



ΠΑΘΟΓΕΝΕΙΑ ΟΥΡΙΚΗΣ ΑΡΘΡΙΤΙΔΑΣ

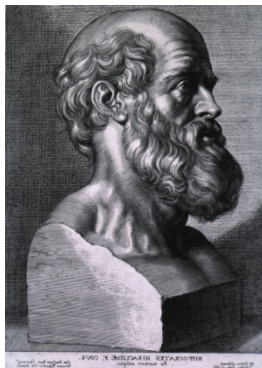
Α. Δ. Γαρύφαλλος

Καθηγητής Παθολογίας-Ρευματολογίας Α.Π.Θ.

Ιστορία της ουρικής αρθρίτιδας



Αιγύπτιοι
(2640 π.Χ.)



Ιπποκράτης
(5^{ος} αιώνας π.Χ.)



Γαληνός
(2^{ος} αιώνας)



Thomas Sydenham
(1624-1689)



Antoni van Leeuwenhoek
(1632–1723)



Sir Alfred Baring Garrod
(1819-1907)



Max Freudweiler
(1899)

Υπερουριχαιμία

Κρύσταλλοι ουρικού
μονοατρίου (MSU) & διαλυτό
ουρικό

- Διαχείριση του ουρικού
Παραγωγή
Νεφρική αποβολή
Εξωνεφρική αποβολή

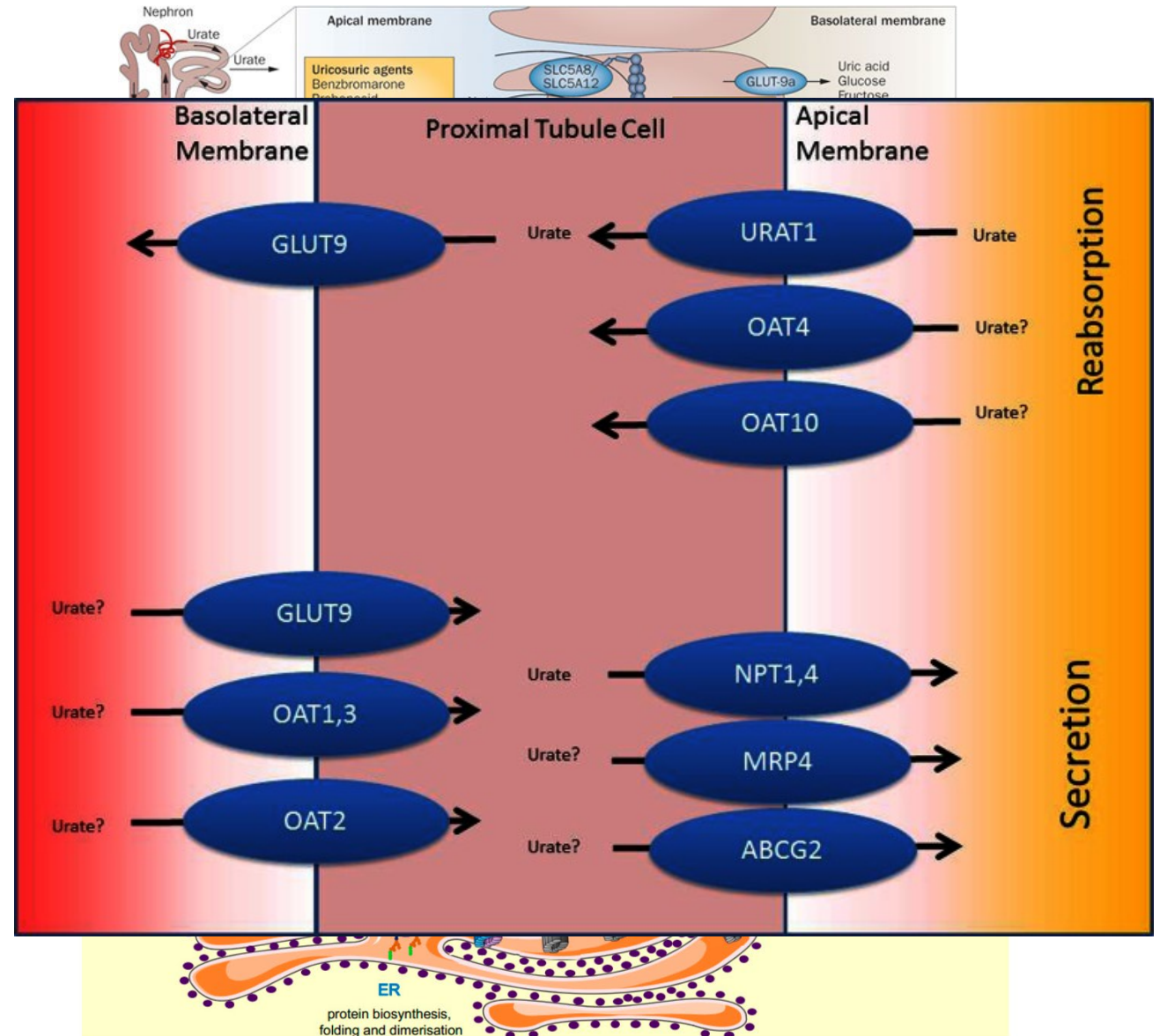
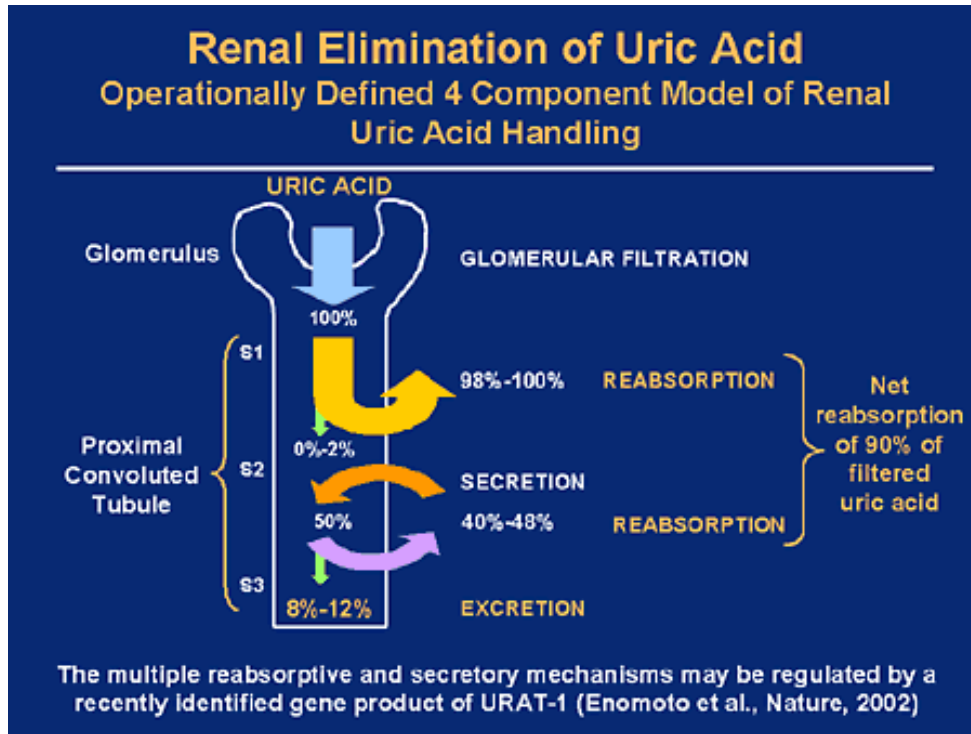
Όριο κρυστάλλωσης στον ορό τα 6,8
mg/dl στους 37⁰ C
Καθίζηση σε χαμηλές θερμοκρασίες
παρουσία K⁺, CU²⁺, Mg⁺⁺
λευκωματίνης, σφαιρινών,
κολλαγόνου-1

Παραγωγή κυρίως στο ήπαρ αλλά και σε
έντερο, μυς, νεφρούς ενδοθήλιο

Τα 2/3 αποβολή από νεφρό

Το 50% της αντιοξειδωτικής δράσης
στον άνθρωπο

Νεφρική και εξωνεφρική αποβολή του ουρικού



Δυνατότητα δπλασιασμού της
ανά νεφρώνα αποβολής

Garyfallos A et al, Nephron, 1987
Hyndman D et al, Curr Rheumatol Rep, 2016

Παράγοντες κινδύνου

ΜΗ ΤΡΟΠΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟΙ

- ✓ Ανδρικό φύλο
- ✓ Ηλικία
- ✓ Εθνικότητα
- ✓ Γενετικό υπόστρωμα

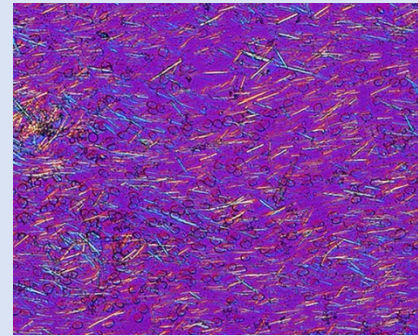
ΤΡΟΠΟΠΟΙΟΥΜΕΝΟΙ

- ✓ Παχυσαρκία
- ✓ Υπέρταση
- ✓ Εμμηνόπαυση
- ✓ Νεφρική νόσος
- ✓ Διουρητικά
- ✓ Σόδα, χυμοί, φρουκτόζη
- ✓ Φάρμακα (CsA, ασπιρίνη)

Ο ρόλος της διαίτας

Σχηματισμός κρυστάλλων

- Σχέση ουρικής αρθρίτιδας και σχηματισμού κρυστάλλων
- Σχέση επιπέδων ουρικού και νόσου
- Το 1/3 μόνο μη πασχόντων με υπερουριχαιμία έχουν κρυστάλλους
- Σε ασθενείς ύπαρξη αδρανών κρυστάλλων χωρίς φλεγμονή
- Σύσταση αρθρικού υγρού



Οξεία φλεγμονή

- Ο ρόλος της φυσικής ανοσίας – αυτοφλεγμονώδης διαδικασία
- Φλεγμονώδης υπερπλασία αρθρικού υμένα
- Φαγοκυττάρωση MSU από πολυμορφοπύρρηνα
- Ρόλος μονοκυττάρων/Mφ, τύπου Α κυττάρων αρθρικού υμένα

Αυτοανοσία & Αυτοφλεγμονή

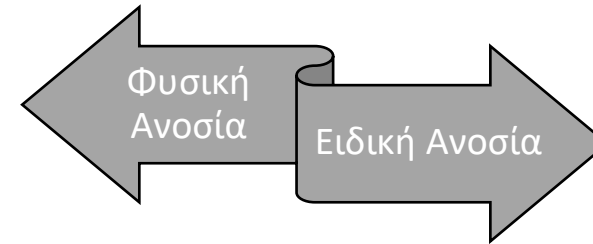
ΑΥΤΟΑΝΟΣΙΑ



ΕΝΔΟΓΕΝΗΣ ΕΝΕΡΓΟΠΟΙΗΣΗ ΤΗΣ
ΦΥΣΙΚΗΣ ΑΝΟΣΙΑΣ



ΑΥΤΟΦΛΕΓΜΟΝΗ

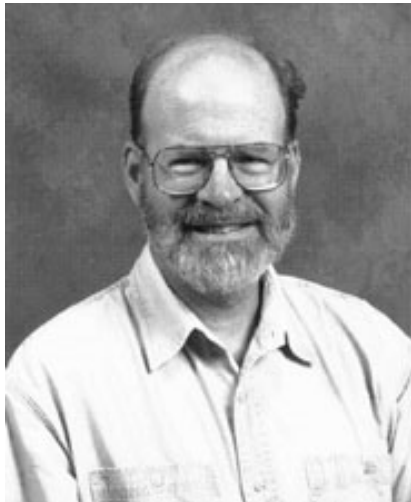


Φυσική ανοσία

- Πρώτη γραμμή άμυνας
- «Πρωτόγονος» μηχανισμός
- Όχι απόλυτα ειδική
- Υποδοχείς «περιορισμένης ποικιλίας» PRRs (Pathogen-Recognition Receptors)

Η σπουδαιότητα της Φυσικής ανοσίας

- Janeway predicted in 1989 that **activation of the adaptive immune response is controlled by the more ancient innate immune system**. He proposed a general theory of innate immune recognition (pattern recognition theory) and suggested the principles of innate control of adaptive immunity



Charles Janeway, Jr.
(1943–2003)

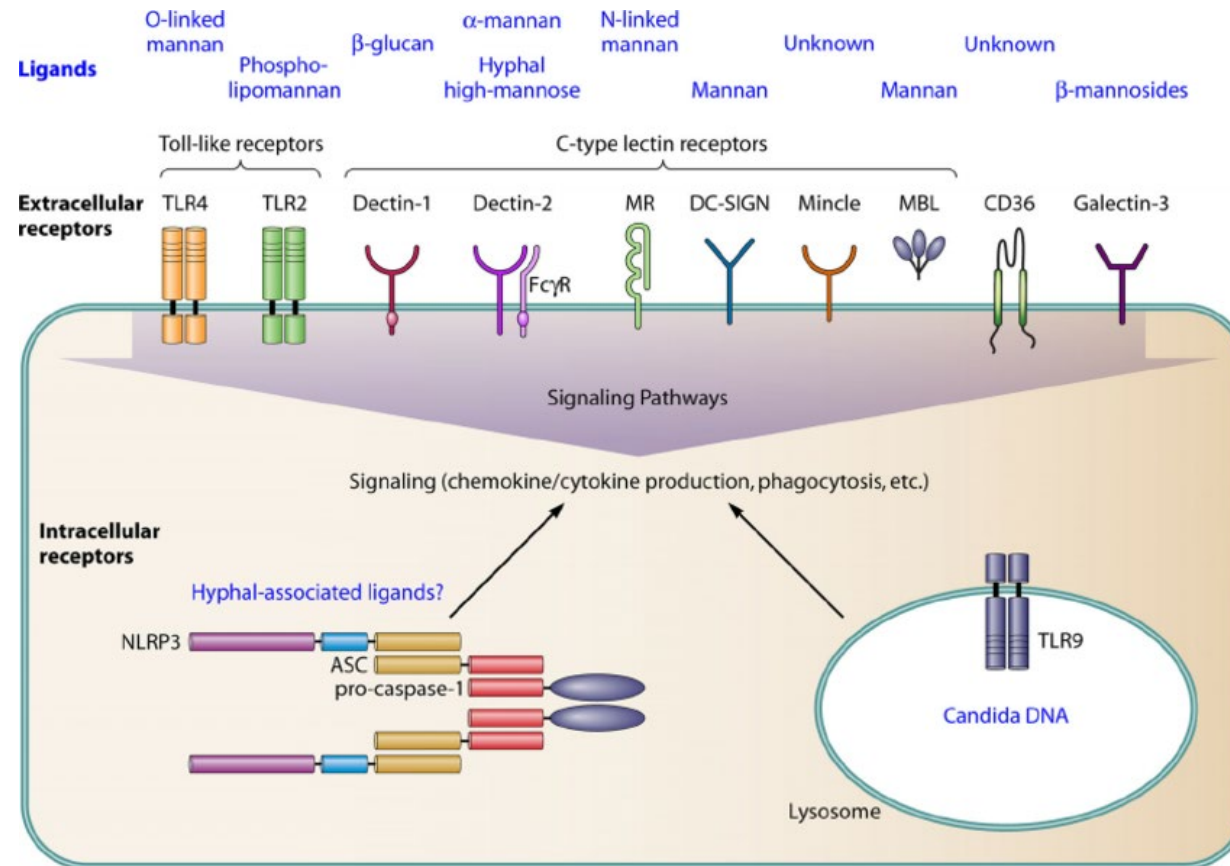
Η ενεργοποίηση της Επίκτητης
Ανοσίας ελέγχεται από το
αρχαιότερο σύστημα της Φυσικής
ανοσίας

Janeway Jr, CA (1989). "Approaching the asymptote? Evolution and revolution in immunology".
Cold Spring Harbor symposia on quantitative biology **54 Pt 1**: 1–13.

PRRs



PAMPs
DAMPs

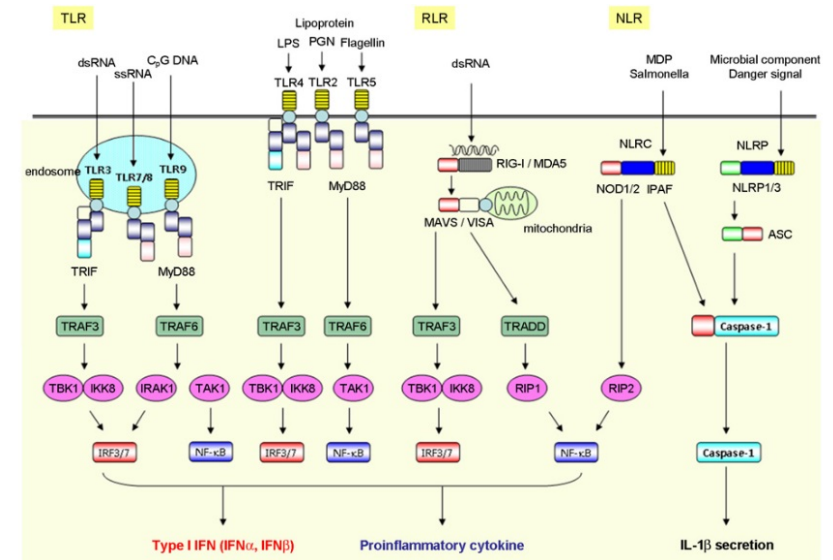


PAMPs (Pathogen-Associated Molecular Patterns)

- LPS
- Πεπτιδογλυκάνες, λιποτειχοϊκά οξέα, μαννάνες
- Μη μεθυλιωμένο DNA
- dsRNA
- Γλυκάνες, πολυσακχαρίτες, πρωτεΐνες

Υποδοχείς κυττάρων

- **TLRs** → Διαμεμβρανικοί & Ενδοκυττάριοι
- **NLRs** → Ενδοκυττάριοι
- **RLRs** → Ενδοκυττάριοι
- **MDA5** → Ενδοκυττάριοι
- **C-type lectin Rs** (Δεκτίνες 1 κ 2, MINCLE) → Διαμεμβρανικοί
- **N-fmetRs** (formyl methionine Rs) → Διαμεμβρανικοί

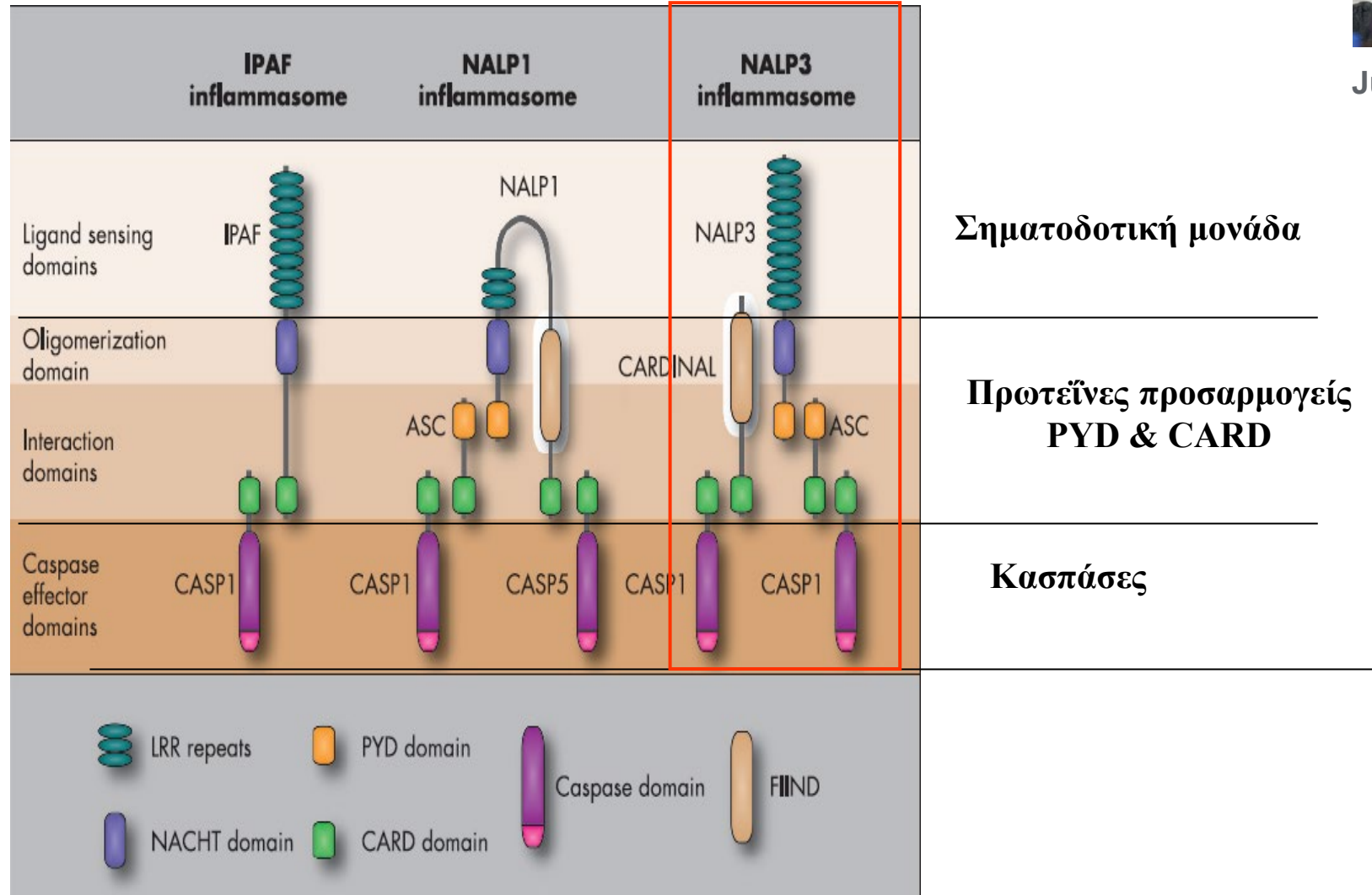


- Αναγνωρίζουν κοινές δομές παθογόνων **PAMPs** (Pathogen Associated Molecular Patterns)
LPS, ιικό RNA κ.α
- Αναγνωρίζουν «σήματα κινδύνου» **DAMPs** (Damage Associated Molecular Patterns)
DNA, RNA, UA κ.α

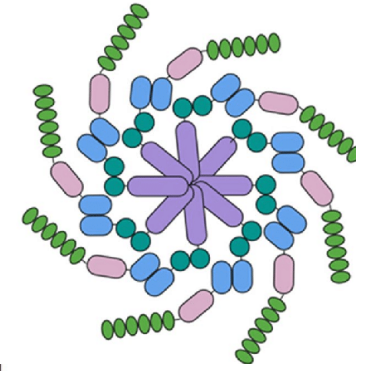
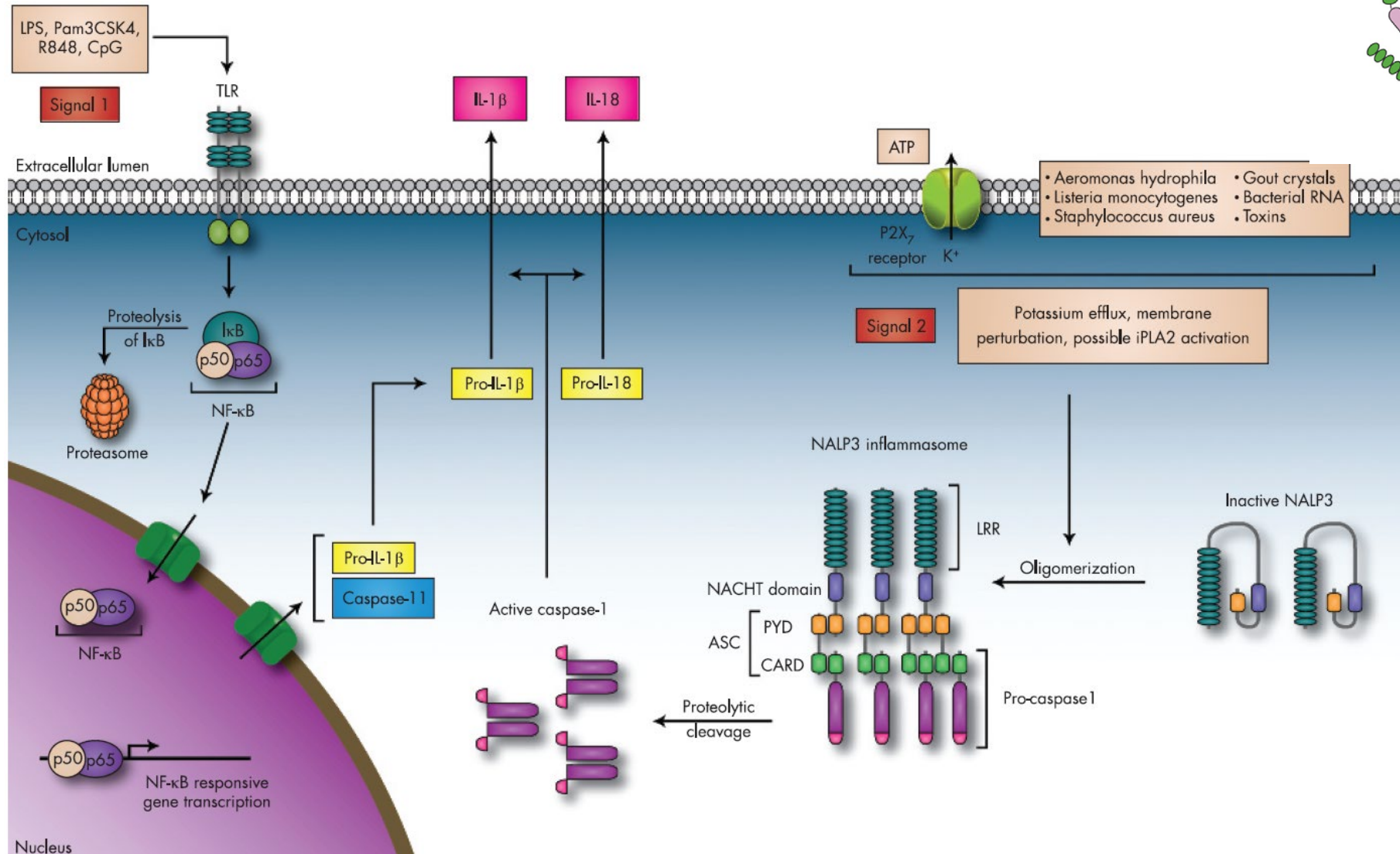
Φλεγμονόσωμα NLRP3



Jürg Tschopp
(1951-2011)



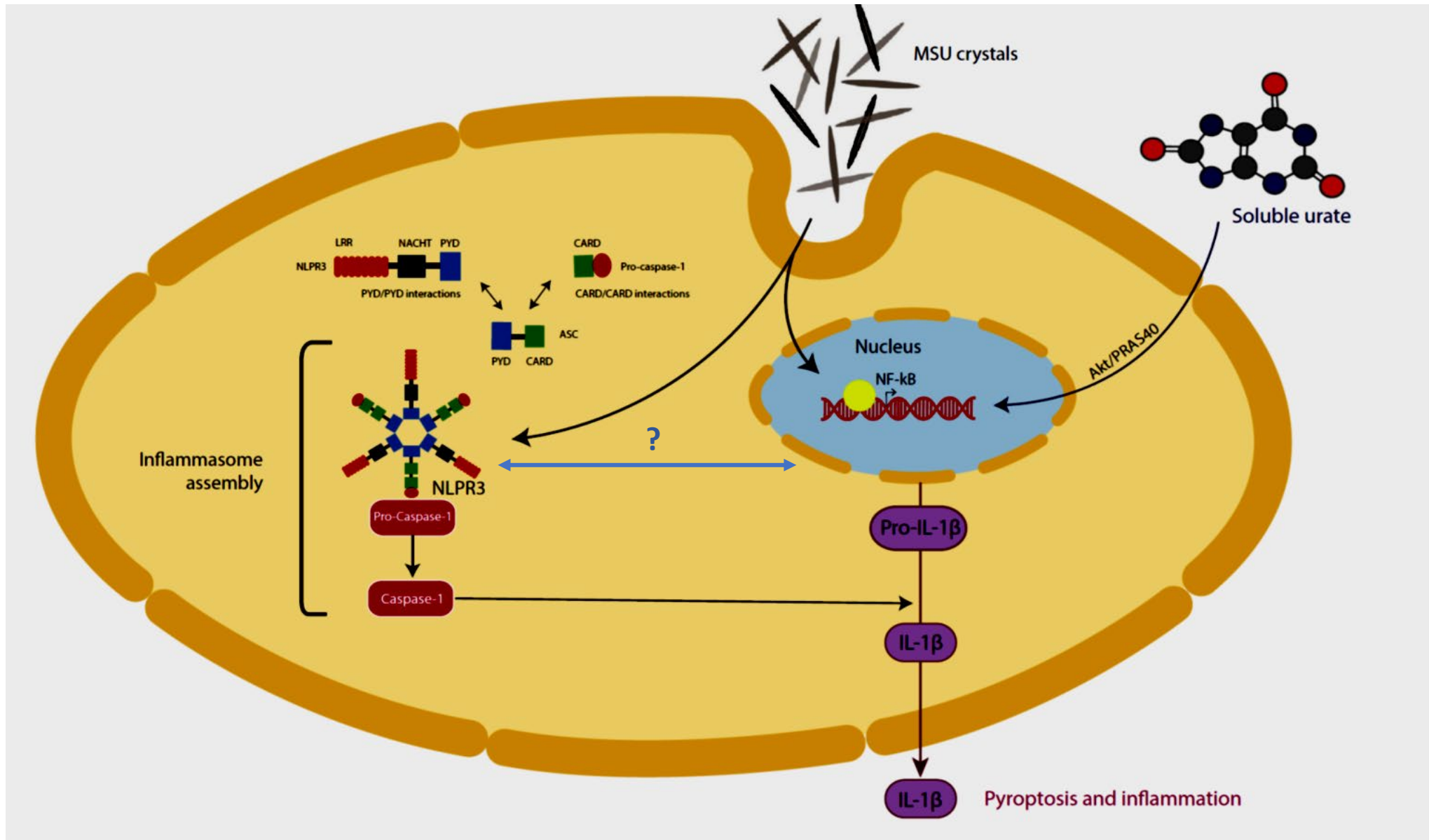
Η έκκριση της IL-1 β απαιτεί δύο βήματα



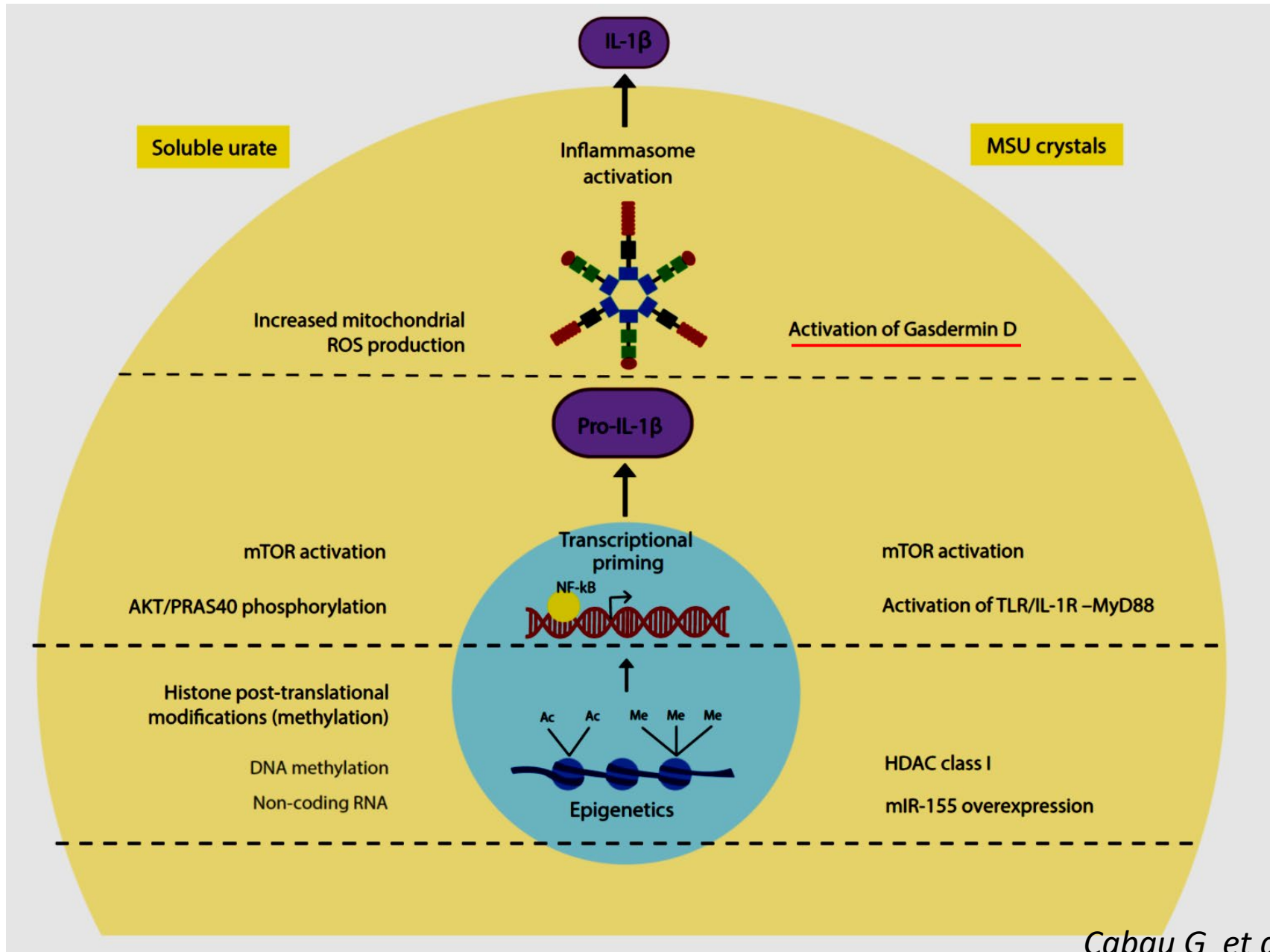
Έναρξη οξείας φλεγμονής

- Οι κρύσταλλοι λειτουργούν ως DAMPs
- Οι κρύσταλλοι των τόφων πιο φλεγμονογόνοι
- Ο ρόλος της IgG (απελευθέρωση ROS & λυσοσωματικών ενζύμων από τα ουδετερόφιλα)
- Κατασταλτική δράση της ApoB
- Ύπαρξη αδρανών κρυστάλλων για μήνες ή χρόνια
- Συμμετοχή πολλών κυτταρικών σειρών (ουδετεοφίλων, μονοκυττάρων/Μφ, δένδριτικών κυττάρων)

Η δράση των MSU κρυστάλλων και του διαλυτού ουρικού στην παραγωγή IL-1 β



Μηχανισμοί φλεγμονής των κρυστάλλων και του διαλυτού ουρικού



Μνήμη φυσικής ανοσίας;

Trained Immunity: A Memory for Innate Host Defense

Mihai G. Netea,^{1,*} Jessica Quintin,¹ and Jos W.M. van der Meer¹

¹Department of Medicine and Nijmegen Institute for Infection, Inflammation, and Immunity, Radboud University Nijmegen Medical Center, Nijmegen, The Netherlands

Trained immunity

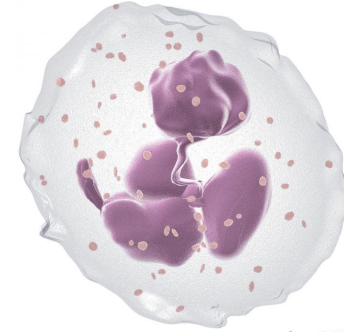
- Υπάρχει στα **φυτά και στα ασπόνδυλα** (π.χ. έντομα) και διαρκεί διά βίου
- Ποσοτικές αλλαγές: (Διαρκούσα αύξηση δραστηριότητας των TLRs, αύξηση υποδοχέων πεπτιδογλυκανών, λεκτίνης κ.ά.) → Επαύξηση υπαρχόντων μηχανισμών
- Ποιοτικές αλλαγές: ανάλογες με αυτές των RAGs στο receptor editing των Igs
Στροφή από οξειδωτική φωσφορυλίωση στην αερόβια γλυκόλυση
- **Στα σπονδυλωτά:** Μετά BCG αυξημένη αντίσταση και σε άλλες λοιμώξεις και αντίσταση σε *Candida albicans* (ex vivo). Μεταβολές στη λειτουργία των Mφ και NK κυττάρων
- Πιθανές επιγενετικές επιδράσεις και επαναπρογραμματισμός
- Πιθανή βλαπτική επίδραση από την παρατεταμένη διέγερση
- Ρόλος στην αθηροσκλήρωση

Ουδετερόφιλα

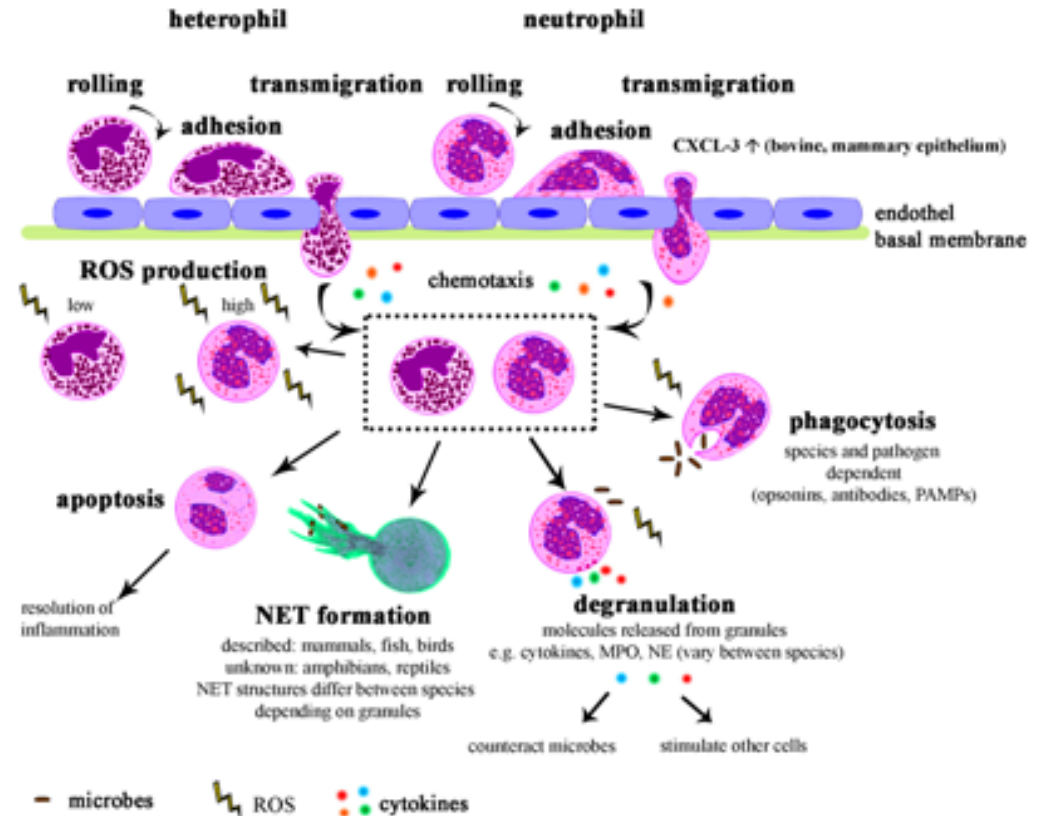
➤ Χημειοταξία από

- ✓ AMPs
- ✓ IL-8
- ✓ LB4
- ✓ C3a – C5a
- ✓ N-fmet

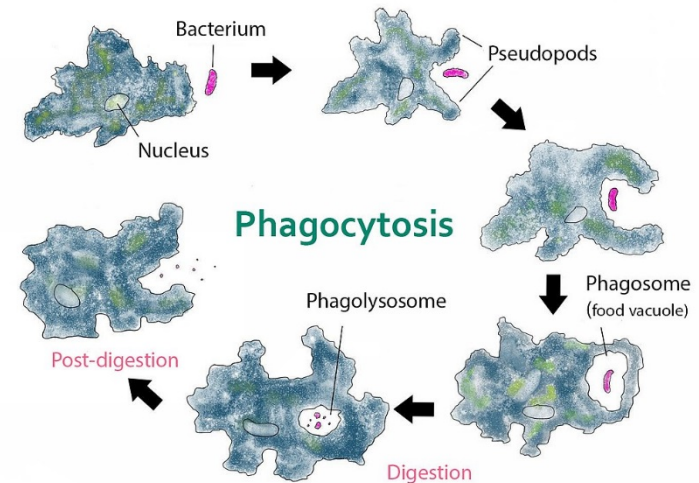
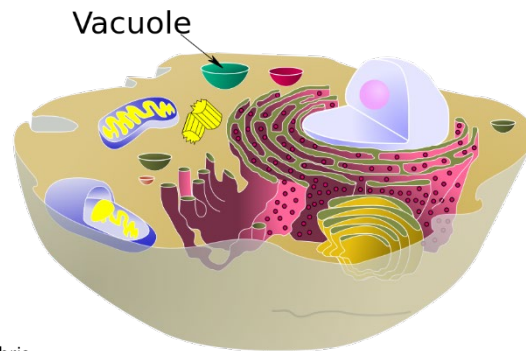
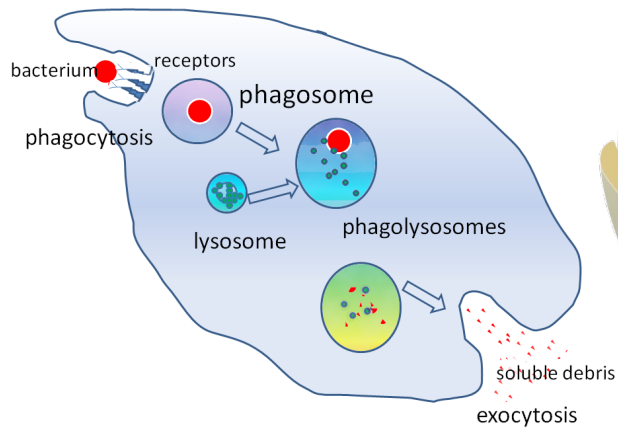
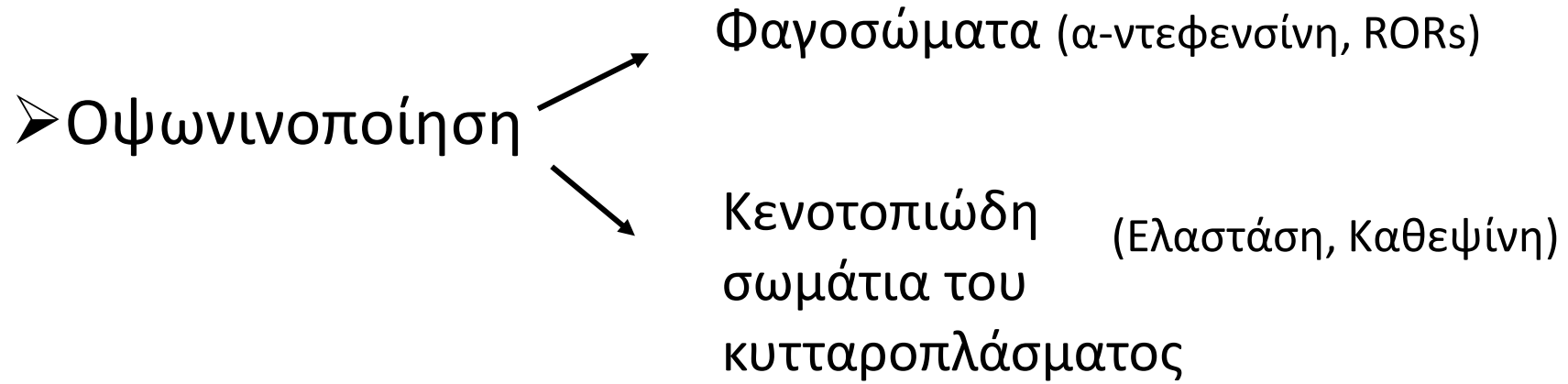
Μετανάστευση στις θέσεις φλεγμονής



wiseGEEK



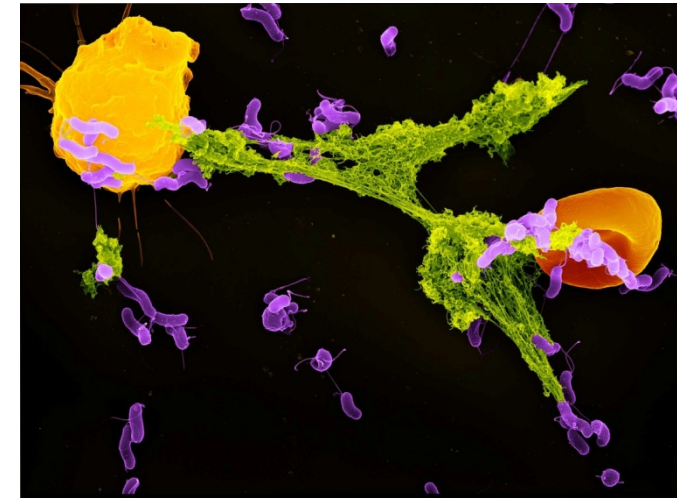
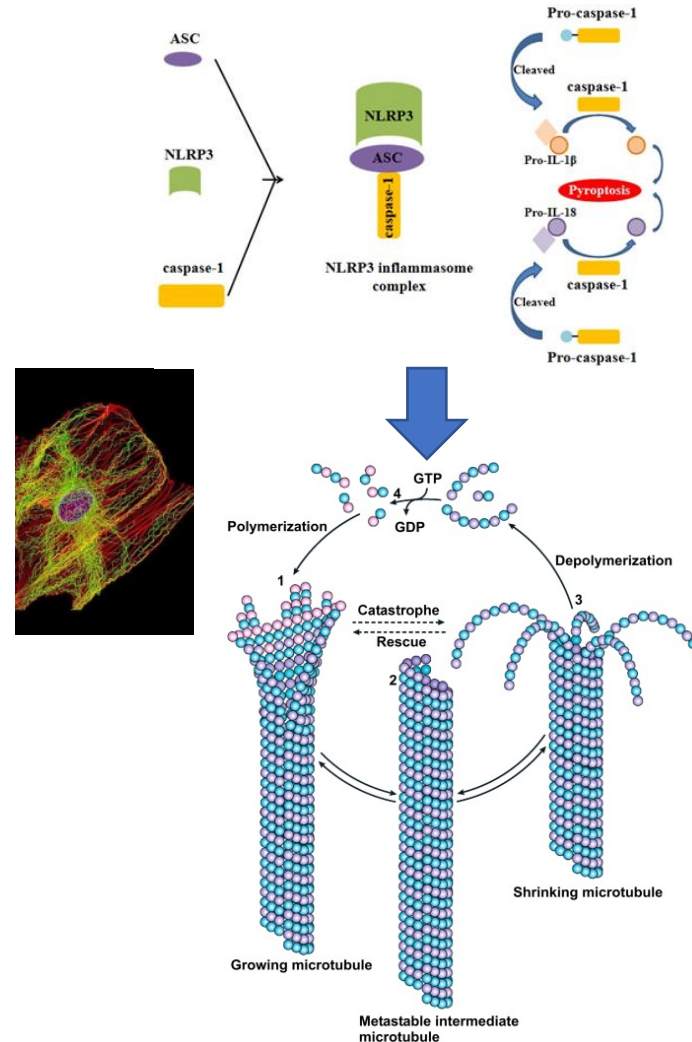
Δράση ουδετεροφίλων



Ενεργοποίηση των ουδετεροφίλων από MSU

Οι MSU κρύσταλλοι

- Διέγερση του NLRP3 μέσω πολυμερισμού των μικροσωληναρίων του κυτταροσκελετού και επιστράτευσης των μορίων ASC (PYD & CARD)
- Προκαλούν έντονη έκφραση των NETs



Gagné V et al, Arthr Res Ther 2013
Schauer C et al, Nature Med, 2014

Ενεργοποίηση των ουδετεροφίλων από MSU

- Φαγοκυττάρωση MSU κρυστάλλων → αποκοκκίωση
→ λύση κυτταρικών και
λυσσωματικών μεμβρανών
- Καταστολή κατασταλτικών παραγόντων ανεξάρτητη της δράσης της IL-1 β
(π.χ. της MICLE-myeloid inhibitory C type lectin-like receptor)

Gagné et al. *Arthritis Research & Therapy* 2013, 15:R73
<http://arthritis-research.com/content/15/4/R73>



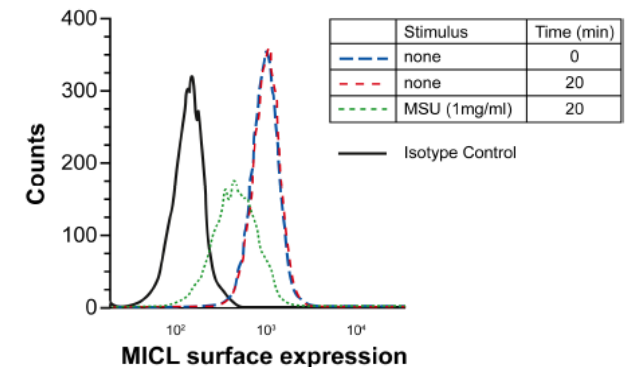
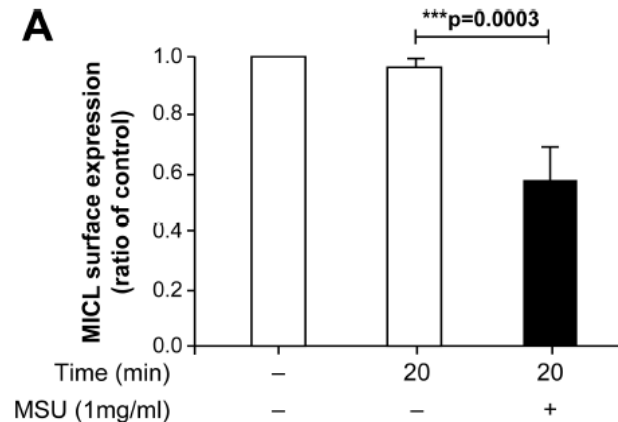
RESEARCH ARTICLE

Open Access

Modulation of monosodium urate crystal-induced responses in neutrophils by the myeloid inhibitory C-type lectin-like receptor: potential therapeutic implications

Valérie Gagné^{1†}, Louis Marois^{1†}, Jean-Michel Levesque¹, Hugo Galameau¹, Mireille H Lahoud², Irina Caminschi², Paul H Naccache¹, Philippe Tessier¹ and Maria JG Fernandes^{1*}

Results: MSU induced the downregulation of MICL expression in neutrophils. A diminution in the expression of MICL induced by antibody cross-linking or siRNA enhanced the MSU-dependent increase in cytoplasmic calcium levels, protein tyrosine phosphorylation and IL-8 but not IL-1 production. Pretreatment of neutrophils with colchicine inhibited the MSU-induced downregulation of MICL expression.



Gagné V et al, *Arthr Res Ther* 2013

Η δράση των NETs στην ουρική αρθρίτιδα

Aggregated neutrophil extracellular traps limit inflammation by degrading cytokines and chemokines

Christine Schauer¹, Christina Janko^{1,2}, Luis E Munoz¹, Yi Zhao^{1,3}, Deborah Kienhöfer¹, Benjamin Frey⁴, Michael Lell⁵, Bernhard Manger¹, Jürgen Rech¹, Elisabeth Naschberger⁶, Rikard Holmdahl⁷, Veit Krenn⁸, Thomas Harrer¹, Ivica Jeremic^{1,9}, Rostyslav Bilyy¹⁰, Georg Schett¹, Markus Hoffmann¹ & Martin Herrmann¹

- Τα NETs αποτελεσμα οξειδωτικής έκρηξης με την δράση των ROS

- **Στα αρχικά στάδια**

Λίγα ουδετερόφιλα → έκλυση φλεγμονογόνων παραγώγων (TNF-α, IL-6, IL-8 κ.ά) → αρχική εμφάνιση NETs → έντονη φλεγμονή

- **Σε προχωρημένα στάδια**

Αφθονία ουδετεροφίλων → aggNETs → αποδόμηση φλεγμονογόνων παραγώγων → τερματισμός φλεγμονής

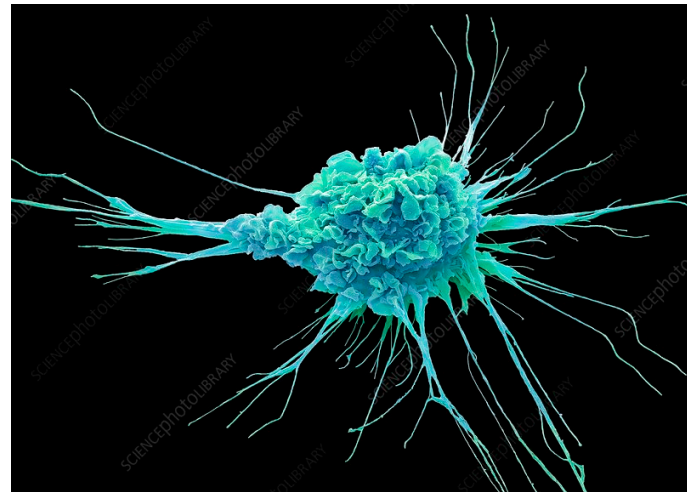
Διπλός ο ρόλος των NETs στη φλεγμονώδη διαδικασία

Έλλειψη παραγωγής ROS → έντονη και χρονίζουσα φλεγμονή λόγω αδυναμίας παραγωγής AggNETs

Ενεργοποίηση Μακροφάγων και Δενδριτικών κυττάρων από MSU

Οι MSU κρύσταλλοι

- Ενεργοποιούν Mφ και DCs επάγοντας την έκφραση συνδιεγερτικών μορίων, όπως το CD86 (B7-2)
- Στροφή του μεταβολισμού από την οξειδωτική φωσφορυλίωση προς την αερόβια γλυκόλυση
- Έκλυση IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , COX2, LTB-4



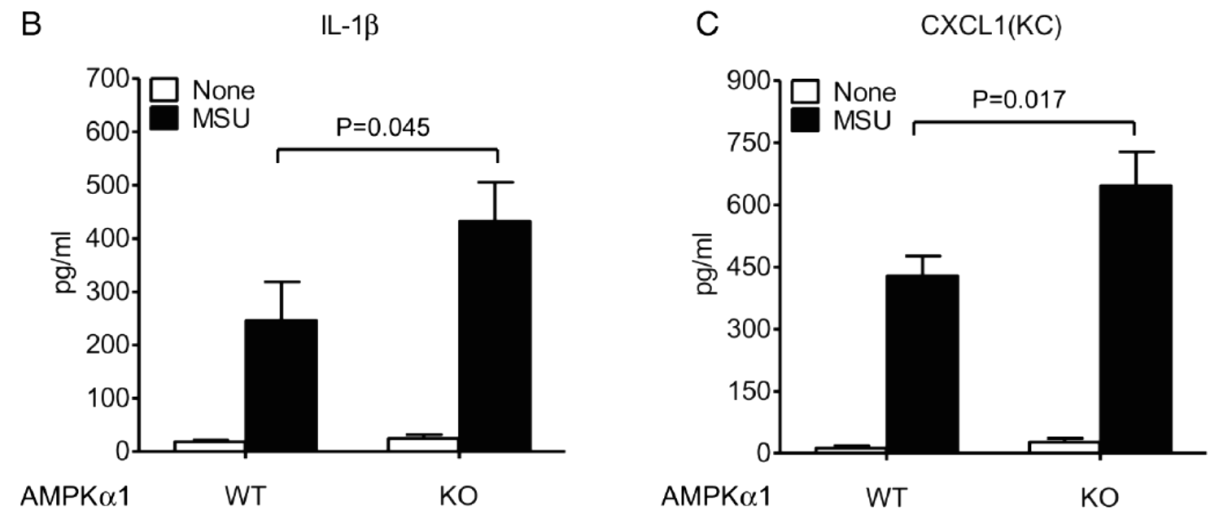
EXTENDED REPORT *Ann Rheum Dis* 2016;**75**:286–294

AMP-activated protein kinase suppresses urate crystal-induced inflammation and transduces colchicine effects in macrophages

Yun Wang,¹ Benoit Viollet,^{2,3,4} Robert Terkeltaub,^{1,5} Ru Liu-Bryan^{1,5}

AMPK: Κυτταρικός βιοαισθητήρας με αντιφλεγμονώδεις ιδιότητες

- Αύξηση AMP/ATP
- Αναστολή εν μέρει του NF-κB
- Σταθεροποιεί τα μικροσωληνάρια
- Αυξάνει την αυτοφαγία
- Ελαττώνει *in vitro* & *in vivo* τη φλεγμονή από MSU
- Αυξάνει τα M2 Mφ
- Σαφής ελάττωση της δραστηριότητας σε λήψη αλκοόλ, παχυσαρκία, ΣΔ



Ο ρόλος των Μακροφάγων/Μονοκυττάρων

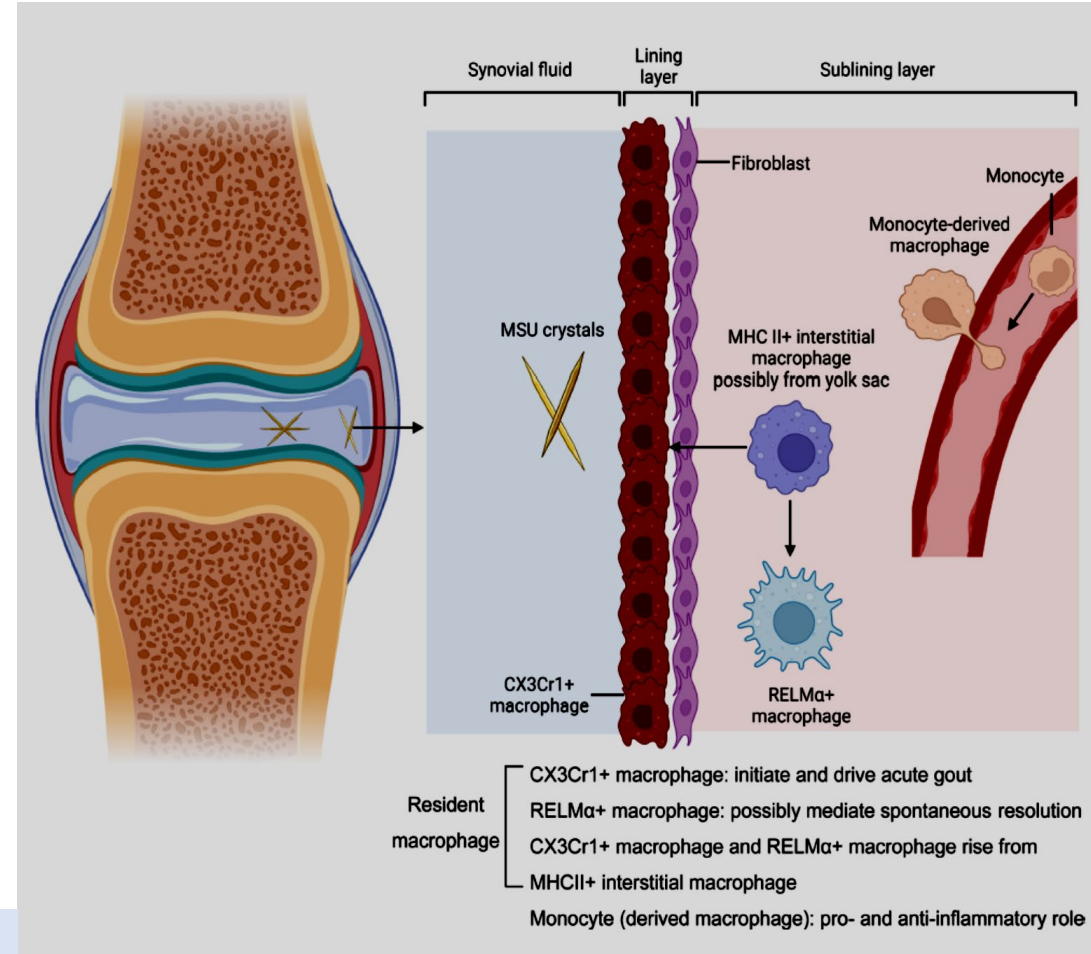
- Τοπικά Μφ και Μονο/Μφ → φλεγμονή
- Στη ΡΑ τα τοπικά Μφ → αντιφλεγμονώδη δράση
- Τα τοπικά Μφ πιθανόν από την εμβρυϊκή ζωή

Στον αρθρικό υμένα 3 υποπληθυσμοί τοπικών Μφ

- CX3Cr1 → φραγμός, έντονη φαγοκυττάρωση
- MHCII διάμεσα → στροφή σε CX3Cr1
- RELMα+CD163+206+ → στροφή **M2** & σε MHCII

Τα **CD14 Μονο/Μφ** παράγουν IL-8 αλλά και IL-10

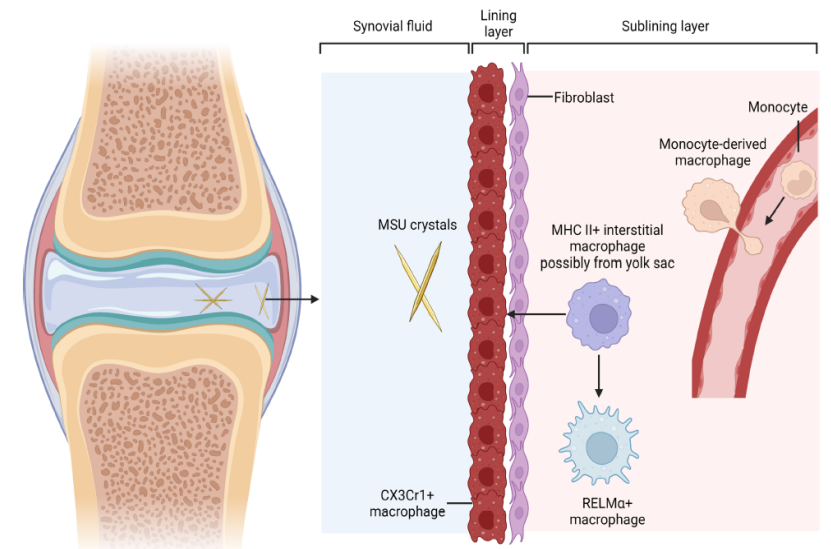
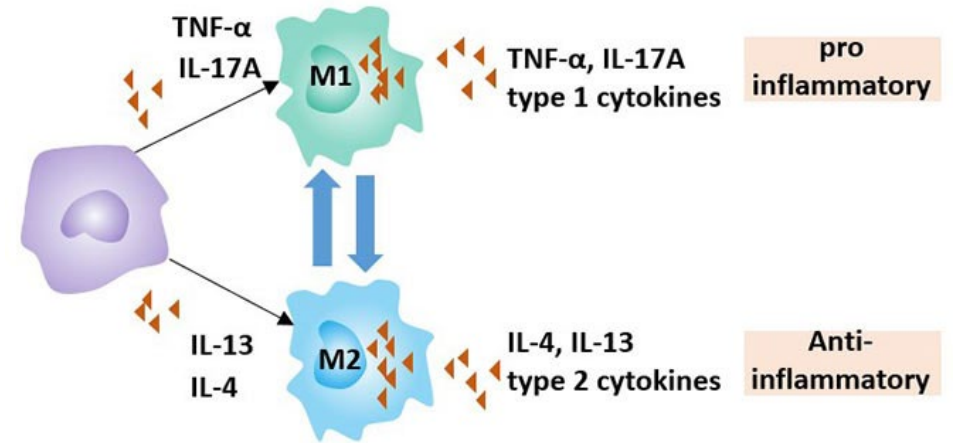
Έχουν M1 & M2 δείκτες Τα M1 επικρατούν στην αρχική φάση



Ο ρόλος των Μακροφάγων/Μονοκυττάρων

ΣΥΜΠΕΡΑΣΜΑΤΙΚΑ

- Τα CX3Cr1 αρχίζουν τη φλεγμονώδη διαδικασία –ασκούν έντονα φλεγμονογόνο δράση
- Τα RELMα+CD163+206+ στροφή κυρίως σε M2 συμβάλλουν στην ύφεση
- Τα CD14+ Μοπο έχουν φλεγμονογόνο αλλά και αντιφλεγμονώδη δράση



- Resident macrophage
- CX3Cr1+ macrophage: initiate and drive acute gout
 - RELMα+ macrophage: possibly mediate spontaneous resolution
 - CX3Cr1+ macrophage and RELMα+ macrophage rise from
 - MHCII+ interstitial macrophage
 - Monocyte (derived macrophage): pro- and anti-inflammatory role

Λύση της φλεγμονής

- Αλλαγή στις ιδιότητες των κρυστάλλων.
Ελάττωση της IgG & αύξηση της ApoB
- Εμφάνιση αντιφλεγμονογόνων παραγόντων
(TGFβ, IL-10, IL-1Ra, IL-37)
- Πιθανόν διπλός ρόλος των NETs: αποδόμηση
φλεγμονογόνων κυτταροκινών & χημειοκινών
και πιθανόν ρόλος στον σχηματισμό των τόφων

Χρόνια φλεγμονή - Τόφοι

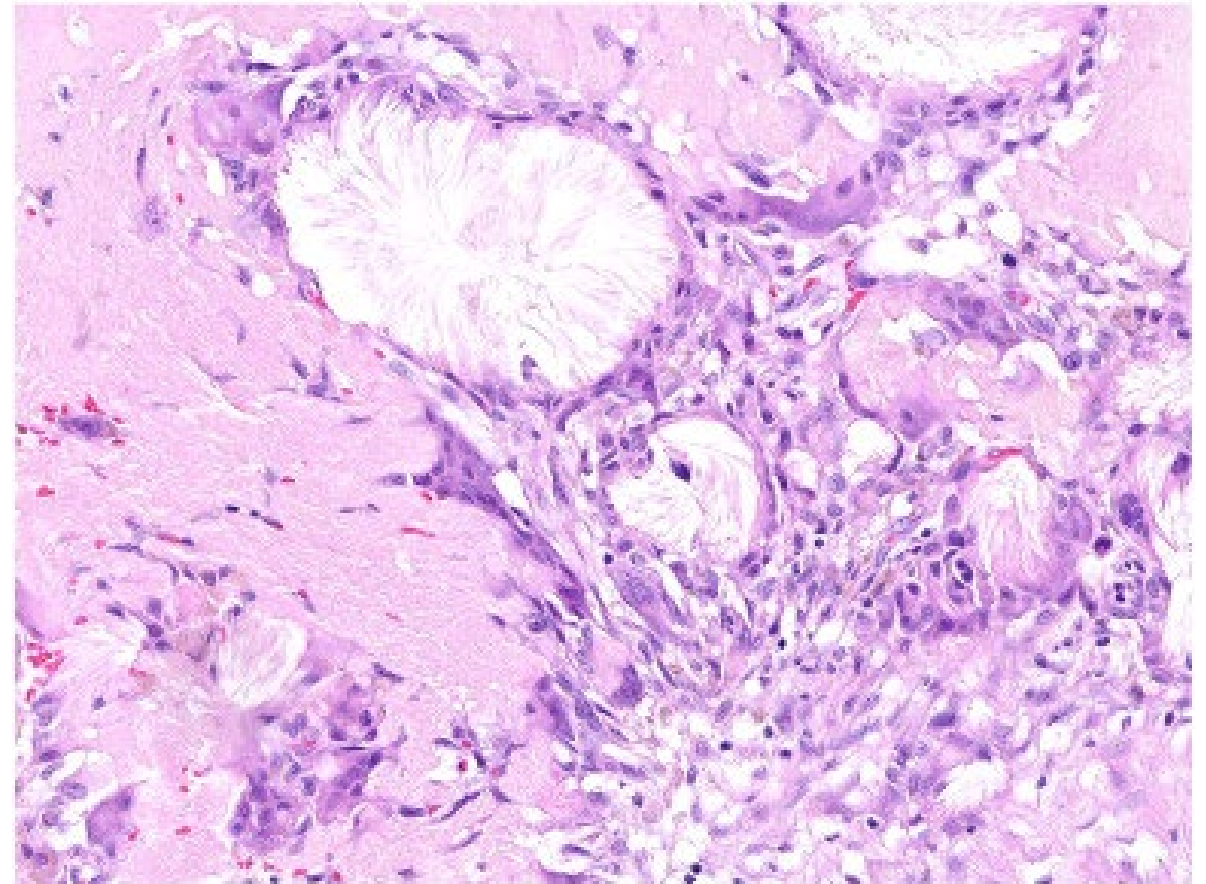
Τόφοι στις αρθρώσεις, περιαρθρικά, οστά, δέρμα, τένοντες, χόνδροι, παρεγχυματικά

Περιφερική ζώνη: Άφθονα CD68 Μονο/Μφ,
Πλασματοκύτταρα
Μέτρια Τ-λ/κ, σιτευτικά
Ινοαγγειακή ζώνη: Λίγα Β λ/κ

- Μικροτόφοι στον αρθρικό υμένα ακόμη και αν δεν υπάρχει ποτέ προσβολή της άρθρωσης
- Πιθανή θέση έναρξης των εξάρσεων



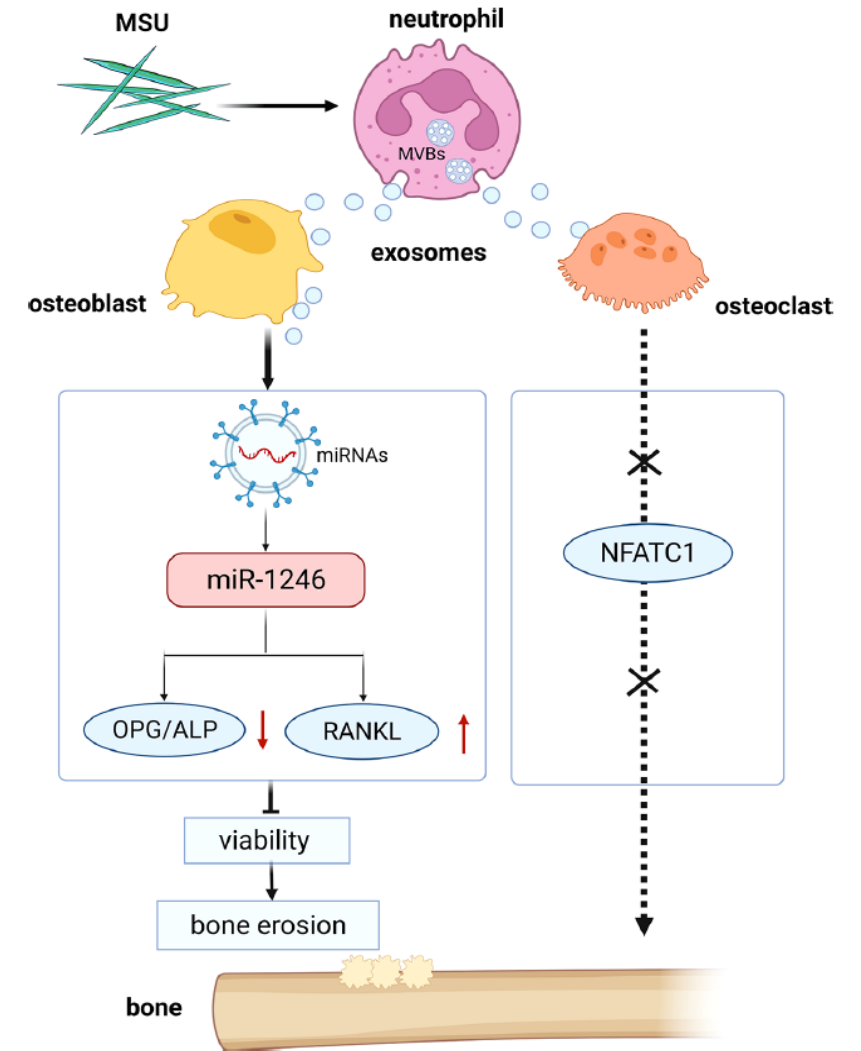
A



Αρθρική καταστροφή



- Οι τόφοι προκαλούν διαβρώσεις
- Οι MSU πιθανόν μέσω των εξωσωμάτων των ουδετεροφίλων αλλάζουν τη σχέση RANKL/OPG στους οστεοβλάστες, ελαττώνοντας την OPG. Η δράση στους οστεοκλάστες μάλλον έμμεση
- Τ λ/κ στους τόφους εκφράζουν επίσης RANKL
- Έκλυση μεταλλοπρωτεϊνών, διάσπαση θεμέλιας ουσίας και θραύση υαλίνης



Dalbeth N et al, Arthr Rheum, 2008
Choe JY et al, J Rheumatol, 2011
Chhana A Rheum Dis North Am 2014
Jia E et al, Front Immunol, 2022

Αρθρική καταστροφή

- Οι οστεοβλάστες φαγοκυτταρώνουν τους MSU διεγείρουν το NLRP3 χωρίς να αυξάνουν την παραγωγή IL-1β
- Φαγοκυττάρωση με παραμονή άθικτων των κρυστάλλων στα φαγοσώματα
- Αύξηση των καταβολικών διεργασιών με ατελή ασβεστοποίηση & αυξημένη αποδόμηση του στρώματος
- Αναστολή της αυτοφαγίας

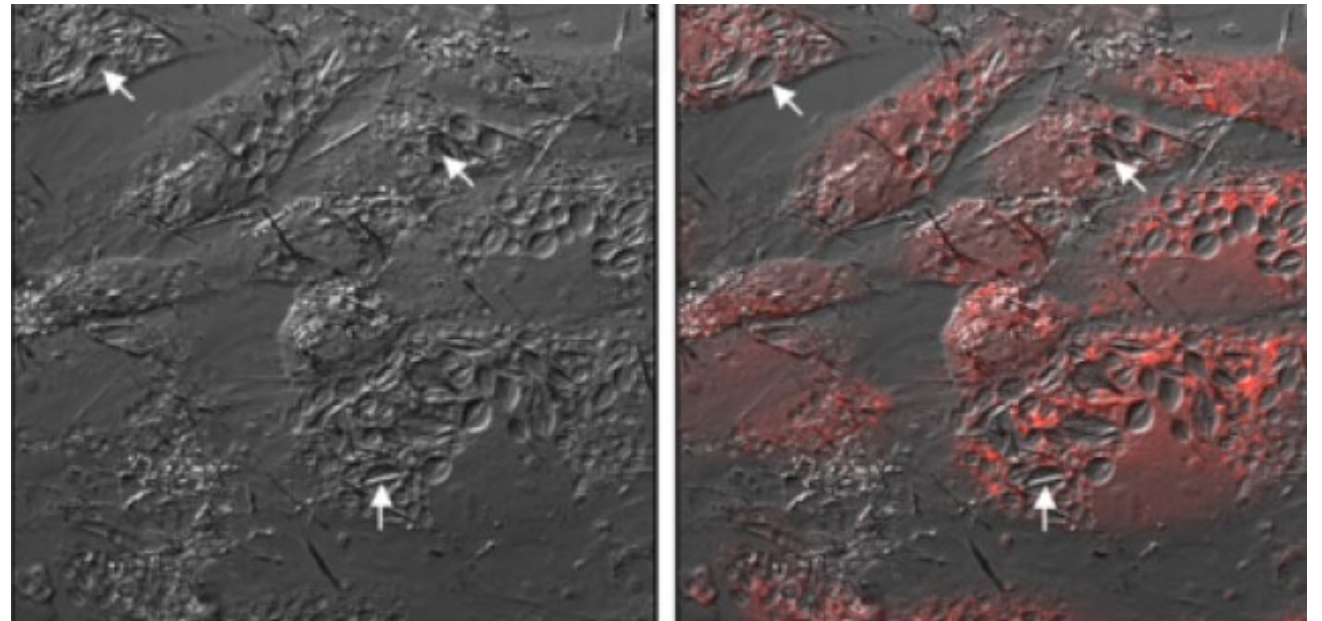
Allaeyts *et al. Arthritis Research & Therapy* 2013, **15**:R176
<http://arthritis-research.com/content/15/6/R176>

RESEARCH ARTICLE

Open Access

NLRP3 promotes autophagy of urate crystals phagocytized by human osteoblasts

Isabelle Allaeyts¹, François Marceau¹ and Patrice E Poubelle^{1,2*}



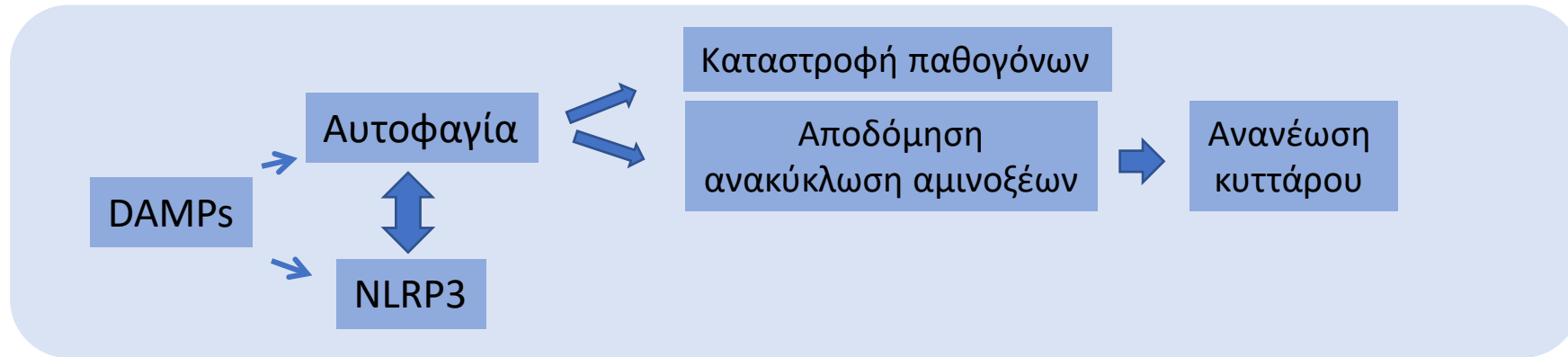
Σχέση αυτοφαγίας και NLRP3

**Autophagy, NLRP3 inflammasome and
auto-inflammatory/immune diseases**

Z. Zhong, E. Sanchez-Lopez, M. Karin

- NLRP3 ως βιοαισθητήρας ιστικής βλάβης
 - Δέχεται σήματα από εισροή & εκροή ιόντων, διάσπαση μεμβρανών, διαταραχή μιτοχονδρίων
 - Αύξηση ή ελάττωση του mitROS => διέγερση ή καταστολή του NLRP3
 - Αυξημένη είσοδος Ca⁺⁺ στο μιτοχόνδριο
Οξείδωση του mitDNA
- } αύξηση του mitROS και
διέγερση του NLRP3

Σχέση αυτοφαγίας και NLRP3



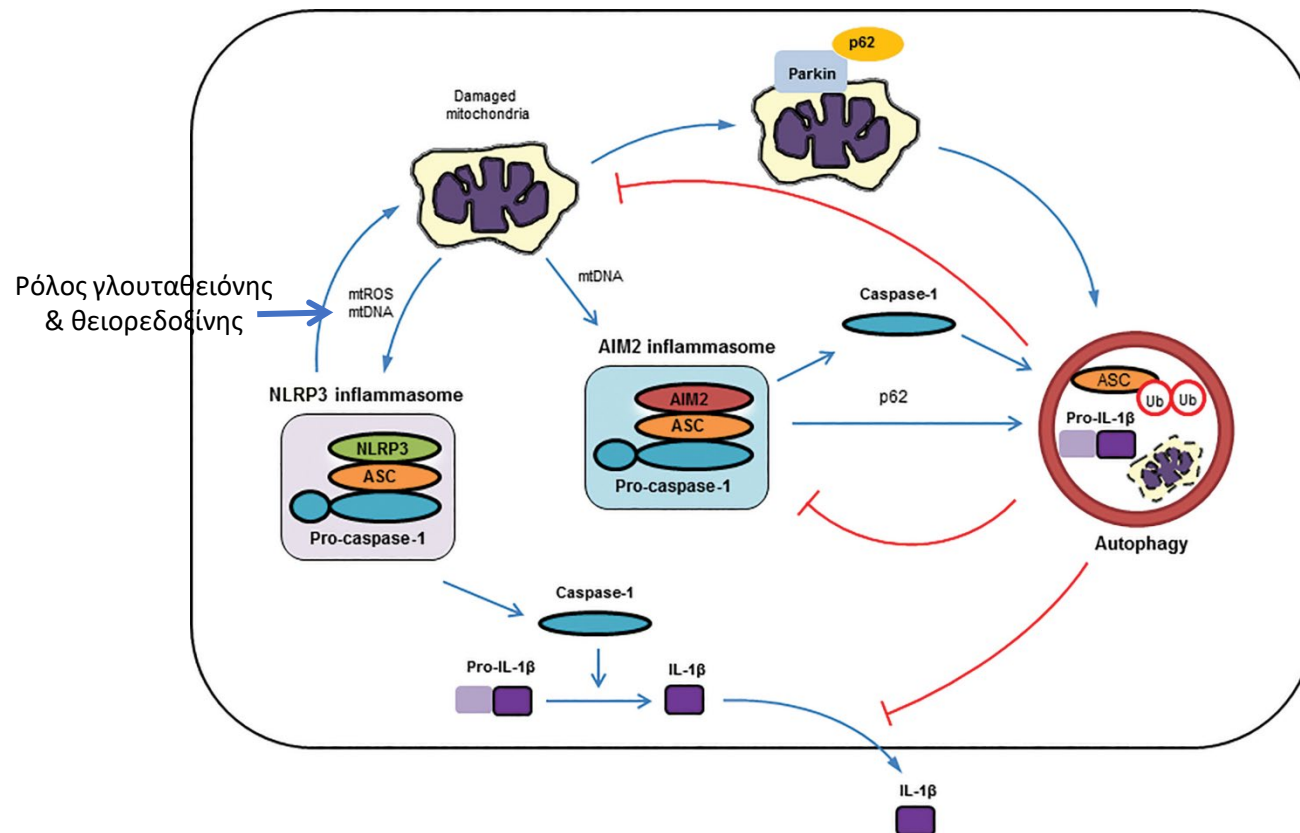
Ρύθμιση αυτοφαγίας

- Ρυθμιστικές πρωτεΐνες της αυτοφαγίας
- Πρωτεΐνες που ρυθμίζουν τα φαγοσώματα

Το ενδοκυττάριο stress οδηγεί σε προστατευτική ή καταστροφική διαδικασία

Σχέση αυτοφαγίας και NLRP3

- Ελάττωση της αυτοφαγίας => αύξηση κασπάσης-1 => αύξηση IL-1β & IL-18
- Αύξηση αυτοφαγίας => αδρανοποίηση ή καταστροφή της κασπάσης-1 | => Ελάττωση IL-1β & IL-18



Ρύθμιση της αυτοφαγίας από την κασπάση - 1

ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΔΙΕΓΕΡΣΗ

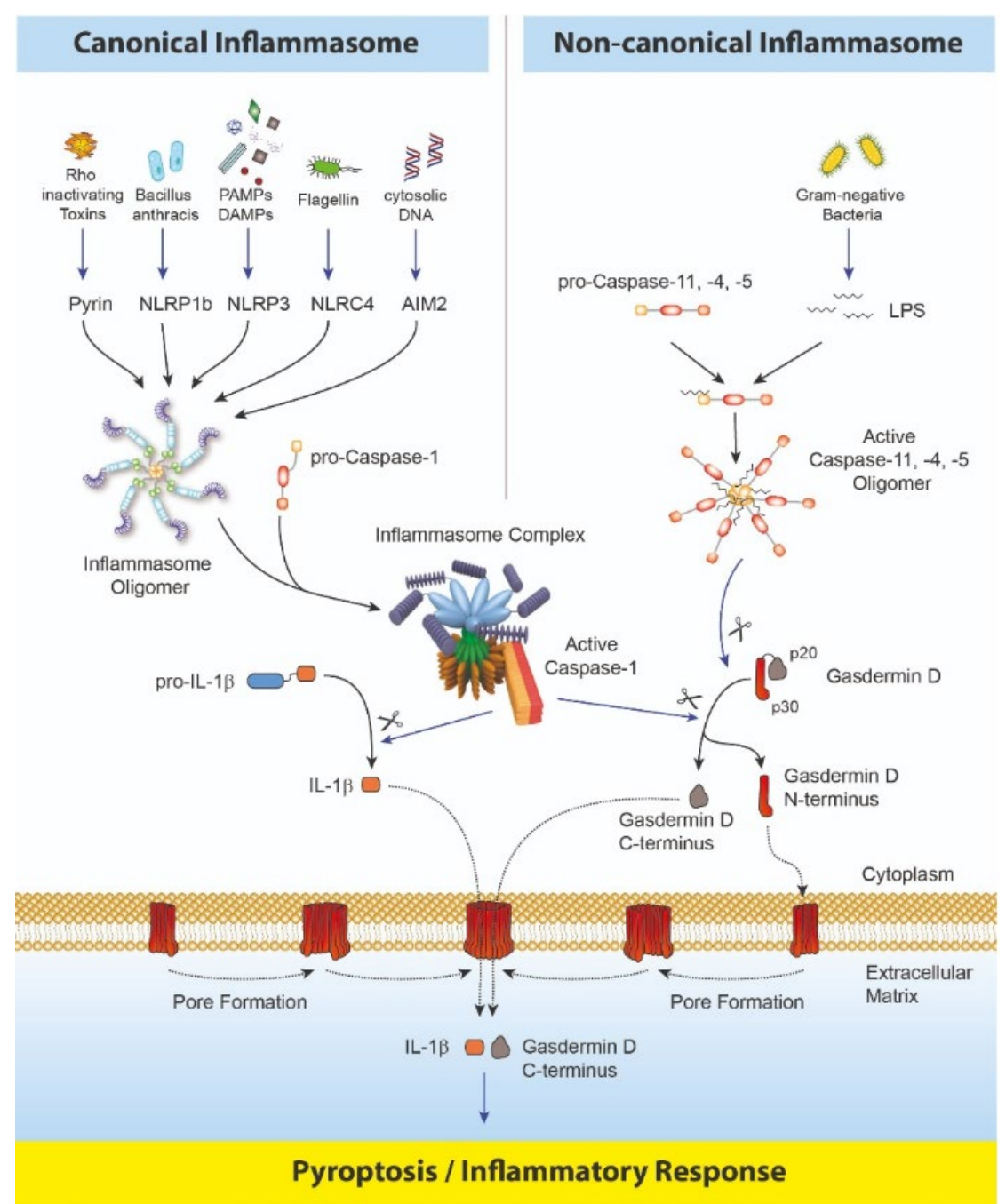
- Η κασπάση-1 ενεργοποιεί την Gasdermin D βασικό παράγοντα της πυρόπτωσης
- Η Gasdermin D ανοίγει πόρους από τους οποίους εξέρχονται IL-1β & IL-18

ΜΗ ΚΑΝΟΝΙΚΗ ΔΙΕΓΕΡΣΗ

- LPS + κασπάση 4/5 → ενεργοποίηση Gasdermin D
- Η Gasdermin D ανοίγει πόρους από τους οποίους εξέρχονται IL-1β & IL-18. Η παρατεταμένη δράση οδηγεί σε πυρόπτωση

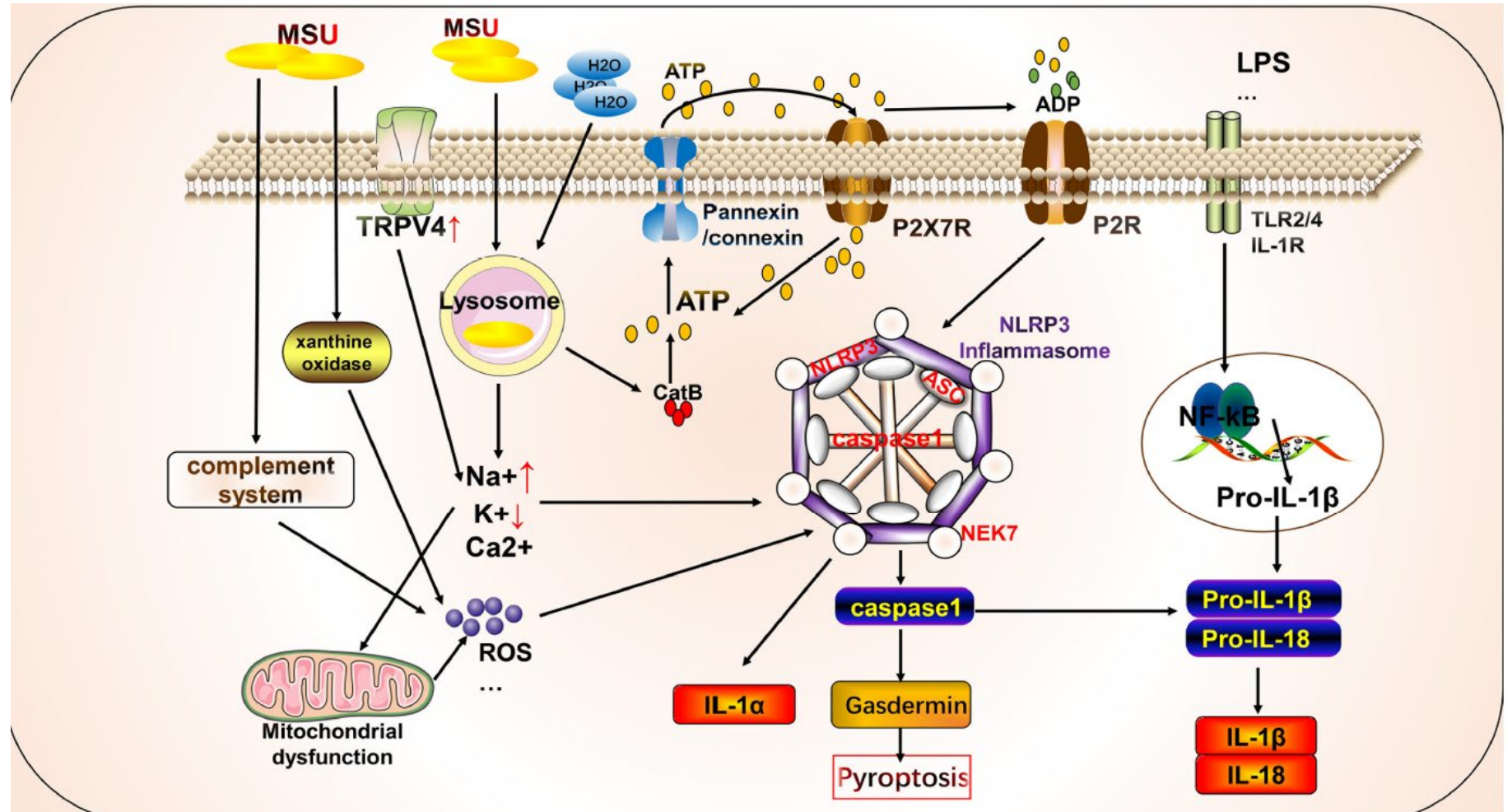


Η αθρόα έξοδος K⁺ ενεργοποιεί το NLRP3 και παράγει επιπλέον κασπάση-1



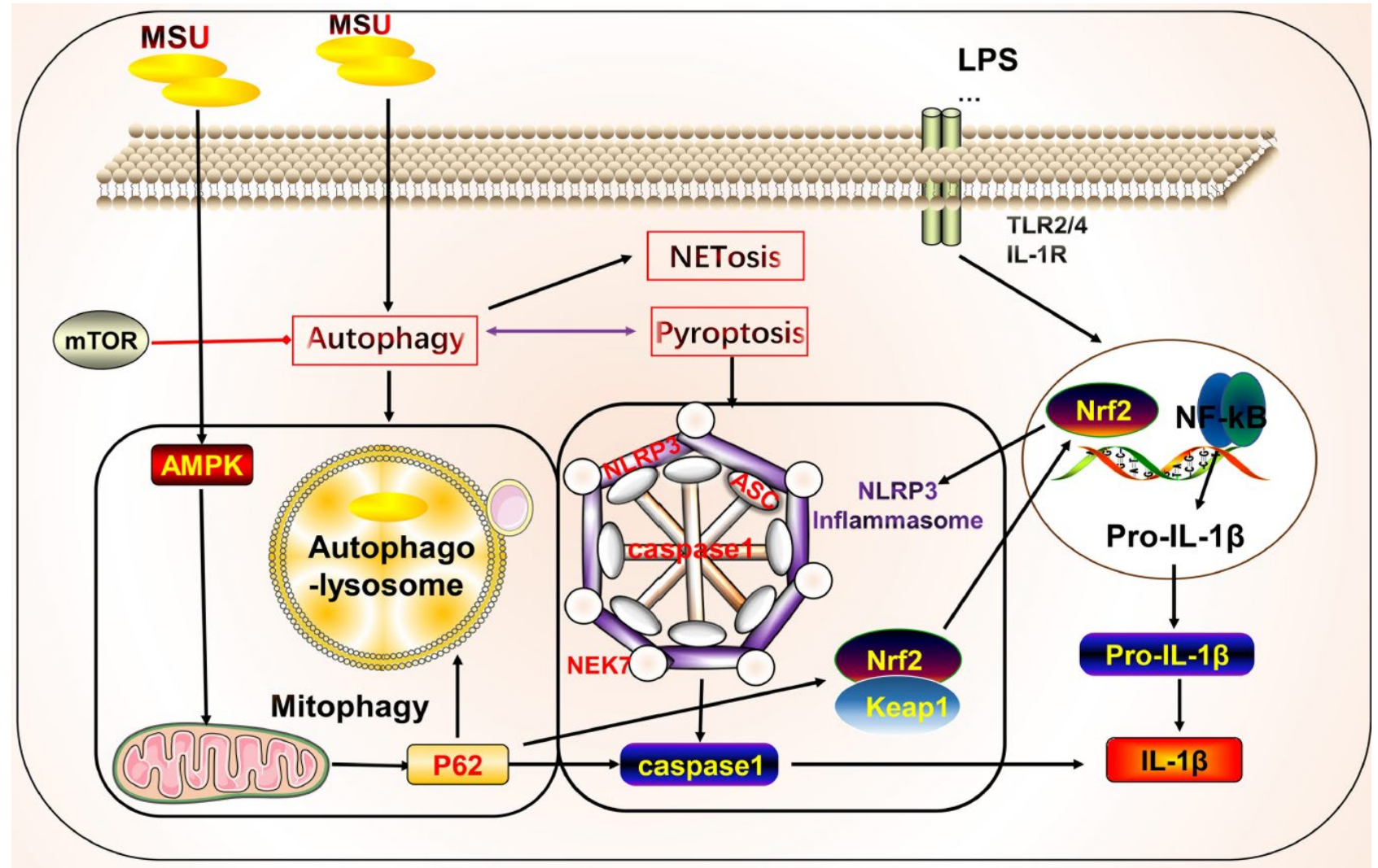
Μηχανισμοί πυρόπτωσης από τη δράση των MSU

Η παρατεταμένη δράση της Gasdermin D οδηγεί σε πυρόπτωση



Σχέση αυτοφαγίας και πυρόπτωσης

Όσο η αυτοφαγία λειτουργεί αποτελεσματικά η AMPK & η p62 συμβάλλουν στην καταστολή της φλεγμονής. Όταν η αυτοφαγία υπολειτουργεί η p62 εκτρέπεται προς διέγερση της κασπάσης-1



Συμπερασματικά

- Η ουρική αρθρίτιδα αυτοφλεγμονώδης νόσος με εμπλοκή κυρίως της φυσικής ανοσίας
- Οι MSU λειτουργούν ως DAMPs ενεργοποιώντας το NLRP3 με αποτέλεσμα την παραγωγή IL-1 β & IL-18
- Η IgG των κρυστάλλων επιτείνει την φλεγμονή
- MSU και διαλυτό ουρικό ενεργοποιούν τον NF κ B
- Τα ουδετερόφιλα ασκούν αρχικά φλεγμονογόνο δράση αλλά με τη δημιουργία των NETs καταστέλλεται τελικά η φλεγμονή

Συμπερασματικά

- Τα τοπικά Mφ ευοδώνουν την φλεγμονή ενώ τα Mono έχουν μικτή δράση
- Οι τόφοι προκαλούν διάβρωση. Οι MSU αλλάζουν τη σχέση RANKL/OPG στους οστεοβλάστες, ελαττώνοντας την OPG
- Η αυτοφαγία, ως προστατευτική διαδικασία, ασκεί αντίθετη δράση με τη δράση του NLRP3