

Для студентов ЛФ (стоматология)  
расширенный материал по лекции

# **БИОХИМИЯ** **ХРЯЩЕВОЙ И** **КОСТНОЙ ТКАНЕЙ**

**Жаворонок Татьяна Васильевна**

профессор кафедры биохимии и молекулярной биологии  
с курсом клинической лабораторной диагностики СибГМУ

# Хрящевая ткань – вариант соединительной ткани

Клетки ↓ Межклеточный ↓ матрикс

- Хондрогенные
- Хондробласты
- Хондроциты
- Коллагены
- Гликопротеины
- ВМ-гиалуроновая кислота
- Протеогликаны  
(стимулируют дифференцировку бластов в хондроциты)
- Ферменты
- Цитокины
- До 75% воды

**Клетки**

**Межклеточный матрикс**

мезенхимальные  
недифференцированные

хондрогенные

хондробласты

хондроциты

**Формирование надмолекулярных комплексов**

синтез и секреция коллагенов I и III типов и высокомолекулярной гиалуроновой кислоты

- синтез и секреция коллагенов I и II типа и минорных коллагенов, больших и малых протеогликанов, высокомолекулярных связующих белков

- гидролиз гиалуроновой кислоты и высокомолекулярных связующих белков

- формирование коллагеновых фибрилл малыми протеогликанами

- образование протеогликановых агрегатов

- синтез и секреция адгезивных гликопротеинов, ферментов, цитокинов

организация трехмерной архитектоники межклеточного матрикса

# Протеогликаны хрящевой ткани

*Агрекан* – до 10% сухого веса

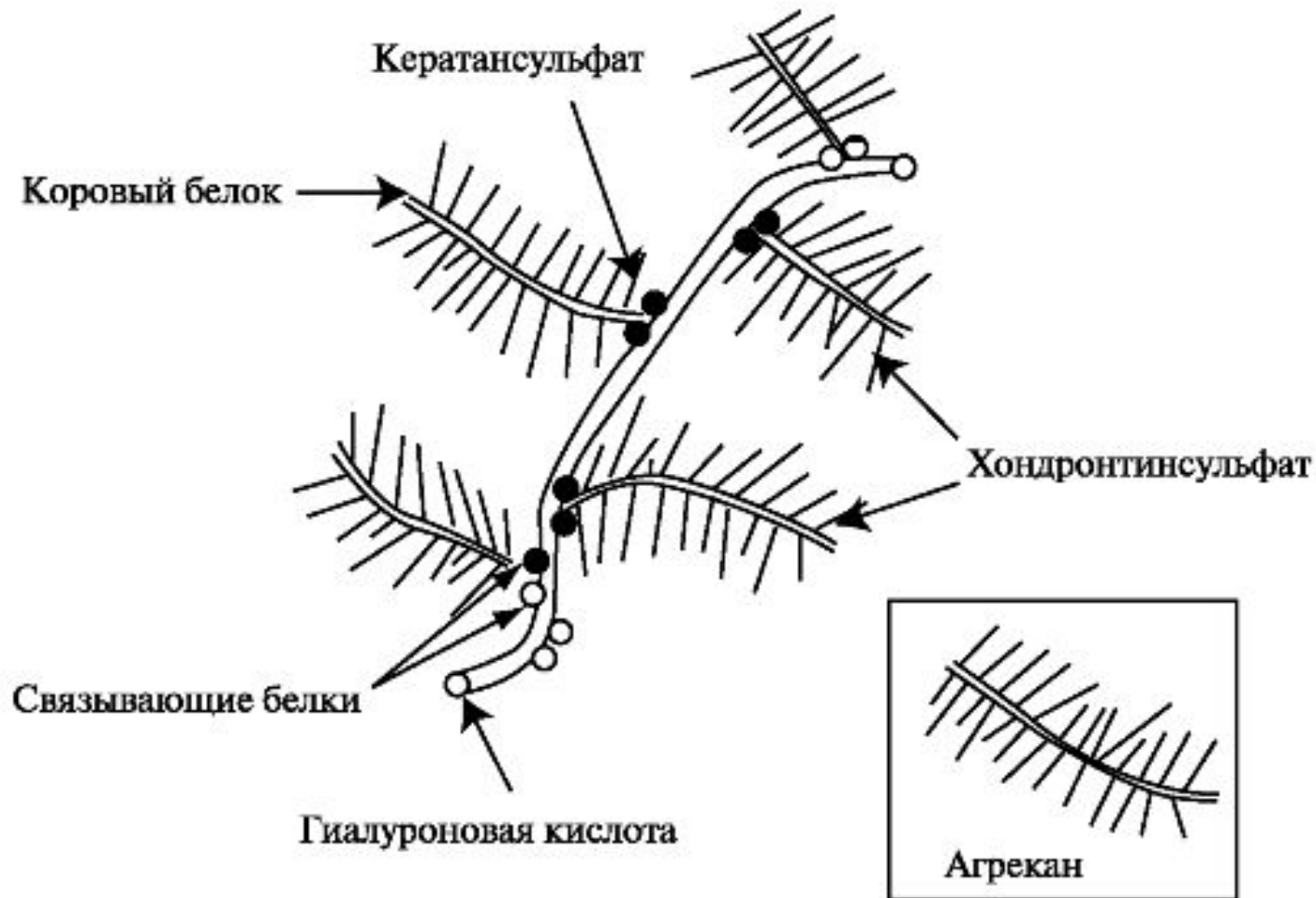
*Богатые лейцином малые протеогликаны* (бигликан, декорин, фибромодулин)

Преобладание хондроитинсульфатов, дерматансульфатов, кератансульфатов

1. Надмолекулярные агрегаты из гиалуроновой кислоты и ~100 молекул агреканов.
2. Малые протеогликаны (1-2% сухого веса) участвуют в формировании коллагеновых фибрилл

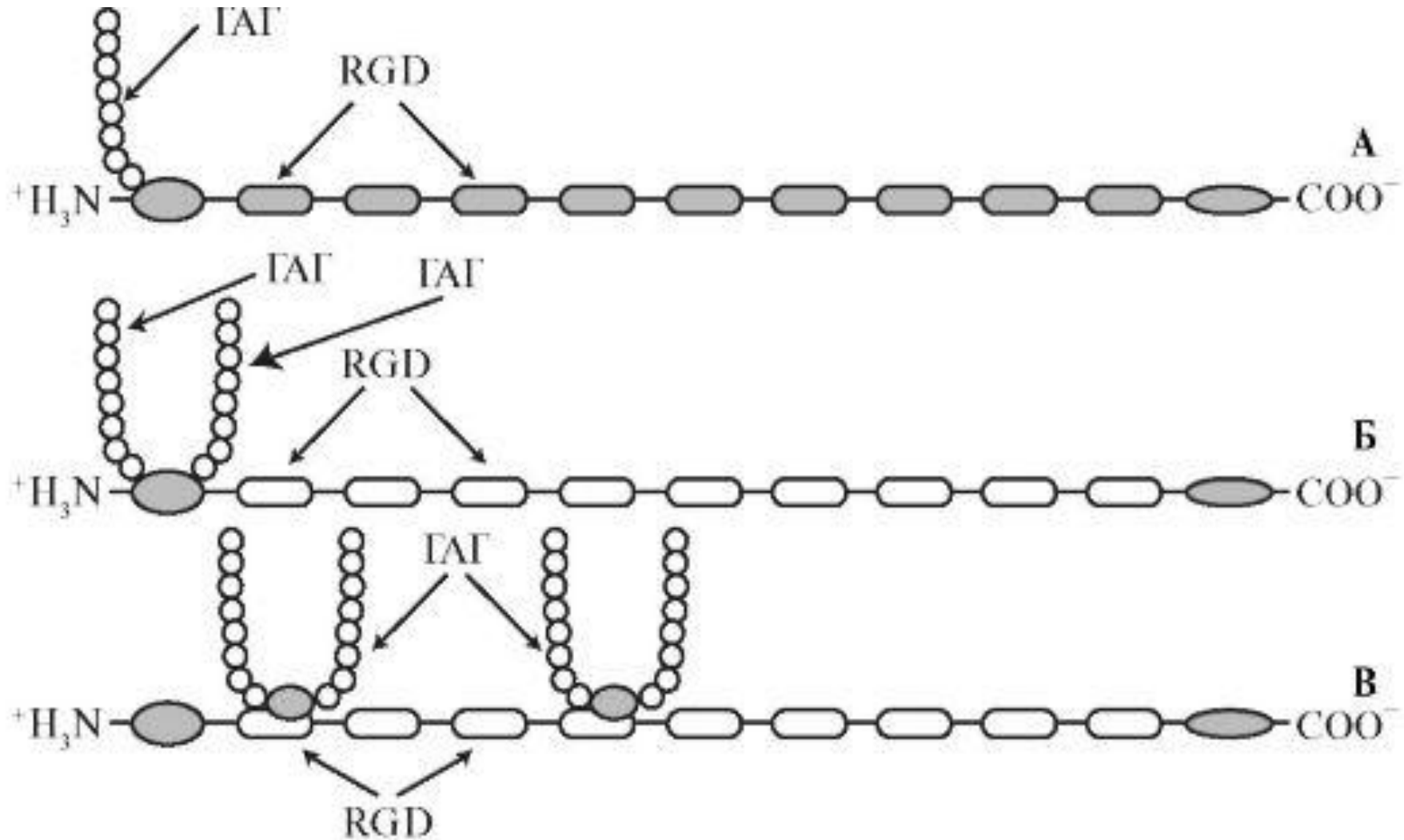
# Большие протеогликаны хряща (гиалектаны)

## Агрекан в составе надмолекулярного агрегата

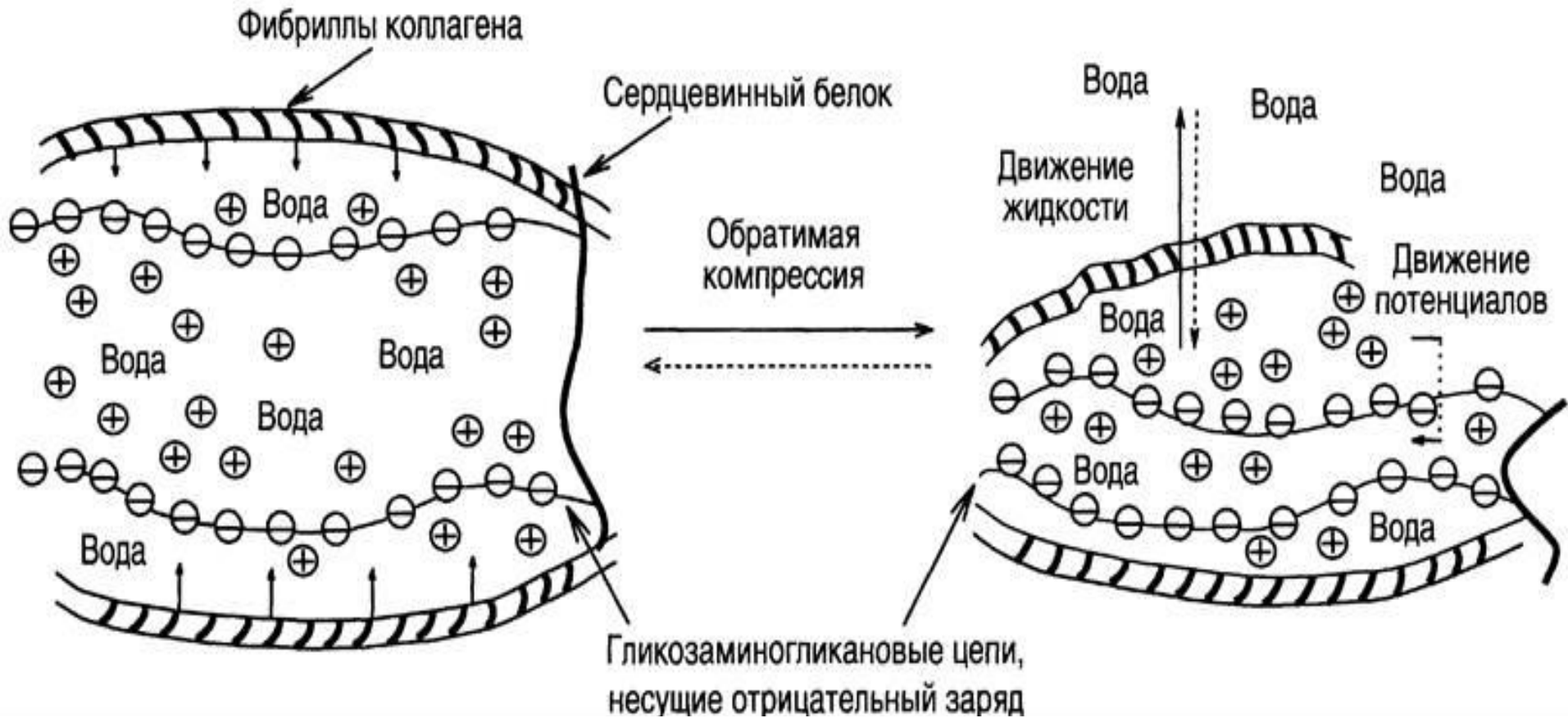


# Доменное строение малых ПГ:

А- декорин, Б- бигликан, В- фибромодулин



# Цикл компрессия/декомпрессия хряща

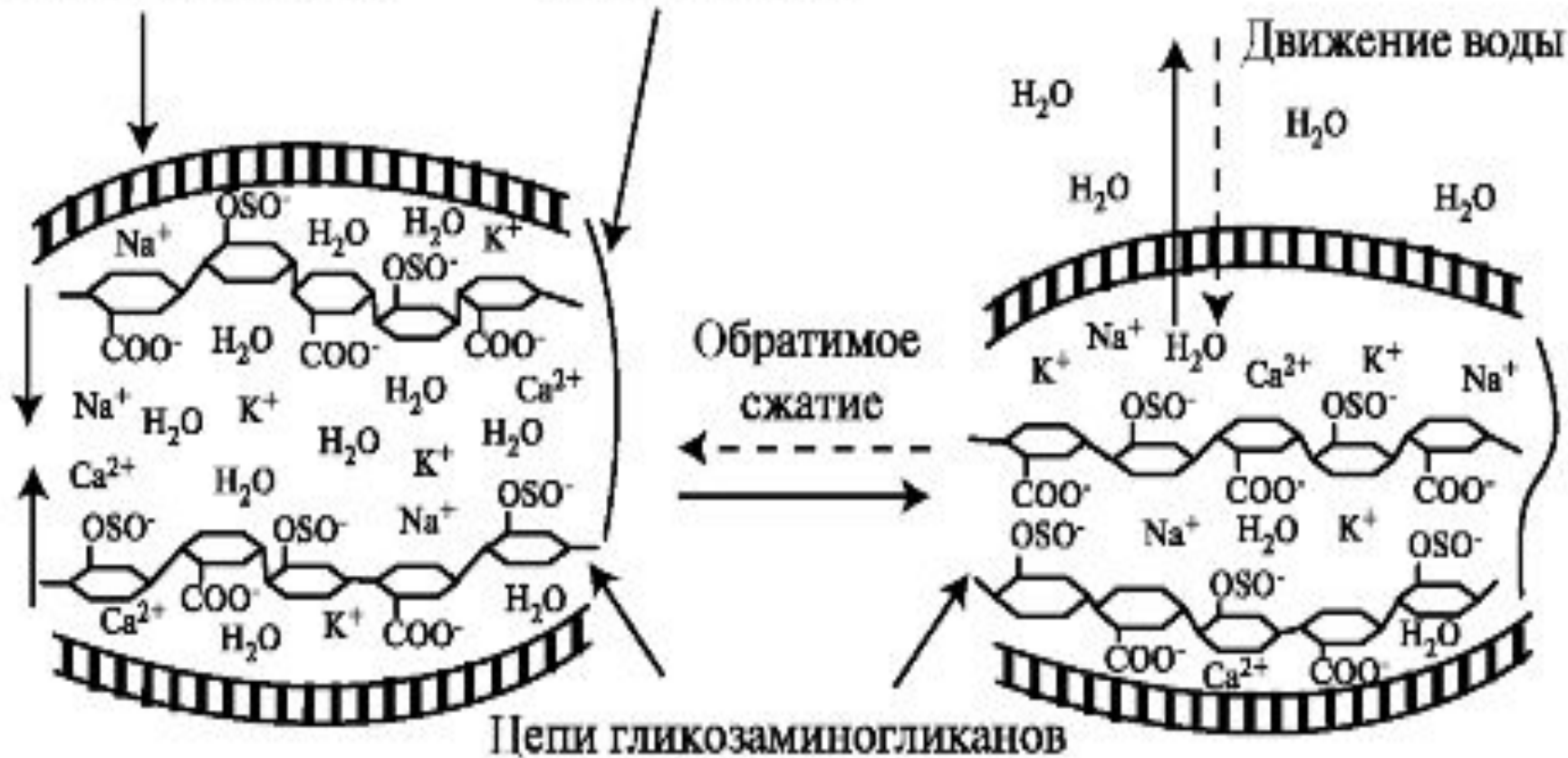


Коллагеновая сеть ограничивает набухание хряща (не более 20% от максимально возможного)

# Роль анионных групп ПГ хряща

Коллагеновые фибриллы

Коровый белок

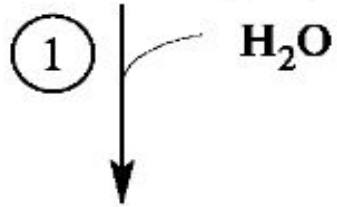




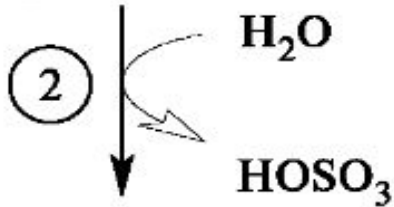
## Изменения в хрящевой ткани при старении организма:

- 1) **изменяется структура гликозамингликанов. Молекула хондроитинсульфата становится в 2 раза короче и связывает меньше воды. Поэтому кожа пожилых людей становится менее упругой, суставы менее подвижными. Из-за этого возможно развитие артрозов.**
- 2) **Коллагеновые фибриллы становятся более ригидными (накопление сшивок). Синтез коллагенов снижается.**

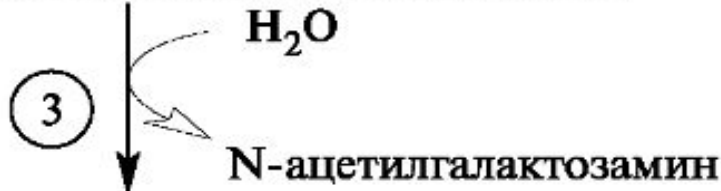
Хондронтин - 6 - сульфат



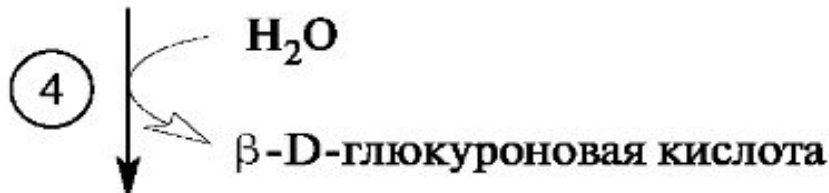
Сульфатированные олигосахариды (тетрасахариды)



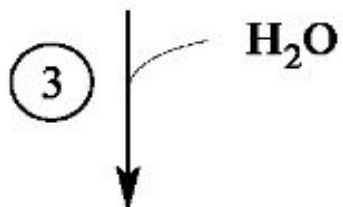
Несульфатированные тетрасахариды



Несульфатированные трисахариды



Дисахариды



N - ацетилгалактозамин +  $\beta$ -D-глюкуроновая кислота

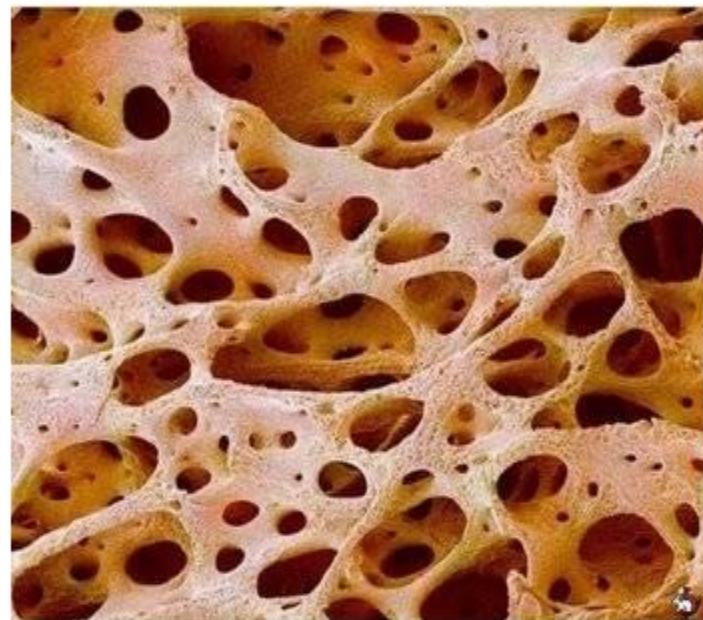
## Распад фрагментов хондроитин-6- сульфата агрекана

- 1- эндогликозидаза
- 2- сульфатаза
- 3-  $\beta$ -N-ацетилгалактозаминидаза
- 4-  $\beta$ -глюкуронидаза

**КОСТНАЯ ТКАНЬ** - одна из разновидностей соединительной ткани, отличается высокой минерализацией межклеточного вещества.

Выполняет ряд функций:

- защитную,
- механическую,
- метаболическую



## 3 компонента костной ткани

### 1. Клетки – 3% от всего объема кости

- остеобласты – синтез белкового матрикса, имеют рецепторы к паратгормону
- остеоциты – зрелые остеобласты в минерализованном белковом матриксе
- остеокласты - резорбция костной ткани, но рецепторов ни к ПРГ, ни к гормону Дз нет

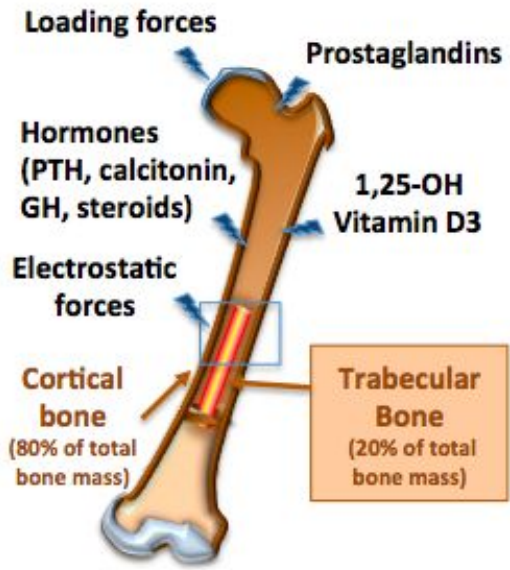
### 2. Органический матрикс

- синтезируется остеобластами
- основной белок – коллаген 1 типа (95%)
- другие белки, остеокальцин

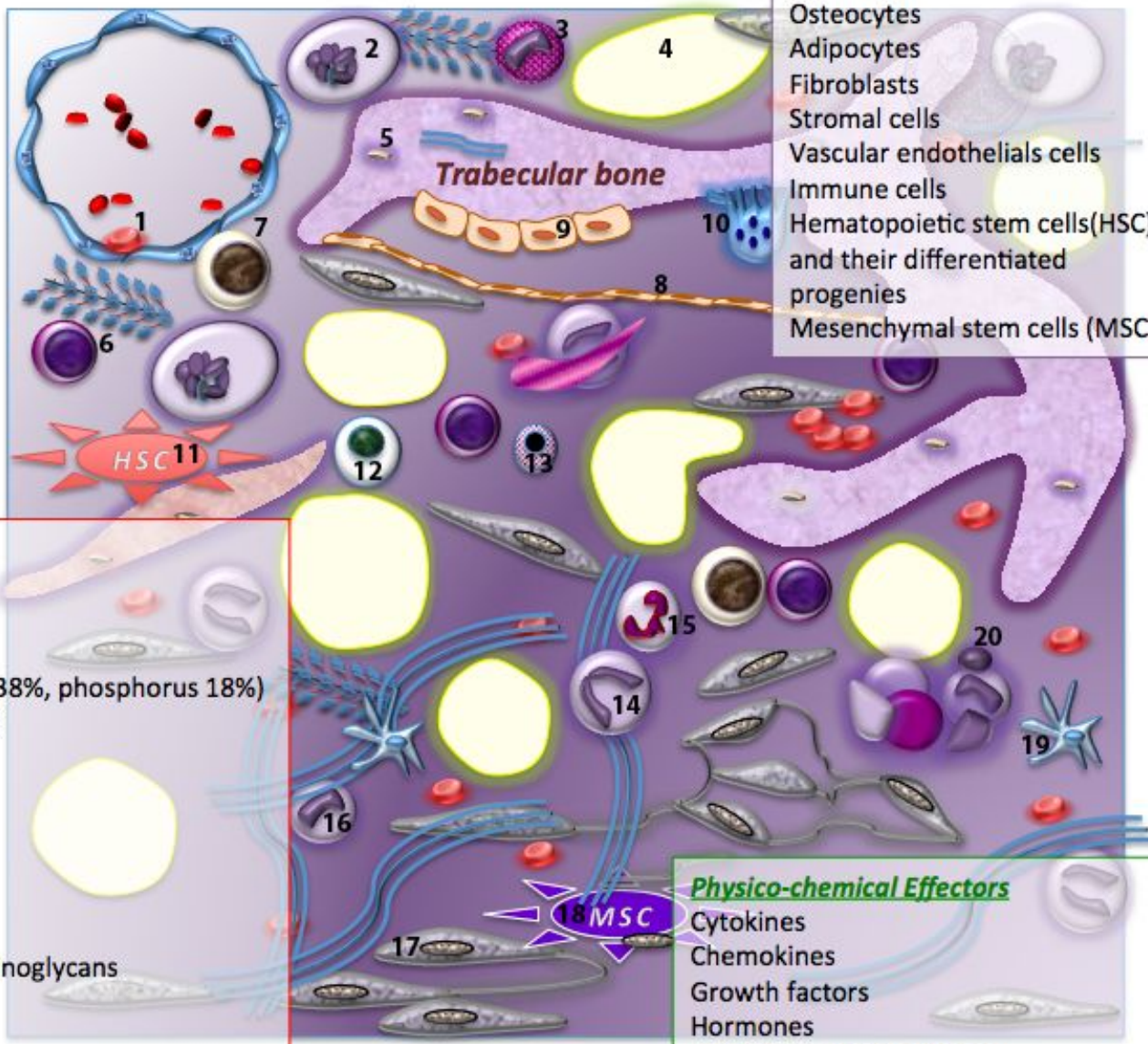
### 3. Минеральные вещества

- кристаллы гидроксиапатита  $\text{Ca}_{10}(\text{PO}_4)_6(\text{OH})_2$
- аморфный фосфат Ca  $\text{Ca}_3(\text{PO}_4)_2$

# Bone



# Костная ткань



- Bone & Bone Marrow cells**
- Osteoblasts
  - Osteoclasts
  - Osteocytes
  - Adipocytes
  - Fibroblasts
  - Stromal cells
  - Vascular endothelial cells
  - Immune cells
  - Hematopoietic stem cells(HSC) and their differentiated progenies
  - Mesenchymal stem cells (MSC)

- ECM components**
- Fibronectin
  - Laminin
  - Collagens
  - Apatite crystals (calcium 38%, phosphorus 18%)
  - Bone promoting proteins
  - Bone sialoproteins
  - Osteonectin
  - Osteoprotegerin
  - Osteocalcin
  - Integrins
  - Alcaline Phosphatase
  - Proteoglycans, Glycosaminoglycans
  - Osteopontin
  - MMPs & TIMPs
  - Receptors
  - Adhesion molecules

- Physico-chemical Effectors**
- Cytokines
  - Chemokines
  - Growth factors
  - Hormones
  - Physico-mechanical forces
  - Biochemical regulators (pH, oxygen concentration, nutrients...)

# Клеточный состав костной ткани

1) Дифферон остеоцитов: стволовые остеогенные клетки, полустволовые стромальные клетки, остеобласты, остеоциты.

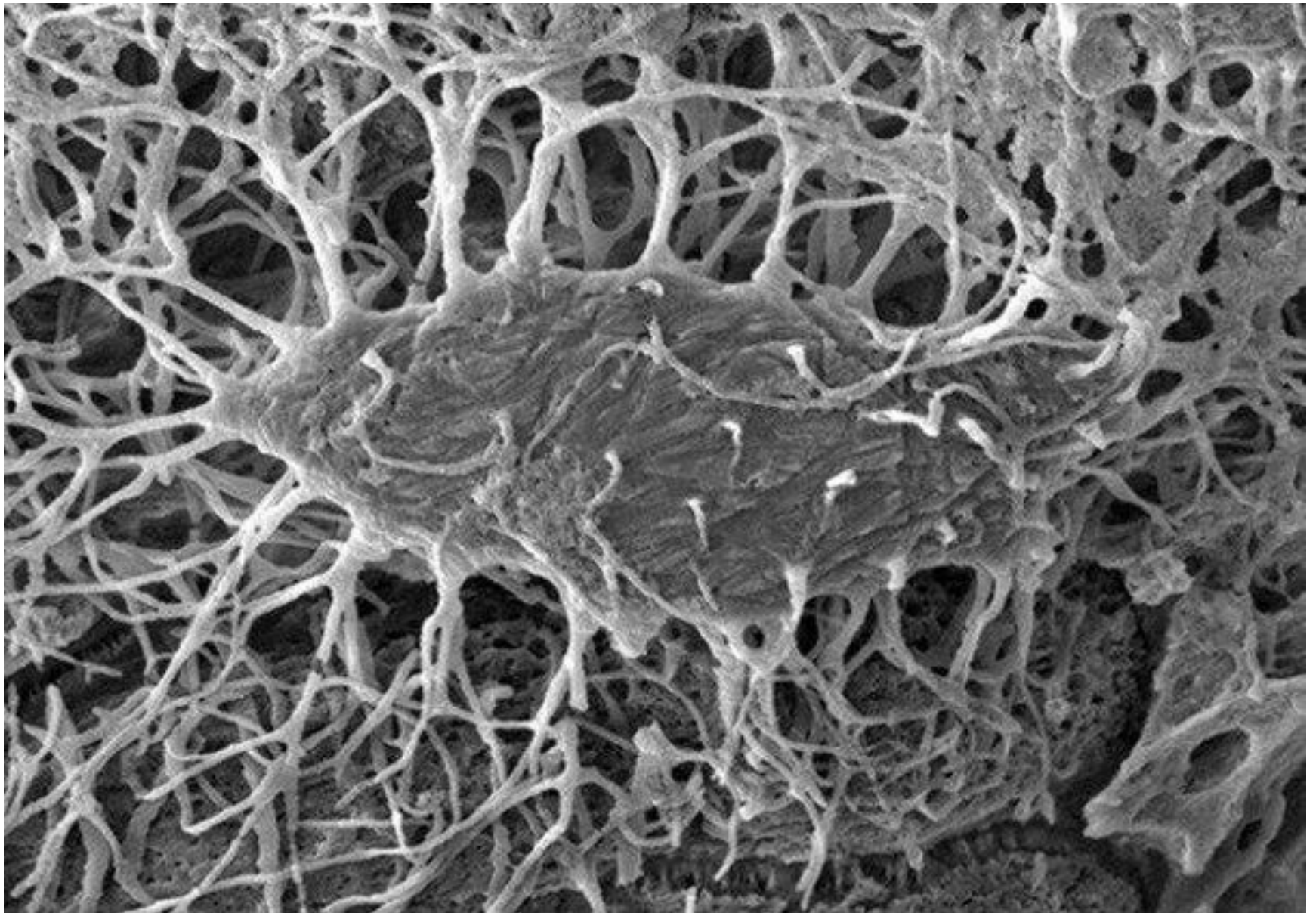
2) Дифферон остеокластов: СКК, моноцит, остеокласт (макрофаг)

- **Остеогенные клетки** – недифференцированные клетки, находятся на внутренней поверхности надкостницы и в составе эндоста.
- **Остеобласты** – находятся в глубоких слоях надкостницы в зонах костеобразования и местах регенерации при травме.

Остеобласты имеют развитые органеллы – они обеспечивают функциональную активность бластов. Основная функция клеток – деление, а также синтез и выделение во внеклеточное пространство коллагена, протеогликанов, ГАГ, Са-связывающих веществ, биосинтез **МБК** (морфогенетического белка кости).

- **Остеоциты** – древовидные клетки, контактируют друг с другом через отростки, синтетически слабо активны.
- **Остеокласты** – образуются из макрофагов и являются разрушителями костной ткани, участвуют в обновлении кости, обеспечивая рост и развитие скелета.

# ОСТЕОЦИТ





# Морфогенетический белок кости



# Роль белков в образовании матрикса кости



# Белки органического матрикса кости

**Основное вещество** – протеогликаны

**Фибриллы** – коллаген-I, минорные коллагены  
(органический матрикс на 90% из коллагенов)

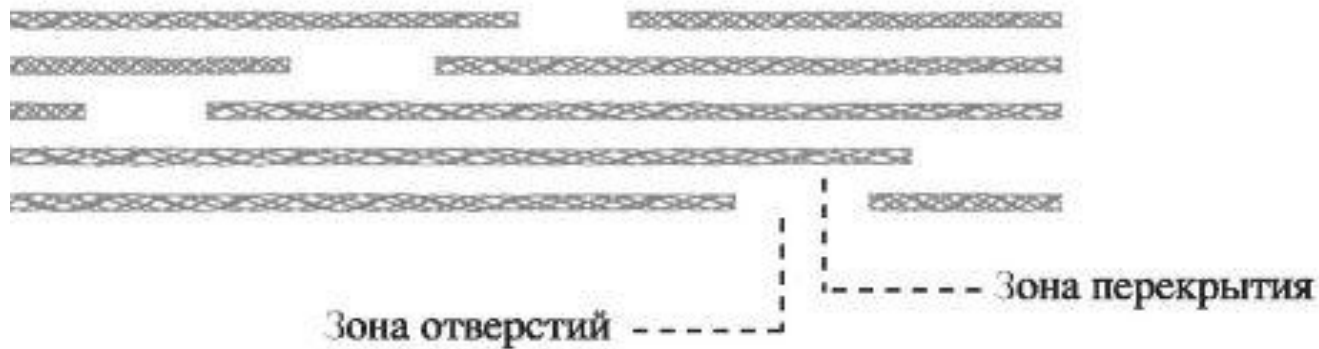
**Нефибриллярные белки:**

- 1) общие для всех соединительных тканей,
  - 2) специфические костные.
- остеокальцин, Gla-протеин матрикса, остеоонектин, костный сиалопротеин, остеопонтин, тромбоспондин, фибронектины, регуляторные белки.
  - Ферменты:  
кислая фосфатаза, щёлочная фосфатаза и др.

# Фибриллярные белки кости - коллагены

- **Коллаген I типа** – основной компонент кости (15% в компактном веществе, 24% - в губчатом). Имеет меньше ковалентных сшивок, чем в соединительной ткани. Больше, чем в иных видах коллагена, содержит гидроксипролина, гидроксизина, лизина, аллизина, в концевом домене содержит Глу, Асп и остатки Сер (присоединяют фосфат).
- **Коллагены V, VI, XII типов** – минорные компоненты фибрилл

# Коллагеновые фибриллы

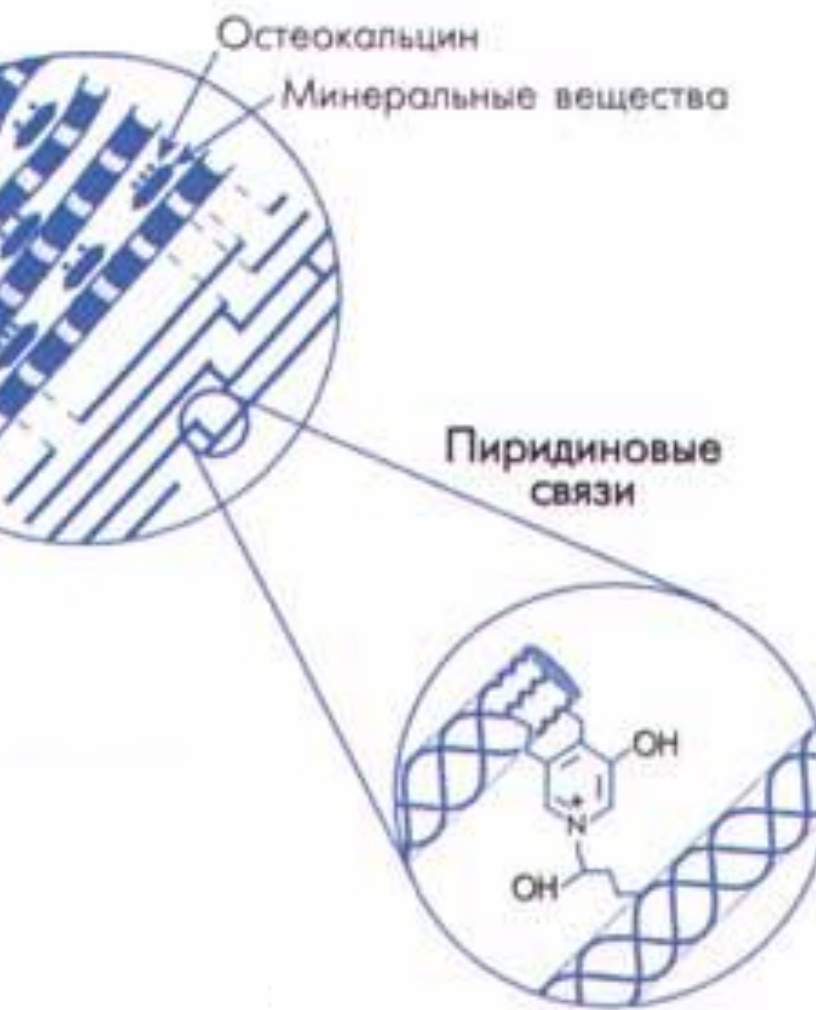


- 1 молекула тропоколлагена из трёх  $\alpha$ -цепей

- 2 микрофибриллы из пяти рядов тропоколлагена

- 3 фибриллы из 9-12 микрофибрилл

рис.1 Схематическое изображение участия пиридиновых связей и остеокальцина в формировании структуры костной ткани (схема представлена S.P. Robins и публикуется с его согласия)



# неколлагеновые белки кости (в сумме 100%)



# 1. Протеогликаны основного вещества кости

- Протеогликаны кости представлены в основном **агреканом** (I класс «гиалектаны»), который богат **хондроитинсульфатом (ХС)**.
- ХС в составе основного вещества важен для минерального обмена костной ткани, так как является полианионом и способен к активному ионному обмену.

**Сульфатные группы ХС связывают ионы  $\text{Ca}^{2+}$ .**  
При деградации ХС связывание нарушается.

- В процессе минерализации костной ткани эти протеогликаны разрушаются лизосомальными гидролазами и замещаются минеральной фазой.



## протеогликаны и ГАГ кости и хряща

Версикан, бигликан, декорин, синдекан	Хондроитин-4-сульфат, хондроитин-6-сульфат, дерматансульфат, кератансуль- фат, гиалуроновая кислота	Костная ткань
Декорин, бигликан, фибромодулин,	Хондроитин-4-сульфат, хондроитин-6-сульфат, кератансульфат, гиалуроновая кислота	Хрящевая ткань

## 2. Неколлагеновые белки межклеточного матрикса

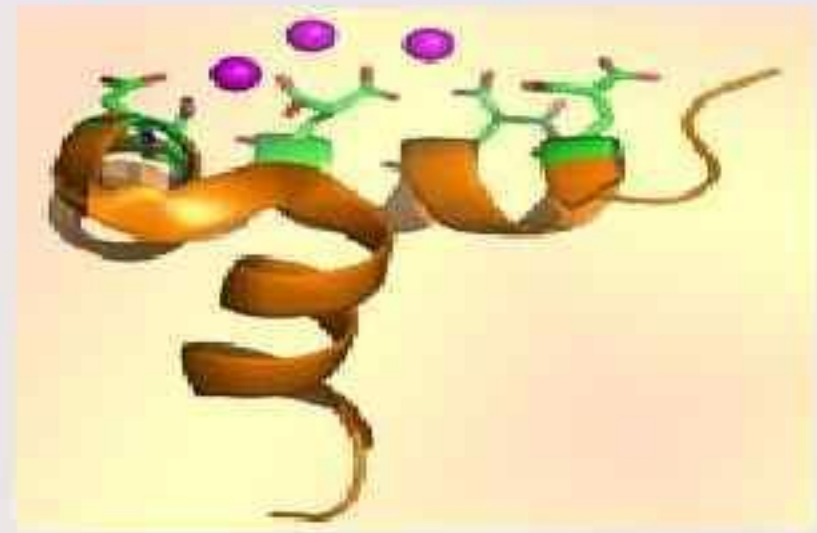
Секреторные белки остеобластов	Функции
Фибронектин, остеопонтин	Адгезивные белки
Остеонектин, сиалопротеин кости	Ca <sup>2+</sup> - связывающие белки
Остеокальцин	Участвует в минерализации
Ферменты - кислая и щелочная фосфатаза, коллагеназа	Дефосфорилирование белков Протеолиз коллагена
Факторы роста – инсулиноподоб- ный и трансформирующий. Цитокины: интерлейкины - 1 и 6 (IL-1, IL-6)	Регуляторные белки и факторы роста



# Остеокальцин – представитель Gla-белков

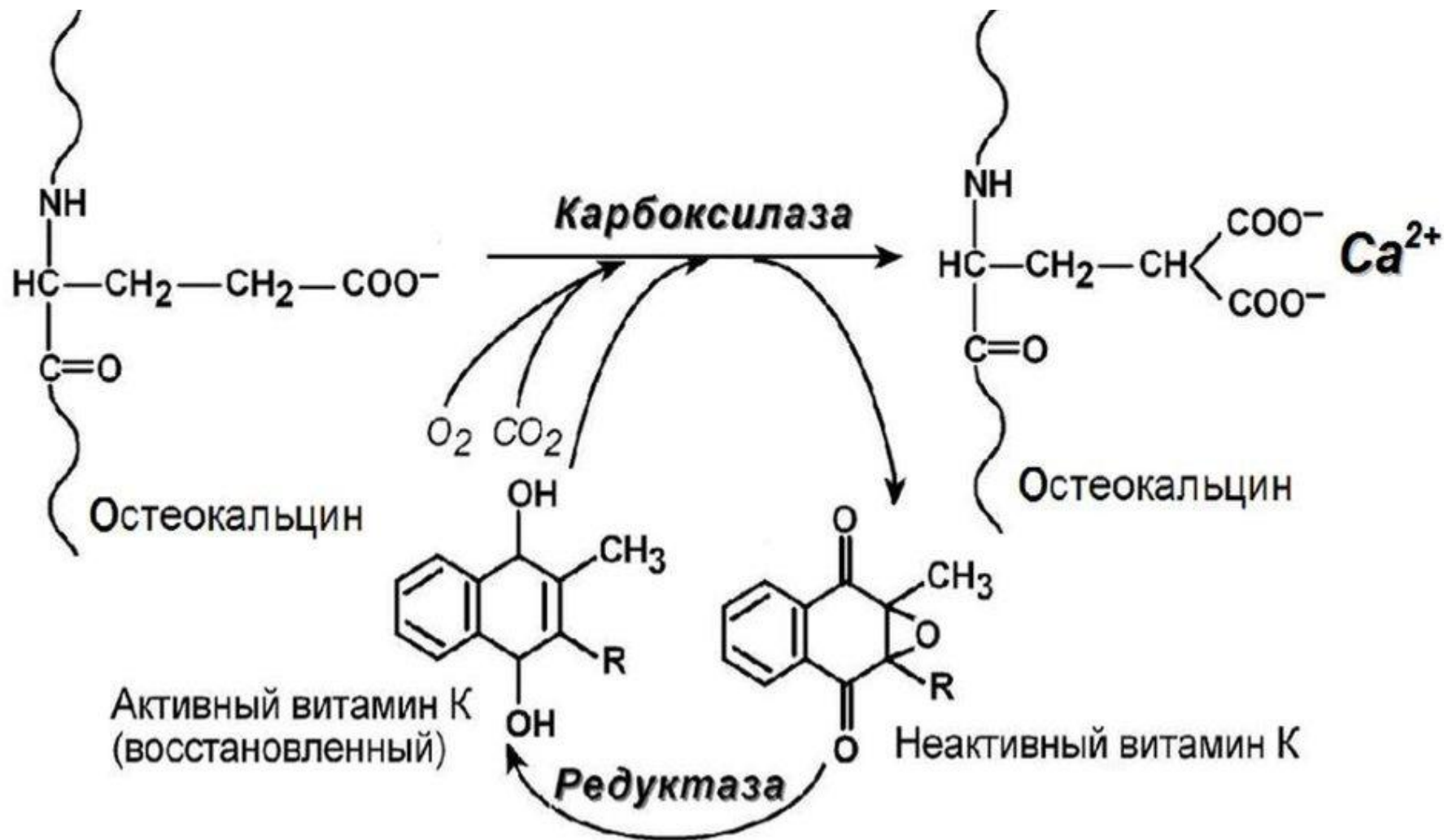
- Занимает второе место по содержанию в минерализованных тканях, низкомолекулярный белок, состоящий из 49 аминокислотных остатков, три из которых  **$\gamma$ -карбоксиглутаминовая кислота ( $\gamma$ -Глу или Gla).**
- Остеокальцин предотвращает слишком быструю и избыточную минерализацию костной ткани, связывая ион  $\text{Ca}^{2+}$  кальция (уменьшается связывание кальция с остеоонектином и замедляется образование центров кристаллизации).

- На рисунке показана структура остеокальцина. Ионы кальция показаны в виде фиолетовых сфер.

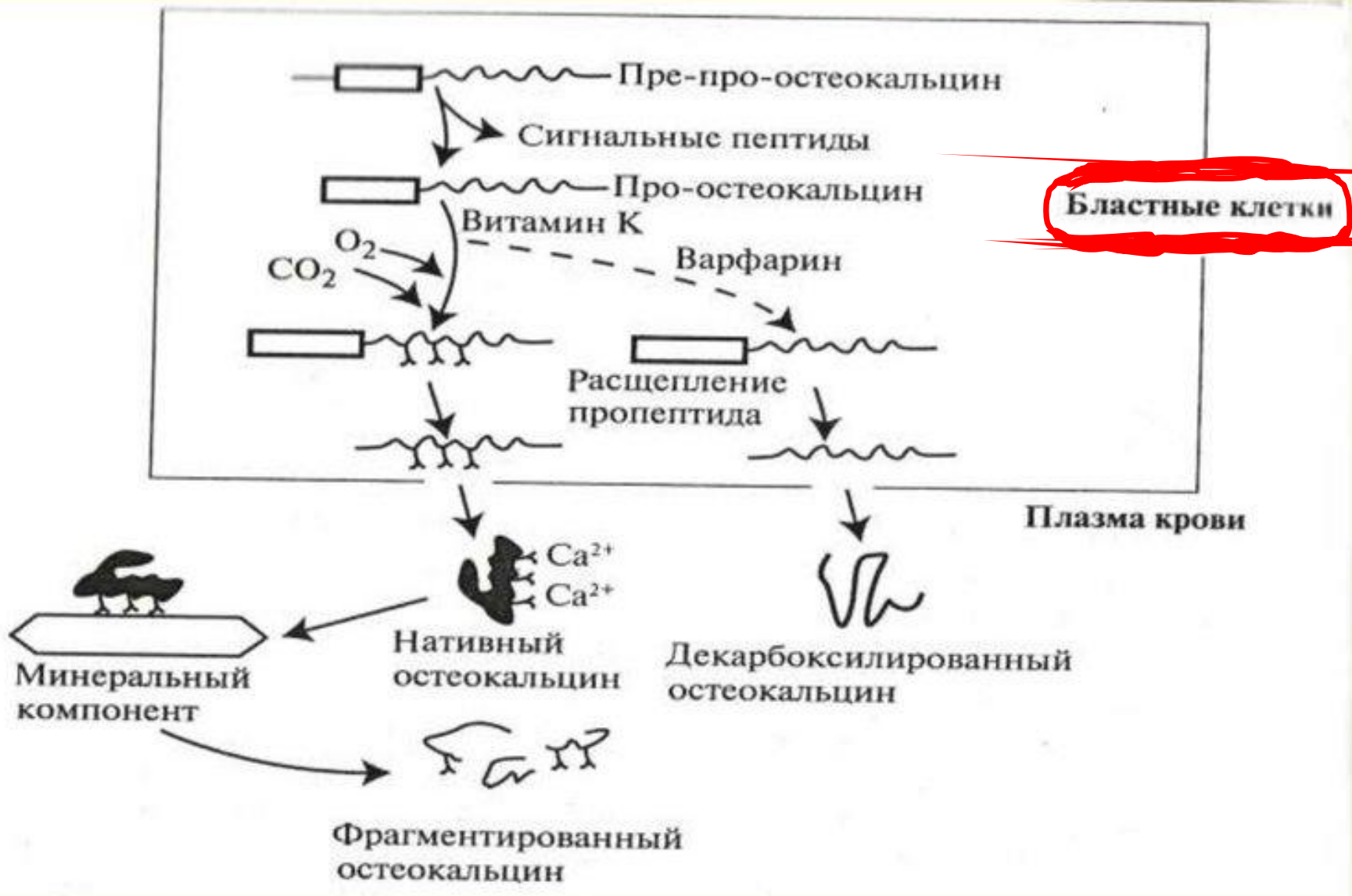


- Остеокальцин составляет 25 % неколлагенового матрикса.

# Роль витамина К в $\gamma$ -карбоксилировании ГЛУ в белках



# Образование остеокальцина



Более 90% синтезируемого остеобластами остеокальцина у молодых и около 70% у взрослых людей включается в костный матрикс, а остальная часть попадает в кровоток. Эта доля ОК может меняться в зависимости от характера метаболических нарушений в кости. Выводится ОК из кровотока почками (посредством клубочковой фильтрации и деградациии в почечных канальцах), поэтому его уровень в крови зависит от функционального состояния почек. Уровень ОК в крови подвержен большим суточным колебаниям.

- **Остеокальцин – маркёр образования кости**

Остеокальцин является витамин К зависимым белком. Кроме того, прямое влияние на его синтез оказывают кальцийрегулирующие гормоны - кальцитонин, паратиреоидный гормон, витамин Д, а также другие регуляторные факторы, изменяющие активность остеобластов.

# Остеокальцин и остеокласты

- Связывая кальций, остеокальцин снижает концентрацию ионов  $\text{Ca}^{2+}$  во внеклеточном матриксе и уменьшает их присоединение к остеоонектину.
- В итоге происходит ограничение избыточной минерализации кости, так как замедляется формирование центров кристаллизации.
- Взаимодействие с  $\text{Ca}^{2+}$  изменяет конформацию остеокальцина, и белок приобретает способность связываться с мембранами остеокластов.
- **Остеокальцин является фактором хемотаксиса для остеокластов.**
- На старте резорбции кости эти клетки достигают молекул остеокальцина, переходят в активную форму и начинают вырабатывать ферменты резорбции.



# Остеонектин - кальций связывающий белок

- Гликопротеин кости и дентина, содержит много аминокислотных остатков глутамата и аспартата и около 12 участков связывания кальция.
- Соединяется с коллагеном I типа и может связываться с гидроксиапатитами.
- Участки связывания гидроксиапатитов на молекуле остеонектина могут играть роль центров кристаллизации.
- Остеонектин способствуют кальцификации, регулирует рост кристаллов гидроксиапатитов и отражает степень дифференцировки костных клеток.

# **Остеонектин – кальций связывающий белок**

- **Взаимодействие остеоネクтина с лигандами регулируют ионы Ca: их присоединение изменяет заряд, конформацию белка и повышает его сродство к коллагену и гидроксиапатиту**
- **Другое название остеоネクтина – SPARC (Secreted Protein Acidic and Rich in Cysteine – кислый секреторный протеин, богатый цистеином), не содержит Gla (γ-карбокси-ГЛУ). Широко распространён, напоминает белки свёртывания крови. Возможно, синтезируется в любой растущей ткани.**
- **Локальная продукция этого белка доказана при злокачественном опухолевом росте.**

# Костный сиалопротейн – Са-связывающий белок

- Молекулярная масса 59 кДа, найден только в костях.
- Тормозит синтез активная форма витамина D, стимулирует – гормональный препарат дексаметазон.
- Содержит много сиаловых кислот (обладает свойством избирательно связывать стафилококк).
- Имеет трипептид АРГ-ГЛИ-АСП для связи с интегринами рецепторами клеток. Сиалопротейн связывается с клетками через специальный рецептор, содержащий последовательность 10 ГЛУ (связывание Са).
- У сиалопротейна фосфорилирована ~ половина СЕР → фосфопротейн, тесно связан с ГАП.
- Функции не до конца ясны. Включается в анаболическую фазу образования кости.

# Остеопонтин – Са-связывающий белок

- **Остеопонтин** (молекулярная масса 32,6 кДа) – анионный белок матрикса кости, по свойствам схож с костным сиалопротеином, но имеет меньше углеводов. Фосфорилирован по СЕР, содержит отрицательно заряженные АСП, трипептид АРГ-ГЛИ-АСП для специфического связывания с интегринами клеток.
- **Синтез стимулируется** витамином D в отличие от костного сиалопротеина.
- Фиксирует **остеобласты** в участках физиологического и репаративного образования кости. Найден в светлой зоне **остеокластов**, связанной с минеральным компонентом → участвует в привлечении предшественников остеокластов и связывании их с минеральной фазой.
- Найден в дистальных канальцах почек, плаценте, ЦНС.

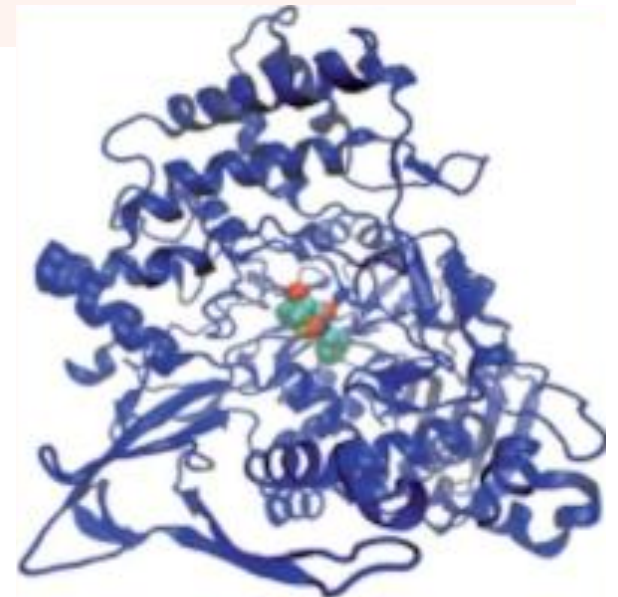
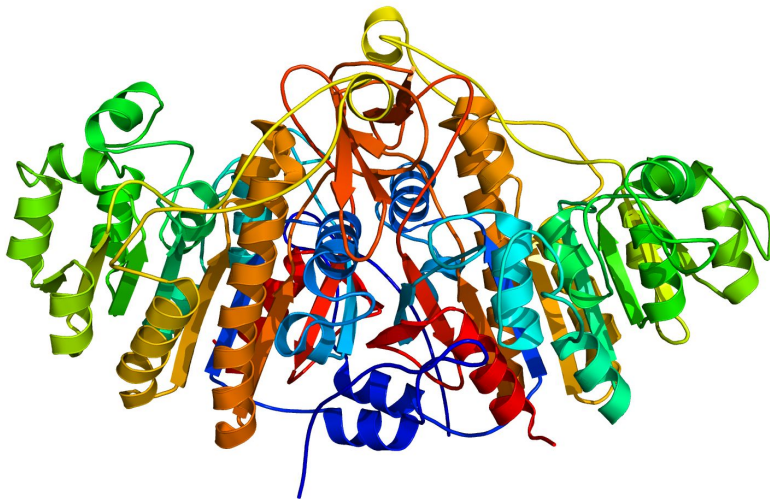
# Тромбоспондин

- Крупный (450 кДа) гликопротеин внеклеточного матрикса, тример из одинаковых субъединиц, содержит RGD-сайт для связи с интегриновыми рецепторами клетки.
- Синтезируется и секретируется различными тканями (фибробласты, гладкомышечные клетки, эндотелий).
- Мультифункционален, способствует адгезии остеобластов к понадкостничному остеоиду, связывается с другими белками кости, усиливает адгезию и агрегацию тромбоцитов

# Ферменты костной ткани

- Структурно-функциональное состояние костной ткани поддерживается ферментами:

щелочной фосфатазой, дегидрогеназами, кислой фосфатазой, аминопептидазой, аденилатциклазой, пируваткиназой, фосфотрансферазой, цитохромоксидазой, каталазой.



# Ферменты кости

```
graph TD; A[Ферменты кости] --> B[Неспецифические]; A --> C[Специфические, Маркерные]; A --> D[Лизосомальные];
```

## Неспецифические

(ферменты гликолиза, ЦТК, трансаминазы И т. д.)

## Специфические,

### Маркерные

(щелочная фосфатаза)

## Лизосомальные

(кислые гидролазы остеокластов)

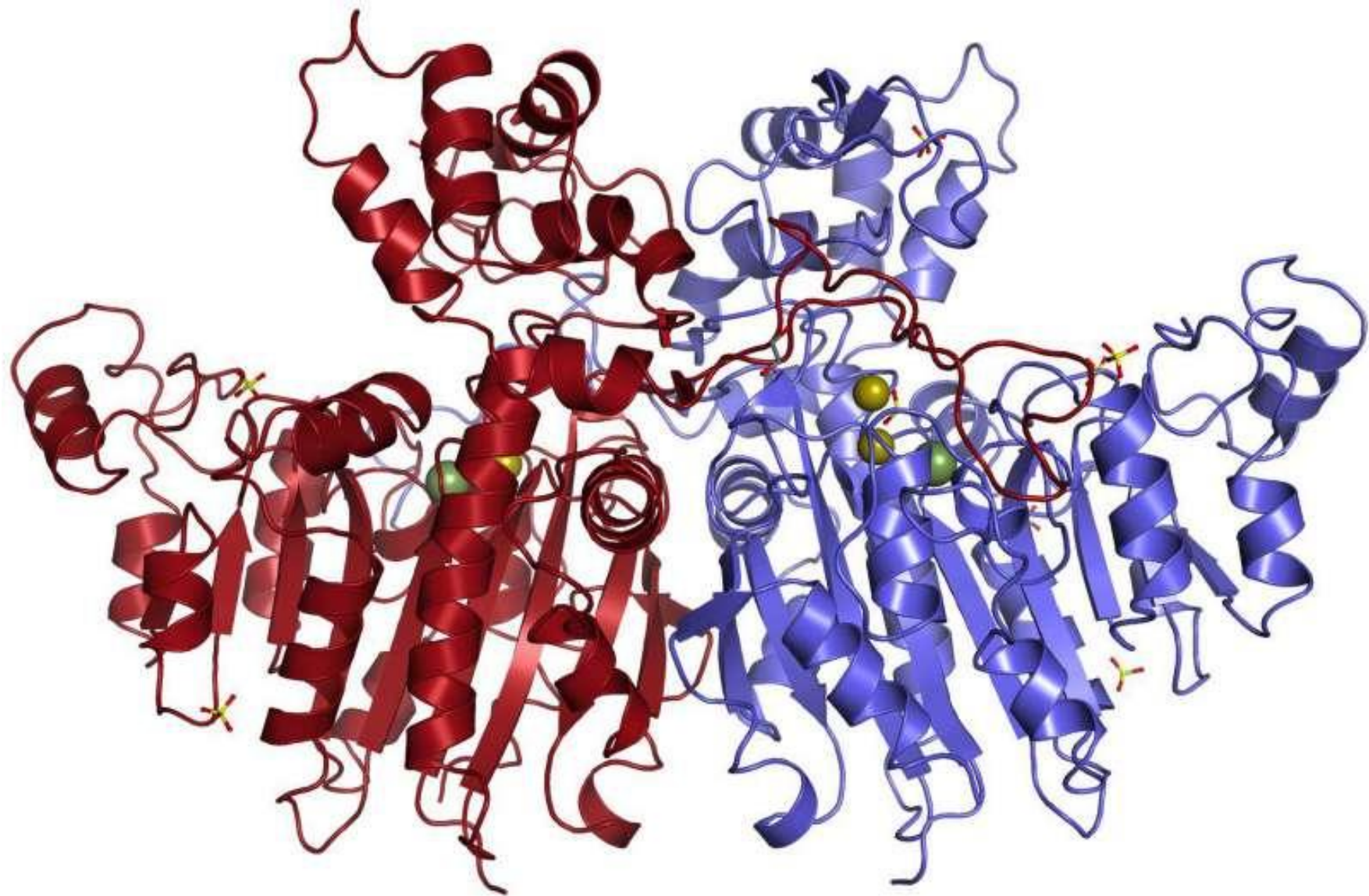
# Биохимические маркеры резорбции и образования кости

**Щёлочная фосфатаза (ЩФ)** - фермент, участвующий в реакциях обмена фосфорной кислоты, с оптимумом рН 8,6 - 10,1.

Катализирует гидролиз сложных эфиров фосфорной кислоты и органических соединений. Самая высокая концентрация ЩФ обнаруживается в костной ткани (остеобластах), гепатоцитах, клетках почечных канальцев, слизистой кишечника и плаценте.

ЩФ участвует в процессах, связанных с ростом костей, поэтому активность её в сыворотке детей выше, чем у взрослых. Патологическое повышение активности ЩФ в сыворотке связано, в основном, с заболеваниями костей (формированием костной ткани) и печени (обструкцией желчных протоков). У недоношенных, детей в период активного роста, беременных (третий триместр) может наблюдаться повышенная физиологическая активность ЩФ.





# Маркеры синтеза/резорбции кости

Образование	Резорбция
<p><b>сыворотка:</b> остеокальцин, общая и специфическая костная щелочная фосфатаза, С- и N- пропептиды коллагена I типа</p>	<p><b>плазма:</b> тартрат-резистентная кислая фосфатаза, продукты деградации коллагена I типа (пиридинолин и дезоксипиридинолин, N- и C-телопептиды);</p> <p><b>моча:</b> кальций, продукты деградации коллагена I типа (N- и C-телопептиды, пиридинолин и дезоксипиридинолин, гидроксипролин натошак и гликозиды гидроксилизина)</p>

# Костные маркёры – индикаторы метаболизма высвобождаются из клеток или матрикса кости

## Синтез

## Резорбция



## Моделирование.

Процесс построения кости идёт преимущественно на основе хряща.

Также известен, например, интрамембранный остеогенез.

## Ремоделирование.

Процесс перестройки кости идёт

всю жизнь.. В детском и юношеском возрасте новообразование кости происходит значительно интенсивнее, чем ее резорбция. У взрослых обновление ткани резко замедляется и в пожилом возрасте может составлять всего лишь от 2 до 5% костной массы в год. При этом развивается некоторое преобладание резорбции над выработкой новой ткани.

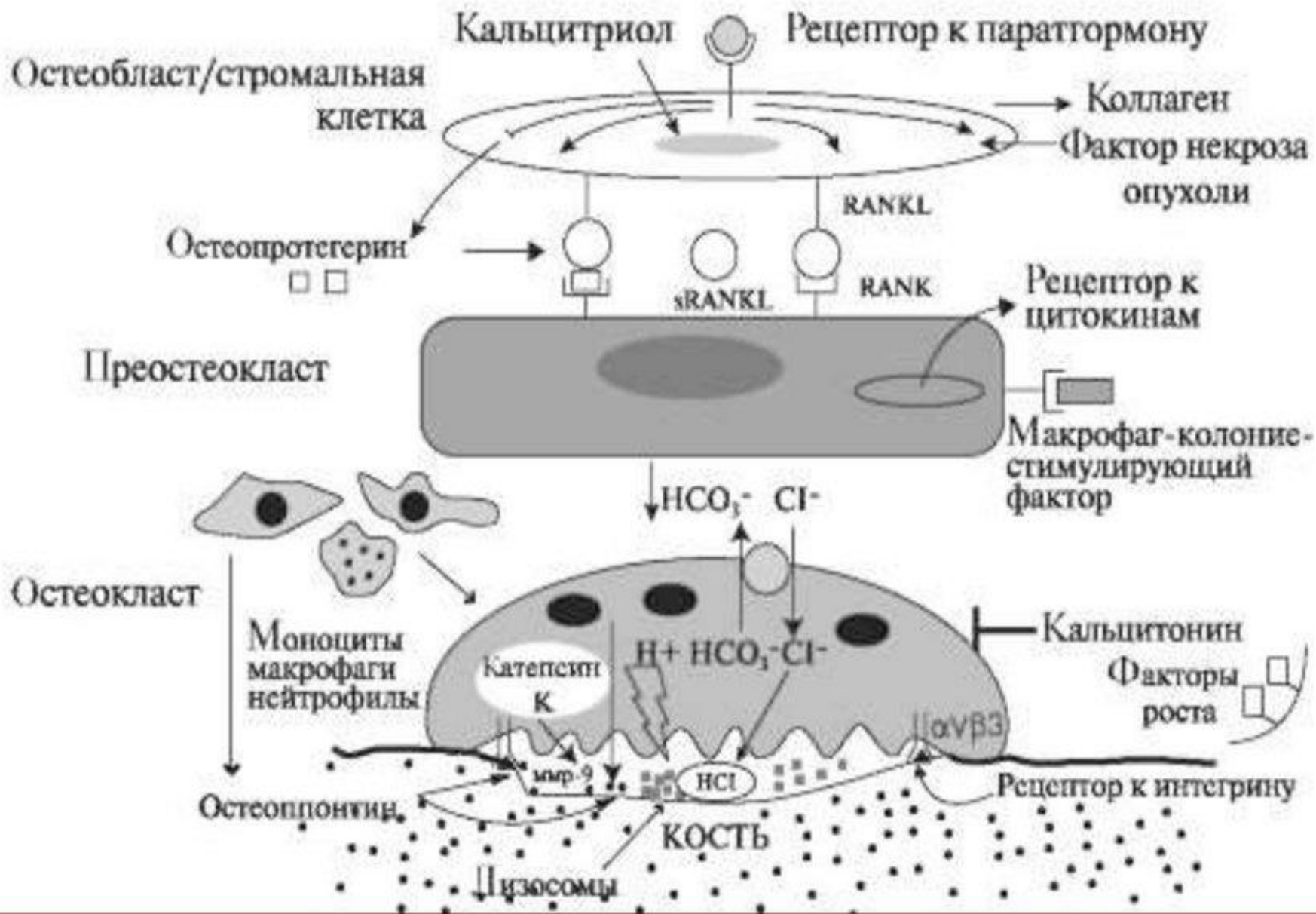
# Резорбция костной ткани

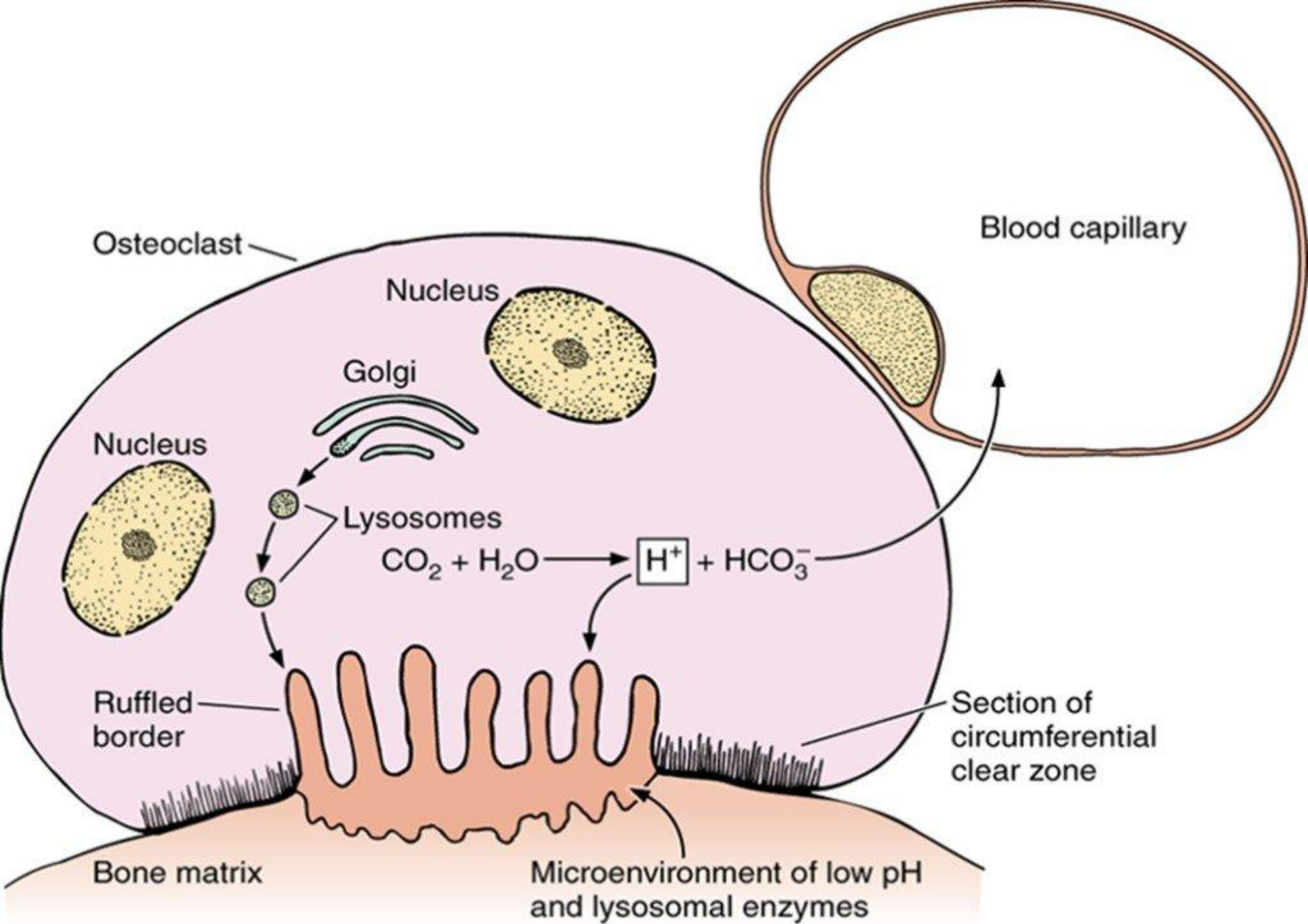
- Пусковой фактор резорбции – снижение оксигенации ткани → на стволовые клетки костного мозга → в предшественники остеокластов → в многоядерные зрелые остеокласты.
- В остеокластах активируются анаэробные процессы → накапливаются лактат и  $H^+$  → снижение pH ведёт к росту проницаемости мембран лизосом → высвобождению гидролаз (коллагеназы, гликозидазы, сульфатазы и др.).  $H^+$  и ферменты выделяются в окружающий матрикс.
- Активируется ММП-9, которая участвует в разрушении коллагена и протеогликанов межклеточного матрикса. Местное закисление ведёт к распаду связи кристаллов ГАП с белками матрикса и разрушению апатитов.
- В деструкции костной ткани участвует простагландин  $E_2$  (повышает экспрессию мРНК RANKL).

# Роль OPG и RANKL

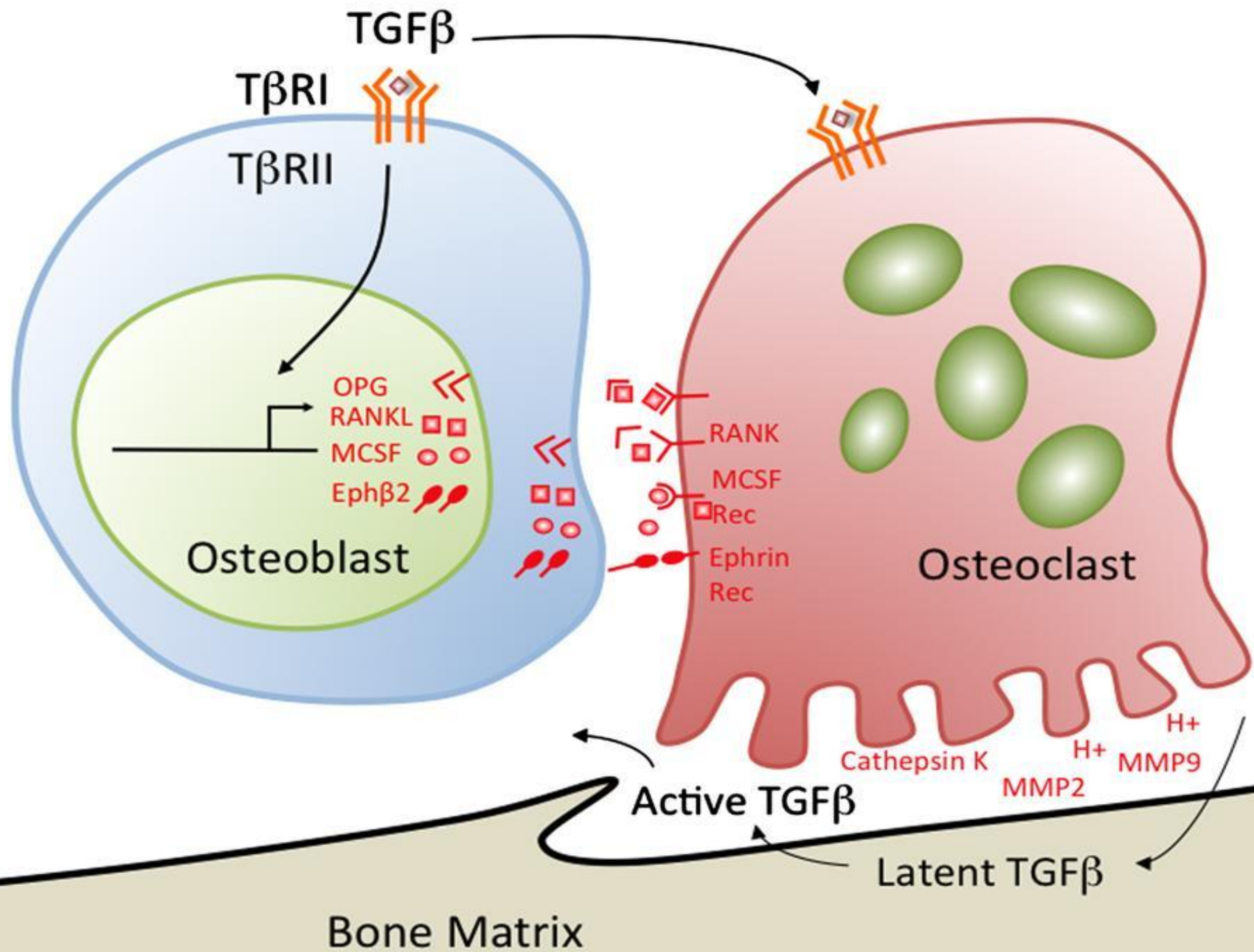
- Osteoblastы определяют развитие, дифференцировку, функционирование остеокластов и продуцируют фактор дифференцировки остеокластов – **RANKL** (лиганд рецептора активатора ядерного фактора κB).
- Предшественники остеокластов в ходе межклеточного взаимодействия с остеобластами узнают фактор RANKL и воспринимают его как сигнал к началу дифференцировки в остеокласты. Рост экспрессии RANKL приводит к резорбции костной ткани и ингибированию апоптоза остеокластов.
- Остеопротегерин (**OPG**) - растворимый гликопротеин из семейства рецепторов факторов некроза опухоли, секретируется клетками стромы, включая остеобласты. Это ключевой ингибитор дифференцировки остеокластов (подавляет конечную стадию процесса), индуцирует их апоптоз. OPG является «ловушкой» рецепторов – он конкурентно ингибирует связывание RANKL с рецептором RANK, чем ингибирует мобилизацию, пролиферацию, активацию остеокластов. OPG повышает массу кости, снижает гиперкальциемию, предупреждает кальцификацию больших артерий.
- Система **RANKL/RANK/OPG** занимает центральное место в регуляции резорбтивной активности остеокластов.

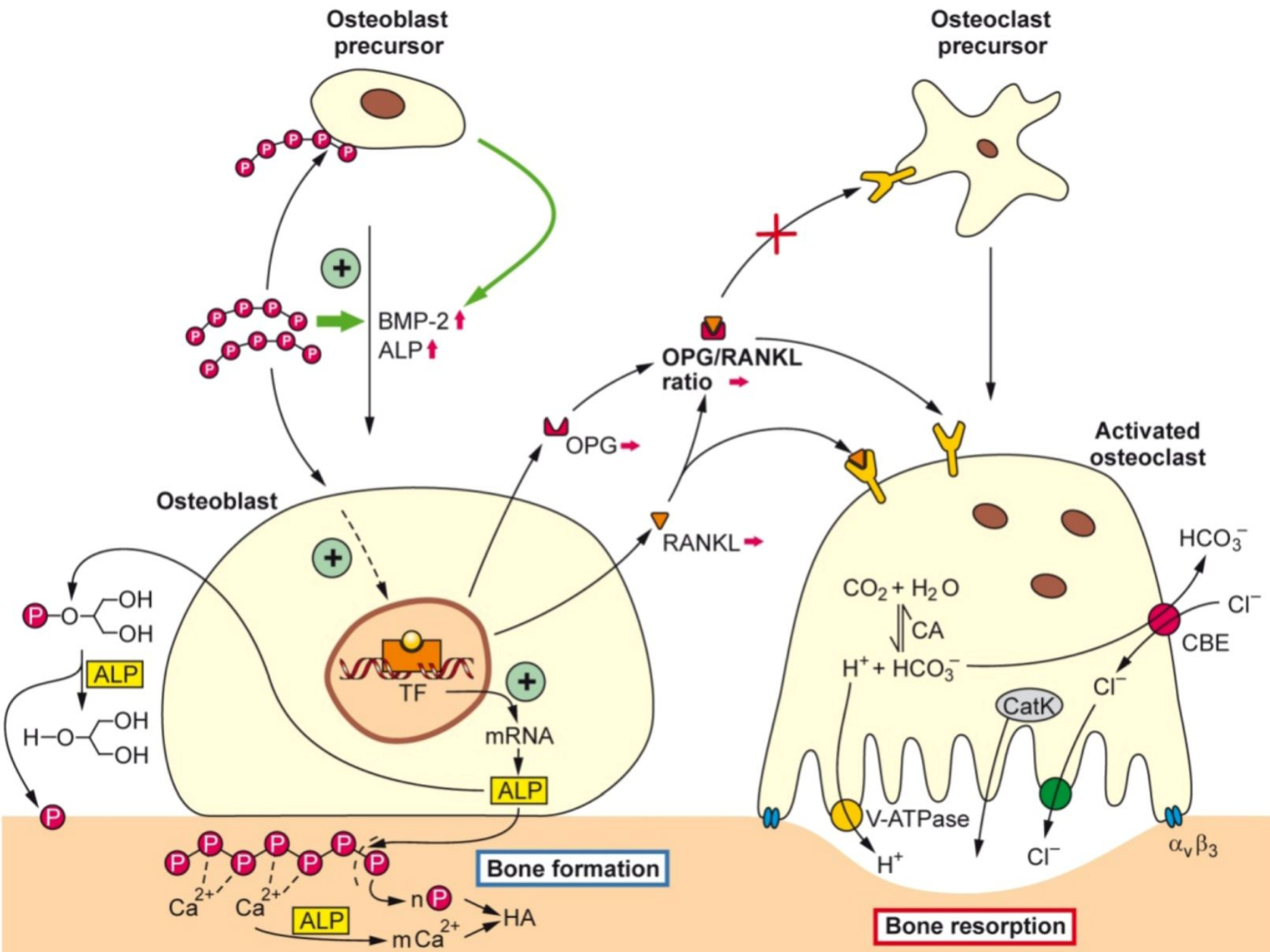
# Активация преостеокласта с помощью RANKL и формирование гофрированной каймы ведёт к резорбции кости











# Остеопротегерин / RANKL (лиганд рецептора активатора ядерного фактора κВ)

- Действие остеопротегерина (OPG) приводит к :
  - торможению остеокластогенеза,
  - прекращению активации остеокластов,
  - усилению апоптоза остеокластов
- ИТОГ: снижение резорбции кости, возобновление остеогенеза.

Соотношение OPG /RANKL является мощным стимулятором ремоделирования кости, баланс между их продукцией во многом определяет характер ремоделирования.

# Возобновление остеогенеза

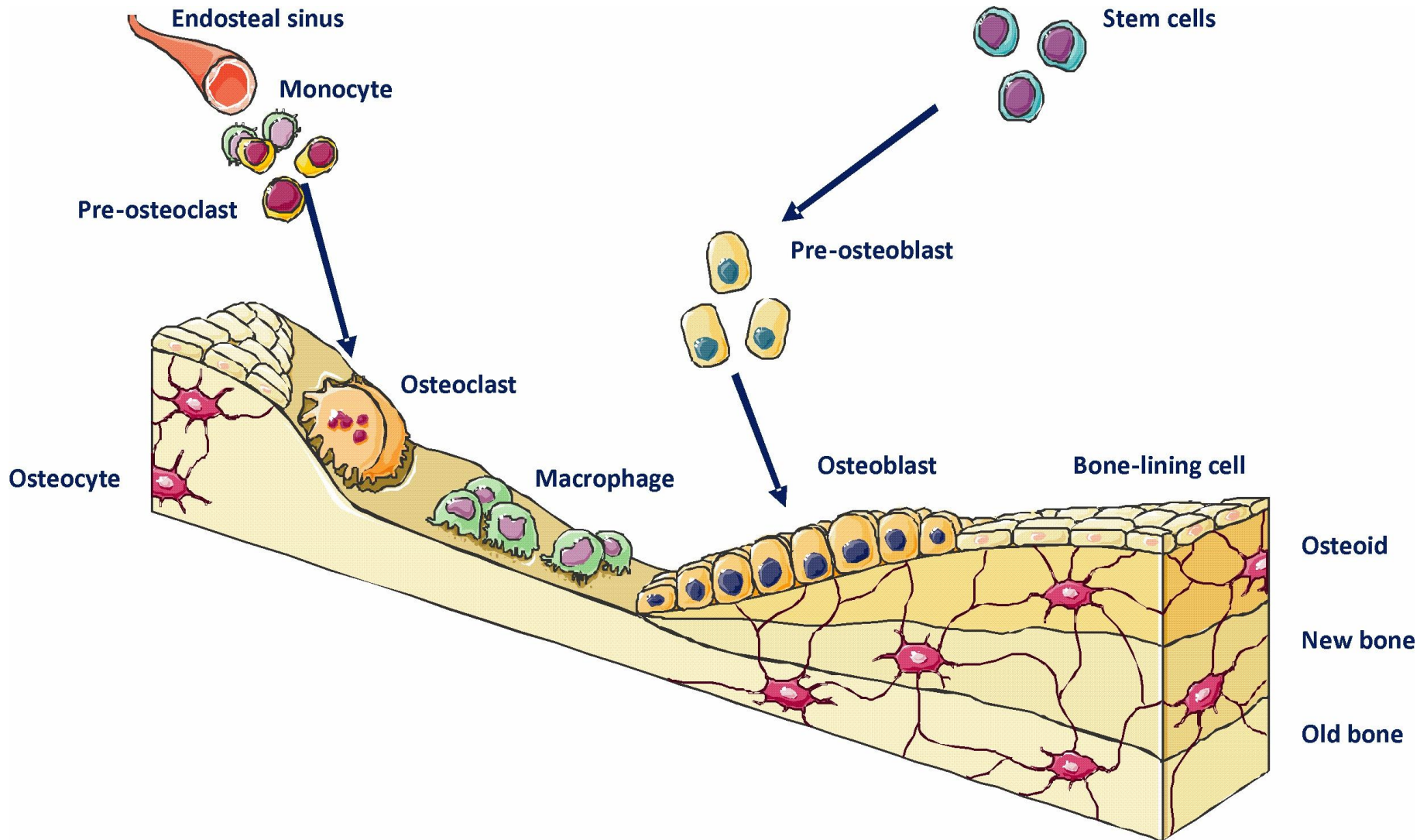
- Продукты распада белков и ГАП матрикса поступают в кровь, усиливается снабжение остеобластов кальцием, фосфатами, идёт восстановление органического и минерального состава остеонов кости.

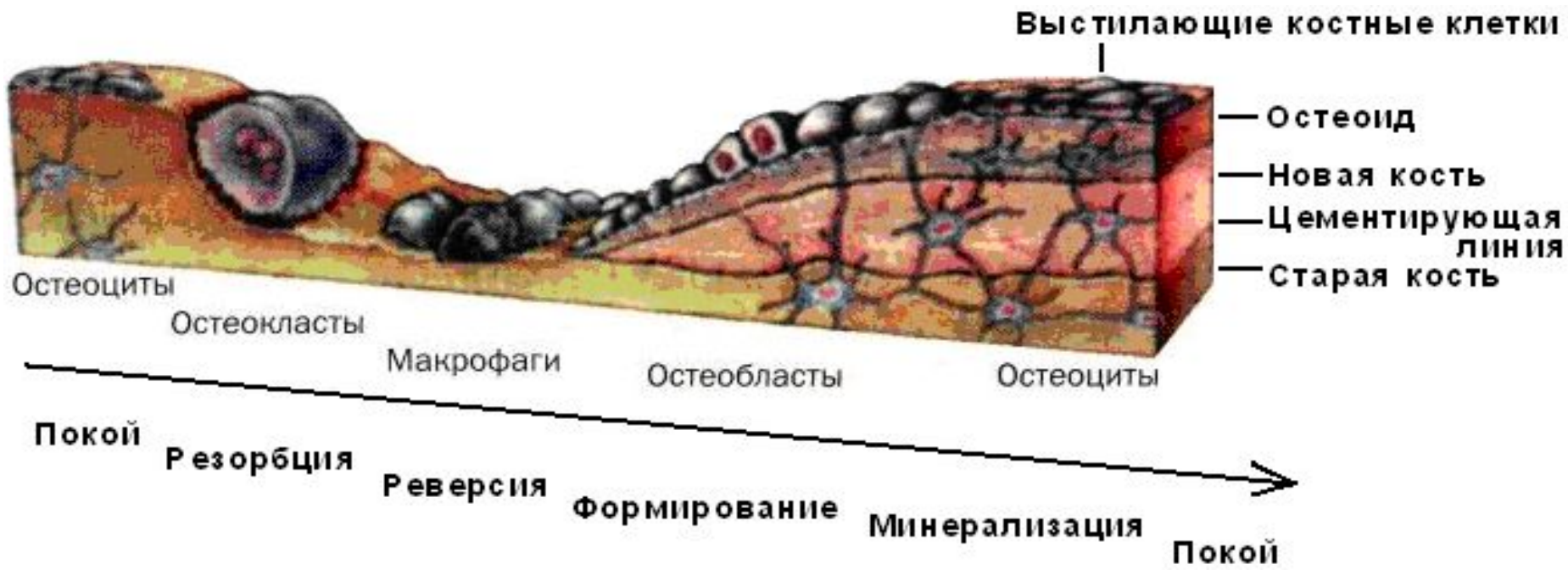


# Стадии ремоделирования



# Стадии ремоделирования





Факторы	Резорбция	Остеогенез
Системные	Паратирин 1,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> Тироксин и кортизол (повышенная концентрация)	Соматотропин Кальцитонин 24,25(OH) <sub>2</sub> D <sub>3</sub> Тироксин и кортизол (физиологическая концентрация) Инсулин Эстрогены Андрогены
Локальные	Интерлейкины Интегрины, витамин А (повышенная концентрация)	γ-Интерферон Остеопротегерин Лактоферрин Паротин

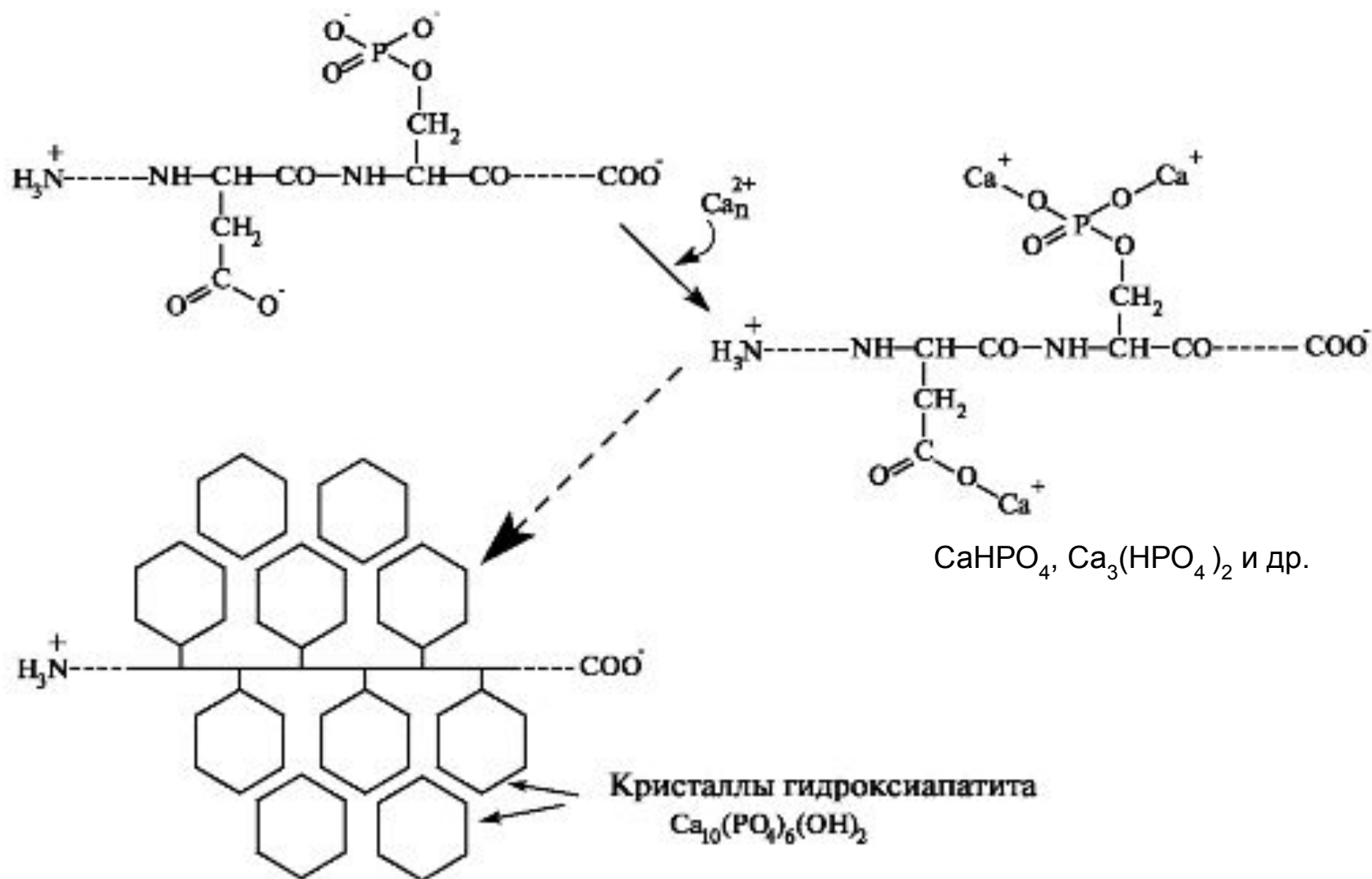
**Регуляция  
ремодели-  
рования  
кости**

# Минерализация матрикса кости

- Особенностью неколлагеновых белков является наличие остатков **фосфосерина, глутамата и аспартата**, которые способны связывать  $\text{Ca}^{2+}$  и таким образом участвовать в образовании кристаллов гидроксиапатита.
- Присутствие углеводов и последовательности аминокислотных остатков **арг-гли-асп** в первичной структуре белков обеспечивает их связывание с клетками, коллагенами и протеогликанами.



# Появление аморфной фазы (первичные кристаллы) и формирование кристаллов ГАП



# Минерализация матрикса кости

а) Многие белки, имеющие фосфатные группы, сульфатные группы, свободные карбоксильные или аминогруппы могут выполнять роль центров нуклеации для дальнейшего образования кристаллов гидроксиапатита.

б) Доказано непосредственное участие следующих белков в минерализации кости

- коллаген,
- остеонектин,
- остеокальцин,
- gla-белки,

**1 этап – накопление минералов** (фосфаты, Са)

**2 этап – нуклеация:**

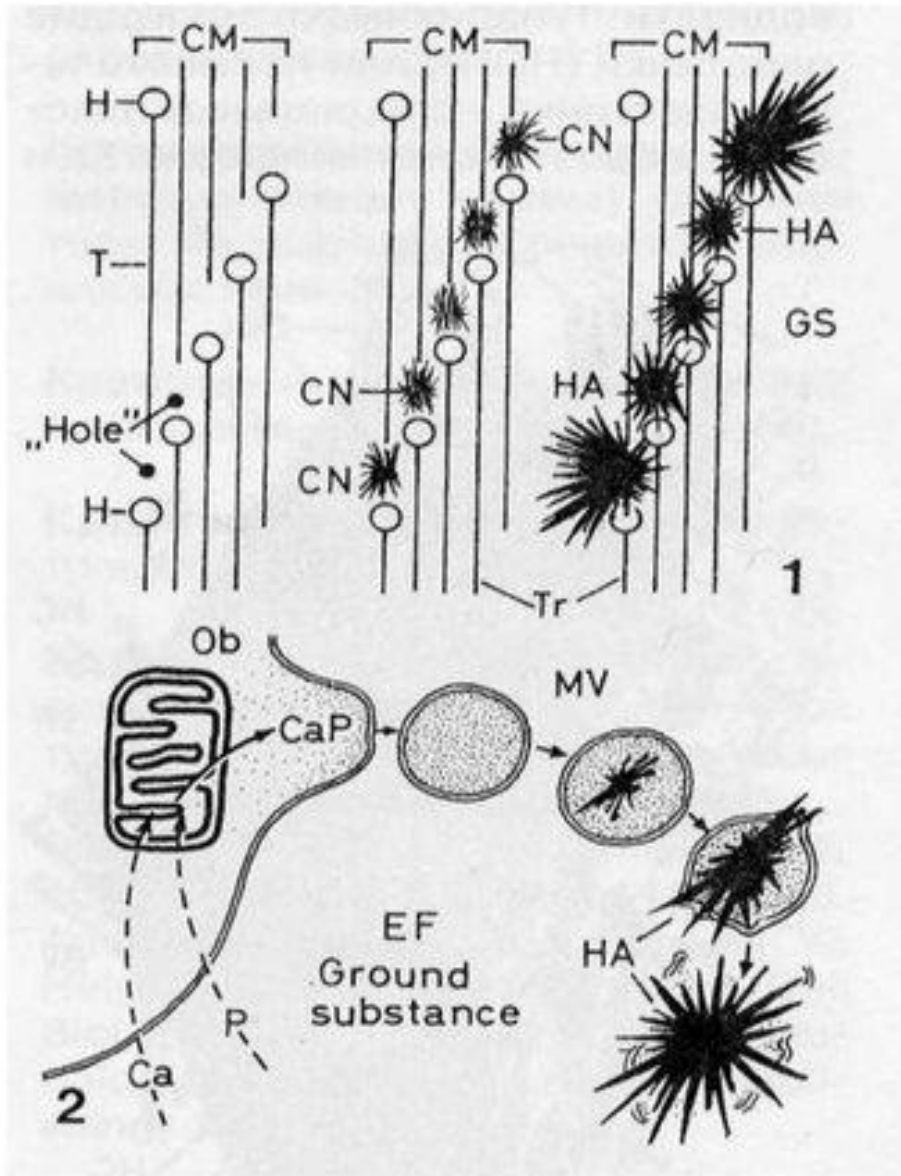
- а) гомогенная (2 фазы Са/фосфат → частицы с  $R_{\text{крит}}$ ) или
- б) гетерогенная (кроме Са и фосфатов нужны еще и Са-связывающие белки, как 3 фаза, инициирующая процесс)

**3 этап – рост кристаллов** по направлению волокон коллагена (механизм – «эпитаксис») и созревание апатитов

## При минерализации матрикса кости взаимодействуют три фактора:

- 1). Местное повышение концентрации ионов фосфата (щёлочная фосфатаза).
- 2). Адсорбция ионов  $\text{Ca}^{2+}$  (белки, цитрат и др.).
- 3). Сдвиг pH (фосфатазы, цитрат и др.), при  $\uparrow$ pH фосфаты кальция быстрее откладываются в костной ткани.

# Минерализация коллагеновых волокон костной ткани: прямая и непрямая



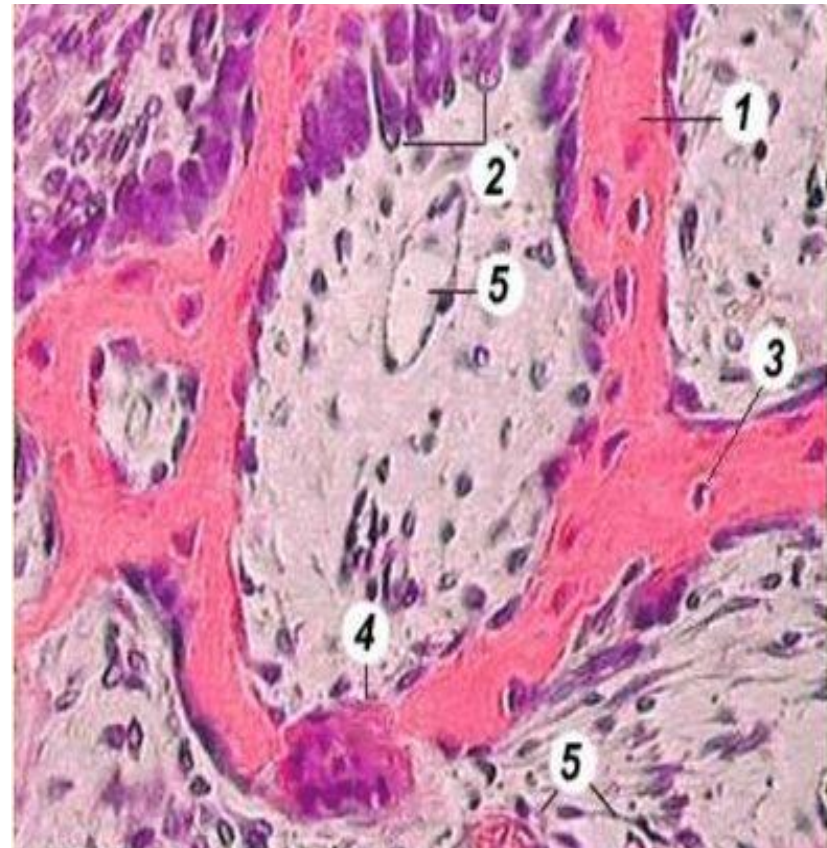
1. осаждение кристаллов ГАП прямо в коллагеновых фибриллах в промежутках между «хвостами» и «головками» тропоколлагена, инициируют процесс белковые центры кристаллизации (гетерогенная нуклеация)
2. образование «нуклеарных матриксных пузырьков» с фосфатазой и появлением первых кристаллов ГАП путём гомогенной нуклеации (начинается в митохондриях остеобластов, притоку Ca служат кальцевые каналы, далее возникают везикулы путём отпочкования специфических участков плазмалеммы, задержку и накопление Ca в везикулах ведут Ca-связывающие белки)

# Минерализация матрикса кости

межклеточное вещество пропитывается солями кальция  
(кальцификация)

- А). В межклеточном веществе появляются матриксные пузырьки (похожи на лизосомы). Они аккумулируют  $Ca$ , накапливают неорганические фосфаты.
- Б). При разрыве пузырьков на волокнах коллагена и в аморфном веществе откладываются кристаллы ГАП (минерализация).
- В итоге образуются костные балки-трабекулы. Это минерализованные участки ткани, содержащие 3 типа клеток: в глубине – остеоциты, поверхностно – остеобласты и остеокласты.

- остеон

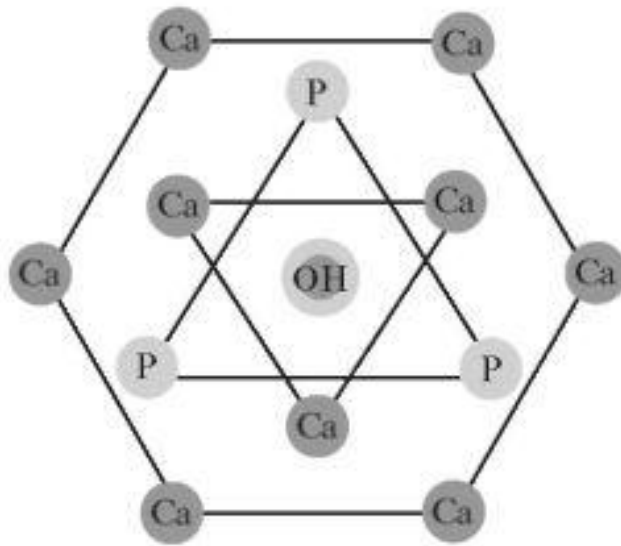


# Функции минеральной фазы

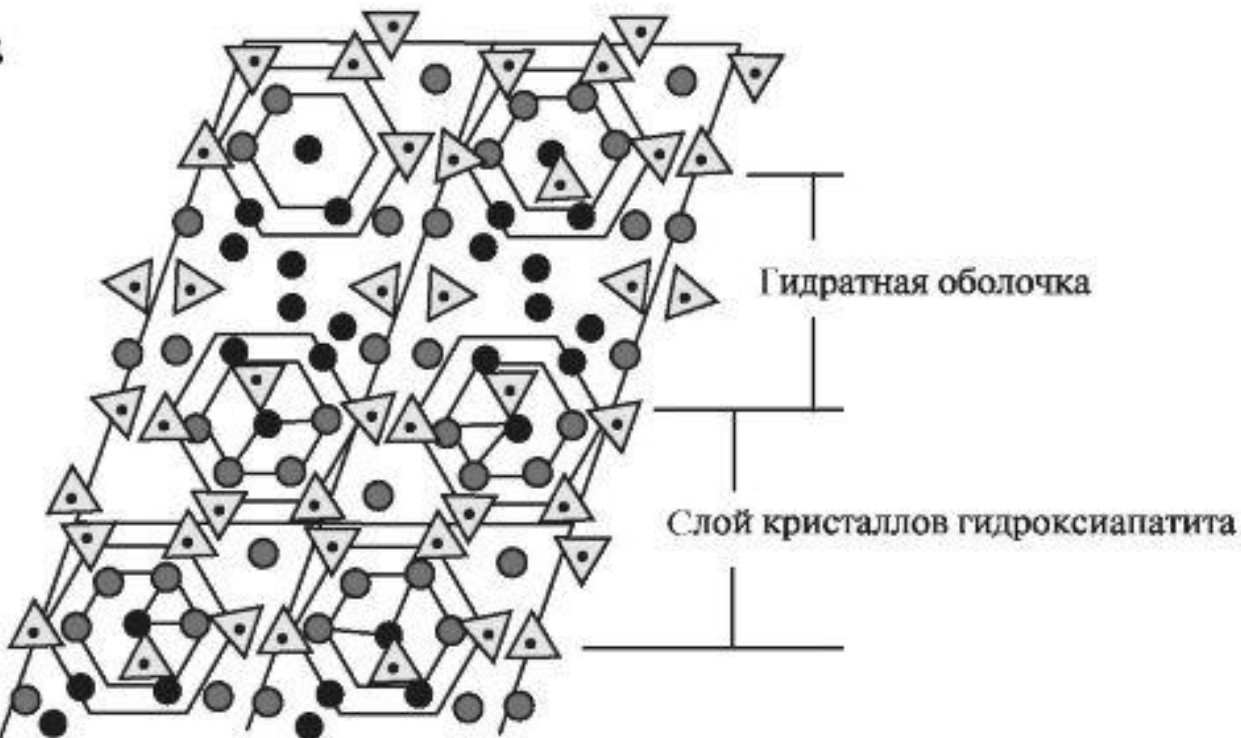
## Минеральные компоненты:

- составляют остов кости,
- придают форму и твёрдость кости,
- придают прочность защитным костным каркасам для органов и тканей,
- представляют собой депо минеральных веществ организма.

# Схема кристалла ГАП

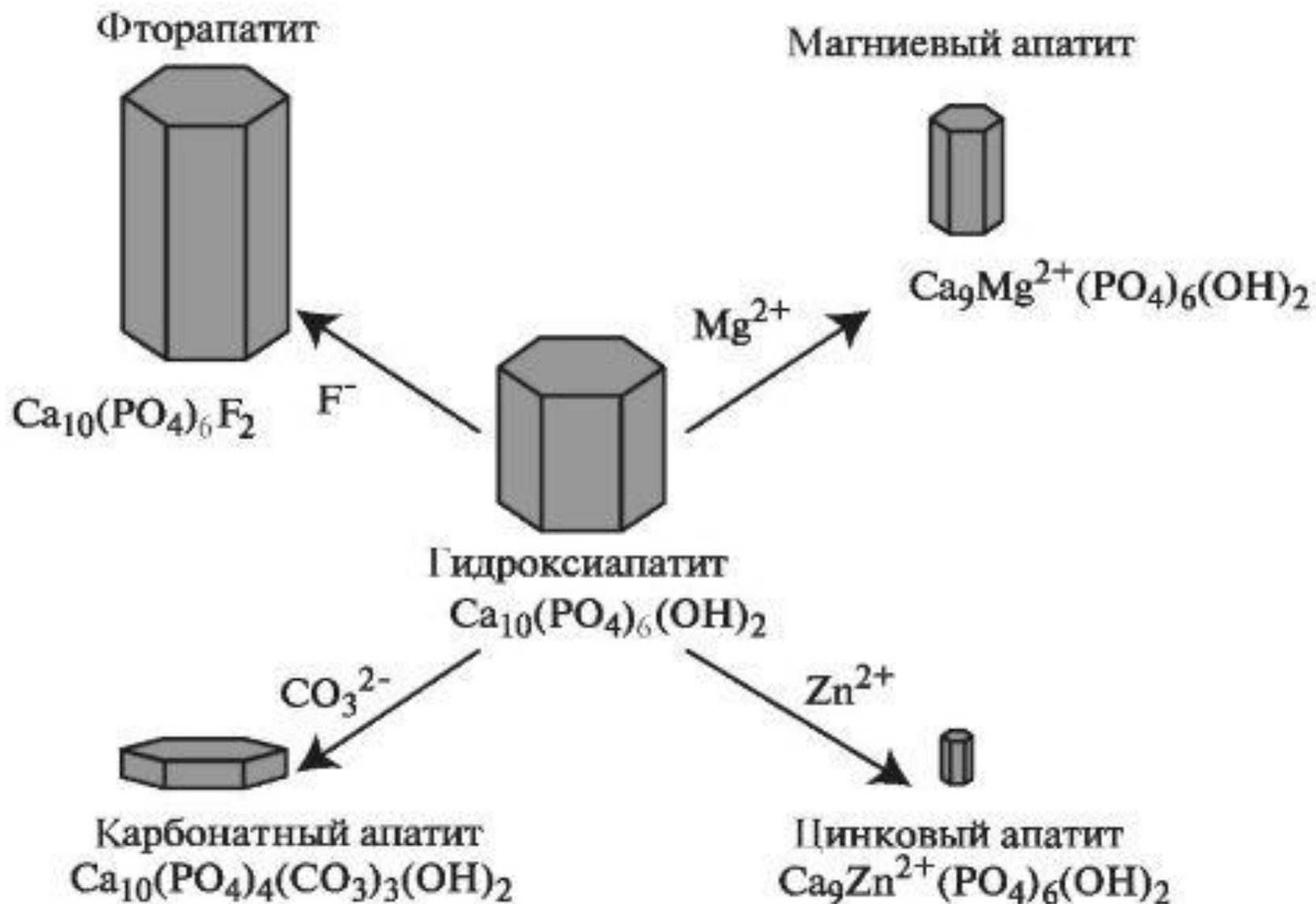


Гидратная оболочка ГАП минеральной фазы



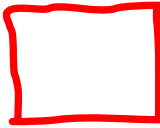
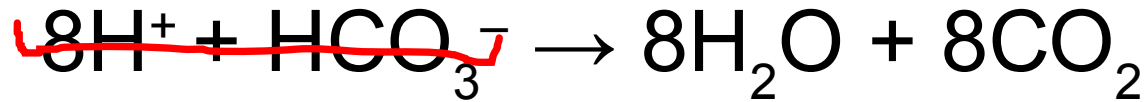
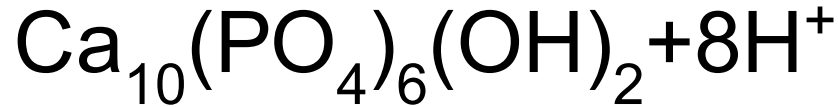
- Кальций
- Фосфор
- △ Фосфат
- Кислород молекулы воды

# Размеры кристаллов различных апатитов



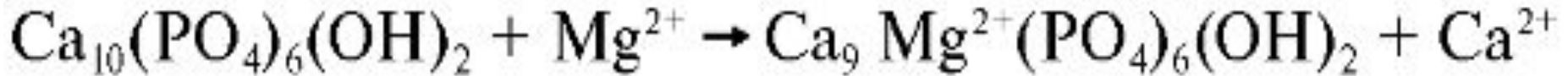


# Образование ГАП

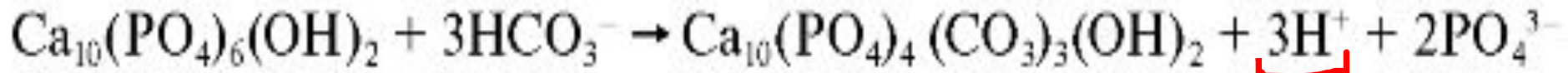


через стадию октокальцийфосфата -  $\text{Ca}_8\text{H}_2(\text{PO}_4)_6 \cdot (\text{H}_2\text{O})_5$

## В кости магниевого апатиты



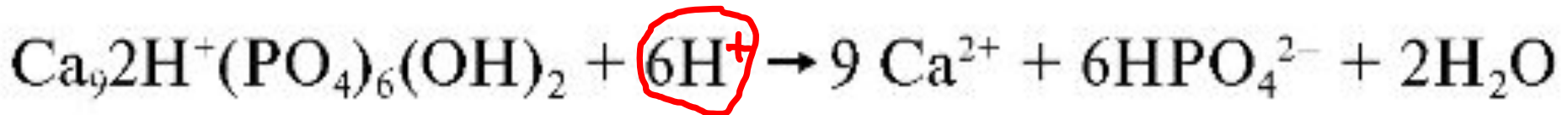
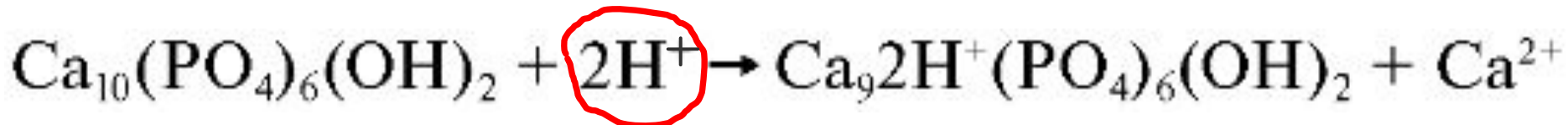
## и карбонатные апатиты



**разрыхляют** структуру минеральной фазы, делают кость более пластичной, функциональной

# Ослабление (-10% Ca) и разрушение кристаллов ГАП в кислой среде:

1. декальцинация
2. деминерализация

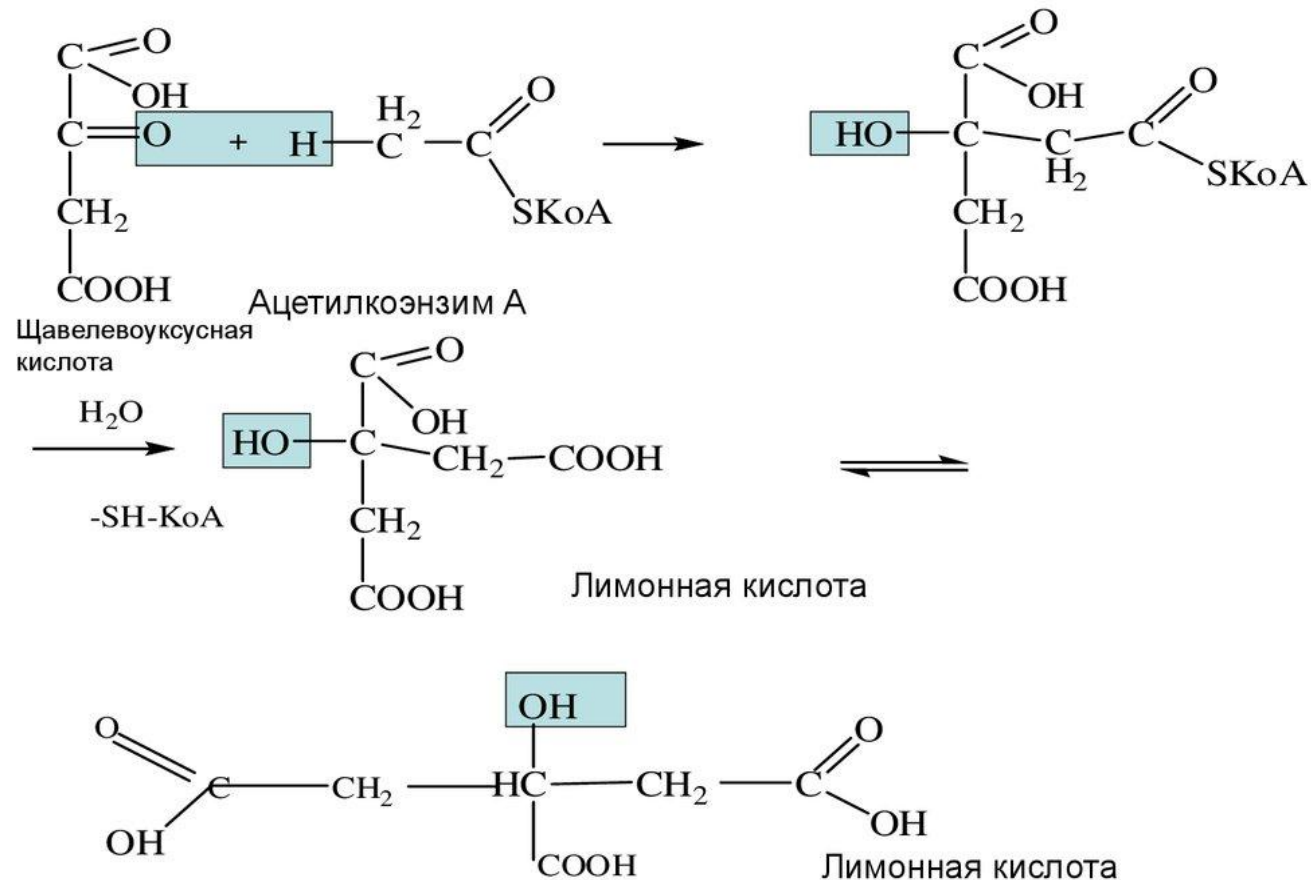


Для многих заболеваний костной ткани, для состояний ацидоза (воспаление...) характерны декальцинация/деминерализация матрикса кости. Кость работает как буфер, нейтрализуя избыток  $\text{H}^+$ . В случае выздоровления и устранения факторов, вызвавших накопление  $\text{H}^+$ , создаются условия для восстановления минеральной фазы.

# Роль цитрата в метаболизме костной ткани

- Цитрат составляет ~1% общей массы ткани кости. Он образует комплексные соединения с солями Са и фосфатов, обеспечивая рост их концентрации до уровня, при котором могут стартовать:
  - 1) кристаллизация
  - 2) минерализация

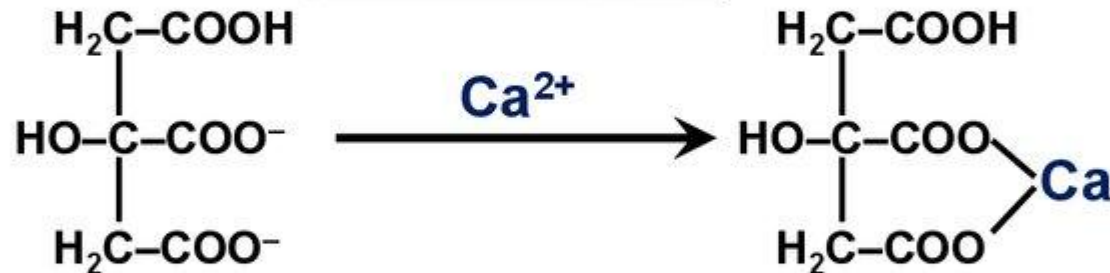
Синтез цитрата  
идёт  
в митохондриях  
остеобластов



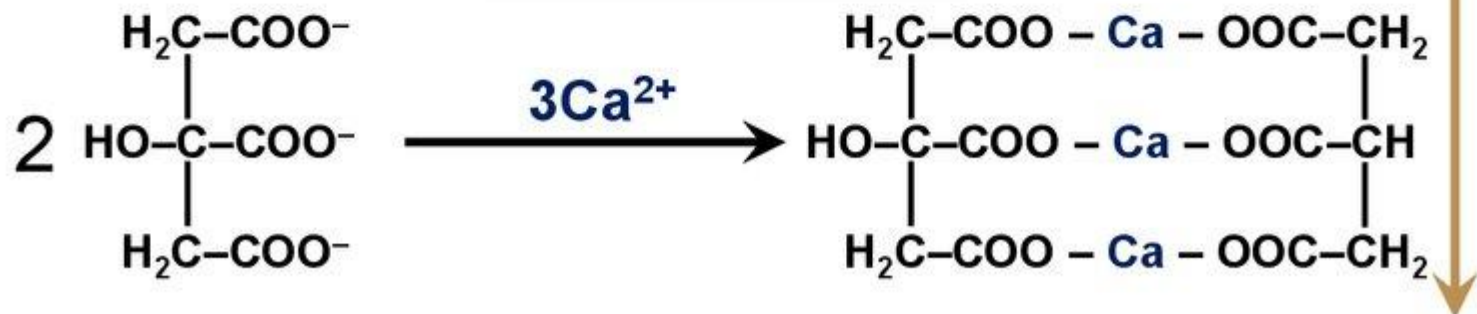
# Динамика цитрата в кости

- Основная часть цитрата (90% от имеющегося) локализована во внеклеточном пространстве и используется на обеих стадиях ремоделирования кости.
- С ионами  $\text{Ca}^{2+}$  цитрат образует соли: **растворимые или нерастворимые**. Тип соли определяется значением pH !!!

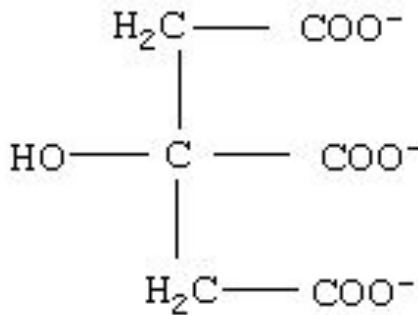
В кислой среде:



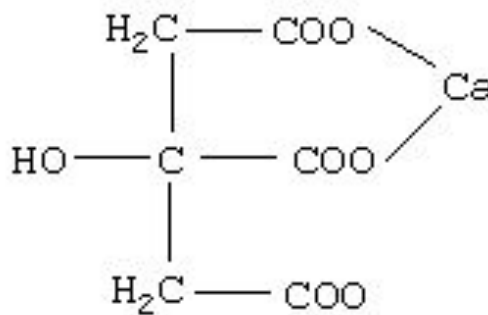
В щелочной среде:



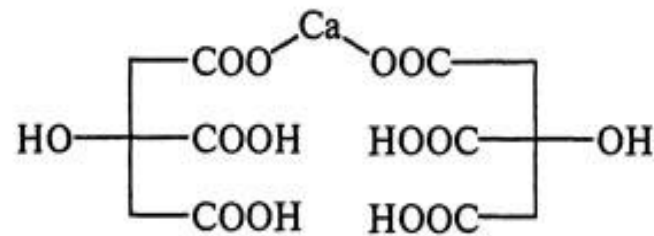
# Цитраты и органические кислоты кости



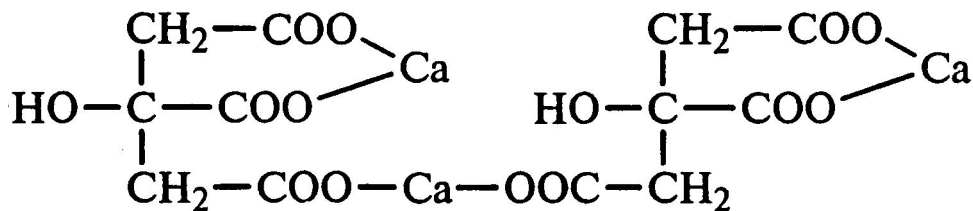
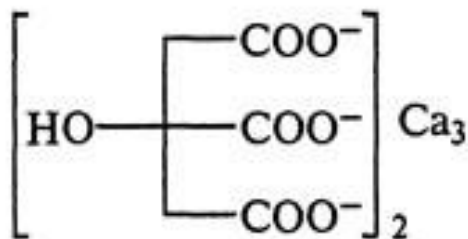
лимонная кислота



монокальциймоноцитрат / монокальцийдицитрат



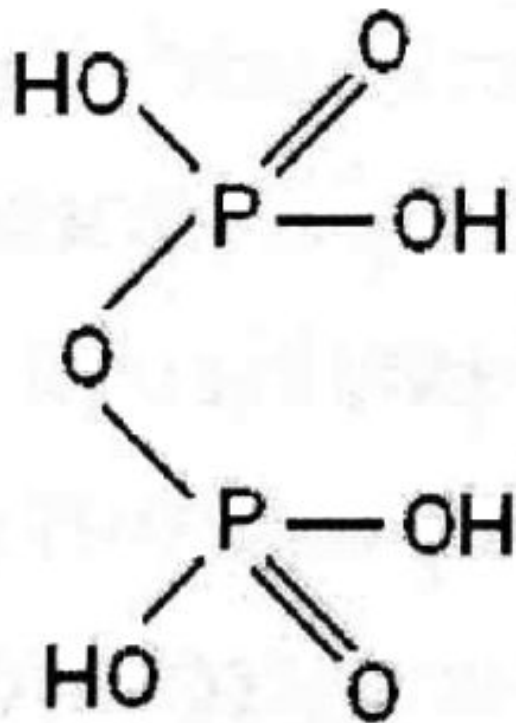
трикальцийдицитрат



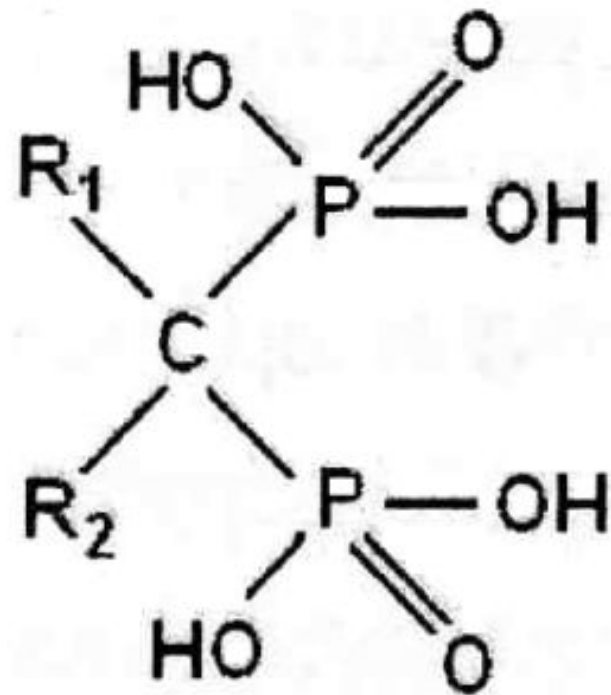
Кроме цитратов клетки кости производят сукцинат, малат, фумарат, лактат и иные органические кислоты, которые также могут участвовать в построении минеральной фазы матрикса

# Влияние на резорбцию кости

- А- пиррофосфат (и полифосфаты) кости
- Б- бифосфонаты – группа препаратов



**А**



**Б**

# Изменения в минерализации

- В процессе роста и развития организма количество аморфного фосфата кальция снижается, так как Са связывается с ГАП.
- На поверхности кристаллов может накапливаться много Na в форме цитрата натрия. Кость выполняет функции лабильного депо Na, который выделяется из кости при ацидозе. При избытке Na в пище, он депонируется в кости для предотвращения алкалоза.
- Вместо Са в костную ткань во время формирования ГАП могут включаться другие элементы – Sr, Mg, Fe, U и др. После формирования ГАП таких включений обычно не происходит.
- **Оссифицирующий миозит** – кристаллы ГАП могут появляться в сухожилиях, связках, стенках сосудов.

# Костная ткань

## альвеолярного отростка челюсти

- Зубная альвеола и **альвеолярный отросток кости** -- части верхней и нижней челюстей, где укреплены зубы (костное ложе для зубов).
- Различают:
  - 1) пластинчатую **собственно альвеолярную** кость с остеонами (стенки зубной альвеолы),
  - 2) **поддерживающую альвеолярную** кость с компактным и губчатым веществом.
- **Костная ткань здесь неравномерна по структуре, содержанию клеток, белков, минералов**



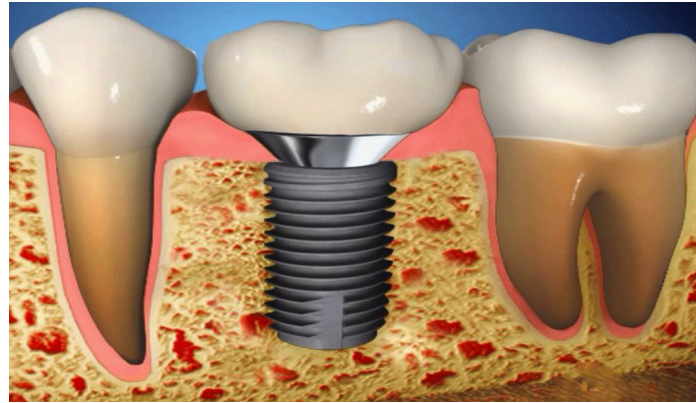


верхний слой, называемый «кортикальной пластинкой», очень плотный и твёрдый. В целом, он беден клетками, в нём много остеоцитов и мало остеобластов. Способности к регенерации кости тем хуже, чем толще этот этот слой. Сильно выраженная и очень плотная кортикальная пластинка создаёт сложности для имплантации и наращивания костной ткани.

внутренний слой называется «губчатой костью», содержит большое количество клеточных элементов, среди которых преобладают, остеобласты, фибробласты и прочие активно делящиеся клетки. Остеоцитов здесь значительно меньше, поэтому губчатая кость менее прочная и твёрдая, зато очень легко и быстро восстанавливается.

# Кость и дентальные имплантаты

- Белковый спектр костной ткани нижних и верхних челюстей различен.
- В частности, для нижней челюсти характерно более низкое содержание фибронектина. Именно здесь чаще всего наблюдается дезинтеграция дентальных имплантатов.
- Ранняя дезинтеграция имплантатов идёт при малом содержании Gla-протеина и ТИМП-1 (тканевого ингибитора матриксных металлопротеиназ)



## Интеграция после постановки имплантатов:

- в ходе остеоинтеграции (прямое приживление) сначала образуется тонкая зона из двойного слоя протеогликанов (в том числе декорина), не содержащая коллагенов.
- при фиброзно-оссальной интеграции устойчивость импланта в капсуле определяют коллагены (I и III), а фибронектин выступает главным элементом в связывании с компонентами соединительной ткани

## Дезинтеграция дентальных имплантатов

- Механическая нагрузка на имплантаты способствует росту активности коллагеназ (ММП), выработке лизосомальных протеаз (катепсин К), кислой фосфатазы. В итоге в периимплантационной зоне постепенно убывает костная ткань и происходит дезинтеграция имплантатов.

# Влияние глюкокортикоидов на процессы обмена, приводящие к убыли костной ткани



# Регуляция метаболизма кости

## Основные гормоны

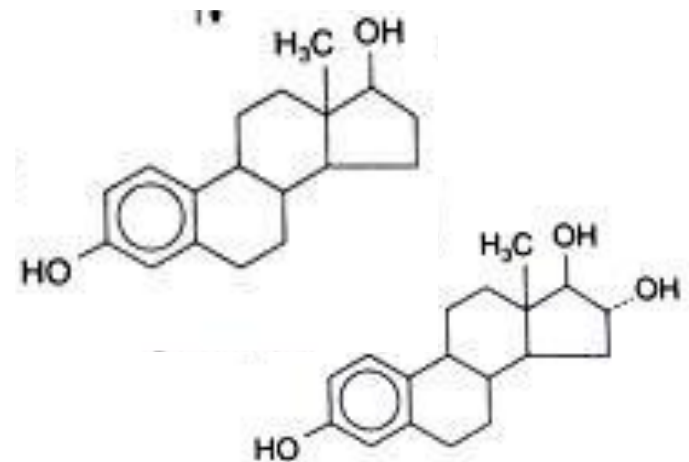
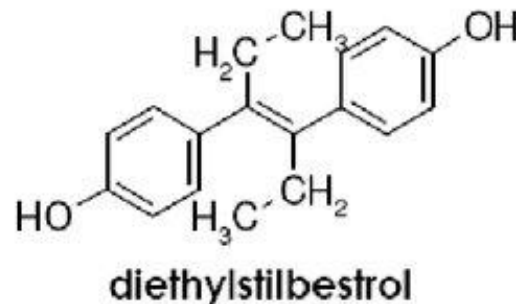
- Паратгормон. Мишени – остеобласты. Он снижает синтез коллагена, повышает активность коллагеназ.
- Кальцитриол  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . Усиливает резорбцию

## Вторичные гормональные регуляторы

минерального гомеостаза костной ткани:

- Кальцитонин. Активирует процессы синтеза кости и поступления Са для минерализации.
- Кальцитриол  $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ . Усиливает поступление Са в кости
- Глюкокортикоиды – угнетение синтеза белков
- Эстрогены, тестостерон – анаболическая роль

- **Дефицит эстрогенов** активирует «базисные многоклеточные единицы» костной ткани в направлении утраты и органической, и минеральной составляющих кости. Введение эстрогенов устраняет этот дисбаланс.
- Новое направление в коррекции нарушений костной ткани связано с применением препаратов агонист/антагонистического действия на рецепторы эстрогенов



# На метаболизм костей влияют

вместе с гормонами:

**витамины** D и A (в гормонально активном виде),  
K, E, C

**белковые факторы**

- **морфогены** (морфогенетический белок кости, фактор Тильманна)
- **митогены** (костно-экстрагируемый фактор роста, фактор роста скелета)
- **факторы хемотаксиса** (остеокальцин) и **хемоаттракции** (фибронектин, остеонектин)
- **кейлоны** прочно связываются с морфогенами, митогенами и препятствуют регенерации кости

# Комплекс ИФА-тест-систем для оценки состояния костных тканей

•Фирма-производитель	•Наименование ИФА-набора, количество определений
•Nordic Bioscience Diagnostics	•CrossLaps (определение в моче С-концевых тепопептидов, образующихся при деградации коллагена I типа), 96
	•Serum CrossLaps One Step (определение в сыворотке крови С-концевых тепопептидов, образующихся при деградации коллагена I типа), 96
	•N-MID Остеокальцин, 96
•BCM Diagnostics	•Костный изофермент щелочной фосфатазы (BAP), 96
•DSL	•Паратиреоидный гормон, 96
	•Кальцитонин человека, 96
	•Кальцитонин лосося, 96
	•Рецептор 1,25(OH) <sub>2</sub> витамина D <sub>3</sub>
•IDS	•25(OH)витамин D, 96
	•1,25(OH) <sub>2</sub> витамин D <sub>3</sub>
•Biomedica	•Остеопротегерин, 96
	•RANKL, 96
	•Катепсин, 96
• Peninsula	•Остеогенный пептид роста, 96

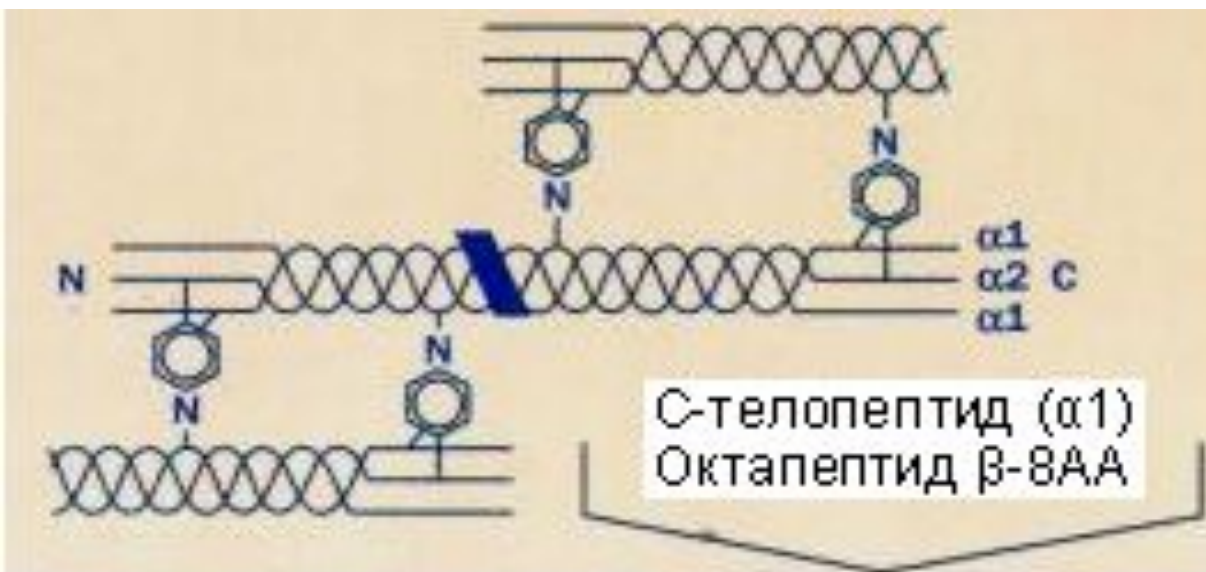
# ИФА-определение концентрации С-телопептида в плазме крови



1. Принцип метода (тест-набор «Elecys  $\beta$ -crosslaps/Serum»)

2. С-телопептид коллагена расщепляется на 2 октапептида, связанных поперечной сшивкой и находящихся в  $\beta$ -форме ( $\beta$ -Crosslaps), которые попадают в кровь.

Во вновь сформированной кости концевые октапептиды коллагена-I содержат  $\alpha$ -аспарагиновую кислоту, которая по мере старения кости изомеризуется в  $\beta$ -форму. Моноклональные антитела специфически распознают линейные октапептиды, содержащие именно  $\beta$ -аспарагиновую кислоту.





# Определение активности фосфатаз кости

- **Тартрат-резистентная кислая фосфатаза (TRACP 5B)**  
секретируется остеокластами, появляется в плазме крови одновременно с С-телопептидами.  
В повышенном количестве попадает в кровоток при увеличении количества остеокластов и возрастании их активности. Тест-система фирмы **БиоХимМак** позволяет определять только активные формы TRACP-молекул, секретируемые во внеклеточное пространство кости, и не детектирует старые, инактивированные молекулы TRACP или их фрагменты, которые могли появиться во время сбора образца крови.
- **Костный изофермент щелочной фосфатазы (BAP)**  
Это тетрамерный гликопротеин, обнаруживаемый на клеточной поверхности остеобластов .  
Оценка BAP, как маркера костного метаболизма (тест-система фирмы **BCM Diagnostics**), даёт полезную информацию о ремоделировании кости и влиянии антирезорбционной терапии на активность заболевания.

# Определение количества остеокальцина



Принцип метода (ИФА-тест-набор «Elecsys N-MID osteocalcin test»)

- Активные остеобласты продуцируют специфический маркер ремоделирования кости – **gla-белок остеокальцин**, содержащий  $\gamma$ -карбоксиглутаминовую кислоту. Попадая в кровь, остеокальцин быстро расщепляется на несколько фрагментов разной длины, их обнаруживают методом ИФА. Диагностикум создан на основе двух высокоспецифичных моноклональных антител, одно «узнаёт» среднюю часть полипептида (N-MID фрагмент), другое - N-концевой участок остеокальцина. Концентрация обоих фрагментов измеряется по хемилюминесценции (ХЛ) рутения, которым мечены антитела.

Для ИФА-анализа используются  
циркулирующие фрагменты остеокальцина



# Оценка гомеостаза кальция

- **Гомеостаз кальция** обеспечивает система гормонов «паратгормон-кальцитриолы-кальцитонин», путём регуляции движения  $\text{Ca}^{2+}$  и фосфатов в организме и поддержания постоянства уровня  $\text{Ca}^{2+}$  в крови.
- Эти гормоны контролируют процесс резорбции кости: паратгормон и  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  его усиливают, кальцитонин и  $24,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  его тормозят.

Паратиреоидный гормон
Кальцитонин человека
Кальцитонин лосося
Рецептор $1,25(\text{OH})_2$ витамина $\text{D}_3$
$25(\text{OH})$ витамин D
$1,25(\text{OH})_2$ витамин $\text{D}_3$

- **Паратгормон (ИФА-системы фирмы DSL).**

1. Наиболее распространены методы ИФА, выявляющие С-концевой или средние фрагменты гормона. При недостаточности почек его С-концевые фрагменты накапливаются в крови, искусственно завышая определяемый уровень гормона.
2. Существует диагностически более значимая тест-система на основе 2-х высокоспецифичных поликлональных антител, которые реагируют с эпитопами именно N-терминальной части интактного ПТГ.

- **Кальцитонин человека (ИФА-системы фирмы DSL).**  
Синтезируется и секретруется парафолликулярными С-клетками щитовидной железы. Основное действие – снижение уровня Са в крови через ингибирование активности остеокластов, приводящее к снижению выхода Са из кости. Секрецию его стимулирует рост концентрации Са в плазме, регулируют желудочно-кишечные пептиды, эстрогены, витамин D.
- **Кальцитонин лосося (*Salmon Calcitonin*)** используют при лечении остеопороза для подавления костной резорбции (важно поддерживать концентрацию гормона на терапевтическом уровне) → проводят мониторинг препарата в крови (ИФА-системы фирмы DSL).

# Оценка витамин D-зависимых маркёров:

- **25(OH)-витамин D** – главный циркулирующий метаболит витамина D. Биологически наиболее активен витамин после активации в почках до  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ , но методом диагностики и контроля лечения гиповитаминоза D и ассоциированных заболеваний признана оценка циркулирующего  $25(\text{OH})\text{D}_3$  (ИФА-системы фирмы IDS)
- **$1,25(\text{OH})_2$  витамин  $\text{D}_3$  (кальцитриол)** – прямой антира-хитический фактор, повышает уровень Ca в крови, действуя как стероидный гормон. Исследование содержания  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$  не выгодно для оценки общего статуса витамина D и используется только с целью дифференциальной диагностики заболеваний и оценки эффективности  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$ -терапии (ИФА-системы фирмы IDS)
- **Рецептор витамина  $1,25(\text{OH})_2\text{D}_3$**  (ИФА-системы фирмы DSL) Кальцитриол действует через специфические рецепторы к витамину D. Главными органами-мишенями выступают кости, кишечник, почки (рецепторы также обнаружены в 35 органах и тканях). Иногда важно определять именно концентрацию белка-рецептора витамина D, поскольку прогрессирование костной патологии может быть связано с развитием устойчивости к витамину D (дефицитом рецепторов витамина D).

# Оценка маркёров ремоделирования кости (ИФА-системы фирм Biomedica и Peninsula)

- **Остеопротегерин** (OPG) и **RANKL** (Receptor activator of NF-каппа B ligand - лиганд рецептора активатора ядерного фактора каппа В) определяют регуляцию ремоделирования костной ткани.
- Osteoblastы секретируют OPG как ключевой ингибитор дифференцировки osteoclastов (induces их apoptosis, increases bone mass, decreases hypercalcemia). Osteoblastы секретируют и RANKL.
- Предшественники osteoclastов узнают фактор RANKL как сигнал к дифференцировке в osteoclastы. Рост RANKL → resorption костной ткани и inhibition apoptosis osteoclastов.
- Balance between production of RANKL and OPG determines the process of bone remodeling. The RANKL/RANK/OPG system - central regulator of osteoclast resorptive activity.
- **Катепсин**. Lysosomal enzyme of protein degradation, activated by acidification of the environment during bone resorption.
- **Остеогенный пептид роста**. Small regulatory peptide, produced in bone tissue for proper modeling and remodeling of bone.

# Патология костной ткани

Переломы.

Консолидация

*– стадия биосинтеза органического матрикса (увеличение содержания коллагена, синтез*

*гликозаминогликанов, усиление окислительных процессов)*

*- стадия минерализации*



# Остеоинтеграция после переломов кости

- В процессте остеоинтеграции после сопоставления отломков кости в месте перелома образуется тонкая зона из протеогликанов, которая лишена коллагена.
- Зона склеивания отломка с костью обеспечивается двойным слоем протеогликанов, включающим молекулы декорина

# Патология костной ткани

**Остеонекроз** — омертвление участка кости вследствие нарушения кровоснабжения. Характеризуется гибелью костных клеток при сохранении межклеточного вещества. Минеральный состав кости при этом не меняется. Наиболее уязвимыми участками являются те, которые имеют постоянный объем кровоснабжения и ограниченные возможности к развитию коллатерального кровообращения. Чаще наблюдается поражение головки бедренной кости

**Незавершенный остеогенез** — наследственное заболевание с нарушением костеобразования, остеопорозом и повышенной ломкостью костей. Клеточный состав костной ткани при этом не изменяется. В основе заболевания лежит генетический дефект мезенхимальной ткани с нарушением продукции коллагена, что приводит к неполноценности хрящевой и костной тканей, зубов, связочного аппарата, оболочек (синдром «голубых склер»)

# Патология костной ткани

**Фиброзная остеодистрофия (болезнь Педжета)** — заболевание скелета диспластического характера, характеризующееся усиленной патологической перестройкой костной ткани с чередованием процессов резорбции остеокластами кости и последующим ее новообразованием. Однако этот процесс осуществляется хаотично и приводит к формированию дезорганизованной мозаичной структуры кости с участками мелкоструктурного и трабекулярного строения. В то же время отмечается усиленная васкуляризация и фиброз костного мозга.

При всех этих заболеваниях также может наблюдаться снижение костной массы — остеопороз. Но в данном случае говорят о вторичном остеопорозе, проявлении основного заболевания.

# Патология костной ткани

**Остеомаляция** — деминерализация костного вещества без отчетливых нарушений белкового синтеза в матриксе, сопровождающаяся размягчением костей. Это наиболее частая патология костной системы, с которой нужно дифференцировать остеопороз. Морфологическим субстратом остеомаляции является повышенное количество неминерализованного остеоида, что накапливается вследствие или его ускоренного синтеза, или задержки минерализации.

**Остеосклероз** — процесс, противоположный остеопорозу. Он характеризуется увеличением числа костных балок на единицу объема.

**Остеодисплазия** — патология костной системы с нарушением ее формирования, обусловленная остановкой, замедлением или искажением остеогенеза на стадии эмбрионального или постнатального развития. Она проявляется аномалиями развития костей. Чаще всего диагностируется фиброзная дисплазия костей.

**Остеоатрофия** — это приобретенное (концентрическое или эксцентричное) уменьшение объема костных балок и, как следствие, истончение костей. Остеоартрофия ограничивается одной или несколькими костями, а иногда даже частью кости.

**Остеолиз** — полное локальное рассасывание или деструкция кости без ее замещения.

# Патология костной ткани

Рахит и остеомалация — одно заболевание, обусловленное недостатком в организме витамина D и характеризующееся изменением фосфорно-кальциевого обмена, нарушением минерализации органического матрикса костной ткани и расстройством функций ряда внутренних органов. Рахит развивается у детей и обусловлен нарушением процессов минерализации кости и хрящевого матрикса их зон роста, что приводит к повреждению растущего скелета ребенка.

Остеомалация — нарушение минерализации органического матрикса костей у взрослых, главным образом у женщин.

Выделяют несколько форм рахита: 1) ранний рахит у детей от 3-х месяцев до 1 года; 2) поздний рахит у детей от 3-х до 6 лет; 3) витаминD-зависимый рахит (наследственное аутосомно-рецессивное заболевание); 4) витаминD-резистентный рахит (наследственное заболевание, сцепленное с X-хромосомой); 5) остеомалация, или рахит взрослых.

- **Остеомаляция** (мягкость — размягчение костей) — системное заболевание, характеризующееся недостаточной минерализацией костной ткани.
- Может быть обусловлено недостатком витамина D, нарушением его обмена, а также дефицитом макро- и микроэлементов, вызванным их повышенной фильтрацией в почках или нарушением всасывания в кишечнике.
- При остеомаляции увеличивается общий объём костного вещества, но уменьшается его минерализация.

# Рахит(дети), остеомалация(взрослые)

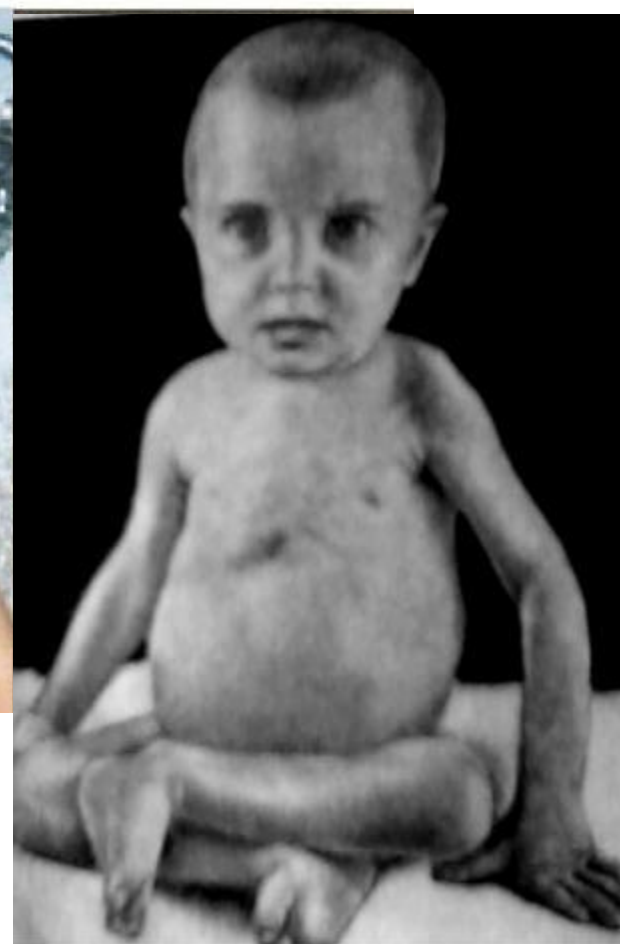


Х и О – образные ноги

«Грудь сапожника»,  
«куриная грудь»



«Лягушачий» живот



# Кость в норме и остеомалация



«рыбьи позвонки» - вдавления замыкающих пластинок при размягчении костей



# Остеопороз

**Остеопорóз** — хронически прогрессирующее системное, обменное заболевание скелета, которое характеризуется снижением плотности костей и усилением хрупкости, по причине нарушения метаболизма костной ткани с преобладанием катаболизма над процессами костеобразования, снижением прочности кости и повышением риска переломов.

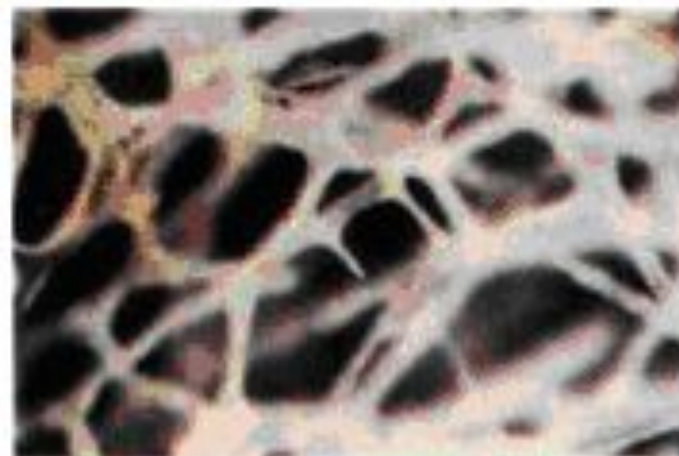
# Изменение структуры кости при остеопорозе



**Норма**



Нормальная структура губчатой кости, образованная сетью трабекул (перекладин)



**Остеопороз**



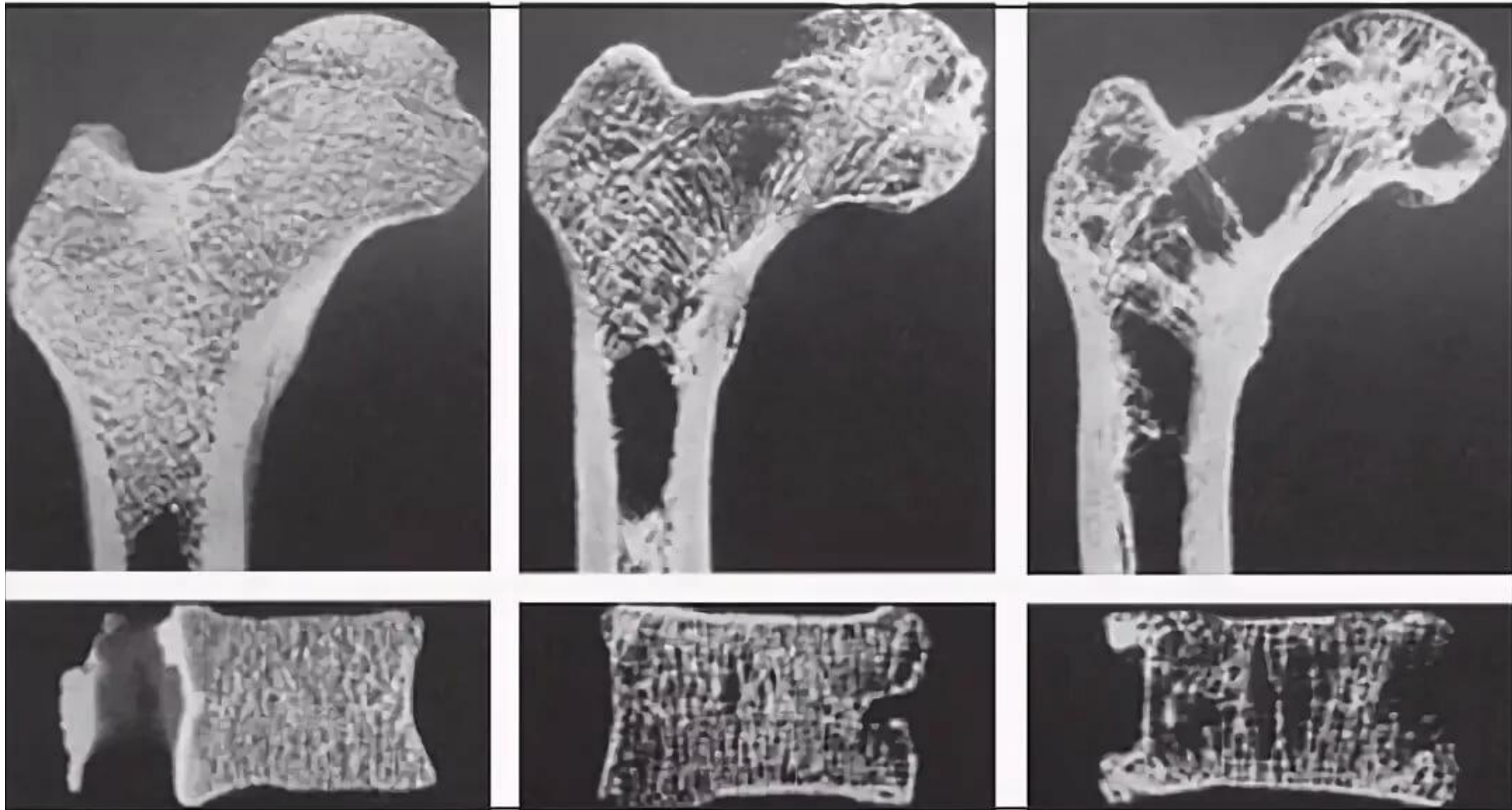
Разреженная структура губчатой кости с перфорациями трабекул

# Факторы, определяющие пик костной массы



- \* Известно, что каждые 30 лет костная ткань изменяется почти полностью.
- \* Кость растет до 20-летнего возраста, достигая пика костной массы.
- \* До 30-35 лет наблюдается более или менее устойчивое состояние.
- \* Затем начинается естественное снижение костной массы.

# пятистый остеопороз



# Профилактика остеопороза

- **Первичная**

**Сроки:** период роста/становления скелета

**Мероприятия:**

- 1) обеспечение организма Са, вит. D,
- 2) достаточная физическая активность.

Один из главных факторов риска развития со временем остеопороза - малоподвижный образ жизни/гиподинамия

- **Вторичная**

**Сроки** проведения: возрастная профилактика

**Мероприятия:** аналогичны первичной профилактике, но в связи со снижением активности метаболизма увеличено потребление необходимых компонентов пищи. Один из способов – назначение витаминно-минеральных препаратов, БАДов.

# Антирезорбенты (ингибиторы резорбции костной ткани)

- Фосамакс – ингибитор резорбции из группы бифосфонатов
- Остеогенон – экстракт костей животных
- Остеохин – натуральный метаболит растительного происхождения

# Оссеин-гидроксиапатитные соединения

- Остеогенон – активизирует формирование костной ткани

# Использование ИФА-тест-систем при остеопорозе

- Тест-системы **Остеокальцин** и **CrossLaps** рекомендованы международным фондом изучения остеопороза как маркеры мониторинга антирезорбционной терапии.
- Маркёры костной резорбции определяют до начала терапии, затем через 3-6 мес.
- Маркёры образования костей - до терапии и 6 мес. спустя.
- В случае неоднозначных изменений маркёры измеряют третий раз через 3 мес.