

## EXTRACELULÁRNÍ MATRIX

Patobiochemie a molekulová patologie

J. MASOPUST

Ústav klinické biochemie a patobiochemie  
2. Lékařská fakulta Univerzity Karlovy v Praze

## Extracelulární matrix (mimobuněčná základní hmota)

obklopuje buňky pojivové tkáně  
(Je jimi produkována, objemem je přesahuje)

Zvláštní formou extracelulární matrix  
je lamina basalis ležící pod epiteliemi

## Základní funkce EM

- \* podpůrná (udržuje trojrozměrný tvar při morfogenezi a hojení ran)
- \* obranná (fyzická bariéra proti mikroorganismům, účast při zánětu, hojení defektů )
- \* dynamické prostředí pro organizaci a diferenciaci buněk
- výměna látek (živiny, produkty metabolismu, elektrolyty, voda)
- propojení buněk v tkáních  
(interakce buňka-matrix)
- výměna informací (detekce, koordinace, tvorba chemických signálů)

## Hlavní složky EM

- |                     |                |
|---------------------|----------------|
| * proteinová vlákna | <b>Buňky:</b>  |
| * amorfnní hmota    | - <b>fixní</b> |
| * tkáňová tekutina  | - <b>volné</b> |

**A. Intersticiium** (produkované mesenchym. buňkami)

**B. Bazální membrány** (produkovaná epiteliiemi a endotelovými buňkami)

### (a) Buňky fixní

Prekurzorem fixních buněk je nediferencovaná mezenchymová buňka

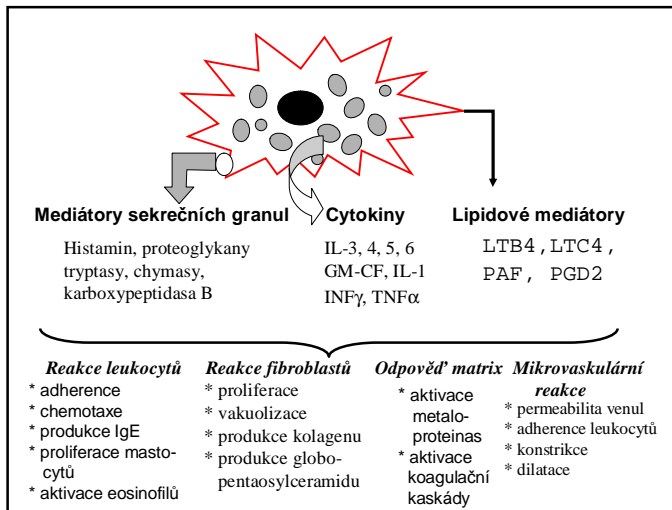
- \* fibroblasty, fibrocyty
- \* myofibroblasty, buňky retikulové
- \* adipocyty
- \* chondroblasty, chondrocyty
- \* osteoblasty, osteocyty

### (b) Buňky volné (bloudivé)

(vyskytují se zde pouze po přechodnou část svého životního cyklu)

Prekurzorem je hemopoetická kmenová buňka kostní dřeně: hemocytoblast

- \* monocyto/makrofágový systém (cytokiny)
- \* mastocyty (histamin)
- \* plasmatické buňky (protilátky)



### Extracelulární matrix

je složitá směs glykoproteinů a proteoglykanů, přispívající k vazbě buněk na vláknité složky vaziva

### Lamina basalis

poskytuje podklad pro navázání epitélií na pojivovou tkáň

### EM- 3 hlavní typy makromolekul:

- \* **Glykosaminoglykany, proteoglykany**  
(tvoří gelovou strukturu pojiva)
- \* **Fibrózní proteiny**
  - kolagen - poskytuje pevnost
  - elastin - poskytuje pružnost
- \* **Multiadhezní molekuly a glykoproteiny**
  - fibronektin, vitronektin, nebulin, tenascin, fibromodulin, laminin, entaktin (nidogen), ...  
(pro přímé spojení buněk s makromolekulami EM)

### **GAG (glykosaminoglykany)**

Dlouhé nevětvené polysacharidy s opakujícími se disacharidy a s jedním ze 2 aminocukrů (N-acetylglukosamin, N-acetylgalaktosamin + terminální sulfát nebo karboxyl)

↓  
Silný negativní náboj přitahuje Na<sup>+</sup>

↓  
atrahuje vodu - hydratovaný gel

↓  
**turgor působící proti stlačení tkáně**

### Různé typy glykosaminoglykanů

- chondroitin-4-sulfát
- chondroitin-6-sulfát
- dermatansulfát
- heparansulfát
- keratansulfát

### **PROTEOGLYKANY**

**Struktura:** proteinové jádro + glykosaminoglykany  
(keratansulfát, chondroitinsulfát ...)

*Mají schopnost agregovat do supramolekulových útvarů  
Vyplňují prostory mezi buňkami a kolagenními vlákny  
Jsou vysoce hydrofilní, náboji přitahují vodu, boptnají*

**Typy:** (a) velké – **AGREKANY** (90% proteoglykanů chrupavky)  
(b) malé – **BIGLYKAN, DEKORIN** (s dermatansulfátem)  
**FIBROMODULIN** (spojení s kolagen. vlákny)

*Proteoglykany jsou hlavní složkou EM hyalinní kloubní chrupavky: zajišťují (a) hladký posun plošek s nízkým koeficientem tření, (b) pružný přenos zátěže na pohybový aparát*

## Typy a lokalizace proteoglykanů

<u>Extracelulární matrix</u>	Aggrekan	ChS/KS (100+)
	Versikan	ChS/DS (20)
	Dekorin	ChS n. DS (1)
	Biglykan	ChS n. DS (2)
	Fibromodulin	KS (4)
<u>Povrch buněk</u>	Syndekan	HS/ChS (4)
	Betaglykan	HS/ChS (2)
	CD44	HS n. ChS
	Glypikan	HS
	Fibroglykan	HS
<u>Bazální membrána</u>	Perlekan	HS (3)
<u>Mozek</u>	Brevikan	ChS/DS (3)
	Neurokan	ChS (7)
<u>Intracelulárně</u>	Cerebroglykan	HS (5)
	Serglycin	ChS n. HS (8)

## Hyaluronan

je **velice dlouhý negativně nabitý polysacharid**

-vytváří hydratovaný gel

-hlavní složka EM

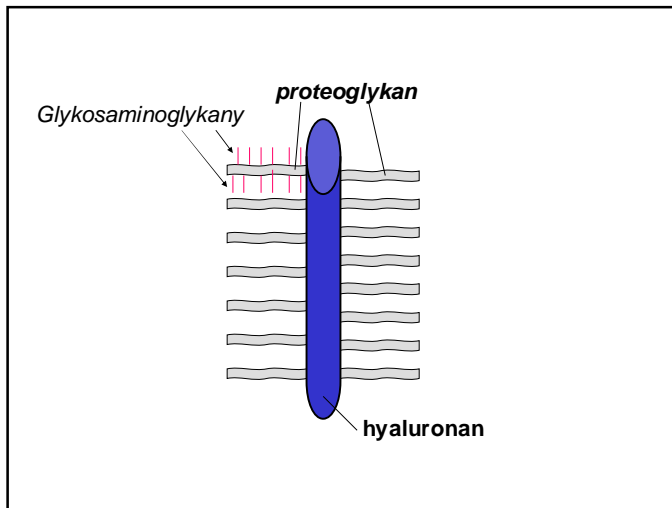
-obklopuje migrující a proliferující buňky

-hlavní složka komplexů proteoglykanů

(lubrikace - zvláště v chrupavce kloubní)

-inhibuje adhezi buňky k buňce (podporuje migraci buněk)

Každá molekula má více než 50 000 opakujících se disacharidových zbytků (glukuronová kyselina+N-acetylglukosamin)



## Kolagen

Hlavní nerozpustný protein EM (25% bílkovin organismu); vytváří trojpramennou šroubovici (buď homotrimér nebo heterotrimér)

Každá 3. aminokyselina je glycin

Často opakující se sekvence: Gly-X-Y (primordiální j.)

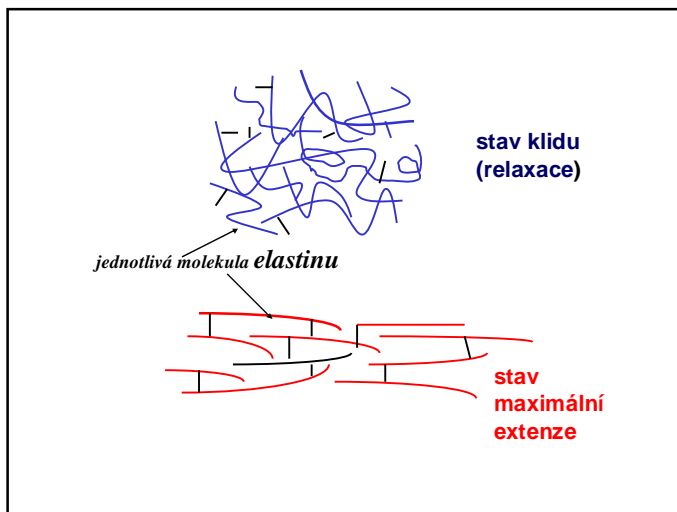
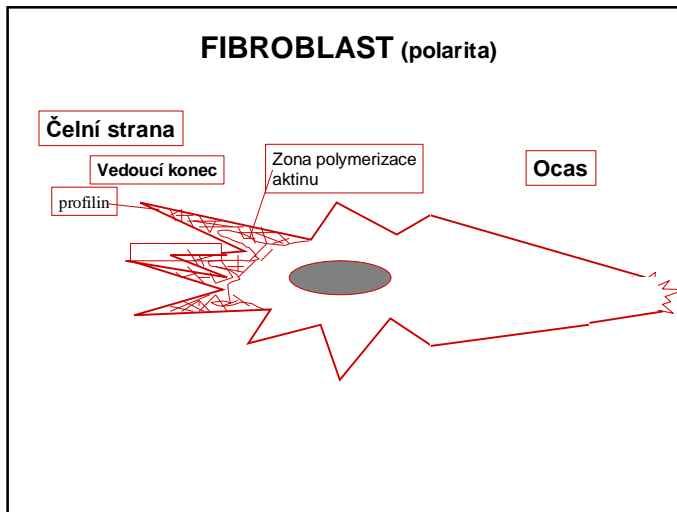
(X=často prolin, Y=hydroxyprolin)

Glycin pomáhá držet  $\alpha$ -řetězce pohromadě (stabilizace)

Je známo nejméně **19 typů kolagenů** (typ I – XIX)

Typ I v kostech (odolává enormním silám: vlákna g/g odolnější než ocelová)

Vytváření příčných vazeb: propojení hydroxylysinů kovalentní „cross-link“ vazbou



## Elastin

Hydrofobní protein (750 amino), zodpovědný za extenzibilitu a elastické vlastnosti tkání (kůže, plíce, cévy)

**Základní struktura - tropoelastin**  
(agregace pomocí příčněvazebného **desmosinu**)

Elastinová vlákna jsou pokryta mikrofibrilami z různých glykoproteinů: **fibrilin** (mutace → **Marfanův sy.**)

## FIBRILIN

glykoprotein, 350 kDa, hlavní složka elastinových mikrofibril (cévy, závěsný aparát oční čočky)

*Mutace genu FBN1 a FBN2: předčasné ukončení translace nebo záměna aminokyseliny v „like doméne“ epidermal growth factor - váže Ca na fibrilin* (změna konformace)

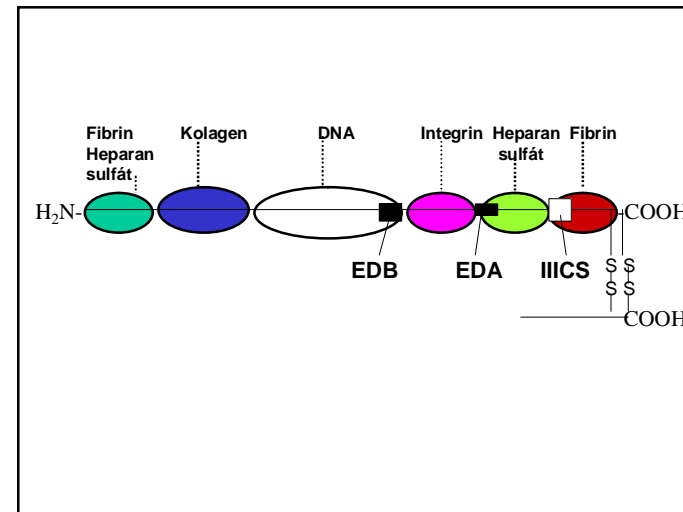
### \* **Marfanův syndrom**

(ectopia lentis, dolichostenomelia, arachnodactylia)

## FIBRONEKTIN

multifunkční glykoprotein, 400 Da, dimer spojený disulfidovou vazbou  
Váže se na jiné složky EM (kolagen, heparin, fibrin, proteoglykany) (specifická sekvence aminokyselin: *Arg-Gly-Asn = RGD*) a buňky (via: *integriny*)

Účastní se přímo adheze, migrace a průniku buněk (zánět, nádorová generalizace)



## Extracelulární matrix a regulace buňky

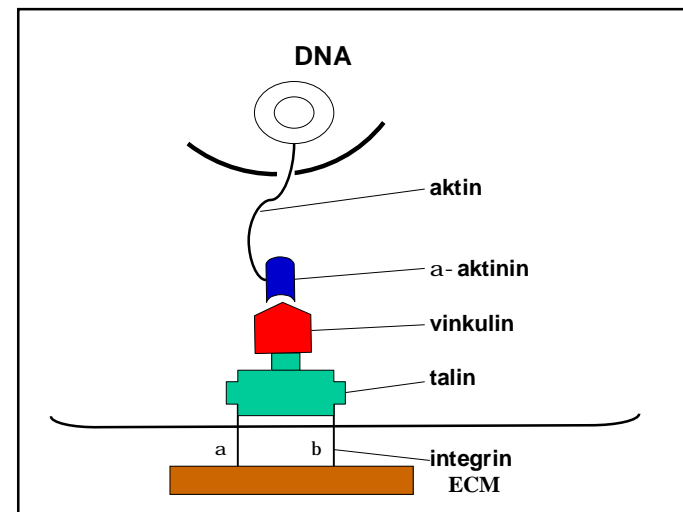
Komponenty ECM mají vliv na buněčný fenotyp prostřednictvím receptorů matrix

Adhezní molekuly (nadrodina **integrinů**, periferní **membránové glykoproteiny**, **glykosyltransferasy**, **proteoglykany**) zprostředkují transdukcii signálu

**Integriny** jsou a/b heterodimery spojující ECM s cytoskeletem (roznávají RGD sekvenci ligand)

Degradační produkty fibronektinu mohou tak navodit genovou expresi kolagenas a stromelysinu při zánětlivé destrukci tkáně

Některé bakterie (*E.coli*) specifickým receptorem adherují k pojivové tkáni hostitele



## Patologie GAG

(Porucha degradace pro deficienci  
lyzozomálních enzymů - progresivní ukládání  
GAG v tkáních)

Klinika: *hrubé rysy, hepatosplenomegalie, kostní dysplazie,  
deformity rukou, event. mentální postižení*

### \* Mukopolysacharidózy

- Choroba Hurlerové (MPS IH): (heparansulfát,  
 **$\alpha$ -L-iduronidasa** dermatansulfát)
- Scheiova choroba (MPS IS): (dermatansulfát  
 **$\alpha$ -L-iduronidasa**)
- Hunterův syndrom (MPS II): (dermatan a heparan-  
sulfát)  
**iduronosulfát-sulfatasa**

(Mukopolysacharidózy pokrač.)

- Sanfillipo syndromy (MPS IIIA-D):  
akumulace heparansulfátu
- III A: **sulfamidasa**
- III B:  **$\alpha$ -N-acetylhexosaminidasa**
- III C: **acetyl-CoA: $\alpha$ -glukosaminid-N-acetyl-  
transferasa**
- III D: **N-acetylglukosamin-6-sulfatasa**

(mukopolysacharidózy - pokrač.)

- Morquio-syndrom (MPS IV): keratansulfát, chondroitin-  
sulfát  
typ A: **N-acetylgalaktosamin-6-sulfatasa**  
typ B: **b-gangliosidasa**
- Maroteau-Lamy choroba (MPS VI): dermatansulfát  
**arylsulfatasa B**
- Deficience b-glukuronidasy (MPS VII): chondroitin-  
4/6-sulfát  
**b-D-glukuronidasa**
- Keratan a heparan-sulfaturia (MPS VIII)

Možnost terapie: substituce enzymů  
transplantací kostní dřeně (zatím u Hurlerovy  
nebo Hunterovy choroby)

## CHRUPAVKA

Obsahuje pouze 5% CHONDROCYTŮ; komunikace mezi  
nimi pouze prostřednictvím EM (výživa, odstraňování  
metabolitů difuzí přes EM)-**KOLAGEN II + proteoglykany**

- \* OSTEOARTRITIDA (nesprávně OSTEOARTRÓZA)
- **Infiltrace synovie zánětlivými buňkami**
- **Degradace chrupavky působením *metaloproteinasy 3***  
(**stromelysin**), štěpící **agrekán**, biglykan, dekorin,  
kolagen typ VI, IX, XI (*iniciace: IL-1, TNF $\alpha$ , též NO; proti*  
*TGF $\beta$ , IGF-1*)
- **Změny v syntéze makromolekul** (jiné kolageny, nestab)
- **Změny genetické exprese fenotypu chondrocytu**  
tvorba kolagenu embryonálního typu II-a místo typu II  
a dále typ X
- **Zvýšení apoptózy chondrocytů**

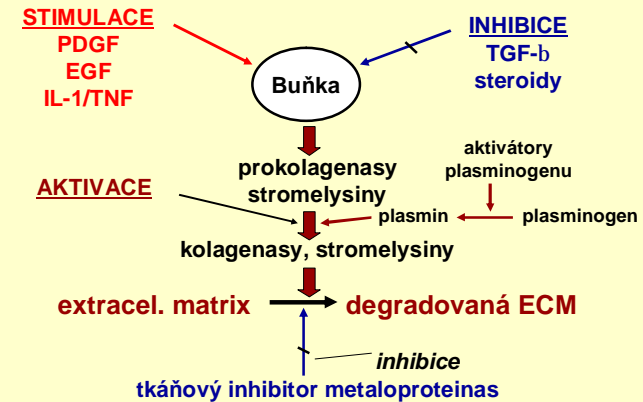
## Nové směry v terapii osteoartrity

Destrukci kloubní chrupavky způsobuje nerovnováha mezi anabolickými a katabolickými pochody

ECM chrupavky je degradována metaloproteinázi

- **inhibice MMP, jejich aktivátorů a cytokinů** (aktivující geny pro odbourávání ECM)
- **podpora syntézy ECM chrupavky** (tkáňové inženýrství pomocí transplantace chondroprogenitorových buněk)
- **indukce synoviální apoptózy** přenos **p53**)

## REGULACE METALOPROTEINAS



## \* Revmatoidní artritida

autoimunitní onemocnění postihující primárně klouby

- **dramatické ztlustění a hyperplazie povrchové vrstvy synovie** (overexprese p53 a ztráta kontroly apoptózy pro adenovirovou infekce buněk synovie)

- **agresivní invaze synoviálních fibroblastů destruujících matrix kloubní chrupavky a kosti**

Uplatňují se dále:

- **molekuly regulující apoptózu (CD 95, RAS, MYC)**
- **prozánětlivé cytokiny (IL-1, TNF<sub>α</sub>)**

(možnost terapie: antagonist receptoru IL-1, rekombin. rozp. TNF<sub>α</sub>-recept.: ETANERCEPT a monokl. protilátka proti TNF<sub>α</sub>: REMICADE)

## Poznámka:

Nevýhodou nesteroidních analgetik a antiflogistik – **inhibitorů cyklooxygenasy (COX)** /klíčový enzym syntézy prostaglandinů/ jsou vedlejší účinky:

- GASTRODUODENÁLNÍ (ulcerace, krvácení)
- RENÁLNÍ (nefrotoxicita)
- KARDIOVASKULÁRNÍ (hypertenze)

Jsou 2 isoformy COX:

- inhibitory COX-1 (mají nežádoucí účinky)
- Inhibitory COX-2** (nemají vedlejší gastroduodenální úč.)

**Celecoxib (Celebrex)** léčení osteoartrity, rev. artritidy

**Rofecoxib (Vioxx)** léčení osteoartrity a bolesti všeobecně; ALE více nežádoucích účinků renálních a kardiovask. (Oba léky ve zkoušení)



## \* ACHONDROPLAZIE

Mutace v genu pro receptor fibroblastového růstového faktoru a genů pro embryonální uspořádání kostního systému (Home Box Genes)

## PATOLOGIE KOLAGENU

- \* nedostatečná nebo abnormální syntéza
  - **Ehlersův-Danlosův syndrom**
  - **osteogenesis imperfecta** (gen COL1A1 a 2 → abnormální pro- $\alpha_1$ -řetězec → pro-kolagen „sebevražda“; perzistence N-propeptidu; substituce za Gly)
  - **skorbut** (vitamin C - kofaktor prolinhydroxylasy)
- \* poruchy z akumulace
  - **progresivní systémová skleróza** (nahromadění kolagenu a fibróza orgánů)
  - **keloidy** (místní zduření pro nahromadění kolagenu v jizvách)

<i>Podtyp</i>	<i>Dědičnost</i>	<i>Defekt kolagenu</i>	<i>Hlavní příznaky</i>
<b>I - postnatální fraktury, modré skléry</b>	<b>AD</b>	<b>Snížená syntéza pro-<math>\alpha_1(1)</math>-řetězce</b> <b>Abnormity pro-<math>\alpha_1(1)</math>-nebo pro-<math>\alpha_2(1)</math>-řetězce</b>	Slučitelný se životem Normální kostra Fragilita kostí Špatný vývoj dentice Poruchy sluchu Pohyblivost kloubů Modré skléry
<b>II - perinatální letální</b>	<b>Většinou AR, někdy AD (nové mutace?)</b>	<b>Krátký pro-<math>\alpha_1(1)</math>-řetězec</b> <b>Nestabilní triphelix</b> <b>Abnormální n. insuficientní pro-<math>\alpha_2(1)</math>-řetězec</b>	Smrt už v děloze n. kolem porodu Deformity skeletu Excesivní fragilita Mnohočetné fraktury Modré skléry
<b>III - progresivní deformující</b>	<b>AD (75%)</b> <b>AR (25%)</b>	<b>Změněná struktura propeptidu pro-<math>\alpha_2(1)</math>-</b> <b>Porucha tvorby trojitého helixu</b>	Slučitelný se životem Retardace růstu Mnohočetné fraktury Progresivní kyfoskolióza Modré skléry při narození (pak bledají) Poruchy sluchu Poruchy dentice
<b>IV - postnatální fraktury, normální skléry</b>	<b>AD</b>	<b>Krátký pro-<math>\alpha_2(1)</math>-řetězec</b> <b>Nestabilní trojitý helix</b>	Kompatibilní se životem Mírná fragilita skeletu Krátká postava Někdy poruchy dentice

Hyper-  
elastická  
kůže



© Espem Publishing s.r.o

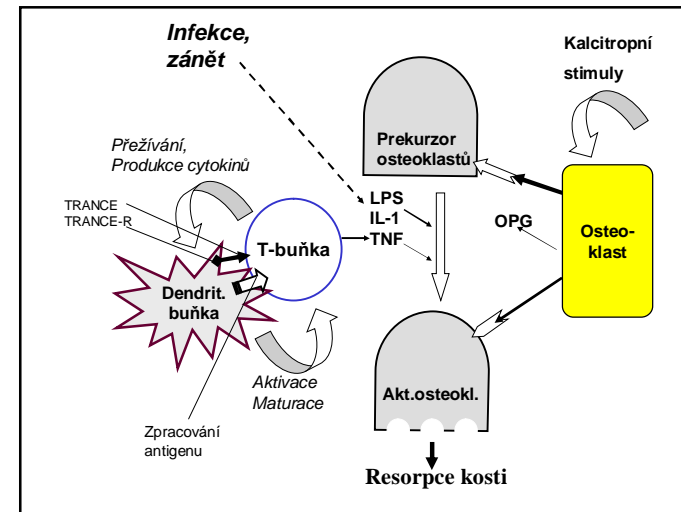
**(patologie kolagenu - pokračování)**

\* **alterace konformace kolagenu typ IV**  
/gen pro  $\alpha 2(IV)$ ,  $\alpha 4(IV)$ ,  $\alpha 5(IV)$ ,  $\alpha 6(IV)$ /  
(kolagen bazální membrány)

- **Alportův syndrom** (hematurie)

\* **dysbalance remodelace kostní tkáně**

- osteoporóza
- osteomalcie
- rachitis
- osteopetróza
- Pagetova choroba



**HOJENÍ RAN (reparace defektů tkání)**

**FIBROPLAZIE** (náhrada pojivovou tkání)

Podílí se na ní:

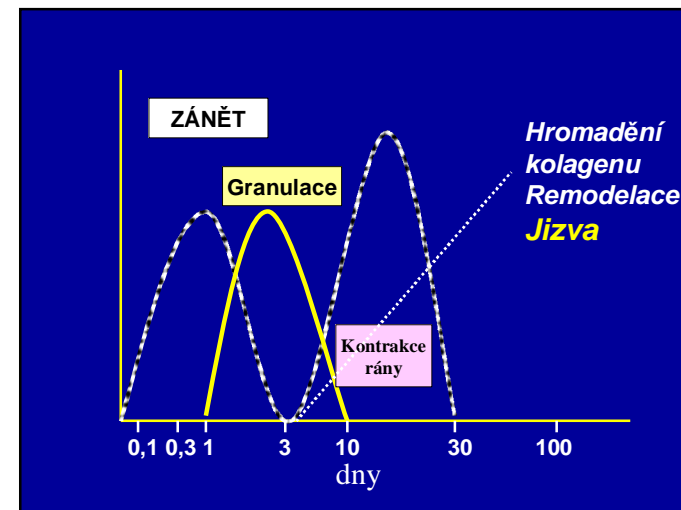
- \* **migrace buněk**
- \* **proliferace a diferenciace**
- \* **interakce s extracelulární matrix**

**Průběh:** angiogeneze - migrace a proliferace fibroblastů - ukládání EM - maturace a organizace fibrózní tkáně (remodelace)

**Tvorba granulomů**

**Fibrotizace**

**Regenerace epitelii z vrstvy na lamina basalis**



## PATOLOGIE HOJENÍ RAN

- dehiscence rány
- keloid
- vystupující granulace
- agresivní fibromatóza (desmoidy)

## MECHANISMUS FIBROPLAZIE

hojení rány → proliferace buněk → interakce  
buňka-buňka → interakce buňka-matrix →  
→ depozity extracelulární matrix  
stejně jako u fibrózy orgánů

### \* fibróza (cirhóza) jater

markery: S-hyaluronová k., S-laminin,  
*vitronektin (aktivace), tenascin (inhibice)*

### • difuzní plicní intersticiální fibróza

asbestóza (aktivace makrofágů: cytokiny, PDGF, IGF-1,  
fibronektin); sarkoidóza (nedegradovaný antigen: CD4+,  
IL-2-receptor); idiopatická plicní fibróza (fibrotiz. alveolitis)

### \* fibróza po nekrotizující pankreatitidě

### \* Goodpastureův syndrom

(proliferální progredující glomerulonefritida  
+ nekrotizující hemorhagická intersticiální  
pneumonitis) - protilátky (antigen bazální membr.)

## NEUROGLIE

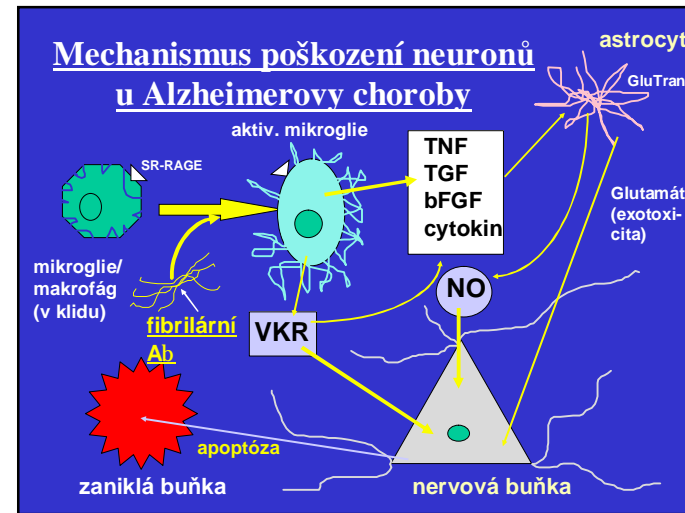
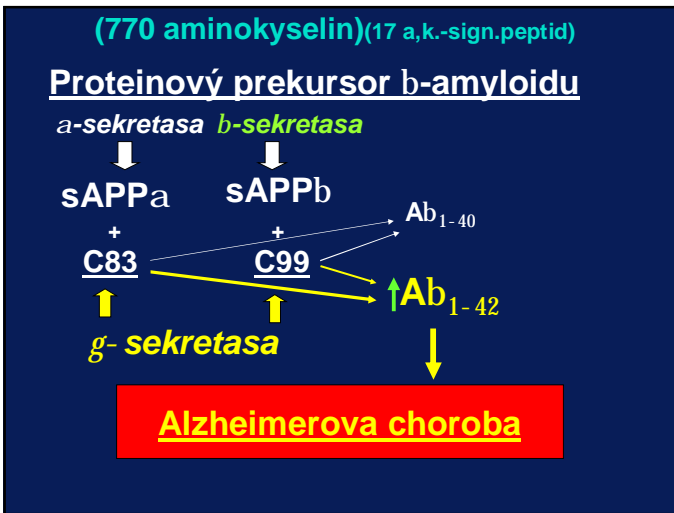
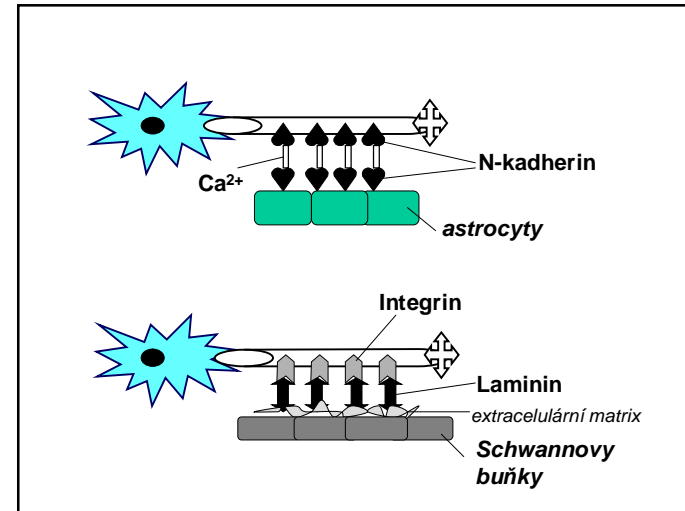
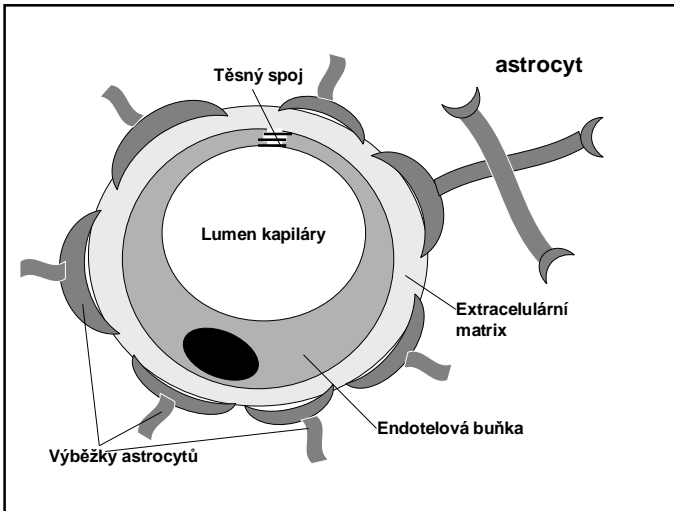
Obdoba buněk pojiva v nervstvu

Funkce: podpůrná, odděluje neurony (odstraňuje  
šum), vytváří myelin, nutriční, fagocytová, účastní  
se reparace nervové tkáně (gliová jizva)

*Neuroglie netvoří akční potenciál ani synapse*

MOZEK: makroglie (astrocyty, oligodendrocyty)  
mikroglie, ependymové buňky

Perif.NERVY: buňky Schwannovy,  
buňky satelitní



## \* SCLEROSIS MULTIPLEX

Diseminovaná ztráta myelinového obalu obalující axony nervových buněk (**demýelinizační choroba navozená autoimunitním procesem** → porucha vedení akčního potenciálu)

Myelin je produkován:

- oligodendrocyty v mozku
- Schwannovými buňkami v periferním nervstvu

Abnormální extracel.matrix v CNS se podílí na přenosu signálu: migrace leukocytů, aktivace imunitní reakce, ale též na remýelinizaci a regeneraci axonu

**Versikan** = proteoglykan ECM bílé hmoty inhibující růst neuritů a axonů

## SCLEROSIS MULTIPLEX (pokračování)

U aktivní SM: **astrocytóza a zvýšení CNS-lektikanů**

**VERSIKAN**      **AGGREKAN**      **NEUROKAN**

+ **dermatansulfát-proteoglykan**

Ubývá jich v ECM a hromadí se v makrofázích spolu s degradovaným myelinem

## Autoimunitní onemocnění kolagenu

- \* revmatoidní artritida
- \* lupus erythematosus
  
- \* skleroderma
  
- \* polymyositis
  
- \* vasculitis
  
- \* Sjögrenův syndrom
- \*\* amyloidózy .....

„ Bez kolagenu (pojiva) by byl člověk pouhou hromadou různých buněk, propojených několika neurony“