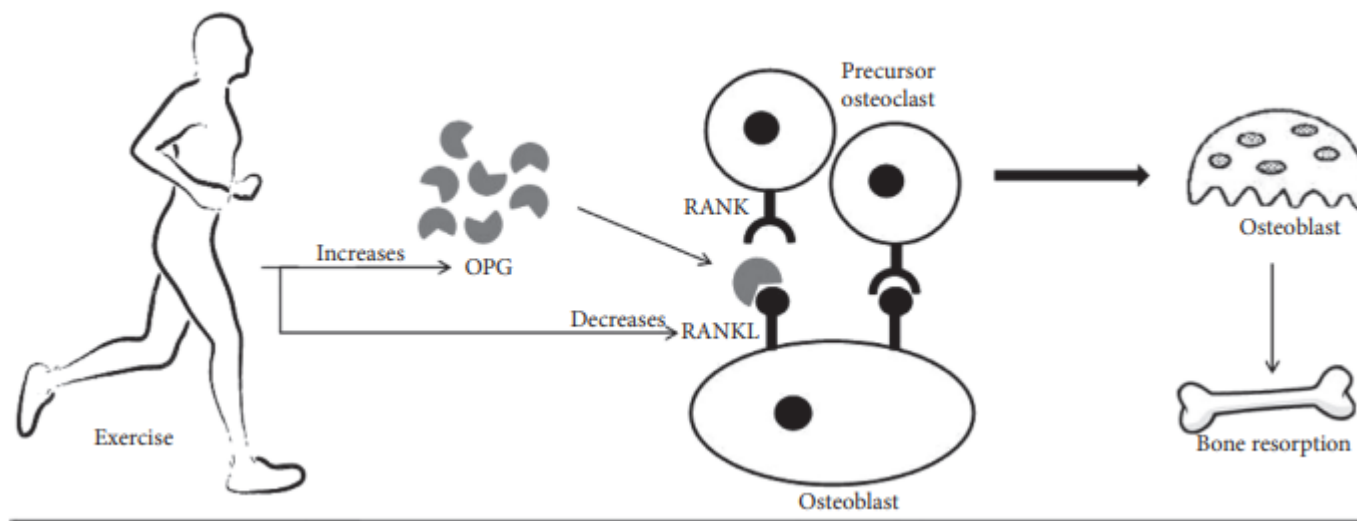
b Bone and joint diseases related to immobility and estrogen deficiency

Unloading-induced bone loss

Postmenopausal osteoporosis



Choroby kości i stawów związane z unieruchomieniem i niedoborem estrogenów. Mechaniczne obciążenie kości zachowuje jej morfologię, ilość i jakość. W przypadku leżenia w łóżku, deficytu estrogenów lub gdy ciało podczas lotów kosmicznych poddane jest mniejszym obciążeniom mechanicznym, dochodzi do nasilenia resorpcji kości. W efekcie kość staje się bardziej krucha i podatna na złamania.



Wpływ ćwiczeń fizycznych na szlak RANKL/RANK/OPG

W wielu badaniach obserwuje się obniżenie ekspresji RANKL, wzrost ekspresji OPG. Dodatkowo, często wykazywano wzrost aktywności BALP.



**promocja
procesu
kościotworzenia**

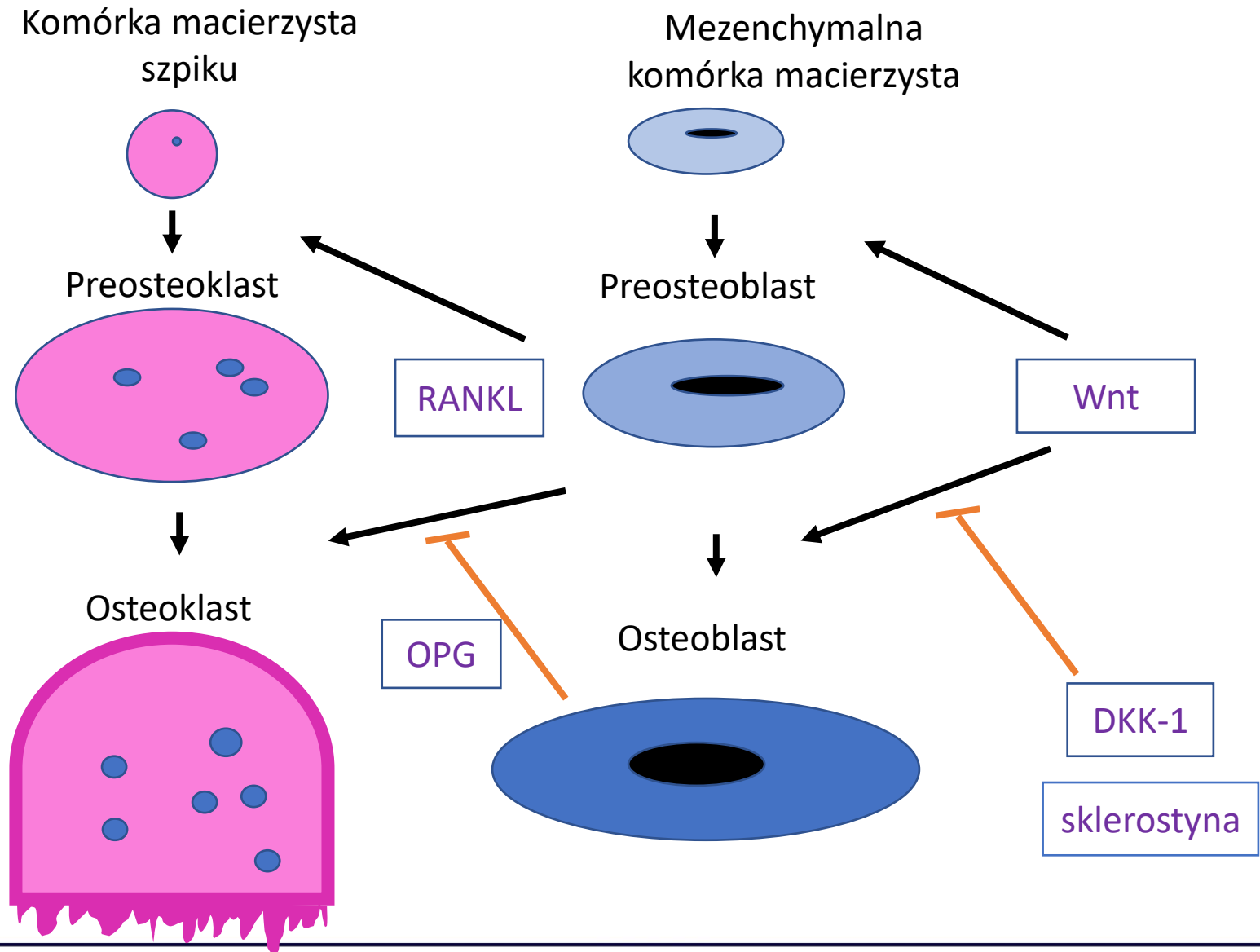
Tobeiha, M i wsp., BioMed Res Inter, 2020

Szlak Wnt/ β -katenina

- ➡ **stymulacja szlaku Wnt/ β -katenina** oddziałuje w sposób bezpośredni i pośredni na osteoblasty, osteoklasty oraz osteocyty nasilając kościotworzenie i hamując resorpcję kości - rola białek Wnt.
- ➡ **hamowanie szlaku Wnt/ β -katenina** - **sklerostyna** produkt genu SOST, którego locus znajduje się na chromosomie 17 (region 17q12-q21). Glikoproteina o masie cząsteczkowej 28 kDa, syntetyzowana przez dojrzałe osteocyty. Przez związanie z receptorem LRP 5/6, hamuje Wnt-indukowany sygnał, ograniczając procesy kościotwórcze oraz nasilając resorpcję kości.
- ➡ **inne inhibitory ścieżki sygnałowej Wnt: Dkk1 i 2** mają zdolność wiązania do koreceptora LRP promując internalizację koreceptora LRP i uniemożliwiając powstanie aktywnego kompleksu receptorowego aktywującego osteoblastogenezę.



REGULACJA AKTYWNOŚCI OSTEOKLASTÓW I OSTEOLASTÓW



Markery metabolizmu kostnego:

użyteczność kliniczna

- **Metody nieinwazyjne, łatwe do wielokrotnego wykonywania,**
- **Niezależny czynnik ryzyka złamań,**
- **Pozwalają określić dynamikę metabolizmu kostnego oraz monitorowanie odpowiedzi na leczenie,**
- **Stosowane w diagnostyce niektórych chorób**

- **Duża zmienność (płeć, wiek)**
- **Brak dobrze zdefiniowanych danych referencyjnych (szczególny problem w okresie rozwojowym)**

ENDOKRYNNA REGULACJA PROCESU PRZEBUDOWY KOŚCI

Parathormon (PTH) - stymuluje resorpcję kości

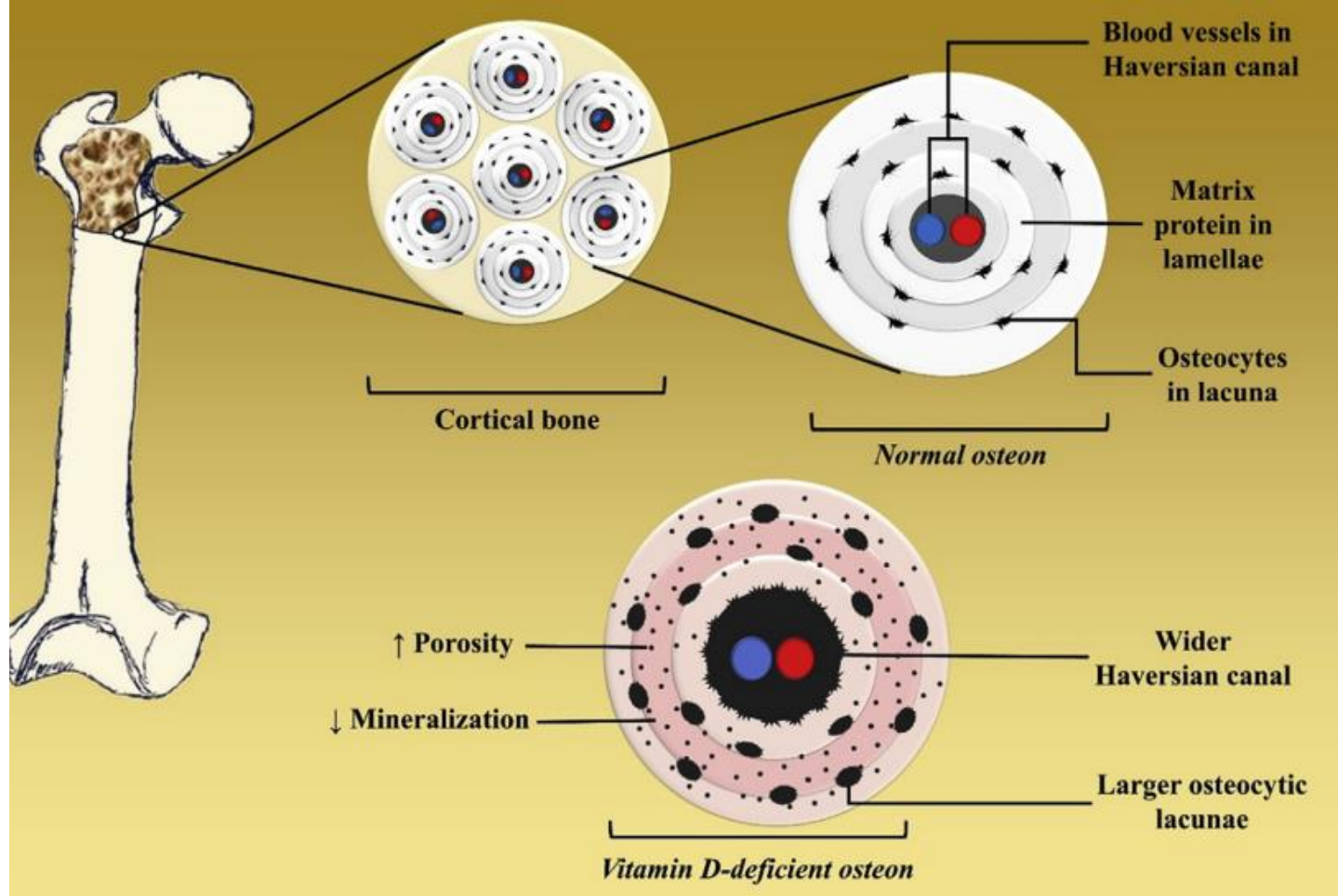
wpływ PTH na osteoklasty odbywa się przez:

-  zwiększenie produkcji IL-6 przez osteoblasty w obecności PTH. IL-6 stymuluje dojrzewanie osteoklastów i tworzenie syncytiów wielojądrzastych;
-  zmniejszenie produkcji osteoprotegeryny (OPG), nasilenie produkcji RANKL (ligand aktywatora receptora jądrowego czynnika κ B) przez osteoblasty i osteocyty, co mobilizuje osteoklasty do tworzenia syncytiów i zwiększenia ich aktywności resorpcyjnej.

Przy sporadycznym podawaniu, PTH staje się czynnikiem anabolicznym i stymuluje tworzenie kości poprzez modulację szlaku sygnałowego Wnt. Dochodzi do obniżenia ekspresji inhibitorów sklerostyny i DKK-1 oraz zwiększonej ekspresji ligandu Wnt10b. Zwiększony sygnał klasycznego szlaku Wnt nasila proces osteoblastogenezy i w konsekwencji proces kościotworzenia.

WITAMINA D

- Witamina D jest niezbędna do prawidłowego rozwoju i utrzymania kośćca. 1,25 (OH) 2 Witamina D reguluje wchłanianie wapnia i fosforanów w jelitach, dostarczając substratów do mineralizacji kości.
- Aktywny 1,25 (OH)₂ D₃ odgrywa kluczową rolę poprzez wiązanie się z receptorem witaminy D (VDR) obecnym głównie w jelitach, kościach, nerkach i przytarczycach. Ekspresję receptora witaminy D (VDR) w osteoklastach i prekursorach osteoblastów oraz w osteocytach sugeruje, że witamina D może również bezpośrednio wpływać na komórki kostne.
- Metabolizm witaminy D w komórkach linii osteoklastów wydaje się sprzyjać różnicowaniu osteoklastów, polepszać aktywność osteoklastów i sprzyjać sprzężeniu resorpcji kości z kościotworzeniem. Natomiast przewlekłe leczenie 1,25 (OH) 2D₃ powoduje, że gen OPG staje się niewrażliwy na represję, ułatwiając w ten sposób fazę anaboliczną działania witaminy D na kości.
- 1,25 (OH) 2D₃ jest silnym promotorem przemiany osteoblast-osteocyt.



Osteony z niedoborem witaminy D wykazywały większe ubytki, szerszy kanał Hawersa z powodu indukowanego przez PTH wzrostu liczby i aktywności osteoklastów, a tym samym większą porowatość. Występuje także defekt w procesie mineralizacji osteoidów (obszar jasnoróżowy) w porównaniu z prawidłową kością.

JCOT,2019 (1082-1093)

Kalcytonina (32 AA, z komórek C tarczycy)

Osteoklasty posiadają specyficzne receptory dla kalcytoniny (calcitonin receptor, CTR). Aktywacja tych receptorów powoduje hamowanie czynności resorpcyjnej osteoklastów. Aktywacja receptorów dla kalcytoniny uruchamia szlaki sygnałowe związane głównie z cAMP/PKA (cykliczny AMP/kinaza białkowa), jak również i Ca^{2+} /PKC (jony wapnia /kinaza białkowa C). Kalcytonina może zapobiegać apoptozie osteoblastów i osteocytów.

Hormony tarczycy

Tyreotokszykoza – nadmiar hormonów tarczycy niezależnie od przyczyn: nasilony proces kościotworzenia i resorpcji kości ➡ **osteoporoza wtórna,**

Deficyt hormonów tarczycy – spowolnienie procesu przebudowy kości, wolne tempo obrotu kostnego ➡ **wzrost masy kostnej,**

Hipertyroidyzm – zwiększone tempo obrotu kostnego, skraca się proces przebudowy kości ➡ **ubytek masy kostnej.**

Hormon wzrostu (GH) i insulinopodobny czynnik wzrostu 1 (IGF1)

- GH indukuje ekspresję IGF1, zwiększając obrót kostny poprzez stymulację zarówno aktywności proliferacyjnej osteoblastów, jak i osteoklastycznej resorpcji kości. Dominuje kościotworzenie, co prowadzi do niewielkiego wzrostu masy kostnej netto. W przypadku niedoboru GH resorpcja kości przeważa nad tworzeniem kości, ostatecznie prowadząc do osteoporozy.
- GH wraz z białkiem wiążącym (GHBP) reguluje kościotworzenie bezpośrednio poprzez receptor GH (GHR) i pośrednio poprzez stymulację ekspresji IGF-1 i białka wiążącego IGF (IGFBP) w wątrobie i kościach.
- GH stymuluje również resorpcję kości, prawdopodobnie w wyniku bezpośredniej stymulacji receptora GH, lub poprzez IGF-1 lub IGFBP wydzielane przez osteoblasty.
- IGF-1 wpływa na komórki MSC oraz różnicowanie osteoklastów poprzez regulację ekspresji RANKL i RANK, a w efekcie na interakcję między osteoblastami i osteoklastami.

Glikokortykosteroidy (GC)

GC mogą wpływać na fizjologiczną przebudowę kości poprzez przyspieszenie resorpcji kości i zmniejszenie tworzenia kości. Długotrwałe leczenie glikokortykoidami lub nadmierna ekspozycja zmniejsza gęstość mineralną kości (BMD) i może prowadzić do rozwoju osteoporozy indukowanej glikokortykoidami (GIO). Pogorszenie stanu kości jest bardziej widoczne w kości beleczkowej niż w korowej, zależy od dawki oraz czasu trwania ekspozycji na glikokortykoidy. W kościach dorosłych funkcjonalne receptory glukokortykoidów (GR) znajdują się głównie w pre-osteoblastach i osteoblastach.

GC stymulują liczbę osteoklastów poprzez hamowanie syntezy OPG i stymulację syntezy RANKL w osteoblastach, przy czym zmniejszenie stosunku OPG do RANKL wspiera różnicowanie osteoklastów i resorpcję kości netto.

GC zmniejsza tworzenie się kości poprzez bezpośrednie hamowanie proliferacji i różnicowania osteoblastów (supresja Runx2 i kolagenu typu I) lub przez nasilenie apoptozy dojrzałych osteoblastów i osteocytów.

GC negatywnie regulują wydzielanie androgenów i estrogenów poprzez hamowanie wydzielania gonadotropin i ostatecznie zwiększają resorpcję kości.

GC indukują również ujemny bilans wapniowy, zmniejszając wchłanianie wapnia w jelitach i zwiększając wydalanie wapnia z moczem.

Hormony płciowe

Estrogeny są jednym z głównych regulatorów hormonalnych metabolizmu kości zarówno u kobiet, jak i u mężczyzn. Estrogeny modulują zarówno aktywność osteoklastów, jak i osteoblastów, co z kolei prowadzi do zahamowania przebudowy kości, zmniejszenia resorpcji kości i utrzymania procesu kościotworzenia.

Estrogeny, działając poprzez receptor estrogenowy- α , hamują resorpcję kości poprzez zmniejszenie liczby i aktywność osteoklastów oraz nasilenie ich apoptozy. W osteoklastach estrogeny hamują proces różnicowania osteoklastów indukowany przez RANKL.

Estrogeny modulują produkcję wielu cytokin resorbujących kości, w tym IL-1, IL-6, TNF- α , M-CSF i prostaglandyn.

Estrogeny hamują również apoptozę osteoblastów i osteocytów, co intensyfikuje procesy kościotwórcze.

Androgeny

mają również kilka korzystnych skutków dla rozwoju i utrzymania masy kostnej zarówno u mężczyzn, jak i u kobiet. Niedobór androgenów powoduje zwiększoną przebudowę kości i utratę masy kostnej u mężczyzn. Jednak pewna część utraty masy kostnej jest spowodowana zmniejszonym poziomem estrogenów, który pochodzi z aromatyzacji testosteronu.

Androgeny mogą modulować dojrzewanie i zamykanie płytki wzrostowej, a tym samym wpływać na wzrost kości na długość. Androgeny regulują masę kostną w obrębie kości korowej i bełeczkowej oraz hamują utratę masy kostnej.

Androgeny mogą pośrednio hamować aktywność osteoklastów i resorpcję kości poprzez wpływ na osteoblasty/osteocyty i system RANKL/ RANK/ OPG.

Androgeny zwiększają poziom kolagenu typu 1 oraz wydzielanie osteokalcyny, a także zwiększają aktywność fosfatazy alkalicznej w osteoblastach, co prowadzi do nasilenia procesu mineralizacji.

PARAKRYNNA REGULACJA PROCESU PRZEBUDOWY KOŚCI

Czynniki wzrostowe

Transformujący czynnik wzrostu β (TGF β) i białka morfogenetyczne kości (BMP, z ang. *bone morphogenetic protein*) są członkami nadrodziny TGF β i są obecne w macierzy kostnej.

BMP są znane jako czynniki wzrostu, biorące udział w regulacji wzrostu i różnicowania osteoblastów i chondroblastów poprzez ścieżki sygnałowe klasyczne (Smad) i nieklasyczne (niezależne od Smad). Indukują ekspresję głównego czynnika transkrypcyjnego osteoblastów, Runx 2, który jest niezbędny do zainicjowania różnicowania osteoblastów.

TGF β jest również zaangażowany w sprzężenie resorpcji z tworzeniem kości poprzez indukowanie migracji mezenchymalnych komórek macierzystych do miejsc resorpcyjnych.

TGF- β - podwójny wpływ na osteoblasty. Wykazano, że TGF- β stymuluje ekspresję wczesnego różnicowania osteoblastów i białek macierzy kostnej, jednakże TGF- β może hamować późne etapy różnicowania osteoblastów.

Prostaglandyny

działają lokalnie poprzez wiele receptorów sprzężonych z białkami G, regulując resorpcję i tworzenie kości.

Prostaglandyna E2 (PGE2) jest silnym stymulatorem resorpcji kości i działa poprzez zwiększenie stosunku RANKL / OPG w celu wzmocnienia osteoklastogenezy.

PGE2 stymuluje również proliferację i różnicowanie osteoblastów w celu nasilenia tworzenia kości. Uważa się, że rozbieżne działania wynikają z działania PGE2 poprzez różne receptory białka G i wtórne szlaki przekąźnikowe.

Cytokiny

takie jak **IL-1 i IL-6 oraz TNF α** mogą stymulować osteoklastogenezę, podczas gdy inne, jak IL-4 i interferon gamma, hamują tworzenie osteoklastów.

U kobiet po menopauzie cytokiny te odgrywają ważną rolę w patofizjologii osteoporozy. Niedobór estrogenu powoduje wzrost IL-1, IL-6 i TNF α , prowadząc do zwiększonej ekspresji RANKL oraz zwiększonej osteoklastogenezy i resorpcji kości.

Epigenetyczna regulacja procesu przebudowy kości

Osteoblasty, komórki kościotwórcze, pochodzą z mezenchymalnych komórek macierzystych (MSC). Różnicowanie MSC do wyspecjalizowanych komórek obejmuje aktywację genów zaangażowanych w różnicowanie określonego fenotypu komórki i zahamowanie ekspresji genów odpowiedzialnych za homeostazę komórek macierzystych.

Kluczowe geny odpowiedzialne dla utrzymania komórek macierzystych i ich różnicowanie w określone linie komórkowe podlegają regulacji epigenetycznej. Wyróżnia się trzy główne modyfikacje epigenetyczne:

Niekodujące RNA (ncRNA)

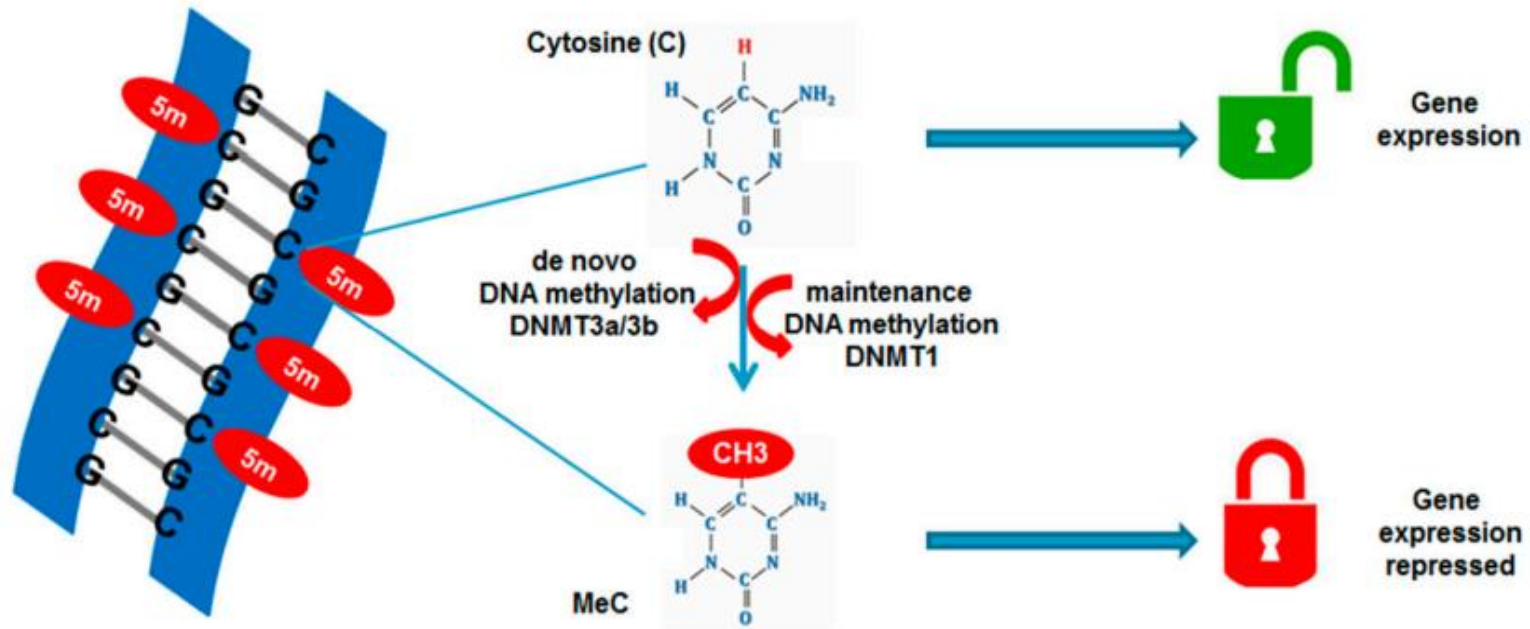
Zdecydowana większość RNA to produkt końcowy, który nie jest używany do wytwarzania białek i jest reprezentowany przez ncRNA, które odgrywa znaczącą rolę w regulacji genów ekspresja poprzez regulację transkrypcyjną i potranskrypcyjną

Metylacja DNA w regionach promotorowych genów jest najlepiej poznaną zmianą. Za metylację DNA odpowiada rodzina metylotransferaz DNA. Proces ten jest odwracalny w wyniku reakcji demetylacji.

Potranslacyjnymi modyfikacje białek histonowych

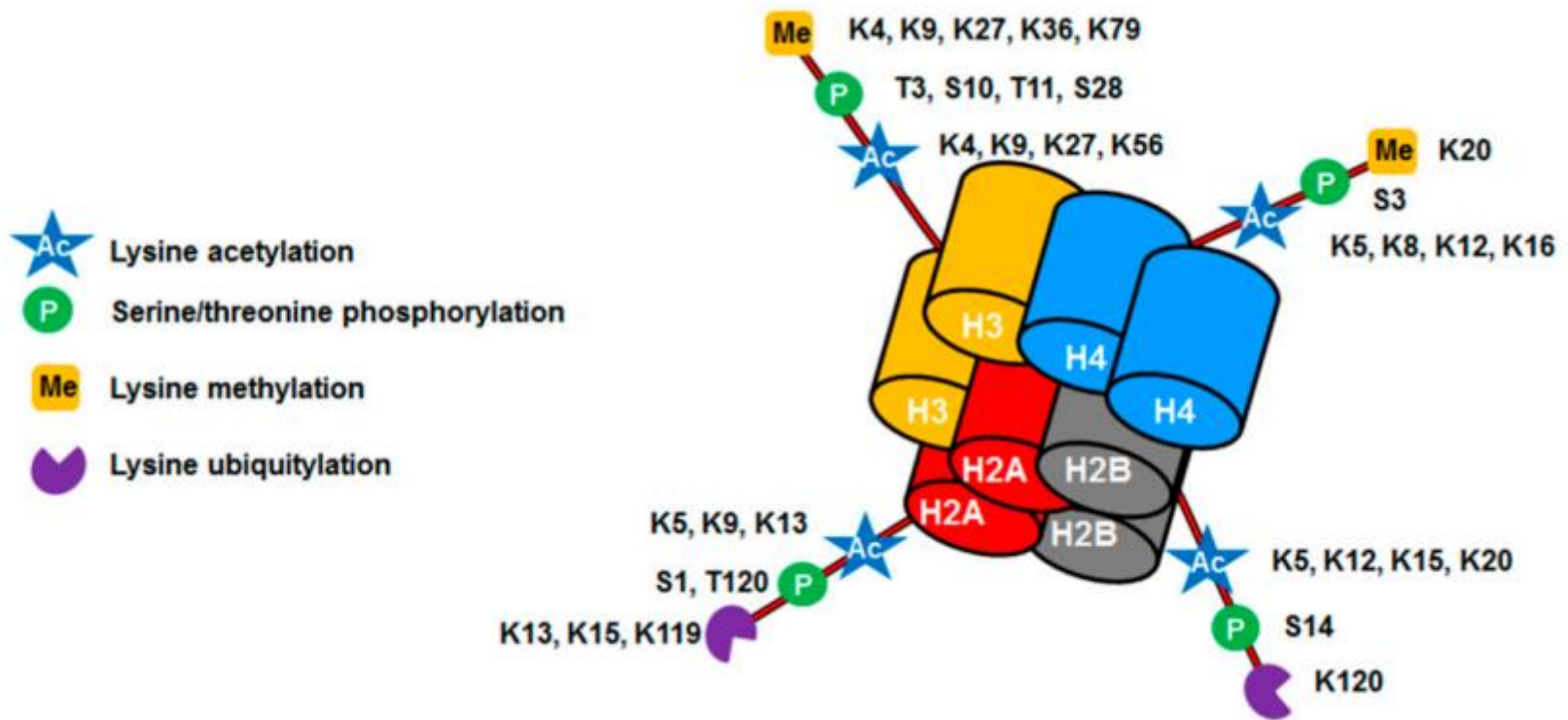
wymuszających zmiany w strukturze chromatyny. Określone modyfikacje, takie jak: metylacja, acetylacja, fosforylacja, ubikwitynacja, biotynylacja, ADP-rybozylacja, mogą wpływać na kondensację chromatyny oraz na białka i kompleksy enzymatyczne decydujące o dostępności DNA.

Metylacja DNA i ekspresja genów



- ➡ Metylacja DNA odgrywa ważną rolę w różnicowaniu osteoblastów. Podczas różnicowania komórek mezenchymalnych w kierunku osteoblastów czynnik transkrypcyjny Runx2 i geny osteokalcyny wykazywały hipometylację CpG wraz z ich silną ekspresją.
- ➡ Interakcja pomiędzy osteoblastami a osteoklastami. Nasiloną metylację CpG w promotorze RANKL wykryto w różnych tkankach wykazujących niski poziom RANKL lub jego brak.
- ➡ Przekształcenie osteoblastów w osteocyty jest modulowane przez metylację DNA.

Ghayor i Weber, Int J Mol Sciences, 2016



Nukleosom z potranslacyjnymi modyfikacjami histonów

Podczas różnicowania osteoblastów acetylacja histonów H3 i H4 ulega znacznemu nasileniu na poziomie promotorów genów *Osterix* i *Osteokalcyny*, natomiast ekspresja deacetylazy histonowej 1 (HDAC1) dla tych promotorów była obniżona.

Ghayor i Weber, Int J Mol Sciences, 2016

Przykład funkcjonalnych miRNA w procesach różnicowania osteoblastów (A) i osteoklastów (B)

miRNAs	Target	Effect
A. Osteoblast Differentiation		
miR-216-a	PI3K/ AKT pathway	E
miR-21	SMAD7	E
miR-194	STAT1	E
miR-96	EGFR signaling	E
miR-23-a	GjA1	I
miR-375	Runx2	I
miR-153	BMPRII	I
miR-124	Dlx5, Dlx3, Dlx2	I
B. Osteoclast Differentiation		
miR-214	PTEN/ AKT pathway	E
miR-183	Heme oxygenase-1	E
miR-9718	PIAS3	E
miR-17/20a	RANKL	I
miR-26-a	CTGF	I
miR-7-b	DCSTAMP	I
miR-34-a	TGIF2	I
miR-126-5p	MMP13	I

Najczęściej badanymi ncRNA w odniesieniu do homeostazy kości i chorób kości są miRNA. Ekspresja niektórych miRNA w osteoblastach i podczas różnicowania osteoklastów wydaje się być zwiększona innych miRNA obniżona. Wśród wszystkich opisanych miRNA wyróżnia się dwie grupy: miRNA promujące różnicowanie i miRNA hamujące różnicowanie komórek kostnych.

E – nasilenie

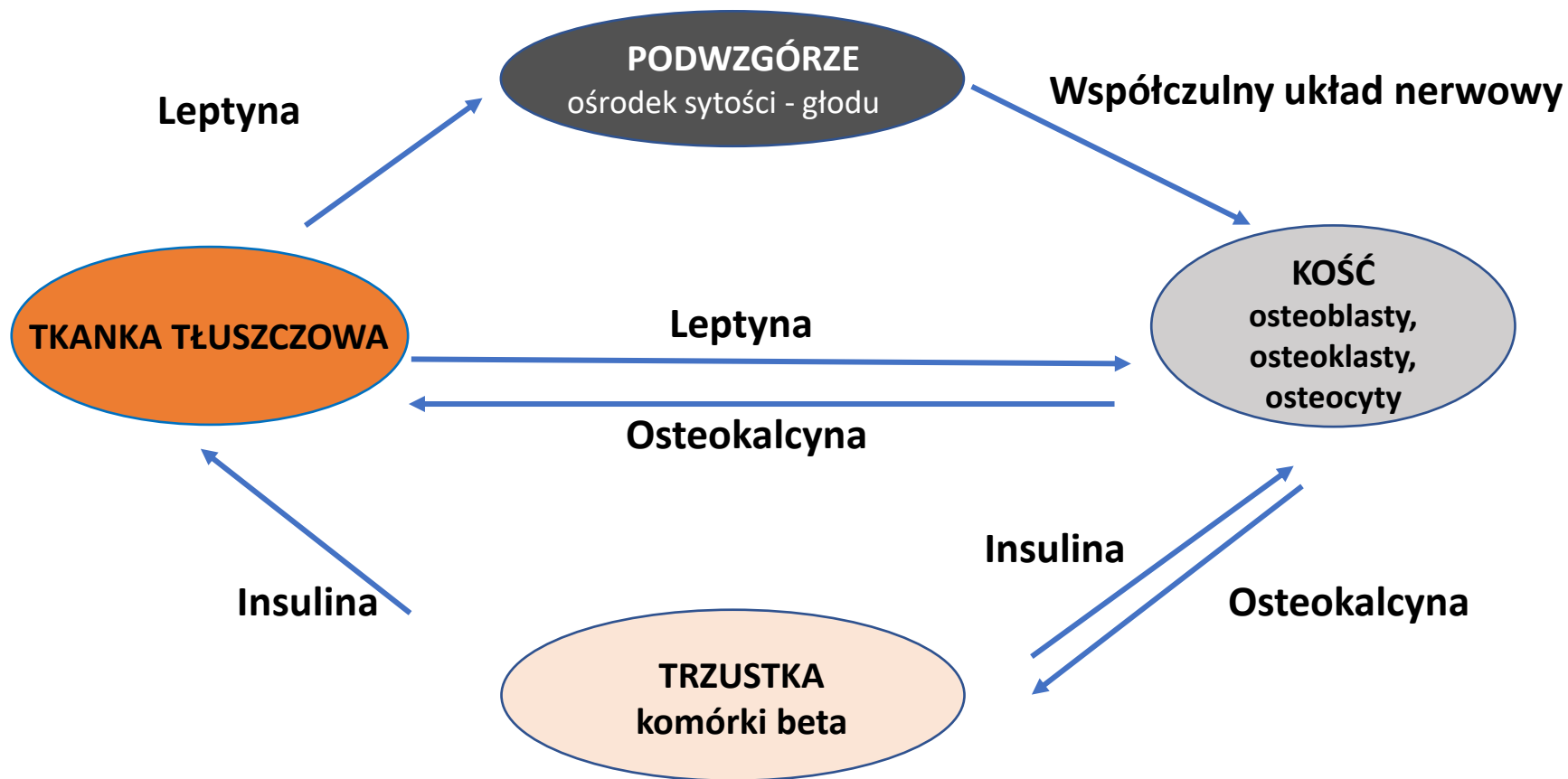
I - zahamowanie

Ghayor i Weber, Int J Mol Sciences, 2016



TKANKA TŁUSZCZOWA

←→ KOŚĆ

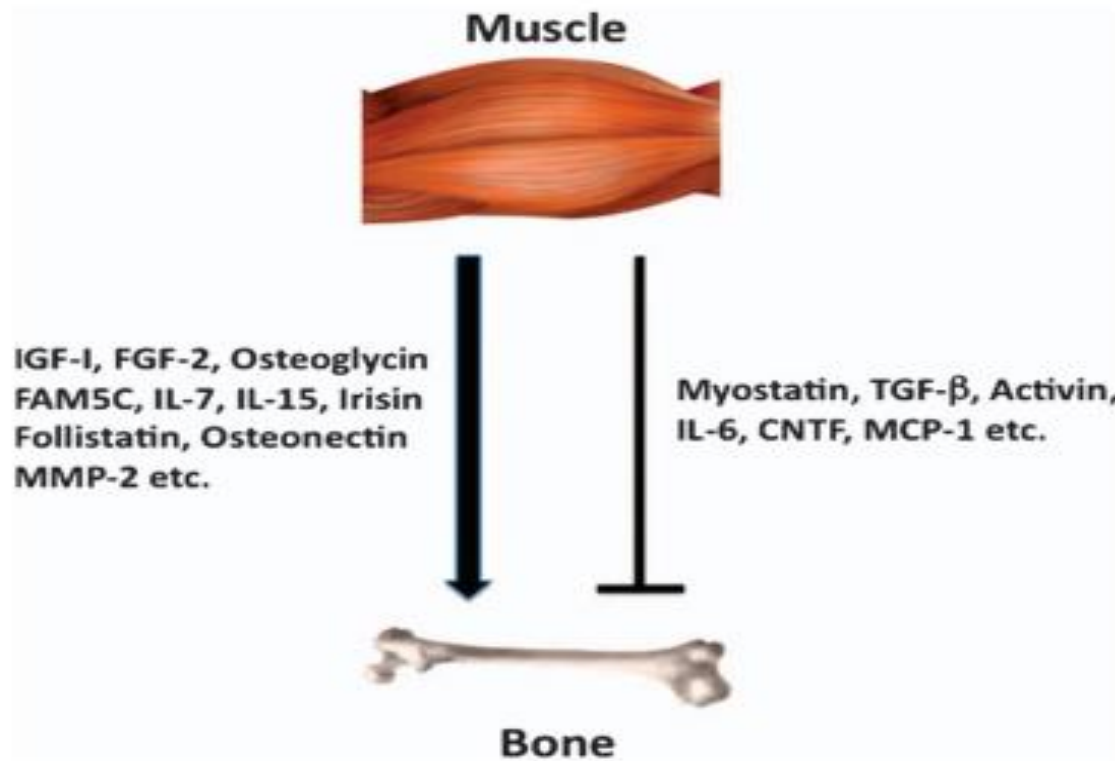


MIOKINY

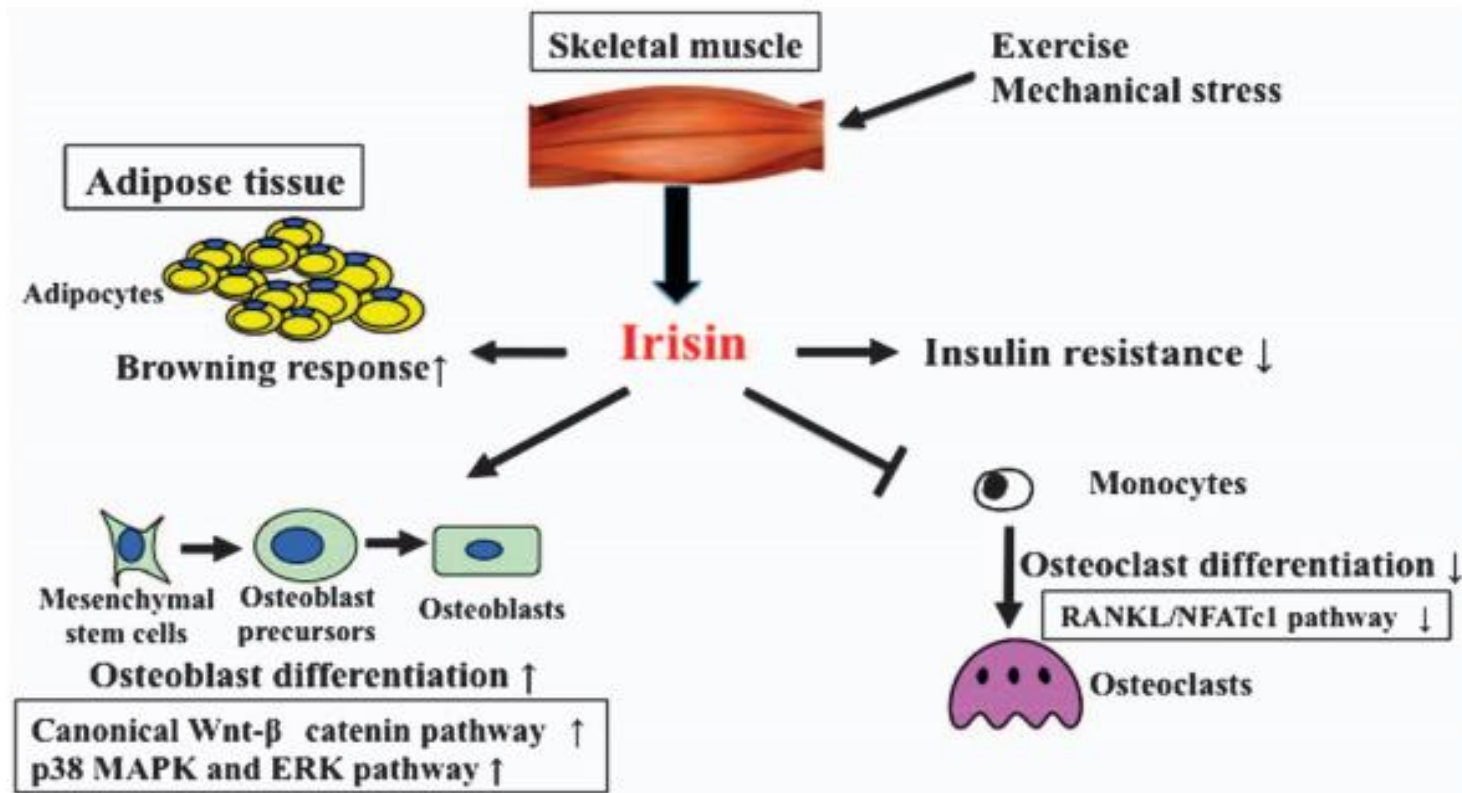
➔ Mięśnie szkieletowe są źródłem białek sekrecyjnych, miokin, regulujących procesy biologiczne na drodze auto-, para- i endokrynną. Receptory miokin znajdują się w komórkach mięśni, tkanki tłuszczowej, wątroby, trzustki, kości, serca, układu odpornościowego i mózgu. Lokalizacja tych receptorów odzwierciedla fakt, że miokiny pełnią wiele funkcji.

➔ Biorą udział w zmianach metabolicznych związanych z wysiłkiem fizycznym, a także w zmianach metabolicznych po adaptacji treningowej. Uczestniczą również w regeneracji i naprawie tkanek, utrzymaniu prawidłowego funkcjonowania organizmu, immunomodulacji, sygnalizacji komórkowej, ekspresji i różnicowaniu. Sugeruje się, że miokiny mogą łagodzić negatywne skutki działania wielu adipokin.

➔ Zmiany stężenia miokin we krwi są największe po pierwszej próbie wysiłkowej, natomiast powtarzanie wysiłku o tym samym obciążeniu zmniejsza odpowiedź cytokinową → efekt adaptacji.



Liczne czynniki pochodzenia mięśniowego (miokiny) pozytywnie lub negatywnie wpływają na metabolizm kości, modyfikując interakcje pomiędzy układem mięśniowym a szkieletem.



Rola iryzyny w interakcjach mięsień - kość.

Iryzyna to miokina wytwarzana w mięśniach szkieletowych po wysiłku. W WAT wywołuje reakcję brązowienia tkanki tłuszczowej i chroni przed insulinoopornością. W kości iryzyna nasila różnicowanie osteoblastów poprzez klasyczne szlaki Wnt-b-kateniny, p38 MAPK i ERK. Natomiast iryzyna hamuje różnicowanie osteoklastów poprzez supresję szlaku RANKL / NFATc1.

Dziękuję za uwagę!



joanna.gajewska@imid.med.pl



Fundusze
Europejskie
Wiedza Edukacja Rozwój



Rzeczpospolita
Polska



Instytut
Matki i Dziecka

Unia Europejska
Europejski Fundusz Społeczny



edu-metgen.imid.med.pl