

Některé aspekty regulace metabolismu kostních buněk

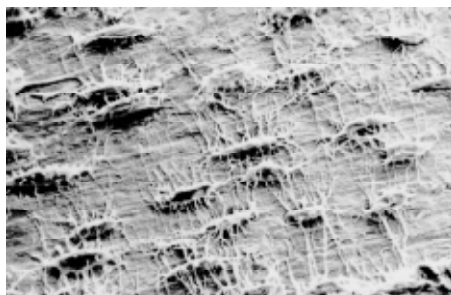
na molekulární úrovni

a genetické aspekty osteoporosy

Úroveň lidského poznání se v medicíně stále prohlubuje a stále přitom naráží na další a další tajemství, která nám prozatím zůstávají skrytá. V osteologii je trend obdobný jako v ostatních oblastech medicíny - největší pokrok je v posledních letech patrný v oblasti poznání metabolických regulací aktivit kostních buněk a jejich vzájemné interakce. Nesčetné pokusy objasnit genetické podklady osteoporosy, jedné z nejčastějších chorob současných vyspělých civilizací, však prozatím zůstávají bez přímé klinické aplikace. Je to vcelku pochopitelné - průnik poznání na molekulární a regulační úroveň je zpracován poměrně detailně a každý objevený krůček má širokou aplikaci a přímo vybízí k hledání logických souvislostí a dalších kroků. V genetických podkladech se postupně osteoporosa stává tím, čím je označován diabetes mellitus - noční můrou genetiků.

Regulace kostního metabolismu a vliv lokálních regulačních faktorů

Estrogenní deficit u postmenopausálních žen je již dlouho znám jako hlavní vyvolávající faktor zvýšené kostní resorpce, zvýšené ztráty kostní tkáně a kostního minerálu a následné postmenopausální osteoporosy. Teprve poslední desetiletí významněji přispěla k poznání a pochopení mechanismů, kterými estrogény ovlivňují metabolismus kostních buněk. Je prokázá-



no, že estrogény a tedy také jejich deficit výrazně ovlivňují především tvorbu osteoklastů, délku jejich života, funkci a regulaci. Je mnoho hormonů a působků,



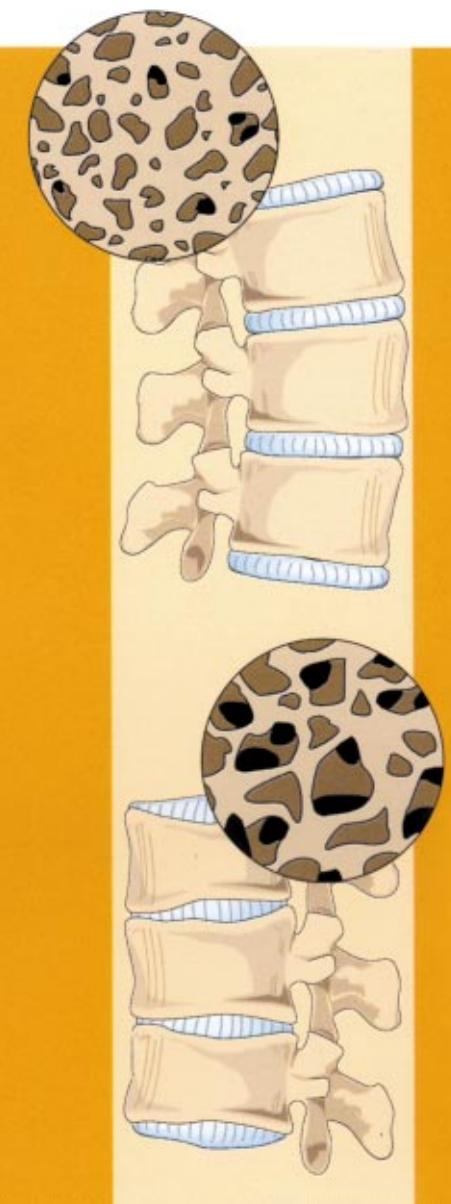
které vyvolávají zvýšenou osteoklastogenezu. Jsou představovány především parathormonem a jemu blízkému PTH-related proteinem, prostaglandiny (především

E₂), kalcitriolem a thyroxinem. Z interleukinů a cytokinů bývají „obviňováni“ především TNF- α , IL-1 β , IL-6 a IL-11 nebo růstový faktor M-CSF, tedy ten, který stimuluje makrofágy a jejich prekursory. Zvláště tento růstový faktor má mimořádnou důležitost. Zdá se totiž, že je jedním ze spojovacích článků mezi osteoporosou a jinými procesy, například chronickým zánětem, revmatoidní artritidou a jinými závažnými chorobami. Tvorba aktivních osteoklastů totiž vyžaduje M-CSF a zahrnuje mezibuněčné kontakty a reakce mezi prekursory monocyto-makrofágové linie a osteoblasty a především T- a B-buňkami. Všechny tyto buňky jsou schopny exprimovat ligand receptor-aktivátor nukleárního faktoru κ B (RANKL). RANKL patří do tzv. rodiny ligandů tumor nekrotizujícího faktoru (TNF). RANKL je naprosto nezbytný pro diferenciaci precursorů osteoklastů a pro dozrávání osteoklastů. Dokonce i zralé osteoklasty vyžadují přítomnost RANKL, který je jejich aktivátorem. Tento RANKL fyziologicky v kostním metabolismu produkovaný především osteoblasty a stromálními buňkami kostní dřene se váže na specifický receptor na povrchu precursorů osteoklastů či vlastních osteoklastů, tzv. RANK. Je známo, že osteoblasty produkují současně „falešný receptor“ zvaný osteoprotegerin, který je schopen v solubilním prostředí RANKL vyvázat dříve, než se naváže na povrchový receptor osteoklastů a kaskádou nitrobuněčných dějů zahájí diferenciaci a aktivaci osteoklastů s následnou kostní resorpcí. Tyto děje jsou poměrně dlouho a dobře známy a popsány. Teprve v posledních letech se však daří v experimentech na zvířatech spojit tyto děje a jejich změny se vznikem postmenopausální osteoporosy. Estrogeny jsou schopny útlumem produkce IL-1, IL-6 a TNF- α tlumit produkci M-CSF a RANKL. Tím následně tlumí diferenciaci osteoklastických precursorů a aktivaci osteoklastů. Děje se tak tím způsobem, že snížená aktivace RANK snižuje aktivaci Janusovy kinázy 1 a aktivátorů transkripce v osteoklastech - c-Fos a c-Jun a současně i aktivaci nukleárního faktoru κ B (NF- κ B). Estrogeny současně zvyšují produkci osteoprotegerinu (OPG) a TGF- β . Zpětnovězobně pak TGF- β stimuluje produkci OPG a současně zvyšuje apoptosu osteoklastů. Teprve

v současné době se s použitím průtokové cytometrie potvrdilo, že množství RANKL v preosteoblastech, ale i T- a B-buňkách je u postmenopausálních žen 2-3x vyšší než u žen premenopausálních a pozitivně koreluje s markery kostní resorpce a negativně se sérovou koncentrací 17 β -estradiolu. Sérové hladiny RANKL, ale i OPG jsou přitom pre- i post-menopausálně identické. To jen potvrzuje, že v současné fázi výzkumu podstaty postmenopausálně zvýšené osteoresorpce je nutno se pohybovat na úrovni mikroprostředí mezi buňkami či uvnitř buněk. Tento nálezní ale současně podtrhuje další informaci - postmenopausální osteoporosa je velmi úzce spjata s mnoha dalšími ději v organismu, především s funkcí a aktivací imunitního systému, který je rovněž ovlivňován estrogeny. Léčba postmenopausální osteoporosy suplementací estradiolu je tedy logická a indikovaná. Dlouhodobé (ale někdy i krátkodobé) podávání estrogenů má ovšem někdy také své nevýhody, jejichž výčet a přesnější specifikace jsou mimo rámec tohoto sdělení. Výzkum novějších léků se proto znovu zaměřuje na stále živou otázku blokace $\alpha_v\beta_3$ integrinu, adhezního receptoru, nezbytného k adhezenci osteoklastů na kostní povrch, ale především možného léčebného využití osteoprotegerinu. Zatímco aplikaci $\alpha_v\beta_3$ integrinu prozatím brání jeho široké zapojení do koagulačních dějů a adheze trombocytů, využití OPG se zdá být reálnější v blízké budoucnosti. První klinické studie u pacientů s postižením skeletu mnohočetným myelomem a metastasami karcinomu prsu, ale i s postmenopausální osteoporosou již proběhly a zdají se být velmi nadějně.

Genetické podklady osteoporosy

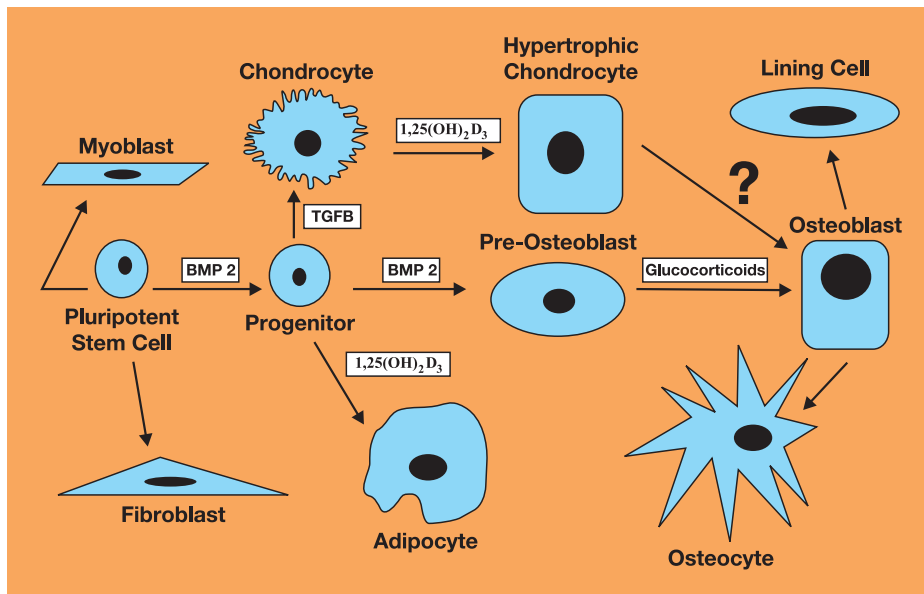
S rozmachem informací o genetických základech funkcí lidského organismu se mnoho badatelů soustředilo i na genetické aspekty osteoporosy. Ve zjednodušené představě se většina výzkumů dá shrnout do dvou přístupů: populačně asociačních studií a hledání konkrétních změn v jednotlivých genech. Populačně asociační studie byly a jsou velmi využívány, podle některých autorů až nadměrně. I když genetické vazby u častých chorob jsou ob-



vykle slabé, jejich dopad je velký, právě vzhledem k vysoké četnosti choroby. V případě osteoporosy se opakovaně potvrdilo, že asociační studie jsou ve svých dopadech účinnější než studie rodin, či v jiných případech hojně využívané studie dvojčat. Jedním z důvodů je to, že u osteoporosy by k průkazu vlivu majoritního lokusu s 30% průnikem bylo potřeba analýzy celého genomu u více než 8.000 náhodně vybraných párů dvojčat.

Převážně populačně asociačními studii se podařilo nalézt řadu alel, které jsou s osteoporosou přímo či nepřímo spojeny. V současné době probíhá mapování QTL (quantitative trait loci) pro kostní densitu (BMD). Mezi nejvýznamnější kandidátní geny, spojené s kostní densitou patří geny pro:

- receptor estrogenů
- apolipoprotein E
- calcium-sensing receptor
- receptor pro kalcitonin



a kyčli je 70-85%, pro kosti předloktí pak 50-60%. Geometrie krčku femuru je geneticky podmíněna z 60-85%. Genetické vlivy ale existují i v regulačních mechanismech. Dědičnost regulace hladin PTH ale i 1,25-(OH)₂D₃ je asi 60-65%, zatímco laboratorní markery resorpce a novotvorby kostní tkáně jsou geneticky vázány velmi rozdílně - u osteokalcinu se předpokládá genetická vazba asi 20-ti procentní, u kostní isoformy ALP až 74%. Z longitudinálních studií se přitom dá soudit, že tento rozdíl není dán faktory vnějšího prostředí.

Dědičné předpoklady ale existují i pro riziko fraktury jako takové, tedy nezávislé na BMD. Jsou však výrazně nižší, asi 20-35%. Tato diskrepance je jistě částečně dána vazbou na jiná rizika vzniku fraktury (pády atp.), přesto zůstává velmi zajímavou oblastí pro další výzkum. Možná ještě zajímavější bude zkoumání genetických podkladů reakce na léky - tam by nové poznatky mohly výrazně přispět k racionalisaci nákladné léčby, kterou osteoporosa vyžaduje.

- interleukin 6
- osteokalcin
- transforming growth factor - β_1
- insulin-like growth factor I
- receptor vitamínu D
- kolagen typu IA1

a mnoho dalších. Je třeba říci, že nejvýznamnějšími variacemi v genomu jsou ale

SNP - single nucleotide polymorphisms, jejichž detekce (byť komplikovaná) je stále mnohem jednodušší než klinická aplikace výsledků.

Shrnutí dosavadních znalostí především z populačně asociačních studií, analýz rodinných výskytů a studií dvojčat potvrzují, že heritabilita BMD v páteři

