

Kinga Lis, Grażyna Odrowąż-Sypniewska*Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej, Akademia Medyczna im. L. Rydygiera, Bydgoszcz*

Rola katepsyny K w powstawaniu zmian zwyrodnieniowych w stawach

Role of cathepsin K in the pathogenesis of degenerative changes in joints

Słowa kluczowe: katepsyna K, choroba zwyrodnieniowa stawów, kość podchrzęstna
Key words: cathepsin K, osteoarthritis, subchondral bone

SUMMARY

Primary osteoarthritis is one of the oldest known joint diseases. The damage to the joint involves all its structures, and leads to considerable discomfort in daily life and limitations on patient activity. Degenerative changes within the joint were described in ancient time, but the mechanism has not yet been fully elucidated. Cleavage of collagens in the organic matrix of subchondral bone and cartilage by cysteine proteases, such as cathepsin K, may be one possible mechanism.

STRESZCZENIE

Pierwotna choroba zwyrodnieniowa stawów jest jedną z najstarszych znanych chorób układu kostno-stawowego. Uszkodzenie stawu obejmuje wszystkie jego struktury i prowadzi w konsekwencji do znacznego dyskomfortu w codziennym życiu i ograniczenia aktywności chorego. Mimo iż przypadki choroby zwyrodnieniowej stawów opisywano już w czasach starożytnych, to mechanizm powstawania zmian degeneracyjnych w stawach nadal nie został ostatecznie wyjaśniony. Degradacja włókien kolagenowych macierzy organicznej kości podchrzęstnej i chrząstek stawowych przez proteazy cisteinowe, w tym katepsynę K, jest jednym z opisywanych możliwych mechanizmów powstawania uszkodzeń w strukturach stawowych.

WSTĘP

Choroba zwyrodnieniowa stawów (chzs) jest jedną z najczęstszych chorób układu kostno-stawowego. Należy ona do chorób degeneracyjno-wytwórczych [1]. W przebiegu chzs uszkodzenie obejmuje wszystkie struktury budujące połączenie stawowe [2]. Dochodzi do zniszczenia chrząstek stawowych i ich stopniowej utraty, aż do całkowitego zaniku [2]. W warstwie podchrzęstnej kości powstają cysty i ogniska nadmiernego uwapnienia, zaś w błonie maziowej rozwija się proces zapalny, który nasila się w miarę postępu zmian zwyrodnieniowych [2].

Etiologia pierwotnej chzs nie jest całkowicie wyjaśniona. Wydaje się być rezultatem połączonego systemu oddziaływań mechanicznych, biochemicznych i enzymatycznych, w wyniku których dochodzi do zachwiania homeostazy tkanki chrzęstnej budującej

staw [3]. Wówczas procesy destrukcji zaczynają przeważać nad procesami tworzenia [3]. Istnieje wiele hipotez próbujących wyjaśnić przyczyny tego zjawiska; istotną rolę wydają się odgrywać proteazy produkowane przez osteoklasty kości podchrzęstnej i chondrocyty chrząstki stawowej [4,5].

PROTEAZY CYSTEINOWE

Proteazy cisteinowe – katepsyny B, C, D, E, G, H, K, L i S są ściśle związane z wieloma procesami proteolitycznymi występującymi podczas rozwoju i wzrostu organizmu oraz przemian tkanek zachodzących wraz z wiekiem [6]. Są również nierozdzielnie połączone z wieloma procesami patologicznymi prowadzącymi do destrukcji tkanek [6].

Katepsyny B, L i S są enzymami lizosomalnymi o działaniu wewnątrzkomórkowym w optymalnym

kwaśnym pH środowiska [7]. Posiadają również zdolność degradacji macierzy zewnątrzkomórkowej, działając wówczas w pH neutralnym [7]. Katepsyny B, L i S rozkładają włókna kolagenu typu I i II [7]. Proteolityczna aktywność katepsyn hamowana jest przez cystatyny [4,7].

Katepsyna K uważana jest za główny enzym degradujący włókna kolagenu wydzielany przez komórki osteoklastów [7,8,9]. Genetycznie uwarunkowany niedobór tego enzymu powoduje obniżenie aktywności kolagenolitycznej komórek kościogubnych [10]. Po raz pierwszy enzym ten w tkankach ludzkich zlokalizowano i opisano w 1995 roku, w odróżnieniu od opisanych na początku lat 90-tych katepsyn C, D, B, E, G i L [11]. Za optymalne pH środowiska, w jakim katepsyna K działa najbardziej efektywnie, uważany jest zakres od 3,5 do 5,5 [7]. Głównym, endogennym inhibitorem katepsyny K jest cystatyna C [11].

Uważa się, że synteza i wydzielanie katepsyny K podlega również regulacji przez układ cytokin RANK/RANKL/OPG [12,13,14,15] uczestniczących w procesie osteoklastogenezy. Jak wykazano w prowadzonych *in vitro* badaniach osteoklastów osteoprotegeryna (OPG) hamuje zaś RANKL pobudza syntezę katepsyny K [13,14]. Wpływ układu cytokin RANK/RANKL/OPG na syntezę katepsyny K rozszerza ich udział w regulacji metabolizmu kości i wskazuje, iż poza modulowaniem dojrzewania osteoklastów uczestniczą one czynnie również w regulowaniu ich aktywności enzymatycznej [13,15].

Soderstrom i wsp. przebadali 16-19 rodzajów tkanek ludzkich i mysich wykazując w nich ekspresję mRNA dla katepsyn B, H, K, L i S [6]. Różne tkanki charakteryzowały się odmiennymi profilami omawianych katepsyn [6]. Według tych autorów na szczególną uwagę zasługuje dominujące stężenie katepsyny K w stosunku do pozostałych proteaz cysteinyowych zaobserwowane w tkance kostnej i chrząstce. Zaznaczyć należy jednak, iż stężenie wszystkich katepsyn w obydwu tych tkankach jest znacznie wyższe aniżeli w pozostałych przebadanych tkankach zarówno mysich jak i ludzkich [6]. Natomiast według innych badaczy katepsyna K wydaje się być raczej charakterystyczna dla osteoklastów [8,9], zaś chondrocyty wykazują szczególną ekspresję katepsyn B i L [4,16].

Katepsyna K, nazywana niekiedy katepsyną O [8], charakteryzuje się wysoką specyficznością tkankową [6,7]. Enzym ten występuje w dużych ilościach w kościach, natomiast w tkankach innych narządów (wątroba, śledziona, nerki, przelyk, mózg, serce) stężenie katepsyny K jest znikome [6,7]. Katepsyna K wydaje się odgrywać kluczową rolę podczas wzrostu i modelowania kości długich oraz rozwoju szkieletu

w okresie życia płodowego [6,7,17]. Wysokie stężenie tego enzymu, jak również pozostałych katepsyn poza osteoklastami, obserwuje się także w proliferujących, przerośniętych chondrocytach [6,7,18]. W makrofagach, komórkach zrębu kości oraz zapalnych komórkach błony maziowej zawartość tego enzymu jest niewielka [6,7].

Katepsyna K związana jest głównie z powierzchnią kości i leżącymi tam osteoklastami [19,20]. Sugeruje się, że ta proteaza działa jako fizjologiczny aktywator fosfatazy kwaśnej (TRACP) w osteoklastach [21]. Obecność tego enzymu tkance chrzęstnej, wiąże się prawdopodobnie z jego udziałem w procesach degradacji macierzy organicznej chrząstki [22]. Enzym posiada zdolność rozcinania włókien kolagenu typu I i II zarówno na końcach łańcucha, jak i w odciinkach helikalnych [7].

Szczególną uwagę zwraca zjawisko regulacji aktywności kolagenolitycznej katepsyny K przez wolne glikozaminoglikany [23-26]. Uważa się, iż katepsyna K nabywa zdolności rozcinania włókien kolagenowych dopiero po utworzeniu kompleksu z siarczanem chondroityny lub siarczanem keratanu [23-26]. Z drugiej strony siarczany heparanu, heparyna i dermatan blokują aktywność kolagenolityczną tej proteazy [23]. Katepsyna K posiada zdolność uwalniania glikozaminoglikanów z agrekanów chrząstki, w kwaśnym pH [24]. Następnie z uwolnionymi przez siebie siarczanami chondroityny bądź keratanu tworzy kompleksy o aktywności proteazowej w stosunku do włókien kolagenu typu II i typu I [24].

Chrząstka stawowa jest tkanką niezwykle bogatą w glikozaminoglikany, dlatego można upatrywać niezwykle istotną rolę katepsyny K w rozwoju zmian zwyrodnieniowych w stawach i degradacji chrząstki stawowej i kości podchrzęstnej [27]. Konttinen i wsp. [28] zaobserwowali spadek pH w jamie i strukturach zwyrodniałego stawu. Kwaśne pH środowiska stwarza optymalne warunki dla działania kolagenolitycznego katepsyny K. W tych warunkach zaobserwowano nasiloną ekspresję mRNA dla katepsyny K oraz zwiększenie liczby chondrocytów zawierających ten enzym [28]. W płynie stawowym pochodzącym od osób z chorobą zwyrodnieniową stawów o etiologii idiopatycznej lub z reumatoidalnym zapaleniem stawów (rzs) stężenie katepsyny K jest znacznie wyższe niż u osób zdrowych [29]. Ponadto u zdrowych ekspresja tej proteazy ograniczona jest jedynie do fibroblastów stawowych [29], zaś w przypadku chzs oraz rzs obecność tego enzymu stwierdza się zarówno w fibroblastach, jak i synowocytach oraz wielojądrazystych komórkach błony maziowej [29,30]. Szczególną uwagę zwraca fakt, iż bogate w katepsynę K są przede wszystkim rejony chrząstki w miejscach jej

znacznej degradacji [28,29,31]. Według Pelletiera i wsp. [32] rozwój ubytków w kości podchrzęstnej oraz znacznego uszkodzenia powierzchni stawowej kości, charakterystyczny dla zmian zwyrodnieniowych, wiąże się ze zwiększeniem populacji zawierających wysokie stężenie katepsyny K osteoklastów podchrzęstnej warstwy kości. Obserwacje te potwierdzają niezwykle ważną rolę, jaką katepsyna K odgrywa w rozwoju zmian zwyrodnieniowych stawów.

Za istotnym udziałem katepsyny K w destrukcji kości podchrzęstnej przemawiają również obserwacje hamowania postępu zmian degeneracyjnych kości poprzez ograniczenie aktywności tej proteazy przy użyciu jej inhibitorów [32,33,34,35].

Kolagenolityczne własności katepsyny K stawiają ten enzym w szeregu wielu innych czynników mogących przyczynić się do aseptycznego obluzowania się protez stawowych [36]. Konttinen i wsp. [37] stwierdzili duże ilości tego enzymu w tkankach pochodzących z okolic wszczepionej protezy. Według tych badaczy, pH powierzchni kości przylegającej do endoprotezy stawowej jest kwaśne, co stwarza dogodne warunki dla degradacji kolagenu przez katepsynę K [37]. Badacze ci stwierdzili również dużą ekspresję mRNA dla katepsyny K i wysokie stężenie tego enzymu w makrofagach pochodzących z płynu pseudostawowego pobranego z otoczenia endoprotezy [37]. Także Hansen i wsp. [38] wykryli dużą liczbę osteoklastów bogatych w katepsynę K w otoczeniu wszczepionej całkowitej protezy stawu.

Opisywano również znaczącą rolę innych katepsyn, w tym głównie B, L i D w rozwoju zmian zwyrodnieniowych stawów [39,40,41]. Według Lang i wsp. [39], katepsyna K oraz L są szczególnie aktywne w warstwie podchrzęstnej kości chorych na chzs, zaś dla degradacji macierzy chrząstki krytyczne znaczenie ma katepsyna B. Wzrost stężenia katepsyny K w strukturach stawu i płynie stawowym wiąże się prawdopodobnie z rozwojem procesu zapalnego i towarzyszącym temu zjawisku obniżeniem pH, czego odzwierciedleniem jest wyższe stężenie tego enzymu jak i innych katepsyn u chorych z rzs w porównaniu do chorych z chzs [29,41,42].

PODSUMOWANIE

Mechanizm powstawania pierwotnych zmian zwyrodnieniowych w stawach nie został jeszcze ostatecznie wyjaśniony, dlatego też trudno jest prowadzić odpowiednio wczesną diagnostykę, stosować nowe terapie lub profilaktykę zmierzające do poprawy jakości życia chorego. Stale poszukuje się nowych markerów biochemicznych mogących przyspieszyć wykrywanie wczesnych zmian zwyrodnieniowych. Podej-

mwane są dalsze próby wyjaśnienia przyczyn i mechanizmów powstawania zmian degeneracyjnych w stawach uwzględniające nowe czynniki patogenne.

Proteazy cysteinowe, w tym również katepsyna K, będąc grupą enzymów proteolitycznych naturalnie występujących w komórkach chrząstek i kości, mogą przyczyniać się do powstawania zmian degeneracyjnych w tych tkankach. Fakt, iż stężenie tych enzymów, w tym najbardziej charakterystycznego – katepsyny K, znacznie wzrasta u chorych z chzs lub rzs czyni ten enzym istotnym, prawdopodobnym czynnikiem biorącym udział w mechanizmie degradacji tkanki kostnej i chrząstki w przebiegu chorób zwyrodnieniowych, szczególnie ze współistniejącym w jamie stawu stanem zapalnym. Zwiększona aktywność katepsyny K w płynie stawowym chorych z pierwotną chzs sugeruje, że enzym ten może być potencjalnym markerem biochemicznym zmian degeneracyjnych podchrzęstnej warstwy kości.

PIŚMIENNICTWO

1. Sierakowski S.: Choroba zwyrodnieniowa stawów na progu XXI wieku. Nowa Medycyna, 2-2002, zeszyt 115, Wydawnictwo Medyczne Borgis, czytelnia on-line, dostępny pod adresem <http://www.borgis.pl/czytelnia/>.
2. Buckwalter J. A., Martin J.: Choroba zwyrodnieniowa stawów. Clinical Symposia, 1995, 47 (2).
3. Hyc A., Osiecka-Iwan A., Józwiak J., Moskalewski S.: Budowa i niektóre cechy biologiczne chrząstki stawowej. Ortop Traum Rehab, 2001, 3 (2): 151-162.
4. Martel-Pelletier J., Welsch D. J., Pelletier J. P.: Metalloproteases and inhibitors in arthritic diseases. Best Practice Res Clin Rheum. 2001, 15 (5): 805-829.
5. Saris D. B., Dhert W. J. A., Verbout A. J.: Joint homeostasis. J Bone Joint Surg. 2003, 85-B: 1067-0176.
6. Soderstrom M., Salminen H., Gulmoff V., Kirschake H., Aro H., Vuorio E.: Cathepsin erosion during skeletal development. Biochim Biophys Acta, 1999, 1446: 35-46.
7. Sassi M. L.: Carboxyterminal degradation products of type I collagen. University of Oulu, Oulu Finland, 2001, [cytowany 2004.08.23]. Dostępny pod adresem <http://herkules.oulu.fi/isbn9514264916/>.
8. Gburek Z., Goździk J.: Molekularne mechanizmy resorpcji kostnej. OsteoForum, Terapia 2001, [cytowany 2004.08.23]. Dostępny pod adresem <http://www.warman.com.pl/~osteo/resorpcja.html>.
9. Jawniak D., Dmoszyńska A.: Osteoklasty-ich pochodzenie, morfologia i fenotyp immunologiczny, [cytowany 2004.08.23]. Dostępny pod adresem <http://www.hematologia.lublin.pl/osteoklasty.htm>.
10. Safig P., Hunziker E., Everts V. i wsp.: Functions of cathepsin K in bone resorption. Lessons from cathepsin K deficient mice. Adv Exp Med Biol, 2000, 477: 293-303
11. Goto T., Yamaza T., Tanaka T.: Cathepsins in osteoclast. J Electron Microsc, 2003, 52: 551-558.
12. Troen B. R.: The role of cathepsin K in normal bone resorption. Drug News Perfect, 2004, 17: 19-28.

13. Wittrant Y., Couillaud S., Theoleyre S., Dunstan C., Heymann D., Redini F.: Osteoprotegerin differentially regulates protease expression in osteoclast cultures. *Biochem Biophys Res Commun*, 2002, 293: 38-44.
14. Stejskal D., Bartek J., Pastorkova R., Ruzicka V., Oral I., Horalik D.: Osteoprotegerin, RANK, RANKL. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub*, 2001, 145: 61-64.
15. Krieger I., Odrowąż-Sypniewska G.: Osteoprotegeryna. *Ortop Traum Rehab*, 2004, 6: 123-129.
16. Malejczyk J.: Budowa i immunologia tkanki chrzęstnej. *Acta Clinica*, 2001, 1: 15-22.
17. Gray A. W., Davies M. E., Jeffcoct L. B.: Localisation and activity of cathepsin K and B in equine osteoclasts. *Res Vet Sci*, 2002, 72: 95-103.
18. Uusitalo H., Hiltunen A., Soderstrom M., Aro H. T., Vuorio E.: Expression of cathepsins B, H, K, L and S and matrix metalloproteinases 9 and 13 during chondrocyte hypertrophy and enchondral ossification in mouse fracture callus. *Calcif Tissue Int*, 2000, 67: 382-390.
19. Kamiya T., Kobayashi Y., Kanaoka K., i wsp.: Fluorescence microscopic demonstration of cathepsin K activity as the mayor lysosomal cysteine proteinase in osteoclasts. *J Biochem*, 1998, 123: 752-759.
20. Votta B. J., Levy M. A., Badger A., i wsp.: Peptide aldehyde inhibitors of cathepsin K inhibit bone resorption both *in vitro* and *in vivo*. *J Bone Min Res*, 1997, 12: 1396-1406.
21. Andersson G., Ek-Rylander B., Hollberg K. i wsp.: TRACP as an osteopontin phosphatase. *J Bone Min Res*, 2003, 18: 1912-1915.
22. Yamaza T., Goto T., Kamiya T., Kobayashi Y., Sakai H., Tanaka T.: Study of immunoelectron microscopic localization of cathepsin K in osteoclasts and other bone cells in the mouse femur. *Bone*, 1998, 23: 499-509.
23. Li Z., Yasuda Y., Li W., i wsp.: Regulation of collagenase activities of human cathepsins by glycosaminoglycans. *J Biol Chem*, 2004, 279: 5470-5479.
24. Hou W. S., Li Z., Buttner F. H., Bartnik E., Bromme D.: Cleavage site specificity of cathepsin K toward cartilage proteoglycans and protease complex formation. *Biol Chem*, 2003, 384: 891-897.
25. Li Z., Hou W. S., Escalante-Torres C. R., Gelb B. D., Bromme D.: Collagenase activity of cathepsin K depends on complex formation with chondroitin sulphate. *J Biol Chem*, 2002, 277: 28669-28676.
26. Li Z., Hou W. S., Bromme D.: Collagenase activity of cathepsin K is specifically modulated by cartilage-resident chondroitin sulfate. *Biochemistry*, 2000, 39: 529-536.
27. Hou W. S., Li Z., Gordon R. E., i wsp.: Cathepsin K is a critical protease in synovial fibroblast-mediated collagen degradation. *Am J Pathol*, 2001, 159: 2167-2177.
28. Konttinen Y. T., Mandelin J., Li T. F., i wsp.: Acidic cysteine endoproteinase cathepsin K in degradation of superficial articular hyaline cartilage in osteoarthritis. *Arthritis Rheum*, 2002, 46: 953-960.
29. Hou W. S., Li W., Keyszer G., i wsp.: Comparison of cathepsins K and S expression within the rheumatoid and osteoarthritic synovium. *Arthritis Rheum*, 2002, 46: 663-674.
30. Dodds R. A., Connor J. R., Drake F. H., Gowen M.: Expression of cathepsin K messenger RNA in giant cells and their precursors in human osteoarthritic synovial tissues. *Arthritis and Rheum*, 1999, 42: 1588-1593.
31. Morko J. P., Soderstrom M., Saamanen A. M., Salminen H. J., Vuorio E. I.: Upregulation of cathepsin K expression in articular chondrocytes in a transgenic mouse model for osteoarthritis. *Ann Rheum Dis*, 2004, 385: 439-445.
32. Pelletier J. P., Boileau c., Brunet J., i wsp.: The inhibition of subchondral bone resorption in the early phase of experimental dog osteoarthritis by licofelone is associated with reduction in the synthesis of MMP-13 and cathepsin K. *Bone*, 2004, 34: 527-538.
33. Ibrahim S. M., Koczan D., Thiesen H. J.: Gene-expression profile of collagen-induced arthritis. *J Autoimmun*, 2002, 18: 159-167.
34. Votta B. J., Levy M. A., Bodger A., i wsp.: Peptide aldehyde inhibitors of cathepsin K inhibit bone resorption both *in vitro* and *in vivo*. *Bone Min Res*, 1997, 12: 1396-1406.
35. Wang D., Li W., Pechar M., Kopeckova P., Bromme D., Kopecek J.: Cathepsin K inhibitor-polymer conjugates: potential drugs for the treatment of osteoporosis and rheumatoid arthritis. *Int J Pharm*, 2004, 277: 73-79.
36. Sypniewska G., Lis K., Bilinski P. J.: Bone turnover markers and cytokines in joint fluid. Analyses in 10 patients with loose hip prosthesis and 39 with coxarthrosis. *Acta Orthopædica Scandinavica*, 2002, 73 (5): 518-522.
37. Konttinen Y. T., Takagi M., Mandelin J., i wsp.: Acid attack and cathepsin K in bone resorption around total hip replacement prosthesis. *J Bone Min Res*, 2001, 16: 1780-1786.
38. Hansen T., Otto M., Gauman A., i wsp.: Cathepsin K in aseptic hip prosthesis loosening: expression in osteoclasts without polyethylene wear particles. *J Rheumatol*, 2001, 28: 1615-1618.
39. Lang A., Horler D., Baici A.: The relative importance of cysteine peptidases in osteoarthritis. *Rheumatol*, 2000, 27: 1970-1979.
40. Baici A., Lang A., Horler D., Kissling R., Merlin C.: Cathepsin B in osteoarthritis: cytochemical and histochemical analysis of human femoral head cartilage. *Ann Rheum Dis*, 1995, 54: 289-297.
41. Keyszer G. M., Heer A. H., Kriegsmann J., i wsp.: Comparative analysis of cathepsin L, cathepsin D and collagenase messenger RNA expression in synovial tissues of patients with rheumatoid arthritis and osteoarthritis, by *in situ* hybridization. *Arthritis Rheum*, 1995, 38: 976-984.
42. Hashimoto Y., Kakegawa H., Narita Y., i wsp.: Significance of cathepsin B accumulation in synovial fluid of rheumatoid arthritis. *Biochem Biophys Res Commun*, 2001, 283: 334-339.

Adres do korespondencji / Address for correspondence
Mgr Kinga Lis
Katedra i Zakład Diagnostyki Laboratoryjnej
Akademii Medycznej
85-094 Bydgoszcz, ul. M. Skłodowskiej-Curie 9
e-mail: kizdiag@amb.bydgoszcz.pl

Otrzymano / Received 07.04.2005 r.
Zaakceptowano / Accepted 10.07.2005 r.