

## Εισαγωγή

Οι φλεγμονώδεις αρθρίτιδες είναι μία ετερογενής ομάδα συστηματικών νοσημάτων, οι οποίες προσβάλλουν τόσο τις αρθρώσεις και τον υπόλοιπο σκελετό όσο και τα υπόλοιπα συστήματα του οργανισμού [1]. Περιλαμβάνουν τη ρευματοειδή αρθρίτιδα (ΡΑ), τις σπονδυλαρθρίτιδες (ΣπΑ) και την αρθρίτιδα που προκαλείται από το συστηματικό ερυθηματώδη λύκο (ΣΕΛ) [2]. Η προσβολή των αρθρώσεων προκαλεί έντονη συμπτωματολογία (άλγος, οίδημα, δυσκαμψία των αρθρώσεων), με αποτέλεσμα έκπτωση της λειτουργικής ικανότητας των ασθενών και μείωση της ποιότητας ζωής τους. Με την πάροδο του χρόνου και χωρίς την κατάλληλη θεραπεία, οι φλεγμονώδεις αρθρίτιδες - κυρίως η ΡΑ και οι ΣπΑ - οδηγούν σε μόνιμες παραμορφώσεις των αρθρώσεων, με αποτέλεσμα ακόμα μεγαλύτερη έκπτωση της λειτουργικής ικανότητας των ασθενών. Βασικός παράγοντας που συμμετέχει στη δημιουργία χρόνιας βλάβης από τις αρθρώσεις είναι η προσβολή του οστού [3-5], καθώς στις φλεγμονώδεις αρθρίτιδες, η φλεγμονή και άλλοι παράγοντες επηρεάζουν τη λειτουργία των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών [6-9]. Έτσι, στη ΡΑ ο φλεγμαίνων αρθρικός υμένας προκαλεί τη δημιουργία οστικών διαβρώσεων στις θέσεις που έρχεται σε επαφή με το οστό [7]. Από την άλλη, στις ΣπΑ η φλεγμονή των ενθέσεων οδηγεί τόσο στη δημιουργία οστικών διαβρώσεων όσο και στην παραγωγή νέου οστού στον ινώδη δακτύλιο των μεσοσπονδύλιων δίσκων (συνδεσμοφύτα), στο περίοστεο παρακείμενα των διαρθρώσεων (οστεόφυτα) και στις ιερολαγόνιες αρθρώσεις. Σε βάθος χρόνου αυτή η παθολογική παραγωγή νέου οστού μπορεί να οδηγήσει σε συνένωση των σπονδύλων και αγκύλωση της σπονδυλικής στήλης [10,11]. Άλλωστε, η προσβολή του οστού στις φλεγμονώδεις αρθρίτιδες περιλαμβάνει επίσης την περιαρθρική και τη συστηματική οστική απώλεια στη ΡΑ [7], καθώς και τη συστηματική οστική απώλεια στις ΣπΑ [12]. Στο ΣΕΛ, η προσβολή του οστού σπάνια οδηγεί στη δημιουργία οστικών διαβρώσεων, ενώ πολλές φορές εκδηλώνεται με την εμφάνιση συστηματικής οστικής απώλειας καθώς και οστεονέκρωσης [13-15].

Τις τελευταίες δεκαετίες, η διαλεύκανση της παθογένειας των φλεγμονωδών αρθρίτιδων είχε ως αποτέλεσμα την εισαγωγή των συμβατικών και των βιολογικών τροποποιητικών της νόσου αντιρευματικών φαρμάκων. Τα φάρμακα αυτά οδήγησαν σε αποτελεσματικό έλεγχο της φλεγμονής και των συμπτωμάτων των ασθενών, με αποτέλεσμα βελτίωση της λειτουργικής ικανότητας και της ποιότητας ζωής τους και περιορισμό των χρόνιων βλαβών από

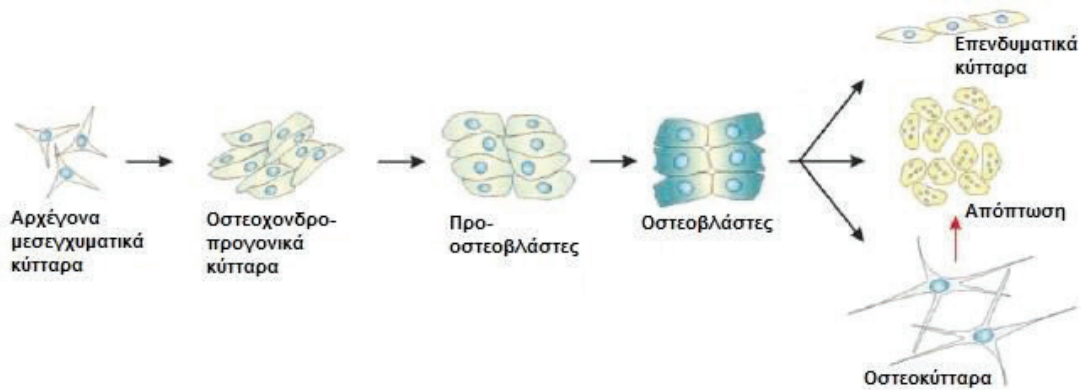
τις αρθρώσεις [16,17]. Ωστόσο, παρόλο που η αγωγή αυτή σταματά την εξέλιξη των οστικών διαβρώσεων στη ΡΑ, η πλήρης επιδιόρθωση των διαβρώσεων είναι σπάνια [18-21]. Επιπλέον, η παθολογική παραγωγή νέου οστού στις ΣπΑ επιβραδύνεται με την υπάρχουσα θεραπεία, αλλά δεν αναστέλλεται πλήρως [22,23]. Τα τελευταία χρόνια, η έρευνα έχει στραφεί και στη διερεύνηση της παθογένεσης της προσβολής του οστού στις φλεγμονώδεις αρθρίτιδες. Έτσι, προκύπτουν συνεχώς νέα στοιχεία για την επίδραση που έχουν τα νοσήματα αυτά στη λειτουργία των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών, με αποτέλεσμα την ανακάλυψη νέων θεραπευτικών στόχων για την αντιμετώπιση των διαφόρων μορφών της προσβολής του οστού.

Σκοπός αυτής της διπλωματικής εργασίας είναι η ανασκόπηση της βιβλιογραφίας αναφορικά με την προσβολή του οστού στις φλεγμονώδεις αρθρίτιδες και με την επίδραση που έχουν τα νοσήματα αυτά στη λειτουργία των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών. Θα ανασκοπηθούν τα νεότερα δεδομένα όσον αφορά την παθογένεια και την αντιμετώπιση των διαφόρων μορφών της προσβολής του οστού στις φλεγμονώδεις αρθρίτιδες.

## 1. Οστεοβλάστης

Ο οστεοβλάστης είναι το κύτταρο που είναι υπεύθυνο για το σχηματισμό του οστού. Είναι επιφορτισμένος με τη σύνθεση της θεμέλιας ουσίας του οστού, η οποία αποτελείται από κολλαγονικές πρωτεΐνες (κυρίως κολλαγόνο τύπου Ι), μη κολλαγονικές πρωτεΐνες (κυρίως οστεοποντίνη, οστεονεκτίνη, οστική σιαλοπρωτεΐνη και οστεοκαλσίνη) και πρωτεογλυκάνες. Ο οστεοβλάστης είναι επίσης υπεύθυνος για την επιμετάλλωση της θεμέλιας ουσίας, δηλαδή την εναπόθεση κρυστάλλων υδροξυαπατίτη  $[Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2]$  σε αυτή [24].

Σε αυτό το κεφάλαιο θα αναφερθούν ορισμένα στοιχεία για τον οστεοβλάστη τα οποία είναι απαραίτητα για την κατανόηση της επίδρασης των φλεγμονωδών αρθρίτιδων σε αυτόν. Σκοπός του κεφαλαίου δεν είναι η ανασκόπηση όλων των γνώσεων για τον οστεοβλάστη, αλλά μόνο όσων είναι απαραίτητες για τη μελέτη της επίδρασης των φλεγμονωδών αρθρίτιδων στη λειτουργία του οστεοβλάστη. Αρχικά θα περιγραφεί η προέλευση του οστεοβλάστη και η διαφοροποίησή του. Στη συνέχεια θα αναφερθούν τα σηματοδοτικά μόρια και μονοπάτια και οι μεταγραφικοί παράγοντες που διαμεσολαβούν στην οστεοβλαστογένεση και θα περιγραφούν αναλυτικά οι πιο σημαντικοί από αυτούς. Τέλος, θα περιγραφεί ο ρόλος των microRNAs στη διαφοροποίηση του οστεοβλάστη.



**Εικ. 1-1.** Σχηματική απεικόνιση της διαφοροποίησης των αρχέγονων μεσεγγυματικών κυττάρων σε οστεοβλάστες. (Τροποποιημένη από de Gorter et al. 2013) [26].

### 1.1 Διαφοροποίηση του οστεοβλάστη

Τα αρχέγονα μεσεγγυματικά κύτταρα (mesenchymal stem cells, MSCs) είναι πολυδύναμα κύτταρα τα οποία εντοπίζονται στο μυελό των οστών, το χόνδρο, τους σκελετικούς μύες και το λιπώδη ιστό και από τα οποία προέρχονται κύτταρα όπως οι οστεοβλάστες, τα χονδροκύτταρα, τα μυϊκά κύτταρα και τα λιποκύτταρα [25]. Σηματοδοτικά μόρια ελέγχουν την έκφραση συγκεκριμένων μεταγραφικών παραγόντων στα αρχέγονα μεσεγγυματικά κύτταρα και έτσι ρυθμίζουν τη διαφοροποίησή τους σε κάθε κυτταρικό τύπο. Η διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγγυματικών κυττάρων σε οστεοβλάστες συμβαίνει σταδιακά. Αρχικά διαφοροποιούνται σε οστεοπρογονικά κύτταρα, από τα οποία προέρχονται τόσο οι οστεοβλάστες όσο και τα χονδροκύτταρα, και στη συνέχεια σε προ-οστεοβλάστες και σε οστεοβλάστες (Εικόνα 1-1) [26].

Η διαφοροποίηση των οστεοβλαστών διακρίνεται επίσης σε τέσσερα στάδια: το στάδιο της δέσμευσης, το στάδιο του πολλαπλασιασμού, το στάδιο της ωρίμανσης της θεμέλιας ουσίας και τέλος, το στάδιο της επιμετάλλωσης της θεμέλιας ουσίας [27]. Στο πρώτο στάδιο, τα αρχέγονα μεσεγγυματικά κύτταρα διαφοροποιούνται σε οστεοπρογονικά κύτταρα και έτσι δεσμεύονται να ακολουθήσουν την οστεοβλαστική σειρά. Στο δεύτερο στάδιο, τα οστεοπρογονικά κύτταρα εκφράζουν το μεταγραφικό παράγοντα Runx2 (Runt-related transcription factor 2) και κολλαγόνο τύπου I και πολλαπλασιάζονται. Στο τρίτο στάδιο, τα οστεοπρογονικά κύτταρα διαφοροποιούνται σε προ-οστεοβλάστες, οι οποίοι παράγουν κολλαγόνο τύπου I, αλκαλική φωσφατάση και οστική σιαλοπρωτεΐνη II και συμμετέχουν στη σύνθεση της θεμέλιας ουσίας του οστού. Στο τέταρτο στάδιο οι προ-οστεοβλάστες διαφοροποιούνται σε ώριμους οστεοβλάστες, οι οποίοι παράγουν ακόμα περισσότερο κολλαγόνο τύπου I, οστική σιαλοπρωτεΐνη I και II, καθώς και οστεοκαλσίνη και κολλαγενάσες. Οι οστεοβλάστες ολοκληρώνουν τη σύνθεση της θε-

μέλιας ουσίας και προχωρούν στην επιμετάλλωσή της. Τέλος, διαφοροποιούνται σε οστεοκύτταρα που ενταφιάζονται στην επιμεταλλωμένη μεσοκυττάρια ουσία του οστού ή διαφοροποιούνται σε επενδυματικά κύτταρα που καλύπτουν την επιφάνεια του οστού ή υφίστανται απόπτωση [28,29].

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, η διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγγυματικών κυττάρων στην οστεοβλαστική σειρά επάγεται από αυξητικούς παράγοντες, ορμόνες και άλλα σηματοδοτικά μόρια, τα οποία ενεργοποιούν ενδοκυττάρια σηματοδοτικά μονοπάτια και ρυθμίζουν την έκφραση μεταγραφικών παραγόντων. Τέτοια σηματοδοτικά μόρια είναι οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (bone morphogenetic proteins, BMPs), ο μετατρεπτικός αυξητικός παράγοντας-β (transforming growth factor beta, TGF-β), ο ινσουλινοειδής αυξητικός παράγοντας-1 (insulin-like growth factor-1, IGF-1), ο αυξητικός παράγοντας ινοβλαστών (fibroblast growth factor, FGF), η παραθορμόνη (parathyroid hormone, PTH), το πεπτιδίο σχετικό με την παραθορμόνη (parathyroid hormone-related peptide, PTHrP), οι πρωτεΐνες Wnt, οι πρωτεΐνες Hedgehog και οι πρωτεΐνες Notch. Οι μεταγραφικοί παράγοντες που παίζουν το σημαντικότερο ρόλο στη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών είναι ο Runx2 και η οστερίξη (osterix, Osx). Στη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών συμμετέχουν και άλλοι μεταγραφικοί παράγοντες, όπως ο Msx2, οι Dlx-3, 5 και 6, ο Fos, ο Fra και ο ATF4, αλλά αυτοί παίζουν δευτερεύοντα ρόλο [26].

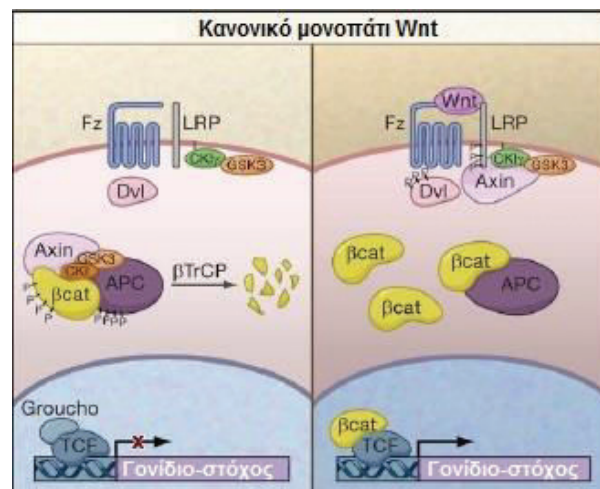
Η έκφραση του Runx2, ο οποίος είναι επίσης γνωστός και ως Osf2 (osteoblast specific factor 2) και ως Cbfa1 (core binding factor alpha 1), είναι απαραίτητη για τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών. Πράγματι, ποντικοί με πλήρη έλλειψη του Runx2 χαρακτηρίζονται από απουσία οστεοβλαστών και από χόνδρινο σκελετό [30,31]. Στον άνθρωπο, μετάλλαξη του Runx2 είναι το αίτιο της κλειδοκρανιακής δυσπλασίας, η οποία είναι μια αυτοσωμική επικρατής σκελετική δυσπλασία που χαρακτηρίζεται από ανωμαλίες των κλειδών και του κρανίου [32,33]. Ο Runx2,

λοιπόν, ωθεί τα αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα να διαφοροποιηθούν σε οστεοβλάστες και προάγει την έκφραση των γονιδίων που σχετίζονται με τη λειτουργία των οστεοβλαστών, δηλαδή των γονιδίων του κολλαγόνου τύπου I, της αλκαλικής φωσφατάσης, της οστεοκαλσίνης, της οστεοποντίνης και της οστικής σιαλοπρωτεΐνης [34-39]. Επιπρόσθετα, ο Runx2 αναστέλλει τη διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγχυματικών κυττάρων σε λιποκύτταρα [40,41]. Από την άλλη, ο Runx2 αναστέλλει την ωρίμανση των οστεοβλαστών και μειώνει την έκφραση των πρωτεϊνών της θεμέλιας ουσίας [42-44]. Επομένως, φαίνεται ότι ο Runx2 ευνοεί τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών στα αρχικά στάδια δεσμεύοντας τα αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα προς την κατεύθυνση της οστεοβλαστικής σειράς, ενώ ταυτόχρονα αναστέλλει την ωρίμανση των οστεοβλαστών στα μετέπειτα στάδια, παρέχοντας έτσι μια δεξαμενή ανώριμων οστεοβλαστών.

Η οστερίξη (Osx) ή SP7 είναι ο δεύτερος μεταγραφικός παράγοντας ο οποίος είναι απαραίτητος για τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών. Πράγματι, οι ποντικοί με πλήρη έλλειψη της Osx χαρακτηρίζονται από απουσία οστεοβλαστών. Μάλιστα, ενώ ποντικοί με έλλειψη Osx εκφράζουν Runx2, ποντικοί με έλλειψη Runx2 δεν εκφράζουν Osx, υποδεικνύοντας ότι η Osx δρα σε μεταγενέστερο σημείο στο σηματοδοτικό καταρράκτη σε σχέση με τον Runx2 [45]. Η Osx μεσολαβεί στη διαφοροποίηση των προοστεοβλαστών σε οστεοβλάστες [45] και ενισχύει την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη λειτουργία των οστεοβλαστών, όπως τα γονίδια του κολλαγόνου τύπου I, της αλκαλικής φωσφατάσης, της οστεοκαλσίνης, της οστεοποντίνης και της οστικής σιαλοπρωτεΐνης [45-47]. Μάλιστα, η Osx αλληλεπιδρά με τον πυρηνικό παράγοντα των ενεργοποιημένων T-κυττάρων (nuclear factor of activated T-cells, NFAT), με τον οποίο σχηματίζουν σύμπλοκο που συνδέεται με το DNA και ρυθμίζει την έκφραση των γονιδίων των οστεοβλαστών [48]. Επιπρόσθετα, η Osx ενισχύει την έκφραση του Satb2, ο οποίος είναι έτερος μεταγραφικός παράγοντας που συμμετέχει στη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών [49].

## 1.2 Το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt

Οι πρωτεΐνες Wnt (Wingless and INT-1) είναι διαλυτές γλυκοπρωτεΐνες, οι οποίες συνδέονται με κυτταρικούς υποδοχείς της οικογένειας Frizzled (Fzd), οι οποίοι είναι υποδοχείς με 7 διαμεμβρανικές έλικες. Οι πρωτεΐνες Wnt δρουν είτε μέσω του κανονικού μονοπατιού, το οποίο περιλαμβάνει τη β-κατενίνη, είτε μέσω μη κανονικών μονοπατιών, τα οποία είναι ανεξάρτητα της β-κατενίνης. Όσον αφορά στο κανονικό μονοπάτι Wnt, σε απουσία του παράγοντα Wnt, η β-κατενίνη διατηρείται σε χαμηλά επίπεδα μέσα στο κύτταρο, καθώς φωσφορυλιώνεται από την κινάση-3β της συνθάσης του γλυκογόνου (glycogen synthase kinase-3β, GSK-3β) και στη συνέχεια αποδομείται από τα πρωτεασώματα. Όταν ο παράγοντας Wnt



**Εικ. 1-2.** Το κανονικό μονοπάτι Wnt. (Τροποποιημένη από Clevers, 2006) [50].

προσδένεται στον υποδοχέα Frizzled (Fzd) και ταυτόχρονα στους συνυποδοχείς LRP5/6 (Low density lipoprotein receptor related protein), ενεργοποιείται η πρωτεΐνη Dishevelled (Dsh), η οποία αναστέλλει την GSK-3β. Με αυτόν τον τρόπο αυξάνονται τα επίπεδα της β-κατενίνης στο κυτταρόπλασμα, η οποία μεταναστεύει στον πυρήνα του κυττάρου, σχηματίζει σύμπλοκο με τον παράγοντα των T-κυττάρων (T-cell factor, TCF) ή τον λεμφοειδή ενισχυτικό παράγοντα (lymphoid enhancer factor, LEF) και τροποποιεί την έκφραση των γονιδίων-στόχων της (Εικόνα 1-2). Αναστολείς του κανονικού μονοπατιού Wnt είναι οι πρωτεΐνες Dickkopf (Dkk), σκληροστίνη (sclerostin, SOST), SFRPs (Soluble frizzled-related proteins) και WIF (Wnt inhibitory factor). Οι Dkk και SOST προσδένονται στους συνυποδοχείς LRP5/6 και οι SFRPs και WIF στον παράγοντα Wnt [50]. Τα μη κανονικά μονοπάτια Wnt είναι δύο, το μονοπάτι Wnt/Ca<sup>2+</sup> και το μονοπάτι κυτταρικής πολικότητας. Το μονοπάτι Wnt/Ca<sup>2+</sup> οδηγεί σε ενεργοποίηση της φωσφολιπάσης C, απελευθέρωση Ca<sup>2+</sup> ενδοκυττάρια και ενεργοποίηση της πρωτεϊνικής κινάσης C. Το μονοπάτι κυτταρικής πολικότητας οδηγεί στην ενεργοποίηση μικρών G-πρωτεϊνών, όπως η Rho [51].

Το κανονικό μονοπάτι Wnt παίζει σημαντικό ρόλο στη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών. Η β-κατενίνη ωθεί τα οστεοχονδροπρογονικά κύτταρα να διαφοροποιηθούν προς προ-οστεοβλάστες και παράλληλα αναστέλλει τη διαφοροποίησή τους σε χονδροκύτταρα. Πράγματι, η απαλοιφή του γονιδίου της β-κατενίνης σε ποντικούς οδήγησε τα οστεοχονδροπρογονικά κύτταρα να διαφοροποιηθούν σε χονδροκύτταρα αντί σε οστεοβλάστες. Αντίθετα, η ενεργοποίηση του κανονικού Wnt μονοπατιού οδήγησε στην παραγωγή οστεοβλαστών [52-54]. Επιπρόσθετα, το κανονικό μονοπάτι Wnt αναστέλλει τη διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγχυματικών

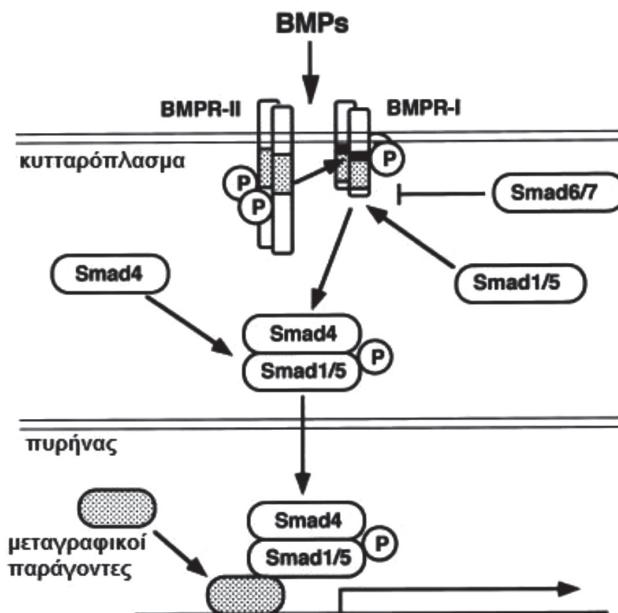
κυττάρων σε λιποκύτταρα και τα ωθεί προς την κατεύθυνση της οστεοβλαστικής σειράς [55]. Τέλος, το μονοπάτι Wnt/ $\beta$ -κατενίνης είναι απαραίτητο για την ωρίμανση και την επιμετάλλωση των οστεοβλαστών, καθώς και για τη φυσιολογική λειτουργικότητα των οστεοκυττάρων. Η απενεργοποίηση της  $\beta$ -κατενίνης σε ποντικούς, τόσο στο επίπεδο των οστεοβλαστών όσο και στο επίπεδο των οστεοκυττάρων, οδήγησε σε σημαντική απώλεια οστικής μάζας [56,57].

Στο επίπεδο των μεταγραφικών παραγόντων, το κανονικό μονοπάτι Wnt επάγει την έκφραση των μεταγραφικών παραγόντων Runx2, Osx και Dlx-5 και με αυτόν τον τρόπο, επάγει την οστεοβλαστογένεση [55,58]. Πράγματι, οι Gaur και συν. έδειξαν ότι ο υποκινητής του γονιδίου του Runx2 διαθέτει θέση σύνδεσης για τον TCF, καθώς και ότι το σύμπλοκο των TCF1 και  $\beta$ -κατενίνης προσδένεται σε αυτή τη θέση και επάγει την έκφραση του Runx2 [58].

### 1.3 Το σηματοδοτικό μονοπάτι των οστικών μορφογενετικών πρωτεϊνών (bone morphogenetic proteins, BMPs)

Οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (bone morphogenetic proteins, BMPs) (BMP-2, -4, -6, -7) είναι αυξητικοί παράγοντες που ανήκουν στην υπερικογενεία του μετατρεπτικού αυξητικού παράγοντα- $\beta$  (transforming growth factor beta, TGF- $\beta$ ) και παίζουν σημαντικό ρόλο στο σχηματισμό των οστών [59-61]. Ποντικοί με απαλοιφή των γονιδίων είτε των BMPs είτε των υποδοχέων των BMPs παρουσιάζουν σημαντικές διαταραχές της χονδρογένεσης και της οστεογένεσης, με αποτέλεσμα σκελετικές ανωμαλίες [62,63].

Υπάρχουν δύο τύποι υποδοχέων των BMPs, ο υποδοχέας BMP τύπου I (BMP receptor, type I, BMPR-I) και ο υποδοχέας BMP τύπου II (BMP receptor, type II, BMPR-II), οι οποίοι είναι υποδοχείς με δραστηριότητα κινάσης σερίνης-θρεονίνης. Όσον αφορά στη διαδικασία ενεργοποίησης του σηματοδοτικού μονοπατιού, αρχικά ο BMP προσδένεται σε ένα διμερές που αποτελείται από δύο BMPR-II. Στη συνέχεια, το διμερές BMPR-II προσελκύει και φωσφορυλιώνει ένα διμερές BMPR-I, με αποτέλεσμα το σχηματισμό ενός τετραμερούς. Ο BMPR-I φωσφορυλιώνει και ενεργοποιεί την πρωτεΐνη SMAD, η οποία βρίσκεται ενδοκυττάρια. Η φωσφορυλιωμένη SMAD προσδένεται σε έτερη πρωτεΐνη SMAD και το διμερές μεταναστεύει στον πυρήνα, όπου δρα ως μεταγραφικός παράγοντας και ρυθμίζει την έκφραση γονιδίων-στόχων (Εικόνα 1-3) [61,64]. Οι πρωτεΐνες SMAD στον πυρήνα συνδέονται με έτερους μεταγραφικούς παράγοντες και ρυθμίζουν συνεργικά τη γονιδιακή έκφραση. Ένας από αυτούς τους μεταγραφικούς παράγοντες είναι και ο Runx2, ο οποίος αφού σχηματίσει σύμπλοκο με τις πρωτεΐνες SMAD, επάγει την έκφραση γονιδίων που σχετίζονται με τη λειτουργία των οστεοβλαστών και ευοδώνει την οστεοβλαστογένεση [36,65-67]. Άλλωστε, οι BMPs επάγουν την έκφραση των μεταγραφικών παραγόντων Runx2 και Osx, οι οποίοι παίζουν



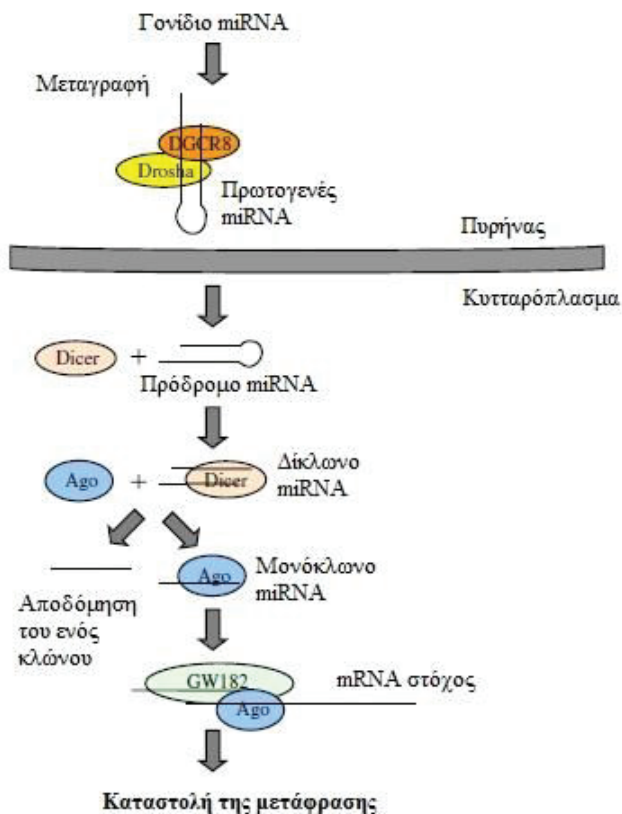
Εικ. 1-3. Το σηματοδοτικό μονοπάτι των BMPs. (Τροποποιημένη από Kawabata et al. 1998) [64].

σημαντικό ρόλο στην οστεοβλαστογένεση [36,68], καθώς επίσης και την έκφραση των ίδιων των BMPs (θετική ανατροφοδότηση) [69]. Ανταγωνιστής των BMPs είναι η πρωτεΐνη νογκίνη (noggin), η οποία προσδένεται στους BMPR-I και -II και ανταγωνίζεται τις BMPs κατά την οστεογένεση [61].

### 1.4 Ο ρόλος των microRNAs στη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών

Τα microRNAs (miRNAs) είναι μικρά, μονόκλιωνα RNAs (ribonucleic acid, ριβονουκλεϊκό οξύ), μήκους περίπου 20-25 νουκλεοτιδίων, τα οποία δεν κωδικοποιούν πεπτίδια. Ρόλος τους είναι η μετά τη μεταγραφή ρύθμιση της έκφρασης των mRNAs (messenger RNA, αγγελιαφόρο RNA) και των πρωτεϊνών. Τα miRNAs προσδένονται μέσω μερικής ομολογίας στην 3'-αμετάφραστη περιοχή του mRNA στόχου τους και είτε εμποδίζουν τη μετάφρασή του είτε προκαλούν την αποδόμησή του. Με αυτόν τον τρόπο καταστέλλουν την έκφραση του γονιδίου στόχου τους σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο [70]. Στην εικόνα 1-4 φαίνεται η διαδικασία της σύνθεσης των miRNAs. Μάλιστα, τα τελευταία χρόνια έχει δειχθεί ότι τα miRNAs μπορούν να ενσωματωθούν σε κυστίδια από το κύτταρο που τα παράγει, να εκκριθούν με εξωκυττάρωση, να προσληφθούν από έτερο κύτταρο με ενδοκυττάρωση και να ρυθμίσουν τη γονιδιακή έκφραση του δεύτερου κυττάρου. Τα κυστίδια αυτά ονομάζονται εξωσώματα (exosomes), έχουν διάμετρο 30-100nm και με αυτόν τον τρόπο παίζουν ρόλο στην επικοινωνία μεταξύ κυττάρων [71,72].

Υπολογίζεται ότι πάνω από 3% των γονιδίων του ανθρώπινου γονιδιώματος περιέχει αλληλουχίες που



**Εικ. 1-4.** Η σύνθεση των miRNAs και η δράση τους. Το πρωτογενές miRNA μεταγράφεται από το αντίστοιχο γονίδιο. Στη συνέχεια η ριβονουκλεάση Droscha και η πρωτεΐνη DGCR8 το μετατρέπουν στο πρόδρομο miRNA. Το πρόδρομο miRNA μεταφέρεται στο κυτταρόπλασμα και μετατρέπεται σε ώριμο miRNA από τη ριβονουκλεάση Dicer. Ο ένας κλώνος του miRNA αποδομείται και ο άλλος φορτώνεται στην πρωτεΐνη Argonaute (Ago). Το miRNA συνδεδεμένο με τις πρωτεΐνες Ago και GW182 προσδένεται στο mRNA στόχο και καταστέλλει τη μετάφρασή του. (Τροποποιημένη από Miao et al. 2013) [73].

κωδικοποιούν miRNAs. Εκτιμάται μάλιστα ότι η έκφραση του 40% με 90% των ανθρώπινων γονιδίων που κωδικοποιούν πρωτεΐνες επιδέχεται ρύθμιση από miRNAs. Έτσι, τα miRNAs εμπλέκονται σε πολλές βιολογικές διαδικασίες, όπως η κυτταρική διαφοροποίηση, ο κυτταρικός πολλαπλασιασμός, η εμβρυική ανάπτυξη, η απόπτωση και η αντιϊκή άμυνα. Επομένως, δεν προξενεί εντύπωση ότι πολλά miRNAs παίζουν ρόλο στη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών [74].

Έτσι, miRNAs αναστέλλουν την έκφραση ανταγωνιστών του κανονικού Wnt μονοπατιού και με αυτό τον τρόπο ευοδώνουν την οστεοβλαστογένεση. Το miRNA-335 (miR-335) αναστέλλει την έκφραση του Dkk-1 [75], το miRNA-218 (miR-218) αναστέλλει την έκφραση των Dkk-2, SFRP-2 και SOST [76,77], ενώ το miRNA-29 (miR-29) αναστέλλει την έκφραση των Dkk-1, SFRP-2 και Kremen-2 [78]. Το κανονικό Wnt μονοπάτι ενισχύει μάλιστα την έκφραση των miR-218 και miR-29, δημιουργώντας έτσι μηχανισμό θετικής ανατροφοδότησης [76-78].

Από την άλλη, miRNAs αναστέλλουν την έκφραση οστεογενετικών μεταγραφικών παραγόντων και με αυτό τον τρόπο αναστέλλουν την οστεοβλαστογένεση. Ένας αριθμός miRNAs (miR-23a, miR-30c, miR-34c, miR-133a, miR-135a, miR-137, miR-204, miR-205, miR-217 και miR-338) αναστέλλει την έκφραση του Runx2 [79], ενώ άλλα miRNAs (miR-93, miR-143, miR-145, miR-214, miR-637) αναστέλλουν την έκφραση της Osx [80-84]. Η Osx μάλιστα, αναστέλλει την έκφραση του miR-93 (αρνητική ανατροφοδότηση)[83], ενώ ο ρόλος των miR-214 και miR-637 είναι η αναστολή της οστεοβλαστογένεσης προς όφελος της μυοβλαστογένεσης και λιπογένεσης αντίστοιχα [82,84].

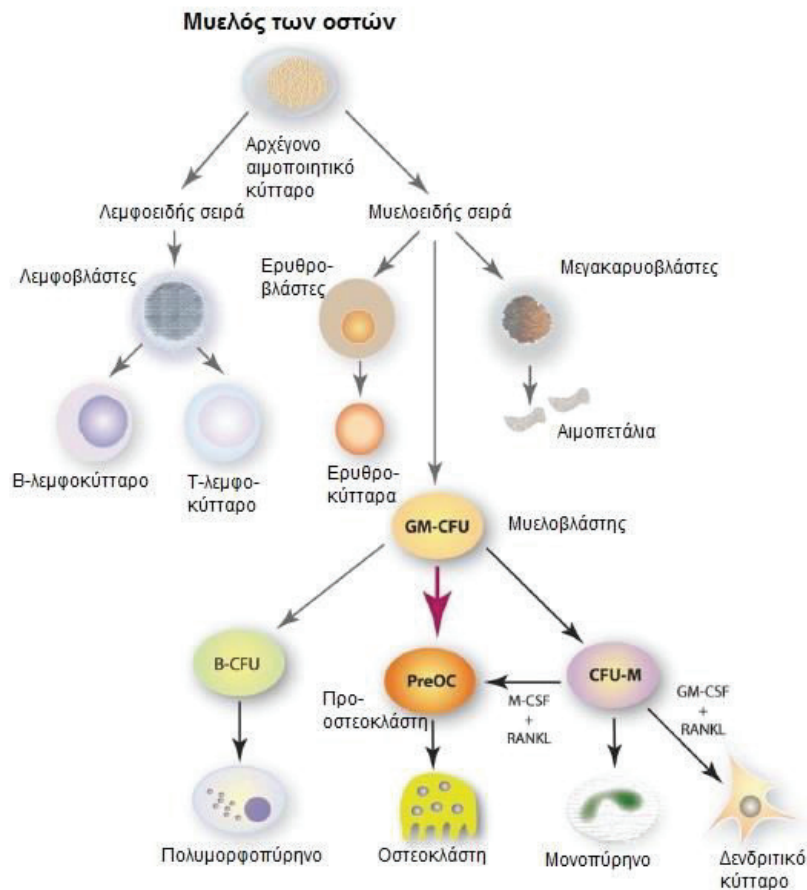
## 2. Οστεοκλάση

Η οστεοκλάση είναι το κύτταρο που είναι επιφορτισμένο με το ρόλο της οστικής απορρόφησης, δηλαδή με τη διάλυση των ανόργανων στοιχείων της μεσοκυττάριας ουσίας του οστού [κρύσταλλοι υδροξυαπατίτη,  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ] και την αποδόμηση των οργανικών στοιχείων αυτής (κυρίως κολλαγόνο τύπου I) [85]. Η οστική απορρόφηση είναι απαραίτητη σε πολλές διεργασίες που λαμβάνουν χώρα στο σκελετό, όπως η αύξηση, η κατασκευή και η ανακατασκευή των οστών, η ανατολή των οδόντων και η επούλωση των καταγμάτων. Χάρη στην οστική ανακατασκευή, απορροφάται το παλιό ή βεβλαμένο οστό από τους οστεοκλάστες από ένα σημείο του σκελετού και στο ίδιο σημείο παράγεται νέο οστό από τους οστεοβλάστες. Τέλος, η οστική απορρόφηση είναι απαραίτητη για τη διατήρηση των επιπέδων του ασβεστίου στο αίμα [86,87].

Στο κεφάλαιο αυτό θα παρατεθούν τα στοιχεία για την οστεοκλάση τα οποία είναι απαραίτητα για την κατανόηση της επίδρασης των φλεγμονωδών αρθριτιδών σε αυτήν. Σκοπός του κεφαλαίου δεν είναι η ανασκόπηση όλων των γνώσεων για την οστεοκλάση, αλλά μόνο όσων είναι απαραίτητες για τη μελέτη της επίδρασης των φλεγμονωδών αρθριτιδών στη λειτουργία της. Αρχικά, θα περιγραφεί η οστεοκλαστογένεση, δηλαδή η διαδικασία της διαφοροποίησης του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου στην οστεοκλάση, και θα αναφερθεί η διαδικασία της οστικής απορρόφησης από την οστεοκλάση. Στη συνέχεια, το κεφάλαιο αυτό θα πραγματευτεί τα μονοπάτια RANKL και ITAM και τη συμμετοχή τους στην οστεοκλαστογένεση. Τέλος, θα περιγραφεί ο ρόλος των κυτοκινών στη διαδικασία της οστεοκλαστογένεσης.

### 2.1 Οστεοκλαστογένεση

Η οστεοκλάση προέρχεται από το αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο. Τα αρχέγονα αιμοποιητικά κύτταρα εντοπίζονται στο μυελό των οστών και δίνουν γένεση στα ερυθροκύτταρα, τα αιμοπετάλια, τα λεμφοκύτταρα, τα πολυμορφοπύρηνα (κοκκιοκύτταρα), τα μονοκύτταρα-μακροφάγα, αλλά και τις οστεοκλάστες (Εικόνα 2-1). Αρχικά, το αρχέγονο αιμοποιητικό κύτταρο δεσμεύεται στη μυελοειδή σει-

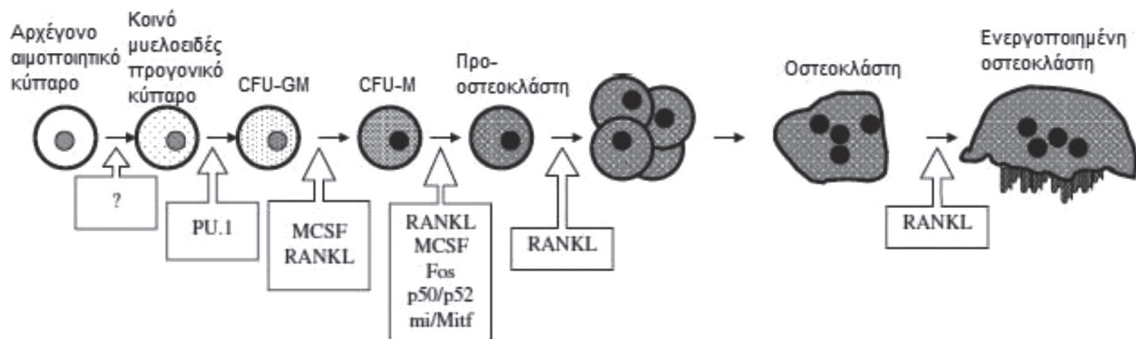


**Εικ. 2-1.** Η διαφοροποίηση του πολυδύναμου αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου. (Τροποποιημένη από Γιαννιπούλου and Γιαννός, 2008) [90].

ρά και δίνει γένεση στο κοινό μυελοειδές προγονικό κύτταρο, το οποίο έχει τη δυνατότητα διαφοροποίησης σε ερυθροκύτταρο, μεγακαρουκύτταρο, πολυμορφοπύρρηνο, μονοκύτταρο ή οστεοκλάστη. Από το κοινό μυελοειδές προγονικό κύτταρο προέρχεται το προγονικό κύτταρο των κοκκιοκυττάρων και των μονοκυττάρων (κύτταρο σχηματισμού αποικιών κοκκιοκυττάρων-μακροφάγων, Colony Forming Unit-Granulocyte-Macrophage, CFU-GM) [88,89]. Το CFU-GM είναι το πιο πρώιμο προγονικό κύτταρο που έχει ταυτοποιηθεί ότι μπορεί να διαφοροποιηθεί άμεσα σε προ-οστεοκλάστη και από αυτό επίσης προέρχονται τα πολυμορφοπύρρηνα και τα μονοκύτταρα-μακροφάγα. Το CFU-GM διαφοροποιείται σε CFU-M (κύτταρο σχηματισμού αποικιών μακροφάγων, Colony Forming Unit-Macrophage). Το CFU-M μπορεί να διαφοροποιηθεί σε μονοκύτταρο-μακροφάγο, σε δενδριτικό κύτταρο ή σε προ-οστεοκλάστη [90]. Τέλος, το ώριμο μονοκύτταρο και το μακροφάγο έχουν τη δυνατότητα διαφοροποίησης σε προ-οστεοκλάστη στο κατάλληλο μικροπεριβάλλον [89]. Ωστόσο, το κατεξοχήν κύτταρο που διαφοροποιείται σε προ-οστεοκλάστη και παράγει τις οστεοκλάστες είναι το CFU-GM, ενώ το CFU-M παράγει οστεοκλάστες σε μικρότερο αριθμό [91].

Οι προ-οστεοκλάστες είναι κύτταρα με έναν πυρήνα, τα οποία στην πορεία της διαφοροποίησής τους σε οστεοκλάστες παράγουν μόρια απαραίτητα για τη λειτουργία τους και χρήσιμα ως δείκτες για την αναγνώρισή τους. Έτσι, οι προ-οστεοκλάστες αρχίζουν να εκφράζουν ανθεκτική στο άλας του τρυγικού οξέος όξινη φωσφατάση (Tartrate-Resistant Acid Phosphatase, TRAP), υποδοχείς καλσιτονίνης, καθεψίνη K και ATP-εξαρτώμενες αντλίες ιόντων. Στη συνέχεια, οι μονοπύρηνες προ-οστεοκλάστες συντήκονται σε πολυπύρηνες οστεοκλάστες. Οι ώριμες, πολυπύρηνες οστεοκλάστες εκφράζουν σε μεγαλύτερο βαθμό την TRAP και τους υποδοχείς καλσιτονίνης [92].

Δύο κυτοκίνες είναι σημαντικές για την οστεοκλαστογένεση: ο παράγοντας διέγερσης αποικίας μακροφάγων (Macrophage-Colony Stimulating Factor, M-CSF) και ο συνδέτης του υποδοχέα-ενεργοποιητή του πυρηνικού παράγοντα κΒ (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL) (Εικόνα 2-2). Αυτές οι δύο πρωτεΐνες παράγονται από τους οστεοβλάστες και τα προγονικά κύτταρα αυτών και υφίστανται τόσο σε διαλυτή όσο και σε μεμβρανική μορφή [85]. Ο M-CSF επάγει τον πολλαπλασια-



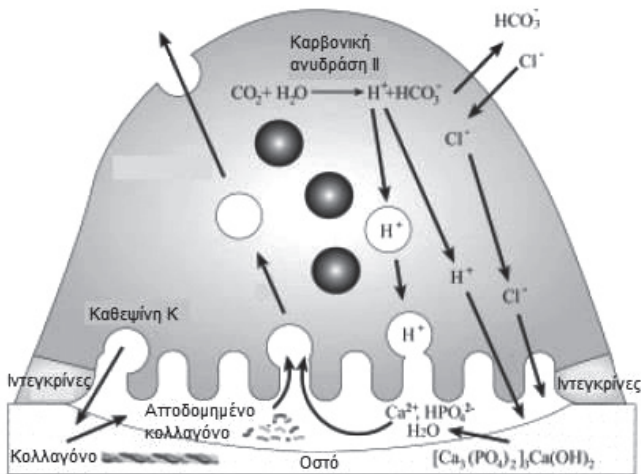
**Εικ. 2-2.** Οστεοκλαστογένεση. Η εικόνα δείχνει τη σταδιακή διαφοροποίηση του αρχέγονου αιμοποιητικού κυττάρου σε οστεοκλάστη, καθώς και τις κυτοκίνες και τους μεταγραφικούς παράγοντες που παίζουν ρόλο σε αυτή. (Τροποποιημένη από Rubin and Greenfield, 2005) [93].

σμό και αναστέλλει την απόπτωση των προγονικών κυττάρων των οστεοκλαστών. Επιπλέον, ο M-CSF διεγείρει την έκφραση του υποδοχέα του RANKL (υποδοχέας-ενεργοποιητής του πυρηνικού παράγοντα κΒ, receptor activator of nuclear factor kappa-B, RANK) από τα προγονικά κύτταρα των οστεοκλαστών [89]. Ο RANKL είναι μέλος της υπερικογενείας του παράγοντα νέκρωσης των όγκων (tumor necrosis factor, TNF) και είναι η κυριότερη κυτοκίνη της οστεοκλαστογένεσης, καθώς η παρουσία της είναι απαραίτητη για την παραγωγή των οστεοκλαστών. Έτσι, ο RANKL παρουσία του M-CSF ωθεί τα προγονικά κύτταρα CFU-M να διαφοροποιηθούν σε οστεοκλάστες [88]. Επιπλέον, ο RANKL διεγείρει τη σύντηξη των προ-οστεοκλαστών για το σχηματισμό οστεοκλαστών, ενισχύει την απορροφητική ικανότητα των ώριμων οστεοκλαστών και αναστέλλει την απόπτωσή τους [93]. Αντίθετα, ο παράγοντας διέγερσης αποικίας κοκκιοκυττάρων και μακροφάγων (Granulocyte-Macrophage-Colony Stimulating Factor, GM-CSF) αναστέλλει τη διαφοροποίηση του CFU-M σε οστεοκλάστη και σε ταυτόχρονη παρουσία του RANKL και απουσία του M-CSF το ωθεί να διαφοροποιηθεί σε δενδριτικό κύτταρο [88].

Στην οστεοκλαστογένεση έχουν επίσης σημαντικό ρόλο ορισμένοι μεταγραφικοί παράγοντες (Εικόνα 2-2). Ο μεταγραφικός παράγοντας PU.1 ρυθμίζει τα αρχικά στάδια της οστεοκλαστογένεσης. Ποντικοί με πλήρη απαλοιφή του γονιδίου του PU.1 στερούνται οστεοκλαστών και μακροφάγων και παρουσιάζουν οστεοπέτρωση [94]. Άλλος μεταγραφικός παράγοντας που συμμετέχει στην οστεοκλαστογένεση είναι ο c-fos. Ποντικοί με πλήρη έλλειψη του γονιδίου του c-fos στερούνται οστεοκλαστών και παρουσιάζουν οστεοπέτρωση, αλλά διαθέτουν αυξημένο αριθμό μακροφάγων. Αυτό καταδεικνύει ότι ο c-fos δρα σε μεταγενέστερο στάδιο από τον PU.1. Ο c-fos συμμετέχει στο σηματοδοτικό μονοπάτι του RANKL και επάγει την έκφραση των μεταγραφικών παραγόντων Fra-1 και NFATc-1, οι οποίοι συμμετέχουν επίσης στην οστεοκλαστογένεση [95,96]. Ο μεταγραφικός παράγοντας MITF (microphthalmia-

associated transcription factor, μεταγραφικός παράγοντας που σχετίζεται με τη μικροφθαλμία) εκφράζεται στα προγονικά κύτταρα των οστεοκλαστών και αλληλεπιδρά με τον PU.1 για να ρυθμίσει την έκφραση γονιδίων, όπως της καθεψίνης και της TRAP, κατά την οστεοκλαστογένεση [97].

Η οστεοκλάστη είναι το αποκλειστικό οστεοαπορροφητικό κύτταρο και τα μορφολογικά χαρακτηριστικά της εξυπηρετούν αυτόν της το ρόλο. Διαθέτει πολλαπλούς πυρήνες (συνήθως μέχρι οκτώ) και έχει ασυνήθιστα μεγάλο μέγεθος [88]. Σχετικά με τη διαδικασία της οστικής απορρόφησης, αρχικά η οστεοκλάστη προσκολλάται στη μεσοκυττάρια ουσία του οστού με τη βοήθεια των ιντεγκρινών, οι οποίες είναι διαμεμβρανικές πρωτεΐνες της οστεοκλάστης. Οι ιντεγκρίνες σχηματίζουν μία ζώνη στεγανοποίησης (sealing zone), η οποία δημιουργεί ένα απομονωμένο μικροπεριβάλλον μεταξύ οστεοκλάστης και επιφάνειας του οστού [87]. Η ζώνη στεγανοποίησης υποστηρίζεται από μία δομή του κυτταροσκελετού, η οποία σχηματίζεται από ινίδια ακτίνης και ονομάζεται δακτύλιος ακτίνης (actin ring). Το τμήμα της κυτταρικής μεμβράνης που περικλείεται από τη ζώνη στεγανοποίησης σχηματίζει πολλές προεκβολές, με σκοπό την αύξηση της απορροφητικής επιφάνειας, και ονομάζεται πτυχωτή επιφάνεια (ruffled border) [88]. Στη συνέχεια, αντλίες πρωτονίων ( $H^+$ -ATPάσες) της πτυχωτής επιφάνειας της οστεοκλάστης μεταφέρουν ιόντα  $H^+$  στο χώρο μεταξύ αυτής και του οστού, ενώ ιόντα  $Cl^-$  μεταφέρονται παθητικά μέσω διαύλων  $Cl^-$ . Με αυτόν τον τρόπο μειώνεται το pH σε αυτό το χώρο και διαλύονται τα ανόργανα στοιχεία της μεσοκυττάριας ουσίας του οστού [κρύσταλλοι υδροξυαπατίτη,  $Ca_{10}(PO_4)_6(OH)_2$ ]. Έτσι, μένει εκτεθειμένη η οργανική θεμέλια ουσία του οστού, η οποία αποτελείται κυρίως από κολλαγόνο τύπου I. Η θεμέλια ουσία στη συνέχεια αποσυντίθεται από πρωτεολυτικά ένζυμα (καθεψίνη K, μεταλλοπρωτεάσες), τα οποία απελευθερώνονται από την οστεοκλάστη [85]. Τα προϊόντα της οστικής απορρόφησης ενδοκυτταρώνονται από την οστεοκλάστη, μεταφέρονται στη βασικοπλάγια επιφάνεια της μέσα σε



**Εικ. 2-3.** Η διαδικασία της οστικής απορρόφησης από την οστεοκλάστη. (Τροποποιημένη από Bar-Shavit, 2007) [88].

κυστίδια και αποβάλλονται στην περιβάλλουσα εξωκυττάρια ουσία. Τέλος, η οστεοκλάστη αποσπάται από την επιφάνεια του οστού και είτε μεταφέρεται σε νέο σημείο είτε αποπίπτει [88].

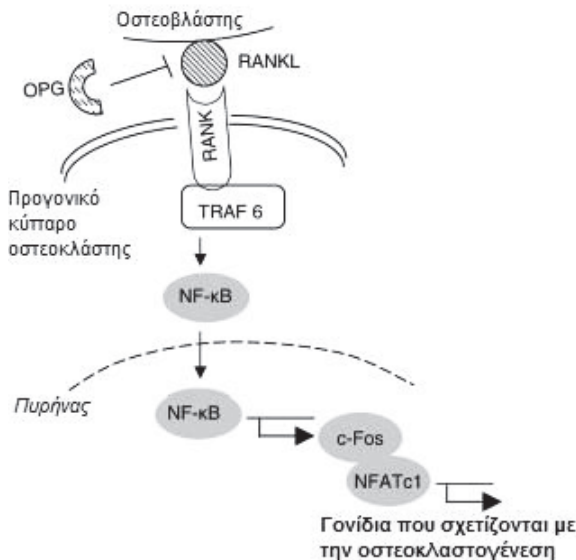
## 2.2 Ο ρόλος του συνδέτη του υποδοχέα-ενεργοποιητή του πυρηνικού παράγοντα κΒ (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL) στην οστεοκλαστογένεση

Ο RANKL είναι μία ομοτριμερής διαμεμβρανική πρωτεΐνη, η οποία ανήκει στην υπεροικογένεια του TNF. Όπως ειπώθηκε παραπάνω, ο RANKL, εφόσον προσδεθεί στον κυτταρικό υποδοχέα του (RANK), διεγείρει τη διαφοροποίηση των προγονικών κυττάρων των οστεοκλαστών, ενισχύει τη λειτουργικότητα των οστεοκλαστών και αναστέλλει την απόπτωσή τους [93]. Πράγματι, η πλήρης απαλοιφή του γονιδίου του RANKL από ποντικούς οδήγησε σε πλήρη απουσία οστεοκλαστών και σε σοβαρή οστεοπέτρωση [98]. Σε φυσιολογικές συνθήκες ο RANKL παράγεται από τα οστεοκύτταρα, τους οστεοβλάστες και τα προγονικά κύτταρα των οστεοβλαστών, ενώ σε συνθήκες φλεγμονής παράγεται και από τα Τ-λεμφοκύτταρα [90,99]. Εκτός από τη μεμβρανική μορφή, ο RANKL απαντάται και σε διαλυτή μορφή, η οποία όμως είναι λιγότερο δραστήρια. Η διαλυτή μορφή του RANKL είναι είτε αποτέλεσμα εναλλακτικού ματίσματος του mRNA του είτε αποτέλεσμα πρωτεολυτικής διάσπασης της μεμβρανικής μορφής του από τις μεταλλοπρωτεάσες MMP3 (matrix metalloprotease 3), MMP7 και ADAM (a disintegrin and metalloprotease) [86]. Υπό φυσιολογικές συνθήκες, κατά την οστική ανακατασκευή, η έκφραση του RANKL από τα οστεοκύτταρα και τους οστεοβλάστες επάγεται από παράγοντες όπως η 1,25-διυδροξυβιταμίνη D<sub>3</sub> [1,25(OH)<sub>2</sub>D<sub>3</sub>], η παραθορμόνη (PTH), η προσταγλανδίνη E<sub>2</sub> (PGE<sub>2</sub>) και η ιντερλευκίνη-1 (IL-1) [89], ενώ αναστέλλεται

από παράγοντες όπως ο TGF-β [100]. Σε συνθήκες παθολογικής οστικής ανακατασκευής, όπως για παράδειγμα σε λοίμωξη, φλεγμονή ή κακοήθεια, ενεργοποιημένα Τ- και Β-λεμφοκύτταρα, συνοβιακές ινοβλάστες, οστεοκλάστες, ενδοθηλιακά κύτταρα και καρκινικά κύτταρα συμμετέχουν στην παραγωγή του RANKL με άμεσο ή έμμεσο τρόπο. Αυτά τα κύτταρα μπορούν να ενισχύσουν την παραγωγή του RANKL παράγοντας κυτοκίνες όπως ο παράγοντας νέκρωσης όγκων-α (Tumor Necrosis Factor-α, TNF-α), η IL-1, η IL-17 και ο επιδερμικός αυξητικός παράγοντας (epidermal growth factor, EGF) [89].

Η δράση του RANKL απαιτεί ένα ρυθμιστικό μηχανισμό, ούτως ώστε να μην ενεργοποιείται η οστεοκλαστογένεση ανεξέλεγκτα. Το ρόλο αυτό επιτελεί η οστεοπροτεγερίνη (osteoprotegerin, OPG), μία πρωτεΐνη που ανήκει στην υπεροικογένεια των υποδοχέων του TNF. Η OPG ένας διαλυτός υποδοχέας του RANKL, ο οποίος προσδέεται με τον RANKL και δεν του επιτρέπει να συνδεθεί και να ενεργοποιήσει τον κυτταρικό υποδοχέα του (RANK). Η OPG παράγεται από τους οστεοβλάστες, αλλά και από την καρδιά, τους νεφρούς, το ήπαρ και τον σπλήνα. Οι περισσότεροι από τους παράγοντες που ρυθμίζουν την έκφραση του RANKL ρυθμίζουν και την έκφραση της OPG. Σε γενικές γραμμές, οι παράγοντες που διεγείρουν την έκφραση του RANKL αναστέλλουν την έκφραση της OPG και το αντίστροφο [86]. Ο TGF-β, η 17-ιστραδιόλη, ο BMP2 και το κανονικό Wnt μονοπάτι διεγείρουν την έκφραση OPG από τους οστεοβλάστες, ενώ η PTH, η PGE<sub>2</sub>, ο IGF-1 και τα γλυκοκορτικοειδή την αναστέλλουν. Έτσι, η οστεοκλαστογένεση ρυθμίζεται από την αναλογία RANKL/OPG: ευνοείται όταν η αναλογία είναι υψηλή και αναστέλλεται όταν η αναλογία είναι χαμηλή [101].

Ο RANK είναι μία ομοτριμερής διαμεμβρανική πρωτεΐνη, η οποία ανήκει στην υπεροικογένεια των υποδοχέων του TNF και αποτελεί τον κυτταρικό υποδοχέα του RANKL. Εκφράζεται από τους οστεοκλάστες και τα προγονικά κύτταρα αυτών, καθώς και από δένδριτικά κύτταρα, Τ- και Β-λεμφοκύτταρα, χονδροκύτταρα, ινοβλάστες και από διάφορους ιστούς, όπως οι σκελετικοί μύες, ο θύμος, οι μαζικοί αδένες και το ήπαρ [101]. Όταν ο RANKL συνδέεται με τον RANK, ο RANK επιστρατεύει τον TRAF-6 (TNF receptor associated factor-6, σχετιζόμενος με τους υποδοχείς TNF παράγοντας-6). Ο TRAF6 συνδέεται με το ενδοκυττάριο τμήμα του RANK και ενεργοποιεί ενδοκυττάρια σηματοδοτικούς καταρράκτες, με πιο σημαντικό αυτόν που περιλαμβάνει το μεταγραφικό παράγοντα NF-κΒ (nuclear factor-κΒ, πυρηνικός παράγοντας-κΒ) [102]. Ο NF-κΒ επάγει την έκφραση των γονιδίων των μεταγραφικών παραγόντων c-fos και NFATc1, οι οποίοι όπως αναφέρθηκε παραπάνω, αλληλεπιδρούν και επάγουν την έκφραση γονιδίων που συμμετέχουν στην οστεοκλαστογένεση (Εικόνα 2-4) [101,103]. Ο TRAF6 ενεργοποιεί επίσης τρεις σηματοδοτικούς καταρράκτες που περιλαμβάνουν τρεις MAP κινάσες (mitogen activated protein kinases, πρω-



**Εικ. 2-4.** Η ενεργοποίηση του NF-κΒ από τον RANKL. (Τροποποιημένη από Boyce and Xing, 2007) [104].

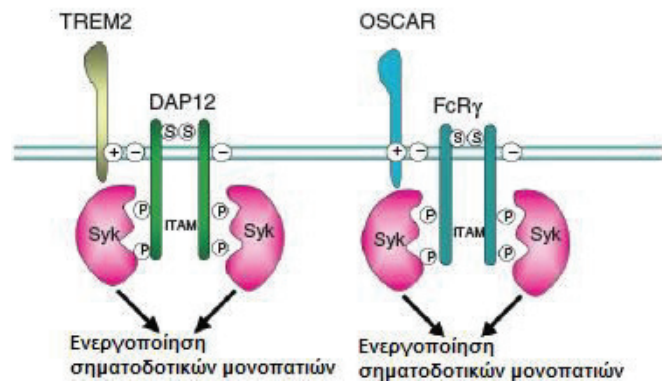
τεϊνικές κινάσες που ενεργοποιούνται από μιτογόνα): την ERK (extracellular signal-regulated kinase, κινάση που ρυθμίζεται από εξωκυττάρια σήματα), την JNK (c-Jun N-terminal kinase, c-Jun αμινοτελική κινάση) και την p38, καθώς και έναν πέμπτο σηματοδοτικό καταρράκτη που εμπλέκει την κινάση Akt-2 [102].

### 2.3 Το μονοπάτι του βασισμένου στην τυροσίνη μοτίβου ενεργοποίησης των ανοσοϋποδοχέων (immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM) και η συμμετοχή του στην οστεοκλαστογένεση

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ο RANKL και ο M-CSF είναι τα δύο κυριότερα σηματοδοτικά μόρια που επάγουν την οστεοκλαστογένεση. Ωστόσο, στη διαδικασία της οστεοκλαστογένεσης συμμετέχουν επίσης συνδιεγερτικά σήματα, τα οποία δρουν μέσω σηματοδοτικών προσαρμοστών που περιέχουν μοτίβα ενεργοποίησης των ανοσοϋποδοχέων βασισμένα στην τυροσίνη (immunoreceptor tyrosine-based activation motif, ITAM) [105].

Το μοτίβο ITAM είναι μία αλληλουχία τεσσάρων αμινοξέων που επαναλαμβάνεται δύο φορές στην κυτταροπλασματική ουρά διαμεμβρανικών πρωτεϊνών που εντοπίζονται σε κύτταρα του ανοσοποιητικού συστήματος, καθώς και σε οστεοκλάστες. Το μοτίβο περιέχει μία τυροσίνη που διαχωρίζεται από μία λευκίνη ή μία ισολευκίνη από δύο οποιαδήποτε άλλα αμινοξέα (YxxL/I). Αυτή η αλληλουχία επαναλαμβάνεται μετά από 6-8 αμινοξέα (YxxL/I<sub>(6-8)</sub>YxxL/I) [106].

Το μοτίβο ITAM εντοπίζεται στην κυτταροπλασματική περιοχή διαμεμβρανικών πρωτεϊνών που δρουν ως σηματοδοτικοί προσαρμοστές (signaling adaptors) σε κύτταρα της φυσικής και της επίκτητης

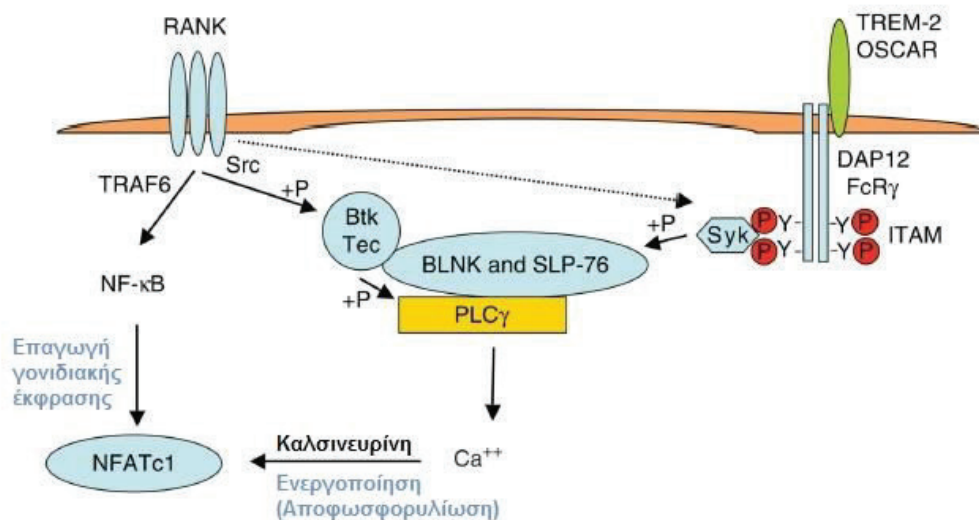


**Εικ. 2-5.** Οι πρωτεΐνες-προσαρμοστές συνδέονται με διαμεμβρανικούς υποδοχείς με σκοπό τη μεταγωγή του σήματος. (Τροποποιημένη από Humphrey et al. 2005) [106].

ανοσίας και στις οστεοκλάστες (Εικόνα 2-5). Στις οστεοκλάστες, οι κυριότεροι προσαρμοστές που περιέχουν ITAM είναι ο DAP12 (DNAX-activating protein 12) και ο FcRγ (Fc receptor common γ subunit). Αυτές οι πρωτεΐνες-προσαρμοστές διαθέτουν ελάχιστο εξωκυττάριο τμήμα, με αποτέλεσμα να μην μπορούν να δράσουν ως υποδοχείς και να χρειάζεται να συνδεθούν με άλλες πρωτεΐνες-υποδοχείς [106]. Οι κυριότεροι υποδοχείς που συνδέονται με τον DAP12 είναι οι TREM2 (triggering receptor expressed on myeloid cells-2), MDL-1 (Myeloid DAP12-associated lectin 1) και Siglec-15 (Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin 15), ενώ με τον FcRγ συνδέονται οι υποδοχείς OSCAR (Osteoclast activating receptor), PIR-A (Paired immunoglobulin-like receptor A) και FcR (Fc receptors) [107]. Για τους συνδέτες αυτών των υποδοχέων λίγα πράγματα είναι γνωστά. Για παράδειγμα, συνδέτης του υποδοχέα TREM2 είναι η πλεξίνη-A1 (plexin-A1) [108], ενώ συνδέτης του OSCAR είναι το κολλαγόνο τύπου III της θεμέλιας ουσίας του οστού [109]. Ωστόσο, οι συνδέτες πολλών από τους υποδοχείς που σχετίζονται με ITAM δεν είναι ακόμα γνωστοί.

Η διέγερση του υποδοχέα προκαλεί τη φωσφορυλίωση των καταλοίπων τυροσίνης του μοτίβου ITAM του προσαρμοστή από κινάσες της οικογένειας Src. Στη συνέχεια η τυροσυλοκινάση Syk προσδένεται στα φωσφορυλιωμένα κατάλοιπα τυροσίνης και ενεργοποιεί με τη σειρά της σηματοδοτικά μόρια και μονοπάτια (Εικόνα 2-5) [106].

Η σημασία του μονοπατιού ITAM στην οστεοκλαστογένεση φαίνεται από το ότι ποντικοί με ταυτόχρονη απαλοιφή των γονιδίων των προσαρμοστών DAP12 και FcRγ δεν μπορούν να σχηματίσουν οστεοκλάστες, παρά την παρουσία RANKL και M-CSF, με αποτέλεσμα να παρουσιάζουν φαινότυπο οστεοπέτρωσης [110]. Επιπρόσθετα, μονοπύρρηνα που απομονώθηκαν από το περιφερικό αίμα ασθενών με νόσο Nasu-Hakola (άνθρωποι με έλλειψη είτε του προσαρμοστή DAP12 είτε του υποδοχέα TREM2) παρουσίαζαν καθυστερημένη και ελαττωματική διαφοροποι-



**Εικ. 2-6.** Συνεργασία των μονοπατιών RANKL και ITAM για την έκφραση και ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα NFATc1. (Τροποποιημένη από Ivashkin, 2009) [112].

ηση σε οστεοκλάστες, παρά τη διέγερση με RANKL και M-CSF [111].

Μελέτες έχουν δείξει ότι το μονοπάτι του RANKL και το μονοπάτι ITAM συνεργάζονται για την επαγωγή της οστεοκλαστογένεσης [112]. Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, ο RANKL χρησιμοποιεί τον TRAF6 και τον NF-κB για να επάγει την έκφραση του NFATc1, ο οποίος είναι ένας μεταγραφικός παράγοντας απαραίτητος για την οστεοκλαστογένεση [101,103]. Προκειμένου ο NFATc1 να ενεργοποιηθεί και να μετακινηθεί στον πυρήνα, χρειάζεται να αποφωσφορυλιωθεί από την καλσινευρίνη, η οποία με τη σειρά της ενεργοποιείται από την παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων  $Ca^{2+}$ . Για να επιτευχθούν αυτές οι υψηλές συγκεντρώσεις  $Ca^{2+}$  απαιτείται η συνεργασία των μονοπατιών RANKL και ITAM (Εικόνα 2-6). Ο RANKL χρησιμοποιεί την κινάση Src για τη φωσφορυλίωση των τυροσυλοκινασών Btk και Tec, οι οποίες με τη σειρά τους φωσφορυλιώνουν τη φωσφολιπάση Cγ (PLCγ). Οι πρωτεΐνες-προσαρμοστές του μονοπατιού ITAM επιστρατεύουν την τυροσυλοκινάση Syk για τη φωσφορυλίωση των πρωτεϊνών-ικριωμάτων BLNK και SLP-76. Το αποτέλεσμα είναι η δημιουργία συμπλέγματος BTK/TEC/BLNK/SLP76/PLCγ και η ενεργοποίηση της PLCγ. Η PLCγ με τη σειρά της προκαλεί την αύξηση της συγκέντρωσης του  $Ca^{2+}$ , με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση του NFATc1. Μάλιστα, ένα άλλο σημείο που συναντώνται τα μονοπάτια RANKL και ITAM είναι η περαιτέρω φωσφορυλίωση των προσαρμοστών ITAM που προκαλεί ο RANKL [112].

Ωστόσο, σε αντίθεση με το μονοπάτι του RANKL, το οποίο είναι απαραίτητο για την οστεοκλαστογένεση, δεν ισχύει το ίδιο για το μονοπάτι ITAM. Στο κατάλληλο μικροπεριβάλλον, μπορεί να λάβει χώρα η οστεοκλαστογένεση παρά την απουσία της ση-

ματοδότησης ITAM. Για παράδειγμα, ποντικοί με ταυτόχρονη απαλοιφή των γονιδίων των προσαρμοστών DAP12 και FcRγ, οι οποίοι υπόκεινται σε ωθηκεκτομή, σχηματίζουν οστεοκλάστες *in vivo*. Αυτό υπονοεί ότι υπάρχουν και άλλα συνδιεγερτικά μονοπάτια εκτός του ITAM [107].

#### 2.4 Ο ρόλος των κυτοκινών στην οστεοκλαστογένεση

Υπό φυσιολογικές συνθήκες, η οστεοκλαστογένεση ρυθμίζεται πρωτίστως από τον RANKL και τον M-CSF. Ωστόσο, σε παθολογικές συνθήκες, όπως η χρόνια φλεγμονή, η παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών ρυθμίζει τη διαδικασία της οστεοκλαστογένεσης, συνήθως διεγείροντάς την, με αποτέλεσμα την αύξηση της οστικής απορρόφησης [113]. Μάλιστα, από τις προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, ορισμένες διεγείρουν την οστεοκλαστογένεση, όπως ο TNF-α και οι IL-1, IL-6, IL-17, ενώ άλλες την αναστέλλουν, όπως οι IL-4, IL-10, IL-13 και IFN-γ. Η ισορροπία μεταξύ των οστεοκλαστογόνων και των αντι-οστεοκλαστογόνων κυτοκινών καθορίζει εάν τελικά η παραγωγή των οστεοκλαστών θα αυξηθεί ή θα μειωθεί [114,115].

Ο TNF-α διεγείρει την οστεοκλαστογένεση, είτε άμεσα διεγείροντας τον πολλαπλασιασμό και τη διαφοροποίηση των προγονικών κυττάρων των οστεοκλαστών είτε έμμεσα διεγείροντας την παραγωγή RANKL από τους οστεοβλάστες [116,117]. Μάλιστα, ο TNF-α παρουσία άλλων παραγόντων, όπως ο M-CSF και ο TGF-β, μπορεί να επάγει την οστεοκλαστογένεση απουσία του RANKL και ανεξάρτητα από αυτόν [118,119]. Επιπρόσθετα, ο TNF-α αυξάνει την οστική απορρόφηση ενεργοποιώντας τις ώριμες οστεοκλάστες [116]. Η IL-1 είναι έτερη κυτοκίνη που δρα διεγερτικά στην οστεοκλαστογένεση. Δρα άμεσα στην

οστεοκλαστική σειρά, διεγείρωντας την ωρίμανση των πρόδρομων κυττάρων των οστεοκλαστών και ενεργοποιώντας τις ώριμες οστεοκλάστες, αλλά και έμμεσα, καθώς επάγει την έκφραση RANKL από τους οστεοβλάστες [117,120]. Επίσης η IL-1 διαμεσολαβεί στις δράσεις του TNF-α στην οστεοκλαστογένεση [121]. Εκτός των TNF-α και IL-1, οι IL-6, IL-8, IL-11 και IL-17 επάγουν την οστεοκλαστογένεση, δρώντας άμεσα στην οστεοκλαστική σειρά, αλλά και έμμεσα, διεγείρωντας την παραγωγή RANKL από τους οστεοβλάστες [122-127]. Τέλος, οι IL-15 και IL-32 δρουν ευοδωτικά στη διαδικασία της οστεοκλαστογένεσης [128-130].

Από την άλλη, η IL-4 δρα ανασταλτικά στην οστεοκλαστογένεση. Δρα άμεσα στα προγονικά κύτταρα των οστεοκλαστών αναστέλλοντας την έκφραση του NFATc1. Ο NFATc1, όπως αναφέρθηκε παραπάνω είναι μεταγραφικός παράγοντας με σημαντικό ρόλο στην οστεοκλαστογένεση και επάγεται από τον RANKL [131]. Επίσης, η IL-4, καθώς και η IL-13, δρουν έμμεσα στις οστεοκλάστες μειώνοντας την παραγωγή του RANKL και αυξάνοντας την παραγωγή της οστεοπροτεγερίνης (OPG) [132]. Ομοίως, η IL-10 αναστέλλει την έκφραση του NFATc1, αλλά και των c-Fos και c-Jun, στα προγονικά κύτταρα των οστεοκλαστών και μειώνει την αναλογία RANKL/OPG [133-135]. Η IL-12 αναστέλλει την οστεοκλαστογένεση επάγοντας την απόπτωση των κυττάρων της οστεοκλαστικής σειράς μέσω της παραγωγής NO [136]. Επιπρόσθετα, η IL-18 αναστέλλει την οστεοκλαστογένεση με ποικίλους τρόπους, καθώς επάγει την έκφραση GM-CSF και IFN-γ από τα T-λεμφοκύτταρα [137,138], αυξάνει την έκφραση της οστεοπροτεγερίνης [139] και επάγει την απόπτωση στις οστεοκλάστες μέσω της παραγωγής NO [136]. Η IL-26 αναστέλλει την οστεοκλαστογένεση παρεμβαίνοντας στο μονοπάτι του RANKL και μειώνοντας την έκφραση του NF-κB και του NFATc1 [140]. Ανασταλτικά στην οστεοκλαστογένεση δρουν και οι ιντερφερόνες α, β και γ (interferon-α, -β, -γ, IFN-α, -β, -γ). Οι IFN-α και IFN-β μειώνουν την έκφραση του c-Fos στις οστεοκλάστες [141,142], ενώ η IFN-β επάγει την παραγωγή NO [143]. Η IFN-γ παράγεται από τα T-λεμφοκύτταρα και παίζει σημαντικό ρόλο στην αναστολή της οστεοκλαστογένεσης. Αναστέλλει τη σηματοδότηση του RANKL μονοπατιού προκαλώντας την αποδόμηση του TRAF6, αναστέλλει την επαγόμενη από τον TNF-α οστεοκλαστογένεση και επάγει την απόπτωση στις οστεοκλάστες [144,145].

Τέλος, οι IL-7 και IL-23 έχουν τόσο οστεοκλαστογόνες όσο και αντι-οστεοκλαστογόνες ιδιότητες. Η IL-7 από τη μία δρα άμεσα στα προγονικά κύτταρα των οστεοκλαστών αναστέλλοντας την οστεοκλαστογένεση [146,147] και από την άλλη αυξάνει την έκφραση του RANKL και του TNF-α [148]. Όσον αφορά στην IL-23, υπάρχουν αναφορές ότι διεγείρει την οστεοκλαστογένεση επάγοντας την παραγωγή IL-17 και RANKL από τα T-λεμφοκύτταρα [149,150]. Υπάρχουν όμως και αναφορές ότι η IL-23 αναστέλλει την

οστεοκλαστογένεση, είτε επάγοντας την παραγωγή GM-CSF από τα T-λεμφοκύτταρα είτε αναστέλλοντας τη σύντηξη των προ-οστεοκλαστών για το σχηματισμό οστεοκλαστών [151,152].

## 2.5 Ο ρόλος των microRNAs στην οστεοκλαστογένεση

Όπως αναφέρθηκε στο προηγούμενο κεφάλαιο, τα microRNAs (miRNAs) είναι μικρά, μονόκλιωνα RNAs, των οποίων ο ρόλος είναι η μετά τη μεταγραφή ρύθμιση της έκφρασης των mRNAs και των πρωτεϊνών. Τα miRNAs καταστέλλουν την έκφραση του γονιδίου στόχου τους σε μετα-μεταγραφικό επίπεδο, καθώς προσδένονται μέσω μερικής ομολογίας στην 3'-αμετάφραση περιοχή του mRNA στόχου τους και είτε εμποδίζουν τη μετάφρασή του είτε προκαλούν την αποδόμησή του [70].

Αν και κυρίως έχει μελετηθεί ο ρόλος που παίζουν τα miRNAs στην οστεοβλαστογένεση, τα τελευταία χρόνια έχει αρχίσει να μελετάται και ο ρόλος τους στην οστεοκλαστογένεση. Έτσι, έχει βρεθεί ότι το miR-503 δρα ανασταλτικά στην οστεοκλαστογένεση στοχεύοντας και μειώνοντας την έκφραση του RANK [153]. Αντίστοιχα, το miR-124 στοχεύει και ελαττώνει την έκφραση του NFATc1 και το miR-125a την έκφραση του TRAF6 και με αυτόν τον τρόπο αναστέλλουν την οστεοκλαστογένεση [154,155]. Από την άλλη, το miR-21 ευνοεί την οστεοκλαστογένεση μειώνοντας την έκφραση της PDCD4 (programmed cell death 4, πρωτεΐνη προγραμματισμένου κυτταρικού θανάτου 4), η οποία είναι μία πρωτεΐνη που καταστέλλει τον c-fos. Μάλιστα ο c-fos ενισχύει την έκφραση του miR-21, δημιουργώντας μηχανισμό θετικής ανατροφοδότησης [156]. Τέλος, το miR-155 και το miR-223 ευνοούν την οστεοκλαστογένεση [157,158], ενώ το miR-146a δρα ανασταλτικά σε αυτή [159].

## 3. Φλεγμονώδεις αρθρίτιδες

Η φλεγμονή είναι μέρος μίας σύνθετης βιολογικής αντίδρασης του οργανισμού σε βλαπτικά ερεθίσματα. Περιλαμβάνει απελευθέρωση διαλυτών μεσολαβητών και κυτοκινών, αγγειοδιαστολή, αυξημένη αιματική ροή, εξαγγείωση υγρών και κυτταρική διήθηση (μετανάστευση κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος από το αίμα στους ιστούς). Τα κλασικά συμπτώματα της φλεγμονής είναι το άλγος, το οίδημα, η θερμότητα, η ερυθρότητα και η απώλεια της λειτουργικότητας. Ο φυσιολογικός ρόλος της φλεγμονής είναι η εξουδετέρωση του αιτίου της κυτταρικής βλάβης, η απομάκρυνση των νεκρωτικών κυττάρων και των βεβλαμμένων ιστών και η έναρξη της επιδιόρθωσης των ιστών. Αν και υπό φυσιολογικές συνθήκες η φλεγμονή είναι αυτοπεριοριζόμενη, σε παθολογικές καταστάσεις η φλεγμονή γίνεται χρόνια, με αποτέλεσμα την πρόκληση νόσου [160].

Οι φλεγμονώδεις αρθρίτιδες περιλαμβάνουν τη ρευματοειδή αρθρίτιδα, τις σπονδυλαρθρίτιδες και την αρθρίτιδα που σχετίζεται με το συστηματικό

ερυθηματώδη λύκο [2]. Είναι μία ετερογενής ομάδα συστηματικών νοσημάτων, οι οποίες χαρακτηρίζονται τόσο από φλεγμονή των αρθρώσεων και των γειτονικών ανατομικών δομών όσο και από συστηματικές εκδηλώσεις [1]. Εκδηλώνονται με συμπτώματα που προέρχονται από τις αρθρώσεις (άλγος, οίδημα και δυσκαμψία των αρθρώσεων, που μπορεί να εξελιχθούν σε αρθρική βλάβη και παραμόρφωση), με συστηματικά συμπτώματα (κόπωση, απώλεια βάρους, πυρετός) και με ποικίλες εξωαρθρικές εκδηλώσεις (προσβολή των πνευμόνων, της καρδιάς, των νεφρών, των οφθαλμών και του σκελετού) [161].

Σκοπός του παρόντος κεφαλαίου δεν είναι η πλήρης ανάλυση των φλεγμονωδών αρθρίτιδων, αλλά η περιγραφή των βασικών χαρακτηριστικών τους, με στόχο την πληρέστερη κατανόηση της επίδρασης των νοσημάτων αυτών στο οστό.

### 3.1 Ρευματοειδής αρθρίτιδα (PA)

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (PA) είναι μία χρόνια, φλεγμονώδης, συστηματική αυτοάνοση νόσος άγνωστης αιτιολογίας, η οποία προκαλεί συμμετρική, περιφερική πολυαρθρίτιδα των μικρών και μεγάλων αρθρώσεων. Είναι η πιο συχνή χρόνια φλεγμονώδης αρθρίτιδα και συχνά καταλήγει σε αρθρική βλάβη και περιορισμό της λειτουργικότητας. Η PA είναι συστηματική νόσος και επομένως, μπορεί να προκαλέσει εξωαρθρικές εκδηλώσεις, όπως κόπωση, υποδόρια οζίδια, πνευμονοπάθεια, περικαρδίτιδα, περιφερική νευροπάθεια, αγγειίτιδα, αιματολογικές διαταραχές και οστεοπόρωση [4].

Η ρευματοειδής αρθρίτιδα προσβάλλει το 0,5-1% των ενηλίκων στις αναπτυγμένες χώρες και είναι τρεις φορές πιο συχνή στις γυναίκες από ότι στους άντρες. Ο επιπολασμός της νόσου αυξάνεται με την ηλικία και είναι μεγαλύτερος στις γυναίκες άνω των 65 ετών, υποδεικνύοντας ότι ορμονικοί παράγοντες ίσως παίζουν ρόλο στην παθογένεια της νόσου [162].

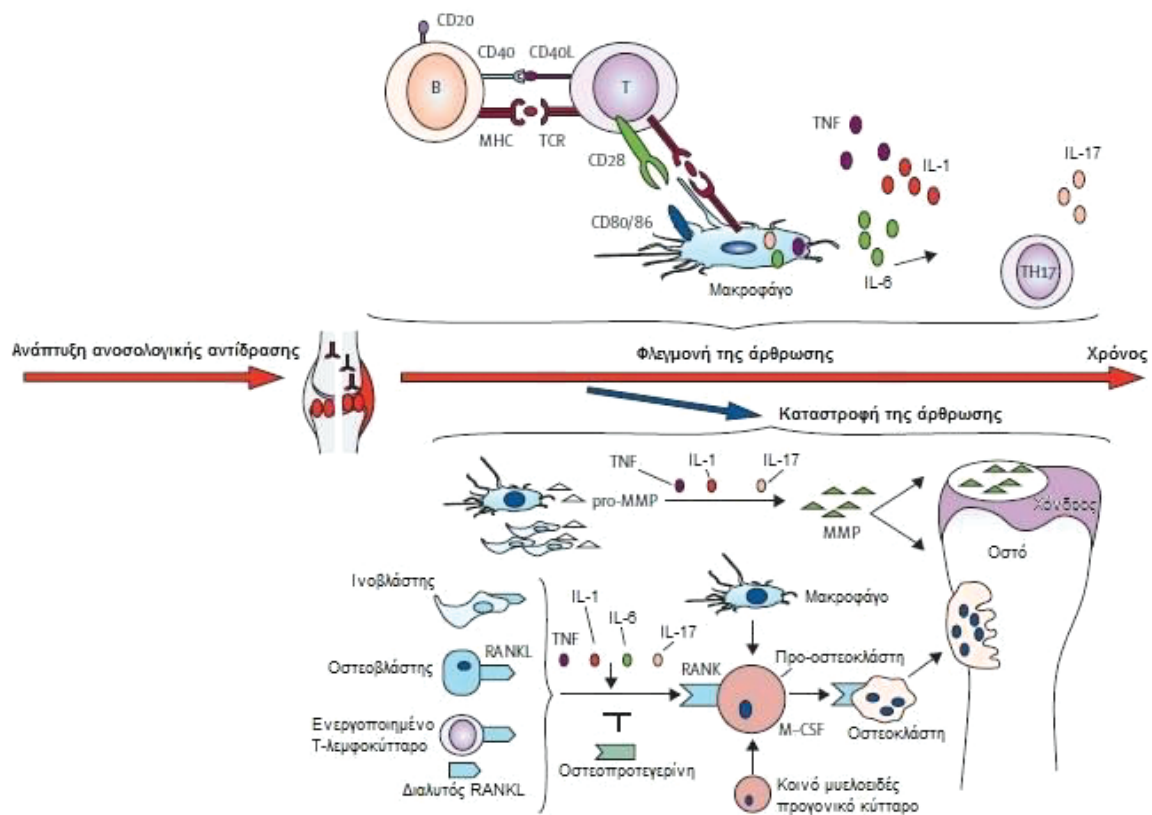
Η αιτιολογία της PA είναι άγνωστη. Ωστόσο θεωρείται ότι είναι αποτέλεσμα αλληλεπίδρασης τόσο γενετικών όσο και περιβαλλοντικών παραγόντων. Πιθανώς, ένας λοιμώδης ή άλλος ανοσογόνος παράγοντας πυροδοτεί έναν αυτοάνοσο παθογενετικό μηχανισμό με αποτέλεσμα τη φλεγμονή των αρθρώσεων [163,164]. Όσον αφορά τους γενετικούς παράγοντες, είναι υπεύθυνοι μέχρι και για το 60% του κινδύνου να εμφανίσει κανείς PA [165], ενώ η περιοχή HLA (Human Leukocyte Antigen) έχει τη μεγαλύτερη συμβολή στο γενετικό κίνδυνο. Πιο συγκεκριμένα, τα αλληλία HLA-DRB1 που κωδικοποιούν μία κοινή αλληλουχία αμινοξέων (τον κοινό επίτοπο) έχουν ταυτοποιηθεί ως αλληλία υψηλού κινδύνου για την εμφάνιση PA [166]. Όσον αφορά τους περιβαλλοντικούς παράγοντες, το κάπνισμα έχει βρεθεί ότι διπλασιάζει τον κίνδυνο εμφάνισης PA [167].

Τα μακροφάγα και τα Τ-λεμφοκύτταρα παίζουν κεντρικό ρόλο στην παθογένεση της PA. Τα μακροφάγα είναι αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα, τα οποία ενεργοποιούν τα Τ-λεμφοκύτταρα μέσω της

παρουσίασης αντιγόνων και συνδιεγερτικών μορίων. Τα Τ-λεμφοκύτταρα ενεργοποιούν με τη σειρά τους τα μακροφάγα με την έκκριση IFN-γ. Τα ενεργοποιημένα μακροφάγα παράγουν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, όπως ο TNF-α, η IL-1, η IL-6 και διάφορες χημειοκίνες. Οι προφλεγμονώδεις κυτοκίνες και χημειοκίνες προσελκύουν λευκοκύτταρα από τα αιμοφόρα αγγεία στις αρθρώσεις, με αποτέλεσμα φλεγμονή του αρθρικού υμένα (υμενίτιδα). Ο TNF-α διεγείρει επίσης τον πολλαπλασιασμό των ανοσοκυττάρων του αρθρικού υμένα και έτσι, επάγει την υπερπλασία του αρθρικού υμένα και το σχηματισμό πάννου (κοκκιώδης αγγειοϊνώδης ιστός που διαβρώνει τον υποκείμενο χόνδρο και οστό). Ο υπερπλαστικός αρθρικός υμένας και ο πάννος παράγουν με τη σειρά τους προφλεγμονώδεις κυτοκίνες, με αποτέλεσμα τη διαιώνιση της φλεγμονής. Επιπλέον, τα ενεργοποιημένα Τ-λεμφοκύτταρα στον αρθρικό υμένα παράγουν μεγάλες ποσότητες RANKL. Ο TNF-α και ο RANKL διεγείρουν τα μακροφάγα να διαφοροποιηθούν σε ώριμες οστεοκλάστες, με αποτέλεσμα την επαγωγή της οστικής απορρόφησης στις προσβληθείσες αρθρώσεις (Εικόνα 3-1) [168].

Στην παθογένεση της PA φαίνεται πως παίζουν ρόλο και τα αυτοαντισώματα. Αν και ο ρευματοειδής παράγοντας (rheumatoid factor, RF) (αυτοαντίσωμα έναντι του Fc τμήματος των IgG αντισωμάτων) είναι το κλασικό αυτοαντίσωμα που ανιχνεύεται στη PA, εξίσου σημαντικά είναι τα αντισώματα έναντι κίτρουλλινωμένων πεπτιδίων (anti-citrullinated protein antibody, ACPA ή anti-cyclic citrullinated peptide antibody, anti-CCP). Έτσι, μελέτη έδειξε ότι η έγχυση ACPA σε υγιείς ποντικούς επάγει την ανάπτυξη αρθρίτιδας [170]. Επιπρόσθετα, έχει βρεθεί ότι τα αλληλία HLA-DRB1 με τον κοινό επίτοπο καθώς και το κάπνισμα, γνωστοί παράγοντες κινδύνου της PA, συσχετίζονται με αυξημένο κίνδυνο μόνο για PA με θετικά anti-CCP, ενώ δε συσχετίζονται με anti-CCP αρνητική PA [166,171]. Έτσι, η PA είναι ετερογενής νόσος, καθώς διακριτοί γενετικοί και περιβαλλοντικοί παράγοντες κινδύνου χαρακτηρίζουν την anti-CCP-θετική και την anti-CCP-αρνητική PA, υπονοώντας διαφορετικούς παθογενετικούς μηχανισμούς [172]. Ωστόσο, η κλινική εικόνα της PA είναι η ίδια στις δύο μορφές, αν και η πορεία της νόσου είναι πιο επιθετική στους anti-CCP-θετικούς ασθενείς [173].

Όσον αφορά στην κλινική εικόνα, η ρευματοειδής αρθρίτιδα εμφανίζεται συνηθέστερα σε άτομα ηλικίας 25 έως 55 ετών. Οποιαδήποτε άρθρωση μπορεί να προσβληθεί, αλλά αυτές που προσβάλλονται συχνότερα είναι οι πηχεοκαρπικές, οι μετακαρποφαλαγγικές και οι εγγύς φαλαγγοφαλαγγικές. Η PA μπορεί να εμφανιστεί αρχικά ως μονοαρθρίτιδα, ως ολιγοαρθρίτιδα ή ως πολυαρθρίτιδα, συνήθως με συμμετρική κατανομή. Οι ασθενείς παραπονούνται για άλγος και οίδημα των προσβεβλημένων αρθρώσεων, καθώς και για πρωινή δυσκαμψία που διαρκεί πάνω από μία ώρα και υφίεται με τη φυσική δραστηριότητα. Η προοδευτική καταστροφή των αρθρώσε-



**Εικ. 3-1.** Τα ανοσολογικά μονοπάτια της φλεγμίνουσας άρθρωσης. Τα αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα (μακροφάγα, Β-λεμφοκύτταρα) ενεργοποιούν τα Τ-λεμφοκύτταρα μέσω της παρουσίας αντιγόνων και συνδιεγερτικών μορίων. Τα μακροφάγα ενεργοποιούνται από τα Τ-λεμφοκύτταρα και παράγουν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες (TNF, IL-1, IL-6, IL-17). Τα μακροφάγα και οι ινοβλάστες, υπό την επίδραση των κυτοκινών, παράγουν μεταλλοπρωτεάσες (MMP), οι οποίες αποδομούν τη θεμέλια ουσία του χόνδρου. Τα ενεργοποιημένα Τ-λεμφοκύτταρα παράγουν RANKL, ο οποίος διεγείρει τη διαφοροποίηση των οστεοκλάστων. Οι ώριμες οστεοκλάστες απορροφούν το υποχόνδριο οστό στη φλεγμίνουσα άρθρωση. (Τροποποιημένη από Klareskog et al. 2009) [169].

ων και των μαλακών ιστών μπορεί να οδηγήσει σε μη αναστρέψιμες παραμορφώσεις των άκρων χειρών και των άκρων ποδών. Στη σπονδυλική στήλη, μπορεί να προσβληθεί η ατλαντοαξονική άρθρωση και να προκληθεί υπεξάρθρωμα αυτής, με κίνδυνο συμπίεσης του νωτιαίου μυελού [4].

Η ΡΑ είναι συστηματική νόσος και έτσι, εκτός της προσβολής των αρθρώσεων, μπορεί να παρουσιάσει και εξωαρθρικές εκδηλώσεις. Οι κυριότερες εξωαρθρικές εκδηλώσεις της ΡΑ περιλαμβάνουν συστηματικά συμπτώματα (απώλεια βάρους, πυρετός, κόπωση, κακουχία), υποδόρια οζίδια (ρευματικά οζίδια), δευτεροπαθές σύνδρομο Sjögren, πνευμονικές εκδηλώσεις (πλευρίτιδα, διάμεση πνευμονοπάθεια), περικαρδίτιδα, συστηματική αγγειίτιδα (ρευματική αγγειίτιδα), αιματολογικές διαταραχές (αναιμία, σύνδρομο Felty), προσβολή των οφθαλμών (σκληρίτιδα, επισκληρίτιδα, κερατοεπιπεφυκίτιδα) και δευτεροπαθή οστεοπόρωση. Επιπρόσθετα, η ΡΑ αυξάνει τον κίνδυνο ανάπτυξης λεμφώματος, καθώς και τον κίνδυνο εμφάνισης στεφανιαίας νόσου [174]. Η συνολική θνησιμότητα των ασθενών με ΡΑ είναι μεγαλύτερη σε σχέση με

το γενικό πληθυσμό και η συχνότερη αιτία θανάτου είναι η στεφανιαία νόσος [175].

Η διάγνωση της ΡΑ είναι ως επί το πλείστον κλινική, με τις εργαστηριακές και απεικονιστικές εξετάσεις να λειτουργούν επικουρικά. Οι ασθενείς με ΡΑ παρουσιάζουν αυξημένους δείκτες φλεγμονής στο αίμα, όπως είναι η ταχύτητα καθίζησης ερυθρών αιμοσφαιρίων (ΤΚΕ) και η C-αντιδρώσα πρωτεΐνη (C-reactive protein, CRP), οι οποίοι όμως δεν είναι ειδικοί για τη νόσο. Η ανίχνευση στο αίμα του RF και των anti-CCP είναι σημαντική για τη διαφορική διάγνωση της ΡΑ από άλλες πολυαρθρίτιδες, αν και ο RF ανιχνεύεται και σε άλλες φλεγμονώδεις νόσους. Η ανάλυση αρθρικού υγρού δε χρησιμοποιείται συχνά και χρησιμεύει για τη διαφορική διάγνωση μεταξύ φλεγμονώδους αρθρίτιδας και οστεοαρθρίτιδας, καθώς και στον αποκλεισμό σηπτικής ή κρυσταλλικής αρθρίτιδας. Οι απεικονιστικές εξετάσεις (απλή ακτινογραφία, μαγνητική τομογραφία, υπερηχοτομογραφία) είναι χρήσιμα εργαλεία τόσο για τη διάγνωση της ΡΑ όσο και για την παρακολούθηση τυχόν βλάβης των αρθρώσεων [4].

Όσον αφορά στην αντιμετώπιση της ΡΑ, τα απλά αναλγητικά (παρακεταμόλη) και τα μη στεροειδή αντιφλεγμονώδη φάρμακα (ΜΣΑΦ) χρησιμοποιούνται για την αντιμετώπιση του πόνου, ενώ τα ΜΣΑΦ μειώνουν και τη φλεγμονή στις προσβληθείσες αρθρώσεις. Ωστόσο, τα απλά αναλγητικά και τα ΜΣΑΦ δεν επιβραδύνουν την πορεία της νόσου, σε αντίθεση με τα τροποποιητικά της νόσου αντιρευματικά φάρμακα (Disease-modifying antirheumatic drugs, DMARDs). Τα DMARDs κατέχουν κεντρική θέση στην αντιμετώπιση της ΡΑ, καθώς μειώνουν τον πόνο και το οίδημα των αρθρώσεων, μειώνουν τους δείκτες φλεγμονής, περιορίζουν τη βλάβη των αρθρώσεων και βελτιώνουν τη λειτουργικότητα των ασθενών. Τα κυριότερα συμβατικά συνθετικά DMARDs (conventional synthetic DMARDs, csDMARDs) είναι η μεθοτρεξάτη, η λεφλουνομίδη και η σουλφασαλαζίνη [17]. Όταν η αγωγή με csDMARDs δεν είναι αποτελεσματική, τότε οι βιολογικοί παράγοντες έχουν θέση στη θεραπεία της νόσου. Οι βιολογικοί παράγοντες (biological DMARDs) στοχεύουν κυτοκίνες, σηματοδοτικά μόρια και κύτταρα που συμμετέχουν στην παθογένεση της νόσου. Έτσι, στόχοι των βιολογικών παραγόντων είναι ο TNF-α, η IL-1, ο υποδοχέας της IL-6, τα Β-λεμφοκύτταρα και σηματοδοτικά μόρια που συμμετέχουν στη συνδιέγερση των Τ-λεμφοκυττάρων [163,176]. Τέλος, τα γλυκοκορτικοειδή χρησιμοποιούνται βραχυπρόθεσμα για τον έλεγχο των εξάρσεων της νόσου, καθώς τα csDMARDs και οι βιολογικοί παράγοντες αργούν να δράσουν. Επίσης η ενδοαρθρική έγχυση γλυκοκορτικοειδών χρησιμοποιείται για τον έλεγχο των συμπτωμάτων της αρθρίτιδας [17].

### 3.2 Σπονδυλαρθρίτιδες (ΣΠΑ)

Οι σπονδυλαρθρίτιδες (ΣΠΑ) είναι μία ομάδα παθήσεων που μοιράζονται ορισμένα κοινά χαρακτηριστικά όσον αφορά στην κλινική εικόνα και τη γενετική προδιάθεση. Οι σπονδυλαρθρίτιδες περιλαμβάνουν την αγκυλοποιητική σπονδυλαρθρίτιδα (ΑΣ), την ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ), την αρθρίτιδα σχετιζόμενη με φλεγμονώδη νόσο του εντέρου και την αντιδραστική αρθρίτιδα. Οι κλινικές εκδηλώσεις των ΣΠΑ περιλαμβάνουν την προσβολή του αξονικού σκελετού, την προσβολή των περιφερικών αρθρώσεων, την ενθεσίτιδα, καθώς και εξωαρθρικές εκδηλώσεις, όπως τη ραγοειδίτιδα, την ψωρίαση και τη φλεγμονώδη νόσο του εντέρου. Όσον αφορά τη γενετική προδιάθεση, όλες οι ΣΠΑ παρουσιάζουν γενετική συσχέτιση με το αντιγόνο HLA-B27 του μείζονος συμπλέγματος ιστοσυμβατότητας τάξης I [177].

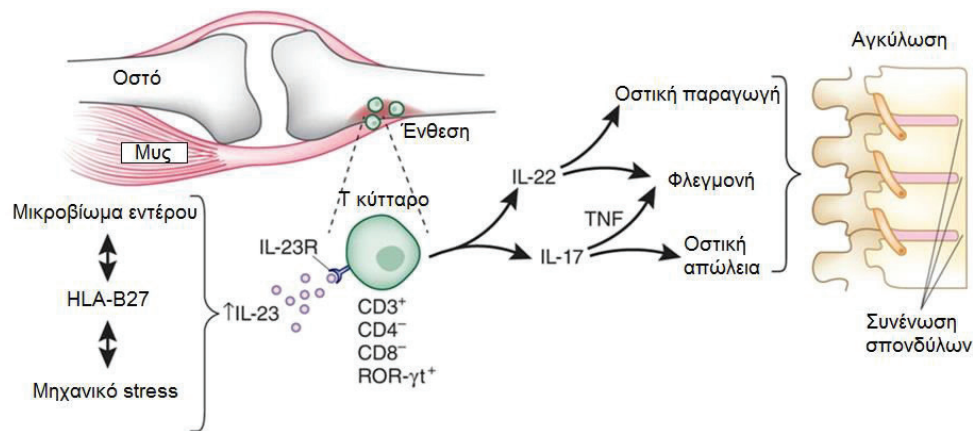
Σύμφωνα με πρόσφατη μελέτη, ο επιπολασμός των ΣΠΑ στο γενικό πληθυσμό στις ΗΠΑ είναι 0,9-1,4%. Από την άλλη, ο επιπολασμός του HLA-B27 βρέθηκε ότι είναι 6,1% στο γενικό πληθυσμό, ενώ στους ασθενείς με ΑΣ ανέρχεται στο 90%, στους ασθενείς με αντιδραστική αρθρίτιδα στο 70%, στους ασθενείς με ψωριασική αρθρίτιδα με αξονική προσβολή στο 60-70% και στους ασθενείς με αρθρίτιδα

σχετιζόμενη με φλεγμονώδη νόσο του εντέρου στο 70%. Μάλιστα το 2,0-6,7% των ανθρώπων με θετικό το HLA-B27 πάσχει από ΑΣ. Όσον αφορά την αναλογία ανδρών:γυναικών, παλαιότερα θεωρούνταν ότι η ΑΣ προσβάλλει συχνότερα τους άνδρες με αναλογία 3:1. Ωστόσο πρόσφατη μελέτη βρήκε ότι όλο και περισσότερες γυναίκες διαγιγνώσκονται με ΑΣ [177].

Η ενθεσίτιδα (φλεγμονή των σημείων που οι τένοντες και οι σύνδεσμοι προσφύονται στα οστά) είναι κεντρικό παθολογοανατομικό εύρημα των ΣΠΑ και συμβάλλει σημαντικά στην αρθρίτιδα, αν και συνυπάρχει υμενίτιδα (φλεγμονή του αρθρικού υμένα). Οι δομικές βλάβες στην ΑΣ περιλαμβάνουν το σχηματισμό νέου οστού, που μπορεί να οδηγήσει σε συνένωση σπονδύλων. Ωστόσο, συνυπάρχει και απώλεια σπογγώδους οστού και μάλιστα, σε γειτνίαση με τις θέσεις οστικής παραγωγής στους σπονδύλους [178].

Η παρουσία του HLA-B27 στο 70-90% των ασθενών με ΣΠΑ [177] και η εμφάνιση νόσου παρόμοιας με ΣΠΑ σε διαγονιδιακούς με το HLA-B27 επίμυες [179] υποδηλώνουν ότι αυτό το μόριο παίζει ρόλο στην παθογένεση των ΣΠΑ. Έχουν διατυπωθεί διάφορες θεωρίες για το μηχανισμό με τον οποίο το HLA-B27 συμβάλλει στην παθογένεση των ΣΠΑ. Μία από αυτές υποστηρίζει ότι το HLA-B27 υφίσταται ελαττωματικό δίπλωμα στο ενδοπλασματικό δίκτυο των κυττάρων, με αποτέλεσμα ενδοκυττάριο stress και παραγωγή IL-23. Σύμφωνα με δεύτερη υπόθεση, το HLA-B27 σχηματίζει ομοδιμερή στην επιφάνεια των κυττάρων, τα οποία αλληλεπιδρούν με κύτταρα της φυσικής ανοσίας, με αποτέλεσμα την επαγωγή της νόσου. Από την άλλη, ο ρόλος της IL-23 φαίνεται να είναι σημαντικός στην παθογένεση των ΣΠΑ, αν και δεν είναι σαφές το αρχικό φλεγμονώδες ή μικροβιακό ερέθισμα που οδηγεί στην αυξημένη παραγωγή IL-23 στις ΣΠΑ. Πρόσφατα ταυτοποιήθηκαν σε ποντικούς Τ-κύτταρα που εντοπίζονται στις ενθέσεις και ανταποκρίνονται στην IL-23. Αυτά τα ενθεσιακά Τ-κύτταρα είναι CD3+ CD4- CD8- IL-23R+ και σε παρουσία υψηλών συγκεντρώσεων IL-23, εκκρίνουν αυξημένες ποσότητες IL-17 και IL-22 (Εικόνα 3-2). Μάλιστα, σε αυτούς τους ποντικούς, η IL-22 οδήγησε σε ενεργοποίηση των οστεοβλαστών και σε οστική παραγωγή στις ενθέσεις [180].

Όσον αφορά στην κλινική εικόνα, τυπική εκδήλωση των ΣΠΑ είναι η προσβολή του αξονικού σκελετού (σπονδυλική στήλη, ιερολαγόνιες αρθρώσεις) (αξονική σπονδυλαρθρίτιδα), η οποία παρουσιάζεται ως άλγος στην σπονδυλική στήλη (συνήθως χαμηλά στην οσφύ) και περιορισμός της κινητικότητάς της λόγω φλεγμονής. Το άλγος επιμένει ή και επιδεινώνεται κατά τη νυκτερινή κατάκλιση, ενώ το πρωί συνοδεύεται από δυσκαμψία, η οποία μπορεί να διαρκέσει μερικές ώρες και υφίεται με τη φυσική δραστηριότητα. Οι ΣΠΑ εκδηλώνονται επίσης με προσβολή των περιφερικών αρθρώσεων, συνήθως των κάτω άκρων (περιφερική αρθρίτιδα), οι οποίες παρουσιάζουν άλγος, οίδημα και πρωινή δυσκαμψία.



**Εικ. 3-2.** Η IL-23 και τα ενθεσιακά T-κύτταρα προάγουν την ενθεσίτιδα και την οστική παραγωγή στις ΣπΑ. Παράγοντες όπως το HLA-B27, το μικροβίωμα του εντέρου και το μηχανικό stress οδηγούν στην αυξημένη παραγωγή IL-23. Η IL-23 διεγείρει τα ενθεσιακά T-κύτταρα να παράγουν IL-17 και IL-22. Η IL-17 προάγει τη φλεγμονή και την οστική απώλεια, ενώ η IL-22 προάγει τη φλεγμονή και την οστική παραγωγή. (Τροποποιημένη από Lories et al. 2012)[181].

Έτερες εκδηλώσεις των ΣπΑ είναι η ενθεσίτιδα, δηλαδή άλγος των σημείων που οι τένοντες και οι σύνδεσμοι συνδέονται με τα οστά (π.χ. πτέρνα, μείζονες τροchanτήρες, λαγόνια ακρολοφία) και η δακτυλίτιδα (διάχυτη διόγκωση των δακτύλων λόγω αρθρίτιδας και ενθεσίτιδας). Οι εξωαρθρικές εκδηλώσεις των ΣπΑ περιλαμβάνουν τη ραγοειδίτιδα (φλεγμονή του ραγοειδή χιτώνα του οφθαλμού με άλγος, ερυθρότητα του οφθαλμού, φωτοφοβία και δακρύρροια), την ψωρίαση (δερματικό εξάνθημα με απολέπιση) και τις φλεγμονώδεις νόσους του εντέρου (νόσος Crohn, ελκώδης κολίτιδα) [5].

Ο πιο χαρακτηριστικός εκπρόσωπος των ΣπΑ είναι η αγκυλοποιητική σπονδυλαρθρίτιδα (ΑΣ), η οποία εκδηλώνεται συνήθως στα τέλη της εφηβείας ή στην αρχή της ενήλικης ζωής. Αν αφεθεί χωρίς θεραπεία, μπορεί να οδηγήσει σταδιακά σε οστεοποίηση του ινώδους δακτυλίου των μεσοσπονδύλιων δίσκων (σχηματισμός συνδεσμοφύτων), σε συνένωση των σπονδύλων και σε αγκύλωση της σπονδυλικής στήλης, με αποτέλεσμα σοβαρό περιορισμό της λειτουργικότητας και της ποιότητας ζωής. Παράλληλα, οι σπόνδυλοι πολλές φορές παρουσιάζουν οστεοπόρωση, με αποτέλεσμα την αυξημένη συχνότητα σπονδυλικών καταγμάτων. Η ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ) παρουσιάζεται σε ασθενείς που πάσχουν από ψωρίαση, αν και σε πολλούς ασθενείς η αρθρίτιδα μπορεί να προηγείται της εμφάνισης της ψωρίασης. Στην πλειοψηφία των ασθενών προσβάλλονται και οι όνυχες (ψωριασική ονυχία). Η αρθρίτιδα σχετιζόμενη με φλεγμονώδη νόσο του εντέρου παρουσιάζεται σε ασθενείς που πάσχουν από νόσο Crohn ή ελκώδη κολίτιδα και έχει ίδια κλινική εικόνα με την ΑΣ. Η αντιδραστική αρθρίτιδα εμφανίζεται 1-4 εβδομάδες μετά από λοίμωξη του γαστρεντερικού ή του ουροποιητικού. Μπορεί να συνοδεύεται από βλάβες του ουρογεννητικού (ουρηθρίτιδα, προστατίτιδα,

τραχηλίτιδα, σαλπγγίτιδα), οφθαλμική προσβολή (επιπεφυκίτιδα, ραγοειδίτιδα), στοματικές άφθες, εξάνθημα παλαμών και πελμάτων και προσβολή των ονύχων. Η αντιδραστική αρθρίτιδα συνήθως ιάται μετά από 3-5 μήνες, αλλά στο 15% των ασθενών χρονίζει και αποκτά την εικόνα της ΑΣ [5].

Από τις εργαστηριακές εξετάσεις, το HLA-B27 είναι θετικό σε πολλούς ασθενείς, ενώ οι δείκτες φλεγμονής ΤΚΕ και CRP μπορεί να είναι αυξημένοι. Ο ρευματοειδής παράγοντας RF, τα anti-CCP αντισώματα, καθώς και τα αντιπυρηνικά αντισώματα (antinuclear antibodies, ANA) είναι αρνητικά στη μεγάλη πλειοψηφία των ασθενών, σε αντιδιαστολή με τους ασθενείς που πάσχουν από ρευματοειδή αρθρίτιδα ή συστηματικό ερυθηματώδη λύκο. Από τις απεικονιστικές εξετάσεις, η απλή ακτινογραφία καταδεικνύει δομικές βλάβες στη σπονδυλική στήλη και τις περιφερικές αρθρώσεις, αλλά αυτό συμβαίνει αργά και εφόσον η νόσος έχει ήδη προχωρήσει. Αντίθετα, η μαγνητική τομογραφία, στη σπονδυλική στήλη και τις ιερολαγόνιες αρθρώσεις κυρίως, μπορεί να αναδείξει τη φλεγμονή νωρίς στην εξέλιξη της νόσου και είναι εξαιρετικά χρήσιμη στην έγκαιρη διάγνωση της [5].

Όσον αφορά στην αντιμετώπιση των ΣπΑ, τα ΜΣΑΦ μειώνουν αποτελεσματικά τον πόνο και την δυσκαμψία και ίσως καθυστερούν την ακτινολογική εξέλιξη της νόσου (παραγωγή νέου οστού) στη σπονδυλική στήλη, αν και οι ανεπιθύμητες ενέργειες των ΜΣΑΦ από το γαστρεντερικό και το καρδιαγγειακό θέτουν περιορισμούς στη μακροχρόνια χορήγησή τους. Τα συμβατικά DMARDs, όπως η μεθοτρεξάτη, η λεφλουνομίδα και η σουλφασαλαζίνη, τα οποία είναι αποτελεσματικά στη θεραπεία της ρευματοειδούς αρθρίτιδας, δεν έχουν καμία επίδραση στην προσβολή της σπονδυλικής στήλης και στην ενθεσίτιδα από τις ΣπΑ. Αντίθετα, τα csDMARDs είναι μερικώς αποτελεσματι-

κά στην αρθρίτιδα των περιφερικών αρθρώσεων και στις εξωαρθρικές εκδηλώσεις των ΣΠΑ. Τέλος, στην ενεργό, ανθεκτική ΣΠΑ έχουν θέση οι ανταγωνιστές του TNF-α (βιολογικοί παράγοντες). Οι αντι-TNF παράγοντες μειώνουν τη φλεγμονή, τον πόνο και τη δυσκαμψία και είναι αποτελεσματικοί τόσο στην αξονική σπονδυλαρθρίτιδα όσο και στην περιφερική αρθρίτιδα και τις εξωαρθρικές εκδηλώσεις των ΣΠΑ. Μάλιστα, οι αντι-TNF επιβραδύνουν τη βλάβη των περιφερικών αρθρώσεων, αν και δε φαίνεται να έχουν την ίδια αποτελεσματικότητα στην επιβράδυνση της παραγωγής νέου οστού στη σπονδυλική στήλη [16].

### 3.3 Συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (ΣΕΛ)

Ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (ΣΕΛ) είναι μία πολυσυστηματική αυτοάνοση νόσος η οποία παρουσιάζει μεγάλο εύρος κλινικών εκδηλώσεων. Είναι χρόνια πάθηση, η οποία μπορεί να γίνει απειλητική για τη ζωή όταν προσβάλλονται μείζονα όργανα, αλλά συνηθέστερα οδηγεί σε αύξηση της νοσηρότητας [182]. Η βλάβη των οργάνων στο ΣΕΛ προκαλείται από αυτοαντισώματα, δηλαδή αντισώματα που αναγνωρίζουν ίδια αντιγόνα του οργανισμού, και από ανοσοσυμπλέγματα, δηλαδή συμπλέγματα αντιγόνου-αντισώματος. Σε πολλούς ασθενείς, τα αυτοαντισώματα είναι παρόντα για χρόνια προτού εμφανιστούν τα πρώτα κλινικά συμπτώματα [3].

Ο ΣΕΛ εμφανίζεται συνήθως σε γυναίκες ηλικίας 15-44 ετών, ενώ ο λόγος γυναικών προς τους άνδρες ασθενείς είναι 9:1. Ο επιπολασμός της νόσου στις ΗΠΑ είναι 53.6 ασθενείς ανά 100.000 πληθυσμού, με μεγαλύτερη προσβολή του πληθυσμού αфро-αμερικανικής καταγωγής [183], ενώ στην Ελλάδα ο επιπολασμός έχει υπολογιστεί στους 110 ασθενείς ανά 100.000 πληθυσμού [184].

Σχετικά με την παθογένεση του ΣΕΛ, η νόσος είναι πολυπαραγοντική, με γενετική συνιστώσα, περιβαλλοντικές επιδράσεις και διαταραχές τόσο της φυσικής όσο και της επίκτητης ανοσίας. Στο ΣΕΛ, τα φαγοκύτταρα αδυνατούν να απομακρύνουν αποτελεσματικά τα υπολείμματα των αποπτωτικών κυττάρων, με αποτέλεσμα υπολείμματα πυρήνων να προσλαμβάνονται από αντιγονοπαρουσιαστικά κύτταρα. Η αλληλεπίδραση αντιγονοπαρουσιαστικών, T- και B-κυττάρων οδηγεί στην παραγωγή αντιπυρηνικών αντισωμάτων (antinuclear antibodies, ANA), τα οποία είναι χαρακτηριστικά της νόσου και συμμετέχουν στην ιστική βλάβη. Παράλληλα, παρατηρείται πολυκλωνική ενεργοποίηση των B-κυττάρων, τα οποία είναι λιγότερο επιρρεπή στην ανοσοκαταστολή, ενώ παρατηρούνται διαταραχές και στη λειτουργία των T-κυττάρων. Οι κυτοκίνες που συμμετέχουν στην παθογένεση του ΣΕΛ είναι ο ενεργοποιητής των B-λεμφοκυττάρων (B-lymphocyte stimulator, BLyS), η IL-6, IL-17 και IL-18, οι ιντερφερόνες τύπου I (IFN-α, IFN-β) και ο TNF-α [185]. Όσον αφορά στους περιβαλλοντικούς παράγοντες, η επικράτηση των γυναικών ασθενών οφείλεται στα μεγαλύτερα επίπεδα οιστρογόνων σε σχέση με τους άνδρες, τα οποία προκαλούν αυξημένη παραγωγή κυ-

**Πίν. 3-1.** Κλινικές εκδηλώσεις του συστηματικού ερυθηματώδους λύκου. (Τροποποιημένος από Hahn, 2015) [3].

<b>Συστηματικά συμπτώματα</b>	Κόπωση, κακουχία Πυρετός Απώλεια βάρους
<b>Μυοσκελετικές εκδηλώσεις</b>	Αρθραλγίες/μυαλγίες Πολυαρθρίτιδα Μυοσίτιδα Άσπλητη οστεονέκρωση
<b>Δερματικές εκδηλώσεις</b>	Εξάνθημα Φωτοευαισθησία Αλωπεκία Στοματικές άφθες
<b>Εκδηλώσεις από τους νεφρούς</b>	Πρωτεϊνουρία Νεφρωσικό σύνδρομο Χρόνια νεφρική ανεπάρκεια
<b>Πνευμονικές εκδηλώσεις</b>	Πλευρίτιδα Πνευμονίτιδα Διάμεση ίνωση Πνευμονική υπέρταση
<b>Καρδιαγγειακές εκδηλώσεις</b>	Περικαρδίτιδα Μυοκαρδίτιδα Ενδοκαρδίτιδα Στεφανιαία νόσος
<b>Εκδηλώσεις από το γαστρεντερικό</b>	Ναυτία, κοιλιακό άλγος, διάρροια Τρανσαμινασαιμία Αγγειίτιδα
<b>Νευροψυχιατρικές εκδηλώσεις</b>	Νοπτικές διαταραχές Διαταραχές της διάθεσης Κεφαλαλγία Επιληπτικές κρίσεις Μονο-, πολυνευροπάθεια Αγγειακό εγκεφαλικό επεισόδιο Άσπλητη μηνιγγίτιδα
<b>Οφθαλμικές εκδηλώσεις</b>	Ξηροφθαλμία Επιπεφυκίτιδα, επισκληρίτιδα Αγγειίτιδα
<b>Αιματολογικές διαταραχές</b>	Αναιμία, λευκοπενία, θρομβοπενία Ηπατομεγαλία, σπληνομεγαλία
<b>Θρομβώσεις</b>	Αρτηριακές θρομβώσεις Φλεβικές θρομβώσεις

τοκινών από τα T- και B-λεμφοκύτταρα. Επιπλέον, η υπεριώδης ακτινοβολία προκαλεί αυξημένη απόπτωση των κυττάρων της επιδερμίδας, παρουσίαση αυτοαντιγόνων στα λεμφοκύτταρα και αυξημένη παραγωγή φλεγμονωδών κυτοκινών [186].

Ο ΣΕΛ μπορεί να προσβάλλει διαφορετικά όργανα και συστήματα και παρουσιάζει εξάρσεις και υφέσεις. Μπορεί να προκαλέσει μη αναστρέψιμη βλάβη των οργάνων, η οποία εξαρτάται από την ενεργότητα της νόσου, τη θεραπευτική αγωγή και τις συννοσηρότητες [187]. Στον Πίνακα 3-1 αναφέρονται οι κλινικές εκδηλώσεις της νόσου.



**Εικ. 4-1.** Εστιακές οστικές διαβρώσεις (ακτινογραφία A) και περιαρθρική οστική απώλεια (ακτινογραφία B) στη ρευματοειδή αρθρίτιδα. (Τροποποιημένη από Roux, 2011) [189].

Η διάγνωση του ΣΕΛ βασίζεται στην κλινική εικόνα και στην ανίχνευση των αυτοαντισωμάτων. Διαγνωστικά τα πιο σημαντικά αυτοαντισώματα είναι τα αντιπυρηνικά (ANA), καθώς είναι θετικά σε πάνω από 95% των ασθενών, αν και μπορεί να είναι θετικά και σε άλλες παθήσεις. Εξίσου σημαντικά είναι τα αντισώματα έναντι του δίκλωνου DNA (antibodies to double-stranded DNA, anti-dsDNA), των οποίων ο υψηλός τίτλος είναι ειδικός για το ΣΕΛ. Άλλα αυτοαντισώματα που ανιχνεύονται στο ΣΕΛ είναι τα anti-Sm, anti-RNP, anti-Ro, anti-La, τα αντιστοινικά και τα αντιφωσφολιπιδικά. Κατά την ενεργό φάση της νόσου τα επίπεδα των συστατικών του συμπληρώματος (C3, C4) μπορεί να είναι χαμηλά και τα επίπεδα των anti-dsDNA υψηλά [3].

Όσον αφορά στην αντιμετώπιση του ΣΕΛ, τα ΜΣΑΦ έχουν αντιφλεγμονώδεις και αναλγητικές ιδιότητες και χρησιμοποιούνται για τις αρθραλγίες, την αρθρίτιδα και τον πυρετό. Η υδροξυχλωροκίνη έχει ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες και έχει ευνοϊκή επίδραση στις αρθραλγίες, την αρθρίτιδα, το δερματικό εξάνθημα και την κόπωση. Τα ανοσοκατασταλτικά φάρμακα κυκλοφωσφαμίδη, αζαθειοπρίνη, κυκλοσπορίνη, μυκοφαινόλη, τακρόλιμους και λεφλουνομίδη χρησιμοποιούνται για σοβαρότερες περιπτώσεις, στις οποίες προσβάλλονται εσωτερικά όργανα. Τα γλυκοκορτικοειδή έχουν ικανή ανοσοκατασταλτική δράση και είναι χρήσιμα σε όλο το εύρος των εκδηλώσεων του ΣΕΛ [185,188]. Το rituximab και το belimumab είναι βιολογικοί παράγοντες που χρησιμοποιούνται στη θεραπεία του ΣΕΛ. Το rituximab είναι μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του CD20 αντιγόνου των Β-λεμφοκυττάρων και μειώνει τον πληθυσμό αυτών των κυττάρων. Χρησιμοποιείται σε ενεργό ΣΕΛ που είναι ανθεκτικός στην αγωγή με τα υπόλοιπα ανοσοκατασταλτικά φάρμακα [186]. Το belimumab είναι μονοκλωνικό αντίσωμα ένα-

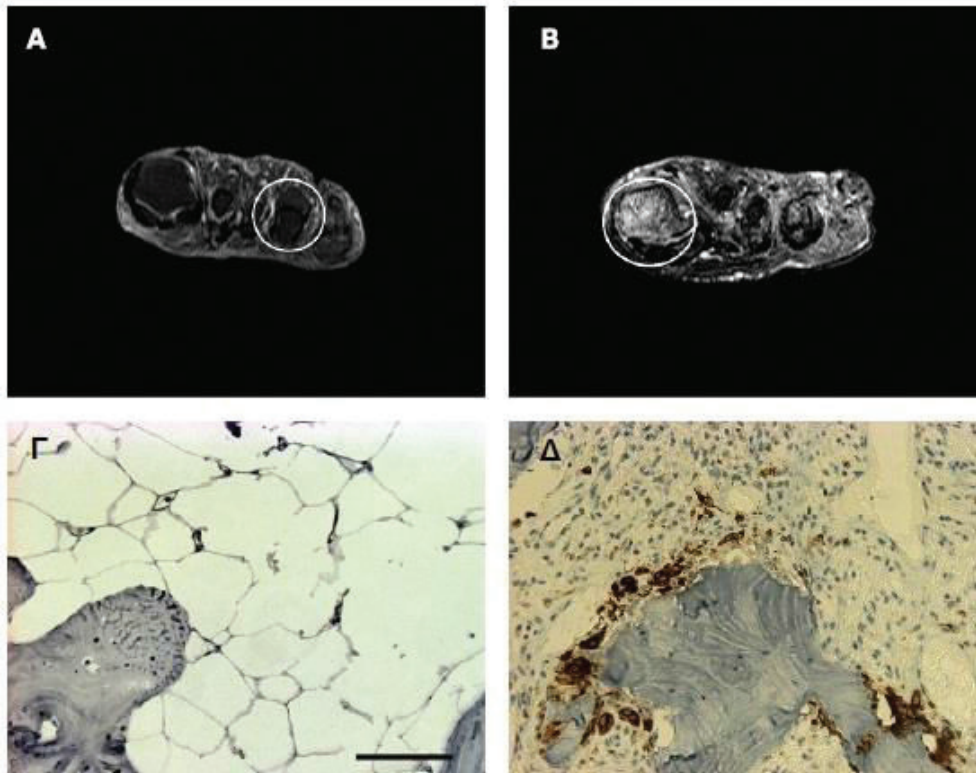
ντι του BlyS και προκαλεί απόπτωση και αναστολή της ωρίμανσης των Β-λεμφοκυττάρων. Χρησιμοποιείται για την αγωγή ασθενών με ΣΕΛ με θετικά αντισώματα που έχουν ενεργό νόσο παρά την αγωγή με συμβατικά φάρμακα [185].

#### **4. Προσβολή του οστού στη ρευματοειδή αρθρίτιδα (PA) - Η επίδραση της φλεγμονής στη λειτουργία των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών**

Τρεις μορφές παθολογικής οστικής ανακατασκευής παρατηρούνται στη ρευματοειδή αρθρίτιδα (PA). Πρώτον, στις παρυφές των αρθρώσεων και στο υποχόνδριο οστό παρατηρούνται εστιακές οστικές διαβρώσεις (Εικόνα 4-1A). Στις θέσεις επαφής αρθρικού υμένα και οστού, υπερπλαστικός ιστός, που προέρχεται από τον υμένα, επεκτείνεται πάνω στον αρθρικό χόνδρο και σχηματίζει τον πάννο. Ο πάννος διαβρώνει το χόνδρο και το οστό, με αποτέλεσμα τη δημιουργία εστιακών οστικών διαβρώσεων. Η δεύτερη μορφή παθολογικής οστικής ανακατασκευής στη PA είναι η περιαρθρική οστική απώλεια (Εικόνα 4-1B), λόγω της παραγωγής κυτοκινών και άλλων μεσολαβητών της φλεγμονής από τη φλεγμαίνουσα άρθρωση. Τέλος, η είσοδος των μεσολαβητών της φλεγμονής στην κυκλοφορία προκαλεί συστηματική οστική απώλεια στη PA [7].

##### **4.1 Εστιακές οστικές διαβρώσεις στη PA**

Οι εστιακές οστικές διαβρώσεις ανιχνεύονται νωρίς κατά την εξέλιξη της PA, ακόμα και σε διάστημα εβδομάδων μετά τη διάγνωση της νόσου. Μέχρι και το 60% των ασθενών έχουν οστικές διαβρώσεις 1 έτος μετά την εκδήλωση της νόσου, ενώ σε πάνω από



**Εικ. 4-2.** Διήθηση με οστεοκλάστες περιοχών του οστού με οστικό οίδημα στη μαγνητική τομογραφία. Εγκάρσιες τομές MRI στην T2 ακολουθεί με καταστολή του λίπους στις οποίες απεικονίζονται: (Α) η κεφαλή του 4<sup>ου</sup> μεταταρσίου (κύκλος) χωρίς οστικό οίδημα, (Β) η κεφαλή του 1<sup>ου</sup> μεταταρσίου (κύκλος) με οστικό οίδημα. Δείγματα οστού με χρώση για TRAP στα οποία απεικονίζονται: (Γ) η κεφαλή του 4<sup>ου</sup> μεταταρσίου χωρίς οστεοκλάστες και με ελάχιστη φλεγμονώδη διήθηση (αντιστοιχεί στην εικόνα Α), (Δ) η κεφαλή του 1<sup>ου</sup> μεταταρσίου με άφθονες οστεοκλάστες και σημαντική φλεγμονώδη διήθηση του μυελού των οστών (αντιστοιχεί στην εικόνα Β). (Τροποποιημένη από Dalbeth *et al.* 2009) [199].

10% διαπιστώνονται διαβρώσεις 8 εβδομάδες μετά την εκδήλωση των πρώτων συμπτωμάτων [190]. Μάλιστα η αρθρική βλάβη επιδεινώνεται με την πάροδο του χρόνου, υπονομεύοντας τη λειτουργικότητα των ασθενών και προκαλώντας ανικανότητα [191,192].

Τα τελευταία χρόνια έχουν γίνει κατανοητοί σε μεγάλο βαθμό οι παθογενετικοί μηχανισμοί δημιουργίας των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη ΡΑ. Έτσι, η ενεργοποίηση των οστεοκλαστών και η αυξημένη οστική απορρόφηση ενοχοποιήθηκαν αρχικά για τη δημιουργία των διαβρώσεων [7,193,194]. Ωστόσο, πρόσφατα διαπιστώθηκε ότι στις θέσεις των διαβρώσεων είναι διαταραγμένη και η οστική παραγωγή, εφόσον αναστέλλεται η λειτουργία των οστεοβλαστών, με αποτέλεσμα την αδυναμία επιδιόρθωσης των διαβρώσεων [9].

Απεικονιστικά, στην απλή ακτινογραφία και στη μαγνητική τομογραφία (magnetic resonance imaging, MRI), οι εστιακές οστικές διαβρώσεις απεικονίζονται ως εστιακή λύση της συνέχειας του φλοιού του οστού με σαφώς αφορισμένα όρια (Εικόνα 4-1Α). Κλινικές μελέτες έχουν δείξει ότι πολλές φορές, της εμφάνισης των οστικών διαβρώσεων προηγείται η εμφάνιση οστικού οιδήματος στην MRI [195-197]. Η ιστολογική ανάλυση περιοχών του οστού με οστικές

διαβρώσεις στην MRI έδειξε εντοπισμένη αντικατάσταση του λίπους του μυελού των οστών από φλεγμονώδη κύτταρα, σε γειτνίαση με λύση της συνέχειας του φλοιού. Η αντίστοιχη ανάλυση περιοχών του οστού με απεικόνιση οστικού οιδήματος στην MRI έδειξε αντίστοιχα διήθηση με φλεγμονώδη κύτταρα, καθιστώντας έτσι τον όρο «οστεΐτιδα» πιο δόκιμο από τον όρο «οστικό οίδημα» [198]. Σε άλλη μελέτη, η ιστολογική ανάλυση περιοχών του οστού με οστικό οίδημα στην MRI έδειξε διήθηση με πολυάριθμες οστεοκλάστες και άλλα φλεγμονώδη κύτταρα, όπως μακροφάγα, πλασματοκύτταρα και λιγότερα CD8+ T-λεμφοκύτταρα και B-λεμφοκύτταρα (Εικόνα 4-2). Η ανοσοϊστοχημική ανάλυση μάλιστα αυτών των περιοχών έδειξε υψηλή έκφραση του RANKL, σημαντικού παράγοντα της οστεοκλαστογένεσης [199]. Φαίνεται λοιπόν πως η διήθηση του οστού με φλεγμονώδη κύτταρα και οστεοκλάστες οδηγεί σταδιακά στη δημιουργία των εστιακών οστικών διαβρώσεων.

#### 4.1.1 Οι οστεοκλάστες συμμετέχουν στη δημιουργία των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη ΡΑ

Ήδη από τη δεκαετία του 1980 οι οστεοκλάστες έχουν ενοχοποιηθεί ως τα κύτταρα που είναι υπεύθυνα για τη δημιουργία των εστιακών οστικών δια-

βρώσεων στη PA, καθώς πολυπύρηννα κύτταρα, θετικά για την TRAP, με φαινοτυπικά χαρακτηριστικά οστεοκλάστης, είχαν βρεθεί σε θέσεις διαβρώσεων στο υποχόνδριο οστό αρθρώσεων με PA [200]. Ωστόσο, η TRAP ανιχνεύεται και σε άλλους τύπους κυττάρων και τότε δεν ήταν γνωστοί δείκτες που παράγονται αποκλειστικά από τις οστεοκλάστες. Οι Gravallese et al. διερεύνησαν πρόσφατα την έκφραση του υποδοχέα καλσιτονίνης, ο οποίος εκφράζεται αποκλειστικά από τις οστεοκλάστες. Έτσι, εντόπισαν πολυπύρηννα κύτταρα, τα οποία εξέφραζαν TRAP και υποδοχείς καλσιτονίνης, σε θέσεις διαβρώσεων στο υποχόνδριο οστό αρθρώσεων με PA και ταυτοποίησαν οριστικά τις οστεοκλάστες ως υπεύθυνες για τις οστικές διαβρώσεις στη PA. Επιπρόσθετα, εντόπισαν πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών στις θέσεις επαφής πάννου και οστού, καταδεικνύοντας έτσι ότι στον πάννο παράγονται σήματα που προάγουν την οστεοκλαστογένεση [7].

Στη συνέχεια ακολούθησαν μελέτες σε πειραματόζωα που ενοχοποιούσαν τις οστεοκλάστες για τη δημιουργία των εστιακών οστικών διαβρώσεων σε ζωικά μοντέλα αρθρίτιδας [201-203]. Μάλιστα, σε διαγονιδιακούς ποντικούς με απαλοιφή του γονιδίου του RANKL, σημαντικού παράγοντα της οστεοκλαστογένεσης, στους οποίους προκλήθηκε αρθρίτιδα, παρατηρήθηκαν σημαντικά μειωμένες οστικές διαβρώσεις σε σχέση με τους ποντικούς με φυσιολογική έκφραση RANKL. Όλα τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά της φλεγμονώδους αρθρίτιδας ήταν ίδια, καταδεικνύοντας έτσι το ρόλο των οστεοκλαστών και του RANKL στη δημιουργία οστικών διαβρώσεων [193]. Σε άλλη μελέτη, διασταυρώθηκαν διαγονιδιακοί ποντικοί με υπερέκφραση TNF, οι οποίοι αναπτύσσουν φλεγμονώδη αρθρίτιδα που προσομοιάζει τη ρευματοειδή αρθρίτιδα, με διαγονιδιακούς ποντικούς με απαλοιφή του c-fos, οι οποίοι στερούνται οστεοκλαστών. Οι ποντικοί που προέκυψαν παρουσίαζαν επίσης όλα τα χαρακτηριστικά της φλεγμονώδους αρθρίτιδας, εκτός των οστικών διαβρώσεων [194].

Μάλιστα, η αναστολή της λειτουργίας των οστεοκλαστών δρα ανασταλτικά στη δημιουργία των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA. Η χορήγηση ζολενδρονικού οξέος, ενός ισχυρού αντιοστεοκλαστικού παράγοντα, σε ποντικούς και επίμυες με αρθρίτιδα ανέστειλε τη δημιουργία οστικών διαβρώσεων και μείωσε τον αριθμό των οστεοκλαστών στο υποχόνδριο οστό, ενώ δε βελτίωσε την υμενίτιδα [204,205]. Όταν χορηγήθηκε σε ανθρώπους με PA, το ζολενδρονικό ανέστειλε τη δημιουργία νέων οστικών διαβρώσεων στις προσβληθείσες αρθρώσεις [206].

Επομένως, όλες οι παραπάνω μελέτες αποδεικνύουν ότι οι οστεοκλάστες είναι τα υπεύθυνα κύτταρα για τη δημιουργία των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA. Στη συνέχεια, θα αναλυθούν οι παράγοντες που ευοδώνουν την οστεοκλαστογένεση και τη δημιουργία οστικών διαβρώσεων στη PA.

#### 4.1.1.1 Ο ρόλος του RANKL στη PA

Ο συνδέτης του υποδοχέα-ενεργοποιητή του πυρηνικού παράγοντα κΒ (receptor activator of nuclear factor kappa-B ligand, RANKL) παίζει σημαντικό ρόλο στην οστεοκλαστογένεση και στη δημιουργία εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA και αυτό αποδεικνύεται από πλήθος μελετών. Ο αρθρικός υμένας των αρθρώσεων που έχουν προσβληθεί από PA, όπως και ο πάννος, είναι εστίες παραγωγής του παράγοντα RANKL [207,208]. Έτσι, ο υμένας από φλεγμαίνουσες αρθρώσεις με PA παράγει RANKL σε σημαντικά μεγαλύτερες ποσότητες σε σχέση με το φυσιολογικό αρθρικό υμένα [209,210]. Αντίθετα, η παραγωγή της οστεοπροτεγερίνης (osteoprotegerin, OPG), φυσικού αναστολέα του RANKL, είναι μειωμένη στις αρθρώσεις με PA [211]. Το αποτέλεσμα είναι ο λόγος RANKL:OPG, ο οποίος όπως αναφέρθηκε παραπάνω ρυθμίζει την οστεοκλαστογένεση, να είναι αυξημένος στις αρθρώσεις που έχουν προσβληθεί από PA [211,212]. Τα κύτταρα που είναι υπεύθυνα για την αυξημένη παραγωγή του RANKL στις φλεγμαίνουσες αρθρώσεις στη PA είναι τα T-λεμφοκύτταρα και τα υμενοκύτταρα ινοβλαστικού τύπου (Fibroblast-Like Synovialocytes, FLS) [208,210,212]. Μάλιστα, όταν χρησιμοποιήθηκαν μέθοδοι ανοσοϊστοχημείας σε δείγματα αρθρικού υμένα από ασθενείς με PA, διαπιστώθηκε ότι ο RANKL εκφράζεται επιλεκτικά στις θέσεις των εστιακών οστικών διαβρώσεων στα σημεία επαφής πάννου και οστού. Στις ίδιες θέσεις ήταν παρόντα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών που εξέφραζαν τον υποδοχέα RANK [213].

Εκτός από τους ασθενείς με PA, ο RANKL και οι οστεοκλάστες ανιχνεύονται στις θέσεις των οστικών διαβρώσεων στις φλεγμαίνουσες αρθρώσεις ζωικών μοντέλων αρθρίτιδας [202,214]. Ζωικά μοντέλα φλεγμονώδους αρθρίτιδας, τα οποία προσομοιάζουν τη PA που παρατηρείται στους ανθρώπους, είναι διαγονιδιακοί ποντικοί με υπερέκφραση TNF-α (TNF-α transgenic, TNF-Tg)[215], επίμυες στους οποίους εγχύεται κολλαγόνο τύπου II (Collagen Induced Arthritis, CIA) [216], ποντικοί στους οποίους εγχύεται ορός K/BxN από ποντικούς με αρθρίτιδα [193] και επίμυες στους οποίους εγχύεται ανοσοενισχυτικό (νεκρά στελέχη μυκοβακτηριδίου της φυματίωσης) (Adjuvant-Induced Arthritis, AIA) [217]. Σε μελέτη που αναφέρθηκε και παραπάνω, σε διαγονιδιακούς ποντικούς με απαλοιφή του γονιδίου του RANKL, καθώς και σε φυσιολογικούς ποντικούς, προκλήθηκε αρθρίτιδα με την έγχυση ορού K/BxN. Στους ποντικούς με απαλοιφή του RANKL παρατηρήθηκαν σημαντικά μειωμένες οστικές διαβρώσεις σε σχέση με τους ποντικούς με φυσιολογική έκφραση RANKL, ενώ όλα τα υπόλοιπα χαρακτηριστικά της φλεγμονώδους αρθρίτιδας ήταν ίδια [193]. Σε άλλη μελέτη, η χορήγηση ανταγωνιστή του RANKL σε TNF-Tg ποντικούς οδήγησε σε δραματική μείωση των οστεοκλαστών στις προσβληθείσες αρθρώσεις και μακροπρόθεσμα, σε βελτίωση των εστιακών οστικών διαβρώσεων. Μάλιστα, όταν διασταυρώθηκαν TNF-

Τη ποντικούς με διαγονιδιακούς ποντικούς με απαλοιφή του RANK, παρατηρήθηκε πλήρης απουσία οστεοκλαστών και οστικών διαβρώσεων [215].

Επιπρόσθετα, η χορήγηση πρωτεΐνης Fc-OPG (χημική πρωτεΐνη που αποτελείται από οστεοπροτεγερίνη και το Fc τμήμα IgG ανοσοσφαιρίνης) σε ζωικά μοντέλα αρθρίτιδας μείωσε σημαντικά τις εστιακές οστικές διαβρώσεις στις παρυφές των αρθρώσεων και στο υποχόνδριο οστό, καθώς επίσης μείωσε και τον αριθμό των οστεοκλαστών περιαρθρικά, ενώ δεν επηρέασε τη φλεγμονή των αρθρώσεων [216-218]. Οι παραπάνω μελέτες οδήγησαν στη δοκιμή της επίδρασης της δενοσουμάμπης στις εστιακές οστικές διαβρώσεις στη PA. Η δενοσουμάμπη είναι ένα πλήρως ανθρώπινο μονοκλωνικό αντίσωμα που προσδένεται στον RANKL και τον αναστέλλει. Έτσι, η χορήγηση δενοσουμάμπης σε ασθενείς με PA οδήγησε στην αναστολή της εξέλιξης των οστικών διαβρώσεων των αρθρώσεων που είχαν προσβληθεί από τη νόσο [219,220]. Μάλιστα, πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η δενοσουμάμπη μπορεί να επαγάγει μερική επιδιόρθωση των εστιακών οστικών διαβρώσεων [221].

#### 4.1.1.2 Ο ρόλος των κυτοκινών στην οστεοκλαστογένεση στη PA

Ο φλεγμαίνων αρθρικός υμένας στη PA παράγει πλήθος κυτοκινών οι οποίες προάγουν την οστεοκλαστογένεση με ποικίλους μηχανισμούς. Στις αρθρώσεις που έχουν προσβληθεί από PA, ο **TNF-α** παράγεται από ενεργοποιημένα μακροφάγα και υμενοκύτταρα [222] και συνεργάζεται με το σηματοδοτικό μονοπάτι του RANKL για την επαγωγή της οστεοκλαστογένεσης. Ο TNF-α αφενός επάγει την έκφραση του υποδοχέα RANK στα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών [223], αφετέρου προάγει, μέσω της IL-6, την έκφραση του RANKL από τα υμενοκύτταρα ινοβλαστικού τύπου (FLS) ασθενών με PA [224]. Επιπρόσθετα, ο TNF-α επάγει την έκφραση του NFATc1 στα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών μέσω ενεργοποίησης του NF-κΒ. Ο NFATc1 είναι μεταγραφικός παράγοντας που ανήκει στο σηματοδοτικό μονοπάτι του RANKL και επάγει την οστεοκλαστογένεση [225]. Ακόμη, ο TNF-α επάγει την έκφραση του Blimp-1 (B-lymphocyte-induced maturation protein-1, επαγόμενη από τα Β-λεμφοκύτταρα πρωτεΐνη ωρίμανσης-1) από τα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών. Ο Blimp-1 είναι μεταγραφικός παράγοντας που ανήκει στο μονοπάτι του RANKL και η έκφρασή του επάγεται από τον NFATc1 [226]. Από την άλλη, ο TNF-α είναι ικανός να προάγει την οστεοκλαστογένεση στη PA άμεσα, όπως φάνηκε από την αύξηση του πληθυσμού των προγονικών κυττάρων των οστεοκλαστών σε TNF-Tg ποντικούς, ανεξάρτητα από τον RANKL [215,227]. Επίσης σε TNF-Tg ποντικούς, οι οποίοι αποτελούν ζωικό μοντέλο φλεγμονώδους αρθρίτιδας που προσομοιάζει τη PA, βρέθηκε ότι ο TNF-α επάγει την οστεοκλαστογένεση μέσω της ενίσχυσης της έκφρασης του c-fms, υποδοχέα του M-CSF, από τα πρόδρομα κύτταρα των οστεο-

κλαστών [228]. Επιπρόσθετα, ο TNF-α επάγει την έκφραση του M-CSF από τα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών. Ο M-CSF είναι οστεοκλαστογόνος παράγοντας και επάγει την έκφραση του RANK από τα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών. Μάλιστα, σε ποντικούς με φλεγμονώδη αρθρίτιδα, μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του υποδοχέα του M-CSF ανέστειλε την οστεοκλαστογένεση και την οστική απορρόφηση στις προσβληθείσες αρθρώσεις [229].

Η **IL-1** παράγεται από ενεργοποιημένα μακροφάγα και από υμενοκύτταρα στις αρθρώσεις με PA [222], προάγει τη σύντηξη και την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών [120] και καταστέλλει την απόπτωσή τους [230]. Όταν σε διαγονιδιακούς ποντικούς με έλλειψη του υποδοχέα της IL-1 (IL-1R), προκλήθηκε φλεγμονώδης αρθρίτιδα με έγχυση ορού K/BxN, οι ποντικοί παρουσίασαν ήπια σημεία φλεγμονής στις αρθρώσεις, αλλά καθόλου οστικές διαβρώσεις, υποδεικνύοντας έτσι ένα σημαντικό ρόλο για την IL-1 στην παθογένεια των οστικών διαβρώσεων στη PA [231]. Μάλιστα, η IL-1 διαμεσολαβεί στην οστεοκλαστογόνο δράση του TNF-α, ενισχύοντας την παραγωγή του RANKL από τα στρωματικά κύτταρα του μυελού των οστών. Πράγματι, η έγχυση TNF-α σε συγκαλλιέργεια μακροφάγων και στρωματικών κυττάρων μυελού των οστών προκάλεσε μειωμένη οστεοκλαστογένεση όταν τα στρωματικά κύτταρα είχαν έλλειψη IL-1R ή όταν προστίθετο ανταγωνιστής του IL-1R. Μειωμένη οστεοκλαστογένεση προκλήθηκε επίσης όταν χορηγήθηκε TNF-α σε διαγονιδιακούς ποντικούς με έλλειψη IL-1R [121]. Επιπρόσθετα, όταν διασταυρώθηκαν TNF-Tg ποντικοί με διαγονιδιακούς ποντικούς με έλλειψη IL-1, οι ποντικοί που προέκυψαν παρουσίαζαν μεν φλεγμονώδη αρθρίτιδα, αλλά η οστεοκλαστογένεση και οι εστιακές οστικές διαβρώσεις ήταν σημαντικά μειωμένες σε σχέση με τους TNF-Tg ποντικούς, καταδεικνύοντας έτσι το διμεσολαβητικό ρόλο της IL-1 στην οστεοκλαστογόνο δράση του TNF-α στη PA [232].

Η **IL-6** παράγεται στις αρθρώσεις με PA από υμενοκύτταρα ινοβλαστικού τύπου, ενεργοποιημένα μακροφάγα και T-κύτταρα [233,234]. Προάγει την οστεοκλαστογένεση στη PA επάγοντας την έκφραση RANKL από τα υμενοκύτταρα ινοβλαστικού τύπου [224]. Από την άλλη, η IL-6 έχει ανασταλτική δράση στο ενδοκυττάριο σηματοδοτικό μονοπάτι του RANKL και στην οστεοκλαστογένεση [235]. Ωστόσο, φαίνεται πως η IL-6 συνολικά έχει ευοδωτική δράση στην οστεοκλαστογένεση. Παρόλο που η προσθήκη IL-6 σε καλλιέργεια προδρόμων κυττάρων οστεοκλαστών αναστέλλει την οστεοκλαστογένεση, όταν προστίθεται IL-6 σε συγκαλλιέργεια υμενοκυττάρων και προδρόμων κυττάρων οστεοκλαστών, η οστεοκλαστογένεση διεγείρεται, λόγω παραγωγής RANKL από τα υμενοκύτταρα [236]. Η οστεοκλαστογόνο δράση της IL-6 στη PA καταδεικνύεται επίσης από μελέτη στην οποία προκλήθηκε φλεγμονώδης αρθρίτιδα σε διαγονιδιακούς ποντικούς με έλλειψη IL-6. Οι διαγονιδιακοί ποντικοί παρουσίασαν σημαντικά λιγότερους

οστεοκλάστες στις θέσεις των οστικών διαβρώσεων σε σχέση με ποντικούς που δεν παρουσίαζαν έλλειψη IL-6 [237]. Επιπρόσθετα, η αναστολή του υποδοχέα της IL-6 (IL-6R) σε TNF-Tg ποντικούς μείωσε σημαντικά τον αριθμό των οστεοκλαστών και τον αριθμό και την έκταση των οστικών διαβρώσεων, καταδεικνύοντας έτσι το ρόλο της IL-6 στην παθογένεση των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA [238].

Η **IL-17** παράγεται από τα βοηθητικά T κύτταρα τύπου 17 (T helper cells type 17, Th17 cells) και παίζει σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της PA και στην αυξημένη οστεοκλαστογένεση που παρατηρείται στη νόσο. Η IL-17 διεγείρει την παραγωγή RANKL από τους οστεοβλάστες, με αποτέλεσμα ενίσχυση της οστεοκλαστογένεσης και της οστικής απορρόφησης [239]. Πράγματι, όταν προκλήθηκε φλεγμονώδης αρθρίτιδα σε ποντικούς που παρουσίαζαν υπερέκφραση της IL-17, παρατηρήθηκε ότι η IL-17 ενίσχυε την παραγωγή RANKL και την οστεοκλαστογένεση, με αποτέλεσμα τη δημιουργία εστιακών οστικών διαβρώσεων [240]. Μάλιστα, η IL-17 διεγείρει την παραγωγή του RANK από τα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών και έτσι, αυξάνει την ευαισθησία τους στη δράση του RANKL [241]. Επίσης, εκτός της οστεοκλαστογόνου δράσης μέσω του RANKL, η IL-17 διεγείρει την οστεοκλαστογένεση άμεσα [127], αλλά και προκαλώντας την έκκριση προσταγλανδίνης E2 από τους οστεοβλάστες [242]. Επιπρόσθετα, η IL-17 διεγείρει την παραγωγή IL-1 και TNF-α από τα μακροφάγα [243] και IL-6 από τους ινοβλάστες [244]. Μάλιστα, ο ρόλος της IL-17 στην παθογένεση των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA καταδεικνύεται από τη μείωση των οστεοκλαστών και των οστικών διαβρώσεων στις αρθρώσεις πειραματόζων με φλεγμονώδη αρθρίτιδα, μετά από χορήγηση ανταγωνιστή της IL-17 (αντι-IL-17 μονοκλωνικό αντίσωμα) [245-247].

Άλλες κυτοκίνες που προάγουν την οστεοκλαστογένεση στη PA είναι η IL-15, η IL-33 και η IL-34. Η **IL-15** διεγείρει τη διαφοροποίηση των προδρόμων κυττάρων των οστεοκλαστών [128]. Σε διαγονιδικούς ποντικούς με έλλειψη IL-15, παρατηρήθηκε αναστολή της οστεοκλαστογένεσης που μεσολαβείται από τον RANKL, αλλά και της οστεοκλαστογένεσης που μεσολαβείται από τα T-κύτταρα [248]. Στη PA, η IL-15 παράγεται από το φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα και ενεργοποιεί τα T-κύτταρα, τα οποία με τη σειρά τους παράγουν προφλεγμονώδεις κυτοκίνες [249]. Σε ποντικούς με αρθρίτιδα επαγόμενη με κολλαγόνο (CIA) (ζωικό μοντέλο για τη PA), όταν χορηγήθηκε ανταγωνιστής της IL-15, παρατηρήθηκε μείωση της υμενίτιδας και των οστικών διαβρώσεων των προσβληθέντων αρθρώσεων, υποδηλώνοντας έτσι το ρόλο της IL-15 στην παθογένεση των οστικών διαβρώσεων στη PA [250].

Η **IL-33** είναι μία κυτοκίνη που ταυτοποιήθηκε πρόσφατα και προάγει την οστεοκλαστογένεση [251]. Στη PA, παράγεται από τους ινοβλάστες του φλεγμαίνοντα αρθρικού υμένα, ενώ η παραγωγή της

επάγεται από τον TNF-α και την IL-1. Η χορήγηση IL-33 σε ποντικούς με CIA οδήγησε σε επιδείνωση της αρθρίτιδας και των οστικών διαβρώσεων των αρθρώσεων των ποντικών [252]. Μάλιστα, η χορήγηση ανταγωνιστή της IL-33 σε ποντικούς με CIA οδήγησε σε βελτίωση της αρθρίτιδας και σε μείωση των επιπέδων του RANKL στις αρθρώσεις [253].

Η **IL-34** επίσης ταυτοποιήθηκε πρόσφατα και παράγεται από τα υμενοκύτταρα ινοβλαστικού τύπου (FLS) ασθενών με PA. Προάγει τη χημειοταξία των προδρόμων κυττάρων των οστεοκλαστών και ενισχύει την οστεοκλαστογένεση που προκαλεί ο RANKL. Μάλιστα, η παραγωγή της IL-34 από τα FLS διεγείρεται από τον TNF-α [254].

Εκτός των παραπάνω κυτοκινών οι οποίες ευοδώνουν την οστεοκλαστογένεση, ο φλεγμαίνων αρθρικός υμένας στη PA παράγει και κυτοκίνες οι οποίες την αναστέλλουν. Έτσι, οι κυτοκίνες IL-4, IL-10, IL-23, IFN-α, IFN-β, IFN-γ και GM-CSF παρουσιάζουν αυξημένη παραγωγή στη PA [255-260] και δρουν ανασταλτικά στην οστεοκλαστογένεση [131,133,141,142,145,152,261]. Επιπλέον, τα T-ρυθμιστικά κύτταρα (T regulatory cells, Treg) αποτελούν μία υποομάδα των T-λεμφοκυττάρων με αντιοστεοκλαστογόνες ιδιότητες. Η αντιοστεοκλαστογόνος δράση των Treg αποδίδεται στη σύνδεση του υποδοχέα τους CTLA-4 (cytotoxic T-lymphocyte-associated protein 4, πρωτεΐνη-4 που σχετίζεται με τα κυτταροτοξικά T-λεμφοκύτταρα) με τις πρωτεΐνες CD80/CD86 των προδρόμων κυττάρων των οστεοκλαστών, καθώς και στην παραγωγή IL-4 και IL-10 [262,263]. Ωστόσο, η αυξημένη οστεοκλαστογένεση και η δημιουργία οστικών διαβρώσεων στη PA υποδεικνύουν ότι η δράση των ανασταλτικών παραγόντων της οστεοκλαστογένεσης υπερκεράζεται από τους ευοδωτικούς παράγοντες της οστεοκλαστογένεσης στη PA.

#### 4.1.1.3 Ο ρόλος της φυσικής ανοσίας στην επαγωγή της οστεοκλαστογένεσης στη PA

Το **μονοπάτι ITAM**, όπως αναφέρθηκε στο υποκεφάλαιο 2.3, απαντάται σε κύτταρα της φυσικής και της επίκτητης ανοσίας και στις οστεοκλάστες. Στις οστεοκλάστες, οι προσαρμοστές DAP12 και FcRγ συνδέονται με τους υποδοχείς TREM2 και OSCAR αντίστοιχα και συνεργάζονται με το μονοπάτι του RANK για την επαγωγή της οστεοκλαστογένεσης [105] (Εικόνες 2-5, 2-6). Πρόσφατες μελέτες έχουν καταδείξει το ρόλο του μονοπατιού ITAM στην επαγωγή της οστεοκλαστογένεσης στη PA και στη δημιουργία των εστιακών οστικών διαβρώσεων. Σε μελέτη σε ασθενείς με PA, βρέθηκε ότι ο υποδοχέας OSCAR εκφράζεται από οστεοκλάστες στα σημεία των οστικών διαβρώσεων στα σημεία επαφής αρθρικού υμένα-οστού στις αρθρώσεις που είχαν προσβληθεί από τη νόσο. Επιπρόσθετα, ανιχνεύθηκε έκφραση του OSCAR από μονοκύτταρα πλησίον των αιμοφόρων αγγείων του αρθρικού υμένα, καθώς και από κυκλοφορούντα μονοκύτταρα στο περιφερικό αίμα. Μάλιστα, η έκφραση του OSCAR από τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος ήταν σημαντικά

μεγαλύτερη στους ασθενείς με PA σε σχέση με υγιείς εθελοντές, υπονοώντας ότι η ρύθμιση προς τα πάνω της έκφρασης του OSCAR από τα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών συμβαίνει πριν τη μεταναστευσή τους στον αρθρικό υμένα. Αξιοσημείωτο είναι ότι η έκφραση του OSCAR από τα κυκλοφορούντα μονοκύτταρα συσχετιζόταν με την ενεργότητα της νόσου και με τα επίπεδα των δεικτών φλεγμονής, TKE και CRP. Τέλος, βρέθηκε ότι τα μονοκύτταρα με υψηλότερη έκφραση OSCAR παρουσίαζαν μεγαλύτερη δυνατότητα διαφοροποίησης σε οστεοκλάστες, ενώ ο TNF-α ενίσχυε την έκφραση του OSCAR από τα μονοκύτταρα [264]. Σε άλλη μελέτη, βρέθηκε ότι ο αρθρικός υμένας αρθρώσεων που είχαν προσβληθεί από PA παρουσίαζε σημαντικά μεγαλύτερη έκφραση των TREM2, OSCAR, DAP12 και FcRγ σε σχέση με τον αρθρικό υμένα υγιών αρθρώσεων [265].

Ο TREM1 είναι υποδοχέας παρόμοιος με τον TREM2, συνδέεται επίσης με τον προσαρμοστή DAP12, αλλά εκφράζεται από τα πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα, τα οποία είναι σημαντικοί παράγοντες της φυσικής ανοσίας. Επίσης, σε αντίθεση με τον TREM2 ο οποίος συμμετέχει στην οστεοκλαστογένεση, ο TREM1 διεγείρει την έκφραση προφλεγμονωδών κυτοκινών από τα πολυμορφοπύρρηνα κύτταρα και έτσι, ενισχύει τη φλεγμονή. Έτσι, πολυμορφοπύρρηνα που απομονώθηκαν από το αρθρικό υγρό και από το περιφερικό αίμα ασθενών με PA εξέφραζαν τον TREM1 και τον DAP12 σε σημαντικά μεγαλύτερα επίπεδα σε σχέση με πολυμορφοπύρρηνα υγιών ατόμων. Μάλιστα, στην ίδια μελέτη βρέθηκε ότι ο TNF-α, η IL-6 και η IL-17 προάγουν την έκφραση του TREM1 από τα πολυμορφοπύρρηνα [266]. Επομένως, ο TREM1 και ο DAP12 ίσως προάγουν έμμεσα την οστεοκλαστογένεση στη PA, μέσω της παραγωγής κυτοκινών από τα πολυμορφοπύρρηνα.

Οι **υποδοχείς τύπου Toll** (Toll-like receptors, TLR) παίζουν σημαντικό ρόλο στη φυσική ανοσία, καθώς απαντώνται στην επιφάνεια των κυττάρων της φυσικής ανοσίας και αναγνωρίζουν μόρια που προέρχονται από παθογόνα μικρόβια. Εκτός των κυττάρων της φυσικής ανοσίας, οι TLR εντοπίζονται και στους οστεοβλάστες και στις οστεοκλάστες και επηρεάζουν την οστεοκλαστογένεση. Η ενεργοποίηση των TLR στα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών στα αρχικά στάδια της οστεοκλαστογένεσης αναστέλλει τη διαφοροποίησή τους σε ώριμες οστεοκλάστες. Αντίθετα, η διέγερση των TLR στα τελικά στάδια της οστεοκλαστογένεσης ευοδώνει τη διαφοροποίηση των πρόδρομων κυττάρων σε οστεοκλάστες και αυξάνει την επιβίωση των ώριμων οστεοκλαστών. Επιπρόσθετα, η ενεργοποίηση των TLR στους οστεοβλάστες επάγει την έκφραση RANKL και TNF-α από αυτούς και ευοδώνει την οστεοκλαστογένεση [267].

Σε ασθενείς με PA, τα μακροφάγα του αρθρικού υγρού και τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος (κύτταρα της φυσικής ανοσίας) παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση του υποδοχέα TLR5, η οποία μάλι-

στα συσχετίζεται με την ενεργότητα της νόσου. Η ενεργοποίηση του TLR5 στα μονοκύτταρα και στα μακροφάγα στη PA οδηγεί στην αύξηση της παραγωγής του TNF-α και της IL-6 από αυτά. Μάλιστα, ο TNF-α, η IL-8 και η IL-17 επάγουν την έκφραση του TLR5 από τα μονοκύτταρα και τα μακροφάγα, δημιουργώντας έτσι ένα μηχανισμό θετικής ανατροφοδότησης [268]. Επιπρόσθετα, σε πρόσφατη μελέτη, μονοκύτταρα περιφερικού αίματος ασθενών με PA επωάστηκαν με flagellin, η οποία είναι συνδέτης του TLR5. Η διεγέρση του υποδοχέα TLR5 οδήγησε στην αύξηση της έκφρασης του RANK από τα μονοκύτταρα και στην ενίσχυση της διαφοροποίησής τους σε οστεοκλάστες παρουσία του RANKL και του M-CSF. Οι ίδιοι ερευνητές χορήγησαν flagellin σε ποντικούς με αρθρίτιδα επαγόμενη με κολλαγόνο (CIA) (ζωικό μοντέλο φλεγμονώδους αρθρίτιδας που προσομοιάζει στη PA) και διαπίστωσαν ότι η ενεργοποίηση του TLR5 οδήγησε σε αύξηση της παραγωγής του TNF-α και της φλεγμονής των αρθρώσεων, καθώς και σε αύξηση των οστεοκλαστών και των οστικών διαβρώσεων στις προσβληθείσες αρθρώσεις. Μάλιστα, η χορήγηση αντισώματος έναντι του TLR5 σε ποντικούς με CIA οδήγησε σε μείωση της φλεγμονής των αρθρώσεων και σε μείωση των οστεοκλαστών περιαρθρικά [269], υποδεικνύοντας έτσι το ρόλο του υποδοχέα TLR5 στην ενίσχυση της φλεγμονής και της δημιουργίας οστικών διαβρώσεων στις αρθρώσεις που έχουν προσβληθεί με PA.

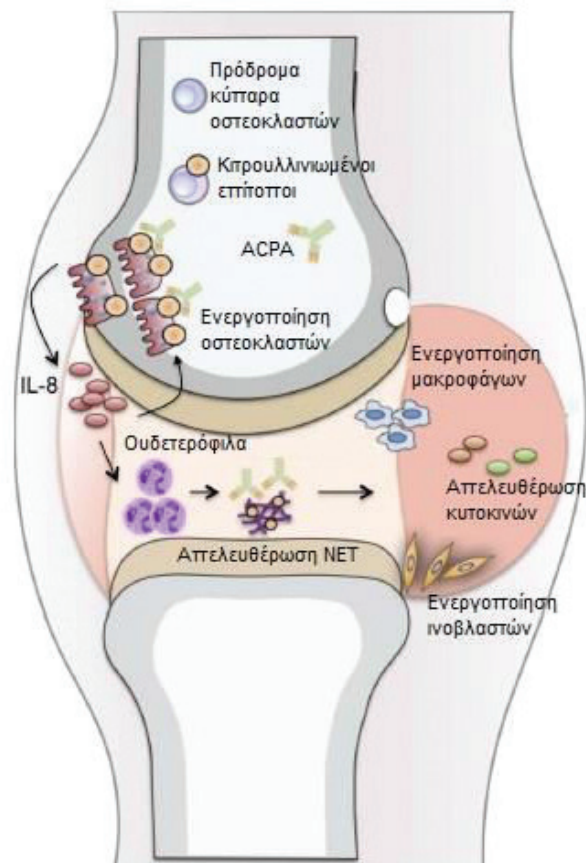
Ο TLR4 είναι έτερος υποδοχέας τύπου Toll του οποίου διερευνάται ο ρόλος στην παθογένεση της PA και στην οστεοκλαστογένεση που παρατηρείται στη νόσο. Ενδογενείς συνδέτες του TLR4, όπως οι πρωτεΐνες S100A8, S100A9, tenascin-C και HMGB-1 (high mobility group box chromosomal protein 1), παρουσιάζουν αυξημένη συγκέντρωση στο αίμα και στο αρθρικό υγρό ασθενών με PA [270-274]. Σε ζωικά μοντέλα PA, ο TLR4 παρουσιάζει αυξημένη έκφραση στον αρθρικό υμένα των προσβληθέντων αρθρώσεων, ενώ όταν απαλείφεται το γονίδιό του, παρατηρείται ελάττωση της φλεγμονής και μείωση των οστεοκλαστών και των οστικών διαβρώσεων στις αρθρώσεις [275-277]. Πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι οι ενδογενείς συνδέτες του TLR4 παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση σε ποντικούς με CIA και ότι η αυξημένη αυτή έκφραση συσχετίζεται με τη βαρύτητα της νόσου, τη φλεγμονώδη διήθηση των προσβληθέντων αρθρώσεων και τον αριθμό των οστεοκλαστών στις αρθρώσεις. Η αναστολή του TLR4 με μονοκλωνικό αντίσωμα οδήγησε σε βελτίωση της νόσου, μείωση της φλεγμονής και ελάττωση των οστεοκλαστών στις αρθρώσεις. Μάλιστα, οι ενδογενείς συνδέτες του TLR4, που παράγονταν από τους ποντικούς με CIA, ενίσχυαν την οστεοκλαστογένεση *in vitro*, μέσω της παραγωγής TNF-α και IL-6 από τη διέγερση του TLR4 [278]. Επιπρόσθετα, πρόσφατα δείχθηκε ότι η διέγερση του TLR4 στους ινοβλάστες του αρθρικού υμένα στη PA επάγει την έκφραση του RANKL από αυτούς [279].

Συνοψίζοντας, τα τελευταία χρόνια αυξανόμενος αριθμός μελετών καταδεικνύουν τη συμμετοχή μηχανισμών της φυσικής ανοσίας στην οστεοκλαστογένεση και στη δημιουργία εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA.

#### 4.1.1.4 Τα αυτοαντισώματα προάγουν την οστεοκλαστογένεση στη PA

Τα αντισώματα έναντι κιτρουλλινιωμένων πεπτιδίων (anti-citrullinated protein antibody, ACPA ή anti-cyclic citrullinated peptide antibody, anti-CCP) είναι αυτοαντισώματα που ανιχνεύονται ειδικά σε ασθενείς με PA και έχουν συσχετιστεί με τη δημιουργία εστιακών οστικών διαβρώσεων. Έτσι, ασθενείς με PA με θετικά ACPA παρουσιάζουν ταχύτερη ακτινολογική εξέλιξη, δημιουργία οστικών διαβρώσεων και στένωση του μεσάρθριου διαστήματος, σε σχέση με ACPA αρνητικούς ασθενείς [280-282]. Επιπρόσθετα, ασθενείς με θετικά ACPA και RF (rheumatoid factor, RF) παρουσιάζουν ακόμα μεγαλύτερο αριθμό και μεγαλύτερο μέγεθος εστιακών οστικών διαβρώσεων, υποδεικνύοντας αθροιστική επίδραση των ACPA και RF στη δημιουργία των οστικών διαβρώσεων [283].

Οι Harre και συν. μελέτησαν την επίδραση των ACPA στην οστεοκλαστογένεση [284]. Αρχικά έδειξαν ότι οι οστεοκλάστες εκφράζουν ένζυμα που επάγουν την κιτρουλλινίωση της βιμεντίνης (πεπτιδυλαργινινικές απιμινάσες, peptidylarginine deiminases, PAD), η οποία αυξάνεται στα τελικά στάδια της οστεοκλαστογένεσης, καθώς και ότι στον ορό ασθενών με PA ανιχνεύονται ACPA που αναγνωρίζουν την κιτρουλλινιωμένη βιμεντίνη και προσδένονται στις οστεοκλάστες και στα πρόδρομα κύτταρά τους. Στη συνέχεια, έδειξαν ότι η πρόσδεση των ACPA στην επιφάνεια των πρόδρομων κυττάρων των οστεοκλαστών ενισχύει την οστεοκλαστογένεση που επάγεται από τον RANKL και τον M-CSF και αυξάνει την ικανότητα των ώριμων οστεοκλαστών για οστική απορρόφηση. Όσον αφορά στο μηχανισμό με τον οποίο τα ACPA ενισχύουν την οστεοκλαστογένεση, καταδείχθηκε ότι προκαλούν την έκφραση του TNF-α από τα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών, ο οποίος ενισχύει την οστεοκλαστογένεση με αυτοκρινή τρόπο. Επιπρόσθετα, τα ACPA ενισχύουν την έκφραση του RANK και του υποδοχέα του M-CSF από τα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών [284]. Η ενίσχυση της παραγωγής TNF-α από τα κύτταρα της σειράς των μονοκυττάρων-μακροφάγων που προκαλούν τα ACPA έχει δείχθει μάλιστα και από άλλες μελέτες σε ασθενείς με PA [285,286]. Επιπλέον, πρόσφατη μελέτη των Krishnamurthy και συν. σε ασθενείς με PA έδειξε ότι μονοκλωνικά ACPA που αναγνωρίζουν την κιτρουλλινιωμένη ενολάση και την κιτρουλλινιωμένη βιμεντίνη επάγουν την οστεοκλαστογένεση, ενώ άλλα μονοκλωνικά ACPA δε διαθέτουν αυτή την ιδιότητα. Επίσης, αποκάλυψε ότι η πρόσδεση των ACPA στα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών προκαλεί την έκκριση IL-8 από αυτά και ότι η IL-8 δρα με αυτοκρινή τρόπο για να επάγει την οστεοκλαστογένεση



**Εικ. 4-3.** Αύξηση της κιτρουλλινίωσης στις οστεοκλάστες κατά τη διαφοροποίησή τους, με αποτέλεσμα την πρόσδεση των ACPA και την απελευθέρωση IL-8. Πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών είναι παρόντα στο μυελό των οστών και διαφοροποιούνται σε ώριμες οστεοκλάστες. Κατά τη διαφοροποίηση των προδρόμων κυττάρων των οστεοκλαστών, αυξάνεται η δραστηριότητα των PAD, με αποτέλεσμα την αύξηση της κιτρουλλινίωσης των κυττάρων. Τα ACPA που προέρχονται από το αίμα προσδένονται στα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών, με αποτέλεσμα την παραγωγή IL-8 από αυτά. Η IL-8 δρα με αυτοκρινή τρόπο και οδηγεί σε ενεργοποίηση των οστεοκλαστών και αύξηση της οστικής απορρόφησης. Επίσης, η IL-8 δρα στην άρθρωση, προκαλώντας τη χημειοταξία και μετανάστευση φλεγμονωδών κυττάρων, κυρίως ουδετεροφίλων. Τα ουδετερόφιλα απελευθερώνουν ουδετεροφιλικές εξωκυττάριες παγίδες (neutrophil extracellular traps, NET), οι οποίες συνεισφέρουν στη φλεγμονή της άρθρωσης. Οι NET προκαλούν τη συγκέντρωση και άλλων φλεγμονωδών κυττάρων, όπως τα μακροφάγα, και την ενεργοποίηση των ινοβλαστών του αρθρικού υμένα, με αποτέλεσμα φλεγμονή του αρθρικού υμένα. (Τροποποιημένη από Krishnamurthy et al. 2016) [287].

(Εικόνα 4-3). Μάλιστα, η χορήγηση ανταγωνιστή της IL-8 ανέστειλε την επαγόμενη από τα ACPA οστεοκλαστογένεση, καταδεικνύοντας ότι η IL-8 διαμεσολαβεί τη δράση των ACPA στις οστεοκλάστες [287].

Ο ρόλος των ACPA στην οστεοκλαστογένεση στη PA αποκτά μεγαλύτερη σημασία από το εύρημα πρόσφατης μελέτης ότι υγιή άτομα με θετικά ACPA παρουσιάζουν αρχόμενα σημεία οστικής απώλειας σε αρθρώσεις που συνήθως προσβάλλονται από τη PA. Στη μελέτη αυτή, ACPA θετικά υγιή άτομα πα-

ρουσίαζαν χαμηλότερη οστική πυκνότητα στις μετακαρποφαλαγγικές αρθρώσεις σε σύγκριση με ACPA αρνητικά υγιή άτομα. Λαμβάνοντας υπόψη ότι τα ACPA παρουσιάζονται στον ορό του αίματος χρόνια πριν την έναρξη της PA, φαίνεται πως η προσβολή των οστών στη PA ξεκινά πριν την κλινική έναρξη της νόσου [288].

Παράλληλα, τα ανοσοσυμπλέγματα που δημιουργούνται από τη σύνδεση των αυτοαντισωμάτων με τα αντιγόνα που αυτά αναγνωρίζουν αποτελούν έναν ακόμα παράγοντα που ενισχύει την οστεοκλαστογένεση στη PA. Τα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών και οι ώριμες οστεοκλάστες διαθέτουν στην επιφάνειά τους υποδοχείς για το Fc τμήμα των IgG αντισωμάτων, τύπου IV (Fc γ receptors IV, FcγRIV). Η ενεργοποίηση των FcγRIV των προδρόμων κυττάρων των οστεοκλαστών με την πρόσδεση IgG αυτοαντισωμάτων διεγείρει άμεσα την οστεοκλαστογένεση. Μάλιστα, η οστεοκλαστογόνος δράση των FcγRIV καταδείχθηκε όταν προκλήθηκε φλεγμονώδης αρθρίτιδα με την έγχυση ορού K/BxN σε ποντικούς με απαλοιφή του γονιδίου του FcγRIV και σε ομάδα ελέγχου με φυσιολογικούς ποντικούς. Οι ποντικοί με την απαλοιφή του FcγRIV παρουσίαζαν μικρότερες οστικές διαβρώσεις με μικρότερο αριθμό οστεοκλαστών στις προσβληθείσες αρθρώσεις. Επιπρόσθετα, εκτός της άμεσης επίδρασης των FcγR υποδοχέων στην οστεοκλαστογένεση, η ενεργοποίηση των FcγR ετέρων κυττάρων του ανοσοποιητικού συστήματος οδηγεί στην παραγωγή προφλεγμονωδών κυτοκινών και στην έμμεση διέγερση της οστεοκλαστογένεσης [289].

Από την άλλη, πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι η ικανότητα των ανοσοσυμπλεγμάτων να αλληλεπιδρούν με τα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών και να διεγείρουν την οστεοκλαστογένεση εξαρτάται από τη σιαλυλίωση των IgG αντισωμάτων που αυτά περιέχουν, δηλαδή από το πόσο σιαλικό είναι συνδεδεμένο με το Fc τμήμα των IgG αντισωμάτων. Έτσι, τα αποσιαλυλιωμένα ανοσοσυμπλέγματα, δηλαδή τα ανοσοσυμπλέγματα με λιγότερο σιαλικό, διεγείρουν την οστεοκλαστογένεση *in vitro* και *in vivo* σε ποντικούς, ενώ τα σιαλυλιωμένα ανοσοσυμπλέγματα στερούνται αυτής της ιδιότητας. Αυτό αποκτά σημασία για τους ασθενείς με PA, εφόσον τα ACPA αντισώματα παρουσιάζουν μικρότερου βαθμού σιαλυλίωση σε σχέση με τα υπόλοιπα IgG αντισώματα. Μάλιστα, η σιαλυλίωση των IgG αντισωμάτων συνολικά και των ACPA συγκεκριμένα συσχετίστηκε με την οστική απώλεια σε ασθενείς με PA, καθώς ασθενείς με μικρότερου βαθμού σιαλυλίωση των IgG και των ACPA παρουσίαζαν μεγαλύτερη οστική απώλεια. Τα ευρήματα αυτά οδήγησαν στη δοκιμή της επίδρασης ενός προδρόμου μορίου του σιαλικού, της N-ακετυλμαννοζαμίνης (N-acetylmannosamine, ManNAc), στην οστική απώλεια που παρουσιάζουν ποντικοί με CIA (πειραματικό μοντέλο φλεγμονώδους αρθρίτιδας που προσομοιάζει στη PA). Η χορήγηση ManNAc αύξησε τη σιαλυλίωση των IgG αντι-

σωμάτων των ποντικών και μείωσε σημαντικά τον αριθμό των οστεοκλαστών και των εστιακών οστικών διαβρώσεων στις προσβληθείσες αρθρώσεις, καθώς και τη συστηματική οστική απώλεια [290].

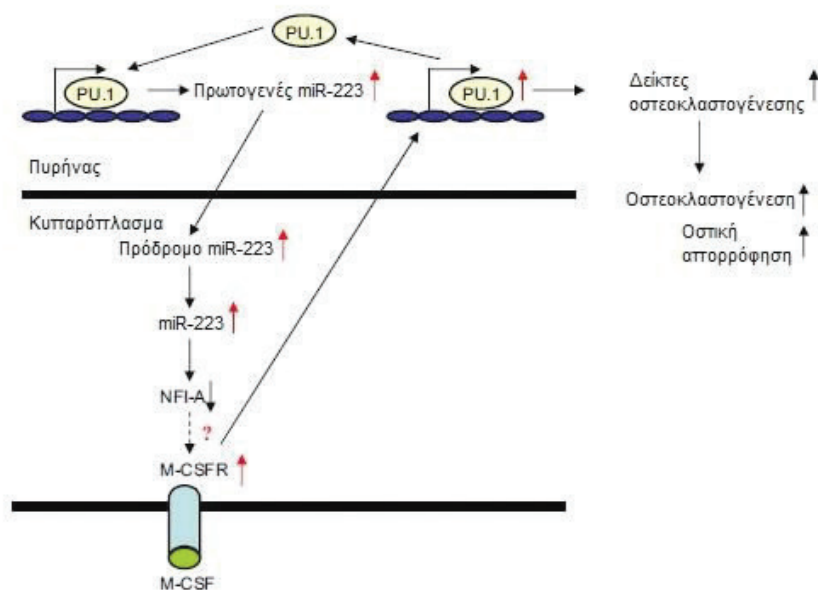
Συνοψίζοντας, τα αυτοαντισώματα και τα ανοσοσυμπλέγματα αποτελούν ένα νέο μηχανισμό, με τον οποίο προάγεται άμεσα η οστεοκλαστογένεση και η δημιουργία εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA.

#### 4.1.1.5 Τα microRNAs ρυθμίζουν την οστεοκλαστογένεση στη PA

Τα τελευταία χρόνια έχει αναδειχθεί ο ρόλος των microRNAs (miRNAs) στην παθογένεση της PA και η επίδρασή τους στην οστεοκλαστογένεση και στη δημιουργία εστιακών οστικών διαβρώσεων.

Σε αρθρώσεις που έχουν προσβληθεί από PA, το miRNA-155 (miR-155) εκφράζεται σε αυξημένες ποσότητες από τα μονοκύτταρα και μακροφάγα του αρθρικού υμένα και του αρθρικού υγρού, καθώς και από τους ινοβλάστες του αρθρικού υμένα [291,292]. Στόχος του miR-155 είναι η SHIP-1 (Src homology 2-containing inositol phosphatase-1, φωσφατάση-1 της ινοσιτόλης που περιέχει την Src ομολογία-2), η οποία αναστέλλει την έκφραση προφλεγμονωδών κυτοκινών. Έτσι, η αυξημένη έκφραση του miR-155 από τα μονοκύτταρα και μακροφάγα στις αρθρώσεις με PA οδηγεί στη μείωση της SHIP-1 και στην αύξηση της παραγωγής TNF-α, IL-1, IL-6 και IL-8 από αυτά [291]. Η συμβολή του miR-155 στην παθογένεση της PA φαίνεται από την αποτυχία επαγωγής φλεγμονώδους αρθρίτιδας με την έγχυση κολλαγόνου σε διαγονιδιακούς ποντικούς με απαλοιφή του γονιδίου του miR-155. Παρόλο που η υποδότη έγχυση κολλαγόνου προκαλεί φλεγμονώδη αρθρίτιδα με οστικές διαβρώσεις σε ποντικούς φυσικού τύπου, στους miR-155<sup>-/-</sup> ποντικούς δεν παρατηρήθηκε ούτε φλεγμονή ούτε οστικές διαβρώσεις στις αρθρώσεις [157,291]. Ο ρόλος του miR-155 στην επαγωγή της οστεοκλαστογένεσης και των οστικών διαβρώσεων στη PA φάνηκε και με τη χρήση έτερου ζωικού μοντέλου φλεγμονώδους αρθρίτιδας, στο οποίο εγχύεται σε ποντικούς αρθριτιδογόνος ορός K/BxN. Η έγχυση ορού K/BxN στους ποντικούς φυσικού τύπου προκάλεσε φλεγμονώδη αρθρίτιδα με οστικές διαβρώσεις και συσσώρευση οστεοκλαστών στις αρθρώσεις. Αντίθετα στους miR-155<sup>-/-</sup> ποντικούς, παρόλο που παρατηρήθηκε φλεγμονώδης αρθρίτιδα, οι οστικές διαβρώσεις και ο αριθμός των οστεοκλαστών παρουσιάστηκαν σημαντικά μειωμένοι σε σχέση με τους ποντικούς φυσικού τύπου, καταδεικνύοντας έτσι το ρόλο του miR-155 στην οστεοκλαστογένεση στη PA [157].

Το miR-223 παρουσιάζει αυξημένη έκφραση από τα T-λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος και από τον αρθρικό υμένα ασθενών με PA, καθώς και από τις αρθρώσεις ποντικών με αρθρίτιδα επαγόμενη με κολλαγόνο (CIA) (ζωικό μοντέλο φλεγμονώδους αρθρίτιδας που προσομοιάζει στη PA) [293,294]. Στόχος του miR-223 είναι ο NFI-A (nuclear factor I-A, πυρηνικός παράγοντας I-A), ο οποίος αναστέλλει την έκφραση



**Εικ. 4-4.** Η ρύθμιση της οστεοκλαστογένεσης από το miR-223 στα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών. (Τροποποιημένη από Sugatani et al. 2009) [158].

του υποδοχέα του M-CSF. Έτσι, το miR-223 μειώνει την έκφραση του NF-κA στα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών, με αποτέλεσμα την αύξηση της έκφρασης του υποδοχέα του M-CSF και την ενίσχυση της οστεοκλαστογένεσης. Μάλιστα, ο M-CSF επάγει την έκφραση του miR-223 στα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών μέσω του μεταγραφικού παράγοντα PU.1 (Εικόνα 4-4) [158]. Η συμβολή του miR-223 στην παθογένεση της PA και στην αυξημένη οστεοκλαστογένεση που παρατηρείται στη νόσο φάνηκε και από τα αποτελέσματα της χορήγησης ανταγωνιστή του miR-223 σε ποντικούς με CIA. Ο ανταγωνιστής του miR-223 βελτίωσε τα σημεία της αρθρίτιδας και ελάττωσε τις οστεοκλάστες και τις εστιακές οστικές διαβρώσεις στις προσβληθείσες αρθρώσεις [294].

Ένα άλλο miRNA που παρουσιάζει αυξημένη έκφραση σε ασθενείς με PA είναι το miR-146, το οποίο παράγεται από T-λεμφοκύτταρα του περιφερικού αίματος και του αρθρικού υμένα των προσβληθέντων αρθρώσεων, καθώς και από μακροφάγα του αρθρικού υμένα [295,296]. Ωστόσο, σε αντίθεση με το miR-155 και το miR-223, το miR-146 αναστέλλει την οστεοκλαστογένεση, καθώς ένας από τους στόχους του είναι ο TRAF6, παράγοντας ο οποίος ανήκει στο σηματοδοτικό μονοπάτι του RANKL και συμμετέχει στην οστεοκλαστογένεση [159]. Η έκφραση του miR-146 επάγεται από τον NF-κB, ενώ στόχοι του είναι οι παράγοντες TRAF6 και IRAK1 (IL-1 receptor-associated kinase 1, κινάση 1 σχετιζόμενη με τον υποδοχέα της IL-1), οι οποίοι συμμετέχουν στη φυσική ανοσία και την παραγωγή κυτοκινών. Επομένως, ο ρόλος της αυξημένης παραγωγής του miR-146 στον αρθρικό υμένα στη PA ίσως έχει να κάνει με

τη ρύθμιση της έκφρασης προφλεγμονωδών κυτοκινών και της οστεοκλαστογένεσης μέσω αρνητικής επανατροφοδότησης [159,297]. Οι Nakasa και συν. διερεύνησαν κατά πόσο οι ανασταλτικές ιδιότητες του miR-146 όσον αφορά την οστεοκλαστογένεση στη PA μπορούν να αξιοποιηθούν θεραπευτικά. Χορήγησαν miR-146 σε ποντικούς με CIA και διαπίστωσαν ότι η χορήγηση του οδήγησε σε ελάττωση της συγκέντρωσης των οστεοκλαστών και σε μείωση των οστικών διαβρώσεων στις προσβληθείσες αρθρώσεις, αναδεικνύοντας έτσι τη δυνατότητα χρήσης του miR-146 για την αντιμετώπιση της οστικής βλάβης στη PA [159].

Το miR-124 είναι ένα άλλο miRNA που δοκιμάστηκε πρόσφατα για τη δυνατότητα αξιοποίησής του στη θεραπεία της PA. Στόχος του miR-124 είναι ο παράγοντας NFATc1 που συμμετέχει στο σηματοδοτικό μονοπάτι του RANKL και στην οστεοκλαστογένεση. Η χορήγηση του miR-124 σε επίμυες με αρθρίτιδα επαγόμενη με ανοσογόνο (ζωικό μοντέλο φλεγμονώδους αρθρίτιδας που προσομοιάζει στη PA) είχε ως αποτέλεσμα τη μείωση της φλεγμονής στις προσβληθείσες αρθρώσεις. Επίσης, το miR-124 μείωσε την έκφραση των NFATc1 και RANKL, καθώς και τον αριθμό των οστεοκλαστών και την οστική βλάβη στις αρθρώσεις [298].

Συνοψίζοντας, τα miRNAs παίζουν σημαντικό ρόλο στην παθογένεση της PA, καθώς και στην οστεοκλαστογένεση και τη δημιουργία εστιακών οστικών διαβρώσεων στις προσβληθείσες αρθρώσεις. Αποτελούν μάλιστα δυνητικό στόχο για την ανάπτυξη νέων θεραπειών για τον περιορισμό της οστικής βλάβης που παρατηρείται στη νόσο.

#### 4.1.2 Η λειτουργία των οστεοβλαστών αναστέλλεται στη PA

Οι οστεοκλάστες είναι τα κύτταρα τα υπεύθυνα για την αυξημένη οστική απώλεια και τη δημιουργία των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA. Η αναστολή της λειτουργίας των οστεοκλαστών με τη χρήση θεραπευτικών παραγόντων σε ασθενείς με PA, όπως οι αναστολείς του TNF-α και ο ανταγωνιστής του υποδοχέα της IL-6, επιβραδύνουν ή και σταματούν την εξέλιξη των οστικών διαβρώσεων. Ωστόσο, ακόμα και με τη χρήση αυτών των παραγόντων, η ικανότητα των οστικών διαβρώσεων για επιδιόρθωση μέσω της παραγωγής νέου οστού παραμένει περιορισμένη [19,20].

Εκτός της ενεργοποίησης των οστεοκλαστών και της αυξημένης οστικής απορρόφησης, στις θέσεις των εστιακών οστικών διαβρώσεων στις προσβληθείσες αρθρώσεις στη PA παρατηρείται αναστολή της λειτουργίας των οστεοβλαστών και μείωση της οστικής παραγωγής. Σε ποντικούς στους οποίους προκλήθηκε φλεγμονώδης αρθρίτιδα με την έγχυση ορού K/BxN (ζωικό μοντέλο PA), στις θέσεις των εστιακών οστικών διαβρώσεων, η οστική παραγωγή ήταν μειωμένη στις οστικές επιφάνειες που γειτνιάζαν με το φλεγμονώδη υμενικό ιστό (πάννο) σε σύγκριση με τις οστικές επιφάνειες που ήταν απομακρυσμένες από αυτόν. Επίσης, στις ίδιες θέσεις υπήρχε περιορισμένος αριθμός ώριμων οστεοβλαστών, παρά την αφθονία άωρων, προγονικών μορφών των οστεοβλαστών. Επομένως, η φλεγμονή στις προσβληθείσες αρθρώσεις στους ποντικούς ανέστειλε τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και τη λειτουργία τους [9]. Μάλιστα, στο ίδιο ζωικό μοντέλο PA, όταν καταστάθηκε η φλεγμονή των αρθρώσεων, οστεοβλάστες εποίκισαν την επιφάνεια του διαβρωμένου οστού και σχημάτισαν νέο οστό προκειμένου να επιδιορθώσουν τη διάβρωση. Το εύρημα αυτό συνεπάγεται ότι εφόσον η φλεγμονή υποχωρήσει πλήρως, μπορεί να συμβεί επιδιόρθωση της οστικής βλάβης [299].

Στη συνέχεια, θα αναλυθούν οι μηχανισμοί με τους οποίους αναστέλλεται η λειτουργία των οστεοβλαστών, με αποτέλεσμα την αδυναμία επιδιόρθωσης των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA.

##### 4.1.2.1 Οι κυτοκίνες αναστέλλουν τη λειτουργία των οστεοβλαστών στη PA

Ο TNF-α, κυτοκίνη με κεντρικό ρόλο στην παθογένεση της PA όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 3, είναι ισχυρός αναστολέας της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών [300,301]. Επάγει την αποσύνθεση του μεταγραφικού παράγοντα Runx2 και έτσι αναστέλλει την οστεοβλαστογένεση και το σχηματισμό νέου οστού [302,303]. Επιπλέον, ο TNF-α αναστέλλει την παραγωγή συστατικών της θεμέλιας ουσίας από τους οστεοβλάστες, όπως το κολλαγόνο τύπου I και η οστεοκαλσίνη, καθώς και την παραγωγή αλκαλικής φωσφατάσης (ALP), η οποία είναι απαραίτητη για την επιμετάλλωση της θεμέλιας ουσίας [304]. Εκτός

από αυτές τις δράσεις, ο TNF-α επάγει και την απόπτωση των οστεοβλαστών [305]. Επιπρόσθετα, σε διαγονιδιακούς TNF-Tg ποντικούς, οι οποίοι υπερπαραγάγουν TNF-α και παρουσιάζουν φλεγμονώδη αρθρίτιδα (ζωικό μοντέλο PA), τα προγονικά κύτταρα των οστεοβλαστών παρουσιάζουν μειωμένη ικανότητα για διαφοροποίηση σε οστεοβλάστες. Τα ευρήματα αυτά εξηγούν τη μειωμένη ικανότητα επιδιόρθωσης των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA, εξαιτίας της αναστολής των οστεοβλαστών από τον TNF-α. Μάλιστα, η αγωγή των TNF-Tg ποντικών με συνδυασμό ανταγωνιστή του TNF-α και οστεοπροτεγερίνης οδήγησε σε επιδιόρθωση των εστιακών οστικών διαβρώσεων των προσβληθέντων αρθρώσεων, λόγω αναστολής της λειτουργίας των οστεοκλαστών και ενίσχυσης της λειτουργίας των οστεοβλαστών [306].

Η IL-1, κυτοκίνη που επίσης συμμετέχει στην παθογένεση της PA (κεφ. 3), δρα και αυτή ανασταλτικά στη λειτουργία των οστεοβλαστών. Όταν προστεθεί σε κυτταροκαλλιέργειες οστεοβλαστών, αναστέλλει το σχηματισμό επιμεταλλωμένων οστικών οζιδίων από αυτούς, μειώνει την παραγωγή κολλαγόνου, μη κολλαγονικών πρωτεϊνών και αλκαλικής φωσφατάσης και αναστέλλει τον πολλαπλασιασμό των κυττάρων αυτών [307]. Επιπρόσθετα, έχει βρεθεί ότι η IL-1 δρα ανασταλτικά στη στρατολόγηση και τη μετανάστευση των οστεοβλαστών από χημειοτακτικούς παράγοντες. Έτσι, η IL-1 μπορεί να εμποδίζει τη μετανάστευση των οστεοβλαστών στα σημεία των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA και κατά συνέπεια, την επούλωση των τελευταίων [308].

##### 4.1.2.2 Ο ρόλος του μονοπατιού Wnt στη PA

Το μονοπάτι Wnt, όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 1, παίζει σημαντικό ρόλο και διεγείρει τη διαφοροποίηση και λειτουργία των οστεοβλαστών [52,54]. Αριθμός μελετών έχει ασχοληθεί με το ρόλο των ανταγωνιστών του μονοπατιού Wnt στην αναστολή της λειτουργίας των οστεοβλαστών και τη δημιουργία εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA. Έτσι, οι Diarra και συν. μελέτησαν το ρόλο της πρωτεΐνης Dickkopf-1 (Dkk-1), ενός ανταγωνιστή του Wnt μονοπατιού, στη PA [309]. Διαπίστωσαν ότι σε ασθενείς με PA, οι ινοβλάστες του αρθρικού υμένα των προσβληθέντων αρθρώσεων παράγουν αυξημένες ποσότητες Dkk-1 και ότι ο TNF-α επάγει την παραγωγή αυτή. Η συγκέντρωση του Dkk-1 στο αίμα ασθενών με PA είναι αυξημένη σε σύγκριση με ανθρώπους χωρίς PA και συσχετίζεται με την ενεργότητα της νόσου. Μάλιστα, η χορήγηση μονοκλωνικού αντισώματος έναντι του Dkk-1 σε διαγονιδιακούς ποντικούς με υπερπαραγωγή TNF-α (TNF-Tg ποντικοί, ζωικό μοντέλο PA) πρόλαβε το σχηματισμό οστικών διαβρώσεων στις προσβληθείσες αρθρώσεις, ενώ δεν επηρέασε τη φλεγμονή αυτών. Η αναστολή του Dkk-1 οδήγησε σε ενίσχυση της διαφοροποίησης και λειτουργίας των οστεοβλαστών, με συνέπεια την αύξηση του οστικού σχηματισμού. Επιπρόσθετα, ενίσχυσε την παραγωγή οστεοπροτεγερίνης, με αποτέλεσμα αναστολή των

οστεοκλαστών και της οστικής απορρόφησης. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι ο Dkk-1 παίζει ρόλο στην αναστολή της λειτουργίας των οστεοβλαστών και τη δημιουργία εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA [309]. Έτερες μελέτες επιβεβαίωσαν ότι η συγκέντρωση του Dkk-1 είναι αυξημένη στο αίμα ασθενών με PA και ότι συσχετίζεται με την ενεργότητα της νόσου και με τη βαρύτητα των οστικών διαβρώσεων. Τα επίπεδα του Dkk-1 μειώνονται με τη θεραπεία των ασθενών με αναστολείς του TNF-α και της IL-1 [310,311]. Έχει επίσης δειχθεί ότι ο Dkk-1 ενισχύει την παραγωγή της σκληροστίνης, ετέρου αναστολέα του Wnt μονοπατιού [312], και ότι η IL-6, σε αντίθεση με τον TNF-α, αναστέλλει την έκφραση του Dkk-1 [313]. Τέλος, πρόσφατη μελέτη ταυτοποίησε τρεις πολυμορφισμούς στο γονίδιο του Dkk-1, οι οποίοι απαντώνται σε ασθενείς με PA και συσχετίζονται με τα αυξημένα επίπεδα του Dkk-1 στο αίμα και με την ακτινολογική εξέλιξη της οστικής βλάβης των προσβληθέντων αρθρώσεων [314].

Εκτός του Dkk-1, έχει βρεθεί ότι είναι διαταραγμένη και η έκφραση άλλων ανταγωνιστών του Wnt μονοπατιού στις φλεγμίνουσες αρθρώσεις. Έτσι, σε ζωικό μοντέλο PA, στο οποίο ήταν μειωμένη η λειτουργία των οστεοβλαστών στις θέσεις των εστιακών οστικών διαβρώσεων, ο φλεγμίνων αρθρικός υμένας παρήγαγε αυξημένες ποσότητες των ανταγωνιστών του Wnt μονοπατιού Dkk-3, sFRP-1 (soluble frizzled-related protein-1), sFRP-2 και sFRP-4, υποδεικνύοντας ότι η αναστολή του Wnt μονοπατιού συμμετέχει στην αναστολή της λειτουργίας των οστεοβλαστών στις φλεγμίνουσες αρθρώσεις [9]. Σε άλλη μελέτη, στο ίδιο ζωικό μοντέλο PA, οι ερευνητές κατέστειλαν τη φλεγμονή των αρθρώσεων και παρατήρησαν ότι μειώθηκε η έκφραση των sFRP-1 και sFRP-2 από τον αρθρικό υμένα. Η μείωση των sFRP-1 και sFRP-2 συνοδευόταν από αύξηση της έκφρασης του Wnt10b, ενός αγωνιστή του Wnt μονοπατιού, από αύξηση του αριθμού των ώριμων οστεοβλαστών στις θέσεις των οστικών διαβρώσεων και από αύξηση του ρυθμού οστικού σχηματισμού [299].

Η σκληροστίνη είναι έτερος ανταγωνιστής του Wnt μονοπατιού και πολυμορφισμοί του γονιδίου της έχουν συσχετιστεί με την ακτινολογική εξέλιξη της οστικής βλάβης προσβληθέντων αρθρώσεων με PA [314]. Σε TNF-Tg ποντικούς, η χορήγηση μονοκλωνικού αντισώματος έναντι της σκληροστίνης οδήγησε σε αναστολή της εξέλιξης των εστιακών οστικών διαβρώσεων των προσβληθέντων αρθρώσεων, ενώ η συγχορήγηση αντισώματος έναντι της σκληροστίνης και αντισώματος έναντι του TNF-α οδήγησε σε επιδιόρθωση των οστικών διαβρώσεων. Η θετική αυτή δράση των αντισωμάτων έναντι της σκληροστίνης και του TNF-α ήταν αποτέλεσμα της αναστολής της λειτουργίας των οστεοκλαστών και της ενίσχυσης της λειτουργίας των οστεοβλαστών [315]. Από την άλλη, μελέτη σε μικρό δείγμα ασθενών με PA δε βρήκε διαφορά στα επίπεδα σκληροστίνης μεταξύ των ασθενών και της ομάδας ελέγχου, αλλά ούτε και συ-

σχέτιση των επιπέδων σκληροστίνης με το ακτινολογικό στάδιο της οστικής βλάβης των προσβληθέντων αρθρώσεων [316]. Επιπρόσθετα, σε μελέτη σε ποντικούς με CIA, η χορήγηση αντισώματος έναντι της σκληροστίνης δεν εμπόδισε τη δημιουργία εστιακών οστικών διαβρώσεων, αν και πρόλαβε τη συστηματική οστική απώλεια [317]. Μάλιστα, σε πρόσφατη μελέτη με TNF-Tg ποντικούς, η χορήγηση αντισώματος έναντι της σκληροστίνης ενίσχυσε τη φλεγμονή και την οστική βλάβη των προσβληθέντων αρθρώσεων. Αντίθετα, η αναστολή της σκληροστίνης σε έτερο ζωικό μοντέλο PA (ποντικοί στους οποίους προκλήθηκε αρθρίτιδα με την έγχυση K/BxN ορού) βελτίωσε τη βλάβη των προσβληθέντων αρθρώσεων. Οι ερευνητές κατέληξαν ότι η αναστολή της σκληροστίνης προάγει τη βλάβη των αρθρώσεων που προκαλείται από τον TNF-α [318]. Επομένως, φαίνεται πως χρειάζονται περαιτέρω μελέτες για τη διαλεύκανση του ρόλου της σκληροστίνης στην επαγωγή της οστικής βλάβης στη PA.

Ο Wnt4 είναι αγωνιστής του μη κανονικού μονοπατιού Wnt, ο οποίος επάγει τη λειτουργία των οστεοβλαστών και διεγείρει τον οστικό σχηματισμό. Όταν διασταυρώθηκαν διαγονιδιακοί ποντικοί που παρήγαγαν αυξημένες ποσότητες Wnt4 με TNF-Tg ποντικούς, οι TNF-Tg/Wnt4 ποντικοί που προέκυψαν παρουσίαζαν λιγότερη φλεγμονή και λιγότερες οστικές διαβρώσεις στις προσβληθείσες αρθρώσεις σε σχέση με τους TNF-Tg ποντικούς. Επίσης, παρατηρήθηκε μεγαλύτερος αριθμός οστεοβλαστών και μεγαλύτερος ρυθμός οστικού σχηματισμού, καθώς και μειωμένη λειτουργία των οστεοκλαστών στους TNF-Tg/Wnt4 ποντικούς σε σχέση με τους TNF-Tg ποντικούς. Η ικανότητα του Wnt4 να ενισχύει τη λειτουργία των οστεοβλαστών, να αναστέλλει τη λειτουργία των οστεοκλαστών και να μειώνει τη δημιουργία των εστιακών οστικών διαβρώσεων τον καθιστά υποψήφιο για την αντιμετώπιση της οστικής βλάβης στη PA [319].

Τέλος, πρόσφατη μελέτη σε ζωικό μοντέλο PA κατέδειξε τον ρόλο των microRNAs (miRNAs) που παράγονται από το φλεγμονώδη αρθρικό υμένα στη ρύθμιση σηματοδοτικών μονοπατιών που επηρεάζουν τον οστικό σχηματισμό. Ταυτοποιήθηκαν 22 miRNAs των οποίων η έκφραση διέφερε σημαντικά μεταξύ αρθρικών και μη αρθρικών ποντικών και τα οποία στόχευαν σε συστατικά των μονοπατιών Wnt και BMP. Για παράδειγμα, το miRNA-221-3p (miR-221-3p) στοχεύει τον Dkk-2, ο οποίος είναι συστατικό του Wnt μονοπατιού και προάγει την επιμετάλλωση του οστού. Το miR-221-3p υπερεκφράζεται στο φλεγμίνοντα αρθρικό υμένα, με αποτέλεσμα καταστολή της έκφρασης του Dkk-2 και αναστολή της ωρίμανσης των οστεοβλαστών [320].

Συνοψίζοντας, η αυξημένη παραγωγή ανταγωνιστών του Wnt μονοπατιού στη PA συμμετέχει στην αναστολή της λειτουργίας των οστεοβλαστών και στην ελαττωματική επιδιόρθωση των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA.

#### 4.1.2.3 Το μονοπάτι των BMP στη PA

Το μονοπάτι των οστικών μορφογενετικών πρωτεϊνών (bone morphogenetic proteins, BMP), όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 1, συμμετέχει στη ρύθμιση της διαφοροποίησης των οστεοβλαστών και την οστική παραγωγή, ενώ οι BMP-2, 4, 5, 6, και 7 είναι γνωστό ότι επάγουν την οστική παραγωγή [61]. Μελέτη σε ασθενείς με PA έδειξε ότι η έκφραση των BMP-4 και BMP-5 είναι μειωμένη στον αρθρικό υμένα με PA σε σχέση με την ομάδα ελέγχου [321], ενώ σε ζωικό μοντέλο PA βρέθηκε μειωμένη η έκφραση των BMP-4, BMP-6 και BMP-7 και αυξημένη η έκφραση των υποδοχέων τύπου I και II των BMP [322]. Από την άλλη, τα επίπεδα της BMP-7 στον ορό του αίματος ασθενών με PA βρέθηκαν αυξημένα σε σχέση με την ομάδα ελέγχου [323].

Σε αντίθεση με τις BMP-2, 4, 5, 6, και 7, η BMP-3 είναι ανταγωνιστής του μονοπατιού των BMP. Σε πρόσφατη μελέτη με ζωικά μοντέλα PA, βρέθηκε ότι οι οστεοβλάστες που βρίσκονται στις θέσεις επαφής του φλεγμαίνοντα αρθρικού υμένα με το οστό παράγουν BMP-3 σε αυξημένες ποσότητες. Μάλιστα, η έκφραση της BMP-3 επαγόταν από τον TNF-α. Έτσι, η BMP-3 αποτελεί έναν παράγοντα που αναστέλλει τη διαφοροποίηση και τη λειτουργία των οστεοβλαστών και ίσως συμμετέχει στη δημιουργία των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη PA [324].

Η μελέτη του ρόλου των BMP στη ρύθμιση της διαφοροποίησης και της λειτουργίας των οστεοβλαστών στη PA βρίσκεται σε πρώιμο στάδιο και απαιτούνται πρόσθετες μελέτες σε ασθενείς και σε ζωικά μοντέλα PA για τη διαλεύκανσή του.

#### 4.2 Περιαρθρική οστική απώλεια στη PA

Η περιαρθρική οστική απώλεια είναι συχνή εκδήλωση της PA και παρατηρείται στο φλοιώδες και στο σπογγώδες οστό πλησίον της φλεγμαίνουσας άρθρωσης. Είναι το αποτέλεσμα διήθησης του περιαρθρικού οστού με φλεγμονώδη κύτταρα, με πιθανή συμμετοχή της μειωμένης κινητικότητας της άρθρωσης [325,326]. Είναι συχνό εύρημα στην απλή ακτινογραφία των προσβληθέντων αρθρώσεων (Εικόνα 4-1B) και πολλές φορές προηγείται της εμφάνισης εστιακών οστικών διαβρώσεων. Μάλιστα, η εμφάνιση περιαρθρικής οστικής απώλειας αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης νέων εστιακών οστικών διαβρώσεων ή επιδείνωσης των ήδη υπαρχόντων. Έτσι, αποκτά σημασία η έγκαιρη και αποτελεσματική αγωγή των ασθενών που παρουσιάζουν περιαρθρική οστική απώλεια, με σκοπό την πρόληψη των οστικών διαβρώσεων και της αρθρικής βλάβης [327-329].

Η ιστομορφομετρική ανάλυση περιαρθρικού σπογγώδους οστού από ασθενείς με PA, οι οποίοι υποβλήθηκαν σε αρθροπλαστική, έδειξε αυξημένη οστική απορρόφηση και αυξημένο αριθμό οστεοκλαστών, αλλά και αυξημένη οστική παραγωγή σε σχέση με την ομάδα ελέγχου. Ο ρυθμός οστικής ανακατασκευής και κυρίως η οστική απορρόφηση ήταν λοι-

πόν αυξημένοι στο περιαρθρικό οστό στις αρθρώσεις με PA [325]. Όσον αφορά τους παθογενετικούς μηχανισμούς που οδηγούν στις μεταβολές αυτές, έχει προταθεί η τοπική διάχυση στο περιαρθρικό οστό των **κυτοκινών** που παράγονται από τον αρθρικό υμένα ή και το μυελό των οστών, με αποτέλεσμα την ενεργοποίηση των οστεοκλαστών και την αύξηση της οστικής απορρόφησης [326]. Παράγοντες που αναφέρθηκαν παραπάνω ότι συμμετέχουν στη διέγερση των οστεοκλαστών κατά τη δημιουργία των εστιακών οστικών διαβρώσεων, συμμετέχουν επίσης στη διέγερση των οστεοκλαστών κατά την περιαρθρική οστική απώλεια. Ένας από αυτούς τους παράγοντες είναι και ο **RANKL**, ο ρόλος του οποίου στην περιαρθρική οστική απώλεια έχει δείχθει από μελέτες σε πειραματόζωα και σε ασθενείς με PA. Έτσι, η αναστολή του RANKL σε πειραματικά μοντέλα PA με τη χορήγηση οστεοπροτεγερίνης (OPG) και πεπτιδίων που μιμούνται την OPG οδήγησε σε μείωση του αριθμού των οστεοκλαστών, μείωση της περιαρθρικής οστικής απώλειας και διατήρηση της οστικής πυκνότητας του περιαρθρικού οστού στις προσβληθείσες αρθρώσεις [216,217,330]. Η χορήγηση δενοσουμάμπης σε ασθενείς με PA περιόρισε την περιαρθρική οστική απώλεια και αύξησε την οστική πυκνότητα στην άκρα χείρα. Στη μελέτη αυτή, οι Deodhar και συν. χρησιμοποίησαν τη μέτρηση της οστικής πυκνότητας της άκρας χείρας με DXA (Dual-energy X-ray Absorptiometry, μέθοδος απορροφησιμετρίας διπλοενεργειακής δέσμης ακτίνων X) για την εκτίμηση της περιαρθρικής οστικής απώλειας, εφόσον οι αρθρώσεις της άκρας χείρας αποτελούν συχνές θέσεις προσβολής της PA [220].

Επίσης, μελέτες σε πειραματικά μοντέλα PA έχουν δείξει το ρόλο του **μονοπατιού ITAM** στην επαγωγή της οστεοκλαστογένεσης και στην περιαρθρική οστική απώλεια στη PA. Οι Ochi και συν., για παράδειγμα, αρχικά έδειξαν ότι ο TNF-α οδηγεί σε αύξηση της έκφρασης του PIR-A από τα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών, με αποτέλεσμα αύξηση της ικανότητάς τους για οστεοκλαστογένεση. Ο PIR-A είναι υποδοχέας του μονοπατιού ITAM που συνδέεται με τον προσαρμοστή FcRγ και διεγείρει την οστεοκλαστογένεση σε συνεργασία με τον RANKL. Επίσης έδειξαν ότι πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών που απομονώθηκαν από διαγονιδιακούς ποντικούς που υπερπαράγουν TNF-α (TNF-Tg ποντικοί, ζωικό μοντέλο PA) παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση PIR-A και αυξημένη ικανότητα για διαφοροποίηση σε ώριμες οστεοκλάστες. Στη συνέχεια διαπίστωσαν ότι η απαλοιφή του γονιδίου του προσαρμοστή FcRγ στους TNF-Tg ποντικούς οδήγησε σε μείωση του αριθμού των οστεοκλαστών περιαρθρικά και της περιαρθρικής οστικής απώλειας που παρατηρούνται σε αυτό το ζωικό μοντέλο PA. Η απαλοιφή του γονιδίου της β2-μικροσφαιρίνης στους TNF-Tg ποντικούς οδήγησε επίσης σε μείωση του αριθμού των οστεοκλαστών περιαρθρικά και της περιαρθρικής οστικής απώλειας. Η β2-μικροσφαιρίνη

αποτελεί συστατικό των πρωτεϊνών MHC τύπου I που είναι συνδέτες του PIR-A. Οι Ochi και συν. έδειξαν λοιπόν τη συμμετοχή του PIR-A, υποδοχέα του μονοπατιού ITAM, στην οστεοκλαστογένεση και στη περιαρθρική οστική απώλεια [331]. Ο Siglec-15 είναι έτερος υποδοχέας του μονοπατιού ITAM που συνδέεται με τον προσαρμοστή DAP12 και διεγείρει την οστεοκλαστογένεση σε συνεργασία με τον RANKL. Σε πρόσφατη μελέτη, η απαλοιφή του γονιδίου του Siglec-15 σε πειραματικό μοντέλο PA ανέστειλε την ωρίμανση των οστεοκλαστών στο περιαρθρικό οστό των προσβληθέντων αρθρώσεων και προστάτευσε τα πειραματόζωα από την περιαρθρική οστική απώλεια. Ο Siglec-15, λοιπόν, αποτελεί δυνητικό θεραπευτικό στόχο για την αντιμετώπιση της περιαρθρικής οστικής απώλειας στη PA [332].

Τα αυτοαντισώματα **ACPA**, τα οποία ανιχνεύονται ειδικά στη PA, αποτελούν έναν επιπλέον παράγοντα που συμμετέχει στην περιαρθρική οστική απώλεια. Όπως αναφέρθηκε και στην ενότητα 4.1.1.4, πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι τα ACPA προκαλούν περιαρθρική οστική απώλεια στις αρθρώσεις που προσβάλλονται συνήθως από τη PA, πριν ακόμα την έναρξη των κλινικών συμπτωμάτων της νόσου [288].

Τέλος, έχει προταθεί πως η περιαρθρική οστική απώλεια στη PA είναι αποτέλεσμα και της σχετικής **ακινητοποίησης** της πάσχουσας άρθρωσης και του μειωμένου μηχανικού φορτίου [326]. Πράγματι, σύμφωνα με τη θεωρία του μηχανοστάτη του Frost, το οστό, με τη διαδικασία της οστικής ανακατασκευής, προσαρμόζει τη μάζα και την αρχιτεκτονική του στα μηχανικά φορτία που δέχεται. Όταν το οστό υποφορτίζεται, η οστική απορρόφηση υπερέρχει της οστικής παραγωγής, με αποτέλεσμα μείωση της οστικής μάζας [333].

Συνοψίζοντας, οι ασθενείς με PA παρουσιάζουν οστική απώλεια πλησίον των προσβληθέντων αρθρώσεων (περιαρθρική οστική απώλεια) λόγω διέγερσης των οστεοκλαστών και αυξημένης οστικής απορρόφησης. Για την ενίσχυση της οστεοκλαστικής διαφοροποίησης και λειτουργίας και για την περιαρθρική οστική απώλεια έχουν ενοχοποιηθεί η αυξημένη έκφραση RANKL και κυτοκινών από τη γειτονική άρθρωση, η ενίσχυση του μονοπατιού ITAM στις οστεοκλάστες, τα κυκλοφορούντα αυτοαντισώματα και η σχετική ακινητοποίηση της προσβληθείσας άρθρωσης.

### 4.3 Συστηματική οστική απώλεια στη PA

Οι ασθενείς με PA παρουσιάζουν μειωμένη σε σχέση με το γενικό πληθυσμό οστική πυκνότητα (bone mineral density, BMD) στη σπονδυλική στήλη και στο ισχίο, καθώς και μεγαλύτερο επιπολασμό οστεοπόρωσης [334]. Η χαμηλή οστική πυκνότητα των ασθενών με PA έχει συσχετιστεί με τη διάρκεια της νόσου, την παρουσία του RF και των anti-CCP, την ενεργότητα της νόσου, την ακτινολογική βλάβη των αρθρώσεων, τη μειωμένη φυσική δραστηριότητα, τη μείωση της μυϊκής ισχύος, καθώς και τη

λήψη κορτικοστεροειδών [334-336]. Επιπρόσθετα, οι ασθενείς με PA παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο οστεοπορωτικού κατάγματος, κυρίως στο ισχίο και στη σπονδυλική στήλη. Ο αυξημένος κίνδυνος κατάγματος στους ασθενείς με PA είναι πολυπαραγοντικός και δεν οφείλεται μόνο στη μειωμένη οστική πυκνότητα. Ο καταγματικός κίνδυνος στη PA έχει συσχετισθεί επίσης με την ηλικία, το χαμηλό δείκτη μάζας σώματος, τη διάρκεια της νόσου, τη βαρύτητα της, τη μειωμένη λειτουργική ικανότητα, τη λήψη κορτικοστεροειδών, την έλλειψη φυσικής δραστηριότητας, τη μείωση της μυϊκής ισχύος και την αύξηση του κινδύνου των πτώσεων [334,337,338].

Όσον αφορά την παθογένεση της συστηματικής οστικής απώλειας στη PA, η ιστομορφομετρική ανάλυση οστικών βιοψιών και η μέτρηση δεικτών οστικού μεταβολισμού έχει δείξει ότι συνυπάρχει αυξημένη οστική απορρόφηση με μειωμένη οστική παραγωγή [339-341]. Μάλιστα, η αναστολή των οστεοκλαστών σε ζωικό μοντέλο PA με τη χορήγηση ζολενδρονικού οδήγησε στην αύξηση της οστικής μάζας, καταδεικνύοντας έτσι το ρόλο των οστεοκλαστών στη συστηματική οστική απώλεια [204].

Παράγοντες που αναφέρθηκαν παραπάνω ότι συμμετέχουν στη **διέγερση των οστεοκλαστών** κατά τη δημιουργία των εστιακών οστικών διαβρώσεων και κατά την περιαρθρική οστική απώλεια, συμμετέχουν επίσης στη διέγερση των οστεοκλαστών κατά τη συστηματική οστική απώλεια. Ένας από αυτούς τους παράγοντες είναι και ο **RANKL**, ο οποίος παράγεται από το φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα και εισέρχεται στη συστηματική κυκλοφορία. Σε ζωικά μοντέλα PA παρατηρείται αυξημένη συγκέντρωση του RANKL τόσο στις αρθρώσεις όσο και στο περιφερικό αίμα. Μάλιστα, η αναστολή του RANKL με τη χορήγηση οστεοπροτεγερίνης προστατεύει τα πειραματόζωα από τη συστηματική οστική απώλεια που προκαλεί η αρθρίτιδα και επιφέρει αύξηση της οστικής τους μάζας [342-344]. Σε ασθενείς με PA, η αναστολή του RANKL με τη χορήγηση δενοσουμάμπης οδηγεί σε καταστολή των δεικτών οστικής απορρόφησης και παραγωγής και σε αύξηση της οστικής πυκνότητας στην οσφυϊκή μοίρα της σπονδυλικής στήλης (ΟΜΣΣ) και στο ισχίο [219].

Η διέγερση των οστεοκλαστών κατά τη συστηματική οστική απώλεια στη PA διαμεσολαβείται και από τις **κυτοκίνες**, όπως ο TNF-α, η IL-1 και η IL-6, οι οποίες επίσης παράγονται από το φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα και εισέρχονται στη συστηματική κυκλοφορία. Έτσι, σε μελέτη σε ασθενείς με PA βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ της παραγωγής TNF-α, IL-1 και IL-6 από μονοκύτταρα περιφερικού αίματος και της οστικής πυκνότητας στην ΟΜΣΣ [345]. Επιπρόσθετα, η αναστολή του TNF-α με αντι-TNF βιολογικούς παράγοντες σε ασθενείς με PA προκαλεί μείωση των δεικτών οστικής απορρόφησης, αύξηση των δεικτών οστικής παραγωγής, μείωση του RANKL και ανάσχεση της οστικής απώλειας στο ισχίο και την ΟΜΣΣ [346-349]. Η δράση του TNF-α στις οστε-

οκλάστες και στη συστηματική οστική απώλεια στη PA διαμεσολαβείται από την IL-1. Οι διαγονιδιακοί ποντικοί που υπερπαράγουν TNF-α (TNF-Tg ποντικοί, ζωικό μοντέλο PA) παρουσιάζουν μειωμένη οστική μάζα συνολικά, μειωμένη μάζα και διαταραγμένη αρχιτεκτονική τόσο του φλοιώδους όσο και του σπογγώδους οστού, αυξημένη οστική απορρόφηση, αύξηση του αριθμού και της δραστηριότητας των οστεοκλαστών και αύξηση των δεικτών οστικής απορρόφησης και του RANKL. Οι μεταβολές αυτές δεν παρατηρούνται σε ποντικούς στους οποίους έχει απαλειφθεί το γονίδιο της IL-1 (IL1<sup>-/-</sup> ποντικοί). Ωστόσο, όταν διασταυρώθηκαν TNF-Tg ποντικοί με IL1<sup>-/-</sup> ποντικούς, οι IL1<sup>-/-</sup> TNF-Tg ποντικοί που προέκυψαν είχαν φυσιολογική οστική μάζα, φυσιολογικό φλοιώδες και σπογγώδες οστό και φυσιολογικούς δείκτες οστικού μεταβολισμού, καταδεικνύοντας έτσι ότι η IL-1 διαμεσολαβεί τη συστηματική οστική απώλεια στη PA που προκαλεί ο TNF-α [350].

Άλλωστε, σε μελέτη σε ασθενείς με PA βρέθηκε αρνητική συσχέτιση μεταξύ της συγκέντρωσης της IL-6 στο αίμα και της οστικής πυκνότητας στην ΟΜΣΣ και το ισχίο [351]. Επιπρόσθετα, ο ανταγωνισμός της δράσης της IL-6 σε ζωικό μοντέλο PA, μέσω της χορήγησης αντισώματος έναντι του υποδοχέα της, οδήγησε σε μείωση της χημειοταξίας των οστεοκλαστών, μείωση του αριθμού τους και αναστολή της συστηματικής οστικής απώλειας, υποδηλώνοντας έτσι το ρόλο της IL-6 στη συστηματική οστική απώλεια στη PA [352]. Τέλος, η IL-7 είναι μία κυτοκίνη που παρουσιάζει αυξημένη παραγωγή στη PA. Μελέτη σε ποντικούς έδειξε ότι η IL-7 προκαλεί την έκκριση RANKL και TNF-α από τα T-λεμφοκύτταρα, διεγείρει την οστεοκλαστογένεση και οδηγεί σε συστηματική οστική απώλεια [148].

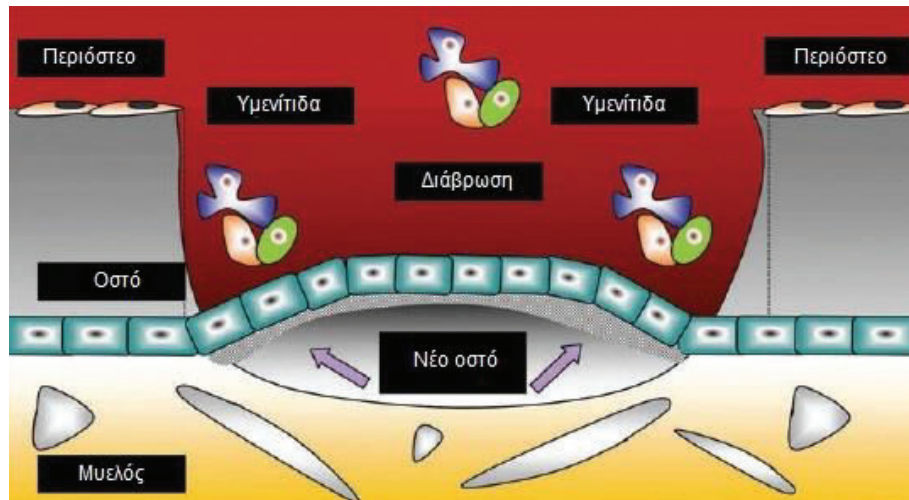
Το **μονοπάτι ITAM** συμμετέχει επίσης στην επαγωγή της οστεοκλαστογένεσης και στη συστηματική οστική απώλεια στη PA. Ο PIR-A είναι υποδοχέας του μονοπατιού ITAM που συνδέεται με τον προσαρμοστή FcRγ και διεγείρει την οστεοκλαστογένεση σε συνεργασία με τον RANKL. Στους TNF-Tg ποντικούς παρατηρείται αυξημένη έκφραση του PIR-A από τα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών, η οποία οδηγεί σε αύξηση της οστεοκλαστογένεσης και σε συστηματική οστική απώλεια [331].

Στη διέγερση των οστεοκλαστών και στη συστηματική οστική απώλεια στη PA συμμετέχουν και τα **αυτοαντισώματα**. Πρόσφατη μελέτη σε ασθενείς με PA κατέδειξε συσχέτιση μεταξύ θετικών τίτλων ACPA αντισωμάτων και μειωμένης οστικής πυκνότητας στην ΟΜΣΣ, καθώς και συσχέτιση μεταξύ υψηλών τίτλων ACPA και μειωμένης οστικής πυκνότητας στο ισχίο. Η συσχέτιση μεταξύ θετικών τίτλων ACPA και μειωμένης οστικής πυκνότητας ήταν ακόμα μεγαλύτερη σε ταυτόχρονη παρουσία θετικού RF[353]. Επιπρόσθετα, έχει δείχθει ότι τα αυτοαντισώματα ACPA έναντι της κιτρουλλινιωμένης βιμεντίνης και της κιτρουλλινιωμένης ενολάσης, τα οποία ανιχνεύονται στον ορό ασθενών με PA, προκαλούν διέγερση

των οστεοκλαστών και συστηματική οστική απώλεια όταν χορηγούνται σε ποντικούς[284,287]. Ακόμη, τα ανοσοσυμπλέγματα, τα οποία δημιουργούνται από τη σύνδεση των αυτοαντισωμάτων με τα αντιγόνα, διεγείρουν και αυτά την οστεοκλαστογένεση και προκαλούν συστηματική οστική απώλεια σε ασθενείς με PA[290].

Όπως αναφέρθηκε παραπάνω, εκτός από την αύξηση της οστικής απορρόφησης, στη συστηματική οστική απώλεια στη PA συμμετέχει και η μείωση της οστικής παραγωγής λόγω αναστολής της λειτουργίας των οστεοβλαστών[339-341]. Αριθμός μελετών έχουν δείξει ότι η αυξημένη παραγωγή ανταγωνιστών του μονοπατιού Wnt είναι υπεύθυνη για την αναστολή των οστεοβλαστών στη PA. Ένας από αυτούς τους ανταγωνιστές είναι και ο Dkk-1, ο οποίος παράγεται σε αυξημένες ποσότητες από τους ινοβλάστες του αρθρικού υμένα των αρθρώσεων με PA, σε απόκριση στον TNF-α[309]. Η συγκέντρωση του Dkk-1 στο αίμα ασθενών με PA είναι αυξημένη σε σύγκριση με ανθρώπους χωρίς PA και παρουσιάζει αρνητική συσχέτιση με την οστική πυκνότητα στο ισχίο[311]. Μάλιστα, η αναστολή του Dkk-1 με μονοκλωνικό αντίσωμα σε TNF-Tg ποντικούς τους προστάτευσε από τη συστηματική οστική απώλεια, καθώς ανείρεσε την αναστολή της οστικής παραγωγής και την ενίσχυση της οστικής απορρόφησης που προκαλεί ο Dkk-1. Το αντίσωμα έναντι του Dkk-1 αύξησε την έκφραση της οστεοπροτεγερίνης και μείωσε την έκφραση της σκληροστίνης στους TNF-Tg ποντικούς[312].

Η σκληροστίνη είναι έτερος ανταγωνιστής του μονοπατιού Wnt. Η αναστολή της σκληροστίνης με μονοκλωνικό αντίσωμα σε TNF-Tg ποντικούς πρόλαβε τη συστηματική οστική απώλεια, ενώ μάλιστα η συγχορήγηση αντισώματος έναντι της σκληροστίνης με αντι-TNF παράγοντα οδήγησε σε αύξηση της οστικής μάζας [315]. Παρόμοια ήταν τα αποτελέσματα της χορήγησης αντισώματος έναντι της σκληροστίνης σε ποντικούς με CIA (έτερο ζωικό μοντέλο PA), στους οποίους επίσης ανεστάλη η συστηματική οστική απώλεια [317]. Από την άλλη, μελέτη σε μικρό δείγμα ασθενών με PA δε βρήκε διαφορά στα επίπεδα σκληροστίνης μεταξύ των ασθενών και της ομάδας ελέγχου, αλλά ούτε και συσχέτιση των επιπέδων σκληροστίνης με την οστική πυκνότητα στο ισχίο ή στην ΟΜΣΣ [316]. Τέλος, όπως αναφέρθηκε και στην παράγραφο 4.1.2.2, ο Wnt4 είναι αγωνιστής του μη κανονικού μονοπατιού Wnt, ο οποίος επάγει τη λειτουργία των οστεοβλαστών και θα μπορούσε να χρησιμοποιηθεί στην αντιμετώπιση της συστηματικής οστικής απώλειας στη PA. Πράγματι, όταν διασταυρώθηκαν διαγονιδιακοί ποντικοί που παρήγαγαν αυξημένες ποσότητες Wnt4 με TNF-Tg ποντικούς, οι TNF-Tg/Wnt4 ποντικοί που προέκυψαν παρουσίαζαν μειωμένη συστηματική οστική απώλεια σε σχέση με τους TNF-Tg ποντικούς. Ιστομορφομετρική ανάλυση έδειξε ότι η μείωση της συστηματικής οστικής απώλειας από τον Wnt4 οφειλόταν τόσο σε αύξηση της



**Εικ. 4-5.** Η θεωρία της επιδιόρθωσης από το ενδόστεο των εσιακών οστικών διαβρώσεων σε ασθενείς με ΡΑ που λαμβάνουν αντι-TNF. Η υμενίτιδα (διήθηση με φλεγμονώδη κύτταρα) οδηγεί σε μικροσκοπική λύση της συνέχειας του φλοιώδους οστού. Όταν η διάβρωση φτάσει στο μυελό των οστών, οστεοβλάστες από το ενδόστεο εναποθέτουν νέο οστό στον πυθμένα της διάβρωσης, οδηγώντας στη μερική επούλωσή της. Αντίθετα, η περιosteal επιφάνεια του οστού παραμένει αδρανής. (Τροποποιημένη από Finzel et al.) [20].

οστικής παραγωγής όσο και σε μείωση της οστικής απορρόφησης [319].

Συμπερασματικά, οι ασθενείς με ΡΑ παρουσιάζουν συστηματική οστική απώλεια και αυξημένο κίνδυνο οστεοπόρωσης και καταγμάτων. Η συστηματική οστική απώλεια οφείλεται τόσο σε αύξηση της οστικής απορρόφησης όσο και σε μείωση της οστικής παραγωγής. Στη διέγερση των οστεοκλαστών συμμετέχουν ο RANKL, οι κυτοκίνες, το μονοπάτι ITAM και τα αυτοαντισώματα, ενώ στην αναστολή των οστεοβλαστών παίζει ρόλο ο ανταγωνισμός του μονοπατιού Wnt.

#### 4.4 Προεκτάσεις στην κλινική πράξη - Αντιμετώπιση της προσβολής του οστού στη ΡΑ

Η αντιμετώπιση της προσβολής του οστού στη ΡΑ έχει ιδιαίτερη σημασία, καθώς συνδέεται με δυσμενέστερη πρόγνωση. Οι εσιακές οστικές διαβρώσεις επιδεινώνονται με την πάροδο του χρόνου, προκαλώντας αρθρική βλάβη και υπονομεύοντας τη λειτουργική ικανότητα των ασθενών [191,192]. Η εμφάνιση περιαρθρικής οστικής απώλειας αυξάνει τον κίνδυνο εμφάνισης νέων εσιακών οστικών διαβρώσεων ή επιδείνωσης των ήδη υπαρχόντων [327-329] και συσχετίζεται με την αρθρική βλάβη και τη μείωση της λειτουργικής ικανότητας των ασθενών [354]. Η συστηματική οστική απώλεια αυξάνει τον κίνδυνο οστεοπορωτικού κατάγματος, μαζί με άλλους παράγοντες κινδύνου που συνδέονται με τη ΡΑ [334].

##### 4.4.1 Θεραπευτικές επιλογές για την αντιμετώπιση των εσιακών οστικών διαβρώσεων στη ΡΑ

Η αναστολή της εξέλιξης, η επιδιόρθωση των εσιακών οστικών διαβρώσεων και η ανάσχεση της

αρθρικής βλάβης αποτελεί ένα νέο θεραπευτικό στόχο στη ΡΑ. Μελέτες με συμβατικά τροποποιητικά της νόσου αντιρευματικά φάρμακα (συμβατικά DMARDs), όπως η μεθοτρεξάτη, η σουλφασαλαζίνη και η υδροξυχλωροκίνη, έχουν δείξει περιορισμένη επιδιόρθωση των διαβρώσεων, σε μικρό μάλιστα ποσοστό ασθενών [355,356]. Έτσι, η έρευνα έχει στραφεί στους βιολογικούς παράγοντες, η προσθήκη των οποίων στη θεραπευτική φαρέτρα της ΡΑ την τελευταία δεκαετία έχει επιτρέψει την επίτευξη χαμηλής ενεργότητας ή και ύφεσης της νόσου. Έτσι τώρα προκύπτει το ερώτημα κατά πόσο ο έλεγχος της φλεγμονής με τους βιολογικούς παράγοντες μπορεί να οδηγήσει στην επούλωση των ήδη υπαρχόντων οστικών διαβρώσεων. Οι Finzel και συν. μελέτησαν τη δράση που έχουν στις εσιακές οστικές διαβρώσεις οι βιολογικοί παράγοντες που ανταγωνίζονται τη δράση του TNF-α (αντι-TNF παράγοντες) και χρησιμοποιούνται ήδη στη θεραπεία της ΡΑ, όπως το infliximab, το etanercept, το adalimumab, το certolizumab pegol και το golimumab. Χρησιμοποίησαν μικροσκοπική υπολογιστική τομογραφία (micro-computed tomography, μCT) για την αξιολόγηση του πλάτους και του βάθους των εσιακών οστικών διαβρώσεων σε ασθενείς με ΡΑ που λάμβαναν αντι-TNF ή μεθοτρεξάτη. Στους ασθενείς που λάμβαναν μεθοτρεξάτη επιδεινώθηκαν οι διαβρώσεις, ενώ σε αυτούς που λάμβαναν αντι-TNF παρατηρήθηκε περιορισμένη επιδιόρθωση των διαβρώσεων και μείωση του βάθους τους. Η μερική αυτή επούλωση παρατηρήθηκε μόνο στις διαβρώσεις που παρουσίαζαν εναπόθεση οστού (σκλήρυνση) στα όριά τους και ήταν μεγαλύτερη στις διαβρώσεις που είχαν μεγαλύτερο βάθος. Το γεγονός ότι οι οστικές διαβρώσεις με σκλήρυνση επουλώνονται σε βάθος και όχι σε πλά-

τος υποδηλώνει ότι η επιδιόρθωση ξεκινά από τον πυθμένα της διάβρωσης και όχι από την επιφάνεια του οστού (Εικόνα 4-5) [20]. Αναστολή της εξέλιξης των εστιακών οστικών διαβρώσεων και μερική επιδιόρθωση αυτών σε ποσοστό ασθενών έχει αναφερθεί και σε άλλες μελέτες σε ασθενείς που λάμβαναν αντι-TNF [18,357,358].

Οι Finzel και συν. μελέτησαν επίσης την επίδραση που έχει στις εστιακές οστικές διαβρώσεις το tocilizumab, ένας βιολογικός παράγοντας που αναστέλλει τη δράση της IL-6 και χρησιμοποιείται στη θεραπεία της ΡΑ. Όπως και με τους αντι-TNF, διαπίστωσαν περιορισμένη επιδιόρθωση των διαβρώσεων με το tocilizumab, η οποία παρατηρήθηκε μόνο στις διαβρώσεις που παρουσίαζαν σκλήρυνση στα όριά τους και ήταν εντονότερη στις μεγαλύτερες διαβρώσεις [19]. Σε άλλες μελέτες, αναφέρθηκε αναστολή της εξέλιξης των εστιακών οστικών διαβρώσεων σε ασθενείς με ΡΑ που λάμβαναν tocilizumab [21,359]. Επιβράδυνση της εξέλιξης των οστικών διαβρώσεων παρατηρήθηκε και σε ασθενείς με ΡΑ που λάμβαναν abatacept, ένα βιολογικό παράγοντα που αναστέλλει τη συνδιέγερση των T-λεμφοκυττάρων και χρησιμοποιείται και αυτός στη θεραπεία της ΡΑ [360].

Όπως φαίνεται λοιπόν από τις παραπάνω μελέτες σε ασθενείς με ΡΑ, οι βιολογικοί παράγοντες θέτουν τη φλεγμονή και τη νόσο σε κλινική ύφεση, επιβραδύνουν ή σταματούν την εξέλιξη των εστιακών οστικών διαβρώσεων ή ακόμα και οδηγούν τις διαβρώσεις σε μερική επιδιόρθωση, διεγείροντας την οστική παραγωγή. Ωστόσο δεν επιτυγχάνεται πλήρης επιδιόρθωση των οστικών διαβρώσεων. Ο λόγος για αυτό ίσως είναι η παρουσία υποκλινικής φλεγμονής στην άρθρωση, παρά την κλινική ύφεση. Πράγματι, σε μελέτη σε ζωικό μοντέλο ΡΑ που αναφέρθηκε στην παράγραφο 4.1.2, η φλεγμονή στις προσβληθείσες αρθρώσεις ανέστειλε τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και τη λειτουργία τους [9]. Όταν καταστάληκε η φλεγμονή των αρθρώσεων, οστεοβλάστες εποίκισαν την επιφάνεια του διαβρωμένου οστού και σχημάτισαν νέο οστό προκειμένου να επιδιορθώσουν τη διάβρωση [299]. Επιπρόσθετα, σε μελέτη σε ασθενείς με ΡΑ, οι εστιακές οστικές διαβρώσεις που επιδεινώνονταν παρά την αγωγή με adalimumab χαρακτηρίζονταν από την παρουσία φλεγμονής στην MRI (οστέϊτιδα) [18]. Η συγχορήγηση οστεοαναβολικής αγωγής με βιολογικό παράγοντα ίσως να διεγείρει την οστική παραγωγή σε αρκετό βαθμό για την πλήρη επούλωση των οστικών διαβρώσεων. Έτσι, η συγχορήγηση PTH με αντι-TNF σε ζωικό μοντέλο ΡΑ οδήγησε σε σχεδόν πλήρη επιδιόρθωση των διαβρώσεων, ενώ η μονοθεραπεία με αντι-TNF απλά σταμάτησε την εξέλιξή τους [306]. Ωστόσο, η συγχορήγηση περιπαράτιδης με αντι-TNF σε ασθενείς με ΡΑ δεν προσέφερε παραπάνω όφελος από τη μονοθεραπεία με αντι-TNF και απλά ανέστειλε την εξέλιξη των οστικών διαβρώσεων [361].

Η δеноσοουμάμπη, ένα μονοκλωνικό αντίσωμα

που στοχεύει τον RANKL, έχει επίσης δοκιμαστεί για την επίδρασή της στις εστιακές οστικές διαβρώσεις στους ασθενείς με ΡΑ. Έτσι, έχει δείχθει πως και η δеноσοουμάμπη σταματά την εξέλιξη των οστικών διαβρώσεων [219,220,362]. Μάλιστα, πρόσφατη μελέτη, η οποία συνέκρινε τη δράση της δеноσοουμάμπης και της αλενδρονάτης στις εστιακές οστικές διαβρώσεις σε ασθενείς με ΡΑ, έδειξε πως η δеноσοουμάμπη οδήγησε σε μερική επιδιόρθωση των διαβρώσεων, καθώς μείωσε το πλάτος, το βάθος και των όγκο αυτών. Επίσης, η δеноσοουμάμπη αύξησε την οστική πυκνότητα στα όρια των διαβρώσεων (σκλήρυνση). Αντίθετα, στην ομάδα της αλενδρονάτης, οι οστικές διαβρώσεις επιδεινώθηκαν [221].

Τέλος, το tofacitinib είναι αναστολέας των Janus κινάσων -1 και -3 (Janus kinase-1, -3, JAK1, JAK3) και έχει προστεθεί πρόσφατα στη θεραπευτική φαρέτρα της ΡΑ. Οι JAK1 και JAK3 είναι κινάσες που συμμετέχουν στο ενδοκυττάριο σηματοδοτικό μονοπάτι πολλών κυτοκινών που συμμετέχουν στην παθογένεια της ΡΑ [363,364]. Πρόσφατη μελέτη έδειξε ότι το tofacitinib είναι αποτελεσματικότερο από τη μεθοτρεξάτη όσον αφορά την αναστολή της εξέλιξης των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη ΡΑ [363].

Εκτός από τα αντιρευματικά και αντιοστεοπορωτικά φάρμακα τα οποία αναφέρθηκαν παραπάνω και έχει δείχθει ότι δρουν ευεργετικά στις εστιακές οστικές διαβρώσεις σε ασθενείς με ΡΑ, διερευνάται σε πειραματικό επίπεδο και η αναστολή άλλων μονοπατιών που συμμετέχουν στην παθογένεση των οστικών διαβρώσεων. Έτσι, όπως αναφέρθηκε στο υποκεφάλαιο 4.1, έχει μελετηθεί σε πειραματόζωα η αναστολή των κυτοκινών IL-15 [250] και IL-33 [253], η αναστολή των υποδοχέων τύπου Toll TLR4 [278] και TLR5 [269], η σιαλυλίωση των ανοσοσυμπλεγμάτων [290], ο ανταγωνισμός των microRNAs που επάγουν την οστεοκλαστογένεση [294], καθώς και η χορήγηση microRNAs που αναστέλλουν την οστεοκλαστογένεση [159,298]. Ακόμη, σε ζωικά μοντέλα ΡΑ έχει μελετηθεί και η επίδραση που έχουν στις οστικές διαβρώσεις ο ανταγωνισμός του Dkk-1 [309] και ο ανταγωνισμός της σκληροστίνης [315,317,318].

#### **4.4.2 Θεραπευτικές επιλογές για την αντιμετώπιση της περιαρθρικής οστικής απώλειας στη ΡΑ**

Όσον αφορά την αντιμετώπιση της περιαρθρικής οστικής απώλειας στη ΡΑ, φαίνεται πως η αγωγή με συμβατικά DMARDs, όπως η λεφλουνομίδη, και με βιολογικούς παράγοντες έχει ευεργετικά αποτελέσματα. Έτσι, η αγωγή με λεφλουνομίδη των ασθενών με ΡΑ είχε ως αποτέλεσμα να σταματήσει η περιαρθρική οστική απώλεια στην άκρα χείρα (θέση προσβολής της ΡΑ) και να σταθεροποιηθεί η οστική πυκνότητα, όπως αυτή υπολογίστηκε με ψηφιακή ακτινομετρία ακτίνων Χ στην άκρα χείρα (digital X-ray radiogrammetry, DXR). Αντίθετα, η αγωγή με μεθοτρεξάτη δεν είχε το ίδιο αποτέλεσμα και η περιαρθρική οστική απώλεια συνεχίστηκε στην άκρα χείρα [365].

Σχετικά με τους βιολογικούς παράγοντες, οι Hoff

και συν. ανέφεραν ότι ο συνδυασμός adalimumab με μεθοτρεξάτη μειώνει την περιαρθρική οστική απώλεια [366]. Ωστόσο, άλλες μελέτες με το adalimumab και το infliximab δε διαπίστωσαν ευεργετική επίδραση των αντι-TNF στην περιαρθρική οστική απώλεια [349,367,368].

Εκτός από την αντιρευματική θεραπεία, έχει μελετηθεί και η επίδραση της αντιοστεοπορωτικής αγωγής στην περιαρθρική οστική απώλεια. Οι Sharp και συν. διαπίστωσαν ότι η δανοσουμάμπη σταματά την περιαρθρική οστική απώλεια στην άκρα χείρα, χρησιμοποιώντας την τεχνική της DXR [369]. Μάλιστα, σε μελέτη των Deodhar και συν., η δανοσουμάμπη όχι μόνο σταμάτησε την περιαρθρική οστική απώλεια στην άκρα χείρα, αλλά και αύξησε την οστική πυκνότητα, όπως αυτή υπολογίστηκε με DXA στην άκρα χείρα [220].

#### 4.4.3 Θεραπευτικές επιλογές για την αντιμετώπιση της συστηματικής οστικής απώλειας στη PA

Η αγωγή της PA με συμβατικά DMARDs και με βιολογικούς παράγοντες δρα ευεργετικά και στη **συστηματική οστική απώλεια**. Από τα csDMARDs έχει μελετηθεί η δράση της μεθοτρεξάτης και της σουλφασαλαζίνης. Όσον αφορά στη μεθοτρεξάτη, ενώ αρχικά είχαν αναφερθεί περιστατικά καταγμάτων ευθραυστότητας [370], περαιτέρω μελέτες έδειξαν ότι οι χαμηλές δόσεις μεθοτρεξάτης που λαμβάνουν οι ασθενείς με PA δεν έχουν αρνητική επίδραση στην οστική πυκνότητα του ισχίου και της ΟΜΣΣ [371-374]. Σχετικά με τη σουλφασαλαζίνη, η χορήγησή της έχει δείξει ότι μειώνει τους δείκτες οστικής απορρόφησης [375] και έχει συσχετισθεί θετικά με την οστική πυκνότητα ισχίου σε ασθενείς με PA [376].

Από τους βιολογικούς παράγοντες έχει μελετηθεί πιο πολύ η δράση των αντι-TNF, αλλά και του tocilizumab και του rituximab. Η λήψη αντι-TNF παραγόντων από ασθενείς με PA οδηγεί σε βελτίωση του οστικού μεταβολισμού, καθώς μειώνει τους δείκτες οστικής απορρόφησης και αυξάνει τους δείκτες οστικής παραγωγής [347-349,377-380], αλλά και μειώνει τη συγκέντρωση του RANKL στο περιφερικό αίμα [349,379,381]. Όσον αφορά την οστική πυκνότητα, πλήθος μελετών σε ασθενείς με PA δείχνουν ότι οι αντι-TNF σταματούν τη συστηματική οστική απώλεια και σταθεροποιούν την BMD του ισχίου και της ΟΜΣΣ [348,349,367,368,380,382-385], ενώ μάλιστα μία μελέτη έδειξε αύξηση της BMD στο ισχίο και την ΟΜΣΣ [347]. Σχετικά με τα κατάγματα, μελέτη που ανέλυσε δεδομένα από 8419 γυναίκες ασθενείς με PA κατέδειξε μείωση του κινδύνου για οστεοπορωτικό κάταγμα με τη χρήση αντι-TNF [386]. Ωστόσο, δύο άλλες μελέτες, που επίσης ανέλυσαν δεδομένα από αρχεία καταγραφής ασθενών με PA, δεν ανέδειξαν κάποια επίδραση για τους αντι-TNF στον καταγματικό κίνδυνο [387,388].

Όσον αφορά στο tocilizumab (ανταγωνιστής του υποδοχέα της IL-6), έχει επίσης ευεργετικά αποτελέσματα στον οστικό μεταβολισμό στη PA, καθώς μει-

ώνει τους δείκτες οστικής απορρόφησης και αυξάνει τους δείκτες οστικής παραγωγής [389-391], ενώ αυξάνει και την αναλογία OPG/RANKL στη συστηματική κυκλοφορία [392]. Επιπρόσθετα, σταματά τη συστηματική οστική απώλεια και σταθεροποιεί την οστική πυκνότητα στο ισχίο και στην ΟΜΣΣ ασθενών με PA [389,393]. Για το rituximab (αντι-CD20 αντίσωμα που στοχεύει τα Β-λεμφοκύτταρα), υπάρχουν δεδομένα μόνο για τον οστικό μεταβολισμό - μειώνει και αυτό τους δείκτες οστικής απορρόφησης, αυξάνει τους δείκτες οστικής παραγωγής [394,395] και αυξάνει την αναλογία OPG/RANKL στη συστηματική κυκλοφορία [396].

Εκτός από τα αντιρευματικά φάρμακα, ευεργετικά στη συστηματική οστική απώλεια δρα και η αντιοστεοπορωτική αγωγή με δανοσουμάμπη. Στους ασθενείς με PA, έχει δείξει πως η δανοσουμάμπη μειώνει τους δείκτες οστικής απορρόφησης και παραγωγής και αυξάνει την οστική πυκνότητα στο ισχίο και την ΟΜΣΣ [219,362,397].

Τέλος, έχει μελετηθεί σε πειραματικό επίπεδο και η αναστολή των ανταγωνιστών του Wnt μονοπατιού για την αντιμετώπιση της συστηματικής οστικής απώλειας στη PA. Όπως αναφέρθηκε στο υποκεφάλαιο 4.3, σε ζωικά μοντέλα PA η αναστολή του Dkk-1 [312] και της σκληροστίνης [317] πρόλαβε την συστηματική οστική απώλεια.

**Συμπερασματικά**, τα αντιρευματικά φάρμακα, τόσο τα συμβατικά αλλά κυρίως οι βιολογικοί παράγοντες, δρουν ευεργετικά στην προσβολή του οστού από τη PA - τόσο στις εστιακές οστικές διαβρώσεις όσο και στην περιαρθρική και συστηματική οστική απώλεια. Ωστόσο, τα αντιρευματικά φάρμακα δεν αρκούν και φαίνεται πως η αντιοστεοπορωτική αγωγή και κυρίως η δανοσουμάμπη μπορούν να προσθέσουν περαιτέρω όφελος. Παραμένει όμως ένα θεραπευτικό κενό στην αντιμετώπιση της προσβολής του οστού στη PA, το οποίο απαιτεί την ανάπτυξη νέων φαρμάκων ή την καλύτερη αξιοποίηση των ήδη υπαρχόντων.

#### 4.5 Σύνοψη - Συμπεράσματα

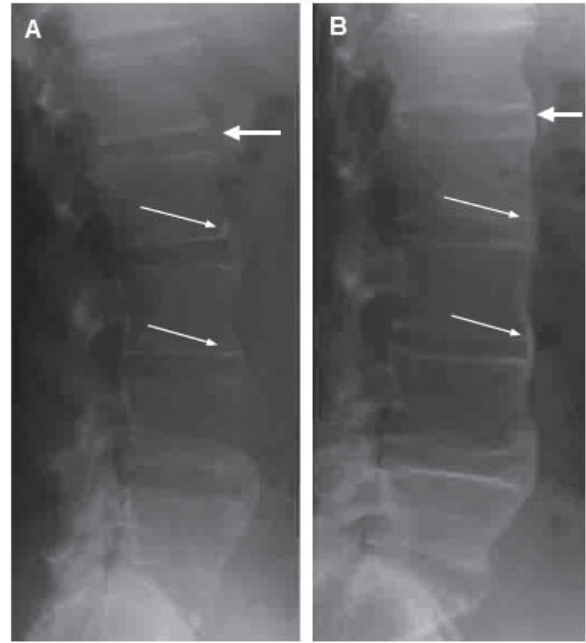
Στη ρευματοειδή αρθρίτιδα (PA) το οστό προσβάλλεται με τρεις διαφορετικούς τρόπους - τις εστιακές οστικές διαβρώσεις, την περιαρθρική οστική απώλεια και τη συστηματική οστική απώλεια. Στις τρεις αυτές μορφές παθολογικής ανακατασκευής συμμετέχει τόσο η ενίσχυση της διαφοροποίησης και της λειτουργίας των οστεοκλαστών όσο και η αναστολή της διαφοροποίησης και της λειτουργίας των οστεοβλαστών. Στη διέγερση των οστεοκλαστών συμμετέχουν η αυξημένη έκφραση RANKL και κυτοκινών από το φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα, η διαταραχή σηματοδοτικών μονοπατιών της φυσικής ανοσίας στα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών, τα κυκλοφορούντα αυτοαντισώματα και η διαταραχή της έκφρασης των microRNAs από τον αρθρικό υμένα. Στην αναστολή των οστεοβλαστών συμμετέχουν η αυξημένη παραγωγή κυτοκινών και ανταγω-

νιστών του μονοπατιού Wnt από τον αρθρικό υμένα των προσβληθέντων αρθρώσεων, καθώς και η μειωμένη παραγωγή των BMP.

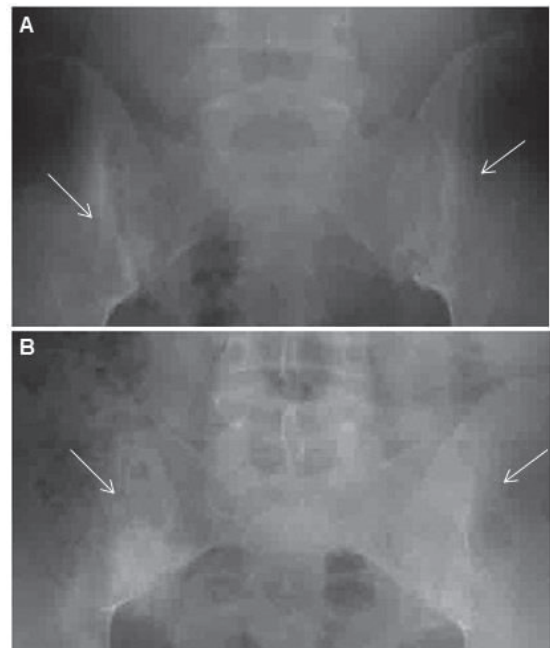
Η αντιμετώπιση της προσβολής του οστού στη ΡΑ έχει σημασία, καθώς συνδέεται με δυσμενέστερη πορεία της νόσου. Τα τροποποιητικά της νόσου αντιρευματικά φάρμακα (DMARDs) που χρησιμοποιούνται ήδη στην αγωγή των ασθενών με ΡΑ έχουν ευεργετική δράση και στις τρεις μορφές παθολογικής ανακατασκευής στη ΡΑ - περισσότερο οι βιολογικοί παράγοντες και λιγότερο τα συμβατικά DMARDs. Τα αντιοστεοπορωτικά φάρμακα - κυρίως η δενοσουμάμπη - παρέχουν και αυτά πρόσθετο όφελος. Ωστόσο, υπάρχουν περιθώρια για αποτελεσματικότερη διαχείριση της προσβολής του οστού στη ΡΑ. Τα σηματοδοτικά μονοπάτια που συμμετέχουν στην παθολογική ανακατασκευή του οστού στη ΡΑ βρίσκονται ήδη υπό μελέτη, με σκοπό την ανάπτυξη νέων θεραπειών.

## 5. Προσβολή του οστού στις σπονδυλαρθρίτιδες (ΣπΑ) - Η επίδραση της φλεγμονής στη λειτουργία των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών

Οι σπονδυλαρθρίτιδες (ΣπΑ) περιλαμβάνουν την αγκυλοποιητική σπονδυλαρθρίτιδα (ΑΣ), την ψωριασική αρθρίτιδα (ΨΑ), την αρθρίτιδα σχετιζόμενη με φλεγμονώδη νόσο του εντέρου και την αντιδραστική αρθρίτιδα. Στις ΣπΑ η φλεγμονή προσβάλλει πολλές ανατομικές θέσεις, όπως ο αξονικός σκελετός (σπονδυλική στήλη, ιερολαγόνιες αρθρώσεις), οι περιφερικές αρθρώσεις και οι ενθέσεις. Στην προσβολή του αρθρικού υμένα των διαρθρώσεων, τόσο στις περιφερικές αρθρώσεις όσο και στις αποφυσιακές αρθρώσεις της σπονδυλικής στήλης, τα ιστοπαθολογικά ευρήματα είναι παρόμοια με τη ρευματοειδή αρθρίτιδα (ΡΑ) - παρατηρείται φλεγμονώδης διήθηση και υπερπλασία του αρθρικού υμένα, σχηματισμός πάννου και δημιουργία **οστικών διαβρώσεων** στις θέσεις επαφής πάννου-οστού [10,16,398]. Σε αντίθεση όμως με τη ΡΑ, η φλεγμονή στις ενθέσεις (σημεία που οι τένοντες και οι σύνδεσμοι προσφύονται στα οστά) είναι χαρακτηριστική στις ΣπΑ και προάγει τόσο τη δημιουργία οστικών διαβρώσεων όσο και την **παραγωγή νέου οστού** (ενθεσόφυτα) (Εικόνα 3-2). Η παραγωγή νέου οστού συμβαίνει στο περίσπυρο δίπλα στις διαρθρώσεις (οστεόφυτα), στον ινώδη δακτύλιο των μεσοσπονδύλιων δίσκων (συνδεσμοίφυτα) (Εικόνα 5-1) και στις ιερολαγόνιες αρθρώσεις (Εικόνα 5-2). Σε προχωρημένες περιπτώσεις επέρχεται σύντηξη των ιερολαγονίων αρθρώσεων και των σπονδύλων και αγκύλωση της σπονδυλικής στήλης [10,11]. Τέλος, εκτός από τις οστικές διαβρώσεις και την παραγωγή νέου οστού, στις ΣπΑ παρατηρείται και **συστηματική οστική απώλεια** λόγω της συστηματικής φλεγμονής και της μειωμένης κινητικότητας [12].



**Εικ. 5-1.** Απεικόνιση συνδεσμοφύτων σε απλή ακτινογραφία ΟΜΣΣ ασθενούς με ΣπΑ. Στην ακτινογραφία Α το μεγάλο βέλος δείχνει ένα μικρό συνδεσμομόφυτο στην άνω γωνία του Ο2 σπονδύλου. Στην ακτινογραφία Β, η οποία λήφθηκε 2 χρόνια μετά την Α, το συνδεσμομόφυτο έχει αυξηθεί και στην ουσία γεφυρώνει τους δύο σπονδύλους. Τα μικρά βέλη δείχνουν συνδεσμομόφυτα που γεφυρώνουν παρακείμενους σπονδύλους και στις δύο ακτινογραφίες, αλλά εμφανίζουν και αυτά εξέλιξη με το χρόνο. (Τροποποιημένη από Sieper και συν. 2009) [399].



**Εικ. 5-2.** Απλές ακτινογραφίες ασθενών με ΣπΑ στις οποίες απεικονίζεται η παθολογική παραγωγή οστού στις ιερολαγόνιες αρθρώσεις. Στην ακτινογραφία Α απεικονίζεται σκλήρυνση των ιερολαγονίων άμφω. Στην ακτινογραφία Β, σε άλλον ασθενή, απεικονίζεται πλήρης αγκύλωση των ιερολαγονίων άμφω. (Τροποποιημένη από Sieper και συν. 2009) [399].

## 5.1 Παθολογική παραγωγή νέου οστού στις ΣΠΑ

Η φλεγμονή των ενθέσεων (ενθεσίτιδα) στις ΣΠΑ παίζει κεντρικό ρόλο στην παραγωγή νέου οστού στα σημεία των ενθέσεων (ενθεσόφυτα) [400]. Από στοιχεία που προκύπτουν από απεικονιστικές μελέτες σε ασθενείς με ΣΠΑ, φαίνεται πως η αρχική βλάβη στα σημεία των ενθέσεων είναι η οστική διάβρωση [400,401]. Στη συνέχεια, η οστική διάβρωση επιδιορθώνεται από την παραγωγή νέου οστού. Το νέο οστό τείνει να καταλαμβάνει το αρχικό οστικό έλλειμμα και να εξέχει, σχηματίζοντας έτσι ένα ενθεσόφυτο [400]. Ωστόσο υπάρχει αντιπαράθεση για το εάν η αρχική βλάβη που οδηγεί στην παραγωγή νέου οστού είναι όντως η οστική διάβρωση. Οι McGonagle και συν. επεσήμαναν ότι σε ασθενείς με ΣΠΑ και ενθεσίτιδα στον αχίλλειο τένοντα, η παραγωγή νέου οστού παρατηρούνταν σε διαφορετικό σημείο σε σχέση με τις οστικές διαβρώσεις [402].

Σε ιστικό επίπεδο, τα ζωικά μοντέλα υποδεικνύουν ότι συμβαίνει ενδοχόνδρια οστεοποίηση κατά το σχηματισμό των ενθεσόφυτων [403]. Αρχικά παρατηρείται φλεγμονή και κυτταρικός πολλαπλασιασμός στην ένθεση και στη συνέχεια, κυτταρική διαφοροποίηση σε χονδροβλάστες, προϋπερτροφικά χονδροκύτταρα και υπερτροφικά χονδροκύτταρα, τα οποία παράγουν χόνδρινη θεμέλια ουσία. Στη συνέχεια, τα χονδροκύτταρα αποπίπτουν, οστεοκλάστες απορροφούν τη χόνδρινη θεμέλια ουσία, προγονικά κύτταρα διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες, οι οποίοι παράγουν και επιμεταλλώνουν οστέινη θεμέλια ουσία. Σταδιακά ο χόνδρος αντικαθίσταται από οστό [403,404]. Εκτός από τα ζωικά μοντέλα, υπάρχουν και στον άνθρωπο ενδείξεις για ενδοχόνδρια οστεοποίηση κατά το σχηματισμό των ενθεσόφυτων στις ΣΠΑ. Ιστολογική ανάλυση βιοψιών από τένοντες με ενθεσίτιδα σε ασθενείς με ΣΠΑ έδειξε πολλαπλασιασμό προγονικών κυττάρων και σχηματισμό χόνδρου παρόμοιο με τα ζωικά μοντέλα [403]. Από την άλλη, παλαιότερη ιστοπαθολογική μελέτη σε ασθενείς με ΣΠΑ είχε υποστηρίξει ότι συμβαίνει ενδομεμβρανώδης οστεοποίηση κατά το σχηματισμό των ενθεσοφύτων [405]. Στην ενδομεμβρανώδη οστεοποίηση συνδετικός ιστός αντικαθίσταται από οστό χωρίς τη μεσολάβηση σχηματισμού χόνδρου. Αρχέγονα μεσεγχυματικά κύτταρα διαφοροποιούνται σε οστεοβλάστες, οι οποίοι παράγουν και επιμεταλλώνουν τη θεμέλια ουσία του οστού [404]. Είναι πιθανό να συνυπάρχουν η ενδοχόνδρια και η ενδομεμβρανώδης οστεοποίηση κατά το σχηματισμό των ενθεσοφύτων. Δυστυχώς, δεν υπάρχουν επαρκή δεδομένα για την ιστολογία της παραγωγής νέου οστού σε ασθενείς με ΣΠΑ και αυτό οφείλεται στη δυσκολία λήψης βιοψίας από τα σημεία που παράγεται το νέο οστό.

Παραγωγή νέου οστού στις ΣΠΑ συμβαίνει και στις ιερολαγόνιες αρθρώσεις. Ιστοπαθολογική μελέτη σε ασθενείς με ιερολαγονίτιδα στα πλαίσια ΣΠΑ υπέδειξε ότι η παραγωγή νέου οστού στις ιερολαγό-

νιες αρθρώσεις συμβαίνει επίσης με δύο τρόπους, είτε με ενδομεμβρανώδη οστεοποίηση είτε με μεταπλασία του χόνδρου (ενδοχόνδρια οστεοποίηση του χόνδρου των αρθρώσεων) [6].

Στη συνέχεια, θα αναλυθούν οι παθογενετικοί μηχανισμοί που συμμετέχουν σε κυτταρικό επίπεδο στην παραγωγή νέου οστού στις ΣΠΑ.

### 5.5.1 Οι BMPs και η παραγωγή νέου οστού στις ΣΠΑ

Οι οστικές μορφογενετικές πρωτεΐνες (BMPs) είναι γνωστό ότι επάγουν τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών, την ενδοχόνδρια οστεοποίηση και την οστική παραγωγή [61].

Οι DBA/1 ποντικοί αναπτύσσουν αρθρίτιδα που μοιάζει με τις ΣΠΑ που παρουσιάζονται στους ανθρώπους. Εκτός των άλλων παρουσιάζουν και ενθεσίτιδα που οδηγεί στην παραγωγή νέου οστού. Οι Lories και συν. χρησιμοποίησαν αυτό το πειραματικό μοντέλο για τη μελέτη της παραγωγής νέου οστού στις ΣΠΑ. Αρχικά, διαπίστωσαν ότι οι BMP-2, -6 και -7 εκφράζονταν στις θέσεις της ενθεσίτιδας στις οποίες σχηματιζόταν νέο οστό μέσω ενδοχόνδριας οστεοποίησης. Η BMP-2 εκφραζόταν στους χονδροβλάστες, ενώ οι BMP-7 και BMP-6 στα προϋπερτροφικά και στα υπερτροφικά χονδροκύτταρα αντίστοιχα. Στα προγονικά κύτταρα των χονδροκυττάρων, ανιχνεύθηκε επίσης φωσφορυλιωμένος SMAD1/5, δείκτης ενεργής σηματοδότησης μέσω του μονοπατιού των BMPs (κεφάλαιο 1.3). Στη συνέχεια, διαπίστωσαν ότι η πρωτεΐνη νογκίνη (noggin), η οποία είναι ανταγωνιστής των BMPs, αναστέλλει την ενδοχόνδρια οστεοποίηση και την παραγωγή νέου οστού στις ενθέσεις των DBA/1 ποντικών. Τέλος, διαπίστωσαν ενεργοποίηση του σηματοδοτικού μονοπατιού των BMPs και σε βιοψίες από τένοντες με ενθεσίτιδα σε ασθενείς με ΣΠΑ, καθώς ανίχνευσαν την έκφραση των BMP-2, -6 και -7 και την παρουσία φωσφορυλιωμένου SMAD1/5 σε χονδροκύτταρα και σε προγονικά κύτταρα αυτών [403].

Επιπρόσθετα, οι Lories και συν. έχουν δείξει ότι οι BMP-2 και -6 παρουσιάζουν αυξημένη έκφραση στον αρθρικό υμένα ασθενών με ΣΠΑ σε σύγκριση με τον υγιή πληθυσμό. Τα κύτταρα που είναι υπεύθυνα για την παραγωγή των BMP-2 και -6 είναι τα υμενοκύτταρα ινοβλαστικού τύπου (FLS) και τα μακροφάγα, ενώ ο TNF-α και η IL-1 διεγείρουν την έκφραση των BMP-2 και -6 από τα FLS [406].

Άλλωστε, μελέτη σε ασθενείς με αγκυλοποιητική σπονδυλαρθρίτιδα (ΑΣ) κατέδειξε αυξημένη συγκέντρωση των BMP-2 και -7 στον ορό του αίματος των ασθενών σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό. Στους ασθενείς με ΑΣ τα επίπεδα της BMP-2 συσχετιζόταν με την ενεργότητα της νόσου, ενώ τα επίπεδα της BMP-7 με την ακτινολογική εξέλιξη της νόσου [407]. Έτερη μελέτη σε ασθενείς με ΑΣ δε βρήκε αυξημένα επίπεδα BMP-7 σε σχέση με το φυσιολογικό πληθυσμό [408]. Ωστόσο, τρίτη μελέτη έδειξε ότι τα επίπεδα των BMP-2, -4 και -7 είναι σημαντικά αυξημένα σε ασθενείς με ΑΣ με αγκύλωση της σπον-

δουλκικής στήλης (ΣΣ) σε σχέση με ασθενείς χωρίς αγκύλωση και σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό. Μάλιστα, τα επίπεδα των BMP-2 και -4 συσχετίζονταν με την ακτινολογική βλάβη της ΣΣ [409]. Επιπρόσθετα, άλλη μελέτη έδειξε ότι η γονιδιακή έκφραση της BMP-4 από κύτταρα του αίματος είναι αυξημένη σε ασθενείς με ΑΣ ανθεκτική στη θεραπεία [410]. Επίσης, ο TNF-α και η IL-1 βρέθηκε ότι ενισχύουν την παραγωγή των BMP-2, -4 και -7 από τα μονοκύτταρα του περιφερικού αίματος ασθενών με ΑΣ και αυτή η ενίσχυση συσχετίστηκε με το στάδιο της ακτινολογικής βλάβης της ΣΣ, την παρουσία ιερολαγονίτιδας και την παρουσία αγκύλωσης της ΣΣ [411].

Πρόσφατη μελέτη έδειξε μάλιστα ότι αρχέγονα μεσεγγυματικά κύτταρα που προέρχονται από το μυελό των οστών ασθενών με ΑΣ παρουσίαζαν μεγαλύτερη ικανότητα για διαφοροποίηση στην οστεοβλαστική σειρά σε σχέση με αντίστοιχα κύτταρα από φυσιολογικό πληθυσμό. Επιπλέον, τα αρχέγονα μεσεγγυματικά κύτταρα των ασθενών με ΑΣ παρουσίαζαν αυξημένη έκφραση BMP-2 και μειωμένη έκφραση νογκίνης [412].

Τέλος, πρόσφατη μελέτη των Tsui και συν. έδειξε ότι ασθενείς με ΑΣ είχαν αυξημένη συγκέντρωση στο αίμα ανοσοσυμπλεγμάτων από νογκίνη και από αντισώματα IgG έναντι της νογκίνης. Οι Tsui και συν. πρότειναν ότι τα αντισώματα έναντι της νογκίνης συμβάλλουν στην παραγωγή νέου οστού στην ΑΣ αναστέλλοντας τη νογκίνη, η οποία είναι ανταγωνιστής του μονοπατιού των BMPs [413].

Συνοψίζοντας, πλήθος μελετών, τόσο σε πειραματόζωα όσο και σε ασθενείς, υποστηρίζουν ότι το σηματοδοτικό μονοπάτι των BMPs συμβάλλει στην παθολογική παραγωγή νέου οστού στις ΣπΑ, καθιστώντας έτσι το μονοπάτι αυτό πιθανό θεραπευτικό στόχο.

### 5.5.2 Το σηματοδοτικό μονοπάτι Wnt και η παραγωγή νέου οστού στις ΣπΑ

Το μονοπάτι Wnt, όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 1, παίζει σημαντικό ρόλο και διεγείρει τη διαφοροποίηση και λειτουργία των οστεοβλαστών και την οστική παραγωγή [52,54]. Μελέτες σε πειραματόζωα και ανθρώπους υποδεικνύουν ότι στις ΣπΑ η μειωμένη δράση των ανταγωνιστών του Wnt μονοπατιού Dickkopf-1 (Dkk-1) και σκληροστίνης συμβάλλει στην παθολογική παραγωγή οστού σε αυτές τις παθήσεις.

Οι ποντικοί με σπονδυλίτιδα επαγόμενη με πρωτεογλυκάνη (proteoglycan-induced spondylitis, PGISp) αποτελούν ζωικό μοντέλο για την ΑΣ. Ποντικοί ενιούνται με πρωτεογλυκάνη που προέρχεται από ανθρώπινο χόνδρο και εμφανίζουν σταδιακά σπονδυλίτιδα, σχηματισμό συνδεσμοφύτων, συνένωση των σπονδύλων και αγκύλωση της σπονδυλικής στήλης. Οι Haynes και συν. λοιπόν διαπίστωσαν φλεγμονή στις περιφερικές αρθρώσεις και στους μεσοσπονδύλιους δίσκους, καθώς και σχηματισμό συνδεσμοφύτων, στους ποντικούς με PGISp. Επιπλέον διαπίστωσαν μειωμένη έκφραση του Dkk-1 και της σκληροστίνης στη σπονδυλική στήλη των ποντικών, οδηγώντας

στο συμπέρασμα ότι ίσως η μειωμένη αναστολή του Wnt μονοπατιού συμβάλλει στην παθολογική παραγωγή νέου οστού και τη δημιουργία συνδεσμοφύτων στις ΣπΑ [414]. Επιπρόσθετα, μελέτες σε πειραματόζωα για την αποτελεσματικότητα της αναστολής του Dkk-1 για την αντιμετώπιση των οστικών διαβρώσεων στη PA, στην οποία παρατηρείται αυξημένη παραγωγή του Dkk-1, οδήγησαν σε ενδιαφέροντα ευρήματα. Οι TNF-Tg ποντικοί υπερπαραγωγή TNF-α και Dkk-1 και εμφανίζουν αρθρίτιδα που μοιάζει με τη PA, η οποία συνοδεύεται από οστικές διαβρώσεις των αρθρώσεων. Η χορήγηση αντισώματος έναντι του Dkk-1 στους TNF-Tg ποντικούς οδήγησε σε μείωση των οστικών διαβρώσεων, αλλά και σε παραγωγή νέου οστού και αγκύλωση των ιερολαγονίων αρθρώσεων. Η αναστολή του Dkk-1 επομένως άλλαξε το φαινότυπο της αρθρίτιδας στους TNF-Tg ποντικούς από αρθρίτιδα που μοιάζει με τη PA σε αρθρίτιδα που μοιάζει με τις ΣπΑ [415].

Στους ανθρώπους έχουν μελετηθεί τα επίπεδα του Dkk-1 και της σκληροστίνης στον ορό του αίματος ασθενών με ΣπΑ. Αρχικά, αναφέρθηκε ότι τα επίπεδα του Dkk-1 είναι χαμηλότερα στο αίμα ασθενών με ΑΣ σε σχέση με το φυσιολογικό πληθυσμό [309,416], ενώ άλλες μελέτες δεν επαλήθευσαν το εύρημα αυτό [417-420]. Ωστόσο, με τη χρήση τεχνικών ELISA που μετρούν το δραστικό Dkk-1, διαπιστώθηκε ότι η συγκέντρωση του δραστικού Dkk-1 είναι όντως χαμηλή στο αίμα ασθενών με ΑΣ, ενώ η ολική συγκέντρωση του Dkk-1 μπορεί να είναι φυσιολογική ή και αυξημένη [421,422]. Μάλιστα, η συγκέντρωση του δραστικού Dkk-1 συσχετίστηκε αρνητικά με την ακτινολογική εξέλιξη της νόσου στη σπονδυλική στήλη [422]. Σε άλλη μελέτη, ασθενείς με ΑΣ με μειωμένη δραστικότητα του Dkk-1 στο αίμα παρουσίαζαν σχηματισμό συνδεσμοφύτων σε μεγαλύτερο βαθμό σε σχέση με ασθενείς με αυξημένη δραστικότητα του Dkk-1, υπονοώντας ότι ο Dkk-1 δρα προστατευτικά στο σχηματισμό των συνδεσμοφύτων [423]. Πρόσφατη μελέτη σε ασθενείς με ΣπΑ έδειξε μάλιστα ότι καθώς εξελίσσεται η νόσος μειώνονται τα επίπεδα του Dkk-1 στο αίμα [424]. Τα αποτελέσματα αυτά υποδεικνύουν ότι η μειωμένη δραστικότητα του Dkk-1 στις ΣπΑ συμβάλλει στην ενεργοποίηση του Wnt μονοπατιού, με αποτέλεσμα να ευνοείται η διαφοροποίηση και η λειτουργία των οστεοβλαστών και να προάγεται η οστική παραγωγή. Τέλος, άλλη πρόσφατη μελέτη διαπίστωσε ότι ασθενείς με ΑΣ παρουσιάζουν υψηλότερες συγκεντρώσεις στο αίμα του αγωνιστή του Wnt μονοπατιού Wnt-3a σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό. Η συγκέντρωση του Wnt-3a συσχετιζόταν μάλιστα με το στάδιο της ακτινολογικής βλάβης της σπονδυλικής στήλης και με το βαθμό της μειωμένης κινητικότητας των ασθενών [425].

Όσον αφορά στη σκληροστίνη, μελέτη σε ασθενείς με ΑΣ διαπίστωσε ότι τα οστεοκύτταρα που βρίσκονταν πλησίον προσβληθέντων αρθρώσεων παρήγαγαν σημαντικά λιγότερη σκληροστίνη σε σύγκριση με τα αντίστοιχα οστεοκύτταρα φυσιολο-

γικού πληθυσμού. Επίσης, τα επίπεδα της σκληροστίνης στο αίμα ασθενών με ΑΣ ήταν χαμηλότερα σε σχέση με το φυσιολογικό πληθυσμό. Μάλιστα, η συγκέντρωση της σκληροστίνης στο αίμα ήταν χαμηλότερη σε ασθενείς με συνδεσμοφύτα σε σχέση με ασθενείς χωρίς συνδεσμοφύτα, υπονοώντας ότι η σκληροστίνη δρα προστατευτικά στο σχηματισμό των συνδεσμοφύτων [426]. Η χαμηλότερη συγκέντρωση στο αίμα της σκληροστίνης σε ασθενείς με ΣπΑ επαληθεύτηκε και από έτερες μελέτες [418,420,427], ενώ τα επίπεδα της σκληροστίνης συσχετίστηκαν αρνητικά με την ακτινολογική εξέλιξη της νόσου στη σπονδυλική στήλη [427]. Επιπρόσθετα, πρόσφατη μελέτη των Tsui και συν. έδειξε ότι ασθενείς με ΑΣ είχαν αυξημένη συγκέντρωση στο αίμα ανοσοσυμπλεγμάτων που αποτελούνταν από σκληροστίνη και από αντισώματα IgG έναντι της σκληροστίνης. Οι Tsui και συν. πρότειναν ότι τα αντισώματα έναντι της σκληροστίνης συμβάλλουν στην παραγωγή νέου οστού στην ΑΣ αναστέλλοντας τη σκληροστίνη [413]. Τα αποτελέσματα των παραπάνω μελετών υποδεικνύουν ότι η μειωμένη σκληροστίνη στις ΣπΑ συμβάλλει στην ενεργοποίηση του Wnt μονοπατιού, με αποτέλεσμα να προάγεται η διαφοροποίηση και η λειτουργία των οστεοβλαστών και να αυξάνεται η οστική παραγωγή. Έτσι, οι Haynes και συν. δοκίμασαν να χορηγήσουν εξωγενή ανασυνδυασμένη σκληροστίνη σε PGIsp ποντικούς, έτσι ώστε να διαπιστώσουν εάν επιβραδύνεται η παθολογική παραγωγή νέου οστού. Ωστόσο, η χορήγηση της σκληροστίνης δεν είχε επίδραση ούτε στην εξέλιξη της νόσου ούτε στην παραγωγή νέου οστού στους PGIsp ποντικούς [428].

Ενδιαφέρουσα είναι και η πρόσφατη μελέτη των Aschermann και συν. για τα επίπεδα των Dkk-1 και σκληροστίνης στο αίμα ανθρώπων με θετικό το γονίδιο HLA-B27, το οποίο συσχετίζεται ισχυρά με την ανάπτυξη ΣπΑ, όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 3.2. Τα επίπεδα των Dkk-1 και σκληροστίνης βρέθηκαν σημαντικά μειωμένα στους φορείς του HLA-B27 σε σχέση με όσους ήταν αρνητικοί για το HLA-B27, ανεξάρτητα από το αν οι φορείς HLA-B27 παρουσίαζαν ΣπΑ ή ήταν υγιείς. Οι Aschermann και συν. καταλήγουν ότι ίσως το HLA-B27 προκαλεί με άμεσο τρόπο μεταβολές στο Wnt μονοπάτι και στον οστικό μεταβολισμό [429].

Συνοψίζοντας, φαίνεται πως η αυξημένη σηματοδότηση μέσω του Wnt μονοπατιού στις ΣπΑ, κυρίως λόγω μειωμένης δραστηριότητας των ανταγωνιστών του, συμβάλλει στην παθολογική παραγωγή νέου οστού που παρατηρείται σε αυτή την ομάδα παθήσεων.

### 5.1.3 Το σηματοδοτικό μονοπάτι Hedgehog και η παραγωγή νέου οστού στις ΣπΑ

Οι πρωτεΐνες Hedgehog παίζουν σημαντικό ρόλο κατά την ενδοχόνδρια οστεοποίηση και είναι οι Indian, Sonic και Desert Hedgehog, με πιο σημαντική από αυτές την Indian Hedgehog (Ihh). Οι Daoussis και

συν. διαπίστωσαν ότι οι ασθενείς με ΑΣ είχαν υψηλότερη συγκέντρωση της Ihh στο αίμα σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό, ενώ η αντι-TNF θεραπεία μειώνει αυτή τη συγκέντρωση. Πρότειναν λοιπόν ότι η αυξημένη συγκέντρωση της Ihh ίσως προάγει την ενδοχόνδρια οστεοποίηση και το σχηματισμό των οστεόφυτων και των συνδεσμοφύτων στην ΑΣ [430]. Επιπρόσθετα, τα επίπεδα της Ihh στο αίμα βρέθηκαν σημαντικά αυξημένα στους φορείς του HLA-B27 σε σχέση με όσους ήταν αρνητικοί για το HLA-B27, ανεξάρτητα από το αν οι φορείς HLA-B27 παρουσίαζαν ΣπΑ ή ήταν υγιείς [429]. Άλλωστε, οι Ruiz-Heiland και συν. έδειξαν ότι η αναστολή του μονοπατιού Hedgehog σε ποντικούς με φλεγμονώδη αρθρίτιδα αναστέλλει την ενδοχόνδρια οστεοποίηση και εμποδίζει την ανάπτυξη οστεοφύτων, χωρίς να επηρεάζει τη φλεγμονή των αρθρώσεων και χωρίς να προκαλεί συστηματική οστική απώλεια. Πρότειναν μάλιστα ότι η αναστολή του Hedgehog μονοπατιού για την αντιμετώπιση της παθολογικής παραγωγής νέου οστού στις ΣπΑ είναι ασφαλέστερη σε σχέση με την αναστολή του μονοπατιού Wnt ή των BMPs. Τα μονοπάτια Wnt και BMP συμμετέχουν στη φυσιολογική ρύθμιση της οστικής ανακατασκευής και η αναστολή τους θα μπορούσε να προκαλέσει ή να επιδεινώσει τη συστηματική οστική απώλεια η οποία ούτως ή άλλως παρατηρείται στους ασθενείς με ΣπΑ [431].

Ο αριθμός των μελετών που έχουν ασχοληθεί με τη συμμετοχή του μονοπατιού Hedgehog στην παραγωγή νέου οστού στις ΣπΑ είναι μικρός. Περαιτέρω έρευνα απαιτείται για τη διερεύνηση της ύπαρξης μίας τέτοιας συμμετοχής και της δυνατότητας αξιοποίησής της για την αναστολή της παθολογικής οστικής παραγωγής στις ΣπΑ.

### 5.1.4 Ο ρόλος των κυτοκινών στην παραγωγή νέου οστού στις ΣπΑ

Ο άξονας IL-23/IL-17/IL-22 παίζει κεντρικό ρόλο στην παθογένεση των ΣπΑ. Οι ασθενείς με ΑΣ έχουν υψηλότερα επίπεδα IL-17 και IL-23 στο αίμα σε σχέση με το φυσιολογικό πληθυσμό [432,433] και τα επίπεδα αυτά συσχετίζονται με την ενεργότητα της νόσου [434]. Στο αίμα ασθενών με ΣπΑ κυκλοφορούν σε υψηλές συγκεντρώσεις CD4+ T-λεμφοκύτταρα, τα οποία ανήκουν στην ειδική ανοσία, διεγείρονται από την IL-23 και παράγουν IL-17 και IL-22 (Th17 λεμφοκύτταρα) [435,436]. Εκτός από τα Th17, στο αίμα ασθενών με ΣπΑ έχουν ανιχνευθεί και υψηλές συγκεντρώσεις από γ/δ T-λεμφοκύτταρα, τα οποία ανήκουν στη φυσική ανοσία και επίσης διεγείρονται από την IL-23 και παράγουν IL-17 [437]. Επίσης, στις αποφυσιακές αρθρώσεις της σπονδυλικής στήλης ασθενών με ΣπΑ, οι Appel και συν. αναγνώρισαν σε μεγάλη πυκνότητα κύτταρα που παράγουν IL-17 και IL-23 [438,439]. Μάλιστα, τα κύτταρα που παρήγαγαν IL-17 στις αποφυσιακές αρθρώσεις της ΣΣ ήταν κυρίως κύτταρα της φυσικής ανοσίας (ουδετερόφιλα, πρόδρομα κύτταρα ουδετεροφίλων, μαστοκύτταρα) και λιγότερο T-λεμφοκύτταρα της ειδικής ανοσίας [439].

Οι Sherlock και συν. έδειξαν ότι στους ποντικούς η συστηματική παραγωγή IL-23 *in vivo* προκαλεί φλεγμονή και παραγωγή νέου οστού στις ενθέσεις, καθώς και ενθεσίτιδα στη σπονδυλική στήλη και ιερολαγονίτιδα, εικόνα παρόμοια με αυτή των ΣπΑ. Στη συνέχεια θέλησαν να διερευνήσουν εάν τα υψηλά επίπεδα της κυκλοφορούσας στο αίμα IL-23 δρουν τοπικά στην ένθεση. Έτσι, εντόπισαν την παρουσία Τ-κυττάρων στις ενθέσεις των ποντικών, τα οποία διέθεταν υποδοχείς για την IL-23 (IL-23R) αλλά ήταν CD4- και CD8- και επομένως ανήκαν στη φυσική ανοσία. Αυτά τα IL23R+CD4-CD8- Τ-κύτταρα διεγείρονταν από την IL-23 και παρήγαγαν IL-17, IL-22 και BMP-7. Μάλιστα, η αναστολή των IL-17 και IL-22 με μονοκλωνικά αντισώματα μείωσε τη φλεγμονή στις προσβληθείσες αρθρώσεις. Οι Sherlock και συν. έδειξαν ακόμη ότι η IL-22 ενισχύει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών, καθώς αυξάνει τη φωσφορυλίωση του μεταγραφικού παράγοντα STAT3 στα πρόδρομα κύτταρα των οστεοβλαστών. Επίσης η IL-22 προάγει την οστική παραγωγή, εφόσον επάγει την έκφραση γονιδίων του Wnt μονοπατιού και των BMPs. Τέλος, έδειξαν ότι τα Th17 κύτταρα της ειδικής ανοσίας δε συμμετέχουν στην ενθεσίτιδα που επάγεται από την IL-23. Επομένως, οι Sherlock και συν. έδειξαν ότι η IL-23 προκαλεί στους ποντικούς εικόνα παρόμοια με ΣπΑ, καθώς και ότι η IL-23 διεγείρει κύτταρα της φυσικής ανοσίας στις ενθέσεις, τα οποία εκκρίνουν IL-17, IL-22 και BMP-7, με αποτέλεσμα ενθεσίτιδα και παθολογική παραγωγή νέου οστού [440] (Εικόνα 3-2).

Όσον αφορά στα αίτια της αυξημένης IL-23 στις ΣπΑ, έχει διερευνηθεί ο ρόλος του γονιδίου HLA-B27 και της φλεγμονής του εντέρου. Στους HLA-B27 διαγονιδιακούς επίμους έχει βρεθεί ότι η πρωτεΐνη που κωδικοποιεί το HLA-B27 υφίσταται ελαττωματικό δίπλωμα στο ενδοπλασματικό δίκτυο, με αποτέλεσμα stress στο ενδοπλασματικό δίκτυο, ενεργοποίηση των σηματοδοτικών μονοπατιών της απόκρισης σε μη διπλωμένη πρωτεΐνη (unfolded protein response, UPR) και αυξημένη παραγωγή της IL-23 [441-443]. Ωστόσο, τα αποτελέσματα αυτά δεν επαληθεύθηκαν στους ανθρώπους [444,445]. Από την άλλη, οι ασθενείς με ΣπΑ παρουσιάζουν μικροσκοπική φλεγμονή του εντέρου [446], με αποτέλεσμα αυξημένη παραγωγή της IL-23 από τα μονοκύτταρα και τα κύτταρα Paneth του εντερικού βλεννογόνου [447]. Μάλιστα, πρόσφατη μελέτη των Ciccía και συν. έδειξε ότι αιτία της αυξημένης παραγωγής IL-23 από τα μονοκύτταρα και τα κύτταρα Paneth του εντερικού βλεννογόνου ασθενών με ΣπΑ είναι η αυξημένη αυτοφαγία που παρατηρείται σε αυτά τα κύτταρα. Επίσης, οι Ciccía και συν. διαπίστωσαν όντως ελαττωματικό δίπλωμα της πρωτεΐνης HLA-B27 στο ενδοπλασματικό δίκτυο των κυττάρων του εντέρου ασθενών με ΣπΑ, το οποίο ίσως να συμβάλλει στην αυξημένη αυτοφαγία [448].

Επομένως, στους ασθενείς με ΣπΑ, η φλεγμονή του εντέρου και το γονίδιο HLA-B27 προκαλούν αυξημένη παραγωγή της IL-23. Η IL-23 εισέρχεται στη

συστηματική κυκλοφορία και διεγείρει κύτταρα της φυσικής και της ειδικής ανοσίας, είτε τοπικά στα σημεία που προσβάλλει η νόσος είτε στη συστηματική κυκλοφορία, με αποτέλεσμα αυτά να εκκρίνουν IL-17 και IL-22. Η IL-22 διεγείρει τοπικά τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών, με αποτέλεσμα την παθολογική παραγωγή νέου οστού (συνδεσμοφύτα, ενθεσόφυτα).

Τέλος, εκτός από τον άξονα IL-23/IL-17/IL-22, πρόσφατα διερευνήθηκε ο ρόλος της IL-32γ στην αυξημένη οστική παραγωγή στις ΣπΑ. Βρέθηκε λοιπόν ότι η IL-32γ παράγεται σε αυξημένες ποσότητες από τον αρθρικό υμένα των προσβληθέντων αρθρώσεων σε ασθενείς με ΑΣ. Μάλιστα, η IL-32γ επάγει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών σε κυτταροκαλλιέργειες και μειώνει την έκφραση του Dkk-1, ενώ διαγονιδιακοί επίμους με αυξημένη έκφραση IL-32γ παρουσιάζουν αυξημένη οστική παραγωγή [449].

### 5.1.5 Ο ρόλος του μηχανικού stress στην ενθεσίτιδα και την παραγωγή νέου οστού στις ΣπΑ

Όπως προαναφέρθηκε, κεντρικό σημείο στην παθογένεια των ΣπΑ είναι η φλεγμονή των ενθέσεων (ενθεσίτιδα), η οποία οδηγεί στην παραγωγή νέου οστού στα σημεία των ενθέσεων (ενθεσόφυτα). Οι ενθέσεις υπόκεινται σε επαναλαμβανόμενες μηχανικές δυνάμεις, εφόσον είναι τα σημεία στα οποία οι τένοντες και οι σύνδεσμοι προσφύονται στα οστά. Οι Jacques και συν. διερεύνησαν κατά πόσο το μηχανικό stress συμβάλλει στην παθογένεση της ενθεσίτιδας και στην παραγωγή νέου οστού. Σε ζωικά μοντέλα ΣπΑ, έδειξαν ότι η αποφόρτιση των οπίσθιων άκρων των ποντικών μείωσε σημαντικά την ενθεσίτιδα και το σχηματισμό ενθεσόφυτων στον αχίλλειο τένοντα. Επίσης, διαπίστωσαν ότι η φόρτιση των οπίσθιων άκρων ενεργοποιεί το σηματοδοτικό μονοπάτι των κινασών Erk1/2, ενώ η χορήγηση αναστολέα των Erk1/2 μείωσε την ενθεσίτιδα στους ποντικούς [450].

Επομένως, το μηχανικό stress στα σημεία των ενθέσεων ενεργοποιεί το σηματοδοτικό μονοπάτι των κινασών Erk1/2 και έτσι, συμβάλλει στη φλεγμονή και στην παραγωγή νέου οστού στις ενθέσεις.

### 5.2 Οστικές διαβρώσεις στις ΣπΑ

Οι οστικές διαβρώσεις στους ασθενείς με σπονδυλαρθρίτιδα (ΣπΑ) εμφανίζονται τόσο στον αξονικό σκελετό - στα σπονδυλικά σώματα και τις ιερολαγονίες αρθρώσεις - όσο και στις περιφερικές αρθρώσεις [16,399]. Σε αντίθεση όμως με τη ρευματοειδή αρθρίτιδα (ΡΑ), ελάχιστος αριθμός μελετών έχει ασχοληθεί με την παθογένεση των οστικών διαβρώσεων στις ΣπΑ, με αποτέλεσμα να παραμένει ασαφής.

Όπως και στη ΡΑ, οι οστεοκλάστες είναι τα κύτταρα που είναι υπεύθυνα για τη δημιουργία των οστικών διαβρώσεων στις ΣπΑ. Ανοσοϊστολογική εξέταση βιοψιών από τις ιερολαγονίες αρθρώσεις ασθενών με ΑΣ που παρουσίαζαν ιερολαγονίτιδα εντόπισε την παρουσία αυξημένου αριθμού οστεοκλαστών στο οστό [451,452]. Οστεοκλάστες ανευ-

ρέθησαν επίσης σε περιοχές οστικής απορρόφησης σε βιοψίες κεφαλής μηριαίου από ασθενείς με ΑΣ με αρθρίτιδα στο ισχίο που υποβλήθηκαν σε αρθροπλαστική [453]. Άλλωστε, οι Ritchlin και συν. εντόπισαν την παρουσία οστεοκλαστών σε απορροφητικά βοηθία στη θέση επαφής οστού-πάννου, καθώς και στο υποχόνδριο οστό, σε βιοψίες από αρθρώσεις ισχίου και γόνατος από ασθενείς με ΨΑ που υποβλήθηκαν σε αρθροπλαστική. Έτσι, πρότειναν ότι η πρόσβαση των οστεοκλαστών στα σημεία των οστικών διαβρώσεων στις περιφερικές αρθρώσεις γίνεται τόσο από το φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα όσο και από τα αγγεία του υποχόνδριου οστού [398].

Η διέγερση των οστεοκλαστών για τη δημιουργία των οστικών διαβρώσεων στις ΣΠΑ φαίνεται πως διαμεσολαβείται από τον RANKL και τις κυτοκίνες, όπως και στη ΡΑ, αν και τα δεδομένα δεν είναι τόσα πολλά. Στην παραπάνω μελέτη τους, οι Ritchlin και συν. έδειξαν με μεθόδους ανοσοϊστοχημείας ότι οι οστεοκλάστες στα απορροφητικά βοηθία και στο υποχόνδριο οστό εξέφραζαν τον RANK, ενώ ο RANKL εκφραζόταν σε αυξημένες ποσότητες από το φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα [398]. Όσον αφορά στις κυτοκίνες, ανοσοϊστοχημική εξέταση βιοψιών από τις ιερολαγόνιες αρθρώσεις ασθενών με ΑΣ που παρουσίαζαν ιερολαγονίτιδα και αυξημένη συγκέντρωση οστεοκλαστών εντόπισε την παρουσία TNF-α και IL-6 στις φλεγμαίνουσες αρθρώσεις [451,454]. Επίσης, η αγωγή των ασθενών με ΑΣ με αντι-TNF παράγοντες επιβραδύνει την εξέλιξη των οστικών διαβρώσεων στους σπονδύλους [455-457].

Συνοψίζοντας, οι ασθενείς με ΣΠΑ παρουσιάζουν οστικές διαβρώσεις τόσο στις περιφερικές αρθρώσεις όσο και στα σπονδυλικά σώματα και τις ιερολαγόνιες αρθρώσεις. Υπεύθυνες για τις οστικές διαβρώσεις είναι οι οστεοκλάστες, οι οποίες διεγείρονται από τον RANKL και από κυτοκίνες, όπως ο TNF-α και η IL-6.

### 5.3 Συστηματική οστική απώλεια στις ΣΠΑ

Η συστηματική οστική απώλεια στις ΣΠΑ ξεκινά νωρίς κατά την πορεία της νόσου. Η οστική πυκνότητα ανευρίσκεται μειωμένη στην ΟΜΣΣ και στο ισχίο προτού επέλθει αγκύλωση στη σπονδυλική στήλη [458-460]. Σε προχωρημένα στάδια της νόσου, τα συνδεσμοφύτα και η παθολογική παραγωγή νέου οστού στη ΣΣ δεν επιτρέπουν την ακριβή εκτίμηση της οστικής πυκνότητας στην ΟΜΣΣ με DXA. Έτσι, στα πρώιμα στάδια της νόσου, η οστική πυκνότητα μπορεί να μετρηθεί στην ΟΜΣΣ και στο ισχίο τόσο με DXA όσο και με ποσοτική υπολογιστική τομογραφία (quantitative computed tomography, QCT). Στα προχωρημένα στάδια όμως, η οστική πυκνότητα με DXA μπορεί να μετρηθεί μόνο στο ισχίο, ενώ για την ΟΜΣΣ πρέπει να χρησιμοποιηθεί QCT [459,461,462]. Εκτός όμως από την ελαττωμένη οστική πυκνότητα, οι ασθενείς με ΑΣ έχουν διαταραγμένη μικροαρχιτεκτονική του οστού. Με τη χρήση περιφερικής ποσοτικής υπολογιστικής

τομογραφίας υψηλής ευκρίνειας (high-resolution peripheral quantitative CT, HRpQCT), διαπιστώθηκε ότι οι ασθενείς με ΑΣ έχουν χειρότερους δείκτες αρχιτεκτονικής του φλοιώδους οστού (πάχος φλοιού, πορωτικότητα φλοιού) σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό, καθώς και χειρότερους δείκτες οστικής αντοχής [463]. Σε ασθενείς με ΑΣ, ο κίνδυνος για την εμφάνιση οστεοπόρωσης έχει συσχετιστεί με το χαμηλό δείκτη μάζας σώματος (body mass index, BMI), την ενεργότητα και τη διάρκεια της νόσου, καθώς και τη παρουσία συνδεσμοφύτων, υπονοώντας ότι η παραγωγή νέου οστού και η συστηματική οστική απώλεια συμβαίνουν ταυτόχρονα [461,464].

Όσον αφορά τον καταγματικό κίνδυνο, είναι κοινά αποδεκτό ότι οι ασθενείς με ΑΣ παρουσιάζουν αυξημένο κίνδυνο για σπονδυλικά κατάγματα σε σχέση με το γενικό πληθυσμό [465,466]. Για τα μη σπονδυλικά κατάγματα, όμως, υπάρχει διαφωνία στη βιβλιογραφία. Παλαιότερη μελέτη σε ασθενείς με ΑΣ δεν είχε βρει αυξημένο κίνδυνο για μη σπονδυλικά κατάγματα [465], ενώ πιο πρόσφατα είχε βρεθεί αυξημένος κίνδυνος μόνο για τους ασθενείς με ΑΣ που έπασχαν ταυτόχρονα από φλεγμονώδη νόσο του εντέρου, ίσως λόγω χρήσης κορτικοστεροειδών και δυσσπορρόφησης [466]. Πρόσφατες μελέτες σε ασθενείς με ΑΣ διαπίστωσαν αυξημένο κίνδυνο τόσο για σπονδυλικά όσο και για μη σπονδυλικά κατάγματα [467,468]. Ο κίνδυνος για σπονδυλικά κατάγματα σε ασθενείς με ΑΣ έχει συσχετισθεί με την ηλικία, τη μειωμένη οστική πυκνότητα, τη διάρκεια, την ακτινολογική εξέλιξη και την ενεργότητα της νόσου, καθώς και με την έκπτωση της λειτουργικής ικανότητας [464,469]. Άλλωστε, ασθενείς με αγκύλωση της ΣΣ έχουν δυσκολία στην ισορροπία και το συντονισμό των κινήσεων, με αποτέλεσμα αύξηση του κινδύνου των πτώσεων και των σπονδυλικών καταγμάτων [470]. Πολλές φορές τα σπονδυλικά κατάγματα στους ασθενείς με ΑΣ προκαλούν σοβαρές νευρολογικές επιπλοκές, ενώ κατάγματα παρατηρούνται και στις οστικές γέφυρες μεταξύ των συνοστεομένων σπονδύλων [471]. Επιπρόσθετα, τα σπονδυλικά κατάγματα συμβάλλουν στην υπερκύφωση που παρατηρείται σε ασθενείς με ΑΣ με προχωρημένη νόσο και αγκύλωση της ΣΣ [472].

Η μέτρηση δεικτών οστικού μεταβολισμού σε ασθενείς με ΑΣ έχει δείξει ότι υπάρχει αυξημένη οστική απορρόφηση [473,474]. Όσον αφορά την παθογένεση της συστηματικής οστικής απώλειας στις ΣΠΑ, συμμετέχουν πολλοί παράγοντες. Ο πόνος, η δυσκαμψία και η αγκύλωση οδηγούν σε μείωση της λειτουργικής ικανότητας και σε μειωμένη κινητικότητα [475]. Βέβαια, χαμηλή οστική πυκνότητα ανευρίσκεται και σε ασθενείς με πρώιμη νόσο, χωρίς αγκύλωση, υπονοώντας ότι και άλλοι παράγοντες εκτός της μειωμένης κινητικότητας συμβάλλουν στη συστηματική οστική απώλεια [458,460]. Έτσι, οι κυτοκίνες και η συστηματική φλεγμονή συμμετέχουν και αυτές στην οστική απώλεια. Η συστηματι-

κή οστική απώλεια έχει συσχετιστεί με τα επίπεδα των δεικτών φλεγμονής ΤΚΕ και CRP [476,477], ενώ τα επίπεδα των TNF-α, IL-6 και IL-17 στον ορό του αίματος είναι αυξημένα και φαίνεται πως συμμετέχουν στην οστική απώλεια [478]. Άλλωστε, η αγωγή ασθενών με ΣπΑ με παράγοντες αντι-TNF οδηγεί σε αύξηση της οστικής πυκνότητας στο ισχίο και την ΟΜΣΣ [479-482]. Επιπρόσθετα, ο RANKL και ο λόγος RANKL/OPG ανευρίσκονται αυξημένοι στον ορό του αίματος ασθενών με ΑΣ σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό και σχετίζονται με τη μείωση της οστικής πυκνότητας, αλλά και με τα επίπεδα των TNF-α και IL-17 [483].

Συνοψίζοντας, οι ασθενείς με ΣπΑ παρουσιάζουν συστηματική οστική απώλεια, οστεοπόρωση και αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων. Η συστηματική οστική απώλεια οφείλεται σε αύξηση της οστικής απορρόφησης, εξαιτίας της συστηματικής φλεγμονής, των κυτοκινών όπως ο TNF-α και η IL-17, του RANKL, αλλά και της μειωμένης κινητικότητας.

#### 5.4 Προεκτάσεις στην κλινική πράξη - Αντιμετώπιση της προσβολής του οστού στις ΣπΑ

Η αντιμετώπιση της προσβολής του οστού στις ΣπΑ αποκτά ιδιαίτερη σημασία, εφόσον συνεπάγεται δυσμενέστερη πρόγνωση. Η παθολογική παραγωγή νέου οστού και η δημιουργία συνδεσμοφύτων στη σπονδυλική στήλη μειώνει την κινητικότητα και τη λειτουργική ικανότητα των ασθενών [484-487]. Σε προχωρημένη νόσο, επέρχεται συνένωση των σπονδύλων και αγκύλωση της σπονδυλικής στήλης, με αποτέλεσμα ακόμα σοβαρότερη μείωση της κινητικότητας και της λειτουργικότητας [11]. Από την άλλη, η συστηματική οστική απώλεια στις ΣπΑ, μαζί με άλλους παράγοντες κινδύνου, αυξάνει τον κίνδυνο για κατάγματα [464].

##### 5.4.1 Θεραπευτικές επιλογές για την αντιμετώπιση της παθολογικής παραγωγής νέου οστού στις ΣπΑ

Όπως αναφέρθηκε στο κεφάλαιο 3.2, τα ΜΣΑΦ και κυρίως οι αντι-TNF βιολογικοί παράγοντες χρησιμοποιούνται στη θεραπευτική αγωγή των ασθενών με ΣπΑ. Αριθμός μελετών έχει διερευνήσει κατά πόσο τα ΜΣΑΦ και οι αντι-TNF επιβραδύνουν την παθολογική παραγωγή νέου οστού και την ακτινολογική εξέλιξη της νόσου.

Έτσι, μελέτη σε ασθενείς με ΑΣ έδειξε ότι η συνεχής χορήγηση ΜΣΑΦ για διάστημα έως και 2 έτη επιβραδύνει την ακτινολογική εξέλιξη της νόσου, χωρίς να προκαλεί σημαντικά περισσότερες ανεπιθύμητες ενέργειες σε σχέση με την περιστασιακή χορήγηση ΜΣΑΦ επί συμπτωμάτων. Η ακτινολογική εξέλιξη αξιολογήθηκε με το τροποποιημένο σκορ του Stoke για την ΑΣ (modified Stoke Ankylosing Spondylitis Spine Score, mSASSS), το οποίο λαμβάνει υπόψη τις διαβρώσεις, την σκλήρυνση, τα

συνδεσμοφύτα και τις οστικές γέφυρες που παρατηρούνται στη σπονδυλική στήλη [488]. Μάλιστα, post hoc ανάλυση αυτής της μελέτης έδειξε ότι η επιβράδυνση της ακτινολογικής εξέλιξης από τη συνεχή χορήγηση ΜΣΑΦ ήταν μεγαλύτερη στους ασθενείς με υψηλή ενεργότητα της νόσου και επομένως, αυτή η ομάδα ασθενών θα μπορούσε να επωφεληθεί περισσότερο [489]. Παρόμοια μελέτη έδειξε ότι η εντατικότερη χορήγηση ΜΣΑΦ επιβραδύνει την ακτινολογική εξέλιξη της νόσου, όπως αυτή αξιολογείται με το σκορ mSASSS, και αυτή η επιβράδυνση ήταν εντονότερη σε ασθενείς που παρουσίαζαν συνδεσμοφύτα στην αρχή της μελέτης και σε ασθενείς με μεγαλύτερη ενεργότητα της νόσου [490]. Από την άλλη, μελέτη με μεγαλύτερο αριθμό ασθενών δε βρήκε συσχέτιση μεταξύ της πρόσληψης ΜΣΑΦ και της ακτινολογικής εξέλιξης της νόσου [23]. Επομένως, τα δεδομένα για την επίδραση των ΜΣΑΦ στην παραγωγή νέου οστού και την ακτινολογική εξέλιξη της νόσου δεν είναι πολύ ισχυρά, αν και ίσως οι ασθενείς με μεγαλύτερη ενεργότητα θα μπορούσαν να επωφεληθούν από τη συνεχή χορήγηση ΜΣΑΦ.

Οι αντι-TNF παράγοντες καταπολεμούν τη φλεγμονή στη σπονδυλική στήλη και τις περιφερικές αρθρώσεις και μειώνουν την ενεργότητα και τα συμπτώματα της νόσου σε ασθενείς με ΣπΑ. Ωστόσο, παραμένει ερώτημα κατά πόσο επιβραδύνουν την παραγωγή νέου οστού στα σημεία των ενθέσεων και τη δομική βλάβη. Σε μελέτες που παρακολούθησαν για 2 έτη ασθενείς με ΑΣ που λάμβαναν αντι-TNF, δε διαπιστώθηκε διαφορά στην ακτινολογική εξέλιξη της νόσου, όπως αυτή αξιολογήθηκε με το σκορ mSASSS, σε σχέση με ασθενείς που δε λάμβαναν αντι-TNF [491-493]. Ωστόσο, μελέτες που παρακολούθησαν για μεγαλύτερο χρονικό διάστημα ασθενείς με ΑΣ υπό αντι-TNF διαπίστωσαν επιβράδυνση της ακτινολογικής εξέλιξης της νόσου. Έτσι, οι Haroon και συν. διαπίστωσαν μείωση κατά 50% του κινδύνου ακτινολογικής εξέλιξης της νόσου με τη χρήση των αντι-TNF. Διαφορά στην ακτινολογική εξέλιξη μεταξύ όσων λάμβαναν και όσων δε λάμβαναν αντι-TNF φάνηκε μόνο όταν το διάστημα παρακολούθησης ήταν μεγαλύτερο από 4 έτη. Οι ασθενείς που επωφελούνταν περισσότερο ήταν αυτοί που είχαν ξεκινήσει να λαμβάνουν αντι-TNF μέσα στα 10 πρώτα έτη της νόσου τους [23]. Επιπρόσθετα, οι Baraliakos και συν. παρακολούθησαν ασθενείς με ΑΣ υπό αντι-TNF για 8 έτη και διαπίστωσαν μικρότερη ακτινολογική εξέλιξη, όπως αξιολογήθηκε με το σκορ mSASSS, σε σχέση με ασθενείς που δε λάμβαναν αντι-TNF. Στα 4 πρώτα έτη της παρακολούθησης δεν υπήρχε διαφορά μεταξύ των δύο ομάδων ασθενών, αλλά από το 4ο έως το 8ο έτος παρακολούθησης φάνηκε το όφελος των αντι-TNF στο mSASSS. Μάλιστα, οι ασθενείς υπό αντι-TNF εμφάνισαν σημαντικά λιγότερα νέα συνδεσμοφύτα μετά από 8 έτη παρακολούθησης [22]. Επομένως, οι αντι-TNF επιβραδύνουν την παραγωγή νέου οστού

και την ακτινολογική εξέλιξη της ΑΣ, αν και δεν τη σταματούν πλήρως.

Τέλος, για την ανάσχεση της παθολογικής παραγωγής νέου οστού στις ΣΠΑ, σε πειραματικό επίπεδο έχει δοκιμαστεί η αναστολή και άλλων μονοπατιών που συμμετέχουν στην παραγωγή νέου οστού και το σχηματισμό ενθεσοφύτων. Όπως αναφέρθηκε στο υποκεφάλαιο 5.1, σε πειραματόζωα έχει μελετηθεί η αναστολή των BMPs [403], του μονοπατιού Wnt [428], του μονοπατιού Hedgehog [431], του άξονα των κυτοκινών IL-23/IL-17/IL-22 [440] και του σηματοδοτικού μονοπατιού των κινασών Erk1/2 [450].

#### 5.4.2 Θεραπευτικές επιλογές για την αντιμετώπιση της συστηματικής οστικής απώλειας στις ΣΠΑ

Εκτός από την επίδραση των ΜΣΑΦ και των αντι-TNF στην παραγωγή νέου οστού στις ΣΠΑ, έχει μελετηθεί και η επίδραση που έχουν τα φάρμακα αυτά στη συστηματική οστική απώλεια και στον κίνδυνο κατάγματος. Σε μελέτη ασθενών-μαρτύρων των Vosse και συν., ο κίνδυνος για οποιοδήποτε κλινικό κάταγμα βρέθηκε μειωμένος στους ασθενείς με ΑΣ που λάμβαναν ΜΣΑΦ. Οι Vosse και συν. πρότειναν ότι τα ΜΣΑΦ μειώνουν τον πόνο και τη δυσκαμψία, με αποτέλεσμα βελτιωμένη φυσική δραστηριότητα των ασθενών, μειωμένη οστική απώλεια και μειωμένο κίνδυνο πτώσεων [466]. Άλλωστε, σε πρόσφατη μελέτη κοόρτης, αυξημένο κίνδυνο κατάγματος παρουσίαζαν μόνο οι ασθενείς με ΑΣ που δε λάμβαναν ΜΣΑΦ [467]. Από την άλλη, πρόσφατη μελέτη ασθενών-μαρτύρων των Prieto-Alhambra και συν., διαπίστωσε ότι ο κίνδυνος κατάγματος στους ασθενείς με ΑΣ ήταν αυξημένος σε όσους λάμβαναν ΜΣΑΦ. Οι Prieto-Alhambra και συν. απέδωσαν τον αυξημένο κίνδυνο στο ότι οι ασθενείς που λάμβαναν ΜΣΑΦ είχαν σοβαρότερη νόσο [468]. Επομένως, τα δεδομένα για την επίδραση των ΜΣΑΦ στον κίνδυνο κατάγματος σε ασθενείς με ΑΣ είναι αντικρουόμενα και πρέπει να ερμηνεύονται με προσοχή.

Από την άλλη, η ευεργετική δράση των αντι-TNF στη συστηματική οστική απώλεια και την οστική πυκνότητα σε ασθενείς με ΑΣ είναι καλά τεκμηριωμένη. Τυχαίοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη έδειξε ότι ασθενείς με ΑΣ που έλαβαν infliximab παρουσίασαν στατιστικά σημαντική αύξηση της οστικής πυκνότητας στο ισχίο και στην ΟΜΣΣ σε σχέση με όσους έλαβαν εικονικό φάρμακο. Επίσης, ο αντι-TNF παράγοντας μείωσε τους δείκτες οστικής απορρόφησης και αύξησε τους δείκτες οστικής παραγωγής [482]. Συστηματική ανασκόπηση επτά μελετών παρατήρησης και της παραπάνω τυχαίοποιημένης μελέτης, με 568 συνολικά ασθενείς με ΑΣ, έδειξε ότι η αγωγή με αντι-TNF παράγοντες οδηγεί σε αύξηση της BMD στην ΟΜΣΣ και στο ισχίο κατά 8,6% και 2,5% αντίστοιχα κατά μέσο όρο [494]. Πρόσφατη τυχαίοποιημένη ελεγχόμενη μελέτη σε ασθενείς με ΑΣ έδειξε επίσης στατιστικά σημαντική αύξηση της BMD ισχίου και ΟΜΣΣ από τους αντι-TNF, καθώς και μείωση των δεικτών οστικής απορρόφησης και αύξηση

των δεικτών οστικής παραγωγής [495]. Ωστόσο, δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα για την επίδραση των αντι-TNF στον καταγματικό κίνδυνο σε ασθενείς με ΣΠΑ, ενώ αναδρομική μελέτη δε βρήκε κάποιο όφελος όσον αφορά τα κατάγματα σε ασθενείς με ΣΠΑ που λάμβαναν αντι-TNF [387].

Όσον αφορά τα αντιοστεοπορωτικά φάρμακα, ελάχιστες μελέτες έχουν δημοσιευθεί για την επίδρασή τους στην οστική πυκνότητα σε ασθενείς με ΣΠΑ. Σε μελέτη των Viarriana και συν., το αμινοδιφωσφονικό νεριδρονάτη αύξησε σημαντικά την BMD της ΟΜΣΣ σε ασθενείς με ΑΣ [496], ενώ κατευθυντήριες οδηγίες από ομάδα ειδικών προτείνουν τη χρήση διφωσφονικών για την αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης σε ασθενείς με ΑΣ [497].

Συνοψίζοντας, η ευεργετική επίδραση των αντι-TNF παραγόντων στην οστική πυκνότητα σε ασθενείς με ΑΣ είναι καλά τεκμηριωμένη, ενώ δεν υπάρχουν αρκετά δεδομένα για την επίδραση των ΜΣΑΦ και των αντι-TNF στον καταγματικό κίνδυνο.

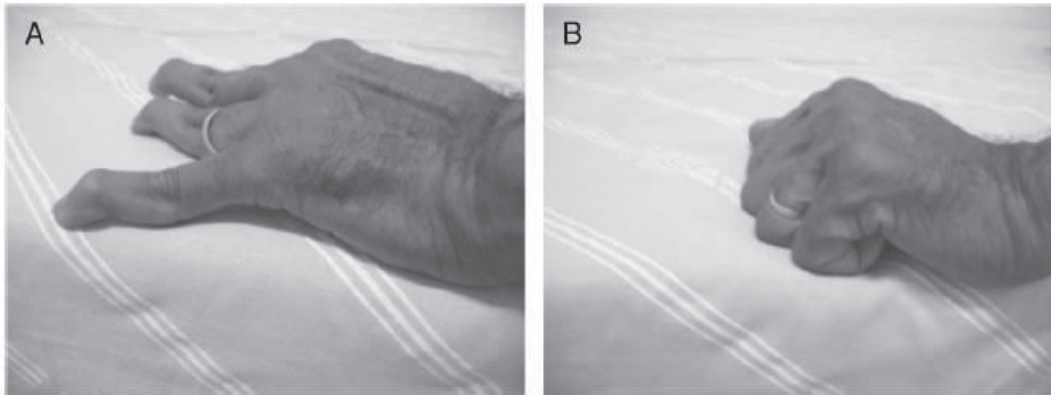
#### 5.5 Σύνοψη - Συμπεράσματα

Στις σπονδυλαρθρίτιδες (ΣΠΑ), παρατηρείται παθολογική παραγωγή νέου οστού, με τη μορφή των ενθεσοφύτων, των οστεόφυτων και των συνδεσμοφύτων, καθώς και οστικές διαβρώσεις και συστηματική οστική απώλεια.

Η παθολογική παραγωγή νέου οστού παρατηρείται στις ενθέσεις, στα σπονδυλικά σώματα, στις ιερολαγόνιες και στις περιφερικές αρθρώσεις και συμβαίνει μέσω ενδοχόνδριας και ενδομεμβρανώδους οστεοποίησης. Οι παράγοντες που τη διεγείρουν είναι οι BMPs, το Wnt σηματοδοτικό μονοπάτι, το μονοπάτι Hedgehog, ο άξονας των κυτοκινών IL-23/IL-17/IL-22 και το μηχανικό stress στις ενθέσεις. Οι αντι-TNF παράγοντες επιβραδύνουν την παραγωγή νέου οστού στις ΣΠΑ, αν και δεν τη σταματούν πλήρως, ενώ τα δεδομένα για τα ΜΣΑΦ είναι αντικρουόμενα. Σε πειραματικό επίπεδο μελετάται η αναστολή και των υπόλοιπων μονοπατιών που συμμετέχουν στην παθολογική παραγωγή νέου οστού.

Η δημιουργία των οστικών διαβρώσεων στις ΣΠΑ, τόσο στις περιφερικές αρθρώσεις όσο και στα σπονδυλικά σώματα και τις ιερολαγόνιες αρθρώσεις, μεσολαβείται από τις οστεοκλάστες, οι οποίες διεγείρονται από τον RANKL και από τις κυτοκίνες TNF-α και IL-6. Η αγωγή με αντι-TNF παράγοντες επιβραδύνει την εξέλιξη των οστικών διαβρώσεων στις ΣΠΑ.

Τέλος, οι ασθενείς με ΣΠΑ παρουσιάζουν συστηματική οστική απώλεια, οστεοπόρωση και αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων. Η συστηματική οστική απώλεια οφείλεται σε αύξηση της οστικής απορρόφησης, εξαιτίας της συστηματικής φλεγμονής, κυτοκινών όπως ο TNF-α και η IL-17, εξαιτίας του RANKL, αλλά και της μειωμένης κινητικότητας. Μελέτες έχουν δείξει ότι οι αντι-TNF παράγοντες και τα διφωσφονικά έχουν ευεργετική επίδραση στην οστική πυκνότητα στις ΣΠΑ.



**Εικ. 6-1.** Αρθροπάθεια Jaccoud στην άκρα χείρα ασθενούς με συστηματικό ερυθματώδη λύκο. Οι παραμορφώσεις (δίκνυ λαιμού κύκνου) διορθώνονται με την κάμψη των δακτύλων. (Τροποποιημένη από Santiago et al. 2008) [500].

## 6. Προσβολή του οστού στο συστηματικό ερυθματώδη λύκο (ΣΕΛ) - Η επίδραση της φλεγμονής στη λειτουργία των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών

Ο συστηματικός ερυθματώδης λύκος (ΣΕΛ) είναι μία πολυσυστηματική αυτοάνοση νόσος, η οποία μπορεί να προσβάλλει πολλά διαφορετικά όργανα και συστήματα [182]. Όσον αφορά τις εκδηλώσεις από τα οστά, ο ΣΕΛ μπορεί να προκαλέσει οστεοπόρωση [14], οστεονέκρωση [15] και πιο σπάνια, οστικές διαβρώσεις [13].

### 6.1 Προσβολή των αρθρώσεων και οστικές διαβρώσεις στον ΣΕΛ

Οι περισσότεροι ασθενείς με ΣΕΛ παρουσιάζουν προσβολή των αρθρώσεων, είτε με τη μορφή απλών αρθραλγιών είτε με τη μορφή αρθρίτιδας, η οποία μπορεί να είναι από ήπια έως σοβαρή και να επηρεάζει τη λειτουργικότητα των ασθενών [3]. Όπως και στη ρευματοειδή αρθρίτιδα (ΡΑ), παρατηρείται φλεγμονή του αρθρικού υμένα (υμενίτιδα) στις προσβληθείσες αρθρώσεις, με διήθηση του υμένα με φλεγμονώδη κύτταρα, αύξηση της μικροαγγείωσης και διάβρωση του χόνδρου. Σε αντίθεση όμως με τη ΡΑ, δεν παρατηρείται ούτε σχηματισμός πάννου (υπερπλαστικού αρθρικού υμένα) ούτε οστικές διαβρώσεις στις θέσεις επαφής υμένα-οστού. Η αρθρίτιδα στο ΣΕΛ μπορεί να προσβάλλει τις μετακαρποφαλαγγικές, τις εγγύς φαλαγγοφαλαγγικές, τις πηχεοκαρπικές αρθρώσεις και τα γόνατα, ενώ στην πιο σοβαρή μορφή της προκαλεί παραμορφώσεις και υπεξαρθρήματα (αρθροπάθεια του Jaccoud). Ωστόσο, ενώ στη ΡΑ οι παραμορφώσεις και τα υπεξαρθρήματα οφείλονται στην παρουσία εκτεταμένων οστικών διαβρώσεων και καταστροφής της δομής της άρθρωσης, στην αρθροπάθεια Jaccoud στο ΣΕΛ αποδίδονται στη χαλαρότητα των τενόντων και των συνδέσμων λόγω της αρθρικής φλεγμονής [498].

Μάλιστα, οι παραμορφώσεις και τα υπεξαρθρήματα στην αρθροπάθεια Jaccoud διορθώνονται με την κίνηση των αρθρώσεων (Εικόνα 6-1), αν και μερικές φορές περιορίζουν την κινητικότητα. Αρχικά η αρθροπάθεια Jaccoud είχε περιγραφεί σε ασθενείς με ρευματικό πυρετό, αλλά σήμερα παρατηρείται κυρίως σε ασθενείς με ΣΕΛ, με επιπολασμό της τάξης του 5% [499].

Όσον αφορά το λόγο που η υμενίτιδα στο ΣΕΛ δεν προκαλεί οστικές διαβρώσεις, η ανάλυση των γονιδίων που εκφράζονται στο φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα στο ΣΕΛ προσφέρει μερικές απαντήσεις. Πιο συγκεκριμένα, παρατηρείται υπερέκφραση των γονιδίων που επάγονται από τις ιντερφερόνες τύπου I (IFN-α, IFN-β), υποδηλώνοντας έντονη δραστηριότητα των IFN-α και IFN-β στο φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα στο ΣΕΛ [501]. Τα τελευταία χρόνια άλλωστε έχει αναδειχθεί ο ρόλος των IFN-α και IFN-β στην παθογένεια του ΣΕΛ [502]. Λαμβάνοντας υπόψη ότι οι IFN-α και IFN-β αναστέλλουν την οστεοκλαστογένεση [503], η υψηλή δραστηριότητά τους στο φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα στο ΣΕΛ θα μπορούσε να προσφέρει μία εξήγηση για την απουσία εμφανών οστικών διαβρώσεων. Η υπόθεση αυτή ενισχύεται από μελέτη των Mensah και συν., οι οποίοι αρχικά έδειξαν ότι η πρόκληση συστηματικής υπερέκφρασης IFN-α σε φυσιολογικούς ποντικούς οδηγεί σε μείωση της οστεοκλαστογένεσης, μείωση της οστικής απορρόφησης και οστεοπετρωτικό φαινότυπο. Στη συνέχεια προκάλεσαν φλεγμονώδη διαβρωτική αρθρίτιδα σε ποντικούς με την έγχυση ορού K/BxN (ζωικό μοντέλο ΡΑ) και διαπίστωσαν ότι η πρόκληση υπερέκφρασης IFN-α σε αυτούς τους ποντικούς τους προστατεύει από τις οστικές διαβρώσεις, εφόσον μειώνει τον πληθυσμό των οστεοκλαστών στα σημεία επαφής αρθρικού υμένα και οστού. Συμπεράναν λοιπόν ότι πιθανότατα η IFN-α εμποδίζει τη δημιουργία οστικών διαβρώσεων από το φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα στο ΣΕΛ [504].

Από την άλλη, χαρακτηριστικό στοιχείο της αρθροπάθειας Jaccoud στο ΣΕΛ είναι η παρουσία οστικών διαβρώσεων στην κεφαλή των μετακαρπίων (κερκιδική πλευρά) ή των μεταταρσίων, με σχήμα αγκίστρου (γάντζου) ή δρεπανιού. Αυτές οι **οστικές διαβρώσεις δίκην αγκίστρου** απεικονίζονται στην απλή ακτινογραφία και έχουν σκληρυντικό όριο. Η απεικόνιση ευρημάτων δίκην αγκίστρου στην απλή ακτινογραφία δεν είναι παθολογικά για την αρθροπάθεια Jaccoud, καθώς απαντάται και στη ρευματοειδή, την ουρική, την ψευδοουρική αρθρίτιδα και την οστεοαρθρίτιδα. Πρέπει να τονιστεί όμως ότι οι οστικές διαβρώσεις δίκην αγκίστρου της αρθροπάθειας Jaccoud διαφέρουν από τις εστιακές οστικές διαβρώσεις στη ΡΑ. Η δημιουργία τους δεν αποδίδεται στο φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα, αλλά στην επίδραση που έχουν στην οστική ανακατασκευή οι δυνάμεις τάσης στις ενθεσιακές θέσεις πρόσφυσης των τενόντων και των συνδέσμων στο οστό. Θεωρούνται αποτέλεσμα των παραμορφώσεων της αρθροπάθειας Jaccoud, όπως η ωλένια απόκλιση των δακτύλων, λόγω της χαλαρότητας των τενόντων και των συνδέσμων από τη φλεγμονή [500].

Τέλος, σε μικρό ποσοστό ασθενών με ΣΕΛ παρατηρούνται **εστιακές οστικές διαβρώσεις του τύπου της ΡΑ**, οι οποίες εντοπίζονται στις θέσεις επαφής αρθρικού υμένα και οστού [498,505]. Το ποσοστό αυτό κυμαίνεται στο 1-2% των ασθενών με ΣΕΛ. Είναι άγνωστο όμως εάν η διαβρωτική αρθρίτιδα που παρουσιάζουν αυτοί οι ασθενείς αποτελεί υποομάδα της αρθρίτιδας του ΣΕΛ ή αποτελεί συνύπαρξη ΡΑ και ΣΕΛ [505].

## 6.2 Οστεοπόρωση στον ΣΕΛ

Οι ασθενείς με ΣΕΛ παρουσιάζουν συστηματική οστική απώλεια· προοπτική μελέτη διάρκειας σε γυναίκες με ΣΕΛ διαπίστωσε μείωση της οστικής πυκνότητας στο ισχίο και την ΟΜΣΣ μετά από 5 έτη παρακολούθησης [506]. Έτσι, οι ασθενείς με ΣΕΛ παρουσιάζουν οστεοπόρωση συχνότερα σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Μεγάλη αναδρομική μελέτη έδειξε ότι άνδρες και γυναίκες με ΣΕΛ παρουσιάζουν 2,5 φορές μεγαλύτερη επίπτωση οστεοπόρωσης σε σχέση με το γενικό πληθυσμό. Οι γυναίκες με ΣΕΛ παρουσιάζουν συχνότερα οστεοπόρωση σε σχέση με τους άνδρες ασθενείς, αλλά όταν η σύγκριση γίνεται με το γενικό πληθυσμό, οι άνδρες με ΣΕΛ έχουν μεγαλύτερο σχετικό κίνδυνο εμφάνισης οστεοπόρωσης [507]. Πρόσφατη μελέτη παρατήρησης αναφέρει ότι στις μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ΣΕΛ η οστεοπόρωση ( $T\text{-score} < -2,5$ ) εμφανίζεται σε ποσοστό 12,3% και η οστεοπενία ( $-2,5 < T\text{-score} < -1$ ) 43,2%, ενώ στους άνδρες ασθενείς άνω των 50 ετών η οστεοπόρωση 10% και η οστεοπενία 80%. Οι προεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ΣΕΛ παρουσιάζουν οστική πυκνότητα χαμηλότερη της αναμενόμενης για την ηλικία ( $Z\text{-score} < -2$ ) σε ποσοστό 17,3%, ενώ οι άνδρες ασθενείς κάτω των 50 ετών σε ποσοστό 27,3% [508]. Οι συνέπειες της μειω-

μένης οστικής πυκνότητας των ασθενών με ΣΕΛ είναι σημαντικές. Σύμφωνα με μελέτες παρατήρησης, οι ασθενείς με ΣΕΛ παρουσιάζουν 1,2-5 φορές μεγαλύτερη επίπτωση καταγμάτων σε σχέση με το γενικό πληθυσμό, τόσο στη σπονδυλική στήλη όσο και στον περιφερικό σκελετό. Εκτός από τη μειωμένη οστική πυκνότητα, παράγοντες κινδύνου για την εμφάνιση καταγμάτων στο ΣΕΛ είναι η ηλικία, η διάρκεια της νόσου, η λήψη και το χρονικό διάστημα λήψης κορτικοστεροειδών [509-514].

### 6.2.1 Παθογένεια της οστεοπόρωσης στον ΣΕΛ

Η **συστηματική φλεγμονή** και οι **φλεγμονώδεις κυτοκίνες** φαίνεται πως παίζουν ρόλο στη συστηματική οστική απώλεια και στην παθογένεια της οστεοπόρωσης στο ΣΕΛ. Οι ασθενείς με ΣΕΛ παρουσιάζουν υψηλά επίπεδα των κυτοκινών TNF-α και IL-6 στον ορό του αίματος [515,516]. Όπως έχει ήδη αναφερθεί, ο TNF-α διεγείρει τις οστεοκλάστες [116] και αναστέλλει τους οστεοβλάστες [300], ενώ η IL-6 επίσης διεγείρει τις οστεοκλάστες [122]. Άλλωστε, οι Tang και συν. έδειξαν πρόσφατα ότι τα αρχέγονα μεσεγγυματικά κύτταρα του μυελού των οστών ασθενών με ΣΕΛ έχουν μειωμένη ικανότητα για διαφοροποίηση σε οστεοβλάστες. Τα αυξημένα επίπεδα του TNF-α στο ΣΕΛ προκαλούν την ενεργοποίηση του NF-κΒ μονοπατιού στα αρχέγονα μεσεγγυματικά κύτταρα, το οποίο αναστέλλει το μονοπάτι των BMPs, με αποτέλεσμα ελαττωμένη διαφοροποίηση προς οστεοβλάστες [8]. Επιπρόσθετα, στον ορό του αίματος ασθενών με ΣΕΛ έχουν βρεθεί υψηλά επίπεδα οξειδωμένης LDL (low-density lipoprotein, λιποπρωτεΐνη χαμηλής πυκνότητας), τα οποία οφείλονται στη συστηματική φλεγμονή [517]. Η οξειδωμένη LDL έχει δειχθεί ότι διεγείρει την παραγωγή του RANKL από τα T-λεμφοκύτταρα, ο οποίος RANKL αποτελεί ισχυρό διεγέρτη της οστεοκλαστογένεσης [518]. Επιπλέον, η οξειδωμένη LDL φαίνεται πως αναστέλλει τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών, καθώς προκαλεί την ενεργοποίηση του μεταγραφικού παράγοντα PPAR-γ. Ο PPAR-γ ευνοεί τη διαφοροποίηση των αρχέγονων μεσεγγυματικών κυττάρων προς λιποκύτταρα ενώ αναστέλλει ταυτόχρονα τη διαφοροποίηση τους προς οστεοβλάστες [519].

Ένας άλλος παράγοντας που συμμετέχει στην παθογένεση της οστεοπόρωσης στο ΣΕΛ είναι η **μείωση της νεφρικής λειτουργίας**. Ο ΣΕΛ προσβάλλει συχνά τους νεφρούς (νεφρίτιδα του λύκου) και μπορεί να οδηγήσει σε χρόνια νεφρική νόσο και νεφρική ανεπάρκεια [520]. Στη χρόνια νεφρική νόσο, παρατηρείται οστεοπόρωση και νεφρική οστεοδυστροφία, με βασικούς πρωταγωνιστές το δευτεροπαθή υπερπαραθυρεοειδισμό και τα μειωμένα επίπεδα 1,25-διυδροξυβιταμίνης D [ $1,25(\text{OH})_2\text{D}$ ], με αποτέλεσμα τον αυξημένο κίνδυνο καταγμάτων [521]. Έτσι, σε μελέτη σε γυναίκες με ΣΕΛ, διαπιστώθηκε συσχέτιση μεταξύ των υψηλών επιπέδων κρεατινίνης ορού (επηρεασμένη νεφρική λειτουργία) και χαμηλής οστικής πυκνότητας στην ΟΜΣΣ, στο ισχίο και στο αντιβράχιο [522].

Η έλλειψη βιταμίνης D έχει υψηλό επιπολασμό στους ασθενείς με ΣΕΛ και έχει συσχετισθεί με τη χαμηλή οστική πυκνότητα στον πληθυσμό αυτό. Έτσι, οι ασθενείς με ΣΕΛ έχουν σημαντικά χαμηλότερα επίπεδα 25-υδροξυβιταμίνης D [25(OH)D] σε σχέση με τον υγιή πληθυσμό, καθώς και σημαντικά υψηλότερο επιπολασμό ανεπάρκειας και έλλειψης βιταμίνης D [523]. Μάλιστα, τα χαμηλά επίπεδα 25(OH)D στους ασθενείς με ΣΕΛ έχουν συσχετισθεί με χαμηλές τιμές οστικής πυκνότητας στην ΟΜΣΣ [14]. Τα αίτια των χαμηλών επιπέδων της βιταμίνης D στο ΣΕΛ είναι αρκετά. Καταρχάς, οι ασθενείς με ΣΕΛ λαμβάνουν οδηγίες να αποφεύγουν την έκθεση στον ήλιο και να χρησιμοποιούν αντηλιακές κρέμες [182], με αποτέλεσμα μειωμένη δερματική παραγωγή βιταμίνης D. Πράγματι, η χρήση αντηλιακών έχει συσχετιστεί με χαμηλά επίπεδα 25(OH)D [524]. Μάλιστα, ασθενείς με σκουρόχρωμη επιδερμίδα βρίσκονται σε μεγαλύτερο κίνδυνο για έλλειψη βιταμίνης D. Έχει δειχθεί ότι οι Αφροαμερικανοί με ΣΕΛ έχουν χαμηλότερα επίπεδα βιταμίνης D σε σχέση με τους Καυκάσιους, ενώ οι Αφροαμερικανοί γενικά διατρέχουν μεγαλύτερο κίνδυνο ανάπτυξης ΣΕΛ [525]. Επιπλέον, η χρόνια νεφρική νόσος που παρατηρείται σε πολλούς ασθενείς με ΣΕΛ οδηγεί σε μειωμένα επίπεδα 1,25(OH)<sub>2</sub>D, λόγω μειωμένης λειτουργίας της 1α-υδροξυλάσης στους νεφρούς. Τα υψηλά επίπεδα κρεατινίνης στον ορό του αίματος (μειωμένη νεφρική λειτουργία) έχουν συσχετιστεί με μειωμένα επίπεδα 1,25(OH)<sub>2</sub>D σε ασθενείς με ΣΕΛ [526]. Τέλος, η υδροξυχλωροκίνη που χρησιμοποιείται στην αγωγή ασθενών με ΣΕΛ έχει ανασταλτική δράση στο ένζυμο της 1α-υδροξυλάσης, με αποτέλεσμα μείωση των επιπέδων της 1,25(OH)<sub>2</sub>D [527].

Τα **κορτικοστεροειδή** χρησιμοποιούνται συχνά στη θεραπεία του ΣΕΛ, εφόσον έχουν ικανή ανοσοκατασταλτική και αντιφλεγμονώδη δράση και παρουσιάζουν κλινικό όφελος σε όλο το εύρος των εκδηλώσεων της νόσου [185]. Ωστόσο, είναι γνωστό ότι τα κορτικοστεροειδή προκαλούν οστεοπόρωση, προκαλούν συστηματική οστική απώλεια σε σπογγώδες και φλοιώδες οστό και αυξάνουν την επίπτωση των καταγμάτων. Η παθογένεια της οστεοπόρωσης από κορτικοστεροειδή περιλαμβάνει τη διέγερση των οστεοκλαστών, την αναστολή των οστεοβλαστών, τη μείωση των ορμονών του φύλου, τη μείωση της εντερικής απορρόφησης του ασβεστίου, την αύξηση της νεφρικής του απέκκρισης, καθώς και την πρόκληση μυοπάθειας [528]. Από την άλλη, στους ασθενείς με ΣΕΛ τα κορτικοστεροειδή μειώνουν τη συστηματική φλεγμονή, η οποία προκαλεί οστική απώλεια, όπως αναφέρθηκε παραπάνω. Μελέτες εγκάρσιας τομής σε ασθενείς με ΣΕΛ παρουσιάζουν αντικρουόμενα αποτελέσματα: παρόλο που οι περισσότερες από αυτές υποδεικνύουν συσχέτιση μεταξύ της λήψης κορτικοστεροειδών και χαμηλής οστικής πυκνότητας στο ισχίο και την ΟΜΣΣ [529-532], ορισμένες δεν ανέδειξαν τέτοια συσχέτιση [14,522]. Μελέτες διαρκείας, όμως, σε ασθενείς με ΣΕΛ έδειξαν συσχέτιση

μεταξύ λήψης κορτικοστεροειδών και μείωσης της οστικής πυκνότητας σε ΟΜΣΣ και ισχίο, ιδίως για δόσεις μεγαλύτερες από 7,5mg πρεδνιζολόνης ημερησίως [506,533-536]. Επιπρόσθετα, μελέτες έχουν δείξει ότι η λήψη κορτικοστεροειδών από τους ασθενείς με ΣΕΛ αυξάνει τον κίνδυνο για οστεοπορωτικό κάταγμα [512,537-539]. Μάλιστα, ο κίνδυνος αυτός αυξάνεται όσο αυξάνεται η ημερήσια και η αθροιστική δόση των κορτικοστεροειδών [540].

Η **υδροξυχλωροκίνη** είναι ένα άλλο φάρμακο που χρησιμοποιείται στη θεραπεία του ΣΕΛ, το οποίο έχει ανοσοτροποποιητικές ιδιότητες [185] και ίσως δρα προστατευτικά στο οστό λόγω ρύθμισης της ανοσιακής απόκρισης. Από την άλλη όμως, αναστέλλει την 1α-υδροξυλάση και μειώνει τα επίπεδα της 1,25(OH)<sub>2</sub>D [527]. Τα αποτελέσματα των μελετών για την επίδραση της υδροξυχλωροκίνης στην οστική πυκνότητα των ασθενών με ΣΕΛ είναι αντικρουόμενα. Από τη μία, μελέτες εγκάρσιας τομής σε γυναίκες με ΣΕΛ έδειξαν ότι η λήψη υδροξυχλωροκίνης συσχετίζεται με υψηλότερες τιμές οστικής πυκνότητας στην ΟΜΣΣ και στο ισχίο, υπονοώντας προστατευτική δράση στο οστό [530,541]. Από την άλλη, οι Mok και συν. διαπίστωσαν αρνητική συσχέτιση της λήψης υδροξυχλωροκίνης με την οστική πυκνότητα ισχίου και ΟΜΣΣ σε άνδρες με ΣΕΛ. Απέδωσαν το εύρημα αυτό στο μικρό δείγμα ασθενών της μελέτης τους, στην πιθανή παρουσία συγχυτικών παραγόντων και στο ότι ίσως οι ασθενείς που λάμβαναν υδροξυχλωροκίνη είχαν σοβαρότερη νόσο [542]. Χρειάζονται επιπρόσθετες μελέτες σε μεγαλύτερες ομάδες ασθενών για να διαλευκανθεί η επίδραση της υδροξυχλωροκίνης στο οστό.

Συνοψίζοντας, η παθογένεια της οστεοπόρωσης στο ΣΕΛ είναι πολυπαραγοντική· συμμετέχουν η συστηματική φλεγμονή και οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες, η μείωση της νεφρικής λειτουργίας, τα μειωμένα επίπεδα της βιταμίνης D και η χορήγηση φαρμάκων όπως τα κορτικοστεροειδή. Οι παράγοντες αυτοί διεγείρουν τις οστεοκλάστες και αναστέλλουν τους οστεοβλάστες, με αποτέλεσμα την πρόκληση συστηματικής οστικής απώλειας.

## 6.2.2 Θεραπευτικές επιλογές για την αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης στον ΣΕΛ

Η αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης στο ΣΕΛ περιλαμβάνει αρχικά οδηγίες για τροποποίηση του τρόπου ζωής, όπως και στις υπόλοιπες μορφές οστεοπόρωσης. Οι ασθενείς συμβουλεύονται να αποφεύγουν το κάπνισμα, να περιορίσουν την πρόσληψη αλκοόλ και να ασκούνται. Επιπλέον, σε ασθενείς που λαμβάνουν κορτικοστεροειδή είναι αναγκαία η χορήγηση ανοσοκατασταλτικής αγωγής, προκειμένου να επιτευχθεί μείωση της δόσης των κορτικοστεροειδών ή διακοπή τους. Τρίτον, οι ασθενείς χρειάζεται να λαμβάνουν επαρκείς ποσότητες ασβεστίου και βιταμίνης D. Προτείνεται η συνολική πρόσληψη ασβεστίου και βιταμίνης D (είτε διατροφική είτε φαρμακευτική) να είναι 1000-1200 mg ασβεστίου και

800 μονάδες βιταμίνης D ημερησίως, ενώ για τους ασθενείς που λαμβάνουν κορτικοστεροειδή προτείνονται τα 1200-1500 mg ασβεστίου και οι 800-1000 μονάδες βιταμίνης D ημερησίως. Για τους ασθενείς με ανεπάρκεια ή έλλειψη βιταμίνης D, η ημερήσια πρόσληψη της πρέπει να είναι αντίστοιχα μεγαλύτερη [543]. Η λήψη αποκλειστικά ασβεστίου και η λήψη ασβεστίου και βιταμίνης D έχει δείχθει ότι διατηρούν την οστική πυκνότητα σε ασθενείς με ΣΕΛ που λαμβάνουν κορτικοστεροειδή, αλλά είναι σίγουρα κατώτερες από τη λήψη αντιοστεοπορωτικών φαρμάκων όπως τα διφωσφονικά [544].

Η φαρμακευτική αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης στο ΣΕΛ περιλαμβάνει φάρμακα όπως τα διφωσφονικά, η τεριπαρατίδη και η δενοσουμάμπη, τα οποία χρησιμοποιούνται και στις υπόλοιπες μορφές οστεοπόρωσης [543]. Τα διφωσφονικά αναστέλλουν τη λειτουργία και αυξάνουν την απόπτωση των οστεοκλαστών. Έχουν δείξει την αποτελεσματικότητά τους σε μελέτες με ασθενείς που λάμβαναν κορτικοστεροειδή, στους οποίους συμπεριλαμβανόταν και ομάδα ασθενών με ΣΕΛ. Στις μελέτες αυτές τα διφωσφονικά οδήγησαν σε αύξηση της οστικής πυκνότητας στην ΟΜΣΣ και στο ισχίο και σε μείωση των σπονδυλικών καταγμάτων [501,545-548]. Επιπρόσθετα, έχουν δημοσιευθεί δύο μελέτες αποκλειστικά με ασθενείς με ΣΕΛ. Στη μία από αυτές, η αλενδρονάτη αύξησε την οστική πυκνότητα στο ισχίο και στην ΟΜΣΣ σε ασθενείς με ΣΕΛ που λάμβαναν κορτικοστεροειδή [544]. Στη δεύτερη, η ιβανδρονάτη βελτίωσε όχι μόνο την οστική πυκνότητα, αλλά και τη μικροαρχιτεκτονική του οστού σε ασθενείς με ΣΕΛ υπό κορτικοστεροειδή [549].

Η τεριπαρατίδη είναι το δραστικό αμινοτελικό τμήμα της παραθορμόνης και δρα διεγείροντας τη διαφοροποίηση των οστεοβλαστών και μειώνοντας την απόπτωσή τους. Μελέτες σε ασθενείς που λάμβαναν κορτικοστεροειδή, οι οποίες συμπεριλάμβαναν και ομάδα ασθενών με ΣΕΛ, έχουν δείξει την ανωτερότητα της τεριπαρατίδης σε σχέση με τα διφωσφονικά αλενδρονάτη και ρισενδρονάτη όσον αφορά την αύξηση της οστικής πυκνότητας στο ισχίο και την ΟΜΣΣ, τη βελτίωση της μικροαρχιτεκτονικής του οστού και τη μείωση των σπονδυλικών καταγμάτων [550-552].

Η δενοσουμάμπη είναι μονοκλωνικό αντίσωμα έναντι του RANKL και έτσι μειώνει τη λειτουργικότητα και την επιβίωση των οστεοκλαστών. Σε αντίθεση με τα διφωσφονικά και την τεριπαρατίδη, δεν έχει επίσημη ένδειξη στην οστεοπόρωση από κορτικοστεροειδή [543]. Ωστόσο, πρόσφατη μελέτη έδειξε την ανωτερότητα της δενοσουμάμπης σε σχέση με τα διφωσφονικά από του στόματος σε ασθενείς με ΣΕΛ και ΡΑ, που λάμβαναν κορτικοστεροειδή σε χρόνια βάση και στους οποίους η δενοσουμάμπη αύξησε την οστική πυκνότητα στην ΟΜΣΣ σημαντικά περισσότερο από τα διφωσφονικά [553].

Η ραλοξιφαίνη είναι εκλεκτικός τροποποιητής των οιστρογονικών υποδοχέων (selective estrogen

receptor modulator, SERM) και χρησιμοποιείται στην αντιμετώπιση της μετεμμηνοπαυσιακής οστεοπόρωσης. Μελέτη σε μετεμμηνοπαυσιακές γυναίκες με ΣΕΛ που λάμβαναν κορτικοστεροειδή έδειξε ότι η ραλοξιφαίνη αυξάνει σημαντικά την οστική πυκνότητα στην ΟΜΣΣ, χωρίς να αυξάνει την ενεργότητα και τις εξάρσεις του ΣΕΛ. Από τη μελέτη είχαν αποκλειστεί οι ασθενείς με ιστορικό θρομβώσεων και με αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, λόγω της αύξησης της συχνότητας των φλεβοθρομβώσεων από τη ραλοξιφαίνη. Στη μελέτη δεν παρατηρήθηκαν βέβαια περιστατικά φλεβοθρόμβωσης [554,555].

Συνοψίζοντας, η αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης στο ΣΕΛ περιλαμβάνει τροποποίηση του τρόπου ζωής, ανοσοκατασταλτική αγωγή για τη μείωση των κορτικοστεροειδών, επαρκή πρόσληψη ασβεστίου και βιταμίνης D και φαρμακευτική αγωγή. Τα φάρμακα που χρησιμοποιούνται είναι τα διφωσφονικά, η τεριπαρατίδη, η δενοσουμάμπη, ενώ για τη ραλοξιφαίνη υπάρχουν ελάχιστα δεδομένα.

### 6.3 Οστεονέκρωση στον ΣΕΛ

Η οστεονέκρωση είναι μία νόσος που χαρακτηρίζεται από το θάνατο των κυττάρων του οστού ως αποτέλεσμα της διαταραχής της αιμάτωσης του και μπορεί να οδηγήσει σε καθίζηση του οστού και αρθρική βλάβη. Η οστεονέκρωση μπορεί να είναι τραυματικής αιτιολογίας, να είναι ιδιοπαθής ή να οφείλεται στη λήψη κορτικοστεροειδών, στην υπερβολική κατανάλωση αλκοόλ, στην εγκυμοσύνη ή σε μία σειρά παθήσεων όπως ο ΣΕΛ, το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, οι αγγειίτιδες, η δρεπανοκυτταρική αναιμία, η θρομβοφιλία, η παγκρεατίτιδα [556].

Στους ασθενείς με ΣΕΛ ο επιπολασμός της οστεονέκρωσης είναι αυξημένος και σύμφωνα με διαφορετικές μελέτες είναι 4-12% [557-560]. Η πιο συχνή εντόπιση της οστεονέκρωσης στο ΣΕΛ είναι η κεφαλή του μηριαίου, ακολουθούμενη από το γόνατο, ενώ συχνή είναι η αμφοτερόπλευρη προσβολή αυτών των θέσεων [560]. Άλλες θέσεις που εμφανίζεται η οστεονέκρωση στο ΣΕΛ είναι οι ώμοι [561], οι ποδοκνημικές [562], οι πηχεοκαρπικές [563] και πιο σπάνια τα οστά του άκρου ποδός [564,565] και οι σπόνδυλοι [566]. Επιπλέον, η οστεονέκρωση στο ΣΕΛ μπορεί να είναι πολυεστιακή και να προσβάλλει πολλαπλές θέσεις [567].

#### 6.3.1 Παθογένεια της οστεονέκρωσης στο ΣΕΛ

Κεντρικό ρόλο στην παθογένεια της οστεονέκρωσης παίζει η διαταραχή της αιμάτωσης του οστού, με αποτέλεσμα το θάνατο των οστεοκυττάρων, τη διακοπή της οστικής ανακατασκευής, την καθίζηση του οστού, την απώλεια της γεωμετρίας του και τέλος, στην περίπτωση των επιφύσεων, την ανάπτυξη δευτεροπαθούς οστεοαρθρίτιδας και την πρόκληση μη αναστρέψιμης βλάβης της άρθρωσης [556]. Στη συνέχεια, θα αναλυθούν οι παθογενετικοί μηχανισμοί που συμμετέχουν στη μείωση της αιμάτωσης του οστού και στην εμφάνιση οστεονέκρωσης στο ΣΕΛ.

Βασικός παράγοντας στην παθογένεια της οστεονέκρωσης στο ΣΕΛ είναι η **λήψη κορτικοστεροειδών**. Τα κορτικοστεροειδή αυξάνουν σημαντικά τον κίνδυνο εμφάνισης οστεονέκρωσης στους ασθενείς με ΣΕΛ. Μάλιστα, όσο μεγαλύτερη είναι η δόση των κορτικοστεροειδών - είτε η ημερήσια είτε η αθροιστική - τόσο μεγαλύτερος είναι ο κίνδυνος να εμφανίσουν οι ασθενείς οστεονέκρωση [560,568,569]. Δύο μηχανισμοί έχουν προταθεί για την παθογένεια της οστεονέκρωσης από κορτικοστεροειδή. Πρώτον, τα κορτικοστεροειδή οδηγούν σε αύξηση του αριθμού και του μεγέθους των λιποκυττάρων στο μυελό των οστών, με αποτέλεσμα αύξηση της πίεσης στο μυελό των οστών, συμπίεση των αγγείων, μείωση της άρδευσης του οστού, ισχαιμία και νέκρωση [570]. Δεύτερον, τα κορτικοστεροειδή προκαλούν στο φλεβικό σύστημα του οστού βλάβη του ενδοθηλίου και μεταπλασία των λείων μυϊκών κυττάρων σε αφρώδη κύτταρα, με αποτέλεσμα φλεβική στάση, αύξηση της ενδοοστικής πίεσης, μείωση της άρδευσης και ισχαιμία [571].

Εκτός από τη λήψη κορτικοστεροειδών, η ίδια η νόσος του ΣΕΛ προκαλεί οστεονέκρωση. Αυτό φαίνεται από τη μεγαλύτερη επίπτωση οστεονέκρωσης σε ασθενείς με ΣΕΛ σε σχέση με ασθενείς με άλλα νοσήματα οι οποίοι λαμβάνουν ίδιες δόσεις κορτικοστεροειδών [569]. Το δευτεροπαθές **αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο** που παρατηρείται σε πολλούς ασθενείς με ΣΕΛ αποτελεί έναν από τους παράγοντες που αυξάνουν τον κίνδυνο οστεονέκρωσης. Τα αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα (αντικαρδιολιπινικά αντισώματα, αντιπηκτικό του λύκου) οδηγούν σε υπερπηκτικότητα του αίματος, με αποτέλεσμα θρόμβωση του φλεβικού δικτύου των οστών, αύξηση της ενδοοστικής πίεσης, μείωση της άρδευσης και ισχαιμία [572]. Έτσι, μελέτες έχουν δείξει σημαντικά αυξημένο επιπολασμό αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων σε ασθενείς με ΣΕΛ και οστεονέκρωση σε σχέση με ασθενείς με ΣΕΛ χωρίς οστεονέκρωση [557,573], καθώς και συσχέτιση των αντιφωσφολιπιδικών αντισωμάτων με την εμφάνιση οστεονέκρωσης στο ΣΕΛ [558,574]. Ωστόσο, άλλες μελέτες δεν επιβεβαίωσαν τα ευρήματα αυτά [559,575]. Από την άλλη, μελέτη έδειξε ότι το 80% των ασθενών με ΣΕΛ και οστεονέκρωση έχει τουλάχιστον μία εργαστηριακή διαταραχή που οδηγεί σε υπερπηκτικότητα (αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα, έλλειψη αντιθρομβίνης, έλλειψη πρωτεΐνης C, έλλειψη πρωτεΐνης S, διαταραχές της ινωδόλυσης) [576]. Επίσης, υπάρχουν αναφορές περιστατικών με ΣΕΛ και αντιφωσφολιπιδικά αντισώματα που εμφάνισαν οστεονέκρωση χωρίς να λαμβάνουν κορτικοστεροειδή [572,577], καθώς και αναφορές περιστατικών με πρωτοπαθές αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο που παρουσίασαν οστεονέκρωση [578,579].

Στην παθογένεια της οστεονέκρωσης στο ΣΕΛ έχει επίσης προταθεί ότι συμμετέχει η **αγγειίτιδα** και το **φαινόμενο Raynaud** που παρουσιάζουν πολλοί ασθενείς, μέσω της διαταραχής της μικροκυκλοφο-

ρίας. Έτσι, μελέτες έχουν δείξει μεγαλύτερη συχνότητα εμφάνισης αγγειίτιδας σε ασθενείς με ΣΕΛ και οστεονέκρωση σε σχέση με ασθενείς με ΣΕΛ χωρίς οστεονέκρωση, καθώς και συσχέτιση της εμφάνισης αγγειίτιδας με την εμφάνιση οστεονέκρωσης σε ασθενείς με ΣΕΛ [560,564,574,580-583]. Από την άλλη, για το φαινόμενο Raynaud τα δεδομένα είναι αντικρουόμενα. Υπάρχουν μελέτες που υποστηρίζουν ότι η παρουσία του φαινομένου Raynaud αυξάνει τον κίνδυνο για την εμφάνιση οστεονέκρωσης σε ασθενείς με ΣΕΛ [560,570,584,585], αλλά και μελέτες που δεν έχουν διαπιστώσει τέτοια συσχέτιση [581,586,587].

Εκτός από την αγγειίτιδα και το φαινόμενο Raynaud, άλλες εκδηλώσεις του ΣΕΛ που έχουν συσχετισθεί με την εμφάνιση οστεονέκρωσης είναι η πλευρίτιδα, η αρθρίτιδα, οι στοματικές άφθες, η λεμφαδενοπάθεια, η νεφρική νόσος, η προσβολή του γαστρεντερικού, η αυτοάνοση θυρεοειδίτιδα, η περιφερική νευροπάθεια και το σύνδρομο Sjögren's [560,582,588]. Σε αντίθεση με την αγγειίτιδα και το φαινόμενο Raynaud που συνοδεύονται από διαταραχή της αιματικής κυκλοφορίας, δε διαφαίνεται κάποιος παθογενετικός μηχανισμός που να συνδέει τις παραπάνω εκδηλώσεις με την οστεονέκρωση. Πιθανώς οι εκδηλώσεις αυτές είναι αποτέλεσμα αυξημένης ενεργότητας του ΣΕΛ, η οποία αυξάνει και τον κίνδυνο οστεονέκρωσης.

Τέλος, εκτός από τα κορτικοστεροειδή, **κυτταροτοξικά φάρμακα** που χρησιμοποιούνται για τη θεραπεία του ΣΕΛ (κυκλοφωσφαμίδη, αζαθειοπρίνη) έχουν ενοχοποιηθεί για την αύξηση του κινδύνου εμφάνισης οστεονέκρωσης [560,582,587,588], πιθανώς λόγω πρόκλησης βλάβης στο ενδοθήλιο των αγγείων. Από την άλλη, η υδροξυχλωροκίνη μειώνει τον κίνδυνο οστεονέκρωσης στο ΣΕΛ, πιθανώς λόγω των αντιφλεγμονωδών, αντιθρομβωτικών και αντιαιμοπεταλιακών ιδιοτήτων της [587].

Συνοψίζοντας, στην παθογένεια της οστεονέκρωσης στο ΣΕΛ εμπλέκονται τόσο παθοφυσιολογικοί μηχανισμοί της ίδιας της νόσου του ΣΕΛ όσο και ουσίες που χορηγούνται στους ασθενείς για την αντιμετώπιση της νόσου. Έτσι, η λήψη κορτικοστεροειδών, το αντιφωσφολιπιδικό σύνδρομο, η αγγειίτιδα, το φαινόμενο Raynaud και η λήψη κυτταροτοξικών φαρμάκων μπορεί να οδηγήσουν σε μείωση της αιμάτωσης του οστού στο ΣΕΛ και εμφάνιση οστεονέκρωσης.

### 6.3.2 Διάγνωση και αντιμετώπιση της οστεονέκρωσης στον ΣΕΛ

Η **διάγνωση** της οστεονέκρωσης στο ΣΕΛ είναι η ίδια όπως και για τις υπόλοιπες μορφές οστεονέκρωσης. Συνοπτικά, η υποψία οστεονέκρωσης τίθεται κλινικά (άλγος φόρτισης ή ηρεμίας, μειωμένο εύρος κίνησης, παρουσία παραγόντων κινδύνου όπως τα κορτικοστεροειδή) και επιβεβαιώνεται με απεικονιστικές εξετάσεις (απλή ακτινογραφία, μαγνητική τομογραφία, σπινθηρογράφημα οστών). Η

**Πίν. 6-1.** Ταξινόμηση κατά Ficat της οστεονέκρωσης της κεφαλής του μηριαίου. (Τροποποιημένος από Ficat, 1985) [592].

<b>Στάδιο I</b>	Απλή ακτινογραφία: Αρνητική
<b>Στάδιο II</b>	Απλή ακτινογραφία: Σκλήρυνση, μείωση επιμετάλλωσης διάχυτη ή εστιακή (κύστεις) στο υποχόνδριο οστό
<b>Στάδιο III</b>	Απλή ακτινογραφία: Σημείο του μισοφέγγαρου (λόγω καθίζησης του υποχόνδριου οστού), επιπέδωση της κεφαλής του μηριαίου, διάσπαση του περιγράμματός της
<b>Στάδιο IV</b>	Απλή ακτινογραφία: Επιπεδωμένο περίγραμμα ή πλήρης καθίζηση της κεφαλής του μηριαίου, μείωση μεσάρθριου διαστήματος, οστεόφυτα (δευτεροπαθής οστεοαρθρίτιδα)

πρώτη εξέταση που διενεργείται είναι η απλή ακτινογραφία (δύο λήψεις) [589]. Ωστόσο, στα πρώιμα στάδια της οστεονέκρωσης, η απλή ακτινογραφία είναι χωρίς παθολογικά ευρήματα και απαιτείται η διενέργεια μαγνητικής τομογραφίας. Η μαγνητική τομογραφία είναι η εξέταση εκλογής για την ανίχνευση οστεονέκρωσης από τα πρώιμα στάδια, καθώς έχει υψηλή ευαισθησία και ειδικότητα [590]. Από την άλλη, το σπινθηρογράφημα οστών με τεχνητό <sup>99</sup> έχει χαμηλή ευαισθησία και ειδικότητα, ιδίως στα πρώιμα στάδια της οστεονέκρωσης [591]. Οι απεικονιστικές εξετάσεις είναι απαραίτητες και για τη σταδιοποίηση της νόσου. Για την οστεονέκρωση της κεφαλής του μηριαίου υπάρχουν πολλά συστήματα σταδιοποίησης, από τα οποία πιο διαδεδομένα είναι τα συστήματα ταξινόμησης κατά Ficat [592] (πίνακας 6-1) και κατά ARCO (Association Research Circulation Osseous) [593].

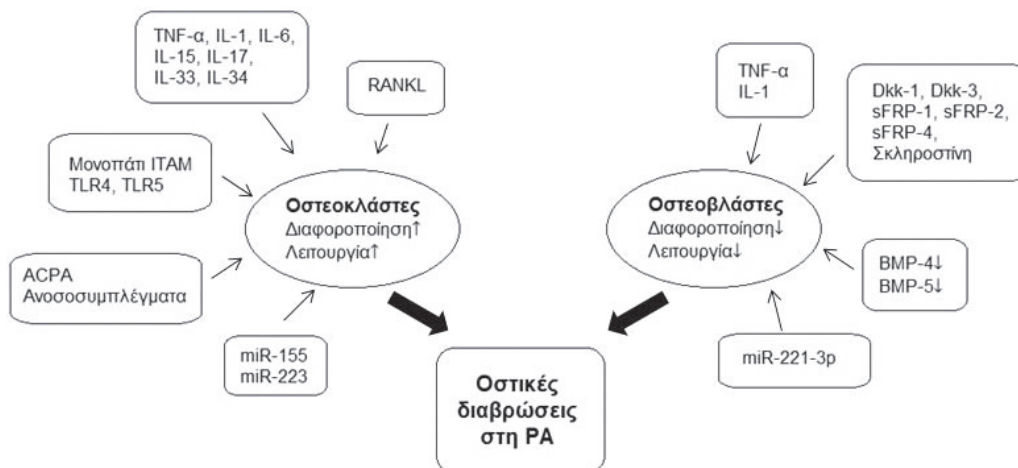
Σε γενικές γραμμές, η **αντιμετώπιση** της οστεονέκρωσης στο ΣΕΛ δε διαφέρει ιδιαίτερα από τις υπόλοιπες μορφές οστεονέκρωσης. Σε ασυμπτωματικούς ασθενείς με μικρής έκτασης βλάβη σε μη φορτιζόμενη περιοχή, η αντιμετώπιση είναι συντηρητική, εφόσον η ύφεση της βλάβης είναι πολύ πιθανή. Η συντηρητική αντιμετώπιση περιλαμβάνει την ανάπαυση και αποφόρτιση του πάσχοντος σκέλους, τη χορήγηση διφωσφονικών και την παρακολούθηση του ασθενούς [589]. Σε περίπτωση που η οστεονέκρωση οφείλεται σε αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο, χορηγείται αντιπηκτική αγωγή στον ασθενή [567,572,578]. Εξάλλου, σε ασθενείς με ΣΕΛ και αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο, οι οποίοι έχουν παρουσιάσει αρτηριακή ή φλεβική θρόμβωση, απαιτείται η χορήγηση αντιπηκτικής αγωγής τόσο για την πρόληψη νέων θρομβώσεων όσο και για την πρόληψη οστεονέκρωσης [572]. Όσον αφορά την πρόληψη της οστεονέκρωσης από κορτικοστεροειδή στους ασθενείς με ΣΕΛ, είναι απαραίτητη η λελογισμένη χρήση των κορτικοστεροειδών και η προσπάθεια ελέγχου της νόσου με ανοσοκατασταλτικά φάρμακα [594].

Σε ασθενείς με οστεονέκρωση με βλάβη η οποία είναι συμπτωματική ή μεγάλης έκτασης, η συντηρητική θεραπεία δεν είναι αρκετή, καθώς η βλάβη είναι απίθανο να υφεθεί μόνη της. Στους ασθενείς αυτούς η αντιμετώπιση εξαρτάται από το αν έχει επέλθει ή όχι καθίζηση του υποχόνδριου οστού. Εάν δεν έχει

επέλθει ακόμα καθίζηση (στάδια Ficat I και II), ενδείκνυνται οι χειρουργικές επεμβάσεις διάσωσης της άρθρωσης: η αποσυμπίεση μέσω τρυπανισμών, το μόσχευμα αγγειούμενου οστού και οι οστεοτομίες. Σκοπός αυτών των επεμβάσεων είναι η πρόληψη της καθίζησης του οστού μέσω της μείωσης της ενδοοστικής πίεσης, της αύξησης της άρδευσης του νεκρωτικού οστού, της δομικής υποστήριξης του και της μείωσης της φόρτισης των νεκρωτικών περιοχών. Επιπρόσθετα, έχουν αναφερθεί καλά αποτελέσματα με την εφαρμογή μη επεμβατικών τεχνικών, όπως η υπερβαρική οξυγονοθεραπεία, η θεραπεία με ηχητικά κύματα υψηλής έντασης και η θεραπεία με ηλεκτρομαγνητικούς παλμούς, αν και οι τεχνικές αυτές δεν εφαρμόζονται ευρέως. Τέλος, στους ασθενείς με καθίζηση του υποχόνδριου οστού (στάδια Ficat III και IV) η εξέλιξη σε δευτεροπαθή οστεοαρθρίτιδα είναι σχεδόν αναπόφευκτη και οι χειρουργικές επεμβάσεις διάσωσης της άρθρωσης έχουν υψηλά ποσοστά αποτυχίας. Σε αυτές τις περιπτώσεις διενεργείται ολική αρθροπλαστική, η οποία τα τελευταία χρόνια έχει για τους ασθενείς με οστεονέκρωση παρόμοια ποσοστά επιτυχίας με το γενικό πληθυσμό. Εξάλλου, πρόσφατες μελέτες δείχνουν ότι τα αποτελέσματα της ολικής αρθροπλαστικής ισχύου μετά από οστεονέκρωση είναι το ίδιο καλά τόσο για τους ασθενείς με ΣΕΛ όσο και για τους ασθενείς χωρίς ΣΕΛ [595].

## 6.4 Σύνοψη - Συμπεράσματα

Ο συστηματικός ερυθηματώδης λύκος (ΣΕΛ) προσβάλλει πολλές φορές τα οστά, προκαλώντας οστεοπόρωση, οστεονέκρωση και πιο σπάνια, οστικές διαβρώσεις. Σε αντίθεση με τη ρευματοειδή αρθρίτιδα (RA), ο ΣΕΛ σπάνια προκαλεί το σχηματισμό οστικών διαβρώσεων. Μπορεί να προκαλέσει παραμορφωτική αρθρίτιδα (αρθροπάθεια Jaccoud), αλλά οι παραμορφώσεις και τα υπεξαρθρήματα προκαλούνται από τη χαλαρότητα των συνδέσμων και των τενόντων λόγω αρθρικής φλεγμονής. Ο φλεγμαίνων αρθρικός υμένας στο ΣΕΛ παράγει τις ιντερφερόνες IFN-α και IFN-β, οι οποίες αναστέλλουν την οστεοκλαστογένεση, και αυτός είναι ο λόγος που ο φλεγμαίνων υμένας δε διαβρώνει το οστό στο ΣΕΛ. Οι οστικές διαβρώσεις δίκην αγκίστρου που παρατηρούνται στην αρθροπάθεια Jaccoud αποδίδονται στην επίδραση που



**Εικ. 7-1.** Παθογένεση των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη ρευματοειδή αρθρίτιδα.

έχουν στην οστική ανακατασκευή οι δυνάμεις τάσης στις ενθεσιακές θέσεις πρόσφυσης των τενόντων και των συνδέσμων στο οστό. Σπάνια μόνο παρατηρούνται εστιακές οστικές διαβρώσεις του τύπου της PA και αυτές θεωρείται ότι οφείλονται σε συνύπαρξη ΣΕΛ και PA στον ίδιο ασθενή.

Οι ασθενείς με ΣΕΛ παρουσιάζουν επίσης συστηματική οστική απώλεια και αυξημένο κίνδυνο για οστεοπόρωση και οστεοπορωτικά κατάγματα. Στην παθογένεια της οστεοπόρωσης στο ΣΕΛ συμμετέχουν η συστηματική φλεγμονή και οι φλεγμονώδεις κυτοκίνες, η μείωση της νεφρικής λειτουργίας, τα μειωμένα επίπεδα της βιταμίνης D και η χορήγηση φαρμάκων όπως τα κορτικοστεροειδή. Οι παράγοντες αυτοί δρουν ανασταλτικά στους οστεοβλάστες και ευοδωτικά στις οστεοκλάστες, με αποτέλεσμα τη συστηματική οστική απώλεια. Η αντιμετώπιση της οστεοπόρωσης στο ΣΕΛ απαιτεί τροποποίηση του τρόπου ζωής, προσπάθεια για μείωση των κορτικοστεροειδών, επαρκή πρόσληψη ασβεστίου και βιταμίνης D και φαρμακευτική αγωγή. Τα φάρμακα που χορηγούνται στην οστεοπόρωση στο ΣΕΛ είναι τα διφωσφονικά, η τεριπαρατίδη και η δενοσουμάμπη.

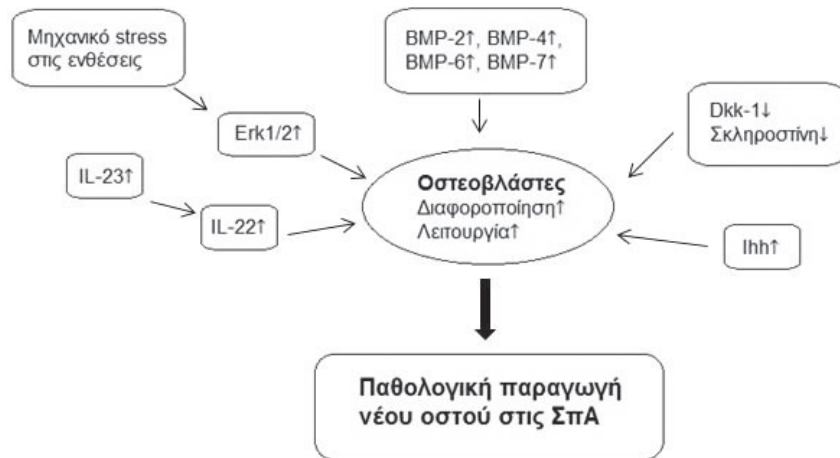
Τέλος, ο ΣΕΛ μπορεί να προκαλέσει οστεονέκρωση, συνηθέστερα στην κεφαλή του μηριαίου, πολλές φορές αμφοτερόπλευρα, αλλά και στα γόνατα, τους ώμους και άλλες θέσεις. Στην παθογένεια της οστεονέκρωσης στο ΣΕΛ συμμετέχουν τόσο παράγοντες της νόσου, όπως το αντιφωσfolιπιδικό σύνδρομο, η αγγειίτιδα και το φαινόμενο Raynaud, όσο και παράγοντες που χορηγούνται για την αντιμετώπιση της νόσου, όπως τα κορτικοστεροειδή και τα κυτταροτοξικά φάρμακα. Οι παράγοντες αυτοί προκαλούν με διαφορετικούς μηχανισμούς τη μείωση της αιμάτωσης του οστού, με αποτέλεσμα το θάνατο των κυττάρων του οστού και την εμφάνιση οστεονέκρωσης. Η διάγνωση και η αντιμετώπιση της οστεονέκρωσης στο ΣΕΛ δε διαφέρει ουσιαστικά από τις υπόλοιπες

μορφές οστεονέκρωσης. Ωστόσο, η παρουσία αντιφωσfolιπιδικού συνδρόμου απαιτεί τη χορήγηση αντιπηκτικής αγωγής, ενώ σε ασθενείς που λαμβάνουν κορτικοστεροειδή είναι απαραίτητο να γίνεται προσπάθεια μείωσης ή διακοπής τους μέσω χορήγησης άλλων ανοσοκατασταλτικών φαρμάκων.

## 7. Συμπεράσματα

Οι φλεγμονώδεις αρθρίτιδες προσβάλλουν τα οστά με διαφορετικούς τρόπους. Η ρευματοειδής αρθρίτιδα (PA) προκαλεί τη δημιουργία εστιακών οστικών διαβρώσεων και περιαρθρικής οστικής απώλειας στις προσβληθείσες αρθρώσεις, με αποτέλεσμα την αρθρική βλάβη. Αντίθετα, οι σπονδυλαρθρίτιδες (ΣΠΑ) χαρακτηρίζονται περισσότερο από την παθολογική παραγωγή νέου οστού και λιγότερο από τη δημιουργία οστικών διαβρώσεων. Η παθολογική παραγωγή νέου οστού στις ΣΠΑ οδηγεί στο σχηματισμό των συνδεσμοφύτων, των ενθεσοφύτων και των οστεοφύτων και σε προχωρημένες περιπτώσεις, στη συνένωση των σπονδύλων και στην αγκύλωση της σπονδυλικής στήλης. Όσον αφορά το συστηματικό ερυθρηματώδη λύκο (ΣΕΛ), μπορεί να οδηγήσει στην εμφάνιση οστεονέκρωσης σε διάφορες θέσεις, ενώ σπάνια προκαλεί οστικές διαβρώσεις στις αρθρώσεις που προσβάλλει. Από την άλλη, κοινό χαρακτηριστικό των τριών φλεγμονωδών αρθρίτιδων (PA, ΣΠΑ και ΣΕΛ) είναι η συστηματική οστική απώλεια, με αποτέλεσμα την εμφάνιση οστεοπόρωσης και την αύξηση του καταγματικού κινδύνου.

Η διαφορετική προσβολή του οστού από καθεμία από τις φλεγμονώδεις αρθρίτιδες οφείλεται στη διαφορετική επίδραση που έχει η καθεμία από αυτές στη λειτουργία των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών. Στη PA, η διαφοροποίηση και η λειτουργία των οστεοκλαστών διεγείρεται από την αυξημένη έκφραση RANKL και κυτοκινών από το φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα, τη διαταραχή σηματοδοτικών μονο-



**Εικ. 7-2.** Παθογένεση της παθολογικής παραγωγής νέου οστού στις σπονδυλαρθρίδες.

πατιών της φυσικής ανοσίας στα πρόδρομα κύτταρα των οστεοκλαστών, τα κυκλοφορούντα αυτοαντισώματα και τη διαταραχή της έκφρασης των microRNAs από τον αρθρικό υμένα, ενώ η διαφοροποίηση και η λειτουργία των οστεοβλαστών αναστέλλεται από την αυξημένη παραγωγή κυτοκινών και ανταγωνιστών του μονοπατιού Wnt από το φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα και τη μειωμένη παραγωγή των BMP. Αποτέλεσμα των διαταραχών αυτών είναι η δημιουργία εστιακών οστικών διαβρώσεων και περιαρθρικής οστικής απώλειας στις αρθρώσεις που προσβάλλει η ΡΑ (Εικόνα 7-1). Από την άλλη, στις ΣΠΑ, η αυξημένη παραγωγή των BMPs από τις φλεγμαίνουσες ενθέσεις, η μειωμένη παραγωγή των ανταγωνιστών του μονοπατιού Wnt, η ενεργοποίηση του μονοπατιού Hedgehog, ο άξονας των κυτοκινών IL-23/IL-17/IL-22 και το μηχανικό stress στις ενθέσεις διεγείρουν τη διαφοροποίηση και τη λειτουργία των οστεοβλαστών, με αποτέλεσμα την παθολογική παραγωγή νέου οστού (Εικόνα 7-2). Όσον αφορά το ΣΕΛ, η αυξημένη έκφραση των IFN-α και IFN-β από το φλεγμαίνοντα αρθρικό υμένα δρα ανασταλτικά στις οστεοκλάστες, με αποτέλεσμα οι οστικές διαβρώσεις στις προσβληθείσες αρθρώσεις να είναι σπάνιες. Από την άλλη, η συστηματική φλεγμονή και η αυξημένη παραγωγή κυτοκινών και του παράγοντα RANKL είναι κοινά χαρακτηριστικά των τριών φλεγμονωδών αρθρίτιδων και σε συνέργεια με παράγοντες μοναδικούς για την κάθε νόσο, οδηγούν στην εμφάνιση συστηματικής οστικής απώλειας και οστεοπόρωσης.

Η αντιμετώπιση των διαφόρων μορφών της προσβολής του οστού στις φλεγμονώδεις αρθρίτιδες έχει ιδιαίτερη σημασία, καθώς η προσβολή του οστού αυξάνει τη βαρύτητα της νόσου των ασθενών, μειώνει τη λειτουργική τους ικανότητα και σχετίζεται με χειρότερη πρόγνωση. Μέχρι πρόσφατα, η έρευνα είχε επικεντρωθεί στη διερεύνηση της παθογένειας των φλεγμονωδών αρθρίτιδων και στην ανάπτυξη

συμβατικών και βιολογικών τροποποιητικών της νόσου αντιρευματικών φαρμάκων, τα οποία καταπολεμούν τη φλεγμονή, μειώνουν τα συμπτώματα των ασθενών και αναστέλλουν την εξέλιξη της νόσου. Τα φάρμακα αυτά δρουν ευεργετικά στην προσβολή του οστού σε αυτά τα νοσήματα, αλλά υπάρχει περιθώριο για ακόμα μεγαλύτερο όφελος. Οι βιολογικοί παράγοντες σταματούν την εξέλιξη ή και οδηγούν σε μερική επιδιόρθωση των εστιακών οστικών διαβρώσεων στη ΡΑ, αλλά δεν επιτυγχάνουν την πλήρη επούλωσή τους. Επίσης, επιβραδύνουν την παθολογική παραγωγή νέου οστού και την ακτινολογική εξέλιξη στις ΣΠΑ, αλλά δεν τη σταματούν εντελώς.

Η στροφή της έρευνας τα τελευταία χρόνια προς τη διαλεύκανση της παθογένεσης των διαφόρων μορφών της προσβολής του οστού στις φλεγμονώδεις αρθρίτιδες έχει προσφέρει νέους θεραπευτικούς στόχους. Έτσι, σε ζωικά μοντέλα ΡΑ έχει δειχθεί η ευεργετική επίδραση που έχουν στις εστιακές οστικές διαβρώσεις η αναστολή των υποδοχέων τύπου Toll TLR4 και TLR5, η σιαλυλίωση των ανοσοσυμπλεγμάτων, ο ανταγωνισμός των microRNAs που επάγουν την οστεοκλαστογένεση, η χορήγηση microRNAs που αναστέλλουν την οστεοκλαστογένεση, καθώς και ο ανταγωνισμός του Dkk-1 και της σκληροσίνης. Επιπρόσθετα, σε ζωικά μοντέλα ΣΠΑ η αναστολή των BMPs, του μονοπατιού Hedgehog και του μονοπατιού των κινασών Erk1/2 δρα ανασταλτικά στην παθολογική παραγωγή νέου οστού. Υπάρχουν επομένως δυνατότητες ανάπτυξης νέων φαρμάκων, τα οποία θα δρουν απευθείας στα σηματοδοτικά μονοπάτια που επηρεάζουν τη διαφοροποίηση και τη λειτουργία των οστεοβλαστών και των οστεοκλαστών στις φλεγμονώδεις αρθρίτιδες και θα μπορούν να αξιοποιηθούν στην αντιμετώπιση της προσβολής του οστού, με σκοπό τη βελτίωση της πρόγνωσης των ασθενών.

## Βιβλιογραφία

- Pisetsky DS, Ward MM. (2012). Advances in the treatment of inflammatory arthritis. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 26(2):251-61.
- Cottrell E, Welsh V, Mallen C. (2012). Inflammatory arthritis: case review and primary care perspectives. *Clinical rheumatology*. 31(4):739-44.
- Hahn BH. (2015). Systematic Lupus Erythematosus. In: Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson L, Loscalzo J, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 19th ed: McGraw-Hill Education; p. 2124-34.
- Shah A, Clair W. (2015). Rheumatoid Arthritis. In: Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson L, Loscalzo J, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 19th ed: McGraw-Hill Education; p. 2136-49.
- Taurog J, Carter J. (2015). The Spondyloarthritis. In: Kasper D, Fauci A, Hauser S, Longo D, Jameson L, Loscalzo J, editors. *Harrison's Principles of Internal Medicine*. 19th ed: McGraw-Hill Education; p. 2169-79.
- Francois RJ, Gardner DL, Degrove EJ, Bywaters EG. (2000). Histopathologic evidence that sacroiliitis in ankylosing spondylitis is not merely enthesitis. *Arthritis and rheumatism*. 43(9):2011-24.
- Gravallese EM, Harada Y, Wang JT, Gorn AH, Thornhill TS, Goldring SR. (1998). Identification of cell types responsible for bone resorption in rheumatoid arthritis and juvenile rheumatoid arthritis. *The American journal of pathology*. 152(4):943-51.
- Tang Y, Xie H, Chen J, Geng L, Chen H, Li X, Hou Y, Lu L, Shi S, Zeng X, Sun L. (2013). Activated NF-kappaB in bone marrow mesenchymal stem cells from systemic lupus erythematosus patients inhibits osteogenic differentiation through downregulating Smad signaling. *Stem cells and development*. 22(4):668-78.
- Walsh NC, Reinwald S, Manning CA, Condon KW, Iwata K, Burr DB, Gravallese EM. (2009). Osteoblast function is compromised at sites of focal bone erosion in inflammatory arthritis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 24(9):1572-85.
- Goldring SR. (2013). Osteoimmunology and bone homeostasis: relevance to spondyloarthritis. *Current rheumatology reports*. 15(7):342.
- Schett G. (2009). Bone formation versus bone resorption in ankylosing spondylitis. *Advances in experimental medicine and biology*. 649:114-21.
- Briot K, Roux C. (2015). Inflammation, bone loss and fracture risk in spondyloarthritis. *RMD open*. 1(1):e000052.
- Alarcon-Segovia D, Abud-Mendoza C, Diaz-Jouanen E, Iglesias A, De los Reyes V, Hernandez-Ortiz J. (1988). Deforming arthropathy of the hands in systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*. 15(1):65-9.
- Bultink IE, Lems WF, Kostense PJ, Dijkman BA, Voskuyl AE. (2005). Prevalence of and risk factors for low bone mineral density and vertebral fractures in patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism*. 52(7):2044-50.
- Oh SN, Jee WH, Cho SM, Kim SH, Kang HS, Ryu KN, Cho CS. (2004). Osteonecrosis in patients with systemic lupus erythematosus: MR imaging and scintigraphic evaluation. *Clinical imaging*. 28(4):305-9.
- Dougados M, Baeten D. (2011). Spondyloarthritis. *Lancet (London, England)*. 377(9783):2127-37.
- Scott DL, Wolfe F, Huizinga TW. (2010). Rheumatoid arthritis. *Lancet (London, England)*. 376(9746):1094-108.
- Dohn UM, Ejlberg B, Boonen A, Hetland ML, Hansen MS, Knudsen LS, Hansen A, Madsen OR, Hasselquist M, Moller JM, Ostergaard M. (2011). No overall progression and occasional repair of erosions despite persistent inflammation in adalimumab-treated rheumatoid arthritis patients: results from a longitudinal comparative MRI, ultrasonography, CT and radiography study. *Annals of the rheumatic diseases*. 70(2):252-8.
- Finzel S, Rech J, Schmidt S, Engelke K, Englbrecht M, Schett G. (2013). Interleukin-6 receptor blockade induces limited repair of bone erosions in rheumatoid arthritis: a micro CT study. *Annals of the rheumatic diseases*. 72(3):396-400.
- Finzel S, Rech J, Schmidt S, Engelke K, Englbrecht M, Stach C, Schett G. (2011). Repair of bone erosions in rheumatoid arthritis treated with tumour necrosis factor inhibitors is based on bone apposition at the base of the erosion. *Annals of the rheumatic diseases*. 70(9):1587-93.
- Kremer JM, Blanco R, Brzosko M, Burgos-Vargas R, Halland AM, Vernon E, Ambs P, Fleischmann R. (2011). Tocilizumab inhibits structural joint damage in rheumatoid arthritis patients with inadequate responses to methotrexate: results from the double-blind treatment phase of a randomized placebo-controlled trial of tocilizumab safety and prevention of structural joint damage at one year. *Arthritis and rheumatism*. 63(3):609-21.
- Baraliakos X, Haibel H, Listing J, Sieper J, Braun J. (2014). Continuous long-term anti-TNF therapy does not lead to an increase in the rate of new bone formation over 8 years in patients with ankylosing spondylitis. *Annals of the rheumatic diseases*. 73(4):710-5.
- Haroon N, Inman RD, Leach TJ, Weisman MH, Lee M, Rahbar MH, Ward MM, Reveille JD, Gensler LS. (2013). The impact of tumor necrosis factor alpha inhibitors on radiographic progression in ankylosing spondylitis. *Arthritis and rheumatism*. 65(10):2645-54.
- Ρίζου Σ. (2013). Ο οστεοβλάστης. In: Λυρίτης Γ, editor. *Μεταβολικά νοσήματα των οστών*. 5 ed. Αθήνα: Hylonome Editions; p. 3-14.
- Oreffo RO, Cooper C, Mason C, Clements M. (2005). Mesenchymal stem cells: lineage, plasticity, and skeletal therapeutic potential. *Stem cell reviews*. 1(2):169-78.
- de Gorter D, ten Dijke P. (2013). Signal Transduction Cascades Controlling Osteoblast Differentiation. In: Rosen C, editor. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 8th ed. American Society for Bone and Mineral Research: John Wiley & Sons; p. 15-24.
- Taipaleenmaki H, Bjerre Hokland L, Chen L, Kauppinen S, Kassem M. (2012). Mechanisms in endocrinology: micro-RNAs: targets for enhancing osteoblast differentiation and bone formation. *European journal of endocrinology / European Federation of Endocrine Societies*. 166(3):359-71.
- Titorencu I, Pruna V, Jinga VV, Simionescu M. (2014). Osteoblast ontogeny and implications for bone pathology: an overview. *Cell and tissue research*. 355(1):23-33.
- Capulli M, Paone R, Rucci N. (2014). Osteoblast and osteocyte: games without frontiers. *Archives of biochemistry and biophysics*. 561:3-12.
- Komori T, Yagi H, Nomura S, Yamaguchi A, Sasaki K, Deguchi K, Shimizu Y, Bronson RT, Gao YH, Inada M, Sato M, Okamoto R, Kitamura Y, Yoshiki S, Kishimoto T. (1997). Targeted disruption of Cbfa1 results in a complete lack of bone formation owing to maturational arrest of osteoblasts. *Cell*. 89(5):755-64.
- Otto F, Thomell AP, Crompton T, Denzel A, Gilmour KC, Rosewell IR, Stamp GW, Beddington RS, Mundlos S, Olsen BR, Selby PB, Owen MJ. (1997). Cbfa1, a candidate gene for cleidocranial dysplasia syndrome, is essential for osteoblast differentiation and bone development. *Cell*. 89(5):765-71.
- Lee B, Thirunavukkarasu K, Zhou L, Pastore L, Baldini A, Hecht J, Geoffroy V, Ducey P, Karsenty G. (1997). Missense mutations abolishing DNA binding of the osteoblast-specific transcription factor OSF2/CBFA1 in cleidocranial dysplasia. *Nature genetics*. 16(3):307-10.
- Mundlos S. (1999). Cleidocranial dysplasia: clinical and molecular genetics. *Journal of medical genetics*. 36(3):177-82.
- Ducey P, Zhang R, Geoffroy V, Ridall AL, Karsenty G. (1997). Osf2/Cbfa1: a transcriptional activator of osteoblast differentiation. *Cell*. 89(5):747-54.
- Harada H, Tagashira S, Fujiwara M, Ogawa S, Katsumata T, Yamaguchi A, Komori T, Nakatsuka M. (1999). Cbfa1 isoforms exert functional differences in osteoblast differentiation. *The Journal of biological chemistry*. 274(11):6972-8.
- Lee KS, Kim HJ, Li QL, Chi XZ, Ueta C, Komori T, Wozney JM, Kim EG, Choi JY, Ryou HM, Bae SC. (2000). Runx2 is a common target of transforming growth factor beta1 and bone morphogenetic protein 2, and cooperation between Runx2 and Smad5 induces osteoblast-specific gene expression in the pluripotent mesenchymal precursor cell line C2C12. *Molecular and cellular biology*. 20(23):8783-92.
- Kem B, Shen J, Starbuck M, Karsenty G. (2001). Cbfa1 contributes to the osteoblast-specific expression of type I collagen genes. *The Journal of biological chemistry*. 276(10):7101-7.
- Zhao Z, Zhao M, Xiao G, Franceschi RT. (2005). Gene transfer of the Runx2 transcription factor enhances osteogenic activity of bone marrow stromal cells in vitro and in vivo. *Molecular therapy : the journal of the American Society of Gene Therapy*. 12(2):247-53.
- Lee JS, Lee JM, Im GI. (2011). Electroporation-mediated transfer of Runx2 and Osterix genes to enhance osteogenesis of adipose stem cells. *Biomaterials*. 32(3):760-8.
- Kobayashi H, Gao Y, Ueta C, Yamaguchi A, Komori T. (2000). Multilineage differentiation of Cbfa1-deficient calvarial cells in vitro. *Biochemical and biophysical research communications*. 273(2):630-6.
- Enomoto H, Furuichi T, Zanma A, Yamana K, Yoshida C, Sumitani S, Yamamoto H, Enomoto-Iwamoto M, Iwamoto M, Komori T. (2004). Runx2 deficiency in chondrocytes causes adipogenic changes in vitro. *Journal of cell science*. 117(Pt 3):417-25.
- Liu W, Toyosawa S, Furuichi T, Kanatani N, Yoshida C, Liu Y, Himeno M, Narai S, Yamaguchi A, Komori T. (2001). Overexpression of Cbfa1 in osteoblasts inhibits osteoblast maturation and causes osteopenia with multiple fractures. *The Journal of cell biology*. 155(1):157-66.
- Kanatani N, Fujita T, Fukuyama R, Liu W, Yoshida CA, Moriishi T, Yamana K, Miyazaki T, Toyosawa S, Komori T. (2006). Cbf beta regulates Runx2 function isoform-dependently in postnatal bone development. *Developmental biology*. 296(1):48-61.
- Maruyama Z, Yoshida CA, Furuichi T, Amizuka N, Ito M, Fukuyama R, Miyazaki T, Kitaura H, Nakamura K, Fujita T, Kanatani N, Moriishi T, Yamana K, Liu W, Kawaguchi H, Nakamura K, Komori T. (2007). Runx2 determines bone maturity and turnover rate in postnatal bone development and is involved in bone loss in estrogen deficiency. *Developmental dynamics : an official publication of the American Association of Anatomists*. 236(7):1876-90.
- Nakashima K, Zhou X, Kunkel G, Zhang Z, Deng JM, Behringer RR, de Crombrughe B. (2002). The novel zinc finger-containing transcription factor osterix is

- required for osteoblast differentiation and bone formation. *Cell*. 108(1):17-29.
46. Tu Q, Valverde P, Li S, Zhang J, Yang P, Chen J. (2007). Osterix overexpression in mesenchymal stem cells stimulates healing of critical-sized defects in murine calvarial bone. *Tissue engineering*. 13(10):2431-40.
  47. Wang B, Huang S, Pan L, Jia S. (2013). Enhancement of bone formation by genetically engineered human umbilical cord-derived mesenchymal stem cells expressing osterix. *Oral surgery, oral medicine, oral pathology and oral radiology*. 116(4):e221-9.
  48. Koga T, Matsui Y, Asagiri M, Kodama T, de Crombrugge B, Nakashima K, Takayanagi H. (2005). NFAT and Osterix cooperatively regulate bone formation. *Nature medicine*. 11(8):880-5.
  49. Tang W, Li Y, Osimiri L, Zhang C. (2011). Osteoblast-specific transcription factor Osterix (Osx) is an upstream regulator of *Satb2* during bone formation. *The Journal of biological chemistry*. 286(38):32995-3002.
  50. Clevers H. (2006). Wnt/beta-catenin signaling in development and disease. *Cell*. 127(3):469-80.
  51. Huelsken J, Behrens J. (2002). The Wnt signalling pathway. *Journal of cell science*. 115(Pt 21):3977-8.
  52. Hu H, Hilton MJ, Tu X, Yu K, Ormitz DM, Long F. (2005). Sequential roles of Hedgehog and Wnt signaling in osteoblast development. *Development (Cambridge, England)*. 132(1):49-60.
  53. Hill TP, Spater D, Taketo MM, Birchmeier W, Hartmann C. (2005). Canonical Wnt/beta-catenin signaling prevents osteoblasts from differentiating into chondrocytes. *Developmental cell*. 8(5):727-38.
  54. Day TF, Guo X, Garrett-Beal L, Yang Y. (2005). Wnt/beta-catenin signaling in mesenchymal progenitors controls osteoblast and chondrocyte differentiation during vertebrate skeletogenesis. *Developmental cell*. 8(5):739-50.
  55. Bennett CN, Longo KA, Wright WS, Suva LJ, Lane TF, Hankenson KD, MacDougald OA. (2005). Regulation of osteoblastogenesis and bone mass by Wnt10b. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 102(9):3324-9.
  56. Holmen SL, Zylstra CR, Mukherjee A, Sigler RE, Faugere MC, Bouxsein ML, Deng L, Clemens TL, Williams BO. (2005). Essential role of beta-catenin in postnatal bone acquisition. *The Journal of biological chemistry*. 280(22):21162-8.
  57. Kramer I, Halleux C, Keller H, Pegurri M, Gooi JH, Weber PB, Feng JQ, Bonewald LF, Kneissel M. (2010). Osteocyte Wnt/beta-catenin signaling is required for normal bone homeostasis. *Molecular and cellular biology*. 30(12):3071-85.
  58. Gaur T, Lengner CJ, Hovhannisyants H, Bhat RA, Bodine PV, Komm BS, Javed A, van Wijnen AJ, Stein JL, Stein GS, Lian JB. (2005). Canonical WNT signaling promotes osteogenesis by directly stimulating *Runx2* gene expression. *The Journal of biological chemistry*. 280(39):33132-40.
  59. Chen D, Zhao M, Mundy GR. (2004). Bone morphogenetic proteins. *Growth factors (Chur, Switzerland)*. 22(4):233-41.
  60. Gazzero E, Canalis E. (2006). Bone morphogenetic proteins and their antagonists. *Reviews in endocrine & metabolic disorders*. 7(1-2):51-65.
  61. Chen G, Deng C, Li YP. (2012). TGF-beta and BMP signaling in osteoblast differentiation and bone formation. *International journal of biological sciences*. 8(2):272-88.
  62. Bandyopadhyay A, Tsujii K, Cox K, Harfe BD, Rosen V, Tabin CJ. (2006). Genetic analysis of the roles of BMP2, BMP4, and BMP7 in limb patterning and skeletogenesis. *PLoS genetics*. 2(12):e216.
  63. Yoon BS, Ovchinnikov DA, Yoshii I, Mishina Y, Behringer RR, Lyons KM. (2005). *Bmpr1a* and *Bmpr1b* have overlapping functions and are essential for chondrogenesis in vivo. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 102(14):5062-7.
  64. Kawabata M, Imamura T, Miyazono K. (1998). Signal transduction by bone morphogenetic proteins. *Cytokine & growth factor reviews*. 9(1):49-61.
  65. Phimpilai M, Zhao Z, Boules H, Roca H, Franceschi RT. (2006). BMP signaling is required for RUNX2-dependent induction of the osteoblast phenotype. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 21(4):637-46.
  66. Javed A, Bae JS, Afzal F, Gutierrez S, Pratap J, Zaidi SK, Lou Y, van Wijnen AJ, Stein JL, Stein GS, Lian JB. (2008). Structural coupling of Smad and Runx2 for execution of the BMP2 osteogenic signal. *The Journal of biological chemistry*. 283(13):8412-22.
  67. Javed A, Afzal F, Bae JS, Gutierrez S, Zaidi K, Pratap J, van Wijnen AJ, Stein JL, Stein GS, Lian JB. (2009). Specific residues of RUNX2 are obligatory for formation of BMP2-induced RUNX2-SMAD complex to promote osteoblast differentiation. *Cells, tissues, organs*. 189(1-4):133-7.
  68. Celli AB, Campbell PG. (2005). BMP-2 and insulin-like growth factor-I mediate Osterix (Osx) expression in human mesenchymal stem cells via the MAPK and protein kinase D signaling pathways. *The Journal of biological chemistry*. 280(36):31353-9.
  69. Pereira RC, Ryzdziel S, Canalis E. (2000). Bone morphogenetic protein-4 regulates its own expression in cultured osteoblasts. *Journal of cellular physiology*. 182(2):239-46.
  70. Bartel DP. (2004). MicroRNAs: genomics, biogenesis, mechanism, and function. *Cell*. 116(2):281-97.
  71. Chen X, Liang H, Zhang J, Zen K, Zhang CY. (2012). Horizontal transfer of microRNAs: molecular mechanisms and clinical applications. *Protein & cell*. 3(1):28-37.
  72. Chen X, Liang H, Zhang J, Zen K, Zhang CY. (2012). Secreted microRNAs: a new form of intercellular communication. *Trends in cell biology*. 22(3):125-32.
  73. Miao CG, Yang YY, He X, Xu T, Huang C, Huang Y, Zhang L, Lv XW, Jin Y, Li J. (2013). New advances of microRNAs in the pathogenesis of rheumatoid arthritis, with a focus on the crosstalk between DNA methylation and the microRNA machinery. *Cellular signalling*. 25(5):1118-25.
  74. Jing D, Hao J, Shen Y, Tang G, Li ML, Huang SH, Zhao ZH. (2015). The role of microRNAs in bone remodeling. *International journal of oral science*. 7(3):131-43.
  75. Zhang J, Tu Q, Bonewald LF, He X, Stein G, Lian J, Chen J. (2011). Effects of miR-335-5p in modulating osteogenic differentiation of osteoblasts and osteomimicry of metastatic cancer cells. *The Journal of biological chemistry*. 287(50):42084-92.
  76. Hassan MQ, Maeda Y, Taipaleenmaki H, Zhang W, Jafferji M, Gordon JA, Li Z, Croce CM, van Wijnen AJ, Stein JL, Stein GS, Lian JB. (2012). miR-218 directs a Wnt signaling circuit to promote differentiation of osteoblasts and osteomimicry of metastatic cancer cells. *The Journal of biological chemistry*. 287(50):42084-92.
  77. Zhang WB, Zhong WJ, Wang L. (2014). A signal-amplification circuit between miR-218 and Wnt/beta-catenin signal promotes human adipose tissue-derived stem cells osteogenic differentiation. *Bone*. 58:59-66.
  78. Kapinas K, Kessler C, Ricks T, Gronowicz G, Delany AM. (2010). miR-29 modulates Wnt signaling in human osteoblasts through a positive feedback loop. *The Journal of biological chemistry*. 285(33):25221-31.
  79. Zhang Y, Xie RL, Croce CM, Stein JL, Lian JB, van Wijnen AJ, Stein GS. (2011). A program of microRNAs controls osteogenic lineage progression by targeting transcription factor *Runx2*. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 108(24):9863-8.
  80. Jia J, Tian Q, Ling S, Liu Y, Yang S, Shao Z. (2013). miR-145 suppresses osteogenic differentiation by targeting Sp7. *FEBS letters*. 587(18):3027-31.
  81. Li E, Zhang J, Yuan T, Ma B. (2014). miR-143 suppresses osteogenic differentiation by targeting Osterix. *Molecular and cellular biochemistry*. 390(1-2):69-74.
  82. Shi K, Lu J, Zhao Y, Wang L, Li J, Qi B, Li H, Ma C. (2013). MicroRNA-214 suppresses osteogenic differentiation of C2C12 myoblast cells by targeting Osterix. *Bone*. 55(2):487-94.
  83. Yang L, Cheng P, Chen C, He HB, Xie GQ, Zhou HD, Xie H, Wu XP, Luo XH. (2012). miR-93/Sp7 function loop mediates osteoblast mineralization. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 27(7):1598-606.
  84. Zhang JF, Fu WM, He ML, Wang H, Wang WM, Yu SC, Bian XW, Zhou J, Lin MC, Lu G, Poon WS, Kung HF. (2011). miR-637 maintains the balance between adipocytes and osteoblasts by directly targeting Osterix. *Molecular biology of the cell*. 22(21):3955-61.
  85. Ross P. (2013). Osteoclast Biology and Bone Resorption. In: Rosen C, editor. *Primer on the Metabolic Bone Diseases and Disorders of Mineral Metabolism*. 8th ed. American Society for Bone and Mineral Research: John Wiley & Sons; p. 25-33.
  86. Boyce BF, Xing L. (2008). Functions of RANK/RANK/OPG in bone modeling and remodeling. *Archives of biochemistry and biophysics*. 473(2):139-46.
  87. Vaananen HK, Zhao H, Mulari M, Halleen JM. (2000). The cell biology of osteoclast fusion. *Journal of cell science*. 113 ( Pt 3):377-81.
  88. Bar-Shavit Z. (2007). The osteoclast: a multinucleated, hematopoietic-origin, bone-resorbing osteoimmune cell. *Journal of cellular biochemistry*. 102(5):1130-9.
  89. Sharaf-Eldin WE, Abu-Shahba N, Mahmoud M, El-Badri N. (2016). The Modulatory Effects of Mesenchymal Stem Cells on Osteoclastogenesis. *Stem cells international*. 2016:1908365.
  90. Yavropoulou MP, Yovos JG. (2008). Osteoclastogenesis—current knowledge and future perspectives. *Journal of musculoskeletal & neuronal interactions*. 8(3):204-16.
  91. Roodman GD. (2006). Regulation of osteoclast differentiation. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1068:100-9.
  92. Κασσή Ε. (2013). Η οστεοκλάστη. In: Λυπής Γ, editor. *Μεταβολικά νοσήματα των οστών*. 5 ed. Αθήνα: Hylonome Editions; p. 15-25.
  93. Rubin J, Greenfield EM. (2005). Osteoclast: Origin and Differentiation. In: Bronner F, Farach-Carson MC, Rubin J, editors. *Bone Resorption*. Topics in Bone Biology. London: Springer; p. 1-23.
  94. Tondravi MM, McKecher SR, Anderson K, Erdmann JM, Quiroz M, Maki R, Teitelbaum SL. (1997). Osteopetrosis in mice lacking haematopoietic transcription factor PU.1. *Nature*. 386(6620):81-4.
  95. Lemer UH. (2004). New molecules in the tumor necrosis factor ligand and receptor superfamilies with importance for physiological and pathological bone resorption. *Critical reviews in oral biology and medicine : an official publication of the*

- American Association of Oral Biologists. 15(2):64-81.
96. Takatsuna H, Asagiri M, Kubota T, Oka K, Osada T, Sugiyama C, Saito H, Aoki K, Ohya K, Takayanagi H, Umezawa K. (2005). Inhibition of RANKL-induced osteoclastogenesis by (-)-DHMEQ, a novel NF-kappaB inhibitor, through downregulation of NFATc1. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research.* 20(4):653-62.
  97. Hu R, Sharma SM, Bronisz A, Srinivasan R, Sankar U, Ostrowski MC. (2007). Eos, MITF, and PU.1 recruit corepressors to osteoclast-specific genes in committed myeloid progenitors. *Molecular and cellular biology.* 27(11):4018-27.
  98. Kong YY, Yoshida H, Sarosi I, Tan HL, Timms E, Capparelli C, Morony S, Oliveira-dos-Santos AJ, Van G, Itie A, Khoo W, Wakeham A, Dunstan CR, Lacey DL, Mak TW, Boyle WJ, Penninger JM. (1999). OPGL is a key regulator of osteoclastogenesis, lymphocyte development and lymph-node organogenesis. *Nature.* 397(6717):315-23.
  99. Xiong J, O'Brien CA. (2012). Osteocyte RANKL: new insights into the control of bone remodeling. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research.* 27(3):499-505.
  100. Leibbrandt A, Penninger JM. (2008). RANK/RANKL: regulators of immune responses and bone physiology. *Annals of the New York Academy of Sciences.* 1143:123-50.
  101. Silva I, Branco JC. (2011). Rank/Rank/ opg: literature review. *Acta reumatologica portuguesa.* 36(3):209-18.
  102. Zaidi M, Blair HC, Moonga BS, Abe E, Huang CL. (2003). Osteoclastogenesis, bone resorption, and osteoclast-based therapeutics. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research.* 18(4):599-609.
  103. Takayanagi H, Kim S, Koga T, Nishina H, Isshiki M, Yoshida H, Saiura A, Isobe M, Yokochi T, Inoue J, Wagner EF, Mak TW, Kodama T, Taniguchi T. (2002). Induction and activation of the transcription factor NFATc1 (NFAT2) integrate RANKL signaling in terminal differentiation of osteoclasts. *Developmental cell.* 3(6):889-901.
  104. Boyce BF, Xing L. (2007). Biology of RANK, RANKL, and osteoprotegerin. *Arthritis research & therapy.* 9 Suppl 1:S1.
  105. Li S, Miller CH, Giannopoulou E, Hu X, Ivashkiv LB, Zhao B. (2014). RBP-J imposes a requirement for ITAM-mediated costimulation of osteoclastogenesis. *The Journal of clinical investigation.* 124(11):5057-73.
  106. Humphrey MB, Lanier LL, Nakamura MC. (2005). Role of ITAM-containing adapter proteins and their receptors in the immune system and bone. *Immunological reviews.* 208:50-65.
  107. Humphrey MB, Nakamura MC. (2015). A Comprehensive Review of Immunoreceptor Regulation of Osteoclasts. *Clinical reviews in allergy & immunology.*
  108. Takegahara N, Takamatsu H, Toyofuku T, Tsujimura T, Okuno T, Yukawa K, Mizui M, Yamamoto M, Prasad DV, Suzuki K, Ishii M, Terai K, Moriya M, Nakatsuji Y, Sakoda S, Sato S, Akira S, Takeda K, Inui M, Takai T, Ikawa M, Okabe M, Kumanogoh A, Kikutani H. (2006). Plexin-A1 and its interaction with DAP12 in immune responses and bone homeostasis. *Nature cell biology.* 8(6):615-22.
  109. Barrow AD, Raynal N, Andersen TL, Slatter DA, Bihan D, Pugh N, Cella M, Kim T, Rho J, Negishi-Koga T, Delaisse JM, Takayanagi H, Lorenzo J, Colonna M, Farndale RW, Choi Y, Trowsdale J. (2011). OSCAR is a collagen receptor that costimulates osteoclastogenesis in STAT12-deficient humans and mice. *The Journal of clinical investigation.* 121(9):3505-16.
  110. Koga T, Inui M, Inoue K, Kim S, Suematsu A, Kobayashi E, Iwata T, Ohnishi H, Matozaki T, Kodama T, Taniguchi T, Takayanagi H, Takai T. (2004). Costimulatory signals mediated by the ITAM motif cooperate with RANKL for bone homeostasis. *Nature.* 428(6984):758-63.
  111. Paloneva J, Mandelin J, Kilianen A, Bohling T, Prudlo J, Hakola P, Haltia M, Kontinen YT, Peltonen L. (2003). DAP12/TREM2 deficiency results in impaired osteoclast differentiation and osteoporotic features. *The Journal of experimental medicine.* 198(4):669-75.
  112. Ivashkiv LB. (2009). Cross-regulation of signaling by ITAM-associated receptors. *Nature immunology.* 10(4):340-7.
  113. Gao Y, Grassi F, Ryan MR, Terauchi M, Page K, Yang X, Weitzmann MN, Pacifici R. (2007). IFN-gamma stimulates osteoclast formation and bone loss in vivo via antigen-driven T cell activation. *The Journal of clinical investigation.* 117(1):122-32.
  114. Braun T, Zwerina J. (2011). Positive regulators of osteoclastogenesis and bone resorption in rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy.* 13(4):235.
  115. Zhao B, Ivashkiv LB. (2011). Negative regulation of osteoclastogenesis and bone resorption by cytokines and transcriptional repressors. *Arthritis research & therapy.* 13(4):234.
  116. Azuma Y, Kaji K, Katogi R, Takeshita S, Kudo A. (2000). Tumor necrosis factor-alpha induces differentiation of and bone resorption by osteoclasts. *The Journal of biological chemistry.* 275(7):4858-64.
  117. Hofbauer LC, Lacey DL, Dunstan CR, Spelsberg TC, Riggs BL, Khosla S. (1999). Interleukin-1beta and tumor necrosis factor-alpha, but not interleukin-6, stimulate osteoprotegerin ligand gene expression in human osteoblastic cells. *Bone.* 25(3):255-9.
  118. Kim N, Kadono Y, Takami M, Lee J, Lee SH, Okada F, Kim JH, Kobayashi T, Odgren PR, Nakano H, Yeh WC, Lee SK, Lorenzo JA, Choi Y. (2005). Osteoclast differentiation independent of the TRANCE-RANK-TRAF6 axis. *The Journal of experimental medicine.* 202(5):589-95.
  119. Kudo O, Fujikawa Y, Itonaga I, Sabokbar A, Torisu T, Athanasou NA. (2002). Pro-inflammatory cytokine (TNFalpha/IL-1alpha) induction of human osteoclast formation. *The Journal of pathology.* 198(2):220-7.
  120. Jimi E, Nakamura I, Duong LT, Ikebe T, Takahashi N, Rodan GA, Suda T. (1999). Interleukin 1 induces multinucleation and bone-resorbing activity of osteoclasts in the absence of osteoblasts/stromal cells. *Experimental cell research.* 247(1):84-93.
  121. Wei S, Kitaura H, Zhou P, Ross FP, Teitelbaum SL. (2005). IL-1 mediates TNF-induced osteoclastogenesis. *The Journal of clinical investigation.* 115(2):282-90.
  122. Kudo O, Sabokbar A, Pocock A, Itonaga I, Fujikawa Y, Athanasou NA. (2003). Interleukin-6 and interleukin-11 support human osteoclast formation by a RANKL-independent mechanism. *Bone.* 32(1):1-7.
  123. Palmqvist P, Persson E, Conaway HH, Lerner UH. (2002). IL-6, leukemia inhibitory factor, and oncostatin M stimulate bone resorption and regulate the expression of receptor activator of NF-kappa B ligand, osteoprotegerin, and receptor activator of NF-kappa B in mouse calvariae. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950).* 169(6):3353-62.
  124. Bendre MS, Montague DC, Peery T, Akel NS, Gaddy D, Suva LJ. (2003). Interleukin-8 stimulation of osteoclastogenesis and bone resorption is a mechanism for the increased osteolysis of metastatic bone disease. *Bone.* 33(1):28-37.
  125. Horwood NJ, Elliott J, Martin TJ, Gillespie MT. (1998). Osteotropic agents regulate the expression of osteoclast differentiation factor and osteoprotegerin in osteoblastic stromal cells. *Endocrinology.* 139(11):4743-6.
  126. Kotake S, Udagawa N, Takahashi N, Matsuzaki K, Itoh K, Ishiyama S, Saito S, Inoue K, Kamatani N, Gillespie MT, Martin TJ, Suda T. (1999). IL-17 in synovial fluids from patients with rheumatoid arthritis is a potent stimulator of osteoclastogenesis. *The Journal of clinical investigation.* 103(9):1345-52.
  127. Yago T, Nanke Y, Ichikawa N, Kobashigawa T, Mogi M, Kamatani N, Kotake S. (2009). IL-17 induces osteoclastogenesis from human monocytes alone in the absence of osteoblasts, which is potently inhibited by anti-TNF-alpha antibody: a novel mechanism of osteoclastogenesis by IL-17. *Journal of cellular biochemistry.* 108(4):947-55.
  128. Ogata Y, Kukita A, Kukita T, Komine M, Miyahara A, Miyazaki S, Kohashi O. (1999). A novel role of IL-15 in the development of osteoclasts: inability to replace its activity with IL-2. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950).* 162(5):2754-60.
  129. Mabileau G, Sabokbar A. (2009). Interleukin-32 promotes osteoclast differentiation but not osteoclast activation. *PLoS one.* 4(1):e4173.
  130. Okabe I, Kikuchi T, Mogi M, Takeda H, Aino M, Kamiya Y, Fujimura T, Goto H, Okada K, Hasegawa Y, Noguchi T, Mitani A. (2016). IL-15 and RANKL Play a Synergistically Important Role in Osteoclastogenesis. *Journal of cellular biochemistry.*
  131. Cheng J, Liu J, Shi Z, Xu D, Luo S, Siegal GP, Feng X, Wei S. (2011). Interleukin-4 inhibits RANKL-induced NFATc1 expression via STAT6: a novel mechanism mediating its blockade of osteoclastogenesis. *Journal of cellular biochemistry.* 112(11):3385-92.
  132. Palmqvist P, Lundberg P, Persson E, Johansson A, Lundgren I, Lie A, Conaway HH, Lerner UH. (2006). Inhibition of hormone and cytokine-stimulated osteoclastogenesis and bone resorption by interleukin-4 and interleukin-13 is associated with increased osteoprotegerin and decreased RANKL and RANK in a STAT6-dependent pathway. *The Journal of biological chemistry.* 281(5):2414-29.
  133. Evans KE, Fox SW. (2007). Interleukin-10 inhibits osteoclastogenesis by reducing NFATc1 expression and preventing its translocation to the nucleus. *BMC cell biology.* 8:4.
  134. Liu D, Yao S, Wise GE. (2006). Effect of interleukin-10 on gene expression of osteoclastogenic regulatory molecules in the rat dental follicle. *European journal of oral sciences.* 114(1):42-9.
  135. Mohamed SG, Sugiyama E, Shinoda K, Taki H, Hounoki H, Abdel-Aziz HO, Maruyama M, Kobayashi M, Ogawa H, Miyahara T. (2007). Interleukin-10 inhibits RANKL-mediated expression of NFATc1 in part via suppression of c-Fos and c-Jun in RAW264.7 cells and mouse bone marrow cells. *Bone.* 41(4):592-602.
  136. Kitaura H, Fujimura Y, Yoshimatsu M, Kohara H, Morita Y, Aonuma T, Fukumoto E, Masuyama R, Yoshida N, Takano-Yamamoto T. (2011). IL-12- and IL-18-mediated, nitric oxide-induced apoptosis in TNF-alpha-mediated osteoclastogenesis of bone marrow cells. *Calcified tissue international.* 89(1):65-73.
  137. Horwood NJ, Udagawa N, Elliott J, Grail D, Okamura H, Kurimoto M, Dunn AR, Martin T, Gillespie MT. (1998). Interleukin 18 inhibits osteoclast formation via T cell production of granulocyte macrophage colony-stimulating factor. *The Journal of clinical investigation.* 101(3):595-603.
  138. Yamamura M, Kawashima M, Taniai M, Yamauchi H, Tanimoto T, Kurimoto M, Morita Y, Ohmoto Y, Makino H. (2001). Interferon-gamma-inducing activity of interleukin-18 in the joint with rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism.*

- 44(2):275-85.
139. Makitishi-Shimobayashi C, Tsujimura T, Iwasaki T, Yamada N, Sugihara A, Okamura H, Hayashi S, Terada N. (2001). Interleukin-18 up-regulates osteoprotegerin expression in stromal/osteoblastic cells. *Biochemical and biophysical research communications*. 281(2):361-6.
  140. Peng YJ, Wang CY, Lin YH, Lin GJ, Huang SH, Shyu JF, Sytwu HK, Cheng CP. (2016). Interleukin 26 suppresses receptor activator of nuclear factor kappaB ligand induced osteoclastogenesis via down-regulation of nuclear factor of activated T-cells, cytoplasmic 1 and nuclear factor kappaB activity. *Rheumatology (Oxford, England)*.
  141. Avnet S, Cenni E, Perut F, Granchi D, Brandi ML, Giunti A, Baldini N. (2007). Interferon-alpha inhibits in vitro osteoclast differentiation and renal cell carcinoma-induced angiogenesis. *International journal of oncology*. 30(2):469-76.
  142. Takayanagi H, Kim S, Matsuo K, Suzuki H, Suzuki T, Sato K, Yokochi T, Oda H, Nakamura K, Ida N, Wagner EF, Taniguchi T. (2002). RANKL maintains bone homeostasis through c-Fos-dependent induction of interferon-beta. *Nature*. 416(6882):744-9.
  143. Zheng H, Yu X, Collin-Osdoby P, Osdoby P. (2006). RANKL stimulates inducible nitric-oxide synthase expression and nitric oxide production in developing osteoclasts. An autocrine negative feedback mechanism triggered by RANKL-induced interferon-beta via NF-kappaB that restrains osteoclastogenesis and bone resorption. *The Journal of biological chemistry*. 281(23):15809-20.
  144. Kohara H, Kitaura H, Fujimura Y, Yoshimatsu M, Morita Y, Eguchi T, Masuyama R, Yoshida N. (2011). IFN-gamma directly inhibits TNF-alpha-induced osteoclastogenesis in vitro and in vivo and induces apoptosis mediated by Fas/Fas ligand interactions. *Immunology letters*. 137(1-2):53-61.
  145. Takayanagi H, Ogasawara K, Hida S, Chiba T, Murata S, Sato K, Takaoka A, Yokochi T, Oda H, Tanaka K, Nakamura K, Taniguchi T. (2000). T-cell-mediated regulation of osteoclastogenesis by signalling cross-talk between RANKL and IFN-gamma. *Nature*. 408(6812):600-5.
  146. Aquila HL, Mun SH, Kalinowski J, Adams DJ, Lorenzo JA, Lee SK. (2012). Osteoblast-specific overexpression of human interleukin-7 rescues the bone mass phenotype of interleukin-7-deficient female mice. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 27(5):1030-42.
  147. Lee SK, Kalinowski JF, Jastrzebski SL, Puddington L, Lorenzo JA. (2003). Interleukin-7 is a direct inhibitor of in vitro osteoclastogenesis. *Endocrinology*. 144(8):3524-31.
  148. Toraldo G, Roggia C, Qian WP, Pacifici R, Weitzmann MN. (2003). IL-7 induces bone loss in vivo by induction of receptor activator of nuclear factor kappa B ligand and tumor necrosis factor alpha from T cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 100(1):125-30.
  149. Ju JH, Cho ML, Moon YM, Oh HJ, Park JS, Jhun JY, Min SY, Cho YG, Park KS, Yoon CH, Min JK, Park SH, Sung YC, Kim HY. (2008). IL-23 induces receptor activator of NF-kappaB ligand expression on CD4+ T cells and promotes osteoclastogenesis in an autoimmune arthritis model. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 181(2):1507-18.
  150. Yago T, Nanke Y, Kawamoto M, Furuya T, Kobashigawa T, Kamatani N, Kotake S. (2007). IL-23 induces human osteoclastogenesis via IL-17 in vitro, and anti-IL-23 antibody attenuates collagen-induced arthritis in rats. *Arthritis research & therapy*. 9(5):R96.
  151. Kamiya S, Nakamura C, Fukawa T, Ono K, Ohwaki T, Yoshimoto T, Wada S. (2007). Effects of IL-23 and IL-27 on osteoblasts and osteoclasts: inhibitory effects on osteoclast differentiation. *Journal of bone and mineral metabolism*. 25(5):277-85.
  152. Quinn JM, Sims NA, Saleh H, Miroso D, Thompson K, Bouralexis S, Walker EC, Martin TJ, Gillespie MT. (2008). IL-23 inhibits osteoclastogenesis indirectly through lymphocytes and is required for the maintenance of bone mass in mice. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 181(8):5720-9.
  153. Chen C, Cheng P, Xie H, Zhou HD, Wu XP, Liao EY, Luo XH. (2014). MIR-503 regulates osteoclastogenesis via targeting RANK. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 29(2):338-47.
  154. Guo LJ, Liao L, Yang L, Li Y, Jiang TJ. (2014). MiR-125a TNF receptor-associated factor 6 to inhibit osteoclastogenesis. *Experimental cell research*. 321(2):142-52.
  155. Lee Y, Kim HJ, Park CK, Kim YG, Lee HJ, Kim JY, Kim HH. (2013). MicroRNA-124 regulates osteoclast differentiation. *Bone*. 56(2):383-9.
  156. Sugatani T, Vacher J, Hruska KA. (2011). A microRNA expression signature of osteoclastogenesis. *Blood*. 117(13):3648-57.
  157. Bluml S, Bonelli M, Niederreiter B, Puchner A, Mayr G, Hayer S, Koenders MI, van den Berg WB, Smolen J, Redlich K. (2011). Essential role of microRNA-155 in the pathogenesis of autoimmune arthritis in mice. *Arthritis and rheumatism*. 63(5):1281-8.
  158. Sugatani T, Hruska KA. (2009). Impaired micro-RNA pathways diminish osteoclast differentiation and function. *The Journal of biological chemistry*. 284(7):4667-78.
  159. Nakasa T, Shibuya H, Nagata Y, Niimoto T, Ochi M. (2011). The inhibitory effect of microRNA-146a expression on bone destruction in collagen-induced arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 63(6):1582-90.
  160. Ferrero-Miliani L, Nielsen OH, Andersen PS, Girardin SE. (2007). Chronic inflammation: importance of NOD2 and NALP3 in interleukin-1beta generation. *Clinical and experimental immunology*. 147(2):227-35.
  161. John H, Kitas G. (2012). Inflammatory arthritis as a novel risk factor for cardiovascular disease. *European journal of internal medicine*. 23(7):575-9.
  162. Symmons D, Turner G, Webb R, Asten P, Barrett E, Lunt M, Scott D, Silman A. (2002). The prevalence of rheumatoid arthritis in the United Kingdom: new estimates for a new century. *Rheumatology (Oxford, England)*. 41(7):793-800.
  163. Majithia V, Geraci SA. (2007). Rheumatoid arthritis: diagnosis and management. *The American journal of medicine*. 120(11):936-9.
  164. Taylor PC, Feldmann M. (2004). Rheumatoid arthritis: pathogenic mechanisms and therapeutic targets. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*. 1(3):289-95.
  165. MacGregor AJ, Snieder H, Rigby AS, Koskenvuo M, Kaprio J, Aho K, Silman AJ. (2000). Characterizing the quantitative genetic contribution to rheumatoid arthritis using data from twins. *Arthritis and rheumatism*. 43(1):30-7.
  166. Huizinga TW, Amos CI, van der Helm-van Mil AH, Chen W, van Gaalen FA, Jawaheer D, Schreuder GM, Wener M, Breedveld FC, Ahmad N, Lum RF, de Vries RR, Gregersen PK, Toes RE, Criswell LA. (2005). Refining the complex rheumatoid arthritis phenotype based on specificity of the HLA-DRB1 shared epitope for antibodies to citrullinated proteins. *Arthritis and rheumatism*. 52(11):3433-8.
  167. Carlens C, Hergens MP, Grunewald J, Ekborn A, Eklund A, Hoglund CO, Asklund J. (2010). Smoking, use of moist snuff, and risk of chronic inflammatory diseases. *American journal of respiratory and critical care medicine*. 181(11):1217-22.
  168. Deng G-M, Lenardo M. (2006). The role of immune cells and cytokines in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Drug Discovery Today: Disease Mechanisms*. 3(2):163-8.
  169. Klareskog L, Catrina AI, Paget S. (2009). Rheumatoid arthritis. *Lancet (London, England)*. 373(9664):659-72.
  170. Uysal H, Bockermann R, Nandakumar KS, Sehnert B, Bajtarevic E, Engstrom A, Serre G, Burkhart H, Thunnissen MM, Holmdahl R. (2009). Structure and pathogenicity of antibodies specific for citrullinated collagen type II in experimental arthritis. *The Journal of experimental medicine*. 206(2):449-62.
  171. Kallberg H, Padyukov L, Plenge RM, Ronnelid J, Gregersen PK, van der Helm-van Mil AH, Toes RE, Huizinga TW, Klareskog L, Alfredsson L. (2007). Gene-gene and gene-environment interactions involving HLA-DRB1, PTPN22, and smoking in two subsets of rheumatoid arthritis. *American journal of human genetics*. 80(5):867-75.
  172. van Oosterhout M, Bajema I, Levarht EW, Toes RE, Huizinga TW, van Laar JM. (2008). Differences in synovial tissue infiltrates between anti-cyclic citrullinated peptide-positive rheumatoid arthritis and anti-cyclic citrullinated peptide-negative rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 58(1):53-60.
  173. van der Helm-van Mil AH, Verpoort KN, Breedveld FC, Toes RE, Huizinga TW. (2005). Antibodies to citrullinated proteins and differences in clinical progression of rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy*. 7(5):R949-58.
  174. Young A, Koduri G. (2007). Extra-articular manifestations and complications of rheumatoid arthritis. *Best practice & research Clinical rheumatology*. 21(5):907-27.
  175. Levy L, Fautrel B, Barnette T, Schaeffer T. (2008). Incidence and risk of fatal myocardial infarction and stroke events in rheumatoid arthritis patients. A systematic review of the literature. *Clinical and experimental rheumatology*. 26(4):673-9.
  176. Smolen JS, Landewe R, Breedveld FC, Buch M, Burmester G, Dougados M, Emery P, Gaujoux-Viala C, Gossec L, Nam J, Ramiro S, Winthrop K, de Wit M, Aletaha D, Betteridge N, Bijlsma JW, Boers M, Buttgeit F, Combe B, Cutolo M, Damjanov N, Hazes JM, Kouloumas M, Kvien TK, Mariette X, Pavelka K, van Riel PL, Rubbert-Roth A, Scholte-Voshaar M, Scott DL, Sokka-Isler T, Wong JB, van der Heijde D. (2014). EULAR recommendations for the management of rheumatoid arthritis with synthetic and biological disease-modifying antirheumatic drugs: 2013 update. *Annals of the rheumatic diseases*. 73(3):492-509.
  177. Stolwijk C, Boonen A, van Tubergen A, Reveille JD. (2012). Epidemiology of spondyloarthritis. *Rheumatic diseases clinics of North America*. 38(3):441-76.
  178. Smith JA, Colbert RA. (2014). Review: The interleukin-23/interleukin-17 axis in spondyloarthritis pathogenesis: Th17 and beyond. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, N.J.)*. 66(2):231-41.
  179. Hammer RE, Maika SD, Richardson JA, Tang JP, Taurog JD. (1990). Spontaneous inflammatory disease in transgenic rats expressing HLA-B27 and human beta 2m: an animal model of HLA-B27-associated human disorders. *Cell*. 63(5):1099-112.
  180. Robinson PC, Benham H. (2015). Advances in classification, basic mechanisms and clinical science in ankylosing spondylitis and axial spondyloarthritis. *Internal medicine journal*. 45(2):127-33.
  181. Lories RJ, McInnes IB. (2012). Primed for inflammation: enthesitis-resident T cells. *Nature medicine*. 18(7):1018-9.

182. D'Cruz DP, Khamashta MA, Hughes GRV. (2007). Systemic lupus erythematosus. *The Lancet*. 369(9561):587-96.
183. Danchenko N, Satia JA, Anthony MS. (2006). Epidemiology of systemic lupus erythematosus: a comparison of worldwide disease burden. *Lupus*. 15(5):308-18.
184. Anagnostopoulos I, Zinzaras E, Alexiou I, Papathanasiou AA, Davas E, Koutroumpas A, Barouta G, Sakkas LI. (2010). The prevalence of rheumatic diseases in central Greece: a population survey. *BMC musculoskeletal disorders*. 11:98.
185. Lisnevskaja L, Murphy G, Isenberg D. (2014). Systemic lupus erythematosus. *Lancet (London, England)*. 384(9957):1878-88.
186. Squatrito D, Emmi G, Silvestri E, Ciucciarelli L, D'Elios MM, Prisco D, Emmi L. (2014). Pathogenesis and potential therapeutic targets in systemic lupus erythematosus: from bench to bedside. *Auto-immunity highlights*. 5(2):33-45.
187. Mirabelli G, Cannarile F, Bruni C, Vagelli R, De Luca R, Carli L. (2015). One year in review 2015: systemic lupus erythematosus. *Clinical and experimental rheumatology*. 33(3):414-25.
188. Bertolas G, Ioannidis JP, Boletis J, Bombardieri S, Cervera R, Dostal C, Font J, Gilboe IM, Houssiau F, Huizinga T, Isenberg D, Kallenberg CG, Khamashta M, Piette JC, Schneider M, Smolen J, Sturfelt G, Tincani A, van Vollenhoven R, Gordon C, Boumpas DT. (2008). EULAR recommendations for the management of systemic lupus erythematosus. Report of a Task Force of the EULAR Standing Committee for International Clinical Studies Including Therapeutics. *Annals of the rheumatic diseases*. 67(2):195-205.
189. Roux C. (2011). Osteoporosis in inflammatory joint diseases. *Osteoporosis international: a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 22(2):421-33.
190. Machold KP, Stamm TA, Nell VP, Pflugbeil S, Aletaha D, Steiner G, Uffmann M, Smolen JS. (2007). Very recent onset rheumatoid arthritis: clinical and serological patient characteristics associated with radiographic progression over the first years of disease. *Rheumatology (Oxford, England)*. 46(2):342-9.
191. Odegard S, Landewe R, van der Heijde D, Kvien TK, Mowinckel P, Uhlig T. (2006). Association of early radiographic damage with impaired physical function in rheumatoid arthritis: a ten-year, longitudinal observational study in 238 patients. *Arthritis and rheumatism*. 54(1):68-75.
192. Welsing PM, van Gestel AM, Swinkels HL, Kiemeny LA, van Riel PL. (2001). The relationship between disease activity, joint destruction, and functional capacity over the course of rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 44(9):2009-17.
193. Pettit AR, Ji H, von Stechow D, Muller R, Goldring SR, Choi Y, Benoist C, Gravalles EM. (2001). TRANCE/RANKL knockout mice are protected from bone erosion in a serum transfer model of arthritis. *The American journal of pathology*. 159(5):1689-99.
194. Redlich K, Hayer S, Ricci R, David JP, Tohidast-Akrad M, Kollias G, Steiner G, Smolen JS, Wagner EF, Schett G. (2002). Osteoclasts are essential for TNF-alpha-mediated joint destruction. *The Journal of clinical investigation*. 110(10):1419-27.
195. Haavardsholm EA, Boyesen P, Ostergaard M, Schildvold A, Kvien TK. (2008). Magnetic resonance imaging findings in 84 patients with early rheumatoid arthritis: bone marrow oedema predicts erosive progression. *Annals of the rheumatic diseases*. 67(6):794-800.
196. Hetland ML, Ejlberg B, Horslev-Petersen K, Jacobsen S, Vestergaard A, Jurik AG, Stengaard-Pedersen K, Junker P, Lottenburger T, Hansen I, Andersen LS, Tarp U, Skjoldt H, Pedersen JK, Majgaard O, Svendsen AJ, Ellingsen T, Lindgaard H, Christensen AF, Vallo J, Torring T, Narvestad E, Thomsen HS, Ostergaard M. (2009). MRI bone oedema is the strongest predictor of subsequent radiographic progression in early rheumatoid arthritis. Results from a 2-year randomised controlled trial (CIMESTRA). *Annals of the rheumatic diseases*. 68(3):384-90.
197. McQueen FM, Benton N, Perry D, Crabbe J, Robinson E, Yeoman S, McLean L, Stewart N. (2003). Bone edema scored on magnetic resonance imaging scans of the dominant carpus at presentation predicts radiographic joint damage of the hands and feet six years later in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 48(7):1814-27.
198. Jimenez-Boj E, Nobauer-Huhmann I, Hanslik-Schnabel B, Dorotka R, Wanivenhaus AH, Kainberger F, Trattnig S, Axmann R, Tsuji W, Hermann S, Smolen J, Schett G. (2007). Bone erosions and bone marrow edema as defined by magnetic resonance imaging reflect true bone marrow inflammation in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 56(4):1118-24.
199. Dalbeth N, Smith T, Gray S, Doyle A, Antill P, Lobo M, Robinson E, King A, Cornish J, Shalley G, Gao A, McQueen FM. (2009). Cellular characterisation of magnetic resonance imaging bone oedema in rheumatoid arthritis; implications for pathogenesis of erosive disease. *Annals of the rheumatic diseases*. 68(2):279-82.
200. Bromley M, Woolley DE. (1984). Chondroclasts and osteoclasts at subchondral sites of erosion in the rheumatoid joint. *Arthritis and rheumatism*. 27(9):968-75.
201. Kuratani T, Nagata K, Kukita T, Hotokebuchi T, Nakasima A, Iijima T. (1998). Induction of abundant osteoclast-like multinucleated giant cells in adjuvant arthritic rats with accompanying disordered high bone turnover. *Histology and histopathology*. 13(3):751-9.
202. Romas E, Bakharevski O, Hards DK, Kartsogiannis V, Quinn JM, Ryan PF, Martin TJ, Gillespie MT. (2000). Expression of osteoclast differentiation factor at sites of bone erosion in collagen-induced arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 43(4):821-6.
203. Suzuki Y, Nishikaku F, Nakatuka M, Koga Y. (1998). Osteoclast-like cells in murine collagen induced arthritis. *The Journal of rheumatology*. 25(6):1154-60.
204. Herrak P, Gortz B, Hayer S, Redlich K, Reiter E, Gasser J, Bergmeister H, Kollias G, Smolen JS, Schett G. (2004). Zoledronic acid protects against local and systemic bone loss in tumor necrosis factor-mediated arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 50(7):2327-37.
205. Sims NA, Green JR, Glatt M, Schlicht S, Martin TJ, Gillespie MT, Romas E. (2004). Targeting osteoclasts with zoledronic acid prevents bone destruction in collagen-induced arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 50(7):2338-46.
206. Jarrett SJ, Conaghan PG, Sloan VS, Papanastasiou P, Ortmann CE, O'Connor PJ, Grainger AJ, Emery P. (2006). Preliminary evidence for a structural benefit of the new bisphosphonate zoledronic acid in early rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 54(5):1410-4.
207. Haynes DR, Crotti TN, Loric M, Bain GI, Atkins GJ, Findlay DM. (2001). Osteoprotegerin and receptor activator of nuclear factor kappaB ligand (RANKL) regulate osteoclast formation by cells in the human rheumatoid arthritic joint. *Rheumatology (Oxford, England)*. 40(6):623-30.
208. Gravalles EM, Manning C, Tsay A, Naito A, Pan C, Amento E, Goldring SR. (2000). Synovial tissue in rheumatoid arthritis is a source of osteoclast differentiation factor. *Arthritis and rheumatism*. 43(2):250-8.
209. Crotti TN, Smith MD, Weedon H, Ahern MJ, Findlay DM, Kraan M, Tak PP, Haynes DR. (2002). Receptor activator NF-kappaB ligand (RANKL) expression in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis, spondyloarthropathy, osteoarthritis, and from normal patients: semiquantitative and quantitative analysis. *Annals of the rheumatic diseases*. 61(12):1047-54.
210. Takayanagi H, Iizuka H, Juji T, Nakagawa T, Yamamoto A, Miyazaki T, Koshihara Y, Oda H, Nakamura K, Tanaka S. (2000). Involvement of receptor activator of nuclear factor kappaB ligand/osteoclast differentiation factor in osteoclastogenesis from synovial cells in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 43(2):259-69.
211. Haynes DR, Barg E, Crotti TN, Holding C, Weedon H, Atkins GJ, Zannettino A, Ahern MJ, Coleman M, Roberts-Thomson PJ, Kraan M, Tak PP, Smith MD. (2003). Osteoprotegerin expression in synovial tissue from patients with rheumatoid arthritis, spondyloarthropathies and osteoarthritis and normal controls. *Rheumatology (Oxford, England)*. 42(1):123-34.
212. Kotake S, Udagawa N, Hakoda M, Mogi M, Yano K, Tsuda E, Takahashi K, Furuya T, Ishiyama S, Kim KJ, Saito S, Nishikawa T, Takahashi N, Togari A, Tomatsu T, Suda T, Kamatani N. (2001). Activated human T cells directly induce osteoclastogenesis from human monocytes: possible role of T cells in bone destruction in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis and rheumatism*. 44(5):1003-12.
213. Pettit AR, Walsh NC, Manning C, Goldring SR, Gravalles EM. (2006). RANKL protein is expressed at the pannus-bone interface at sites of articular bone erosion in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford, England)*. 45(9):1068-76.
214. Lubberts E, Oppers-Walgreen B, Pettit AR, Van Den Berselaar L, Joosten LA, Goldring SR, Gravalles EM, Van Den Berg WB. (2002). Increase in expression of receptor activator of nuclear factor kappaB at sites of bone erosion correlates with progression of inflammation in evolving collagen-induced arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 46(11):3055-64.
215. Li P, Schwarz EM, O'Keefe RJ, Ma L, Boyce BF, Xing L. (2004). RANK signaling is not required for TNFalpha-mediated increase in CD11(h) osteoclast precursors but is essential for mature osteoclast formation in TNFalpha-mediated inflammatory arthritis. *Journal of bone and mineral research: the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 19(2):207-13.
216. Romas E, Sims NA, Hards DK, Lindsay M, Quinn JW, Ryan PF, Dunstan CR, Martin TJ, Gillespie MT. (2002). Osteoprotegerin reduces osteoclast numbers and prevents bone erosion in collagen-induced arthritis. *The American journal of pathology*. 161(4):1419-27.
217. Campagnuolo G, Bolon B, Feige U. (2002). Kinetics of bone protection by recombinant osteoprotegerin therapy in Lewis rats with adjuvant arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 46(7):1926-36.
218. Redlich K, Hayer S, Maier A, Dunstan CR, Tohidast-Akrad M, Lang S, Turk B, Pietschmann P, Woloszczuk W, Haralambous S, Kollias G, Steiner G, Smolen JS, Schett G. (2002). Tumor necrosis factor alpha-mediated joint destruction is inhibited by targeting osteoclasts with osteoprotegerin. *Arthritis and rheumatism*. 46(3):785-92.
219. Cohen SB, Dore RK, Lane NE, Ory PA, Peterfy CG, Sharp JT, van der Heijde D, Zhou L, Tsuji W, Newmark R. (2008). Denosumab treatment effects on structural damage, bone mineral density, and bone turnover in rheumatoid arthritis: a twelve-month, multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, phase II clinical trial. *Arthritis and rheumatism*. 58(5):1299-309.
220. Deodhar A, Dore RK, Mandel D, Schechtman J, Shergy W, Trapp R, Ory PA, Pe-

- terfy CG, Fuerst T, Wang H, Zhou L, Tsuji W, Newmark R. (2010). Denosumab-mediated increase in hand bone mineral density associated with decreased progression of bone erosion in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis care & research.* 62(4):569-74.
221. Yue J, Griffith JF, Xiao F, Shi L, Wang D, Shen J, Wong P, Li EK, Li M, Li TK, Zhu TY, Hung VW, Qin L, Tam LS. (2016). Repair of bone erosion in rheumatoid arthritis by denosumab: A high-resolution peripheral quantitative computed tomography study. *Arthritis care & research.*
222. MacNaul KL, Hutchinson NI, Parsons JN, Bayne EK, Tocci MJ. (1990). Analysis of IL-1 and TNF-alpha gene expression in human rheumatoid synoviocytes and normal monocytes by in situ hybridization. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950).* 145(12):4154-66.
223. Zhang YH, Heulsmann A, Tondravi MM, Mukherjee A, Abu-Amer Y. (2001). Tumor necrosis factor-alpha (TNF) stimulates RANKL-induced osteoclastogenesis via coupling of TNF type 1 receptor and RANK signaling pathways. *The Journal of biological chemistry.* 276(1):563-8.
224. Hashizume M, Hayakawa N, Mihara M. (2008). IL-6 trans-signalling directly induces RANKL on fibroblast-like synovial cells and is involved in RANKL induction by TNF-alpha and IL-17. *Rheumatology (Oxford, England).* 47(11):1635-40.
225. Yarifina A, Xu K, Chen J, Ivashkiv LB. (2011). TNF activates calcium-nuclear factor of activated T cells (NFAT)c1 signaling pathways in human macrophages. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 108(4):1573-8.
226. Wu L, Guo Q, Yang J, Ni B. (2016). Tumor Necrosis Factor Alpha Promotes Osteoclast Formation via PI3K/Akt Pathway-Mediated Blimp1 Expression Upregulation. *Journal of cellular biochemistry.*
227. Li P, Schwarz EM, O'Keefe RJ, Ma L, Looney RJ, Ritchlin CT, Boyce BF, Xing L. (2004). Systemic tumor necrosis factor alpha mediates an increase in peripheral CD11bhigh osteoclast precursors in tumor necrosis factor alpha-transgenic mice. *Arthritis and rheumatism.* 50(1):265-76.
228. Yao Z, Li P, Zhang Q, Schwarz EM, Keng P, Arbini A, Boyce BF, Xing L. (2006). Tumor necrosis factor-alpha increases circulating osteoclast precursor numbers by promoting their proliferation and differentiation in the bone marrow through up-regulation of c-Fms expression. *The Journal of biological chemistry.* 281(17):11846-55.
229. Kitaura H, Zhou P, Kim HJ, Novack DV, Ross FP, Teitelbaum SL. (2005). M-CSF mediates TNF-induced inflammatory osteolysis. *The Journal of clinical investigation.* 115(12):3418-27.
230. Jimi E, Shuto T, Koga T. (1995). Macrophage colony-stimulating factor and interleukin-1 alpha maintain the survival of osteoclast-like cells. *Endocrinology.* 136(2):808-11.
231. Ji H, Pettit A, Ohmura K, Ortiz-Lopez A, Duchatelle V, Degott C, Gravalles E, Mathis D, Benoist C. (2002). Critical roles for interleukin 1 and tumor necrosis factor alpha in antibody-induced arthritis. *The Journal of experimental medicine.* 196(1):77-85.
232. Zwerina J, Redlich K, Polzer K, Joosten L, Kronke G, Distler J, Hess A, Pundt N, Pap T, Hoffmann O, Gasser J, Scheinecker C, Smolen JS, van den Berg W, Schett G. (2007). TNF-induced structural joint damage is mediated by IL-1. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 104(28):11742-7.
233. Field M, Chu C, Feldmann M, Maini RN. (1991). Interleukin-6 localisation in the synovial membrane in rheumatoid arthritis. *Rheumatology international.* 11(2):45-50.
234. Okamoto H, Yamamura M, Morita Y, Harada S, Makino H, Ota Z. (1997). The synovial expression and serum levels of interleukin-6, interleukin-11, leukemia inhibitory factor, and oncostatin M in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism.* 40(6):1096-105.
235. Yoshitake F, Itoh S, Narita H, Ishihara K, Ebisu S. (2008). Interleukin-6 directly inhibits osteoclast differentiation by suppressing receptor activator of NF-kappaB signaling pathways. *The Journal of biological chemistry.* 283(17):11535-40.
236. Suzuki M, Hashizume M, Yoshida H, Shiina M, Mihara M. (2011). Interleukin-6 on synovial cells attenuated interleukin-6-induced inhibition of osteoclastogenesis induced by receptor activator for nuclear factor kappaB ligand. *Clinical and experimental immunology.* 163(1):88-95.
237. Wong PK, Quinn JM, Sims NA, van Nieuwenhuijze A, Campbell IK, Wicks IP. (2006). Interleukin-6 modulates production of T lymphocyte-derived cytokines in antigen-induced arthritis and drives inflammation-induced osteoclastogenesis. *Arthritis and rheumatism.* 54(1):158-68.
238. Axmann R, Bohm C, Kronke G, Zwerina J, Smolen J, Schett G. (2009). Inhibition of interleukin-6 receptor directly blocks osteoclast formation in vitro and in vivo. *Arthritis and rheumatism.* 60(9):2747-56.
239. Sato K, Suematsu A, Okamoto K, Yamaguchi A, Morishita Y, Kadono Y, Tanaka S, Kodama T, Akira S, Iwakura Y, Cua DJ, Takayanagi H. (2006). Th17 functions as an osteoclastogenic helper T cell subset that links T cell activation and bone destruction. *The Journal of experimental medicine.* 203(12):2673-82.
240. Lubberts E, van den Bersselaar L, Oppers-Walgreen B, Schwarzenberger P, Coenen-de Roo CJ, Kolls JK, Joosten LA, van den Berg WB. (2003). IL-17 promotes bone erosion in murine collagen-induced arthritis through loss of the receptor activator of NF-kappa B ligand/osteoprotegerin balance. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950).* 170(5):2655-62.
241. Adamopoulos IE, Chao CC, Geissler R, Laface D, Blumenschein W, Iwakura Y, McClanahan T, Bowman EP. (2010). Interleukin-17A upregulates receptor activator of NF-kappaB on osteoclast precursors. *Arthritis research & therapy.* 12(1):R29.
242. Zhang F, Tanaka H, Kawato T, Kitami S, Nakai K, Motohashi M, Suzuki N, Wang CL, Ochiai K, Isokawa K, Maeno M. (2011). Interleukin-17A induces cathepsin K and MMP-9 expression in osteoclasts via celecoxib-blocked prostaglandin E2 in osteoblasts. *Biochimie.* 93(2):296-305.
243. Jovanovic DV, Di Battista JA, Martel-Pelletier J, Jolicoeur FC, He Y, Zhang M, Mineau F, Pelletier JP. (1998). IL-17 stimulates the production and expression of proinflammatory cytokines, IL-beta and TNF-alpha, by human macrophages. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950).* 160(7):3513-21.
244. Ogura H, Murakami M, Okuyama Y, Tsuruoka M, Kitabayashi C, Kanamoto M, Nishihara M, Iwakura Y, Hirano T. (2008). Interleukin-17 promotes autoimmunity by triggering a positive-feedback loop via interleukin-6 induction. *Immunity.* 29(4):628-36.
245. Bush KA, Farmer KM, Walker JS, Kirkham BW. (2002). Reduction of joint inflammation and bone erosion in rat adjuvant arthritis by treatment with interleukin-17 receptor IgG1 Fc fusion protein. *Arthritis and rheumatism.* 46(3):802-5.
246. Koenders MI, Lubberts E, Oppers-Walgreen B, van den Bersselaar L, Helsen MM, Di Padova FE, Boots AM, Gram H, Joosten LA, van den Berg WB. (2005). Blocking of interleukin-17 during reactivation of experimental arthritis prevents joint inflammation and bone erosion by decreasing RANKL and interleukin-1. *The American journal of pathology.* 167(1):141-9.
247. Lubberts E, Koenders MI, Oppers-Walgreen B, van den Bersselaar L, Coenen-de Roo CJ, Joosten LA, van den Berg WB. (2004). Treatment with a neutralizing anti-murine interleukin-17 antibody after the onset of collagen-induced arthritis reduces joint inflammation, cartilage destruction, and bone erosion. *Arthritis and rheumatism.* 50(2):650-9.
248. Djaafar S, Pierroz DD, Chicheportiche R, Zheng XX, Ferrari SL, Ferrari-Lacraz S. (2010). Inhibition of T cell-dependent and RANKL-dependent osteoclastogenic processes associated with high levels of bone mass in interleukin-15 receptor-deficient mice. *Arthritis and rheumatism.* 62(11):3300-10.
249. McInnes IB, Liew FY. (1998). Interleukin 15: a proinflammatory role in rheumatoid arthritis synovitis. *Immunology today.* 19(2):75-9.
250. Ferrari-Lacraz S, Zanelli E, Neuberger M, Donskoy E, Kim YS, Zheng XX, Hancock WW, Maslinski W, Li XC, Strom TB, Moll T. (2004). Targeting IL-15 receptor-bearing cells with an antagonist mutant IL-15/Fc protein prevents disease development and progression in murine collagen-induced arthritis. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950).* 173(9):5818-26.
251. Mun SH, Ko NY, Kim HS, Kim JW, Kim DK, Kim AR, Lee SH, Kim YG, Lee CK, Lee SH, Kim BK, Beaven MA, Kim YM, Choi WS. (2010). Interleukin-33 stimulates formation of functional osteoclasts from human CD14(+) monocytes. *Cellular and molecular life sciences : CMLS.* 67(22):3883-92.
252. Xu D, Jiang HR, Kewin P, Li Y, Mu R, Fraser AR, Pitman N, Kurowska-Stolarska M, McKenzie AN, McInnes IB, Liew FY. (2008). IL-33 exacerbates antigen-induced arthritis by activating mast cells. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America.* 105(31):10913-8.
253. Palmer G, Talabot-Ayer D, Lamacchia C, Toy D, Seemayer CA, Viatte S, Finckh A, Smith DE, Gabay C. (2009). Inhibition of interleukin-33 signaling attenuates the severity of experimental arthritis. *Arthritis and rheumatism.* 60(3):738-49.
254. Hwang SJ, Choi B, Kang SS, Chang JH, Kim YG, Chung YH, Sohn DH, So MW, Lee CK, Robinson WH, Chang EJ. (2012). Interleukin-34 produced by human fibroblast-like synovial cells in rheumatoid arthritis supports osteoclastogenesis. *Arthritis research & therapy.* 14(1):R14.
255. Alanara T, Karstila K, Moilanen T, Silvennoinen O, Isomaki P. (2010). Expression of IL-10 family cytokines in rheumatoid arthritis: elevated levels of IL-19 in the joints. *Scandinavian journal of rheumatology.* 39(2):118-26.
256. Avci AB, Feist E, Burmester GR. (2016). Targeting GM-CSF in rheumatoid arthritis. *Clinical and experimental rheumatology.* 34(4 Suppl 98):39-44.
257. Conigliaro P, Perricone C, Benson RA, Garside P, Brewer JM, Perricone R, Valesini G. (2010). The type I IFN system in rheumatoid arthritis. *Autoimmunity.* 43(3):220-5.
258. Paradowska-Gorycka A, Grzybowska-Kowalczyk A, Wojtecka-Lukasik E, Maslinski S. (2010). IL-23 in the pathogenesis of rheumatoid arthritis. *Scandinavian journal of immunology.* 71(3):134-45.
259. Park JK, Han BK, Park JA, Woo YJ, Kim SY, Lee EY, Lee EB, Chalan P, Boots AM, Song YW. (2014). CD70-expressing CD4 T cells produce IFN-gamma and IL-17 in rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford, England).* 53(10):1896-900.
260. Rivas D, Mozo L, Zamorano J, Gayo A, Torre-Alonso JC, Rodriguez A, Gutierrez C. (1995). Upregulated expression of IL-4 receptors and increased levels of IL-4 in

- rheumatoid arthritis patients. *Journal of autoimmunity*. 8(4):587-600.
261. Hiasa M, Abe M, Nakano A, Oda A, Amou H, Kido S, Takeuchi K, Kagawa K, Yata K, Hashimoto T, Ozaki S, Asaoka K, Tanaka E, Moriyama K, Matsumoto T. (2009). GM-CSF and IL-4 induce dendritic cell differentiation and disrupt osteoclastogenesis through M-CSF receptor shedding by up-regulation of TNF-alpha converting enzyme (TACE). *Blood*. 114(20):4517-26.
262. Zaiss MM, Axmann R, Zwerina J, Polzer K, Guckel E, Skapenko A, Schulze-Koops H, Horwood N, Cope A, Schett G. (2007). Treg cells suppress osteoclast formation: a new link between the immune system and bone. *Arthritis and rheumatism*. 56(12):4104-12.
263. Zaiss MM, Frey B, Hess A, Zwerina J, Luther J, Nimmerjahn F, Engelke K, Kollias G, Hunig T, Schett G, David JP. (2010). Regulatory T cells protect from local and systemic bone destruction in arthritis. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 184(12):7238-46.
264. Herman S, Muller RB, Kronke G, Zwerina J, Redlich K, Hueber AJ, Gelse H, Neumann E, Muller-Ladner U, Schett G. (2008). Induction of osteoclast-associated receptor, a key osteoclast costimulation molecule, in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 58(10):3041-50.
265. Crotti TN, Dharmapatri AA, Alias E, Zannettino AC, Smith MD, Haynes DR. (2012). The immunoreceptor tyrosine-based activation motif (ITAM) -related factors are increased in synovial tissue and vasculature of rheumatoid arthritic joints. *Arthritis research & therapy*. 14(6):R245.
266. Chen X, Eksioglu EA, Carter JD, Fortenbery N, Donatelli SS, Zhou J, Liu J, Yang L, Gilvary D, Djeu J, Wei S. (2015). Inactivation of DAP12 in PMN inhibits TREM1-mediated activation in rheumatoid arthritis. *PLoS one*. 10(2):e0115116.
267. Bar-Shavit Z. (2008). Taking a toll on the bones: regulation of bone metabolism by innate immune regulators. *Autoimmunity*. 41(3):195-203.
268. Chamberlain ND, Vila OM, Volin MV, Volkov S, Pope RM, Swedler W, Mandelin AM, 2nd, Shahrara S. (2012). TLR5, a novel and unidentified inflammatory mediator in rheumatoid arthritis that correlates with disease activity score and joint TNF-alpha levels. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 189(1):475-83.
269. Kim SJ, Chen Z, Chamberlain ND, Essani AB, Volin MV, Amin MA, Volkov S, Gravalles EM, Arami S, Swedler W, Lane NE, Mehta A, Sweiss N, Shahrara S. (2014). Ligation of TLR5 promotes myeloid cell infiltration and differentiation into mature osteoclasts in rheumatoid arthritis and experimental arthritis. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 193(8):3902-13.
270. Baillet A, Trocme C, Berthier S, Ariotto M, Grange L, Chenau J, Quetant S, Seve M, Berger F, Juvin R, Morel F, Gaudin P. (2010). Synovial fluid proteomic fingerprint: S100A8, S100A9 and S100A12 proteins discriminate rheumatoid arthritis from other inflammatory joint diseases. *Rheumatology (Oxford, England)*. 49(4):671-82.
271. Choi IY, Gerlag DM, Herenius MJ, Thurlings RM, Wijbrandts CA, Foell D, Vogl T, Roth J, Tak PP, Holzinger D. (2015). MRP8/14 serum levels as a strong predictor of response to biological treatments in patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 74(3):499-505.
272. Page TH, Charles PJ, Piccinini AM, Nicolaidou V, Taylor PC, Midwood KS. (2012). Raised circulating tenascin-C in rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy*. 14(6):R260.
273. Park SY, Lee SW, Kim HY, Lee WS, Hong KW, Kim CD. (2015). HMGB1 induces angiogenesis in rheumatoid arthritis via HIF-1alpha activation. *European journal of immunology*. 45(4):1216-27.
274. Taniguchi N, Kawahara K, Yone K, Hashiguchi T, Yamakuchi M, Goto M, Inoue K, Yamada S, Ijiri K, Matsunaga S, Nakajima T, Komiya S, Maruyama I. (2003). High mobility group box chromosomal protein 1 plays a role in the pathogenesis of rheumatoid arthritis as a novel cytokine. *Arthritis and rheumatism*. 48(4):971-81.
275. Koenders MI, Devesa I, Marijnissen RJ, Abdollahi-Roodsaz S, Boots AM, Walgreen B, di Padova FE, Nicklin MJ, Joosten LA, van den Berg WB. (2008). Interleukin-1 drives pathogenic Th17 cells during spontaneous arthritis in interleukin-1 receptor antagonist-deficient mice. *Arthritis and rheumatism*. 58(11):3461-70.
276. Abdollahi-Roodsaz S, Joosten LA, Koenders MI, van den Brand BT, van de Loo FA, van den Berg WB. (2009). Local interleukin-1-driven joint pathology is dependent on toll-like receptor 4 activation. *The American journal of pathology*. 175(5):2004-13.
277. Pierer M, Wagner U, Rossol M, Ibrahim S. (2011). Toll-like receptor 4 is involved in inflammatory and joint destructive pathways in collagen-induced arthritis in DBA1J mice. *PLoS one*. 6(8):e23539.
278. Kiyeko GW, Hatterer E, Herren S, Di Ceglie I, van Lent PL, Reith W, Kosco-Vilbois M, Ferlin W, Shang L. (2016). Spatiotemporal expression of endogenous TLR4 ligands leads to inflammation and bone erosion in mouse collagen-induced arthritis. *European journal of immunology*. 46(11):2629-38.
279. Watanabe T, Takahashi N, Hirabara S, Ishiguro N, Kojima T. (2016). Hyaluronan Inhibits Tlr-4-Dependent RANKL Expression in Human Rheumatoid Arthritis Synovial Fibroblasts. *PLoS one*. 11(4):e0153142.
280. Meyer O, Labarre C, Dougados M, Goupille P, Cantagrel A, Dubois A, Nicaise-Roland P, Sibilla J, Combe B. (2003). Anticitrullinated protein/peptide antibody assays in early rheumatoid arthritis for predicting five year radiographic damage. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 62(2):120-6.
281. Nishimura K, Sugiyama D, Kogata Y, Tsuji G, Nakazawa T, Kawano S, Saigo K, Morinobu A, Koshiba M, Kuntz KM, Karnae I, Kumagai S. (2007). Meta-analysis: diagnostic accuracy of anti-cyclic citrullinated peptide antibody and rheumatoid factor for rheumatoid arthritis. *Annals of internal medicine*. 146(11):797-808.
282. Saeki Y, Kudo-Tanaka E, Ohshima S, Matsushita M, Tsuji S, Maeda Y, Yoshimura M, Watanabe A, Katada Y, Harada Y, Ichikawa K, Suenaga Y, Ohta Y, Tohma S. (2013). Baseline anti-citrullinated peptide antibody (ACPA) titers and serum interleukin-6 (IL-6) levels possibly predict progression of bone destruction in early stages of rheumatoid arthritis (ERA). *Rheumatology international*. 33(2):451-6.
283. Hecht C, Engbrecht M, Rech J, Schmidt S, Araujo E, Engelke K, Finzel S, Schett G. (2015). Additive effect of anti-citrullinated protein antibodies and rheumatoid factor on bone erosions in patients with RA. *Annals of the rheumatic diseases*. 74(12):2151-6.
284. Harre U, Georgess D, Bang H, Bozec A, Axmann R, Ossipova E, Jakobsson PJ, Baum W, Nimmerjahn F, Szarka E, Sarmay G, Krumbholz G, Neumann E, Toes R, Scherer HU, Catrina AI, Klareskog L, Jurdic P, Schett G. (2012). Induction of osteoclastogenesis and bone loss by human autoantibodies against citrullinated vimentin. *The Journal of clinical investigation*. 122(5):1791-802.
285. Clavel C, Nogueira L, Laurent L, Iobagiu C, Vincent C, Sebbag M, Serre G. (2008). Induction of macrophage secretion of tumor necrosis factor alpha through Fc gamma receptor IIa engagement by rheumatoid arthritis-specific autoantibodies to citrullinated proteins complexed with fibrinogen. *Arthritis and rheumatism*. 58(3):678-88.
286. Lu MC, Lai NS, Yu HC, Huang HB, Hsieh SC, Yu CL. (2010). Anti-citrullinated protein antibodies bind surface-expressed citrullinated Grp78 on monocyte/macrophages and stimulate tumor necrosis factor alpha production. *Arthritis and rheumatism*. 62(5):1213-23.
287. Krishnamurthy A, Joshua V, Haj Hensvold A, Jin T, Sun M, Vivar N, Ytterberg AJ, Engstrom M, Fernandes-Cerqueira C, Amara K, Magnusson M, Wigerblad G, Kato J, Jimenez-Andrade JM, Tyson K, Rapecki S, Lundberg K, Catrina SB, Jakobsson PJ, Svensson C, Malmstrom V, Klareskog L, Wahamoa H, Catrina AI. (2016). Identification of a novel chemokine-dependent molecular mechanism underlying rheumatoid arthritis-associated autoantibody-mediated bone loss. *Annals of the rheumatic diseases*. 75(4):721-9.
288. Kleyer A, Finzel S, Rech J, Manger B, Krieter M, Faustini F, Araujo E, Hueber AJ, Harre U, Engelke K, Schett G. (2014). Bone loss before the clinical onset of rheumatoid arthritis in subjects with anticitrullinated protein antibodies. *Annals of the rheumatic diseases*. 73(5):854-60.
289. Seeling M, Hillenhoff U, David JP, Schett G, Tuckermann J, Lux A, Nimmerjahn F. (2013). Inflammatory monocytes and Fc gamma receptor IV on osteoclasts are critical for bone destruction during inflammatory arthritis in mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 110(26):10729-34.
290. Harre U, Lang SC, Pfeifle R, Rombouts Y, Fruhbesser S, Amara K, Bang H, Lux A, Koelerman CA, Baum W, Dietel K, Grohn F, Malmstrom V, Klareskog L, Kronke G, Kocijan R, Nimmerjahn F, Toes RE, Herrmann M, Scherer HU, Schett G. (2015). Glycosylation of immunoglobulin G determines osteoclast differentiation and bone loss. *Nature communications*. 6:6651.
291. Kurowska-Stolarska M, Alverini S, Ballantine LE, Asquith DL, Millar NL, Gilchrist DS, Reilly J, Iema M, Fraser AR, Stolarski B, McSharry C, Hueber AJ, Baxter D, Hunter J, Gay S, Liew FY, McInnes IB. (2011). MicroRNA-155 as a proinflammatory regulator in clinical and experimental arthritis. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 108(27):11193-8.
292. Stanczyk J, Pedrioli DM, Brentano F, Sanchez-Pernaute O, Kolling C, Gay RE, Detmar M, Gay S, Kyburz D. (2008). Altered expression of MicroRNA in synovial fibroblasts and synovial tissue in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 58(4):1001-9.
293. Fulci V, Scappucci G, Sebastiani GD, Giannitti C, Franceschini D, Meloni F, Colombo T, Citarella F, Barnaba V, Minisola G, Galeazzi M, Macino G. (2010). miR-223 is overexpressed in T-lymphocytes of patients affected by rheumatoid arthritis. *Human immunology*. 71(2):206-11.
294. Li YT, Chen SY, Wang CR, Liu MF, Lin CC, Jou IM, Shiau AL, Wu CL. (2012). Brief report: amelioration of collagen-induced arthritis in mice by lentivirus-mediated silencing of microRNA-223. *Arthritis and rheumatism*. 64(10):3240-5.
295. Nakasa T, Miyaki S, Okubo A, Hashimoto M, Nishida K, Ochi M, Asahara H. (2008). Expression of microRNA-146 in rheumatoid arthritis synovial tissue. *Arthritis and rheumatism*. 58(5):1284-92.
296. Niimoto T, Nakasa T, Ishikawa M, Okuhara A, Izumi B, Deie M, Suzuki O, Adachi N, Ochi M. (2010). MicroRNA-146a expresses in interleukin-17 producing T cells in rheumatoid arthritis patients. *BMC musculoskeletal disorders*. 11:209.
297. Taganov KD, Boldin MP, Chang KJ, Baltimore D. (2006). NF-kappaB-dependent induction of microRNA miR-146, an inhibitor targeted to signaling proteins of in-

- nate immune responses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 103(33):12481-6.
298. Nakamachi Y, Ohnuma K, Uto K, Noguchi Y, Saegusa J, Kawano S. (2016). MicroRNA-124 inhibits the progression of adjuvant-induced arthritis in rats. *Annals of the rheumatic diseases*. 75(3):601-8.
299. Matzelle MM, Gallant MA, Condon KW, Walsh NC, Manning CA, Stein GS, Lian JB, Burr DB, Gravalles EM. (2012). Resolution of inflammation induces osteoblast function and regulates the Wnt signaling pathway. *Arthritis and rheumatism*. 64(5):1540-50.
300. Gilbert L, He X, Farmer P, Boden S, Kozlowski M, Rubin J, Nanes MS. (2000). Inhibition of osteoblast differentiation by tumor necrosis factor- $\alpha$ . *Endocrinology*. 141(11):3956-64.
301. Huang H, Zhao N, Xu X, Xu Y, Li S, Zhang J, Yang P. (2011). Dose-specific effects of tumor necrosis factor  $\alpha$  on osteogenic differentiation of mesenchymal stem cells. *Cell proliferation*. 44(5):420-7.
302. Gilbert L, He X, Farmer P, Rubin J, Drissi H, van Wijnen AJ, Lian JB, Stein GS, Nanes MS. (2002). Expression of the osteoblast differentiation factor RUNX2 (Cbfa1/AML3/Pebp2 $\alpha$  A) is inhibited by tumor necrosis factor- $\alpha$ . *The Journal of biological chemistry*. 277(4):2695-701.
303. Kaneki H, Guo R, Chen D, Yao Z, Schwarz EM, Zhang YE, Boyce BF, Xing L. (2006). Tumor necrosis factor promotes Runx2 degradation through up-regulation of Smurf1 and Smurf2 in osteoblasts. *The Journal of biological chemistry*. 281(7):4326-33.
304. Nanes MS. (2003). Tumor necrosis factor- $\alpha$ : molecular and cellular mechanisms in skeletal pathology. *Gene*. 321:1-15.
305. Jilka RL, Weinstein RS, Bellido T, Parfitt AM, Manolagas SC. (1998). Osteoblast programmed cell death (apoptosis): modulation by growth factors and cytokines. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 13(5):793-802.
306. Redlich K, Gortz B, Hayer S, Zwerina J, Doerr N, Kostenuik P, Bergmeister H, Kollias G, Steiner G, Smolen JS, Schett G. (2004). Repair of local bone erosions and reversal of systemic bone loss upon therapy with anti-tumor necrosis factor in combination with osteoprotegerin or parathyroid hormone in tumor necrosis factor-mediated arthritis. *The American journal of pathology*. 164(2):543-55.
307. Stashenko P, Dewhirst FE, Rooney ML, Desjardins LA, Heeley JD. (1987). Interleukin-1  $\beta$  is a potent inhibitor of bone formation in vitro. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 2(6):559-65.
308. Hengartner NE, Fiedler J, Ignatius A, Brenner RE. (2013). IL-1 $\beta$  inhibits human osteoblast migration. *Molecular medicine (Cambridge, Mass)*. 19:36-42.
309. Diarra D, Stolina M, Polzer K, Zwerina J, Orminsky MS, Dwyer D, Korb A, Smolen J, Hoffmann M, Scheinecker C, van der Heide D, Landewe R, Lacey D, Richards WG, Schett G. (2007). Dickkopf-1 is a master regulator of joint remodeling. *Nature medicine*. 13(2):156-63.
310. Wang SY, Liu YY, Ye H, Guo JP, Li R, Liu X, Li ZG. (2011). Circulating Dickkopf-1 is correlated with bone erosion and inflammation in rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*. 38(5):821-7.
311. Rossini M, Viapiana O, Adami S, Fracassi E, Idolazzi L, Dartizio C, Povino MR, Orsolini G, Gatti D. (2015). In patients with rheumatoid arthritis, Dickkopf-1 serum levels are correlated with parathyroid hormone, bone erosions and bone mineral density. *Clinical and experimental rheumatology*. 33(1):77-83.
312. Heiland GR, Zwerina K, Baum W, Kireva T, Distler JH, Grisanti M, Asuncion F, Li X, Orminsky M, Richards W, Schett G, Zwerina J. (2010). Neutralisation of Dkk-1 protects from systemic bone loss during inflammation and reduces sclerostin expression. *Annals of the rheumatic diseases*. 69(12):2152-9.
313. Yeremenko N, Zwerina K, Rieger G, Pots D, Fonseca JE, Zwerina J, Schett G, Baeten D. (2015). Tumor necrosis factor and interleukin-6 differentially regulate Dkk-1 in the inflamed arthritic joint. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*. 67(8):2071-5.
314. de Rooy DP, Yeremenko NG, Wilson AG, Knevel R, Lindqvist E, Saxne T, Krabben A, Leijmsma MK, Daha NA, Tsonaka S, Zhemakova A, Houwing-Duistermaat JJ, Huizinga TW, Toes RE, Baeten DL, Brouwer E, van der Helm-van Mil AH. (2013). Genetic studies on components of the Wnt signalling pathway and the severity of joint destruction in rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 72(5):769-75.
315. Chen XX, Baum W, Dwyer D, Stock M, Schwabe K, Ke HZ, Stolina M, Schett G, Bozec A. (2013). Sclerostin inhibition reverses systemic, periarticular and local bone loss in arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 72(10):1732-6.
316. Mehane DA, Eissa M, Anwar S, Fakhr El-Din S. (2015). Serum Sclerostin Level Among Egyptian Rheumatoid Arthritis Patients: Relation to Disease Activity, Bone Mineral Density and Radiological Grading. *Acta reumatologica portuguesa*. 40(3):268-74.
317. Marenzana M, Vugler A, Moore A, Robinson M. (2013). Effect of sclerostin-neutralising antibody on periarticular and systemic bone in a murine model of rheumatoid arthritis: a microCT study. *Arthritis research & therapy*. 15(5):R125.
318. Wehmeyer C, Frank S, Beckmann D, Bottcher M, Cromme C, Konig U, Fennen M, Held A, Paruzel P, Hartmann C, Stratis A, Korb-Pap A, Kamradt T, Kramer I, van den Berg W, Kneissel M, Pap T, Dankbar B. (2016). Sclerostin inhibition promotes TNF-dependent inflammatory joint destruction. *Science translational medicine*. 8(330):330ra35.
319. Yu B, Chang J, Liu Y, Li J, Kevork K, Al-Hezaimi K, Graves DT, Park NH, Wang CY. (2014). Wnt4 signaling prevents skeletal aging and inflammation by inhibiting nuclear factor- $\kappa$ B. *Nature medicine*. 20(9):1009-17.
320. Maeda Y, Farina NH, Matzelle MM, Fanning PJ, Lian JB, Gravalles EM. (2016). Synovium-Derived MicroRNAs Regulate Bone Pathways in Rheumatoid Arthritis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*.
321. Bramlage CP, Haupl T, Kaps C, Ungethüm U, Krenn V, Pruss A, Müller GA, Strutz F, Burmester GR. (2006). Decrease in expression of bone morphogenetic proteins 4 and 5 in synovial tissue of patients with osteoarthritis and rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy*. 8(3):R58.
322. Denninger KC, Litman T, Marstrand T, Moller K, Svensson L, Labuda T, Andersson A. (2015). Kinetics of gene expression and bone remodelling in the clinical phase of collagen-induced arthritis. *Arthritis research & therapy*. 17:43.
323. Yuan T-I, Chen J, Tong Y-I, Zhang Y, Liu Y-y, Wei J-C-C, Liu Y, Zhao Y, Herrmann M. (2016). Serum Heme Oxygenase-1 and BMP-7 Are Potential Biomarkers for Bone Metabolism in Patients with Rheumatoid Arthritis and Ankylosing Spondylitis. *BioMed Research International*. 2016:7870925.
324. Matzelle MM, Shaw AT, Baum R, Maeda Y, Li J, Karmakar S, Manning CA, Walsh NC, Rosen V, Gravalles EM. (2016). Inflammation in arthritis induces expression of BMP3, an inhibitor of bone formation. *Scandinavian journal of rheumatology*. 45(5):379-83.
325. Shimizu S, Shiozawa S, Shiozawa K, Imura S, Fujita T. (1985). Quantitative histologic studies on the pathogenesis of periarticular osteoporosis in rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 28(1):25-31.
326. Goldring SR. (2009). Periarticular bone changes in rheumatoid arthritis: pathophysiological implications and clinical utility. *Annals of the rheumatic diseases*. 68(3):297-9.
327. Guler-Yuksel M, Allaart CF, Goekoop-Ruiterman YP, de Vries-Bouwstra JK, van Groenendaal JH, Mallee C, de Bois MH, Bredveld FC, Dijkmans BA, Lems WF. (2009). Changes in hand and generalised bone mineral density in patients with recent-onset rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 68(3):330-6.
328. Hoff M, Haugeberg G, Odegard S, Syversen S, Landewe R, van der Heijde D, Kvien TK. (2009). Cortical hand bone loss after 1 year in early rheumatoid arthritis predicts radiographic hand joint damage at 5-year and 10-year follow-up. *Annals of the rheumatic diseases*. 68(3):324-9.
329. Stewart A, Mackenzie LM, Black AJ, Reid DM. (2004). Predicting erosive disease in rheumatoid arthritis. A longitudinal study of changes in bone density using digital X-ray radiogrammetry: a pilot study. *Rheumatology (Oxford, England)*. 43(12):1561-4.
330. Kato G, Shimizu Y, Arai Y, Suzuki N, Sugamori Y, Maeda M, Takahashi M, Tamura Y, Wakabayashi N, Murali R, Ono T, Ohya K, Mise-Omata S, Aoki K. (2015). The inhibitory effects of a RANKL-binding peptide on articular and periarticular bone loss in a murine model of collagen-induced arthritis: a bone histomorphometric study. *Arthritis research & therapy*. 17:251.
331. Ochi S, Shinohara M, Sato K, Guber HJ, Koga T, Kodama T, Takai T, Miyasaka N, Takayanagi H. (2007). Pathological role of osteoclast costimulation in arthritis-induced bone loss. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 104(27):11394-9.
332. Shimizu T, Takahata M, Kameda Y, Endo T, Hamano H, Hiratsuka S, Ota M, Iwasaki N. (2015). Sialic acid-binding immunoglobulin-like lectin 15 (Siglec-15) mediates periarticular bone loss, but not joint destruction, in murine antigen-induced arthritis. *Bone*. 79:65-70.
333. Frost HM. (2003). Bone's mechanostat: a 2003 update. *The anatomical record Part A, Discoveries in molecular, cellular, and evolutionary biology*. 275(2):1081-101.
334. Geusens P, Lems WF. (2011). Osteoimmunology and osteoporosis. *Arthritis research & therapy*. 13(5):242.
335. Di Munno O, Delle Sedie A. (2008). Effects of glucocorticoid treatment on focal and systemic bone loss in rheumatoid arthritis. *Journal of endocrinological investigation*. 31(7 Suppl):43-7.
336. Madsen OR, Sorensen OH, Egsomose C. (2002). Bone quality and bone mass as assessed by quantitative ultrasound and dual energy x ray absorptiometry in women with rheumatoid arthritis: relationship with quadriceps strength. *Annals of the rheumatic diseases*. 61(4):325-9.
337. Sinigaglia L, Nervetti A, Mela Q, Bianchi G, Del Puente A, Di Munno O, Frediani B, Cantatore F, Pellerito R, Bartolone S, La Montagna G, Adami S. (2000). A multi-center cross sectional study on bone mineral density in rheumatoid arthritis. *Italian Study Group on Bone Mass in Rheumatoid Arthritis. The Journal of rheumatology*.

- 27(11):2582-9.
338. van Staa TP, Geusens P, Bijlsma JW, Leuffkens HG, Cooper C. (2006). Clinical assessment of the long-term risk of fracture in patients with rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 54(10):3104-12.
339. Compston JE, Vedi S, Croucher PI, Garrahan NJ, O'Sullivan MM. (1994). Bone turnover in non-steroid treated rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 53(3):163-6.
340. Gough A, Sambrook P, Devlin J, Huissoon A, Njeh C, Robbins S, Nguyen T, Emery P. (1998). Osteoclastic activation is the principal mechanism leading to secondary osteoporosis in rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*. 25(7):1282-9.
341. Iwamoto J, Takeda T, Ichimura S. (2003). Urinary cross-linked N-telopeptides of type I collagen levels in patients with rheumatoid arthritis. *Calcified tissue international*. 72(4):491-7.
342. Schett G, Redlich K, Hayer S, Zwerina J, Bolon B, Dunstan C, Gortz B, Schulz A, Bergmeister H, Kollias G, Steiner G, Smolen JS. (2003). Osteoprotegerin protects against generalized bone loss in tumor necrosis factor-transgenic mice. *Arthritis and rheumatism*. 48(7):2042-51.
343. Stolina M, Adamu S, Ominsky M, Dwyer D, Asuncion F, Geng Z, Middleton S, Brown H, Pretorius J, Schett G, Bolon B, Felge U, Zack D, Kostenuik PJ. (2005). RANKL is a marker and mediator of local and systemic bone loss in two rat models of inflammatory arthritis. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 20(10):1756-65.
344. Saidenberg-Kermanac'h N, Corrado A, Lemeiter D, deVernejoul MC, Boissier MC, Cohen-Solal ME. (2004). TNF-alpha antibodies and osteoprotegerin decrease systemic bone loss associated with inflammation through distinct mechanisms in collagen-induced arthritis. *Bone*. 35(5):1200-7.
345. Verbruggen A, De Clerck LS, Bridts CH, Van Offel JF, Stevens WJ. (1999). Flow cytometrical determination of interleukin 1beta, interleukin 6 and tumour necrosis factor alpha in monocytes of rheumatoid arthritis patients; relation with parameters of osteoporosis. *Cytokine*. 11(11):869-74.
346. Barnabe C, Hanley DA. (2009). Effect of tumor necrosis factor alpha inhibition on bone density and turnover markers in patients with rheumatoid arthritis and spondyloarthritis. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 39(2):116-22.
347. Lange U, Teichmann J, Muller-Ladner U, Strunk J. (2005). Increase in bone mineral density of patients with rheumatoid arthritis treated with anti-TNF-alpha antibody: a prospective open-label pilot study. *Rheumatology (Oxford, England)*. 44(12):1546-8.
348. Seriollo B, Paolino S, Sulli A, Ferretti V, Cutolo M. (2006). Bone metabolism changes during anti-TNF-alpha therapy in patients with active rheumatoid arthritis. *Annals of the New York Academy of Sciences*. 1069:420-7.
349. Vis M, Havaardsholm EA, Haugeberg G, Uhlig T, Voskuyl AE, van de Stadt RJ, Dijkmans BA, Woolf AD, Kvien TK, Lems WF. (2006). Evaluation of bone mineral density, bone metabolism, osteoprotegerin and receptor activator of the NFkappaB ligand serum levels during treatment with infliximab in patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 65(11):1495-9.
350. Polzer K, Joosten L, Gasser J, Distler JH, Ruiz G, Baum W, Redlich K, Bobacz K, Smolen JS, van den Berg W, Schett G, Zwerina J. (2010). Interleukin-1 is essential for systemic inflammatory bone loss. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 69(01):284-90.
351. Abdel Meguid MH, Hamad YH, Swilam RS, Barakat MS. (2013). Relation of interleukin-6 in rheumatoid arthritis patients to systemic bone loss and structural bone damage. *Rheumatology international*. 33(3):697-703.
352. Tanaka K, Hashizume M, Mihara M, Yoshida H, Suzuki M, Matsumoto Y. (2014). Anti-interleukin-6 receptor antibody prevents systemic bone mass loss via reducing the number of osteoclast precursors in bone marrow in a collagen-induced arthritis model. *Clinical and experimental immunology*. 175(2):172-80.
353. Bugatti S, Bogliolo L, Vitolo B, Manzo A, Montecucco C, Caporali R. (2016). Anti-citrullinated protein antibodies and high levels of rheumatoid factor are associated with systemic bone loss in patients with early untreated rheumatoid arthritis. *Arthritis research & therapy*. 18(1):226.
354. Iwata T, Ito H, Furu M, Hashimoto M, Fujii T, Ishikawa M, Yamakawa N, Terao C, Azukizawa M, Hamamoto Y, Mimori T, Akiyama H, Matsuda S. (2016). Periarticular osteoporosis of the forearm correlated with joint destruction and functional impairment in patients with rheumatoid arthritis. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 27(2):691-701.
355. Ideguchi H, Ohno S, Hattori H, Senuma A, Ishigatsubo Y. (2006). Bone erosions in rheumatoid arthritis can be repaired through reduction in disease activity with conventional disease-modifying antirheumatic drugs. *Arthritis research & therapy*. 8(3):R76.
356. van der Linden MP, Boja R, Klarenbeek NB, Huizinga TW, van der Heijde DM, van der Helm-van Mil AH. (2010). Repair of joint erosions in rheumatoid arthritis: prevalence and patient characteristics in a large inception cohort. *Annals of the rheumatic diseases*. 69(4):727-9.
357. Lukas C, van der Heijde D, Fatenajad S, Landewe R. (2010). Repair of erosions occurs almost exclusively in damaged joints without swelling. *Annals of the rheumatic diseases*. 69(5):851-5.
358. Moller Dohn U, Boonen A, Hetland ML, Hansen MS, Knudsen LS, Hansen A, Madsen OR, Hasselquist M, Moller JM, Ostergaard M. (2009). Erosive progression is minimal, but erosion healing rare, in patients with rheumatoid arthritis treated with adalimumab. A 1 year investigator-initiated follow-up study using high-resolution computed tomography as the primary outcome measure. *Annals of the rheumatic diseases*. 68(10):1585-90.
359. Hashimoto J, Garner P, van der Heijde D, Miyasaka N, Yamamoto K, Kawai S, Takeuchi T, Yoshikawa H, Nishimoto N. (2011). Humanized anti-interleukin-6-receptor antibody (tocilizumab) monotherapy is more effective in slowing radiographic progression in patients with rheumatoid arthritis at high baseline risk for structural damage evaluated with levels of biomarkers, radiography, and BMI: data from the SAMURAI study. *Modern rheumatology*. 21(1):10-5.
360. Kremer JM, Genant HK, Moreland LW, Russell AS, Emery P, Abud-Mendoza C, Szechinski J, Li T, Ge Z, Becker JC, Westhovens R. (2006). Effects of abatacept in patients with methotrexate-resistant active rheumatoid arthritis: a randomized trial. *Annals of internal medicine*. 144(12):865-76.
361. Migliore A, Massafra U, Bizzi E, Argento G, Diamanti AP, Germano V, Tormenta S, Arduini F, Iannessi F, Granatas M, Lagana M. (2012). May etanercept and PTH (1-34) association heal erosions in early rheumatoid arthritis? A pilot study. *European review for medical and pharmacological sciences*. 16(3):363-9.
362. Takeuchi T, Tanaka Y, Ishiguro N, Yamanaka H, Yoneda T, Ohira T, Okubo N, Genant HK, van der Heijde D. (2016). Effect of denosumab on Japanese patients with rheumatoid arthritis: a dose-response study of AMG 162 (Denosumab) in patients with Rheumatoid arthritis on methotrexate to Validate inhibitory effect on bone Erosion (DRIVE) - a 12-month, multicentre, randomised, double-blind, placebo-controlled, phase II clinical trial. *Annals of the Rheumatic Diseases*. 75(6):983-90.
363. Lee EB, Fleischmann R, Hall S, Wilkinson B, Bradley JD, Gruben D, Koncz T, Krishnaswami S, Wallenstein GV, Zang C, Zwillich SH, van Vollenhoven RF. (2014). Tofacitinib versus methotrexate in rheumatoid arthritis. *The New England journal of medicine*. 370(25):2377-86.
364. Meyer DM, Jesson MI, Li X, Elrick MM, Funckes-Shippy CL, Warner JD, Gross CJ, Dowty ME, Ramaiah SK, Hirsch JL, Saabye MJ, Barks JL, Kishore N, Morris DL. (2010). Anti-inflammatory activity and neutrophil reductions mediated by the JAK1/JAK3 inhibitor, CP-690,550, in rat adjuvant-induced arthritis. *Journal of inflammation (London, England)*. 7:41.
365. Pfeil A, Lippold J, Eidner T, Lehmann G, Oelzner P, Renz DM, Hansch A, Wolf G, Hein G, Kaiser WA, Botzcher J. (2009). Effects of leflunomide and methotrexate in rheumatoid arthritis detected by digital X-ray radiogrammetry and computer-aided joint space analysis. *Rheumatology international*. 29(3):287-95.
366. Hoff M, Kvien TK, Kalvesten J, Elden A, Kavanaugh A, Haugeberg G. (2011). Adalimumab reduces hand bone loss in rheumatoid arthritis independent of clinical response: subanalysis of the PREMIER study. *BMC musculoskeletal disorders*. 12:54.
367. Eekman DA, Vis M, Bultink IE, Kuik DJ, Voskuyl AE, Dijkmans BA, Lems WF. (2011). Stable bone mineral density in lumbar spine and hip in contrast to bone loss in the hands during long-term treatment with infliximab in patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 70(2):389-90.
368. Krieckaert CL, Nurmohamed MT, Wolbink G, Lems WF. (2013). Changes in bone mineral density during long-term treatment with adalimumab in patients with rheumatoid arthritis: a cohort study. *Rheumatology (Oxford, England)*. 52(3):547-53.
369. Sharp JT, Tsuji W, Ory P, Harper-Barek C, Wang H, Newmark R. (2010). Denosumab prevents metacarpal shaft cortical bone loss in patients with erosive rheumatoid arthritis. *Arthritis care & research*. 62(4):537-44.
370. Zonneveld IM, Bakker WK, Dijkstra PF, Bos JD, van Soesbergen RM, Dinant HJ. (1996). Methotrexate osteopathy in long-term, low-dose methotrexate treatment for psoriasis and rheumatoid arthritis. *Archives of dermatology*. 132(2):184-7.
371. Buckley LM, Leib ES, Cartularo S, Vacek PM, Cooper SM. (1997). Effects of low dose methotrexate on the bone mineral density of patients with rheumatoid arthritis. *The Journal of rheumatology*. 24(8):1489-94.
372. Cranney AB, McKendry RJ, Wells GA, Ooi DS, Kanigsberg ND, Kraag GR, Smith CD. (2001). The effect of low dose methotrexate on bone density. *The Journal of rheumatology*. 28(11):2395-9.
373. Minaur NJ, Kounali D, Vedi S, Compston JE, Beresford JN, Bhalla AK. (2002). Methotrexate in the treatment of rheumatoid arthritis. II. In vivo effects on bone mineral density. *Rheumatology (Oxford, England)*. 41(7):741-9.
374. Tascioglu F, Oner C, Armagan O. (2003). The effect of low-dose methotrexate on bone mineral density in patients with early rheumatoid arthritis. *Rheumatology international*. 23(5):231-5.
375. Dilek K, Ali I, Goksal K, Huseyin T, Guner T. (2002). The effects of sulphasalazine on urinary excretion of the hydroxyypyridinium crosslinks of collagen in patients with rheumatoid arthritis. *Yonsei medical journal*. 43(4):435-40.

376. Tengstrand B, Hafstrom I. (2002). Bone mineral density in men with rheumatoid arthritis is associated with erosive disease and sulfasalazine treatment but not with sex hormones. *The Journal of rheumatology*. 29(11):2299-305.
377. Korczowska I, Lacki JK, Hrycaj P. (2013). Influence of infliximab on cytokines network and markers of bone remodeling in rheumatoid arthritis patients. *Yonsei medical journal*. 54(1):183-8.
378. Torikai E, Kageyama Y, Takahashi M, Suzuki M, Ichikawa T, Nagafusa T, Nagano A. (2006). The effect of infliximab on bone metabolism markers in patients with rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford, England)*. 45(6):761-4.
379. Yasunori K, Masaaki T, Tetsuyuki N, Hayato K, Akira N. (2008). Reduction of urinary levels of pyridinoline and deoxypyridinoline and serum levels of soluble receptor activator of NF-kappaB ligand by etanercept in patients with rheumatoid arthritis. *Clinical rheumatology*. 27(9):1093-101.
380. Chopin F, Garnero P, le Henanff A, Debais F, Daragon A, Roux C, Sany J, Wendling D, Zarnitsky C, Ravaud P, Thomas T. (2008). Long-term effects of infliximab on bone and cartilage turnover markers in patients with rheumatoid arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 67(3):353-7.
381. Ziolkowska M, Kurowska M, Radzikowska A, Luszczkiewicz G, Wiland P, Dziejczopolski W, Filipowicz-Sosnowska A, Pazdur J, Szechinski J, Kowalczewski J, Rell-Bakalarska M, Maslinski W. (2002). High levels of osteoprotegerin and soluble receptor activator of nuclear factor kappa B ligand in serum of rheumatoid arthritis patients and their normalization after anti-tumor necrosis factor alpha treatment. *Arthritis and rheumatism*. 46(7):1744-53.
382. Marotte H, Pallot-Prades B, Grange L, Gaudin P, Alexandre C, Miossec P. (2007). A 1-year case-control study in patients with rheumatoid arthritis indicates prevention of loss of bone mineral density in both responders and nonresponders to infliximab. *Arthritis research & therapy*. 9(3):R61.
383. Vis M, Voskuyl AE, Wolbink GJ, Dijkmans BA, Lems WF. (2005). Bone mineral density in patients with rheumatoid arthritis treated with infliximab. *Annals of the rheumatic diseases*. 64(2):336-7.
384. Vis M, Wolbink GJ, Lodder MC, Kostense PJ, van de Stadt RJ, de Koning MH, Dijkmans BA, Lems WF. (2003). Early changes in bone metabolism in rheumatoid arthritis patients treated with infliximab. *Arthritis and rheumatism*. 48(10):2996-7.
385. Wijbrandts CA, Klaasen R, Dijkgraaf MG, Gerlag DM, van Eck-Smit BL, Tak PP. (2009). Bone mineral density in rheumatoid arthritis patients 1 year after adalimumab therapy: arrest of bone loss. *Annals of the rheumatic diseases*. 68(3):373-6.
386. Coulson KA, Reed G, Gilliam BE, Kremer JM, Pepmueller PH. (2009). Factors influencing fracture risk, T score, and management of osteoporosis in patients with rheumatoid arthritis in the Consortium of Rheumatology Researchers of North America (CORRONA) registry. *Journal of clinical rheumatology : practical reports on rheumatic & musculoskeletal diseases*. 15(4):155-60.
387. Kawai VK, Grijalva CG, Arbogast PG, Curtis JR, Solomon DH, Delzell E, Chen L, Ouellet-Hellstrom R, Herrinton L, Liu L, Mitchell EF, Jr., Stein CM, Griffin MR. (2013). Initiation of tumor necrosis factor alpha antagonists and risk of fractures in patients with selected rheumatic and autoimmune diseases. *Arthritis care & research*. 65(7):1085-94.
388. Kim SY, Schneeweiss S, Liu J, Solomon DH. (2012). Effects of disease-modifying antirheumatic drugs on nonvertebral fracture risk in rheumatoid arthritis: a population-based cohort study. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 27(4):789-96.
389. Briot K, Rouanet S, Schaeferbeke T, Etchepare F, Gaudin P, Perdriger A, Vray M, Steinberg G, Roux C. (2015). The effect of tocilizumab on bone mineral density, serum levels of Dickkopf-1 and bone remodeling markers in patients with rheumatoid arthritis. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme*. 82(2):109-15.
390. Garnero P, Thompson E, Woodworth T, Smolen JS. (2010). Rapid and sustained improvement in bone and cartilage turnover markers with the anti-interleukin-6 receptor inhibitor tocilizumab plus methotrexate in rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to methotrexate: results from a substudy of the multicenter double-blind, placebo-controlled trial of tocilizumab in inadequate responders to methotrexate alone. *Arthritis and rheumatism*. 62(1):33-43.
391. Karsdal MA, Schett G, Emery P, Harari O, Byrjalsen I, Kenwright A, Bay-Jensen AC, Platt A. (2012). IL-6 receptor inhibition positively modulates bone balance in rheumatoid arthritis patients with an inadequate response to anti-tumor necrosis factor therapy: biochemical marker analysis of bone metabolism in the tocilizumab RADIATE study (NCT00106522). *Seminars in arthritis and rheumatism*. 42(2):131-9.
392. Terpos E, Fragiadaki K, Konsta M, Bratengeier C, Papatheodorou A, Sfikakis PP. (2011). Early effects of IL-6 receptor inhibition on bone homeostasis: a pilot study in women with rheumatoid arthritis. *Clinical and experimental rheumatology*. 29(6):921-5.
393. Kume K, Amano K, Yamada S, Kanazawa T, Ohta H, Hatta K, Amano K, Kuwaba N. (2014). The effect of tocilizumab on bone mineral density in patients with methotrexate-resistant active rheumatoid arthritis. *Rheumatology (Oxford, England)*. 53(5):900-3.
394. Hein G, Eidner T, Oelzner P, Rose M, Wilke A, Wolf G, Franke S. (2011). Influence of Rituximab on markers of bone remodeling in patients with rheumatoid arthritis: a prospective open-label pilot study. *Rheumatology international*. 31(2):269-72.
395. Wheeler G, Hogan VE, Teng YK, Tekstra J, Lafeber FP, Huizinga TW, Bijlsma JW, Francis RM, Tuck SP, Datta HK, van Laar JM. (2011). Suppression of bone turnover by B-cell depletion in patients with rheumatoid arthritis. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 22(12):3067-72.
396. Boumans MJ, Thurlings RM, Yeo L, Scheel-Toellner D, Vos K, Gerlag DM, Tak PP. (2012). Rituximab abrogates joint destruction in rheumatoid arthritis by inhibiting osteoclastogenesis. *Annals of the rheumatic diseases*. 71(1):108-13.
397. Dore RK, Cohen SB, Lane NE, Palmer W, Shergy W, Zhou L, Wang H, Tsuji W, Newmark R. (2010). Effects of denosumab on bone mineral density and bone turnover in patients with rheumatoid arthritis receiving concurrent glucocorticoids or bisphosphonates. *Annals of the rheumatic diseases*. 69(5):872-5.
398. Ritchlin CT, Haas-Smith SA, Li P, Hicks DG, Schwarz EM. (2003). Mechanisms of TNF-alpha- and RANKL-mediated osteoclastogenesis and bone resorption in psoriatic arthritis. *The Journal of clinical investigation*. 111(6):821-31.
399. Sieper J, Rudwaleit M, Baraliakos X, Brandt J, Braun J, Burgos-Vargas R, Dougados M, Hermann KG, Landewe R, Maksymowych W, van der Heijde D. (2009). The Assessment of SpondyloArthritis international Society (ASAS) handbook: a guide to assess spondyloarthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 68 Suppl 2:ii1-44.
400. Claudepierre P, Voisin MC. (2005). The entheses: histology, pathology, and pathophysiology. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme*. 72(1):32-7.
401. Ramiro S, van Tubergen A, van der Heijde D, Stolwijk C, Bookelman G, Dougados M, van den Bosch F, Landewe RB. (2014). Brief report: erosions and sclerosis on radiographs precede the subsequent development of syndesmophytes at the same site: a twelve-year prospective followup of patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*. 66(10):2773-9.
402. McGonagle D, Wakefield RJ, Tan AL, D'Agostino MA, Toumi H, Hayashi K, Emery P, Benjamin M. (2008). Distinct topography of erosion and new bone formation in achilles tendon enthesitis: implications for understanding the link between inflammation and bone formation in spondylarthritis. *Arthritis and rheumatism*. 58(9):2694-9.
403. Lories RJ, Dereze I, Luyten FP. (2005). Modulation of bone morphogenetic protein signaling inhibits the onset and progression of ankylosing enthesitis. *The Journal of clinical investigation*. 115(6):1571-9.
404. Lefebvre V, Bhattaram P. (2010). Vertebrate skeletogenesis. *Current topics in developmental biology*. 90:291-317.
405. Ball J. (1971). Enthesopathy of rheumatoid and ankylosing spondylitis. *Annals of the rheumatic diseases*. 30(3):213-23.
406. Lories RJ, Dereze I, Ceuppens JL, Luyten FP. (2003). Bone morphogenetic proteins 2 and 6, expressed in arthritic synovium, are regulated by proinflammatory cytokines and differentially modulate fibroblast-like synoviocyte apoptosis. *Arthritis and rheumatism*. 48(10):2807-18.
407. Park MC, Park YB, Lee SK. (2008). Relationship of bone morphogenetic proteins to disease activity and radiographic damage in patients with ankylosing spondylitis. *Scandinavian journal of rheumatology*. 37(3):200-4.
408. Wendling D, Cedoz JP, Racadet E, Dumoulin G. (2007). Serum IL-17, BMP-7, and bone turnover markers in patients with ankylosing spondylitis. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme*. 74(3):304-5.
409. Chen HA, Chen CH, Lin YJ, Chen PC, Chen WS, Lu CL, Chou CT. (2010). Association of bone morphogenetic proteins with spinal fusion in ankylosing spondylitis. *The Journal of rheumatology*. 37(10):2126-32.
410. Grcevic D, Jajic Z, Kovacic N, Lukic IK, Velagic V, Grubisic F, Ivcevic S, Marusic A. (2010). Peripheral blood expression profiles of bone morphogenetic proteins, tumor necrosis factor-superfamily molecules, and transcription factor Runx2 could be used as markers of the form of arthritis, disease activity, and therapeutic responsiveness. *The Journal of rheumatology*. 37(2):246-56.
411. Chen MH, Chen HA, Chen WS, Chen MH, Tsai CY, Chou CT. (2015). Upregulation of BMP-2 expression in peripheral blood mononuclear cells by proinflammatory cytokines and radiographic progression in ankylosing spondylitis. *Modern rheumatology*. 25(6):913-8.
412. Xie Z, Wang P, Li Y, Deng W, Zhang X, Su H, Li D, Wu Y, Shen H. (2016). Imbalance Between Bone Morphogenetic Protein 2 and Noggin Induces Abnormal Osteogenic Differentiation of Mesenchymal Stem Cells in Ankylosing Spondylitis. *Arthritis & rheumatology (Hoboken, NJ)*. 68(2):430-40.
413. Tsui FW, Tsui HW, Las Heras F, Pritzker KP, Inman RD. (2014). Serum levels of novel noggin and sclerostin-immune complexes are elevated in ankylosing spondylitis. *Annals of the rheumatic diseases*. 73(10):1873-9.
414. Haynes KR, Pettit AR, Duan R, Tseng HW, Glant TT, Brown MA, Thomas GP.

- (2012). Excessive bone formation in a mouse model of ankylosing spondylitis is associated with decreases in Wnt pathway inhibitors. *Arthritis research & therapy*. 14(6):R253.
415. Uderhardt S, Diarra D, Katzenbeisser J, David JP, Zwerina J, Richards W, Kronke G, Schett G. (2010). Blockade of Dickkopf (DKK)-1 induces fusion of sacroiliac joints. *Annals of the rheumatic diseases*. 69(3):592-7.
416. Kwon SR, Lim MJ, Suh CH, Park SG, Hong YS, Yoon BY, Kim HA, Choi HJ, Park W. (2012). Dickkopf-1 level is lower in patients with ankylosing spondylitis than in healthy people and is not influenced by anti-tumor necrosis factor therapy. *Rheumatology international*. 32(8):2523-7.
417. Taylan A, Sari I, Akinci B, Bilge S, Kozaci D, Akar S, Colak A, Yalcin H, Gunay N, Akkoc N. (2012). Biomarkers and cytokines of bone turnover: extensive evaluation in a cohort of patients with ankylosing spondylitis. *BMC musculoskeletal disorders*. 13:191.
418. Nocturne G, Pavy S, Boudaoud S, Seror R, Goupille P, Chanson P, van der Heijde D, van Gaalen F, Berenbaum F, Mariette X, Briot K, Feydy A, Claudepierre P, Dieude P, Nithitham J, Taylor KE, Criswell LA, Dougados M, Roux C, Miceli-Richard C. (2015). Increase in Dickkopf-1 Serum Level in Recent Spondyloarthritis. Data from the DESIR Cohort. *PLoS one*. 10(8):e0134974.
419. Zhang L, Ouyang H, Xie Z, Liang ZH, Wu XW. (2016). Serum DKK-1 level in the development of ankylosing spondylitis and rheumatic arthritis: a meta-analysis. *Experimental & molecular medicine*. 48:e228.
420. Ustun N, Tok F, Kalyoncu U, Motor S, Yuksel R, Yazig AE, Guler H, Turhanoglu AD. (2014). Sclerostin and Dkk-1 in patients with ankylosing spondylitis. *Acta reumatologica portuguesa*. 39(2):146-51.
421. Daoussis D, Lioussis SN, Solomou EE, Tsanaktsi A, Bounia K, Karampetsou M, Yannopoulos G, Andonopoulos AP. (2010). Evidence that Dkk-1 is dysfunctional in ankylosing spondylitis. *Arthritis and rheumatism*. 62(1):150-8.
422. Yucong Z, Lu L, Shengfa L, Yongliang Y, Ruguo S, Yikai L. (2014). Serum functional dickkopf-1 levels are inversely correlated with radiographic severity of ankylosing spondylitis. *Clinical laboratory*. 60(9):1527-31.
423. Heiland GR, Appel H, Poddubnyy D, Zwerina J, Hueber A, Haibel H, Baraliakos X, Listing J, Rudwaleit M, Schett G, Sieper J. (2012). High level of functional dickkopf-1 predicts protection from syndesmophyte formation in patients with ankylosing spondylitis. *Annals of the rheumatic diseases*. 71(4):572-4.
424. Rubio Vargas R, Melguizo Madrid E, Gonzalez Rodriguez C, Navarro Sarabia F, Dominguez Quesada C, Ariza Ariza R, Navarro Compan V. (2016). Association between serum dickkopf-1 levels and disease duration in axial spondyloarthritis. *Reumatologia clinica*.
425. Klingberg E, Nurkkala M, Carlsten H, Forsblad-d'Elia H. (2014). Biomarkers of bone metabolism in ankylosing spondylitis in relation to osteoproliferation and osteoporosis. *The Journal of rheumatology*. 41(7):1349-56.
426. Appel H, Ruiz-Heiland G, Listing J, Zwerina J, Herrmann M, Mueller R, Haibel H, Baraliakos X, Hempfing A, Rudwaleit M, Sieper J, Schett G. (2009). Altered skeletal expression of sclerostin and its link to radiographic progression in ankylosing spondylitis. *Arthritis and rheumatism*. 60(11):3257-62.
427. Xie J, Yu X. (2015). [Correlation between sclerostin level and radiographic changes in patients with ankylosing spondylitis]. *Zhonghua yi xue za zhi*. 95(17):1300-4.
428. Haynes KR, Tseng HW, Kneissel M, Glant TT, Brown MA, Thomas GP. (2015). Treatment of a mouse model of ankylosing spondylitis with exogenous sclerostin has no effect on disease progression. *BMC musculoskeletal disorders*. 16:368.
429. Aschermann S, Englbrecht M, Bergua A, Spriewald BM, Said-Nahal R, Breban M, Schett G, Rech J. (2016). Presence of HLA-B27 is associated with changes of serum levels of mediators of the Wnt and hedgehog pathway. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme*. 83(1):43-6.
430. Daoussis D, Filippopoulou A, Lioussis SN, Sirinian C, Klavdianou K, Bouris P, Karamanos NK, Andonopoulos AP. (2015). Anti-TNFalpha treatment decreases the previously increased serum Indian Hedgehog levels in patients with ankylosing spondylitis and affects the expression of functional Hedgehog pathway target genes. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 44(6):646-51.
431. Ruiz-Heiland G, Horn A, Zerr P, Hofstetter W, Baum W, Stock M, Distler JH, Nimmerjahn F, Schett G, Zwerina J. (2012). Blockade of the hedgehog pathway inhibits osteophyte formation in arthritis. *Annals of the rheumatic diseases*. 71(3):400-7.
432. Mei Y, Pan F, Gao J, Ge R, Duan Z, Zeng Z, Liao F, Xia G, Wang S, Xu S, Xu J, Zhang L, Ye D. (2011). Increased serum IL-17 and IL-23 in the patient with ankylosing spondylitis. *Clinical rheumatology*. 30(2):269-73.
433. Wang X, Lin Z, Wei Q, Jiang Y, Gu J. (2009). Expression of IL-23 and IL-17 and effect of IL-23 on IL-17 production in ankylosing spondylitis. *Rheumatology international*. 29(11):1343-7.
434. Chen WS, Chang YS, Lin KC, Lai CC, Wang SH, Hsiao KH, Lee HT, Chen MH, Tsai CY, Chou CT. (2012). Association of serum interleukin-17 and interleukin-23 levels with disease activity in Chinese patients with ankylosing spondylitis. *Journal of the Chinese Medical Association : JCMSA*. 75(7):303-8.
435. Jandus C, Bioley G, Rivals JP, Dudler J, Spelsers D, Romero P. (2008). Increased numbers of circulating polyfunctional Th17 memory cells in patients with seronegative spondylarthritis. *Arthritis and rheumatism*. 58(8):2307-17.
436. Shen H, Goodall JC, Hill Gaston JS. (2009). Frequency and phenotype of peripheral blood Th17 cells in ankylosing spondylitis and rheumatoid arthritis. *Arthritis and rheumatism*. 60(6):1647-56.
437. Kenna TJ, Davidson SJ, Duan R, Bradbury LA, McFarlane J, Smith M, Weedon H, Street S, Thomas R, Thomas GP, Brown MA. (2012). Enrichment of circulating interleukin-17-secreting interleukin-23 receptor-positive gamma/delta T cells in patients with active ankylosing spondylitis. *Arthritis and rheumatism*. 64(5):1420-9.
438. Appel H, Maier R, Bleil J, Hempfing A, Loddenkemper C, Schlichting U, Syrbe U, Sieper J. (2013). In situ analysis of interleukin-23- and interleukin-12-positive cells in the spine of patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis and rheumatism*. 65(6):1522-9.
439. Appel H, Maier R, Wu P, Scheer R, Hempfing A, Kayser R, Thiel A, Radbruch A, Loddenkemper C, Sieper J. (2011). Analysis of IL-17(+) cells in facet joints of patients with spondyloarthritis suggests that the innate immune pathway might be of greater relevance than the Th17-mediated adaptive immune response. *Arthritis research & therapy*. 13(3):R95.
440. Sherlock JP, Joyce-Shalkh B, Turner SP, Chao CC, Sathie M, Grein J, Gorman DM, Bowman EP, McClanahan TK, Yearley JH, Eberl G, Buckley CD, Kastelein RA, Pierce RH, Laface DM, Cua DJ. (2012). IL-23 induces spondyloarthropathy by acting on ROR-gamma-t+ CD3+CD4-CD8- enthesal resident T cells. *Nature medicine*. 18(7):1069-76.
441. DeLay ML, Turner MJ, Klenk EI, Smith JA, Sowders DP, Colbert RA. (2009). HLA-B27 misfolding and the unfolded protein response augment interleukin-23 production and are associated with Th17 activation in transgenic rats. *Arthritis and rheumatism*. 60(9):2633-43.
442. Turner MJ, Delay ML, Bai S, Klenk E, Colbert RA. (2007). HLA-B27 up-regulation causes accumulation of misfolded heavy chains and correlates with the magnitude of the unfolded protein response in transgenic rats: Implications for the pathogenesis of spondylarthritis-like disease. *Arthritis and rheumatism*. 56(1):215-23.
443. Turner MJ, Sowders DP, DeLay ML, Mohapatra R, Bai S, Smith JA, Brandewie JR, Taurog JD, Colbert RA. (2005). HLA-B27 misfolding in transgenic rats is associated with activation of the unfolded protein response. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 175(4):2438-48.
444. Neerincx B, Carter S, Lories RJ. (2014). No evidence for a critical role of the unfolded protein response in synovium and blood of patients with ankylosing spondylitis. *Annals of the rheumatic diseases*. 73(3):629-30.
445. Zeng L, Lindstrom MJ, Smith JA. (2011). Ankylosing spondylitis macrophage production of higher levels of interleukin-23 in response to lipopolysaccharide without induction of a significant unfolded protein response. *Arthritis and rheumatism*. 63(12):3807-17.
446. Van Praet L, Van den Bosch FE, Jacques P, Carron P, Jans L, Colman R, Glorieux E, Peeters H, Mielants H, De Vos M, Cuvelier C, Elewaut D. (2013). Microscopic gut inflammation in axial spondyloarthritis: a multiparametric predictive model. *Annals of the rheumatic diseases*. 72(3):414-7.
447. Ciccio F, Bombardieri M, Principato A, Giardina A, Tripodo C, Porcasi R, Peralta S, Franco V, Giardina E, Craxi A, Pitzalis C, Triolo G. (2009). Overexpression of interleukin-23, but not interleukin-17, as an immunologic signature of subclinical intestinal inflammation in ankylosing spondylitis. *Arthritis and rheumatism*. 60(4):955-65.
448. Ciccio F, Accardo-Palumbo A, Rizzo A, Guggino G, Raimondo S, Giardina A, Cannizzaro A, Colbert RA, Alessandro R, Triolo G. (2014). Evidence that autophagy, but not the unfolded protein response, regulates the expression of IL-23 in the gut of patients with ankylosing spondylitis and subclinical gut inflammation. *Annals of the rheumatic diseases*. 73(8):1566-74.
449. Lee EJ, Lee EJ, Chung YH, Song DH, Hong S, Lee CK, Yoo B, Kim TH, Park YS, Kim SH, Chang EJ, Kim YG. (2015). High level of interleukin-32 gamma in the joint of ankylosing spondylitis is associated with osteoblast differentiation. *Arthritis research & therapy*. 17:350.
450. Jacques P, Lambrecht S, Verheugen E, Pauwels E, Kollias G, Armaka M, Verhoye M, Van der Linden A, Achten R, Lories RJ, Elewaut D. (2014). Proof of concept: enthesitis and new bone formation in spondyloarthritis are driven by mechanical strain and stromal cells. *Annals of the rheumatic diseases*. 73(2):437-45.
451. Francois RJ, Neure L, Sieper J, Braun J. (2006). Immunohistological examination of open sacroiliac biopsies of patients with ankylosing spondylitis: detection of tumour necrosis factor alpha in two patients with early disease and transforming growth factor beta in three more advanced cases. *Annals of the rheumatic diseases*. 65(6):713-20.
452. Marzo-Ortega H, O'Connor P, Emery P, McGonagle D. (2007). Sacroiliac joint biopsies in early sacroiliitis. *Rheumatology (Oxford, England)*. 46(7):1210-1.
453. Appel H, Kuhne M, Spiekermann S, Kohler D, Zacher J, Stein H, Sieper J, Loddenkemper C. (2006). Immunohistochemical analysis of hip arthritis in ankylosing spondylitis: evaluation of the bone-cartilage interface and subchondral bone mar-

- row. *Arthritis and rheumatism*. 54(6):1805-13.
454. Braun J, Bollow M, Neure L, Seipelt E, Seyrekbasan F, Herbst H, Eggens U, Distler A, Sieper J. (1995). Use of immunohistologic and in situ hybridization techniques in the examination of sacroiliac joint biopsy specimens from patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis and rheumatism*. 38(4):499-505.
455. Baraliakos X, Listing J, Brandt J, Haibel H, Rudwaleit M, Sieper J, Braun J. (2007). Radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis after 4 yrs of treatment with the anti-TNF-alpha antibody infliximab. *Rheumatology (Oxford, England)*. 46(9):1450-3.
456. Baraliakos X, Listing J, Rudwaleit M, Brandt J, Sieper J, Braun J. (2005). Radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis after 2 years of treatment with the tumour necrosis factor alpha antibody infliximab. *Annals of the rheumatic diseases*. 64(10):1462-6.
457. Baraliakos X, Listing J, Haibel H, Sieper J, Braun J. (2013). Vertebral erosions associated with spinal inflammation in patients with ankylosing spondylitis identified by magnetic resonance imaging: changes after 2 years of tumor necrosis factor inhibitor therapy. *The Journal of rheumatology*. 40(11):1891-6.
458. Frediani B, Allegri A, Falsetti P, Storri L, Bisogno S, Baldi F, Filippini P, Marcolongo R. (2001). Bone mineral density in patients with psoriatic arthritis. *The Journal of rheumatology*. 28(1):138-43.
459. Lee YS, Schlotzhauer T, Ott SM, van Vollenhoven RF, Hunter J, Shapiro J, Marcus R, McGuire JL. (1997). Skeletal status of men with early and late ankylosing spondylitis. *The American journal of medicine*. 103(3):233-41.
460. Will R, Palmer R, Bhalla AK, Ring F, Calin A. (1989). Osteoporosis in early ankylosing spondylitis: a primary pathological event? *Lancet (London, England)*. 2(8678-8679):1483-5.
461. Karberg K, Zochling J, Sieper J, Felsenberg D, Braun J. (2005). Bone loss is detected more frequently in patients with ankylosing spondylitis with syndesmophytes. *The Journal of rheumatology*. 32(7):1290-8.
462. Lange U, Kluge A, Strunk J, Teichmann J, Bachmann G. (2005). Ankylosing spondylitis and bone mineral density - what is the ideal tool for measurement? *Rheumatology international*. 26(2):115-20.
463. Nigil Haroon N, Szabo E, Raboud JM, McDonald-Blumer H, Fung L, Josse RG, Inman RD, Cheung AM. (2015). Alterations of bone mineral density, bone micro-architecture and strength in patients with ankylosing spondylitis: a cross-sectional study using high-resolution peripheral quantitative computerized tomography and finite element analysis. *Arthritis research & therapy*. 17:377.
464. Ghazani I, Ghazi M, Nouijai A, Mounach A, Rezqi A, Achemral L, Bezza A, El Maghraoui A. (2009). Prevalence and risk factors of osteoporosis and vertebral fractures in patients with ankylosing spondylitis. *Bone*. 44(5):772-6.
465. Cooper C, Carbone L, Michet CJ, Atkinson EJ, O'Fallon WM, Melton LJ, 3rd. (1994). Fracture risk in patients with ankylosing spondylitis: a population based study. *The Journal of rheumatology*. 21(10):1877-82.
466. Vosse D, Landewe R, van der Heijde D, van der Linden S, van Staa TP, Geusens P. (2009). Ankylosing spondylitis and the risk of fracture: results from a large primary care-based nested case-control study. *Annals of the rheumatic diseases*. 68(12):1839-42.
467. Munoz-Ortego J, Vestergaard P, Rubio JB, Wordworth P, Judge A, Javaid MK, Arden NK, Cooper C, Diez-Perez A, Prieto-Alhambra D. (2014). Ankylosing spondylitis is associated with an increased risk of vertebral and nonvertebral clinical fractures: a population-based cohort study. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 29(8):1770-6.
468. Prieto-Alhambra D, Munoz-Ortego J, De Vries F, Vosse D, Arden NK, Bowness P, Cooper C, Diez-Perez A, Vestergaard P. (2015). Ankylosing spondylitis confers substantially increased risk of clinical spine fractures: a nationwide case-control study. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 26(1):85-91.
469. Vosse D, van der Heijde D, Landewe R, Geusens P, Mielants H, Dougados M, van der Linden S. (2006). Determinants of hyperkyphosis in patients with ankylosing spondylitis. *Annals of the rheumatic diseases*. 65(6):770-4.
470. Fatemi G, Gensler LS, Leach TJ, Weisman MH. (2014). Spine fractures in ankylosing spondylitis: a case report and review of imaging as well as predisposing factors to falls and fractures. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 44(1):20-4.
471. Vosse D, Feldtkeller E, Erlendsson J, Geusens P, van der Linden S. (2004). Clinical vertebral fractures in patients with ankylosing spondylitis. *The Journal of rheumatology*. 31(10):1981-5.
472. Geusens P, Vosse D, van der Heijde D, Vanhoof J, van Tubergen A, Raus J, van der Linden S. (2001). High prevalence of thoracic vertebral deformities and discal wedging in ankylosing spondylitis patients with hyperkyphosis. *The Journal of rheumatology*. 28(8):1856-61.
473. El Maghraoui A, Borderie D, Cherruau B, Edouard R, Dougados M, Roux C. (1999). Osteoporosis, body composition, and bone turnover in ankylosing spondylitis. *The Journal of rheumatology*. 26(10):2205-9.
474. Franck H, Meurer T, Hofbauer LC. (2004). Evaluation of bone mineral density, hormones, biochemical markers of bone metabolism, and osteoprotegerin serum levels in patients with ankylosing spondylitis. *The Journal of rheumatology*. 31(11):2236-41.
475. van der Weijden MA, van Denderen JC, Lems WF, Heymans MW, Dijkman BA, van der Horst-Bruinsma IE. (2011). Low bone mineral density is related to male gender and decreased functional capacity in early spondyloarthropathies. *Clinical rheumatology*. 30(4):497-503.
476. Gratacos J, Collado A, Pons F, Osaba M, Sanmarti R, Roque M, Larrosa M, Munoz-Gomez J. (1999). Significant loss of bone mass in patients with early, active ankylosing spondylitis: a followup study. *Arthritis and rheumatism*. 42(11):2319-24.
477. Maillefer JF, Aho LS, El Maghraoui A, Dougados M, Roux C. (2001). Changes in bone density in patients with ankylosing spondylitis: a two-year follow-up study. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 12(7):605-9.
478. Perpetuo IP, Raposeiro R, Caetano-Lopes J, Vieira-Sousa E, Campanilho-Marques R, Ponte C, Canhao H, Ainola M, Fonseca JE. (2015). Effect of Tumor Necrosis Factor Inhibitor Therapy on Osteoclasts Precursors in Ankylosing Spondylitis. *PLoS one*. 10(12):e0144655.
479. Allali F, Breban M, Porcher R, Maillefer JF, Dougados M, Roux C. (2003). Increase in bone mineral density of patients with spondyloarthropathy treated with anti-tumour necrosis factor alpha. *Annals of the rheumatic diseases*. 62(4):347-9.
480. Marzo-Ortega H, McGonagle D, Haugeberg G, Green MJ, Stewart SP, Emery P. (2003). Bone mineral density improvement in spondyloarthropathy after treatment with etanercept. *Annals of the rheumatic diseases*. 62(10):1020-1.
481. Marzo-Ortega H, McGonagle D, Jarrett S, Haugeberg G, Hensor E, O'Connor P, Tan AL, Conaghan PG, Greenstein A, Emery P. (2005). Infliximab in combination with methotrexate in active ankylosing spondylitis: a clinical and imaging study. *Annals of the rheumatic diseases*. 64(11):1568-75.
482. Visvanathan S, van der Heijde D, Deodhar A, Wagner C, Baker DG, Han J, Braun J. (2009). Effects of infliximab on markers of inflammation and bone turnover and associations with bone mineral density in patients with ankylosing spondylitis. *Annals of the rheumatic diseases*. 68(2):175-82.
483. Kim HR, Lee SH, Kim HY. (2006). Elevated serum levels of soluble receptor activator of nuclear factors-kappaB ligand (sRANKL) and reduced bone mineral density in patients with ankylosing spondylitis (AS). *Rheumatology (Oxford, England)*. 45(10):1197-200.
484. Boonen A, vander Cruyssen B, de Vlam K, Steinfeld S, Ribbens C, Lenaerts J, Van den Bosch F, Mielants H, Dewulf L, Vastesaeger N. (2009). Spinal radiographic changes in ankylosing spondylitis: association with clinical characteristics and functional outcome. *The Journal of rheumatology*. 36(6):1249-55.
485. Landewe R, van der Heijde D. (2009). A systematic comparison of rheumatoid arthritis and ankylosing spondylitis: structural outcomes. *Clinical and experimental rheumatology*. 27(4 Suppl 55):S102-7.
486. Machado P, Landewe R, Braun J, Hermann KG, Baker D, van der Heijde D. (2010). Both structural damage and inflammation of the spine contribute to impairment of spinal mobility in patients with ankylosing spondylitis. *Annals of the rheumatic diseases*. 69(8):1465-70.
487. Wanders A, Landewe R, Dougados M, Mielants H, van der Linden S, van der Heijde D. (2005). Association between radiographic damage of the spine and spinal mobility for individual patients with ankylosing spondylitis: can assessment of spinal mobility be a proxy for radiographic evaluation? *Annals of the rheumatic diseases*. 64(7):988-94.
488. Wanders A, Heijde D, Landewe R, Behier JM, Calin A, Olivieri I, Zeidler H, Dougados M. (2005). Nonsteroidal antiinflammatory drugs reduce radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis: a randomized clinical trial. *Arthritis and rheumatism*. 52(6):1756-65.
489. Kroon F, Landewe R, Dougados M, van der Heijde D. (2012). Continuous NSAID use reverts the effects of inflammation on radiographic progression in patients with ankylosing spondylitis. *Annals of the rheumatic diseases*. 71(10):1623-9.
490. Poddubnyy D, Rudwaleit M, Haibel H, Listing J, Marker-Hermann E, Zeidler H, Braun J, Sieper J. (2012). Effect of non-steroidal anti-inflammatory drugs on radiographic spinal progression in patients with axial spondyloarthritis: results from the German Spondyloarthritis Inception Cohort. *Annals of the rheumatic diseases*. 71(10):1616-22.
491. van der Heijde D, Landewe R, Baraliakos X, Houben H, van Tubergen A, Williamson P, Xu W, Baker D, Goldstein N, Braun J. (2008). Radiographic findings following two years of infliximab therapy in patients with ankylosing spondylitis. *Arthritis and rheumatism*. 58(10):3063-70.
492. van der Heijde D, Landewe R, Einstein S, Ory P, Vosse D, Ni L, Lin SL, Tsuij W, Davis JC, Jr. (2008). Radiographic progression of ankylosing spondylitis after up to two years of treatment with etanercept. *Arthritis and rheumatism*. 58(5):1324-31.

493. van der Heijde D, Salonen D, Weissman BN, Landewe R, Maksymowych WP, Kupper H, Ballal S, Gibson E, Wong R. (2009). Assessment of radiographic progression in the spines of patients with ankylosing spondylitis treated with adalimumab for up to 2 years. *Arthritis research & therapy*. 11(4):R127.
494. Haroon NN, Srigathan J, Al Ghanim N, Inman RD, Cheung AM. (2014). Effect of TNF-alpha inhibitor treatment on bone mineral density in patients with ankylosing spondylitis: a systematic review and meta-analysis. *Seminars in arthritis and rheumatism*. 44(2):155-61.
495. Li H, Li Q, Chen X, Ji C, Gu J. (2015). Anti-tumor Necrosis Factor Therapy Increased Spine and Femoral Neck Bone Mineral Density of Patients with Active Ankylosing Spondylitis with Low Bone Mineral Density. *The Journal of rheumatology*. 42(8):1413-7.
496. Viapiana O, Gatti D, Idolazzi L, Fracassi E, Adami S, Tropolini S, Povino MR, Rossini M. (2014). Bisphosphonates vs infliximab in ankylosing spondylitis treatment. *Rheumatology (Oxford, England)*. 53(1):90-4.
497. Sidiropoulos PI, Hatemi G, Song IH, Avouac J, Collantes E, Hamuryudan V, Herold M, Kvien TK, Mielants H, Mendoza JM, Olivieri I, Ostergaard M, Schachna L, Sieper J, Boumpas DT, Dougados M. (2008). Evidence-based recommendations for the management of ankylosing spondylitis: systematic literature search of the 3E Initiative in Rheumatology involving a broad panel of experts and practising rheumatologists. *Rheumatology (Oxford, England)*. 47(3):355-61.
498. Ostendorf B, Scherer A, Specker C, Modder U, Schneider M. (2003). Jaccoud's arthropathy in systemic lupus erythematosus: differentiation of deforming and erosive patterns by magnetic resonance imaging. *Arthritis and rheumatism*. 48(1):157-65.
499. Santiago MB, Galvao V, Ribeiro DS, Santos WD, da Hora PR, Mota AP, Pimenta E, Oliveira I, Atta AM, Reis MG, Reis EA, Lins C. (2015). Severe Jaccoud's arthropathy in systemic lupus erythematosus. *Rheumatology international*. 35(10):1773-7.
500. Santiago MB, Galvao V. (2008). Jaccoud arthropathy in systemic lupus erythematosus: analysis of clinical characteristics and review of the literature. *Medicine*. 87(1):37-44.
501. Nzeusseu Toukap A, Galant C, Theate I, Maudoux AL, Lories RJ, Houssiau FA, Lauwerys BR. (2007). Identification of distinct gene expression profiles in the synovium of patients with systemic lupus erythematosus. *Arthritis and rheumatism*. 56(5):1579-88.
502. Crow MK. (2014). Type I Interferon in the pathogenesis of lupus. *Journal of immunology (Baltimore, Md : 1950)*. 192(12):5459-68.
503. Coelho LF, Magno de Freitas Almeida G, Mennechet FJ, Blangy A, Uze G. (2005). Interferon-alpha and -beta differentially regulate osteoclastogenesis: role of differential induction of chemokine CXCL11 expression. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*. 102(33):11917-22.
504. Mesah KA, Mathian A, Ma L, Xing L, Ritchlin CT, Schwarz EM. (2010). Mediation of nonerosive arthritis in a mouse model of lupus by interferon-alpha-stimulated monocyte differentiation that is nonpermissive of osteoclastogenesis. *Arthritis and rheumatism*. 62(4):1127-37.
505. van Vugt RM, Derksen RH, Kater L, Bijlsma JW. (1998). Deforming arthropathy or lupus and rhus hands in systemic lupus erythematosus. *Annals of the rheumatic diseases*. 57(9):540-4.
506. Zhu TY, Griffith JF, Au SK, Tang XL, Kwok AW, Leung PC, Li EK, Tam LS. (2014). Bone mineral density change in systemic lupus erythematosus: a 5-year followup study. *The Journal of rheumatology*. 41(10):1990-7.
507. Rees F, Doherty M, Grainge M, Lanyon P, Davenport G, Zhang W. (2016). Burden of Comorbidity in Systemic Lupus Erythematosus in the UK, 1999-2012. *Arthritis care & research*. 68(6):819-27.
508. Cramarossa G, Urowitz MB, Su J, Gladman D, Touma Z. (2016). Prevalence and associated factors of low bone mass in adults with systemic lupus erythematosus. *Lupus*.
509. Bultink IE, Harvey NC, Lalmohamed A, Cooper C, Lems WF, van Staa TP, de Vries F. (2014). Elevated risk of clinical fractures and associated risk factors in patients with systemic lupus erythematosus versus matched controls: a population-based study in the United Kingdom. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 25(4):1275-83.
510. Ekblom-Kullberg S, Kautiainen H, Alha P, Leirisalo-Repo M, Julkunen H. (2013). Frequency of and risk factors for symptomatic bone fractures in patients with systemic lupus erythematosus. *Scandinavian journal of rheumatology*. 42(5):390-3.
511. Lee C, Almagor O, Dunlop DD, Manzi S, Spies S, Ramsey-Goldman R. (2007). Self-reported fractures and associated factors in women with systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*. 34(10):2018-23.
512. Ramsey-Goldman R, Dunn JE, Huang CF, Dunlop D, Rairie JE, Fitzgerald S, Manzi S. (1999). Frequency of fractures in women with systemic lupus erythematosus: comparison with United States population data. *Arthritis and rheumatism*. 42(5):882-90.
513. Rhew EY, Lee C, Eksarko P, Dyer AR, Tily H, Spies S, Pope RM, Ramsey-Goldman R. (2008). Homocysteine, bone mineral density, and fracture risk over 2 years of followup in women with and without systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*. 35(2):230-6.
514. Yee CS, Crabtree N, Skan J, Arnt N, Bowman S, Situnayake D, Gordon C. (2005). Prevalence and predictors of fragility fractures in systemic lupus erythematosus. *Annals of the rheumatic diseases*. 64(1):111-3.
515. Svenungsson E, Fei GZ, Jensen-Urstad K, de Faire U, Hamsten A, Frostegard J. (2003). TNF-alpha: a link between hypertriglyceridaemia and inflammation in SLE patients with cardiovascular disease. *Lupus*. 12(6):454-61.
516. Studnicka-Benke A, Steiner G, Petera P, Smolen JS. (1996). Tumour necrosis factor alpha and its soluble receptors parallel clinical disease and autoimmune activity in systemic lupus erythematosus. *British journal of rheumatology*. 35(11):1067-74.
517. Frostegard J, Svenungsson E, Wu R, Gunnarsson I, Lundberg IE, Klareskog L, Horkko S, Witztum JL. (2005). Lipid peroxidation is enhanced in patients with systemic lupus erythematosus and is associated with arterial and renal disease manifestations. *Arthritis and rheumatism*. 52(1):192-200.
518. Graham LS, Parhami F, Tintut Y, Kitchen CM, Demer LL, Effros RB. (2009). Oxidized lipids enhance RANKL production by T lymphocytes: implications for lipid-induced bone loss. *Clinical immunology (Orlando, Fla)*. 133(2):265-75.
519. Moerman EJ, Teng K, Lipschitz DA, Lecka-Czemik B. (2004). Aging activates adipogenic and suppresses osteogenic programs in mesenchymal marrow stroma/stem cells: the role of PPAR-gamma2 transcription factor and TGF-beta/BMP signaling pathways. *Aging cell*. 3(6):379-89.
520. Moroni G, Depetri F, Ponticelli C. (2016). Lupus nephritis: When and how often to biopsy and what does it mean? *Journal of autoimmunity*. 74:27-40.
521. Schipper LG, Fleuren HW, van den Bergh JP, Meinardi JR, Veldman BA, Kramers C. (2015). Treatment of osteoporosis in renal insufficiency. *Clinical rheumatology*. 34(8):1341-5.
522. Almedhed K, Forsblad d'Elia H, Kvist G, Ohlsson C, Carlsten H. (2007). Prevalence and risk factors of osteoporosis in female SLE patients-extended report. *Rheumatology (Oxford, England)*. 46(7):1185-90.
523. Fragoso TS, Dantas AT, Marques CD, Rocha Junior LF, Melo JH, Costa AJ, Duarte AL. (2012). 25-Hydroxyvitamin D3 levels in patients with systemic lupus erythematosus and its association with clinical parameters and laboratory tests. *Revista brasileira de reumatologia*. 52(1):60-5.
524. Matsuoka LY, Wortsman J, Hanifan N, Holick MF. (1988). Chronic sunscreen use decreases circulating concentrations of 25-hydroxyvitamin D. A preliminary study. *Archives of dermatology*. 124(12):1802-4.
525. Kamen DL, Cooper GS, Bouali H, Shaftman SR, Hollis BW, Gilkeson GS. (2006). Vitamin D deficiency in systemic lupus erythematosus. *Autoimmunity reviews*. 5(2):114-7.
526. Toloza SM, Cole DE, Gladman DD, Ibanez D, Urowitz MB. (2010). Vitamin D insufficiency in a large female SLE cohort. *Lupus*. 19(1):13-9.
527. Huisman AM, White KP, Algra A, Harth M, Vieth R, Jacobs JW, Bijlsma JW, Bell DA. (2001). Vitamin D levels in women with systemic lupus erythematosus and fibromyalgia. *The Journal of rheumatology*. 28(11):2535-9.
528. Briot K, Roux C. (2015). Glucocorticoid-induced osteoporosis. *RMD open*. 1(1):e000014.
529. Bhattoa HP, Betterbuk P, Balogh A, Szegegi G, Kiss E. (2002). Bone mineral density in women with systemic lupus erythematosus. *Clinical rheumatology*. 21(2):135-41.
530. Lakshminarayanan S, Walsh S, Mohanraj M, Rothfield N. (2001). Factors associated with low bone mineral density in female patients with systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*. 28(1):102-8.
531. Mendoza-Pinto C, Garcia-Carrasco M, Sandoval-Cruz H, Escarcega RO, Jimenez-Hernandez M, Etcheagaray-Morales I, Soto-Vega E, Munoz-Guarmenos M, Lopez-Colombo A, Deleze-Hinojosa M, Cervera R. (2009). Risks factors for low bone mineral density in pre-menopausal Mexican women with systemic lupus erythematosus. *Clinical rheumatology*. 28(1):65-70.
532. Souto MI, Coelho A, Guo C, Mendonca LM, Pinheiro MF, Papi JA, Farias ML. (2012). The prevalence of low bone mineral density in Brazilian patients with systemic lupus erythematosus and its relationship with the disease damage index and other associated factors. *Journal of clinical densitometry : the official journal of the International Society for Clinical Densitometry*. 15(3):320-7.
533. Boyanov M, Robeva R, Popivanov P. (2003). Bone mineral density changes in women with systemic lupus erythematosus. *Clinical rheumatology*. 22(4-5):318-23.
534. Jacobs J, Korswagen LA, Schilder AM, van Tuyl LH, Dijkmans BA, Lems WF, Voskuyl AE, Bultink IE. (2013). Six-year follow-up study of bone mineral density in patients with systemic lupus erythematosus. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 24(6):1827-33.
535. Jardinet D, Lefebvre C, Depresseux G, Lambert M, Devogelaer JP, Houssiau FA. (2000). Longitudinal analysis of bone mineral density in pre-menopausal female systemic lupus erythematosus patients: deleterious role of glucocorticoid therapy

- at the lumbar spine. *Rheumatology (Oxford, England)*. 39(4):389-92.
536. Kipen Y, Briganti E, Strauss B, Will R, Littlejohn G, Morand E. (1999). Three year followup of bone mineral density change in premenopausal women with systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*. 26(2):310-7.
537. Petri M. (1995). Musculoskeletal complications of systemic lupus erythematosus in the Hopkins Lupus Cohort: an update. *Arthritis care and research : the official journal of the Arthritis Health Professions Association*. 8(3):137-45.
538. Ruiz-Arzuza I, Ugarte A, Cabezas-Rodríguez I, Medina JA, Moran MA, Ruiz-Irastorza G. (2014). Glucocorticoids and irreversible damage in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology (Oxford, England)*. 53(8):1470-6.
539. Zonana-Nacach A, Barr SG, Magder LS, Petri M. (2000). Damage in systemic lupus erythematosus and its association with corticosteroids. *Arthritis and rheumatism*. 43(8):1801-8.
540. De Vries F, Bracke M, Leuffkens HG, Lammers JW, Cooper C, Van Staa TP. (2007). Fracture risk with intermittent high-dose oral glucocorticoid therapy. *Arthritis and rheumatism*. 56(1):208-14.
541. Mok CC, Mak A, Ma KM. (2005). Bone mineral density in postmenopausal Chinese patients with systemic lupus erythematosus. *Lupus*. 14(2):106-12.
542. Mok CC, Ying SK, To CH, Ma KM. (2008). Bone mineral density and body composition in men with systemic lupus erythematosus: a case control study. *Bone*. 43(2):327-31.
543. Διονυσίου Ι, Δήμιου Π, Σπυροπούλου Α, Ηλιόπουλος Α, Κατσαλίρα Α, Κοντογιάννη Μ, Κοσμίδη Χ, Λαμπρινουδάκη Ε, Λυρίτης Γ, Μπαλανίκα Α, Μπαλτάς Χ, Παπαδοπούλου Φ, Τουρνής Σ, Τροβάς Γ. Κατευθυντήριες γραμμές για τη διάγνωση και αντιμετώπιση της Οστεοπόρωσης στην Ελλάδα. Αθήνα: Ελληνικό Ίδρυμα Οστεοπόρωσης; 2013.
544. Yeap SS, Fauzi AR, Kong NC, Hallin AG, Soehardy Z, Rahimah I, Chow SK, Goh EM. (2008). A comparison of calcium, calcitriol, and alendronate in corticosteroid-treated premenopausal patients with systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*. 35(12):2344-7.
545. Adachi JD, Bensen WG, Brown J, Hanley D, Hodsman A, Josse R, Kendler DL, Lentle B, Olszynski W, Ste-Marie LG, Tenenhouse A, Chines AA. (1997). Intermittent etidronate therapy to prevent corticosteroid-induced osteoporosis. *The New England journal of medicine*. 337(6):382-7.
546. Reid DM, Devogelaer JP, Saag K, Roux C, Lau CS, Reginster JY, Papanastasiou P, Ferreira A, Hartl F, Fashola T, Mesenbrink P, Sambrook PN. (2009). Zoledronic acid and risedronate in the prevention and treatment of glucocorticoid-induced osteoporosis (HORIZON): a multicentre, double-blind, double-dummy, randomised controlled trial. *Lancet (London, England)*. 373(9671):1253-63.
547. Takeda S, Kaneoka H, Saito T. (2008). Effect of alendronate on glucocorticoid-induced osteoporosis in Japanese women with systemic autoimmune diseases: versus alfacalcidol. *Modern rheumatology*. 18(3):271-6.
548. Wallach S, Cohen S, Reid DM, Hughes RA, Hosking DJ, Laan RF, Doherty SM, Maricic M, Rosen C, Brown J, Barton I, Chines AA. (2000). Effects of risedronate treatment on bone density and vertebral fracture in patients on corticosteroid therapy. *Calcified tissue international*. 67(4):277-85.
549. Li EK, Zhu TY, Hung VY, Kwok AW, Lee VW, Lee KK, Griffith JF, Li M, Wong KC, Leung PC, Qin L, Tam LS. (2010). Ibandronate increases cortical bone density in patients with systemic lupus erythematosus on long-term glucocorticoid. *Arthritis research & therapy*. 12(5):R198.
550. Gluer CC, Marin F, Ringe JD, Hawkins F, Moricke R, Papaioannu N, Farahmand P, Minisola S, Martinez G, Nolla JM, Niedhart C, Guanabens N, Nuti R, Martin-Mola E, Thomasius F, Kapetanios G, Pena J, Graeff C, Petto H, Sanz B, Reisinger A, Zysset PK. (2013). Comparative effects of teriparatide and risedronate in glucocorticoid-induced osteoporosis in men: 18-month results of the EuroGIOPs trial. *Journal of bone and mineral research : the official journal of the American Society for Bone and Mineral Research*. 28(6):1355-68.
551. Langdahl BL, Marin F, Shane E, Dobnig H, Zanchetta JR, Maricic M, Krohn K, See K, Warner MR. (2009). Teriparatide versus alendronate for treating glucocorticoid-induced osteoporosis: an analysis by gender and menopausal status. *Osteoporosis international : a journal established as result of cooperation between the European Foundation for Osteoporosis and the National Osteoporosis Foundation of the USA*. 20(12):2095-104.
552. Saag KG, Zanchetta JR, Devogelaer JP, Adler RA, Eastell R, See K, Krege JH, Krohn K, Warner MR. (2009). Effects of teriparatide versus alendronate for treating glucocorticoid-induced osteoporosis: thirty-six-month results of a randomized, double-blind, controlled trial. *Arthritis and rheumatism*. 60(11):3346-55.
553. Mok CC, Ho LY, Ma KM. (2015). Switching of oral bisphosphonates to denosumab in chronic glucocorticoid users: a 12-month randomized controlled trial. *Bone*. 75:222-8.
554. Mok CC, Ying KY, To CH, Ho LY, Yu KL, Lee HK, Ma KM. (2011). Raloxifene for prevention of glucocorticoid-induced bone loss: a 12-month randomised double-blinded placebo-controlled trial. *Annals of the rheumatic diseases*. 70(5):778-84.
555. Mok CC, Ying SK, Ma KM, Wong CK. (2013). Effect of raloxifene on disease activity and vascular biomarkers in patients with systemic lupus erythematosus: subgroup analysis of a double-blind randomized controlled trial. *Lupus*. 22(14):1470-8.
556. Alarcon G. (2001). Osteonecrosis. In: Klippel J, editor. *Primer on the Rheumatic Diseases*. 12 ed. Atlanta, Georgia: Arthritis Foundation; p. 503-6.
557. Asherson RA, Liote F, Page B, Meyer O, Buchanan N, Khamashta MA, Jungers P, Hughes GR. (1993). Avascular necrosis of bone and antiphospholipid antibodies in systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*. 20(2):284-8.
558. Mok CC, Lau CS, Wong RW. (1998). Risk factors for avascular bone necrosis in systemic lupus erythematosus. *British journal of rheumatology*. 37(8):895-900.
559. Mok MY, Farewell VT, Isenberg DA. (2000). Risk factors for avascular necrosis of bone in patients with systemic lupus erythematosus: is there a role for antiphospholipid antibodies? *Annals of the rheumatic diseases*. 59(6):462-7.
560. Sayarlioglu M, Yuzbasioglu N, Inanc M, Kamali S, Cefle A, Karaman O, Onat AM, Avan R, Cetin GY, Gul A, Ocal L, Aral O. (2012). Risk factors for avascular bone necrosis in patients with systemic lupus erythematosus. *Rheumatology international*. 32(1):177-82.
561. Prasad R, Ibanez D, Gladman D, Urowitz M. (2007). The role of non-corticosteroid related factors in osteonecrosis (ON) in systemic lupus erythematosus: a nested case-control study of inception patients. *Lupus*. 16(3):157-62.
562. Stolow J, Parikh S, Shybut G, Robinson P, Pope RM. (1991). An atypical site of osteonecrosis in a patient with systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*. 18(10):1623-6.
563. Stroh DA, LaPorte DM, Marker DA, Johnson AJ, Mont MA. (2012). Atraumatic osteonecrosis of the distal radius and ulna: case series and review. *The Journal of hand surgery*. 37(1):134-41.
564. Greenhagen RM, Crim BE, Shinabarger AB, Burns PR. (2012). Bilateral osteonecrosis of the navicular and medial cuneiform in a patient with systemic lupus erythematosus: a case report. *Foot & ankle specialist*. 5(3):180-4.
565. Resnick D, Pineda C, Trudell D. (1985). Widespread osteonecrosis of the foot in systemic lupus erythematosus: radiographic and gross pathologic correlation. *Skeletal radiology*. 13(1):33-8.
566. Mok MY, Isenberg DA. (2000). Avascular necrosis of a single vertebral body, an atypical site of disease in a secondary APLS. *Annals of the rheumatic diseases*. 59(6):494-5.
567. Fajardo-Hermosillo LD, Lopez-Lopez L, Nadal A, Vila LM. (2013). Multifocal osteonecrosis in systemic lupus erythematosus: case report and review of the literature. *BMJ case reports*. 2013.
568. Lee J, Kwok SK, Jung SM, Min HK, Nam HC, Seo JH, Ju J, Park KS, Park SH, Kim HY. (2014). Osteonecrosis of the hip in Korean patients with systemic lupus erythematosus: risk factors and clinical outcome. *Lupus*. 23(1):39-45.
569. Shigemura T, Nakamura J, Kishida S, Harada Y, Ohtori S, Kamikawa K, Ochiai N, Takahashi K. (2011). Incidence of osteonecrosis associated with corticosteroid therapy among different underlying diseases: prospective MRI study. *Rheumatology (Oxford, England)*. 50(11):2023-8.
570. Zizic TM, Marcoux C, Hungerford DS, Dansereau JV, Stevens MB. (1985). Corticosteroid therapy associated with ischemic necrosis of bone in systemic lupus erythematosus. *The American journal of medicine*. 79(5):596-604.
571. Nishimura T, Matsumoto T, Nishino M, Tomita K. (1997). Histopathologic study of veins in steroid treated rabbits. *Clinical orthopaedics and related research*. (334):37-42.
572. Haque W, Kadikoy H, Pacha O, Mallakkal J, Hoang V, Abdellatif A. (2010). Osteonecrosis secondary to antiphospholipid syndrome: a case report, review of the literature, and treatment strategy. *Rheumatology international*. 30(6):719-23.
573. Al Saleh J, El Sayed M, Salah N, Harb D, Khan N, Mohammed N. (2010). Predictors of avascular necrosis of the hip in Emiratis patients with systemic lupus erythematosus. *The Egyptian journal of immunology*. 17(1):29-40.
574. Mont MA, Glueck CJ, Pacheco IH, Wang P, Hungerford DS, Petri M. (1997). Risk factors for osteonecrosis in systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*. 24(4):654-62.
575. Houssiau FA, N'Zesuseu Toukap A, Depresseux G, Maldague BE, Malghem J, Devogelaer JP, Vande Berg BC. (1998). Magnetic resonance imaging-detected avascular osteonecrosis in systemic lupus erythematosus: lack of correlation with antiphospholipid antibodies. *British journal of rheumatology*. 37(4):448-53.
576. Sheikh JS, Retzinger GS, Hess EV. (1998). Association of osteonecrosis in systemic lupus erythematosus with abnormalities of fibrinolysis. *Lupus*. 7(1):42-8.
577. Seleznick MJ, Silveira LH, Espinoza LR. (1991). Avascular necrosis associated with anticardiolipin antibodies. *The Journal of rheumatology*. 18(9):1416-7.
578. Rueda JC, Duque MA, Mantilla RD, Iglesias-Gamarrá A. (2009). Osteonecrosis and antiphospholipid syndrome. *Journal of clinical rheumatology : practical reports on rheumatic & musculoskeletal diseases*. 15(3):130-2.
579. Zonana-Nacach A, Jimenez-Balderas FJ. (2004). Avascular necrosis of bone associated with primary antiphospholipid syndrome: case report and literature review. *Journal of clinical rheumatology : practical reports on rheumatic & musculoskeletal diseases*. 10(4):214-7.

580. Konyakham W, Foocharoen C, Mahakkanukrauh A, Suwannaroj S, Nanagara R. (2012). Prevalence and risk factor for symptomatic avascular necrosis development in Thai systemic lupus erythematosus patients. *Asian Pacific journal of allergy and immunology*. 30(2):152-7.
581. Zhao L, Wu X, Wu H, Su J, Zhang W, Zhao Y, Zhang X, Zheng W. (2016). Symptomatic knee osteonecrosis in patients with systemic lupus erythematosus: a case-control study. *Rheumatology international*. 36(8):1105-11.
582. Zhu KK, Xu WD, Pan HF, Zhang M, Ni J, Ge FY, Ye DQ. (2014). The risk factors of avascular necrosis in patients with systemic lupus erythematosus: a meta-analysis. *Inflammation*. 37(5):1852-64.
583. Hamijoyo L, Llamado LJQ, Navarra SV. (2008). Risk factors for avascular necrosis among Filipino patients with systemic lupus erythematosus. *International Journal of Rheumatic Diseases*. 11(2):141-7.
584. Aranow C, Zelicof S, Leslie D, Solomon S, Barland P, Norman A, Klein R, Weinstein A. (1997). Clinically occult avascular necrosis of the hip in systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*. 24(12):2318-22.
585. Klipper AR, Stevens MB, Zizic TM, Hungerford DS. (1976). Ischemic necrosis of bone in systemic lupus erythematosus. *Medicine*. 55(3):251-7.
586. Weiner ES, Abeles M. (1989). Aseptic necrosis and glucocorticosteroids in systemic lupus erythematosus: a reevaluation. *The Journal of rheumatology*. 16(5):604-8.
587. Calvo-Alen J, McGwin G, Toloza S, Fernandez M, Roseman JM, Bastian HM, Cepeda EJ, Gonzalez EB, Baethge BA, Fessler BJ, Vila LM, Reveille JD, Alarcon GS. (2006). Systemic lupus erythematosus in a multiethnic US cohort (LUMINA): XXIV. Cytotoxic treatment is an additional risk factor for the development of symptomatic osteonecrosis in lupus patients: results of a nested matched case-control study. *Annals of the rheumatic diseases*. 65(6):785-90.
588. Gladman DD, Urowitz MB, Chaudhry-Ahluwalia V, Hallet DC, Cook RJ. (2001). Predictive factors for symptomatic osteonecrosis in patients with systemic lupus erythematosus. *The Journal of rheumatology*. 28(4):761-5.
589. Παπαγγελόπουλος Π, Σταυρόπουλος Ν, Σαββίδου Ό. (2013). Οστεονέκρωση. In: Λυρίτης Γ, editor. *Μεταβολικά νοσήματα των οστών*. 5 ed. Αθήνα: Hylonome Editions; p. 573-81.
590. Zibis AH, Karantanas AH, Roidis NT, Hantes ME, Argiri P, Moraitis T, Malizos KN. (2007). The role of MR imaging in staging femoral head osteonecrosis. *European journal of radiology*. 63(1):3-9.
591. Mont MA, Ulrich SD, Seyler TM, Smith JM, Marker DR, McGrath MS, Hungerford DS, Jones LC. (2008). Bone scanning of limited value for diagnosis of symptomatic oligofocal and multifocal osteonecrosis. *The Journal of rheumatology*. 35(8):1629-34.
592. Ficat RP. (1985). Idiopathic bone necrosis of the femoral head. Early diagnosis and treatment. *The Journal of bone and joint surgery British volume*. 67(1):3-9.
593. Gardeniers J. (1993). Report of the Committee of Staging and Nomenclature. *ARCO News Letter*. 5(2):79-82.
594. Voulgari PV, Kosta P, Argyropoulou MI, Drosos AA. (2013). Avascular necrosis in a patient with systemic lupus erythematosus. *Joint, bone, spine : revue du rhumatisme*. 80(6):665.
595. Ehmke TA, Cherian JJ, Wu ES, Jauregui JJ, Banerjee S, Mont MA. (2014). Treatment of osteonecrosis in systemic lupus erythematosus: a review. *Current rheumatology reports*. 16(9):441.