

ΟΣΤΕΟΚΥΤΤΑΡΑ: Ο ΡΟΛΟΣ ΤΟΥΣ ΣΤΗΝ ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΑΚΑΤΑΣΚΕΥΗ

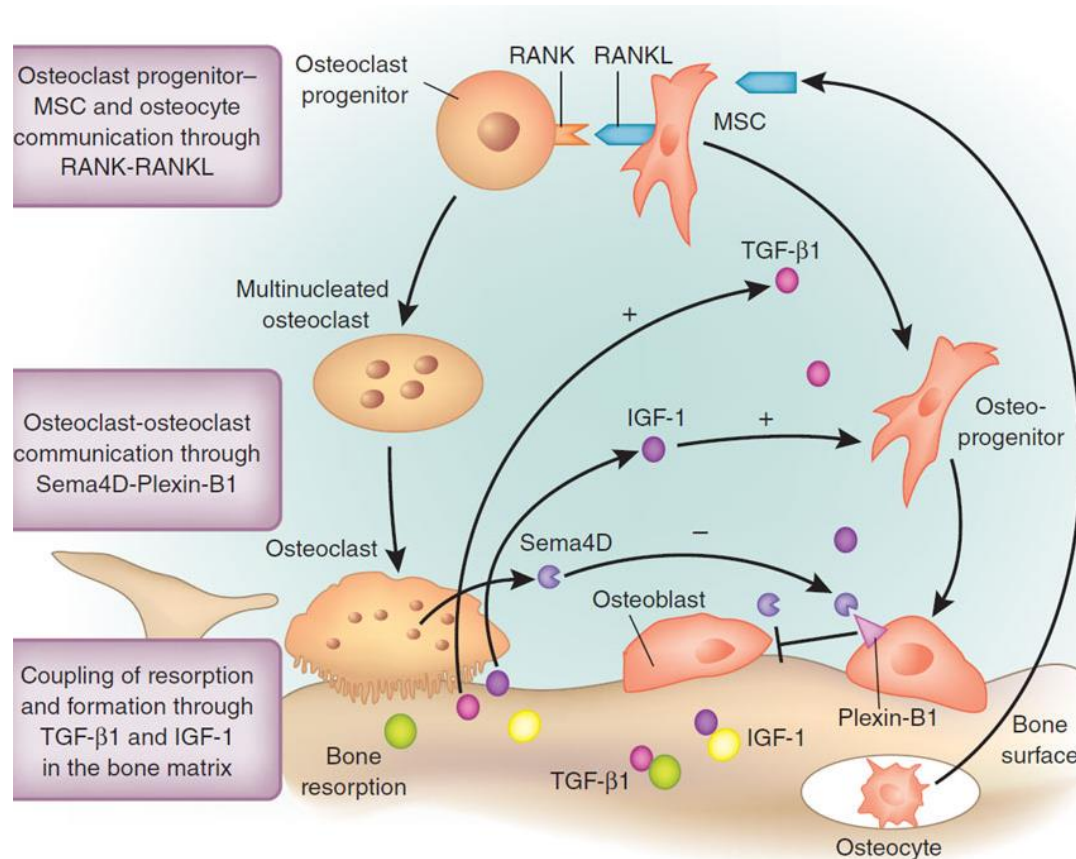
ΒΑΣΙΛΕΙΟΣ Γ. ΜΠΟΤΖΩΡΗΣ
ΡΕΥΜΑΤΟΛΟΓΟΣ

Το οστό ως όργανο



- ❖ Ανθρώπινος σκελετός θαυμαστή κατασκευή-αντοχή οστού σε μηχανικές φορτίσεις, ελαφρύς επιτρέποντας την κίνηση
- ✓ Οστική μάζα και δομή διαμορφώνονται από τα μηχανικά φορτία μέσω της συνεχούς οστικής ανακατασκευής
- ✓ Αρχή: λειτουργική προσαρμογή του οστού είναι αποτέλεσμα μιας αυτο-διαχειριζόμενης κυτταρικής διαδικασίας (W.Roux-1881)

ΟΣΤΙΚΗ ΑΝΑΚΑΤΑΣΚΕΥΗ (BONE REMODELLING)



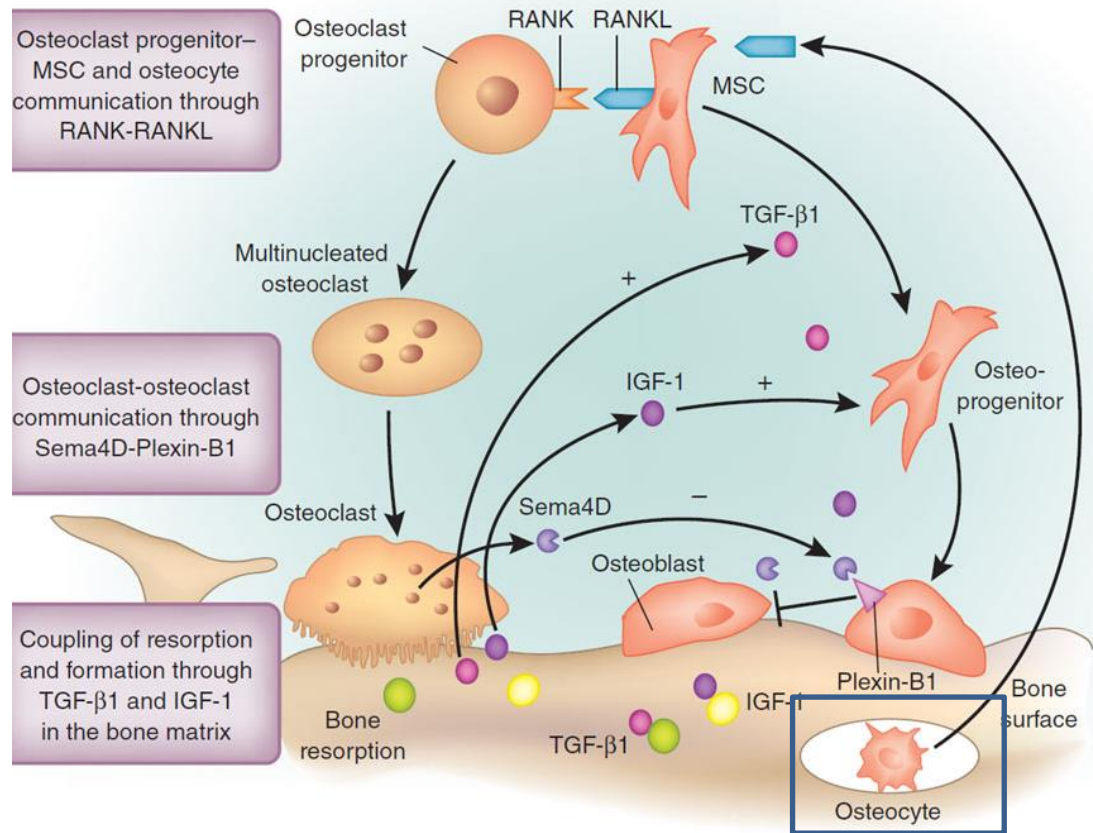
Σύζευξη στην βασική πολυκυτταρική μονάδα της οστικής απορρόφησης-οστεοκλάστες- και της οστικής αναδόμησης- οστεοβλάστες.



ΠΑΙΧΝΙΔΙ ΓΙΑ 2 ΠΑΙΚΤΕΣ?
Οστεοκλάστης vs Οστεοβλάστης

**ΥΠΑΡΧΟΥΝ ΚΙ ΑΛΛΟΙ ΠΑΡΑΓΟΝΤΕΣ ΠΟΥ
ΔΙΑΔΡΑΜΑΤΙΖΟΥΝ ΣΗΜΑΝΤΙΚΟ ΡΟΛΟ?**

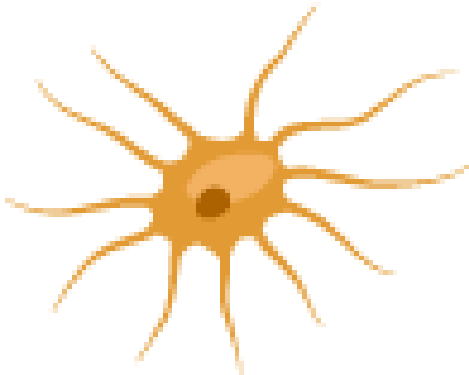




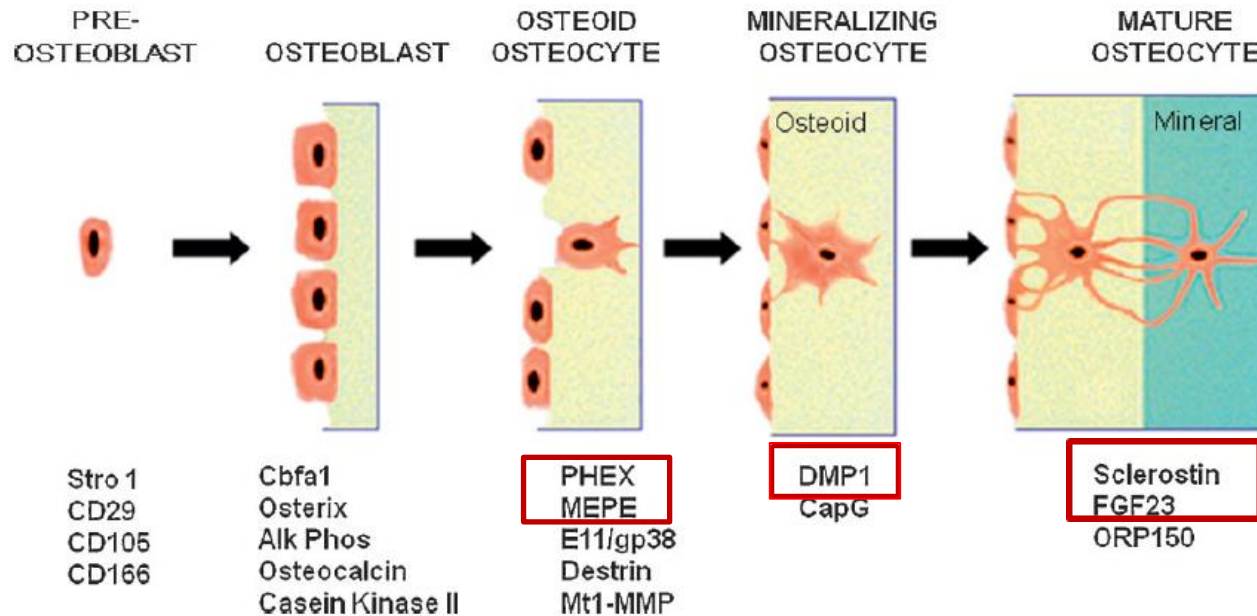
Γνωριμία με το οστεοκύτταρο



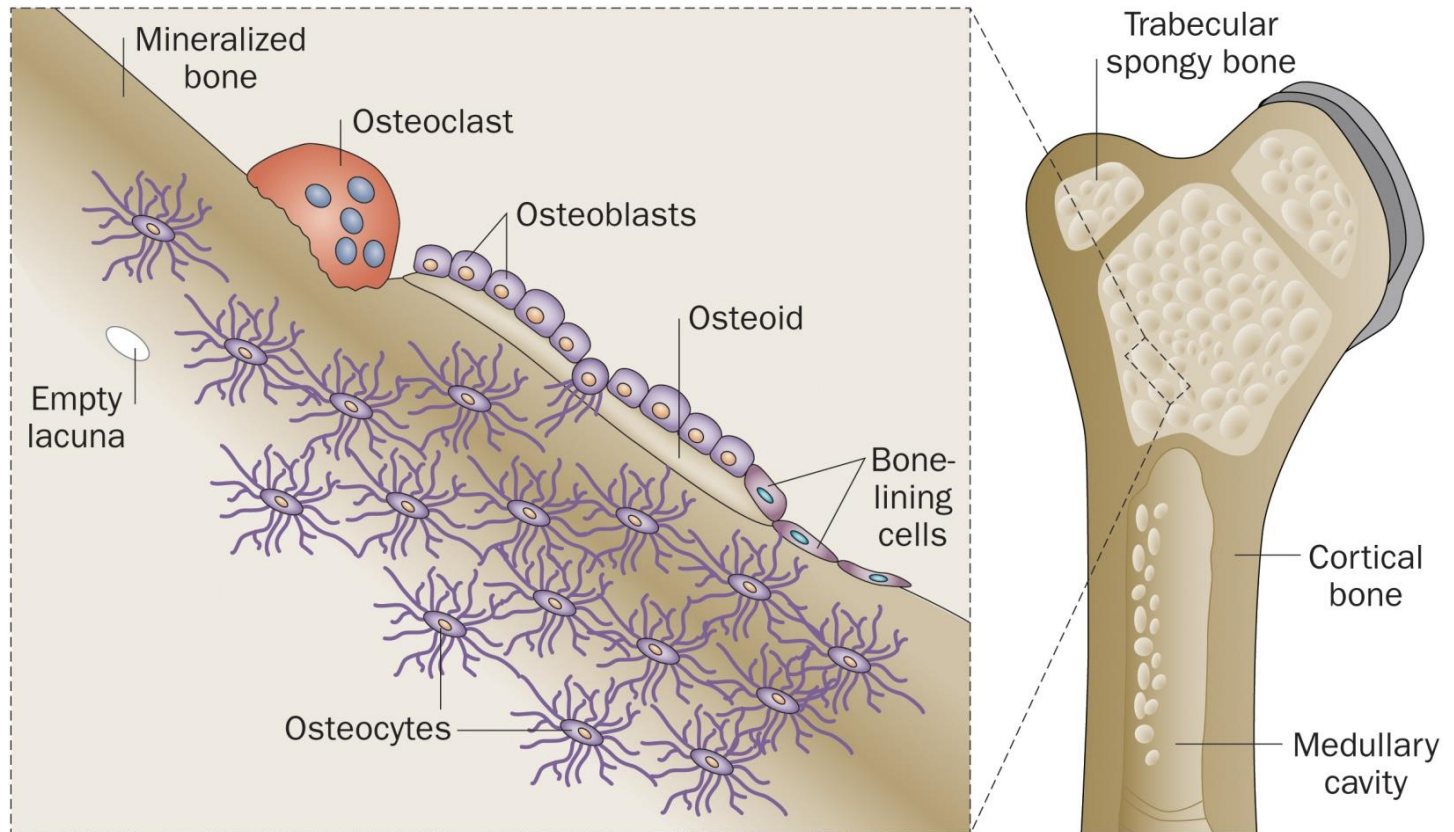
- Αποτελούν το 90-95% όλων των οστικών κυττάρων (10.000 κύτταρα/mm₃)
- Μακροβιότερο, 10-20 έτη ζωής
- Αστεροειδούς σχήματος, 9-20μm, σχηματίζουν δενδριτικού τύπου προσεκβολές (50 κάθε κύτταρο)
- Προέλευση από μεσεγχυματικά πολυδύναμα κύτταρα μέσω διαφοροποίησης από τους οστεοβλάστες



Διαφοροποίηση οστεοβλάστη σε οστεοκύτταρο

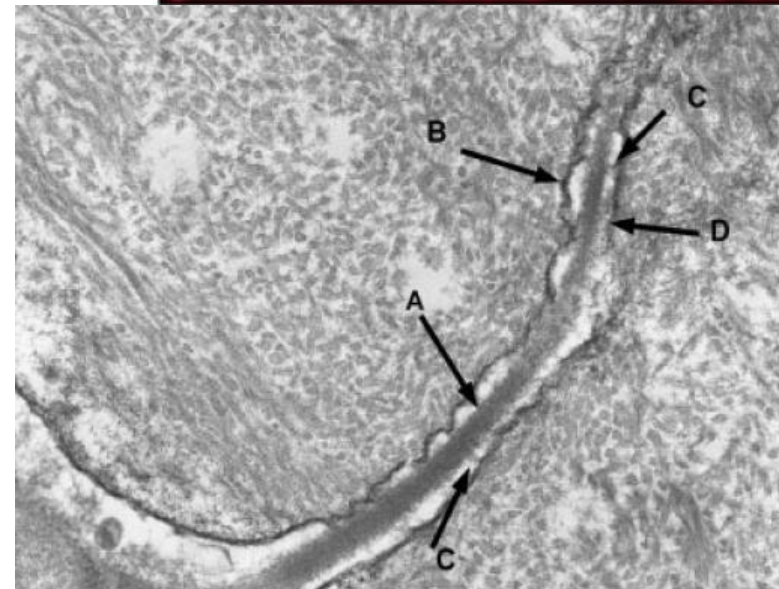
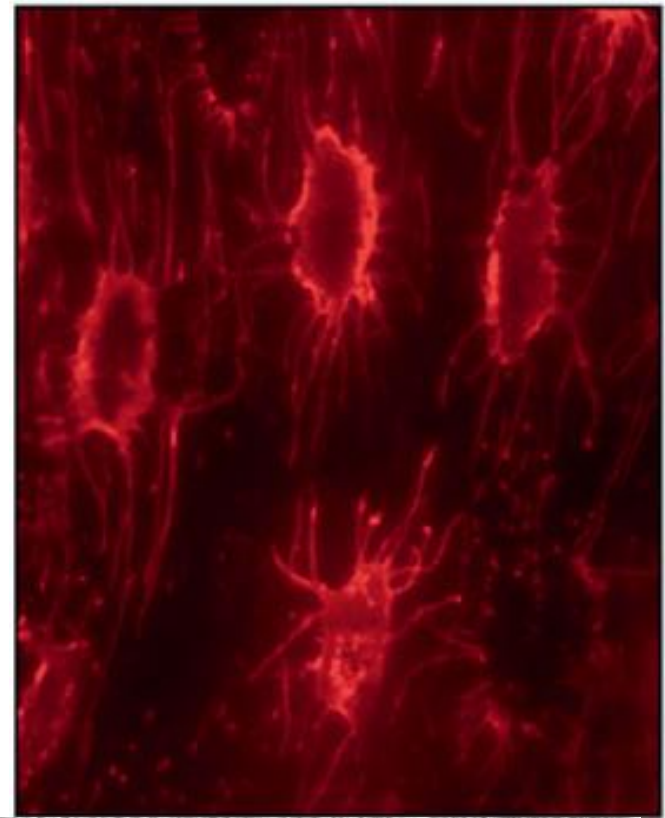


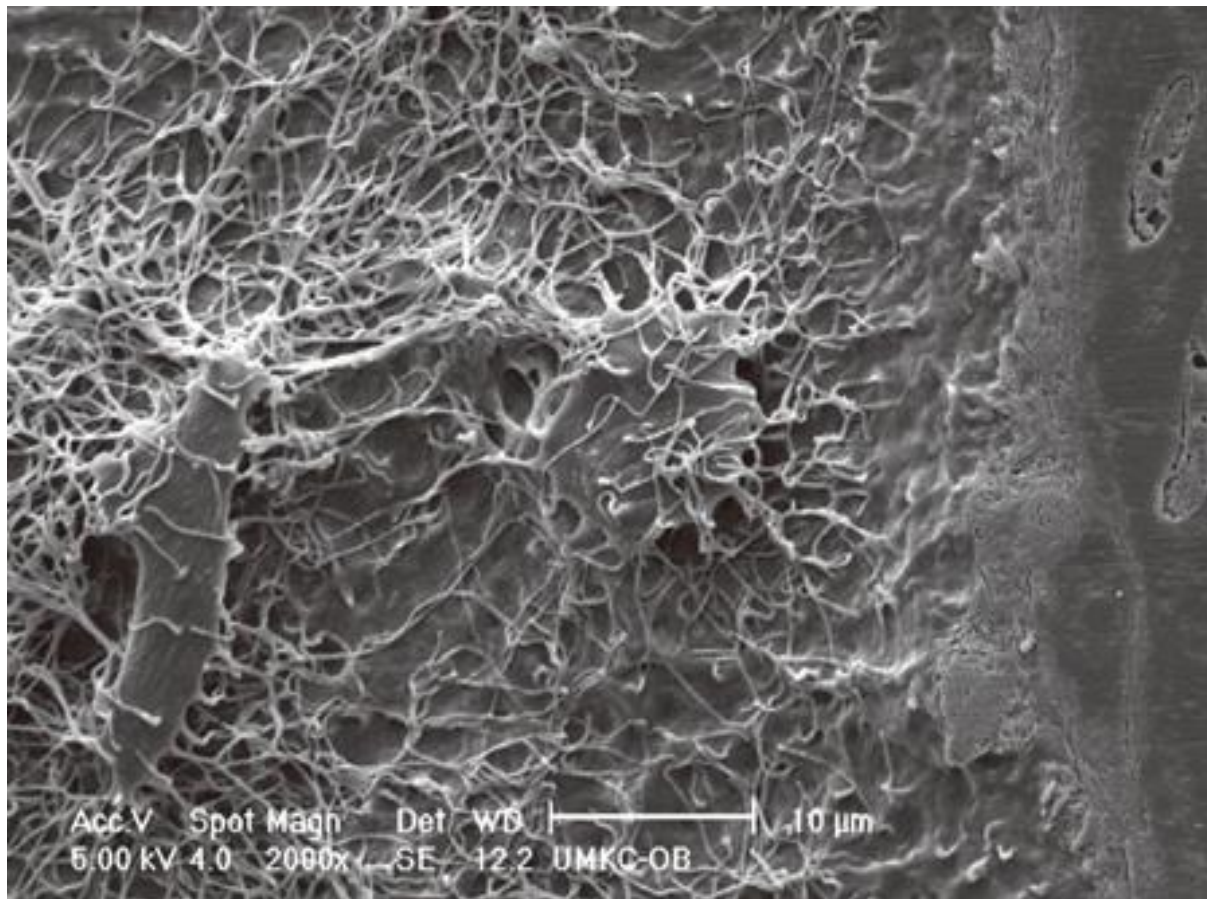
- Υπάρχει εξελικτική διατήρηση της δομής και θέσης των οστεοκυττάρων
- Εύρεση σε οστικά δείγματα εντός της επιμεταλλωμένης θεμελίου ουσίας στον Tyrannosaurus rex (>80 εκατομύρια έτη)!!



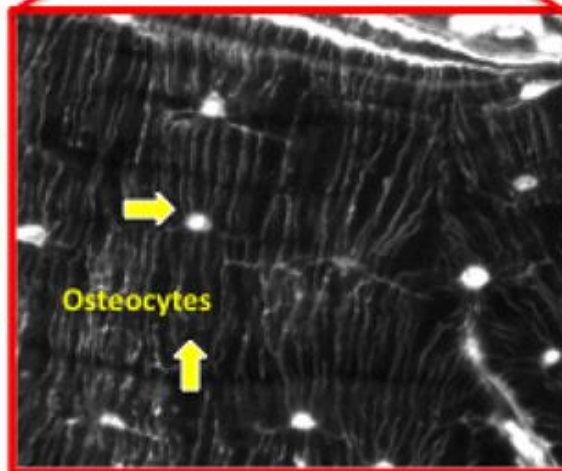
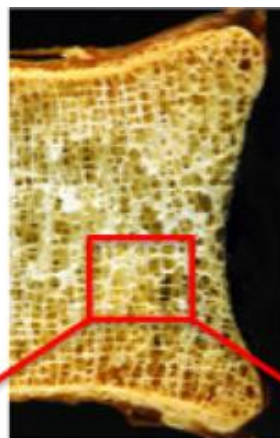
Lacuno-canalicular system

- Κυτταρικό σώμα βρίσκεται σε βοθρία (lacunae)
- Δημιουργούν εκτεταμένο δίκτυο επικοινωνίας με δενδριτικού τύπου προσεκβολές μέσα από κανάλια (canaliculi) μεταξύ τους, αλλά και και με οστεοβλάστες/οστεοκλάστες, περικύτταρα των αγγείων και τον μυελό των οστών





Θέση και συνδέσεις του οστεοκυττάρου, προσδίδουν
ρόλο ενорχηστρωτή στην διαδικασία της οστικής
ανακατασκευής



Regulate Bone Formation:

Osteocytes produce Sclerostin, which inhibits osteoblasts.

If osteocytes decrease sclerostin production (*in response to increased mechanical demand, for example*), bone formation is activated.



Turn on Bone Resorption

Groups of osteocytes undergo apoptosis in response to local stressors (*e.g., microfractures, estrogen loss, immobilization, glucocorticoids*). The neighboring, non-dying osteocytes increase RANKL production to activate new osteoclasts.

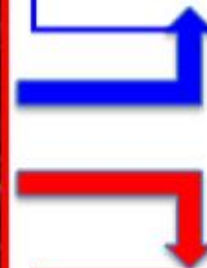
Other osteocytes may also increase RANKL production directly in response to endocrine, paracrine and mechanical signals.

Sense Mechanical Loading

Osteocyte "see" deformation and fluid movement in the lacunar-canalicular spaces, which causes them to produce signals that regulate osteoblasts and osteoclasts. Osteocyte sensitivity to mechanical loads can be altered by endocrine signals like estrogen and PTH.

Regulate Mineral: Systemic

Osteocytes appear to be the bone players in the bone-kidney axis that regulates systemic phosphate levels, by acting as a major endocrine producer of the phosphaturic factor, FGF 23.



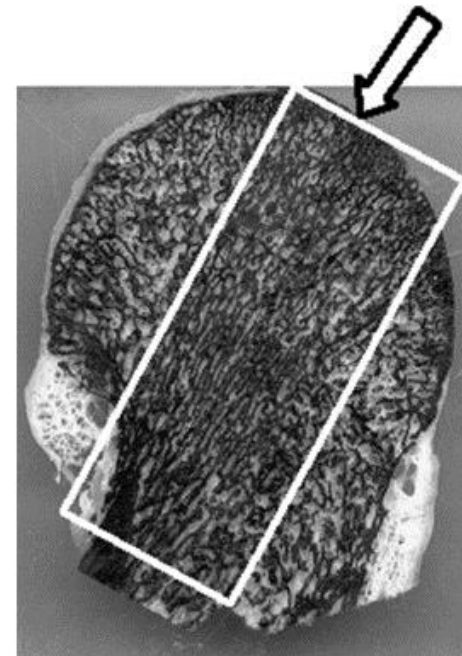
Regulate Mineral: Local

Osteocytes produce DMP1 and MEPE, phosphoproteins that regulate mineral deposition into bone matrix. They may also signal other bone cells.

Osteocytes also produce PHEX (phosphate regulating endopeptidase, X-linked), which may influence local mineral regulation. PHEX also interacts with the systemic FGF 23 axis.

Μηχανική φόρτιση και οστική ανακατασκευή

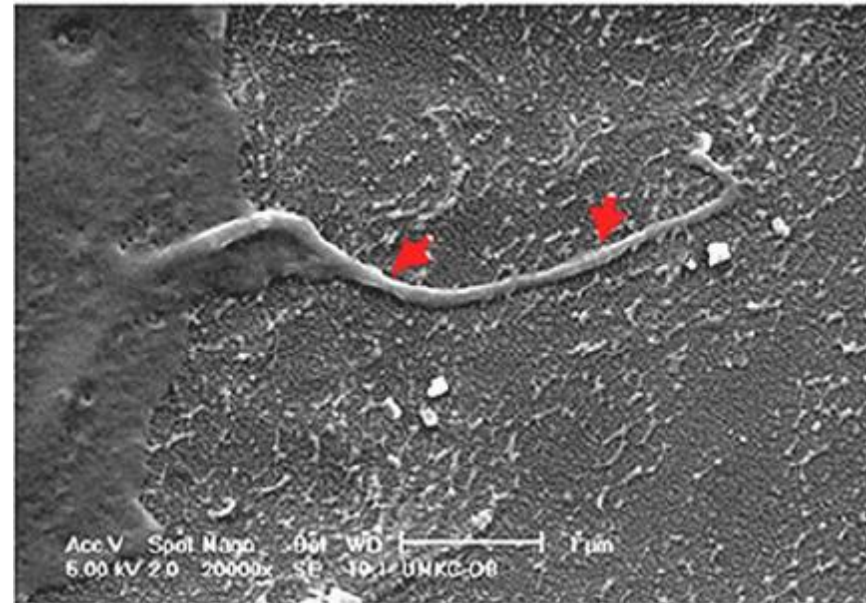
- Προσαρμογή του σκελετού στις δυνάμεις φόρτισης που δέχεται
- Οστεοκύτταρο αποτελεί τον μηχανικό αισθητήρα του οστού



Mechanosensation and mechanotransduction

- Μέσω των δενδριτικών προσεκβολών, του σώματος των κυττάρων, αλλά κυρίως της ροής διάμεσου υγρού (fluid flow hypothesis)
- Συμπίεση από φόρτιση και εξωαγγειακή πίεση
- Προσεκβολή κροσσού (cilia)

Μεταφράζει μηχανικό ερέθισμα σε κυτταρική απάντηση μέσω αύξησης του ενδοκυττάριου ασβεστίου και ενεργοποίησης της NOS



J Biol Chem 281:30884-30895

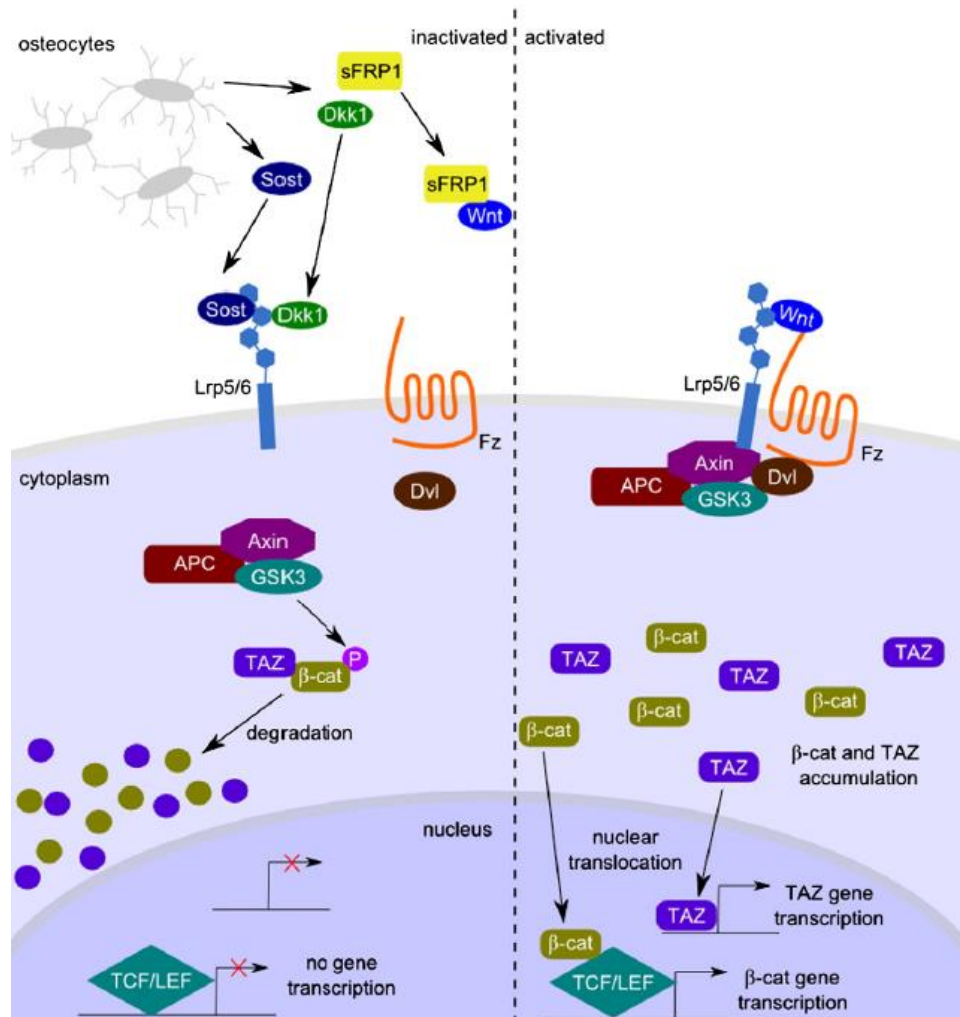
ΑΛΛΑΓΕΣ ΣΕ ΒΙΟΧΗΜΙΚΟ ΕΠΙΠΕΔΟ



- Έκκριση NO, ATP και PGE₂
- NO αναστέλλει την οστική απορρόφηση και επάγει την οστική παραγωγή
- Προσταγλανδίνες ασκούν αναβολική δράση ως απάντηση σε μηχανικό ερέθισμα

J Biol Chem. 2005;280:42952-59

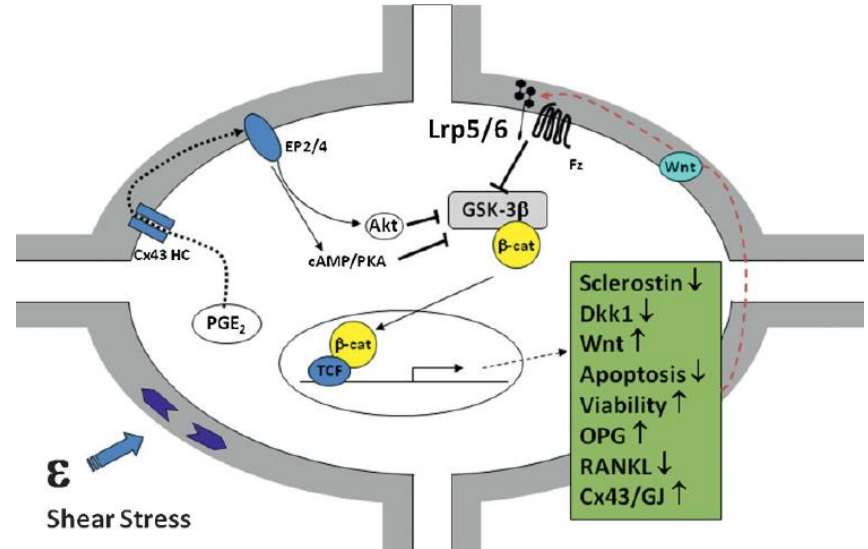
Σύστημα Wnt/ β -Catenin



Οστεοκύτταρα αντιδρούν σε μηχανικά ερεθίσματα αυξάνοντας παραγωγή μορίων που εμπλέκονται στο σύστημα Wnt

Σύστημα Wnt/ β -Catenin

- PGE₂ ενεργοποιεί Wnt ανεξάρτητα από Lrp5/6
- Σκληροστίνη εκφράζεται στα ώριμα οστεοκύτταρα, αποτελεί αναστολέα συστήματος Wnt/ β -catenin
- Μπορεί να μεταφερθεί στην επιφάνεια μέσω των καναλιών, όπου αναστέλλει την δράση των οστεοβλαστών
- Sost και σκληροστίνη ελαττώνονται μετά από φόρτιση ωλένης σε επίμυες- αντίθετο στην αποφόρτιση



ΟΣΤΕΟΚΥΤΤΑΡΑ: ΜΗΧΑΝΟΣΤΑΤΗΣ ΤΟΥ ΟΣΤΟΥ

- Προσαρμογή σκελετού στις μηχανικές φορτίσεις-απαιτήσεις (Bone modelling)
- Οστική παραγωγή από οστεοβλάστες και οστική απορρόφηση από οστεοκλάστες συμβαίνει σε διαφορετικά σημεία του σκελετού
- Bone remodelling- συνεχής και χωρικά συζευγμένη απορρόφηση και παραγωγή, ώστε να διατηρηθεί η λειτουργική ακεραιότητα

Frost HM. Bone “mass” and the “mechanostat”: a proposal. Anat Rec 1987

- ❖ Σε αθλητές ισχυρά φορτία οδηγούν σε πιο δυνατά και μεγαλύτερα οστά, αστροναύτες και άτομα με παράλυση παρουσιάζουν σοβαρή οστική απώλεια- σημαντικός ο ρόλος της σκληροστίνης

Σύστημα Wnt ως στόχος αναβολικών θεραπειών

- Αυξημένη οστική μάζα στην σκληροστέωση και van Buchem disease (διαταραχή της έκφρασης γονιδίου SOST και παραγωγής σκληροστίνης)
- Τεριπαρατίδη δρα μέσω του υποδοχέα της PTH ελαττώνοντας την έκφραση Sost/σκληροστίνης και αυξάνοντας οστική μάζα
- Απώλεια του φαινοτύπου με την αυξημένη οστική μάζα σε επίμυες μετά την απαλοιφή του Lrp5

Αντισώματα έναντι σκληροστίνης

- Στοχεύουν απ'ευθείας στην σκληροστίνη για να αυξήσουν την οστική μάζα
- Κλινικά αποτελέσματα ενθαρρυντικά
- Αύξηση οστικής μάζας μεγαλύτερη απότι με τεριπαρατίδη ή διφωσφονικά
- Σημαντικό ρόλο του συστήματος Wnt μέσω των οστεοκυττάρων για τον έλεγχο της οστικής παραγωγής , της ανάπτυξης και ανακατασκευής

ΡΟΛΟΣ Wnts ΣΤΗΝ ΟΣΤΕΟΑΡΘΡΙΤΙΔΑ

- Wnts αναγκαίες στην ομοιοστασία του αρθρικού χόνδρου και οστού
- Εξελισσόμενη έρευνα στον πιθανό ρόλο σε εκφυλιστική (OA) και φλεγμονώδεις αρθρίτιδες (PA,ΑΣ)
- Μελέτη σε λευκές γυναίκες >65 ετών (Study of Osteoporotic Fractures cohort), συγκεκριμένες γενετικές παραλλαγές FRZB (κωδικοποιεί sFRP3) είχαν φαρδύτερο αυχένα ισχίου και μικρότερη διάμετρο κεφαλής (mode 2) παρουσιάζοντας αυξημένο κίνδυνο ανάπτυξης ακτινολογικής OA ισχίου

Baker-Lepain JC et al. Arthritis Rheum. 2012

ΡΟΛΟΣ Wnts ΣΤΗΝ ΡΑ

- Εμμένουσα φλεγμονή σχετίζεται με αύξηση αναστολέων Wnt, όπως Dkks και sFRPs, περιορίζοντας την ωρίμανση των οστεοβλαστών και την επούλωση των διαβρώσεων

Walsh NC et al. J Bone Miner Res 2009

Matzelle MM et al. Arthritis Rheum. 2012

- Γενετικές παραλλαγές του Dkk1 (rs1896368) σχετίζονταν με διαβρωτική ΡΑ

Ann Rheum Dis 2012

- Αλληλεπίδραση Wnt5a και ROR2 υποδοχέα διεγείρει την διαφοροποίηση των οστεοκλαστών και η αγωγή σε επίμυες με υποδοχέα-παγίδα προστατεύει από ανάπτυξη διαβρώσεων

Maeda K et al. Nat Med 2012

ΣΠΟΝΔΥΛΟΑΡΘΡΙΤΙΔΕΣ

- Υψηλότερα επίπεδα Dkk1 σε ασθενείς χωρίς συνδεσμόφυτα συγκριτικά με εκείνους που παρουσίαζαν παραγωγή νέου οστού
- Υψηλότερα επίπεδα σε ασθενείς με ΑΣ που ελάμβαναν anti-TNF σε σχέση με ασθενείς με ΡΑ

Daoussis D et al. Arthritis Rheum 2010

- Γερμανική κοόρτη (GSIC) χαμηλότερα επίπεδα λειτουργικού Dkk1 προγνωστικά ακτινολογικής εξέλιξης ΑΣ και σχετίζονταν θετικά με επίπεδα σκληροστίνης

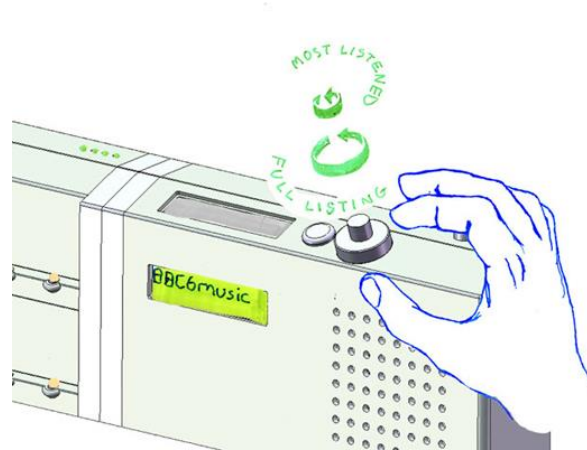
Heiland GR et al. Ann Rheum Dis 2012

Μελλοντική χρήση ως βιοχημικών δεικτών οστικού μεταβολισμού και εξέλιξης νόσου (;)

- Wnt επηρεάζεται από την μηχανική φόρτιση
- Μεταβολές λόγω φλεγμονής και φόρτισης των αρθρώσεων επηρεάζουν συστηματικά την οστική ομοιοστασία ή αποτελούν τοπικά φαινόμενα σε αναπτυσσόμενα συνδεσμοφύτα ή οστεόφυτα
- Anti-Dkk1 ab μετέτρεψαν οστική απώλεια και διαβρώσεις σε οστεοπαραγωγική αρθρίτιδα

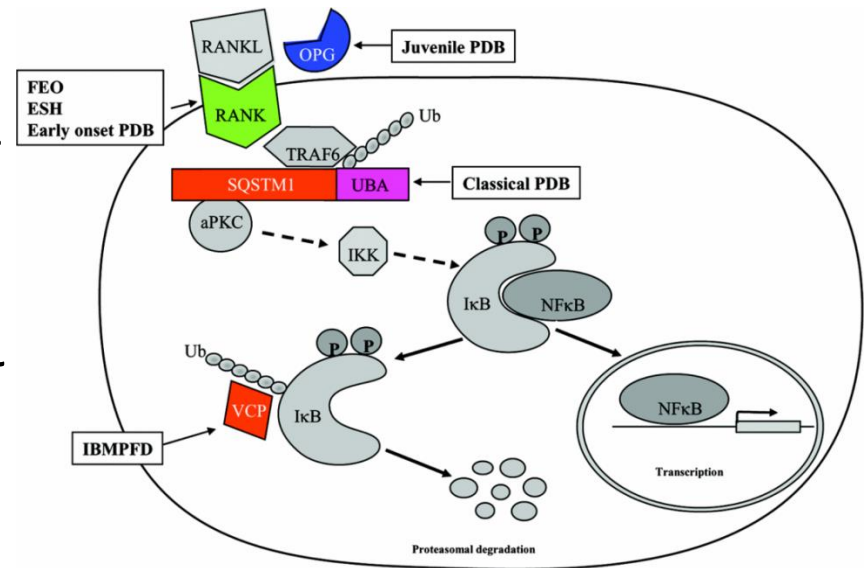
Diarra D et al. Nat Med 2007

- Fine tuning needed!!



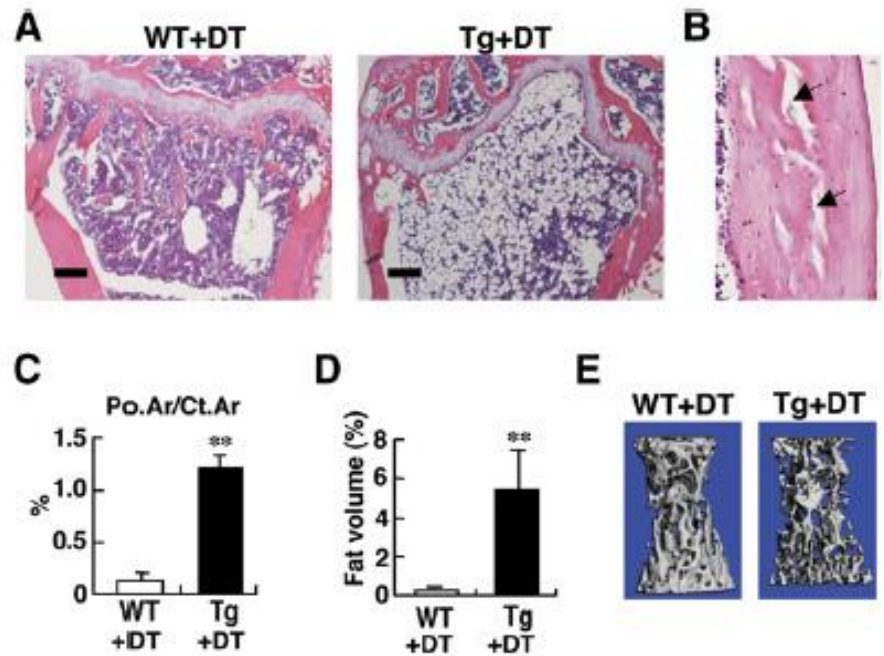
Οστική απορρόφηση

- RANKL κύριο παράγοντα διαφοροποίησης, λειτουργικότητας και επιβίωσης των οστεοκλαστών
- Οστεοβλάστες, οστεοκύτταρα, Β- και Τ-λεμφοκύτταρα, ινοβλάστες του υμένα, υπερτροφικά χονδροκύτταρα (ακόμη κι ίδιοι οι οστεοκλάστες)
- Ποια η κύρια πηγή προέλευσης RANKL που ρυθμίζει την οστική απορρόφηση;



ΟΣΤΕΟΚΥΤΤΑΡΑ ΡΥΘΜΙΖΟΥΝ ΟΣΤΙΚΗ ΑΠΟΡΡΟΦΗΣΗ

- Cell Metab (2007) εκλεκτική απαλοιφή των οστεοκυττάρων μετά χορήγηση διφθερικής τοξίνης
- Θανάτωσε το 70-80% των οστεοκυττάρων- όχι οστεοβλάστες
- Εύθραυστα οστά με οστεοπόρωση και μικροκατάγματα



- Το αντίστροφο, στοχευμένη απαλοιφή των οστεοβλαστών σε επίμυες, δεν επηρέασε τον αριθμό των οστεοκλαστών και την οστική απορρόφηση
- Καμία επίδραση στα επίπεδα του RANKL στα οστά

Manolagas, R.L. Jilka *et al.*

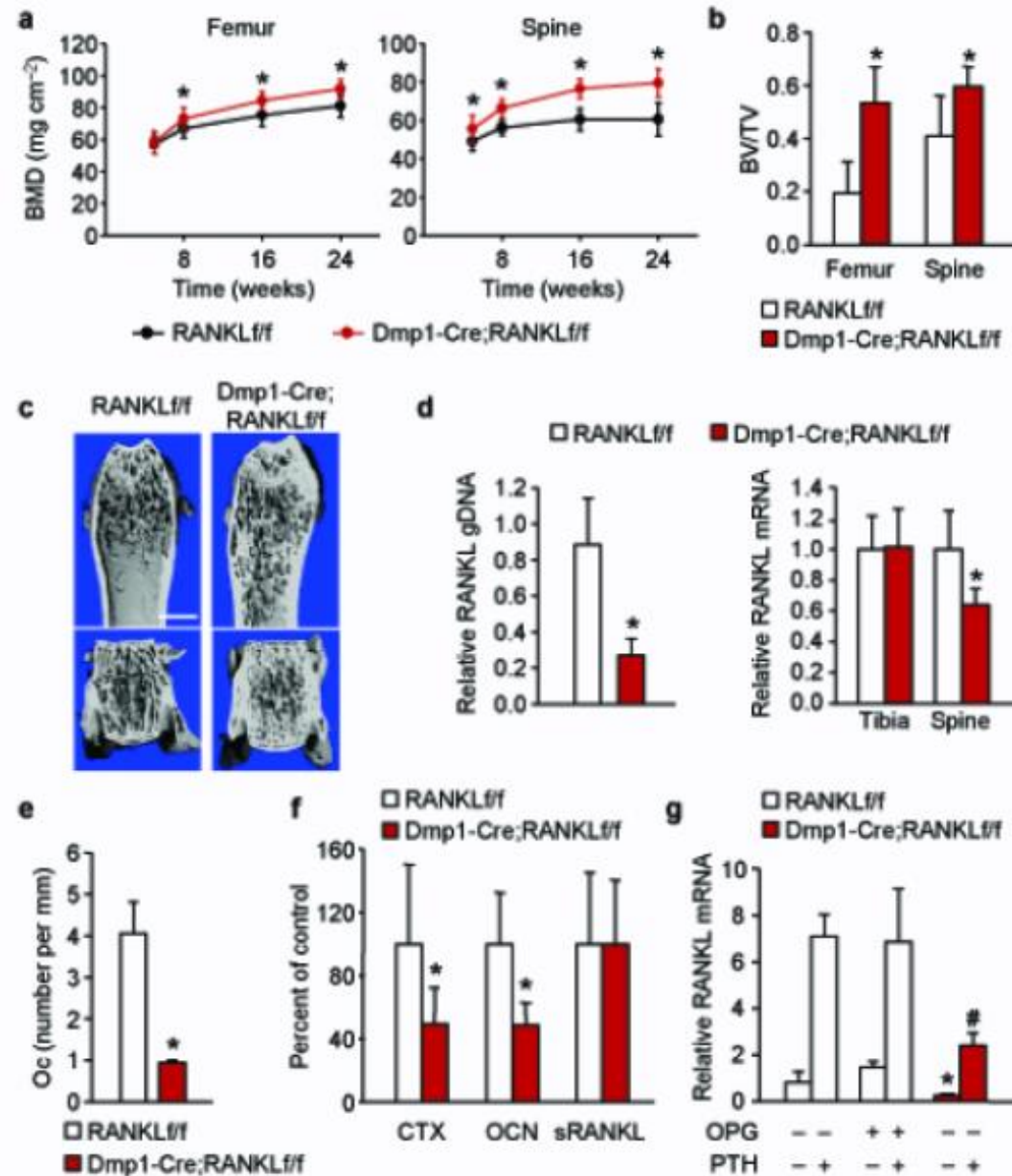
Commitment to the osteoblast lineage is not required for RANKL gene expression

J Biol Chem, 284 (2009)

Matrix-embedded cells control osteoclast formation

- Πειράματα σε επίμυες, όπου αποσιωπούνταν γονίδια ώστε να βρεθεί η κυτταρική πηγή προέλευσης του RANKL
- Κύρια πηγή προέλευσης του RANKL όχι οι οστεοβλάστες, αλλά **υπερτροφικά χονδροκύτταρα** από τον επασβεστωμένο χόνδρο κατά την οστική ανάπτυξη και **οστεοκύτταρα** εμπεδωμένα στο επιμεταλλωμένο οστό (matrix) κατά την οστική αναδόμηση

Xiong et al. Nat Med.2012.



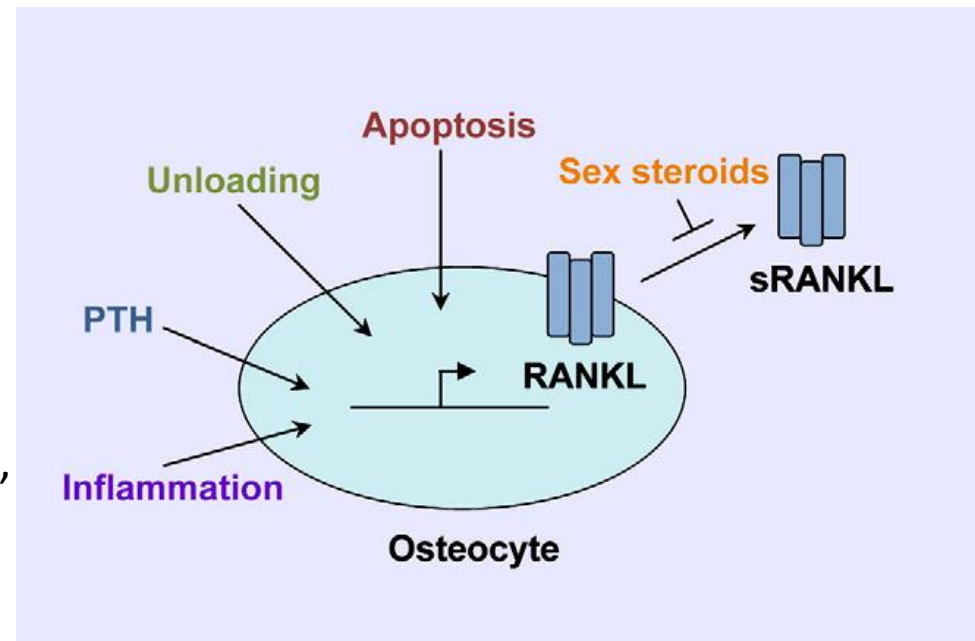
Deletion of RANKL from Dmp1-Cre expressing cells reduces bone remodeling

- Απάλειψη του RANKL από τα οστεοκύτταρα οδήγησε σε αύξηση της οστικής μάζας ανάλογη μ' αυτήν που παρατηρείται από την ολική έλλειψη του RANKL σε ενήλικους επίμυες
- Επίμυες που στερούνταν RANKL από οστεοκύτταρα προστατεύθηκαν από την οστική απώλεια σε καταστάσεις έλλειψης φόρτισης (unloading)- οστεοκύτταρα ελέγχουν την οστική απορρόφηση σε παθολογικές καταστάσεις

Xiong et al. Nat Med. ; 17(10): 1235–1241

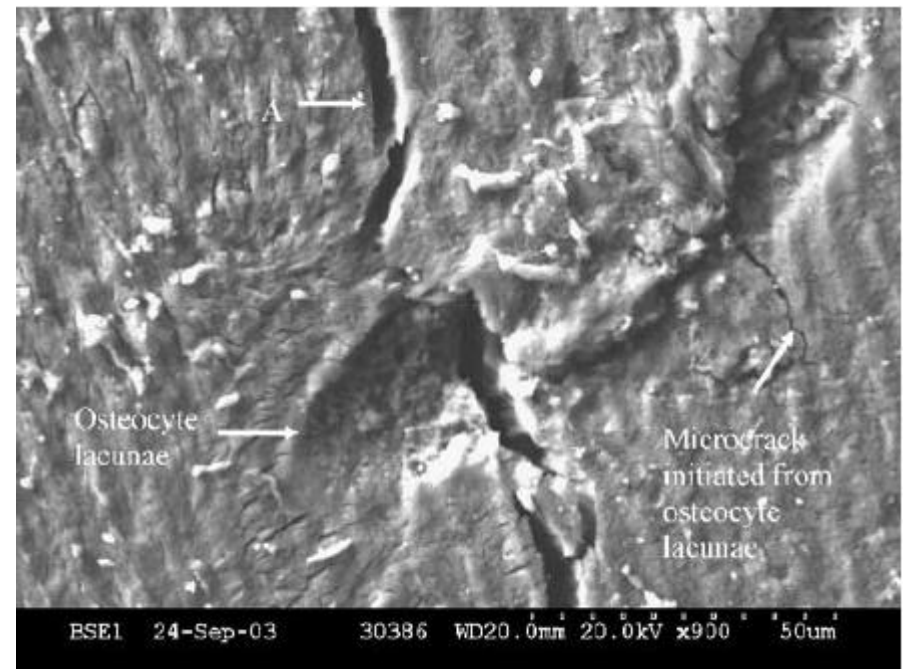
Οστεοκύτταρα επάγουν την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών μέσω RANKL

- Υγιή και αποπτωτικά οστεοκύτταρα μπορούν να «στρατολογήσουν» οστεοκλάστες στην περιοχή της οστικής αναδόμησης
- Απόπτωση συμβαίνει σε περιοχές μικροβλαβών, οστεοκύτταρα εκκρίνουν αποπτωτικά σωμάτια που εκφράζουν RANKL
- Απόπτωση σε παθολογικές καταστάσεις, όπως οστεοπόρωση και οστεοαρθρίτιδα, που αυξάνουν την ευθραυστότητα του οστού
- Υποξία- σε ακινητοποίηση-, τοπική και συστηματική φλεγμονή (αρθρίτιδα)- TNF-α και IL-1, μείωση οιστρογόνων επάγουν την παραγωγή RANKL και την οστεοκλαστογένεση



Μικρο-ρωγμές και οστική αναδόμηση

- Μικρο-ρωγμές (microcracks) διαταράσσουν το δίκτυο των οστεοκυττάρων
- Επάγουν την απόπτωσή τους
- Αποπτωτικά οστεοκύτταρα εκφράζουν RANKL, ενεργοποιώντας τους οστεοκλάστες και γενικά την οστική αναδόμηση



Μικρο-ρωγμές και οστική αναδόμηση

- Οστεοκύτταρα γύρω από την ρωγμή εκφράζουν προ-αποπτωτικούς παράγοντες (BAX), ενώ 1-2mm μακριά από την ιστική βλάβη οστεοκύτταρα εκφράζουν αντι-αποπτωτικούς παράγοντες (Bcl-2)

Verborgt et al. J Bone Miner Res, 2002

- Βλάβη περιχαρακώνεται, αναλογία και με άλλα συστήματα που υπόκεινται σε τοπική βλάβη, όπως σε ισχαιμία στον εγκέφαλο και την καρδιά

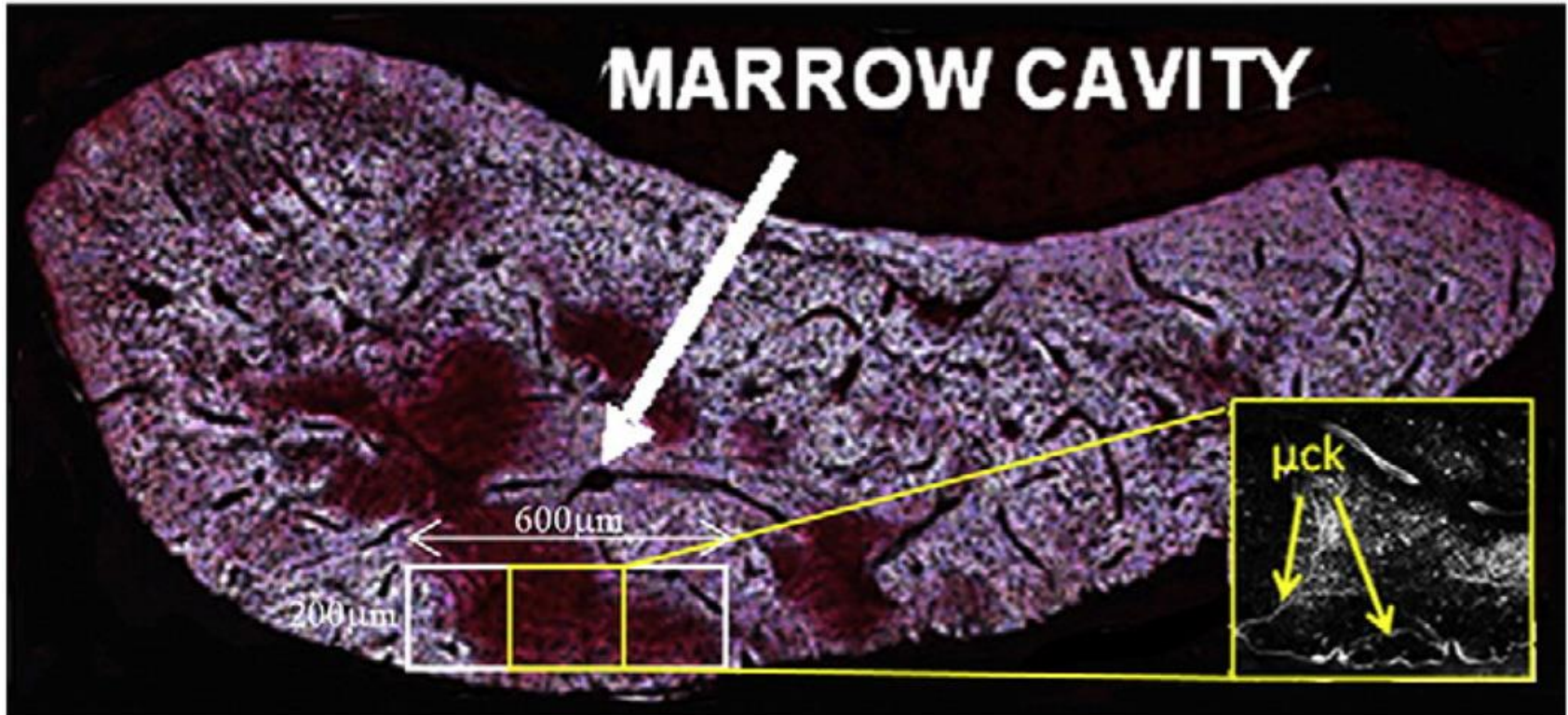
Cheng Y et al. J Clin Invest. 1998

Μικρο-ρωγμές και οστική αναδόμηση

- Ανάλογη χωροταξική κατανομή έχει και η έκφραση παραγόντων-RANKL, OPG
- Επαγωγή μικρο-βλαβών στην μεσότητα της ωλένης μετά καταπόνηση, εξέτασαν στην προ-οστεοκλαστική φάση (3-7 ημέρες)
- Έκφραση RANKL αύξηση αμέσως μετά την περιοχή της μικρο-ρωγμής και ελαττωνόταν σε απόσταση από την βλάβη, το αντίθετο με OPG

Kennedy et al, Bone 2012

Μικρο-ρωγμές και οστική αναδόμηση



- RANKL/OPG ratio δημιουργούσε προ-οστεοκλαστικό περιβάλλον γύρω από την ιστική βλάβη. Μέγιστη χρώση RANKL 150-200μm από πυρήνα απόπτωσης, εγγύτερα στην κοντινότερη οστική επιφάνεια (περιοστική ή ενδοφλοιική)
- RANKL 40-45kDa, διαλυτή μορφή 30kDa, φτάσει και να στρατολογήσει πρόδρομες μορφές οστεοκλαστών

ΟΣΤΕΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

- ❖ Οστεοκύτταρα μέσω του δικτύου που αναπτύσσουν ασκούν παρακρινικό και ενδοκρινικό τρόπο δράσης
- Dentin Matrix Protein 1 (DMP 1)
- Phosphate-regulating neutral endopeptidase on chromosome X (PHEX)
- Matrix extracellular phosphoglycoprotein (MEPE)
- Τρεις πρωτεΐνες παίζουν ενεργό ρόλο στην διαδικασία επιμετάλλωσης και τον μεταβολισμό του φωσφόρου

ΟΣΤΕΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

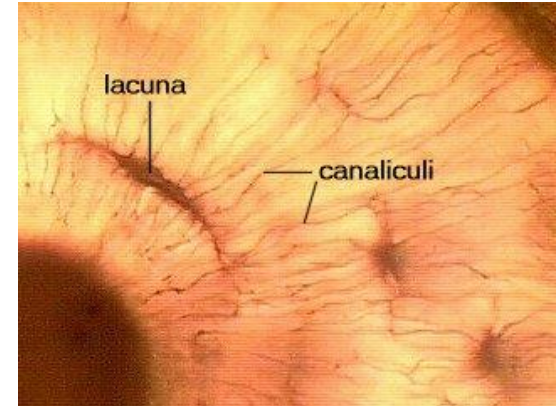
- Κύρια πηγή FGF-23: κύριο ρόλο (μαζί με PTH) στον μεταβολισμό του φωσφόρου
- DMP1-null επίμυες και άτομα με αδρανοποιό μετάλλαξη του γονιδίου έχουν ραχίτιδα και οστεομαλακία και είναι υποφωσφαταιμικά (συνέπεια υψηλών επιπέδων FGF-23)
- Επίμυες που στερούνται FGF-23 είναι υπερφωσφαταιμικά , έχουν οστεοπενία και πεθαίνουν πρόωρα
- FGF-23 παίζει ρόλο και στη χρόνια νεφρική νόσο, αλλά και σε καρδιαγγειακά νοσήματα και επασβέστωση;

Gutierrez OM. Clin J Am Soc Nephrol 2010;5:1710-1716

ΟΣΤΕΟΚΥΤΤΑΡΑ ΚΑΙ ΟΣΤΙΚΟΣ ΜΕΤΑΒΟΛΙΣΜΟΣ

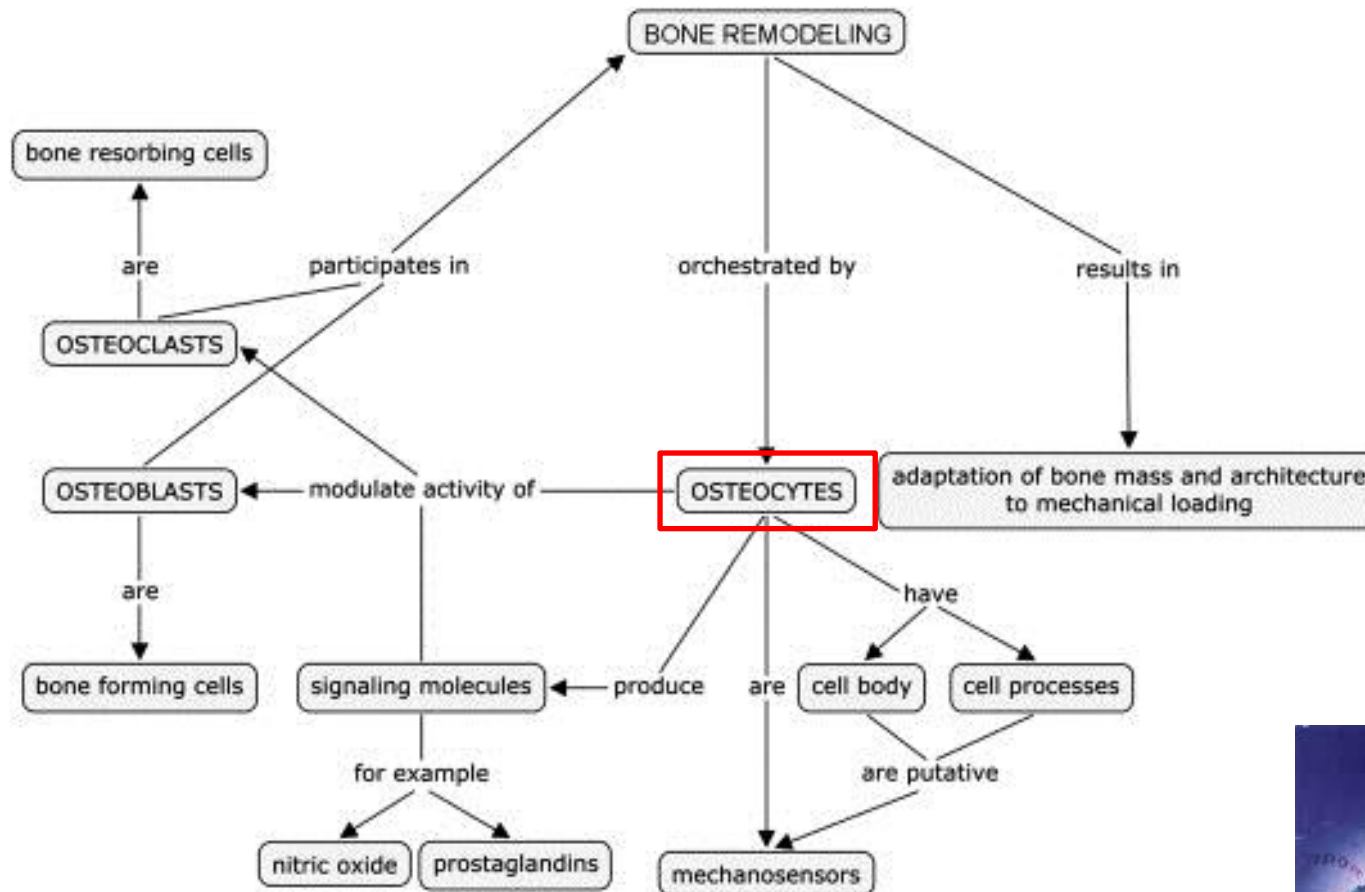
- Κύρια πηγή IGF-1, αναγκαίος για σωστή απόκριση στην μηχανική φόρτιση- απαλοιφή διαταράσσει την σκελετική ανάπτυξη και την ικανότητα απόκρισης σε φορτία
- Εκφράζουν PTH type 1 receptor: ρόλο στον μεταβολισμό του Ca
- Τέλος απαλοιφή του υποδοχέα της βιταμίνης D, συνέπεια αδυναμία κινητοποίησης ασβεστίου μετά από ερέθισμα με βιτ D

Osteocyte Remodelling of Perilacunar matrix



- Osteocytic osteolysis. *Belanger LF. Calcif Tissue Res. 1969;4:1-12.*
- Διευρυσμένα βοθρία και μειωμένη επιμετάλλωση της θεμελίου ουσίας γύρω από τα βοθρία, αύξηση του εύρους των καναλιών
- Συνεχούς χορήγησης PTH, αγωγής με πρεδνιζόνη και κατά τον θηλασμό







ΕΥΧΑΡΙΣΤΩ ΓΙΑ ΤΗΝ ΠΡΟΣΟΧΗ ΣΑΣ!